

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



VŨ MINH ĐIỀN

**ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG  
VÀ KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ BỆNH DO *RICKETTSIACEAE*  
TẠI BỆNH VIỆN BỆNH NHIỆT ĐỚI TRUNG ƯƠNG  
(3/2015 – 3/2018)**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2019

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

VŨ MINH ĐIỀN

**ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG  
VÀ KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ BỆNH DO *RICKETTSIACEAE*  
TẠI BỆNH VIỆN BỆNH NHIỆT ĐỚI TRUNG ƯƠNG  
(3/2015 – 3/2018)**

Chuyên ngành: Truyền nhiễm và các bệnh nhiệt đới

Mã số: 62720153

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS.TS. Nguyễn Văn Mùi
2. PGS.TS. Bùi Vũ Huy

**HÀ NỘI - 2019**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Vũ Minh Điền, nghiên cứu sinh khóa 34, Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Truyền nhiễm và các bệnh nhiệt đới, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của **GS.TS. Nguyễn Văn Mùi** và **PGS.TS. Bùi Vũ Huy**.

2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

3. Số liệu trong đề tài luận án là một phần số liệu trong Đề tài Nghiên cứu mã số 106 – Y5, 04 – 2014.10 thuộc Quỹ Nafosted, Bộ Khoa học và Công nghệ, do bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương là cơ quan chủ trì đề tài. Tôi đã được chủ nhiệm đề tài và cơ quan chủ trì đề tài đồng ý cho phép sử dụng một phần số liệu đề tài này vào trong nghiên cứu luận án tiến sỹ của mình. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp nhận của cơ sở nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

*Hà Nội, ngày tháng năm 2019*

**Nghiên cứu sinh**

**Vũ Minh Điền**

## BẢNG TỪ VIẾT TẮT

ALT	Alanin Aminotransferase
APACHE II	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (Đánh giá sức khỏe dài hạn và sinh lý giai đoạn cấp, phiên bản II)
APTT	Activated Partial Thromboplastin Time (Thời gian Thromboplastin từng phần hoạt hóa)
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome (Hội chứng suy hô hấp cấp nặng)
ARN	Acid Ribonucleic
AST	Aspartat Aminotransferase
BC	Bạch cầu
BCĐTNNTT	Bạch cầu đa nhân trung tính
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (Trung tâm kiểm soát và ngăn ngừa bệnh tật)
CF	Complement Fixation - Phản ứng cố định bổ thể
CI	Confidence Interval- Độ tin cậy
CRP	C - Reaction Protein
CTM	Công thức máu
DNA	Desoxyribonucleic Acid
DNT	Dịch não tủy
ĐMCB	Đông máu cơ bản
ELISA	Enzyme - Linked Immuno Sorbent Assay (Phản ứng hấp phụ miễn dịch gắn men)
GCS	Glasgow Coma Scale- Thang điểm phân độ hôn mê
HATT	Huyết áp tâm thu
HATTr	Huyết áp tâm trương
Hb	Hemoglobin

HC	Hồng cầu
IFA	Indirect Immunofluorescent Antibody (Xét nghiệm kháng thể miễn dịch huỳnh quang gián tiếp)
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
IHC	Immuno-Histo-Chemical staining (Kỹ thuật nhuộm hóa mô miễn dịch)
INR	International Normalized Ratio - Tỷ số bình thường hóa quốc tế
kDa	Kilo Dalton
LDH	Lactate Dehydrogenase
Mb	Mega basepairs
MLST	Multilocus Sequence Typing – Giải trình tự nhiều vị trí
MODS	Multiple Organ Dysfunction Syndrome (Hội chứng suy đa tạng)
NS1	Nonstructural Protein 1 – Protein không cấu trúc 1
OD	Optical Density - Mật độ quang
ORF	Open Reading Frame – Khung đọc mở
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PCR	Polymerase Chain Reaction (Phản ứng khuếch đại chuỗi gen)
qPCR	Quatitative Polymerase Chain Reaction (Phản ứng khuếch đại chuỗi gen định lượng)
qSOFA	Quick Sequential Organ Failure Assessment (Đánh giá suy tạng tuần tự nhanh)
PCT	Procalcitonin
RFLP	Restricted Frament Length Polymorphism Analysis (Kỹ thuật xác định tính đa hình dùng enzyme giới hạn)
RMSF	Rocky Mountain Spotted Fever – Sốt đốm vùng núi
RRPN	Rì rào phế nang

SFG	Spotted Fever Group – Nhóm sốt đốm
SHM	Sinh hóa máu
STG	Scrub Typhus Group – Nhóm sốt mò
SD	Standard Deviation - Độ lệch chuẩn
TAS	Type Specific Antigen – Kháng nguyên đặc hiệu loài
TC	Tiêu cầu
TG	Typhus Group – Nhóm sốt phát ban
XHTH	Xuất huyết tiêu hóa
XQ	X quang
WHO	World Health Organization - Tổ chức Y tế Thế giới

## MỤC LỤC

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ</b> .....	<b>1</b>
<b>Chương 1: TỔNG QUAN</b> .....	<b>3</b>
1.1. Giới thiệu về bệnh do <i>Rickettsiaceae</i> .....	3
1.1.1. Lịch sử nghiên cứu và phân loại bệnh do <i>Rickettsiaceae</i> .....	3
1.1.2. Đặc điểm sinh học <i>Rickettsiaceae</i> .....	5
1.1.3. Các vector truyền bệnh .....	9
1.2. Tình hình phân bố bệnh do <i>Rickettsiaceae</i> .....	12
1.2.1. Tình hình phân bố bệnh sốt mò.....	12
1.2.2. Tình hình phân bố các nhóm bệnh sốt phát ban.....	13
1.2.3. Tình hình phân bố các bệnh nhóm sốt đốm .....	14
1.3. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh do <i>Rickettsiaceae</i> .....	16
1.3.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh Sốt mò .....	16
1.3.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh Sốt chuột.....	19
1.3.3. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh sốt đốm vùng núi .....	21
1.4. Xét nghiệm chẩn đoán nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	22
1.4.1. Các phương pháp chẩn đoán huyết thanh học.....	22
1.4.2. Phương pháp nuôi cấy phân lập mầm bệnh .....	24
1.4.3. Các xét nghiệm sinh học phân tử .....	25
1.5. Chẩn đoán bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	29
1.5.1. Chẩn đoán xác định bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	29
1.5.2. Chẩn đoán phân biệt .....	29
1.6. Điều trị bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	30
1.6.1. Điều trị đặc hiệu.....	30
1.6.2. Điều trị hỗ trợ .....	30
1.7. Các nghiên cứu về bệnh do <i>Rickettsiaceae</i> .....	31
1.7.1. Các nghiên cứu trên thế giới về bệnh do <i>Rickettsiaceae</i> .....	31

1.7.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam về các bệnh do <i>Rickettsiaceae</i> ....	34
1.7.3. Những hạn chế cần nghiên cứu thêm về bệnh do <i>Rickettsiaceae</i> .....	37
<b>Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>38</b>
2.1. Đối tượng nghiên cứu .....	38
2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân .....	38
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ bệnh nhân.....	38
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	39
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu .....	39
2.2.2. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu .....	39
2.2.3. Quy trình nghiên cứu.....	39
2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu .....	41
2.2.1. Thời gian nghiên cứu.....	41
2.2.2. Địa điểm nghiên cứu.....	41
2.3. Nội dung nghiên cứu.....	42
2.3.1. Mục tiêu 1 - Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> tại Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương.....	42
2.3.2. Mục tiêu 2 - Xác định các loài <i>Rickettsiaceae</i> và kiểu gen gây bệnh ..	43
2.3.3. Mục tiêu 3 - Đánh giá kết quả điều trị và một số yếu tố tiên lượng nặng, tử vong ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	43
2.4. Các chỉ số và tiêu chuẩn đánh giá dùng trong nghiên cứu.....	44
2.4.1. Các chỉ số dịch tễ học lâm sàng và dịch tễ học phân tử.....	44
2.4.2. Các chỉ số đánh giá biểu hiện lâm sàng ở bệnh nhân.....	45
2.4.3. Các chỉ số đánh giá biến đổi cận lâm sàng ở bệnh nhân.....	47
2.4.4. Các biến chứng ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	50
2.5. Các tiêu chuẩn và bảng điểm sử dụng trong nghiên cứu.....	51
2.5.1. Tiêu chuẩn đánh giá mức độ nặng của bệnh .....	51
2.5.2. Bảng điểm sử dụng trong nghiên cứu .....	51
2.6. Các kỹ thuật xét nghiệm được sử dụng trong nghiên cứu .....	53
2.6.1. Kỹ thuật xác định nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> bằng realtime PCR.....	54



2.6.2. Kỹ thuật giải trình tự gen xác định kiểu gen của <i>O. tsutsugamushi</i> .	59
2.6.3. Kỹ thuật xây dựng cây phát sinh loài.....	61
2.6.4. Các xét nghiệm khác và kỹ thuật chẩn đoán hình ảnh .....	61
2.7. Thu thập và xử lý số liệu.....	62
2.8. Đạo đức nghiên cứu .....	62
2.9. Hạn chế của nghiên cứu .....	62
<b>Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>63</b>
3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân.....	63
3.1.1. Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng của bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> ..	63
3.1.2. Biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	68
3.1.3. Biến đổi cận lâm sàng của bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	74
3.1.4. Các biến chứng ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	80
3.2. Xác định các loài <i>Rickettsiaceae</i> gây bệnh.....	81
3.2.1. Các loài <i>Rickettsiaceae</i> gây bệnh.....	81
3.2.2. Các kiểu gen của <i>Orientia tsutsugamushi</i> .....	81
3.2.3. Phân tích phát sinh loài của các chủng <i>Orientia tsutsugamushi</i> .....	82
3.2.4. Đặc điểm gây bệnh của các loài <i>Rickettsiaceae</i> và các kiểu gen ....	85
3.3. Kết quả điều trị và các yếu tố tiên lượng .....	90
3.3.1. Kết quả điều trị .....	90
3.3.2. Các yếu tố tiên lượng bệnh nặng theo suy đa tạng.....	96
3.3.3. Các yếu tố tiên lượng tử vong ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> ...	98
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....</b>	<b>100</b>
4.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân.....	100
4.1.1. Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng của bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> ...	100
4.1.2. Đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	106
4.1.3. Biến đổi cận lâm sàng của bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	116
4.1.4. Biến chứng ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	121
4.2. Xác định các loài <i>Rickettsiaceae</i> gây bệnh .....	122
4.2.1. Các loài <i>Rickettsiaceae</i> gây bệnh trong nghiên cứu.....	122

4.2.2. Các kiểu gen của <i>O. tsutsugamushi</i> gây bệnh sốt mò .....	123
4.2.3. Cây phát sinh loài của <i>O. tsutsugamushi</i> .....	123
4.2.4. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng theo căn nguyên gây bệnh.....	125
4.3. Kết quả điều trị và các yếu tố tiên lượng .....	128
4.3.1. Kết quả điều trị .....	128
4.3.2. Các yếu tố tiên lượng bệnh nặng.....	132
4.3.3. Các yếu tố tiên lượng tử vong ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .	133
<b>KẾT LUẬN.....</b>	<b>134</b>
<b>KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>136</b>
<b>DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN</b>	
<b>QUAN ĐẾN LUẬN ÁN</b>	
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1.	Bảng điểm APACHE II .....	52
Bảng 2.2.	Bảng điểm đánh giá nhanh tình trạng suy đa tạng .....	51
Bảng 2.3.	Trình tự các cặp mồi và probe của gen 47 kDa, 17 kDa và OmpB ..	56
Bảng 2.4.	Thành phần phản ứng realtime PCR .....	58
Bảng 2.5.	Trình tự các đoạn mồi của gen <i>O. tsutsugamushi</i> 56 kDa TAS .	60
Bảng 3.1.	Phân bố bệnh nhân theo nghề nghiệp và nơi cư trú .....	64
Bảng 3.2.	Chẩn đoán của bệnh nhân trước khi vào viện.....	67
Bảng 3.3.	Tiền sử điều trị kháng sinh trước khi vào viện .....	67
Bảng 3.4.	Các triệu chứng cơ năng ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	68
Bảng 3.5.	Đặc điểm sốt của các bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	69
Bảng 3.6.	Biểu hiện trên da và niêm mạc ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .	70
Bảng 3.7.	Đặc điểm vết loét ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	71
Bảng 3.8.	Đặc điểm ban ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	72
Bảng 3.9.	Biểu hiện trên các triệu chứng ở hệ cơ quan .....	73
Bảng 3.10.	Thay đổi các chỉ số trong công thức máu .....	74
Bảng 3.11.	Biến đổi trong xét nghiệm đông máu cơ bản .....	75
Bảng 3.12.	Biến đổi các xét nghiệm đánh giá chức năng gan.....	76
Bảng 3.13.	Rối loạn chức năng thận, điện giải đồ và yếu tố viêm .....	77
Bảng 3.14.	Thay đổi trong xét nghiệm khí máu động mạch .....	78
Bảng 3.15.	Biểu hiện bất thường trên siêu âm ổ bụng, màng phổi .....	79
Bảng 3.16.	Biểu hiện bất thường trên phim XQ lồng ngực .....	79
Bảng 3.17.	Các biến chứng ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	80
Bảng 3.18.	Mức độ tương đồng giữa các trình tự gen 56 kDa TSA.....	84
Bảng 3.19.	Đặc điểm lâm sàng giữa bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột .	86
Bảng 3.20.	Biến đổi cận lâm sàng giữa bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột ..	87

Bảng 3.21.	Biểu hiện lâm sàng giữa các kiểu gen của <i>O. tsutsugamushi</i> .....	88
Bảng 3.22.	Biến đổi xét nghiệm giữa các kiểu gen của <i>O. tsutsugamushi</i> .....	89
Bảng 3.23.	Các phác đồ kháng sinh điều trị cho bệnh nhân .....	90
Bảng 3.24.	So sánh kết quả điều trị giữa doxycyclin và azithromycin .....	92
Bảng 3.25.	Kết quả điều trị theo loài <i>Rickettsiaceae</i> gây bệnh .....	93
Bảng 3.26.	Kết quả điều trị bệnh theo các kiểu gen gây bệnh sốt mò .....	93
Bảng 3.27.	Kết quả điều trị bệnh nhân theo biến chứng .....	94
Bảng 3.28.	So sánh kết quả điều trị bệnh nhân theo từng biến chứng .....	94
Bảng 3.29.	Kết quả điều trị bệnh nhân theo suy đa tạng .....	95
Bảng 3.30.	Kết quả điều trị bệnh nhân theo thang điểm APACHE II .....	95
Bảng 3.31.	Phân tích đơn biến các yếu tố có liên quan với suy đa tạng .....	96
Bảng 3.32.	Phân tích đa biến, các yếu tố nguy cơ suy đa tạng .....	97
Bảng 3.33.	Tương quan giữa điểm qSOFA và APACHE II với số tạng bị suy ..	97
Bảng 3.34.	Phân tích đơn biến, các yếu tố có liên quan đến tử vong .....	98
Bảng 3.35.	Phân tích đa biến các yếu tố tiên lượng tử vong ở bệnh nhân .....	99

## DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1.	Phân bố bệnh nhân theo các nhóm tuổi.....	63
Biểu đồ 3.2.	Phân bố bệnh nhân theo giới.....	64
Biểu đồ 3.3.	Phân bố các bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiae</i> theo tỉnh, thành ...	65
Biểu đồ 3.4.	Phân bố bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> ở Hà Nội.....	66
Biểu đồ 3.5.	Phân bố bệnh nhân theo thời gian trong năm.....	66
Biểu đồ 3.6.	Mức độ sốt của bệnh nhân theo tuần bị bệnh.....	70
Biểu đồ 3.7.	Tỷ lệ xuất hiện ban theo tuần bị bệnh.....	72
Biểu đồ 3.8.	Số lượng các biến chứng ở bệnh nhân.....	80
Biểu đồ 3.9.	Các loài <i>Rickettsiaceae</i> gây bệnh.....	81
Biểu đồ 3.10.	Các kiểu gen của <i>O. tsutsugamushi</i> .....	81
Biểu đồ 3.11.	Phân bố các bệnh nhân sốt mò và sốt chuột theo thời gian....	85
Biểu đồ 3.12.	Phân bố các kiểu gen gây bệnh sốt mò theo thời gian.....	85
Biểu đồ 3.13.	Thay đổi một số triệu chứng lâm sàng theo thời gian điều trị ....	90
Biểu đồ 3.14.	Thay đổi một số chỉ số xét nghiệm theo thời gian điều trị.....	91
Biểu đồ 3.15.	Thời gian cắt sốt của bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	91
Biểu đồ 3.16.	Tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân nhiễm <i>Rickettsiaceae</i> .....	92

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Sơ đồ phân loại <i>Rickettsiaceae</i> .....	5
Hình 1.2.	Hình ảnh <i>Rickettsia</i> trong tế bào .....	6
Hình 1.3.	Các vector lây truyền tác nhân gây bệnh do <i>Rickettsiaceae</i> .....	10
Hình 1.4.	Mô tả vòng đời của mò <i>Leptotrombidium</i> .....	11
Hình 1.5.	Bản đồ phân bố sốt mò ở các quốc gia trên thế giới .....	13
Hình 1.6.	Bản đồ phân bố các bệnh sốt phát ban do <i>Rickettsiaceae</i> .....	15
Hình 1.7.	Hình ảnh đại thể và vi thể vết loét ở bệnh nhân sốt mò .....	17
Hình 1.8.	Hình ảnh tiến triển của vết loét theo thời gian.....	17
Hình 1.9.	Hình ảnh viêm phổi kẽ gấp trong sốt mò .....	19
Hình 1.10.	Hình ảnh ban ở bệnh nhân sốt chuột .....	20
Hình 1.11.	Hình ảnh ban ở bệnh nhân sốt phát ban nổi mụn .....	21
Hình 3.1.	Sơ đồ cây phát sinh loài của <i>Orientia tsutsugamushi</i> .....	82
Hình 3.2.	Sơ đồ cây phát sinh loài của <i>O. tsutsugamushi</i> ở Việt Nam .....	83

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh do *Rickettsiaceae* (Rickettsioses) là những bệnh lây truyền qua côn trùng, tiết túc (chấy, rận, ve, mò, mạt,...) do các vi khuẩn ký sinh nội bào thuộc họ *Rickettsiaceae* gây nên [1], [2]. Bệnh do *Rickettsiaceae* mặc dù đã được phát hiện từ đầu thế kỷ XIX, tuy nhiên đến nay bệnh vẫn lưu hành, đang có xu hướng lan rộng và là vấn đề sức khỏe mang tính toàn cầu nên được quan tâm nghiên cứu ở nhiều nước trên thế giới như Mỹ, Nhật Bản, Úc, Trung Quốc, Ấn Độ, Thái Lan, Lào,... [3], [4], [5].

Theo các nghiên cứu, bệnh do *Rickettsiaceae* có đặc điểm dịch tễ học phức tạp, phụ thuộc vào đặc điểm phân bố của ổ chứa và môi giới trung gian truyền bệnh [6], [7], [8]. Bệnh có biểu hiện lâm sàng đa dạng từ nhẹ cho đến rất nặng, thậm chí có thể dẫn tới tử vong nếu không được chẩn đoán và điều trị đúng. Phân loại các bệnh do *Rickettsiaceae* đã có những thay đổi dựa theo đặc điểm di truyền của căn nguyên gây bệnh. Hiện nay, các bệnh do *Rickettsiaceae* được phân làm ba nhóm chính là: Nhóm sốt mò (Scrub Typhus Group), nhóm sốt đốm (Spotted Fever Group), nhóm sốt phát ban (Typhus Group) và gần đây thêm hai nhóm mới là nhóm cổ điển (Ancestral Group) và nhóm chuyển tiếp (Transitional Group) [1], [2], [9].

Các nghiên cứu gần đây ở các nước trong khu vực như Thái Lan, Lào, Campuchia, Hàn Quốc, Trung Quốc [10], [11], [12], [13], [14], [15] cho thấy đều có sự xuất hiện cả ba nhóm bệnh do *Rickettsiaceae*. Ở Việt Nam, nghiên cứu huyết thanh học trong cộng đồng cho thấy cũng có sự hiện diện cả ba nhóm bệnh do *Rickettsiaceae* [16]. Tuy nhiên, cho đến nay mới chỉ có một số nghiên cứu về đặc điểm dịch tễ và biểu hiện lâm sàng của bệnh sốt mò [17], [18], [19], [20], [21] mà chưa có nghiên cứu nào mô tả một cách đầy đủ và toàn diện về đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của các bệnh do

*Rickettsiaceae* khác. Một trong các nguyên nhân dẫn đến hạn chế trong nghiên cứu các bệnh do *Rickettsiaceae* ở Việt Nam là do khó khăn trong chẩn đoán xác định căn nguyên gây bệnh. Trong những năm gần đây, sự phát triển của kỹ thuật sinh học phân tử đã mở ra hướng mới trong chẩn đoán các căn nguyên gây nhiễm trùng nói chung và bệnh do *Rickettsiaceae* nói riêng. Đặc biệt là kỹ thuật Realtime - PCR đã giúp chẩn đoán nhanh chóng, chính xác căn nguyên gây bệnh với độ nhạy và độ đặc hiệu rất cao [22], [23]. Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương là cơ sở đầu ngành về Truyền nhiễm, thường xuyên tiếp nhận và điều trị cho các bệnh nhân sốt chưa rõ nguyên nhân từ các tỉnh chuyên đến, trong đó có nhiều bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* chưa được chẩn đoán. Do đó, để có thêm tri thức khoa học giúp nâng cao năng lực cho các thầy thuốc lâm sàng trong việc chẩn đoán và điều trị các bệnh sốt do *Rickettsiaceae* gây ra, đặc biệt ở những nơi còn hạn chế về phương tiện và kỹ thuật chẩn đoán, chúng tôi đã tiến hành thực hiện đề tài nghiên cứu: “**Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị bệnh do *Rickettsiaceae* tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương (3/2015 – 3/2018)**” với 3 mục tiêu sau:

1. *Mô tả đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* tại Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương (3/2015 – 3/2018).*
2. *Xác định các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh sốt cấp tính ở bệnh nhân điều trị tại Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương.*
3. *Đánh giá kết quả điều trị và một số yếu tố tiên lượng nặng, tử vong ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*.*



## Chương 1

### TỔNG QUAN

#### 1.1. Giới thiệu về bệnh do *Rickettsiaceae*

##### 1.1.1. Lịch sử nghiên cứu và phân loại bệnh do *Rickettsiaceae*

“*Rickettsiaceae*” là thuật ngữ chỉ một họ vi khuẩn Gram âm, ký sinh nội bào bắt buộc, thuộc bộ Rickettsiales, lớp Alphaproteobacteria, ngành Proteobacteria, giới Bacteria. Thuật ngữ “Rickettsiae” dùng để chỉ tập hợp các vi khuẩn gây bệnh ở người thuộc họ *Rickettsiaceae* [1], [24].

##### 1.1.1.1. Lịch sử nghiên cứu bệnh do *Rickettsiaceae*

Các bệnh do *Rickettsiaceae* đã được biết đến từ khá sớm với những nghiên cứu về bệnh sốt mò (Scrub Typhus - ST). Lần đầu tiên thuật ngữ "tsutsugamushi" để mô tả bệnh sốt có liên quan đến mò ở khu vực Niigata ở Nhật Bản, xuất hiện vào năm 1810. Cho đến năm 1878, bệnh mới được biết đến rộng rãi qua thông báo của bác sỹ Theodor Pal với tên địa phương là "shima mushi". Trung gian truyền bệnh là mò *Leptotrombidium* đã được Brumpt phát hiện vào năm 1910. Đến năm 1930, Nagoya đã xác định được căn nguyên gây sốt mò là *Rickettsia orientalis* hay còn gọi là *Rickettsia tsutsugamushi* – theo Daniel H Paris [25].

Cùng với các nghiên cứu về bệnh sốt mò, năm 1906, Howard Ricketts đã mô tả một vi sinh vật có liên quan với bệnh sốt đốm vùng núi (Rocky Mountain Spotted fever - RMSF) hay còn gọi là bệnh sỏi đen; bệnh xuất hiện đầu tiên ở Idaho Valley của Mỹ năm 1896. Ông đã phát hiện ra rằng sinh vật này có vòng đời phức tạp gồm 2 vật chủ là ve và động vật có vú. Đến năm 1919, Wolbach S. Burt mô tả chi tiết hơn về căn nguyên của bệnh “sốt đốm vùng núi”. Bệnh do một vi khuẩn ký sinh nội bào và ông đã đặt tên là *Rickettsia rickettsii* để tôn vinh Howard Ricketts - người đã phát hiện ra nó.

Bên cạnh những nghiên cứu về bệnh sốt mò, sốt đốm vùng núi, năm 1909 Charles Nicolle cũng đã mô tả về bệnh sốt phát ban dịch tễ ở người (Epidemic Typhus), lây truyền qua chấy rận do căn nguyên là *Rickettsia prowazekii*. Năm 1921, Mooser đã mô tả bệnh sốt phát ban do bọ chét chuột (Murin Typhus) gây ra bởi *R. typhi*. Từ đó đến nay nhiều loài *Rickettsia* khác gây bệnh ở người lần lượt được phát hiện và mô tả [2], [9], [26].

#### 1.1.1.2. Phân loại bệnh do Rickettsiaceae

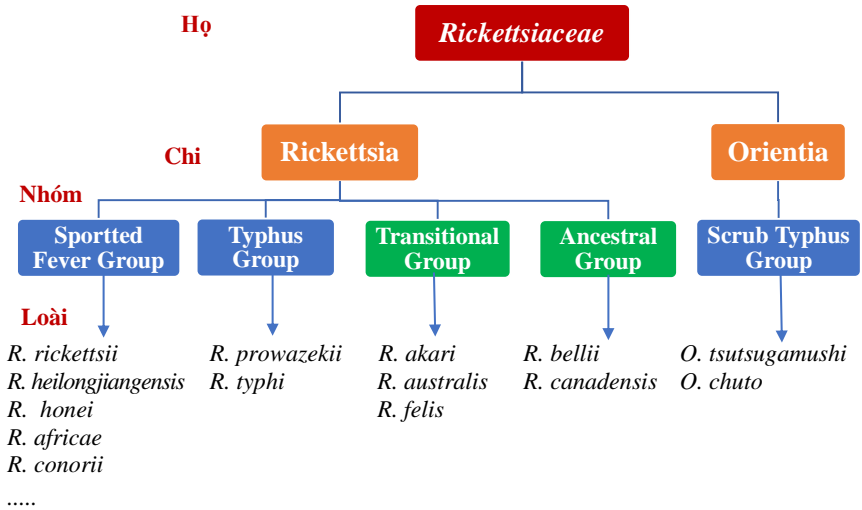
Bệnh do *Rickettsiaceae* thường có nhiều tên gọi, với nhiều cách phân loại khác nhau, thay đổi theo từng giai đoạn. Trước đây, *Rickettsia* được sử dụng như một thuật ngữ chung cho nhiều vi khuẩn không thể nhận dạng bằng các phương pháp nuôi cấy truyền thống. Hiện nay, với sự phát triển của kỹ thuật phân tử, sự hiểu biết về di truyền và kháng nguyên của vi sinh vật dẫn đến cách phân loại các loài trong họ *Rickettsiaceae* có sự thay đổi lớn [27], [28]. Những thay đổi này là cơ sở để loại ra một số vi sinh vật không phải *Rickettsia* (mặc dù trước đây chúng được mô tả giống *Rickettsia*) như *Coxiella burnetii* và *Bartonella* [9], [29]. Dựa trên sự khác biệt về di truyền trong trình tự gen 16 S rRNA, *Rickettsia tsutsugamushi* được xếp thành một chi mới là *Orientia* và được đổi tên là *Orientia tsutsugamushi* [30].

Bằng phương pháp giải trình tự gen 16S rRNA, Fournier và cộng sự đã đề xuất phân loại *Rickettsiaceae* ở mức độ chi, nhóm, loài [31]. Theo phân loại này, các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh ở người được phân làm 2 chi (*Orientia* và *Rickettsia*) và 5 nhóm (theo Hình 1.1) [1], [9], bao gồm:

- Nhóm sốt mò (Scrub Typhus Group - STG) gồm 2 loài gây bệnh cho người là *O. tsutsugamushi* và *O. chuto* do ấu trùng mò *Leptotrombidium* truyền.

- Nhóm sốt phát ban (Typhus Group - TG) gồm 2 loài là *R. prowazekii* gây sốt phát ban do chấy rận truyền và *R. typhi* gây sốt phát ban do bọ chét chuột truyền.

- Nhóm sốt đốm (Spotted Fever Group - SFG) gồm *R. rickettsii* và hơn 25 loài khác gây bệnh do ve truyền rải rác ở khắp nơi trên thế giới [32].
- Nhóm cổ điển (Ancestral Group - AG) bao gồm *R. canadensis* và *R. bellii*, gây bệnh do ve truyền.
- Nhóm chuyển tiếp (Transitional Group - TRG) gồm *R. akari* do mò truyền, *R. australis* do ve truyền và *R. felis* do bọ chét truyền [27], [28], [33].

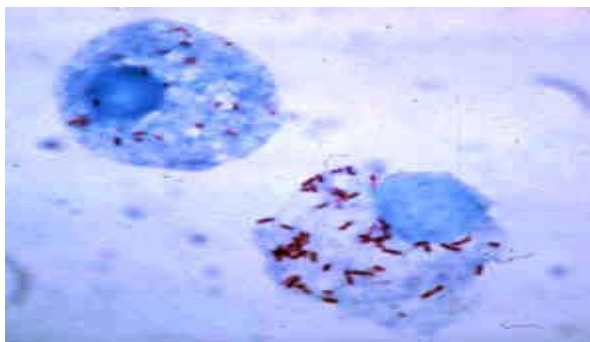


**Hình 1.1. Sơ đồ phân loại Rickettsiaceae [34]**

**1.1.2. Đặc điểm sinh học Rickettsiaceae**

**1.1.2.1. Hình thái và cấu trúc**

Các thành viên trong chi *Rickettsia* là các vi khuẩn Gram âm, có kích thước nhỏ với chiều dài khoảng 0,8 - 2,0 μm, chiều rộng khoảng 0,3 - 0,5 μm, không có lông, không di động, đa hình thái, hình dạng thay đổi qua các giai đoạn phát triển: cầu khuẩn đứng riêng rẽ hoặc thành từng đôi có khi xếp thành chuỗi ngắn hoặc từng đám trong hoặc ngoài tế bào. *Rickettsia* không bắt màu Gram, khi nhuộm bằng Giemsa vi khuẩn bắt màu tím hồng, bằng Macchiavello cho màu đỏ của fuschin trên nền xanh (trừ *O. tsutsugamushi* bắt màu xanh).



**Hình 1.2. Hình ảnh Rickettsia trong tế bào**

(Nguồn: David H. Walker Didier Raoult, *Infectious Diseases*)[24]

Tế bào chất của *Rickettsia* chứa ribosome, các sợi DNA và được bao bọc bởi cấu trúc của tế bào Gram âm điển hình với một lớp peptidoglycan và lipopolysaccharide ở màng ngoài, nhưng không có lông hoặc pili [1], [9].

Bộ gen của các loài thuộc *Rickettsia* là một DNA đơn dạng vòng, có kích thước lên đến 1,1-1,5 Mb, bao gồm 877 - 1500 gen tùy loài. Điển hình như:

- Bộ gen của *R. prowazekii* là một DNA dạng vòng, có kích thước 1,1 Mb, với tỷ lệ G + C trung bình là 29,1 mol% và 834 khung mở đọc (ORFs) và 33 gen mã hóa cho 32 loại isoreceptor khác nhau đã được xác định.

- Bộ gen của *R. typhi* có kích thước 1,1 Mb, chứa 877 gen mã hóa cho 3 rRNAs, 33 tRNAs, 3 RNAs và 838 proteins ở 3 vùng khác nhau; hơn 40 pseudogenes cũng được tìm thấy, bao gồm hệ thống Cytochrome C oxydase.

- Bộ gen của *R. rickettsii* là một chromosom đơn dạng vòng, có kích thước 1,2 Mb với 1567 mã mở đọc [9], [35], [36]. Gen đầu tiên được sử dụng cho mục đích phát sinh loài là 16S rDNA [37]. Sau đó, nghiên cứu phát sinh loài dựa trên các trình tự gen khác bao gồm *gltA* (gen mã hóa tổng hợp citrate), gen mã hóa protein 17 kDa và nhóm gen kháng nguyên bề mặt tế bào (SCA): *ompA*, *ompB*, *sca4*, *sca1* và *sca2* [31], [38]. Phân tích phát sinh loài dựa trên trình tự gen mã hóa protein 17 kDa không cho nhiều

giá trị ý nghĩa. Ngược lại, dựa trên trình tự gen *gltA* có thể xây dựng mối quan hệ phát sinh loài [31], [39].

*O. tsutsugamushi* là vi khuẩn Gram âm, hình cầu trực khuẩn có chiều rộng từ 0,3 - 0,5  $\mu\text{m}$  và chiều dài từ 0,8 - 2,0  $\mu\text{m}$  và cũng giống như các Rickettsia là không có lông hoặc pili [25]. *Orientia* không bắt màu Gram, khi nhuộm bằng Giemsa vi khuẩn bắt màu tím hồng, bằng Macchiavello vi khuẩn bắt màu xanh. Cấu tạo vách tế bào và kháng nguyên của *O. tsutsugamushi* rất khác so với các loài Rickettsia khác là lớp màng ngoài dày hơn màng trong; thiếu lớp peptidoglycan và lipopolysaccharide và không có protein màng ngoài đặc trưng của Rickettsia là rOmpA và rOmpB mà có protein màng ngoài đặc trưng là 56 kDa TSA. Bộ gen của *O. tsutsugamushi* có kích thước lớn nhất trong bộ Rickettsiales, dao động từ 2,0 đến 2,7 Mb bao gồm 1967 trình tự mã hóa protein và khoảng 47% là các trình tự lặp lại [41]. *O. tsutsugamushi* chứa nhiều biến thể kháng nguyên hay kiểu gen như Karp (New Guinea), Gilliam (Ấn Độ), Kato (Nhật Bản), TA763 và TA686 (Thái Lan), Ikeda (Nhật Bản), Boryong (Hàn Quốc), UT76 và UT716 (Thái Lan), FPW1038 (Thái Lan) [40]. Sự thay đổi kháng nguyên này phụ thuộc phần lớn vào sự đa dạng của kháng nguyên đặc hiệu bề mặt 56 kDa TSA [41], [42]. Với một khung đọc mở (ORF) kích thước 1600 bp, 56 kDa TSA gồm có 516 - 541 amino axit và tham gia vào việc xâm nhập vào tế bào chủ thông qua sự kết hợp của fibronectin. Có bốn domain biến thể trong vùng này, các domain biến thể I - IV, chịu trách nhiệm về mức độ biến đổi kháng nguyên lớn ở gen [43].

#### 1.1.2.2. Khả năng đề kháng

*Rickettsiaceae* là những vi khuẩn yếu, bị tiêu diệt nhanh chóng bởi sức nóng, độ ẩm, độ khô và các chất hóa học, bị bất hoạt ở nhiệt độ thường nhưng tồn tại tốt ở nhiệt độ thấp (- 25<sup>o</sup>C đến - 70<sup>o</sup>C) bằng phương pháp đông lạnh [44].

### 1.1.2.3. Độc tố của vi khuẩn

Một số *Rickettsiaceae* sinh ra độc tố hòa tan trong môi trường lỏng nuôi cấy, đồng thời gây tan máu và hoại tử. Độc tố này yếu, gây tổn thương ở các cơ quan nhiễm trùng giống như dạng tổn thương của ngoại độc tố. Cấu tạo vỏ ngoài của vi khuẩn cũng có tính kháng nguyên, vỏ cũng có vai trò trong gây tan huyết. Như vậy, hoạt tính gây tan huyết của *Rickettsiaceae* ngoài độc tố còn phụ thuộc vào cấu trúc gây tan huyết của vỏ và cả enzyme gây tan huyết của vi khuẩn. Độc tố gắn liền với thân của *Rickettsiaceae*, nếu đun ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 30 phút hoặc xử lý bằng formalin 0,37%, độc tố sẽ bị hủy nhưng vẫn giữ được tính kháng nguyên [44], [45].

### 1.1.2.4. Kháng nguyên và khả năng tạo miễn dịch

*Rickettsiaceae* có hai loại kháng nguyên, một kháng nguyên hòa tan đặc hiệu của nhóm và một kháng nguyên chéo.

- Kháng nguyên đặc hiệu bao gồm kháng nguyên không chịu nhiệt và kháng nguyên chịu nhiệt.

+ Kháng nguyên không chịu nhiệt: là kháng nguyên không hòa tan, bản chất là protein, đặc hiệu loài.

+ Kháng nguyên chịu nhiệt: là kháng nguyên hòa tan, có bản chất là polysaccharid, đặc hiệu nhóm.

- Kháng nguyên không đặc hiệu: Bản chất là polysaccharid, kháng nguyên này có cấu trúc gần giống với kháng nguyên của *Proteus vulgaris* (chủng OX19, OX2, OXk). Vì vậy, kháng nguyên này được sử dụng trong phản ứng Weil - Felix để chẩn đoán huyết thanh, riêng *R. burnetii* không có kháng nguyên này [42].

Khi nhiễm *Rickettsiaceae* hoặc sau khi tiêm vắc xin, cơ thể sẽ đáp ứng miễn dịch sinh kháng thể. Các loại kháng thể xuất hiện là kháng thể ngưng kết, kháng thể hòa tan đặc hiệu và có thể chống lại bệnh nhiễm trùng. Độc tố của *Rickettsiae* cũng có thể hình thành kháng thể hòa tan

chống lại độc tố đó. Trong thực tế, người ta thấy các nhiễm khuẩn *Rickettsiaceae* gây nên sốt phát ban có khả năng tạo ra miễn dịch mạnh mẽ, lâu dài và có thể hình thành miễn dịch chéo với các loài *Rickettsiaceae* khác. Những người đã một lần bị nhiễm *Rickettsiaceae*, lần sau có tiếp xúc với *Rickettsiaceae* cũng có thể không bị mắc bệnh [34], [44].

### **1.1.3. Các vector truyền bệnh**

Tất cả vi khuẩn thuộc họ *Rickettsiaceae* gây bệnh đều do trung gian truyền bệnh là động vật chân đốt. Đây chính là ổ chứa và là nơi nhân lên của vi khuẩn, chúng là căn nguyên quan trọng trong việc truyền bệnh. Tuy nhiên, cách thức lây truyền vi khuẩn từ động vật chân đốt sang người là khác nhau. Vi khuẩn có thể lây nhiễm vào vật chủ qua vết đốt của côn trùng như ve, bọ chét hoặc ấu trùng mò. Ngoài ra chúng còn lây truyền từ phân của chấy rận, bọ chét qua vết xước ở da vật chủ [46]. Từ vị trí xâm nhập, *Rickettsia* và *Orientia* lây nhiễm sang các tế bào nội mạc mạch máu (tế bào bị nhiễm chính), nguyên bào sợi, tế bào nội mô bạch huyết và đại thực bào [9], [25].

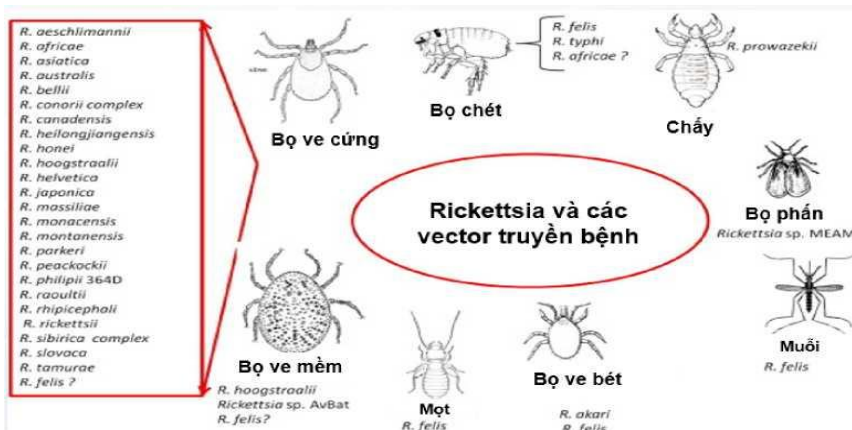
Đặc điểm sinh thái và sự phân bố của trung gian truyền bệnh (vector) liên quan trực tiếp bởi các yếu tố dịch tễ học của bệnh như điều kiện khí hậu, vùng địa lý lưu hành, điều kiện vệ sinh, điều kiện kinh tế xã hội và các yếu tố nguy cơ tiếp xúc [6], [7], [47]. Cụ thể như:

- Ve: Đây là loài ký sinh trùng thuộc động vật có xương sống truyền bệnh cho người và phân bố khắp nơi trên thế giới. Gần đây, chúng được xem là vector truyền bệnh quan trọng đứng thứ hai sau muỗi. Trong hai họ *Ixodidae* và *Argasidae*, *Ixodid* chiếm đa số và là trung gian truyền bệnh *Rickettsioses* chủ yếu. *Ixodid* là vector truyền bệnh của ít nhất 15 loài *Rickettsiaceae* gây sốt phát ban [48]. Ve không chỉ là vector truyền bệnh mà còn là ổ chứa. Sự phân bố về địa lý của ve phụ thuộc vào các yếu tố môi trường như khí hậu nóng ẩm và theo mùa trong năm [46].

- Bọ chét: Chúng phân bố khắp nơi trên thế giới và ký sinh ở động vật có vú nhỏ. Đây là vector truyền bệnh chủ yếu trong các bệnh truyền nhiễm lây truyền qua động vật. Trong nhóm bệnh do *Rickettsiaceae*, bọ chét là trung gian truyền bệnh của *R. typhi* và *R. felis*. Tuy nhiên, con đường lây nhiễm của 2 loài này thì hoàn toàn khác nhau. *R. felis* nhiễm vào cơ thể người từ nước bọt của bọ chét qua vết đốt, còn *R. typhi* thì nhiễm từ phân bọ chét qua vết đốt hoặc vết xước trên da [49], [50].

- Chấy, rận: gồm hai loài truyền bệnh ở người là *Pediculus humanus humanus* và *Pediculus humanus corporis*. Chúng là vector của ít nhất 3 bệnh ở người như sốt phát ban dịch tễ do *R. prowazekii*, sốt tái phát do *Borrelia recurrentis* và sốt mương do *Bartonella Quintana*. Chấy, rận chỉ là vector truyền bệnh *R. prowazekii* mà không phải là ổ chứa. Con đường lây truyền bệnh là từ phân của chấy rận xâm nhập qua vết xước ở trên da [51].

Các vector truyền bệnh do *Rickettsiaceae* được mô tả như ở Hình 1.3.



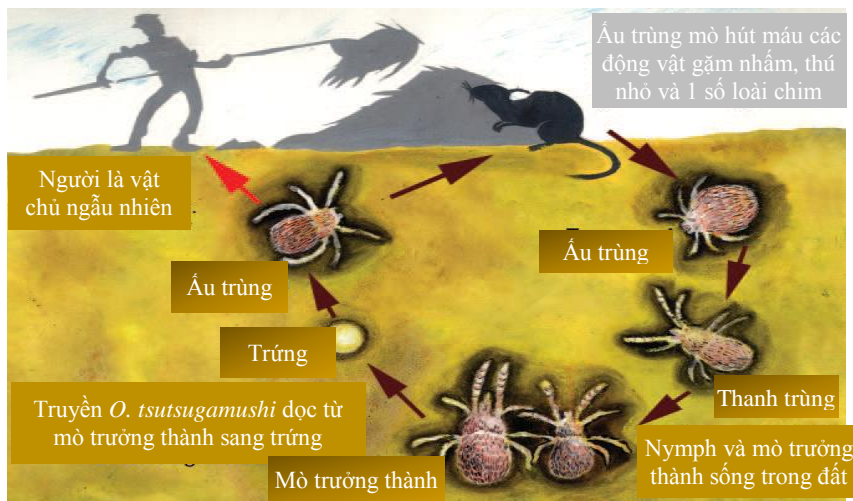
**Hình 1.3. Các vector lây truyền tác nhân gây bệnh do *Rickettsiaceae***

(Nguồn: Merhej Vicky (2014), *Infection, Genetics and Evolution*) [52]

- Mò *Leptotrombidium* là vector truyền bệnh của *Orientia tsutsugamushi* [25], [53] và mò *Liponyssoides sanguineus* là vector truyền bệnh *Rickettsia akari* [54]. Mò phát triển qua 4 giai đoạn gồm trứng, ấu trùng, thanh trùng



và con trưởng thành. Ấu trùng là giai đoạn sống ký sinh duy nhất của mò trong vòng đời phát triển của nó. Sau khi nở, chúng bò lên cỏ hoặc những bụi cây thấp để chờ đợi vật chủ là người và các động vật gặm nhấm (chủ yếu là chuột) đi qua, khi đó ấu trùng mò bám vào da vật chủ để đốt và hút máu. Mò thường sống ở các bụi cây, bụi cỏ ẩm... phía trên là các vòm cây cao hoặc trong hang đá có các loài gặm nhấm sinh sống. Do đó, người bị mắc bệnh sốt mò là những người đi qua hoặc làm việc ở những nơi này như bộ đội, người làm nương rẫy, nông dân... Về mặt địa lý mò phân bố ở các nước Châu Á - Thái Bình Dương. Mật độ của mò thay đổi theo mùa, cao nhất là các tháng mùa mưa, có nhiệt độ và độ ẩm cao. Sự thay đổi về số lượng và mật độ của quần thể mò cũng như tỉ lệ mò nhiễm *O. tsutsugamushi* là yếu tố phản ánh mức độ lưu hành bệnh sốt mò ở các nước trong khu vực lưu hành bệnh - khu vực “tam giác mò” [55], [56], [57]. Vòng đời và sự lây truyền bệnh của ấu trùng mò được mô tả ở Hình 1.4.



**Hình 1.4. Mô tả vòng đời của mò *Leptotrombidium***

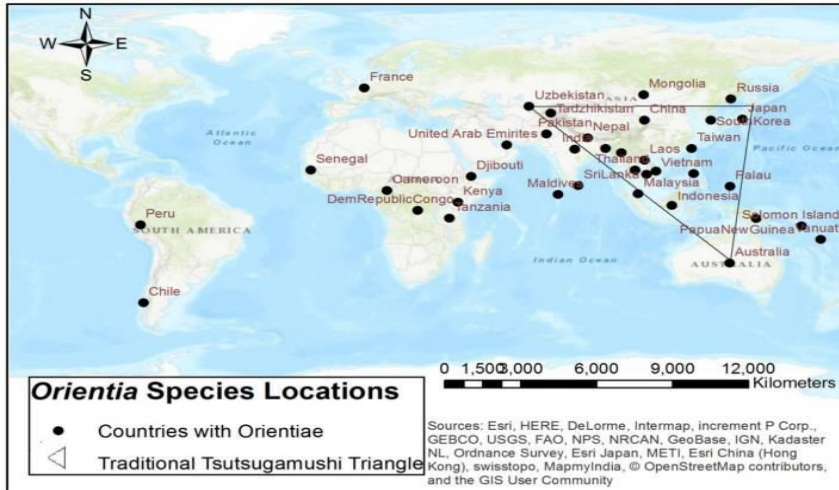
(Nguồn: Yeon Joo Jeong, Division of Infectious Medicine)[58]

## **1.2. Tình hình phân bố bệnh do *Rickettsiaceae***

*Rickettsiaceae* là các vi khuẩn kí sinh nội bào có vòng đời gồm 2 vật chủ là động vật có xương sống và động vật chân đốt. Các động vật chân đốt hút máu (ấu trùng mò, ve, bọ chét, chấy rận) đóng vai trò vừa là ổ chứa vừa là trung gian truyền bệnh. Quá trình nhiễm *Rickettsiaceae* từ động vật sang người diễn ra một cách tự nhiên khi phơi nhiễm với mầm bệnh. Sau khi bị nhiễm *Rickettsiaceae*, người bệnh sẽ có những biểu hiện bệnh khác nhau theo căn nguyên bệnh. Đặc điểm phân bố bệnh do *Rickettsiaceae* phụ thuộc vào căn nguyên gây bệnh và phân bố của ổ chứa và trung gian truyền bệnh.

### **1.2.1. Tình hình phân bố bệnh sốt mò (*Scrub Typhus Group*)**

Các nghiên cứu cho thấy, bệnh sốt mò được phát hiện ở hầu hết các nước ở Khu vực châu Á Thái Bình Dương - khu vực “tam giác sốt mò” với hơn 1 tỷ người có nguy cơ mắc bệnh và hơn 1 triệu ca bệnh mỗi năm, trải dài từ Nhật Bản, vùng Viễn đông của Nga, qua các nước Đông Nam Á sang phía Tây tới Afganistan và Pakistan, xuống phía Nam các đảo Tây Thái Bình Dương [53]. Có một số ít ca bệnh được báo cáo ở Trung Đông, Chile, và Châu Phi [47]. Sự phân bố địa lý của sốt mò được xác định bởi sự phân bố của trung gian truyền bệnh cũng là ổ chứa mà chủ yếu là mò *Leptotrombidium* [58]. Ấu trùng mò đốt và hút máu người, truyền *O. tsutsugamushi* sang người chỉ là ngẫu nhiên. Những người lao động ngoài trời, đặc biệt là những người lao động ở trên các cánh đồng ở khu vực nông thôn, có nguy cơ mắc bệnh cao hơn [47], [58]. Ở vùng nhiệt đới, sự lây truyền của bệnh sốt mò mang tính mùa rõ hơn bởi vì hoạt động theo mùa của trung gian truyền bệnh [47].



**Hình 1.5. Bản đồ phân bố sốt mò ở các quốc gia trên thế giới**

(Nguồn: Esri, HERE, DeLorme, Intermap, increment P Corp.)[4]

“Tam giác mò” và các nước xuất hiện bệnh, được đánh dấu “chấm đen”

### 1.2.2. Tình hình phân bố các nhóm bệnh sốt phát ban (Typhus Group)

Nhóm bệnh sốt phát ban gồm 2 loài là *R. prowazekii*, tác nhân gây sốt phát ban dịch tễ và *R. typhi*, tác nhân gây bệnh sốt chuột (hay còn gọi là sốt phát ban do bọ chét chuột truyền).

*R. prowazekii* là căn nguyên gây bệnh sốt phát ban dịch tễ, được truyền bệnh bởi rận ở người *Pediculus humanus humanus*. Bệnh sốt phát ban dịch tễ có liên quan đến các cuộc chiến tranh và di cư, xảy ra vào mùa đông khi thời tiết lạnh và điều kiện vệ sinh thấp kém là môi trường thuận lợi cho rận phát triển. Lịch sử cho thấy, đã xảy ra một số vụ dịch sốt phát ban lớn ở người như vụ dịch do *R. prowazekii* gây ra trong Chiến tranh thế giới I, có khoảng 20% quân lính chết do sốt dịch tễ và 12 triệu người Nga nhiễm bệnh từ năm 1917 đến 1925 trong đó 3 triệu người bị chết. Gần đây một số ca bệnh do *R. prowazekii* tản phát cũng được báo cáo xảy ra ở vùng núi Andes thuộc khu vực Nam Mỹ, ở Burundi và Ethiopia và Algeria [59].

*R. typhi* gây bệnh sốt chuột rải rác ở khắp nơi trên thế giới, phụ thuộc vào sự phân bố của ổ chứa chính là chuột *Rattus norvegicus* và *Rattus rattus*. Bọ chét chuột *Xenopsylla cheopis* là trung gian truyền bệnh sang người. *R. typhi* phát triển trong tế bào thành ruột của bọ chét và đào thải qua phân. Con người sẽ bị nhiễm bệnh khi da bị chầy xước mà tiếp xúc với phân của bọ chét có chứa vi khuẩn hoặc do hít phải phân của bọ chét có chứa vi khuẩn. Theo các nghiên cứu, bệnh sốt chuột phân bố rải rác ở khắp nơi trên thế giới [7], [60]. Ở các nước trong khu vực Đông Nam Á như Philippines, Singapore, Thái Lan,... sốt chuột đã được xác định là một căn nguyên gây sốt quan trọng cho cộng đồng và có thể lây lan thành dịch. Vì khu vực này là nơi có nhiều chuột, đặc biệt các loài *Rattus spp.* và trung gian truyền bệnh *Xenopsylla cheopis* [60].

### **1.2.3. Tình hình phân bố các bệnh nhóm sốt đốm (Spotted Fever Group)**

Bệnh sốt đốm vùng núi (Rocky Mountain Spotted fever - RMSF) do *R. rickettsii* với nhiều loại trung gian truyền bệnh như: ve *Dermacenter andersonii* ở phía Tây nước Mỹ, ve chó *Dermacenter variabilis* ở phía Đông nước Mỹ, ve *Rhycicephalus sanguineus* ở Mexico, và *Amblyomma cajennense* ở Nam Mỹ. Ngoài ra, một số loài *Rickettsiaceae* khác gây bệnh RMSF ở Bắc Mỹ như *R. bellii*, *R. parkeri*, *R. montanensis*, *R. amblyommii*, *R. peacockii* và một số loài khác chưa rõ tên [5], [61]. Báo cáo gần đây cho thấy, tại Mỹ số ca nhiễm RMSF đang có xu hướng tăng lên, từ 424 trường hợp năm 1993, tăng lên hơn 6.248 trường hợp năm 2017. Bệnh xảy ra quanh năm trong đó cao điểm từ tháng 4 và tháng 10 (90%) [5], [62].

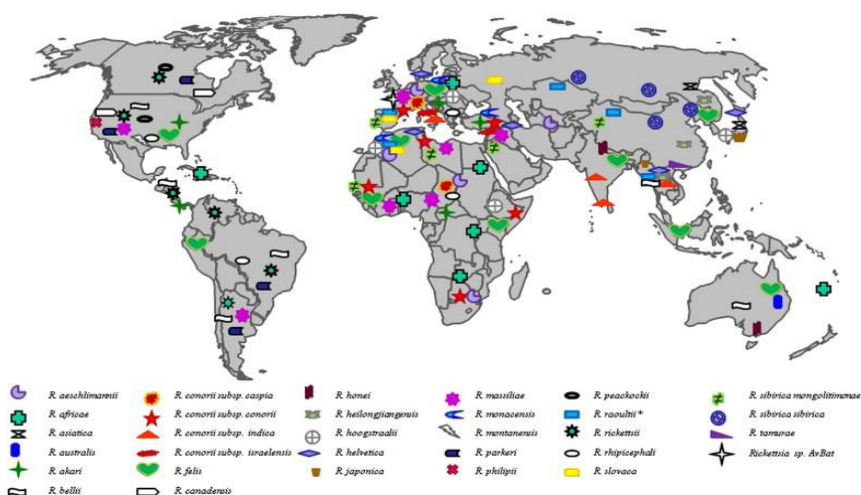
Bệnh sốt nổi mụn (bệnh rickettsialpox) do *R. akari* qua trung gian truyền bệnh là mò *liponysoides sanguineus*. Từ khi các ổ dịch bùng phát ở Mỹ, hiện nay bệnh đang có xu hướng tăng lên ở các nước Địa Trung Hải, Tây Ban Nha, Ý, Israel và có xu hướng lan rộng trên phạm vi toàn cầu [54], [62], [63].

Bệnh do *R. felis*: Đây là căn nguyên gây bệnh do bọ chét mèo *Ctenocephalides felis*. Bệnh đã được phát hiện ở bang California, bang Texas (Mỹ) và ở Yucatan (Mexico) [64].

Bệnh sốt Boutonneuse (hay Marseilles) do *R. conorii*, qua trung gian truyền bệnh là bọ chó *Rhipicephalus sanguineus*. Bệnh phân bố ở các nước Địa Trung Hải, Eurasia, Ấn Độ, Châu Phi [62].

Bệnh sốt phát ban do ve truyền ở Bắc Á do *R. sibirica* gây ra, qua trung gian truyền bệnh là hơn 20 loài ve khác nhau. Bệnh phân bố từ vùng viễn đông Siberia của Nga, tới Bắc Trung Quốc, Pakistan và Châu Âu.

Bệnh do một số *Rickettsiaceae* khác: Bệnh do *R. slovaca*, truyền bệnh bởi ve *Dermacentor marginatus* gây viêm não màng não ở một số nước Châu Âu. Bệnh do *R. helvetica*, truyền bệnh bởi ve *Ixodes ricinus* gây viêm cơ tim phát hiện ở một nước Châu Âu. Bệnh do *R. africae*, truyền bệnh bởi ve *Amblyomma*. *R. australis*, *R. honei* và *R. japonica* là các căn nguyên gây sốt phát ban do ve truyền gặp ở các nước như Úc, Flinder Island và Nhật Bản [62].



**Hình 1.6. Bản đồ phân bố các bệnh sốt phát ban do Rickettsiaceae**  
(Nguồn: Merhej Vicky (2014), *Infection, Genetics and Evolution*)[52]

### 1.3. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh do *Rickettsiaceae*

Trong những ngày đầu khởi bệnh, biểu hiện lâm sàng của các bệnh do *Rickettsiaceae* thường không đặc hiệu và giống với những bệnh sốt vi rút khác, với các biểu hiện như: sốt, đau đầu, đau cơ, có thể có kèm theo buồn nôn, nôn và ho. Ở giai đoạn tiến triển, có thể xuất hiện các biểu hiện lâm sàng như: phát ban (dạng ban dát, ban dát sần hoặc ban phỏng), vết loét ở da, có thể có viêm phổi kẽ và viêm não màng não. Biến đổi cận lâm sàng hay gặp như hạ tiểu cầu, tăng enzyme gan, hạ albumin và hạ natri máu; số lượng bạch cầu có thể bình thường hoặc tăng nhẹ. Bệnh nhân thường đáp ứng tốt với kháng sinh đặc hiệu (doxycyclin và chloramphenicol). Nếu bệnh nhân không được điều trị hoặc điều trị muộn có thể xuất hiện các biến chứng như: viêm phổi, viêm não màng não, suy gan, suy thận, thậm chí suy đa phủ tạng và tử vong [1], [2].

Trong phạm vi nghiên cứu của đề tài, tác giả tổng hợp y văn về biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng và biến chứng thường gặp của 3 bệnh phổ biến, đại diện cho 3 nhóm bệnh do *Rickettsiaceae* gây ra là: bệnh sốt mò (*Scrub typhus*) do *O. tsutsugamushi*, bệnh sốt chuột (*Murine typhus*) do *R. typhi* và bệnh sốt đốm vùng núi (*RMSF*) do *R. rickettsii*.

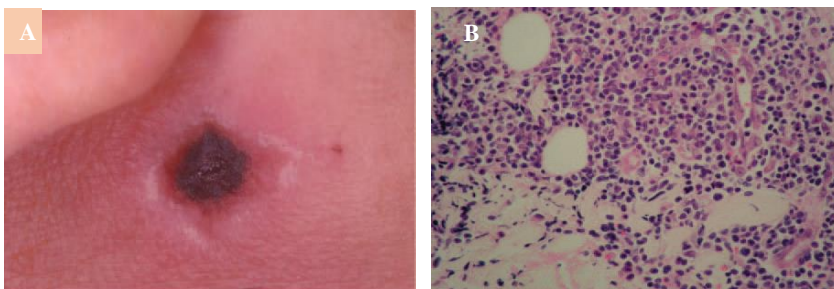
#### 1.3.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh Sốt mò

Bệnh Sốt mò do *Orientia tsutsugamushi* (trước đây gọi là *Rickettsia tsutsugamushi*) gây ra, qua trung gian truyền bệnh là mò *Leptotrombidium*.

Sau khi bị nhiễm *Orientia* từ 7 đến 17 ngày (trung bình 11 ngày), người bệnh sẽ khởi phát bệnh với biểu hiện cấp tính (sốt cao đột ngột sau 1 đến 2 ngày) hoặc bán cấp (sốt cao sau một vài ngày mệt mỏi, đau đầu, sốt nhẹ) [65], [66]. Trong quá trình tiến triển, các triệu chứng thường gặp ở bệnh nhân là: đau đầu, đau cơ, có thể có ho, buồn nôn, nôn, thay đổi ý thức; vết loét ở da tại vị trí mò đốt, phát ban, sung hạch và gan lách to [1], [25]. Cụ thể như:

- **Sốt:** Bệnh nhân thường sốt liên tục, đôi khi sốt dao động; nhiệt độ có thể lên trên 40°C. Trong giai đoạn đầu, bệnh nhân thường có cảm giác ớn lạnh hoặc lạnh run, trong giai đoạn sau chủ yếu bệnh nhân sốt nóng. Các triệu chứng cơ năng thường đi kèm với sốt là đau đầu, đau mỏi cơ [67], [68].

- **Vết loét ngoài da:** Tỷ lệ gặp vết loét ở trên da từ 11 - 100% tùy theo từng nghiên cứu [68]. Tại chỗ mò đốt xuất hiện một nốt sẩn nhỏ không đau, không ngứa. Nốt sẩn sau đó tiến triển thành nốt phỏng có quầng đỏ xung quanh. Khoảng 5 ngày sau, nốt phỏng vỡ, tạo thành một vết loét nông, hình tròn hoặc hình bầu dục, đường kính từ 3 đến 15mm. Vết loét sau đó tiết dịch, tạo thành lớp vảy màu nâu hoặc nâu đen, sau 1 tuần, lớp vảy có thể bị bong ra, để lộ một vết loét nông, bờ nổi gờ, có màu đỏ, không đau (Hình 1.7).

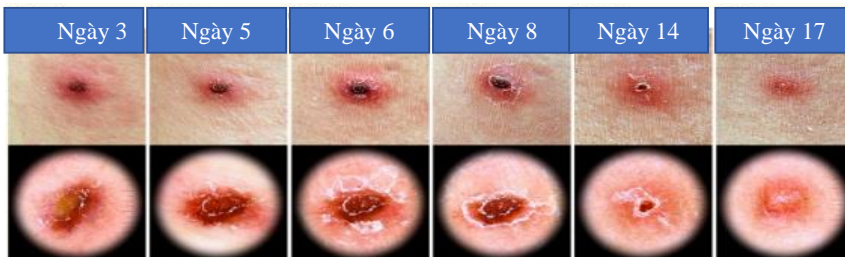


**Hình 1.7. Hình ảnh đại thể và vi thể vết loét ở bệnh nhân sốt mò**

(Nguồn: Yeon, *Scrub Typhus: Clinical, Pathologic and Imaging Findings*) [58]

Hình A: Ảnh đại thể vết loét: đóng vảy màu đen, bao quanh bởi quầng hồng

Hình B: Mô học của vết loét (Nhuộm hematoxylin-eosin, phóng đại 400 lần)



**Hình 1.8. Hình ảnh tiến triển của vết loét theo thời gian**

(Nguồn: Jin Park, *Evolution of Eschar in Scrub Typhus*) [69]

- *Phát ban*: Theo các nghiên cứu, phát ban thường xuất hiện vào cuối tuần thứ nhất của bệnh, dạng dát hoặc dát sẩn, đầu tiên ban xuất hiện ở thân, sau đó lan ra các chi, hoặc mọc không có thứ tự, tồn tại khoảng 4 đến 5 ngày. Một số bệnh nhân có ban thưa và mờ, chỉ xuất hiện thoáng qua [67]. Tỷ lệ gặp phát ban gặp trong nghiên cứu của tác giả Bùi Đại là 72% [70], Berman và Kundin là 34% [71] và Hamaguchi là 31,2% [68].

- *Viêm kết mạc*: Cùng mạc mắt xung huyết đỏ, các mạch máu giãn, có thể đi kèm với cảm giác rát và sợ ánh sáng cũng được mô tả trong sốt mò với tần suất khoảng 29% [71].

- *Sung hạch*: Sung hạch thường xuất hiện vào cuối tuần thứ nhất của bệnh. Theo Bùi Đại, triệu chứng này gặp ở 91% số bệnh nhân, hạch gần khu vực vết loét có kích thước từ 1 đến 2 cm, di động, không đau, vùng da trên hạch không biến đổi. Hạch toàn thân thường xuất hiện muộn hơn hạch tại chỗ và thường có kích thước nhỏ hơn [69]. Một số tác giả cũng gặp sung hạch từ 63,7% - 85% [71], [72].

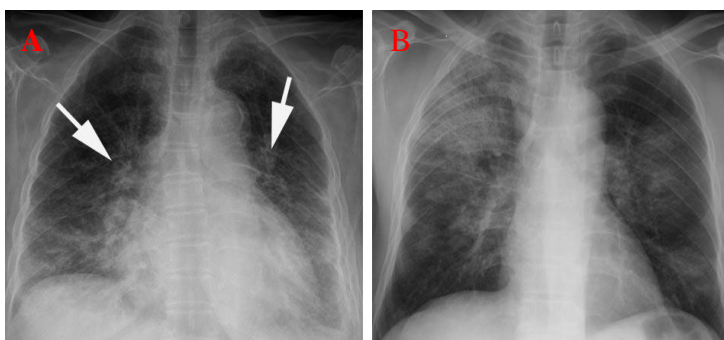
- *Gan to và lách to*: Gan to và lách to thường xuất hiện vào cuối tuần bệnh thứ nhất. Tỷ lệ gan to, lách to trong nhiễm *Rickettsiaceae*, theo các tác giả, gặp từ 43% (Berman và Kundin) [71], đến 49,6 % (Hamaguchi) [68].

Biến đổi cận lâm sàng hay gặp ở bệnh nhân sốt mò là giảm tiểu cầu (28,6% - 45,0%), tăng bạch cầu (30,9% - 40,4%), tăng enzyme gan (67,0% - 95,0%), hạ albumin (41% - 67,2%), hạ natri máu (50% - 60%), tăng bilirubin (5,4% - 16,7%) và suy thận (7,7 - 18,0%) [68], [73].

Các biến chứng có thể gặp ở bệnh nhân sốt mò như: viêm phổi gặp từ 35% - 72% [68], [74], thường là viêm phổi kẽ (có thể viêm phổi ARDS), kèm theo tràn dịch màng phổi 1 hoặc 2 bên (12% - 43%) [24], [75]; Ngoài ra cũng gặp các biến chứng khác như sốc nhiễm khuẩn (7,8% - 23,1%), suy gan (26,5% - 34,0%), viêm não màng não (17,4% - 23,3%), suy thận (18,0% - 31,2%), xuất huyết tiêu hóa (2% - 5,5%) và suy đa tạng (34%). Tỷ lệ tử vong có thể từ 1,2% đến 9,0%, tùy theo từng nghiên cứu [68], [73], [76], [77].



Theo nghiên cứu của George M., các biểu hiện như vàng da, hạ huyết áp cần dùng vận mạch, viêm phổi ARDS cần thở máy, suy thận là các yếu tố có liên quan đến tử vong ở bệnh nhân sốt mò [76], [78].



**Hình 1.9. Hình ảnh viêm phổi kẽ gấp trong sốt mò**

(Nguồn: Yeon, *Scrub Typhus: Clinical, Pathologic and Imaging Findings*) [58]

Hình A: Tổn thương dạng lưới. Hình B: Tổn thương dạng lưới nốt

### 1.3.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh Sốt chuột

Sốt chuột (Murin Typhus) do *R. typhi* gây ra qua trung gian truyền bệnh là bọ chét chuột (*Xynopsylla cheopis*).

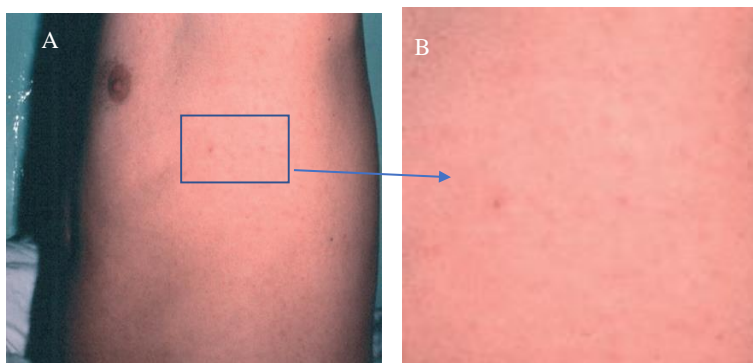
Sau khi bị mầm bệnh xâm nhập, bệnh nhân thường trải qua giai đoạn ủ bệnh kéo dài từ 1 đến 2 tuần trước khi khởi phát bệnh [79]. Bệnh thường khởi phát với các triệu chứng không đặc hiệu như: sốt (93 - 100%), đau đầu (10 - 91%), đau cơ (8 - 10%), buồn nôn, nôn (14 - 59%) [80], [81].

Trong quá trình tiến triển của bệnh có thể xuất hiện ban trên da (3% - 80%), thường là ban dát hoặc dát sần và gặp người da trắng nhiều hơn người da đen. Ban thường xuất hiện ở thân mình (88%), sau đó lan ra tay, chân (3%). Tuy nhiên, trên 45% mọc ban ở bệnh nhân không theo tuần tự trên; ban xuất huyết dưới da cũng gặp 13%. Ngoài ra có thể có các triệu chứng tiêu hóa như buồn nôn (48%), nôn (40%), chán ăn (35%) và các biểu hiện hô hấp như ho (14% - 44%). Một số nghiên cứu ghi nhận gan to (24%) và lách to (10%); không gặp sưng hạch và vết loét trên da ở bệnh nhân sốt chuột.

Bệnh sốt chuột thường lành tính, một số ít trường hợp xuất hiện các biến chứng như rối loạn thần kinh trung ương (17%) với các biểu hiện rối loạn ý thức, co giật hoặc liệt thần kinh khu trú, suy thận và viêm phổi [82].

Biến đổi cận lâm sàng gặp ở bệnh nhân sốt chuột là: giảm bạch cầu nhẹ cùng với giảm tiểu cầu gặp ở 25% - 50% trong 7 ngày đầu của bệnh. Sau đó tăng bạch cầu nhẹ (gặp < 1/3 trường hợp). Đôi khi gặp Prothrombin kéo dài, nhưng hiếm khi gặp đông máu nội mạc rải rác. Tăng enzyme gan ALT gặp ở hầu hết các bệnh nhân (67% - 92%); hạ natri gặp 45%, hạ calcimáu gặp 79% và giảm albumin máu gặp 89% do vi khuẩn gây tổn thương tế bào nội mạc mạch máu. Dịch não tủy bình thường hoặc có tăng nhẹ protein giống như viêm não màng não do các vi rút khác [83].

Nếu được chẩn đoán và điều trị đặc hiệu, bệnh nhân sẽ đáp ứng tốt như hết sốt trung bình sau 3 ngày sau điều trị. Nếu bệnh nhân không được chẩn đoán và điều trị kịp thời, bệnh có thể tiến triển nặng (10%) và tử vong (4%) [79]. Các yếu tố liên quan đến bệnh nặng đã được ghi nhận bao gồm tăng bạch cầu, tăng creatinin máu, tuổi cao, nhập viện và điều trị muộn [84]. Nếu bệnh nhân thiếu yếu tố G6DP, có bệnh huyết cầu tố và thalassemia thì sẽ làm tăng tỷ lệ viêm gan và vàng da [85].



**Hình 1.10. Hình ảnh ban ở bệnh nhân sốt chuột**

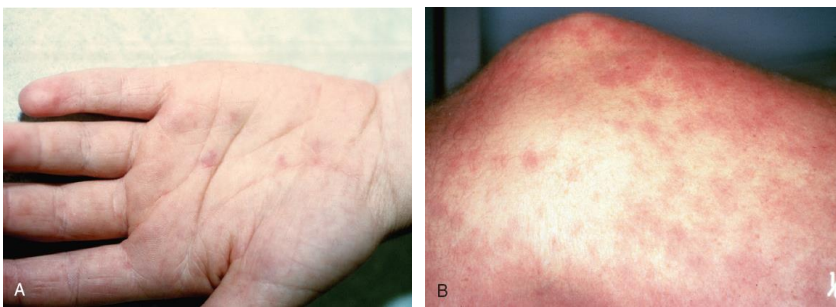
(Nguồn: Lucas S. B, *Principles and Practice of Infectious Diseases 8<sup>th</sup>*) [79]

### 1.3.3. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh sốt đốm vùng núi

Bệnh sốt đốm vùng núi (RMSF) do các loài *R. rickettsii* lây truyền qua môi giới trung gian truyền bệnh là các loài ve *Dermacenter*.

Sau thời kỳ ủ bệnh từ 2 - 14 ngày (trung bình 7 ngày), bệnh thường khởi phát với biểu hiện sốt, đau đầu và đau cơ. Ngoài ra các triệu chứng tiêu hóa có thể gặp như buồn nôn, nôn, tiêu chảy và đau cứng bụng do viêm dạ dày - ruột cấp. Trong các biểu hiện lâm sàng, phát ban là dấu hiệu có giá trị chẩn đoán, xuất hiện khoảng 49% trong 3 ngày đầu của bệnh và tăng lên 88% - 90% sau 3 - 5 ngày khởi phát sốt. Ban thường xuất hiện ở cổ tay, cổ chân, hoặc ở ngực sau đó lan ra toàn thân (36% - 82%). Hoại tử da gặp 4% bệnh nhân do tổn thương vi tuần hoàn, thường hoại tử đầu chi. Hiếm gặp vết loét trên da ở bệnh nhân sốt đốm vùng núi [61].

Biến đổi cận lâm sàng có thể gặp ở bệnh nhân sốt đốm như: thiếu máu (5 - 30%), hạ tiểu cầu, hạ natri máu (50%), tăng LDH và tăng CK do tiêu cơ. Ngoài ra có thể gặp suy thận, viêm phổi, tràn dịch màng phổi, suy gan cấp (thường gặp ở những người da đen thiếu G6DP). Các yếu tố tiên lượng ở bệnh nhân sốt đốm là thời gian bệnh nhân được điều trị đặc hiệu, thời gian phát ban sau sốt, suy gan, suy thận và sốc. Các di chứng có thể gặp ở bệnh nhân sốt đốm vùng núi là rối loạn thần kinh hoặc cắt cụt chi [61], [86].



**Hình 1.11. Hình ảnh ban ở bệnh nhân sốt phát ban nổi mụn (MRSF)**  
(Nguồn: David H. Walker, *Principles and Practice of Infectious Diseases 8<sup>th</sup>*) [61]

#### 1.4. Xét nghiệm chẩn đoán nhiễm *Rickettsiaceae*

Hiện nay, việc chẩn đoán bệnh do *Rickettsiaceae* có 3 nhóm phương pháp chính là: phương pháp huyết thanh học (Weil - Felix, ELISA, IFA,...), phương pháp nuôi cấy phân lập trực tiếp trên tế bào và phương pháp sinh học phân tử (PCR, Realtime PCR,...).

##### 1.4.1. Các phương pháp chẩn đoán huyết thanh học

###### 1.4.1.1. Phương pháp Weil - Felix

Phương pháp Weil - Felix được báo cáo lần đầu tiên vào năm 1916 bởi Edmund Weil và Arthur Felix. Phương pháp này đã được áp dụng để chẩn đoán *Rickettsiaceae* trong một khoảng thời gian dài trên toàn thế giới [12]. Đây là phương pháp chẩn đoán đơn giản dựa trên sự phản ứng chéo xảy ra giữa các kháng thể được tạo ra trong giai đoạn nhiễm *Rickettsiaceae* cấp tính với các kháng nguyên dòng OX (OX19, OX2, OXK) của các loài *Proteus*. Trong đó, các *Rickettsiaceae* nhóm sốt phát ban (*R. prowazekii*, *R. typhi*) phản ứng với *P. vulgaris* OX19; nhóm sốt mò (*O. tsutsugamushi*) phản ứng với *P. mirabilis* OXK; nhóm sốt đốm (*R. rickettsii*, *R. africae*, *R. japonica*,...) phản ứng với *P. vulgaris* OX2 và OX19 [87]. Phương pháp Weil - Felix được thực hiện 2 cách.

- Cách thứ nhất: Chuẩn bị một lam kính, nhỏ một giọt (50 - 100  $\mu$ l) huyết thanh bệnh nhân lên bề mặt lam kính. Bổ sung 1 giọt kháng nguyên muốn kiểm tra, trộn lẫn hỗn hợp trong 1 phút. Kết quả dương tính khi có xuất hiện sự kết dính, tương ứng ngưỡng kháng 1:20.

- Cách thứ hai: Sử dụng 0,25% phenol làm chất pha loãng, sau đó pha loãng một dãy các ống 1ml có nồng độ huyết thanh bệnh nhân hơn kém nhau hai lần. Một giọt dung dịch kháng nguyên được thêm vào mỗi ống, trộn đều và ủ ở nhiệt độ 50 - 55°C trong thời gian từ 4 - 6 giờ. Khi các ống xuất hiện kết tủa hay tạo hạt được cho là dương tính, với nồng độ ngưỡng phát hiện khoảng 1:320.

Tuy nhiên, phương pháp này có hạn chế là độ nhạy và độ đặc hiệu thấp. Một vài nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng, xét nghiệm này có độ nhạy khoảng 33% và độ đặc hiệu 46% [88]. Vì vậy, phương pháp Weil- Felix đang dần được thay thế bằng các phương pháp huyết thanh học khác, như xét nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA), xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (IFA) - được xem là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán bệnh. Tuy nhiên, tại các cơ sở nhỏ hạn chế về mặt kỹ thuật, xét nghiệm Weil- Felix vẫn là một công cụ có thể áp dụng trong chẩn đoán các căn nguyên gây bệnh sốt do *Rickettsiaceae*.

#### 1.4.1.2. Xét nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA)

Xét nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (Enzyme Linked Immunosorbent Assay - ELISA), còn được gọi là Enzyme Immunoassay (EIA), là một kỹ thuật ứng dụng nguyên lý kháng nguyên - kháng thể để phát hiện sự hiện diện của một kháng thể hoặc kháng nguyên trong mẫu.

Năm 1971, Peter Perlmann và Eva Engvall tại Đại học Stockholm - Thụy Điển, Anton Schuurs và Bauke van Weemen ở Hà Lan đã độc lập xuất bản các bài báo tổng hợp các kiến thức từ những phương pháp trước đây để mô tả đầy đủ phương pháp ELISA. Nguyên lý của ELISA chính là dựa vào tính đặc hiệu kháng nguyên - kháng thể và gồm các bước cơ bản sau: Gắn kháng nguyên chưa biết lên bề mặt. Dùng kháng thể đã biết trước đã được gắn enzyme “rửa” qua bề mặt đó. Thêm vào một cơ chất, enzyme sẽ biến đổi cơ chất này và tạo tín hiệu có thể xác định được. Giữa mỗi bước, các đĩa thường được rửa bằng dung dịch tẩy nhẹ để loại bỏ các protein hoặc các kháng thể không gắn. Sau bước rửa cuối cùng, cơ chất của enzyme được thêm vào để tạo ra tín hiệu có thể nhìn thấy, giúp chỉ ra số lượng kháng nguyên trong mẫu [89].

Do có những ưu điểm về độ nhạy, độ đặc hiệu và khả năng sản xuất kit thương mại, ELISA được khuyến cáo sử dụng như xét nghiệm chuẩn cho

chẩn đoán các loài *Rickettsiaceae* ở vùng bệnh lưu hành. Tuy nhiên phương pháp này còn những hạn chế trong việc chẩn đoán bệnh ở giai đoạn sớm do cơ thể chưa kịp sinh kháng thể hoặc kháng thể còn ở nồng độ thấp [90].

#### 1.4.1.3. Xét nghiệm kháng thể miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (IFA)

Xét nghiệm kháng thể miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (Indirect Fluorescent Antibody - IFA) lần đầu tiên được Bozeman và cộng sự mô tả vào năm 1963. Sau đó, nó đã được thay đổi để cho phép sử dụng lượng huyết thanh và kháng nguyên nhỏ hơn. Hiện nay phương pháp này được sử dụng phổ biến nhằm chẩn đoán nhanh chóng bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*.

Phương pháp miễn dịch huỳnh quang có độ nhạy cao. Tuy nhiên sự khác nhau giữa các loài *Rickettsiaceae* khó phân biệt do có phản ứng chéo đối với các kháng thể. Nhằm khắc phục hạn chế đó, một phương pháp được phát triển bởi phòng thí nghiệm tham chiếu *Rickettsiaceae* của Úc đã tối ưu hoá phương pháp này, tăng giá trị ngưỡng phát hiện lên 1:128 nhằm giảm tỉ lệ dương tính giả. Vì vậy, IFA đang được xem là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán huyết thanh học.

Tuy nhiên, gần đây các phương pháp chẩn đoán bằng sinh học phân tử đã được kiểm chứng có thể giúp chẩn đoán nhanh chóng, chính xác hơn ở giai đoạn đầu của bệnh [91]. Trong một nghiên cứu mới đây của Cherry Lim và cộng sự (2015), 24 bệnh nhân bị nhiễm sốt *Dengue*, được kiểm tra bằng IFA IgM - STG cho kết quả 5 bệnh nhân dương tính. Trong khi đó với các xét nghiệm nuôi cấy tế bào, hay phương pháp PCR đều cho kết quả âm tính. Kết quả trên cho thấy, độ đặc hiệu của phương pháp IFA thấp hơn so với phương pháp PCR [92].

#### 1.4.2. Phương pháp nuôi cấy phân lập mầm bệnh

*Rickettsiaceae* là vi khuẩn ký sinh nội bào bắt buộc, sự phát triển của *Rickettsiaceae* phụ thuộc vào sự xâm nhập, tăng trưởng, và nhân bản trong tế

bào chất của tế bào chủ [9]. *Rickettsiaceae* không thể nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng nhân tạo, chỉ có thể nuôi cấy trong mô hoặc trong tế bào (mô phôi). Phôi gà là môi trường thích hợp để nuôi cấy vi khuẩn này, sau đó nhuộm Giemsa hoặc Macchiavello để tìm mầm bệnh bằng các phản ứng kháng nguyên - kháng thể với huyết thanh đặc hiệu. Đây là một phương pháp được phát triển bởi Ernest William Goodpasture và các đồng nghiệp của ông tại Đại học Vanderbilt vào đầu những năm 1930. Phương pháp này có thể được sử dụng để chẩn đoán và có độ nhạy cao, nhưng có thể phải mất đến 60 ngày để cho một kết quả dương tính. Phương pháp này chỉ được sử dụng ở những phòng thí nghiệm đạt tiêu chuẩn an toàn sinh học cấp III trở lên, bởi việc nuôi cấy trực tiếp vi khuẩn sống dễ gây nguy hiểm cho người thực hiện thí nghiệm và lây lan ra môi trường bên ngoài [93]. Vì vậy, phương pháp nuôi cấy phân lập mầm bệnh không phổ biến trên lâm sàng để chẩn đoán bệnh do *Rickettsiaceae*.

#### **1.4.3. Các xét nghiệm sinh học phân tử**

Hiện nay với tiến bộ trong khoa học, kỹ thuật, kỹ thuật sinh học phân tử được ứng dụng ngày càng nhiều đã giúp nâng cao độ nhạy cũng như độ đặc hiệu của xét nghiệm chẩn đoán và phát hiện nhiễm *Rickettsiaceae* trên lâm sàng [32].

##### **1.4.3.1. Phương pháp khuếch đại chuỗi gen (PCR)**

Phương pháp Polymerase Chain Reaction - PCR dựa trên nguyên lý khuếch đại nhanh, nhiều bản sao các đoạn DNA mà không qua tạo dòng. Phương pháp này được Kary Mullis đưa ra năm 1985 và Saiki hoàn thiện năm 1988. Năm 1990, kỹ thuật PCR lần đầu được sử dụng để phát hiện *Orientia* ở bệnh phẩm lâm sàng và cho kết quả tốt. Từ đó đến nay, phương pháp PCR đã được sử dụng ngày càng phổ biến.

Phương pháp PCR được thực hiện hoàn toàn trong các eppendoff và trong thời gian ngắn ta có thể thu nhận rất nhiều bản sao DNA. Đây là một

phương pháp tổng hợp DNA dựa trên mạch khuôn là một trình tự đích DNA ban đầu, khuếch đại, nhân số lượng bản sao của khuôn này thành hàng triệu bản sao nhờ hoạt động của enzyme polymerase và một cặp mồi (primer) đặc hiệu cho đoạn DNA này. Mồi là những đoạn DNA ngắn, có khả năng bắt cặp bổ sung với một mạch của đoạn DNA khuôn và nhờ hoạt động của DNA polymerase đoạn mồi này được kéo dài để hình thành mạch mới.

PCR là phương pháp có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, nhanh chóng phát hiện DNA của vi khuẩn trong mẫu bệnh phẩm ở giai đoạn nhiễm *Rickettsia* cấp, trước khi có kháng thể đặc hiệu [94]. Các kỹ thuật PCR cải tiến gần đây như nested PCR, heminested PCR hoặc PCR lặp lại (reamplified PCR) và gần đây là realtime PCR và PCR - RFLP cho phép phát hiện *Rickettsiaceae* trong bệnh phẩm lâm sàng với độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn so với PCR ban đầu [9], [95].

#### 1.4.3.2. Phương pháp khuếch đại chuỗi gen lồng (Nested PCR)

Nested PCR là một dạng thay đổi của PCR thường, trong đó hai cặp mồi PCR được dùng để khuếch đại đoạn DNA. Phản ứng nested PCR phải được thực hiện hai lần. Lần đầu, phản ứng PCR được thực hiện trong 15 đến 30 chu kỳ, với cặp mồi thứ 1, cho phép khuếch đại đoạn gen dài hơn đoạn gen cần xác định. Sản phẩm PCR lần 1 sau đó sẽ là mẫu cho PCR lần 2, cặp mồi thứ 2 sẽ bắt cặp phía trong của sản phẩm PCR lần 1 và khuếch đại đoạn gen cần xác định.

Ưu điểm của nested PCR là tăng độ đặc hiệu vì phản ứng PCR lần 2 chỉ xảy ra dựa trên sản phẩm của PCR lần 1. Đồng thời phương pháp này tăng độ nhạy vì tổng số chu kỳ nhân lên nhiều hơn (giảm ngưỡng phát hiện xuống tương đương từ 1 đến 10 bản copies trên 1 phản ứng). Tuy nhiên hạn chế của phương pháp này dễ lây nhiễm do phải chuyển mẫu giữa hai lần thực hiện phản ứng. PCR dùng sản phẩm tự hủy (Suicide PCR) là phương pháp PCR lồng giúp giảm thiểu dương tính giả do amplicons, dựa trên nguyên lý mỗi mồi chỉ tác dụng với 1 mảnh DNA đích. Phương pháp này có độ đặc hiệu 100% và độ nhạy 68% [96].



#### 1.4.3.3. Phương pháp khuếch đại chuỗi gen Real time PCR

Realttime PCR là kỹ thuật nhân bản DNA đích trong ống nghiệm lên hàng tỷ bản sao dựa vào các chu kỳ nhiệt và kết quả khuếch đại đích thể hiện ngay sau mỗi chu kỳ của phản ứng bằng cách thu nhận các tín hiệu huỳnh quang. Trong quá trình xảy ra phản ứng, có sản phẩm khuếch đại đặc hiệu xuất hiện trong ống PCR đầu dò đặc hiệu (Taqman probe) với trình tự đích sẽ bắt cặp vào sản phẩm khuếch đại và sẽ bị phân giải bởi enzyme taqpolymerase (nhờ hoạt tính 5'-3' exonuclease) khi tổng hợp sợi bổ sung ở giai đoạn kéo dài. Sự phân giải Taqman probe sẽ làm tách rời chất phát huỳnh quang (fluorophore) FAM ở đầu 5' khỏi chất hấp phụ huỳnh quang (quencher) ở đầu 3' của probe, nhờ vậy ống phản ứng sẽ phát huỳnh quang khi bị chiếu tia cực tím hay laser và sự phát huỳnh quang này sẽ được ghi nhận bởi đầu đọc realtime của máy.

Realttime PCR cho phép phát hiện tác nhân gây bệnh ở ngưỡng phát hiện rất thấp, kết quả định lượng trực tiếp theo thời gian và độ nhạy tương tự PCR lồng, đồng thời lại không có nguy cơ nhiễm bẩn. Do đó, hiện nay PCR định lượng đang là kỹ thuật sinh học phân tử được ưu tiên sử dụng để chẩn đoán Rickettsioses [95], [97], [98].

So với kỹ thuật PCR thường, kỹ thuật realtime PCR có nhiều ưu việt hơn như: Nguy cơ ngoại nhiễm thấp hơn (do là quá trình kín), nhanh hơn, độ đặc hiệu cao hơn và có khả năng định lượng chính xác nồng độ mẫu bệnh phẩm. Do những ưu việt trên, trong những năm gần đây, kỹ thuật realtime PCR đã được phát triển rộng rãi trong các phòng thí nghiệm để chẩn đoán các bệnh truyền nhiễm, đặc biệt là các bệnh nhiễm *Rickettsiaceae* và vi rút, bởi phương pháp này cho phép chẩn đoán nhanh, độ nhạy và độ đặc hiệu cao [95].

#### 1.4.3.4. Kỹ thuật PCR đa hình dùng enzyme giới hạn (PCR - RFLP)

Kỹ thuật PCR đa hình dùng enzyme giới hạn (PCR - RFLP) cho phép phân tích DNA sử dụng enzyme giới hạn và điện di điện trường xung phù hợp

để xác định kiểu gen mới. Dùng kỹ thuật PCR - RFLP để phân tích các protein rOmpA, rOmpB, 120 kDa, 17 kDa và gen tổng hợp citrate (gltA) và/hoặc kết hợp với kỹ thuật giải trình tự (sequencing) các sản phẩm DNA từ PCR đang trở thành phương pháp chính để xác định nhanh chóng các loài *Rickettsiaceae* và kiểu gen khác nhau. Khi phân tích thông tin tổng hợp các từ gen gltA và các gen quy định các protein rOmpA, rOmpB và 17 kDa bằng phương pháp PCR - RFLP sẽ giúp xác định được các loài và các kiểu gen khác nhau gây bệnh sốt mò và sốt phát ban do *Rickettsiaceae*.

#### 1.4.3.5. Giải trình tự gen nhiều Locus (Multilocus Sequencing Typing - MLST)

Kỹ thuật giải trình tự gen nhiều locus (MLST) dùng để phân tích các trình tự nucleotid của các gen có tính bảo tồn cao “housekeeping genes” để xác định mối liên quan giữa các trình tự giải được với các alen đã được biết. Khi so sánh các trình tự này với các chủng mẫu sẽ cung cấp thông tin đủ để phân biệt sự khác nhau giữa các căn nguyên mà không cần phải giải trình tự toàn bộ bộ gen. Kỹ thuật MLST đã được dùng để xác định các kiểu gen của *O. tsustugamushi* ở Thái Lan và Campuchia, cả 2 nghiên cứu đều dựa trên 7 gen bảo tồn “housekeeping genes” có chức năng lõi (core - function) [99], [100]. Kết quả 2 nghiên cứu trên đã cho thấy, có sự đa dạng và tái tổ hợp cao, mang tính địa phương của các quần thể *O. tsustugamushi* trong tự nhiên. Kết quả xét nghiệm MLST cũng cho thấy, 25% bệnh nhân nhiễm đồng thời nhiều chủng *O. tsustugamushi* khác nhau, có thể do nhiều loại mò đốt hoặc nhiều chủng cùng tồn tại trên một loại mò [99]. Nghiên cứu cũng cho thấy, giải trình tự gen mã hóa cho protein màng ngoài 56 kDa TSA bằng phương pháp MLST ít giá trị so với các gen mã hóa enzyme chuyển hóa ở trong nhân tế bào, mặc dù trình tự gen 56 kDa TSA được biết là có tính đặc hiệu và đáp ứng miễn dịch cao. Hiện nay chưa rõ phương pháp nào ưu việt hơn, cần tiến hành giải trình tự toàn bộ bộ gen để so sánh giữa 2 phương pháp trên [25].

## **1.5. Chẩn đoán bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

Chẩn đoán lâm sàng bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* nhìn chung còn gặp nhiều khó khăn do bệnh có biểu hiện đa dạng và không đặc hiệu. Việc chẩn đoán bệnh hiện nay dựa vào một số yếu tố như: tiền sử dịch tễ, tiêu chuẩn lâm sàng và xét nghiệm.

### **1.5.1. Chẩn đoán xác định bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

- Chẩn đoán ca bệnh nghi ngờ: Bệnh nhân sốt cấp tính chưa xác định được nguyên nhân có vết loét trên da hoặc các biểu hiện như đau đầu, phát ban, sưng hạch, tổn thương đa cơ quan như gan, phổi, thận và suy hô hấp cấp.

- Chẩn đoán ca bệnh có thể: Bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng nghi ngờ và có hiệu giá từ 1:80 trở lên với các kháng nguyên OX2, OX19 và OXK bằng xét nghiệm Weil-Felix, hoặc mật độ quang  $> 0,5$  OD đối với kháng thể IgM bằng xét nghiệm ELISA.

- Chẩn đoán ca bệnh xác định: Phát hiện DNA của *Rickettsiaceae* trong máu toàn phần hoặc mô vết loét của bệnh nhân bằng kỹ thuật PCR; hoặc xác định sự thay đổi hiệu giá kháng thể trong mẫu huyết thanh hồi phục so với mẫu huyết thanh cấp tính, bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (IFA) [101].

### **1.5.2. Chẩn đoán phân biệt**

Bệnh do *Rickettsiaceae* cần được chẩn đoán phân biệt với các bệnh sốt phát ban khác như: sởi, rubella, sốt xuất huyết Dengue [6]. Ngoài ra cần phân biệt với các bệnh sốt cấp tính khác như: Nhiễm *Leptospira*, sốt rét ác tính, bệnh thương hàn, cúm, nhiễm khuẩn huyết, ...[24], [102].

- Bềch sởi: sốt, với hội chứng viêm long rõ, dấu hiệu koplik (+), phát ban, ban thường mọc theo thứ tự từ đầu đến chân và không có vết loét trên da.

- Sốt xuất huyết Dengue: Sốt thường cấp diễn trung bình 6 - 7 ngày, ở Dengue cổ điển ban dát sần dày hơn, đau cơ khớp rõ hơn và ở Dengue xuất huyết ban xuất huyết hay xuất hiện khi bệnh nhân đã hết sốt và không có vết loét.

- Bệnh do *Leptospira* cũng có sốt, xung huyết, mắt đỏ, đau cơ, phát ban và sưng hạch nhưng không có vết loét đặc trưng, thường có xuất huyết dưới da.

- Thương hàn: Sốt kéo dài, li bì, mạch nhiệt phân ly nhưng đào ban rất thưa, bụng chướng hơi, óc ách hố chậu phải và không có nốt loét đặc trưng.

- Sốt rét: bệnh nhân sốt rét tiên phát có sốt liên tục, sau đó chuyển vào cơn sốt chu kỳ với 3 giai đoạn rét - nóng - vã mồ hôi; không có vết loét đặc trưng; xét nghiệm ký sinh trùng sốt rét dương tính.

## **1.6. Điều trị bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

### **1.6.1. Điều trị đặc hiệu**

Kháng sinh đặc hiệu được khuyến cáo dùng trong điều trị bệnh do *Rickettsiaceae* là doxycyclin, chloramphenicol và azithromycin. Các bệnh nhân được điều trị bằng kháng sinh đặc hiệu sẽ hết sốt sau 2 - 3 ngày. Tuy nhiên, do các kháng sinh này chỉ có tác dụng kìm khuẩn nên vi khuẩn *Rickettsiaceae* vẫn tồn tại trong hạch bạch huyết và hệ liên võng nội mô, có thể tái phát. Khuyến cáo sử dụng các kháng sinh điều trị đặc hiệu [1], [24], [102] như sau:

- Doxycyclin là thuốc được lựa chọn hàng đầu. Liều dùng là 100mg mỗi 12 giờ, kéo dài 7 đến 10 ngày.

- Chloramphenicol được dùng bằng đường uống hoặc đường tiêm với liều 2 gam mỗi ngày, chia 4 lần, dùng 5 - 7 ngày hoặc đến khi hết sốt 2 - 3 ngày.

- Azithromycin là lựa chọn thay thế, dùng để điều trị cho các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*, với liều khuyến cáo là 500 mg/ngày dùng trong từ 3 - 5 ngày. Azithromycin có thể chỉ định cho trẻ em dưới 8 tuổi và phụ nữ có thai.

### **1.6.2. Điều trị hỗ trợ**

Bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* cần được điều trị hỗ trợ như hạ sốt bằng paracetamol liều 10 - 15 mg/kg, uống cách 4 - 6 giờ, bồi phụ nước và điện giải. Áp dụng các biện pháp điều trị hỗ trợ khi có các biến chứng như truyền dịch, dùng các thuốc vận mạch khi bệnh nhân có sốc, hỗ trợ hô hấp bằng thở oxy hỗ

trợ hoặc thở máy nếu có Viêm phổi ARDS, truyền máu khi có thiếu máu, truyền albumin và bồi phụ điện giải khi có hạ albumin và hạ natri máu, lọc máu khi có tình trạng suy thận hoặc có sốc nhiễm khuẩn và suy đa phủ tạng.

## **1.7. Các nghiên cứu về bệnh do *Rickettsiaceae***

### **1.7.1. Các nghiên cứu trên thế giới về bệnh do *Rickettsiaceae***

#### **1.7.1.1. Nghiên cứu về đặc điểm dịch tễ và lâm sàng các bệnh do *Rickettsiaceae***

Bệnh sốt mò là bệnh đã được chú ý nghiên cứu và báo cáo ở nhiều nước trên thế giới như ở Bhutan, Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Thái Lan, Ấn Độ và Đài Loan,... Các tác giả đã đi sâu nghiên cứu, tìm hiểu về đặc điểm phân bố dịch tễ, đặc điểm môi giới trung gian truyền bệnh, đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, các biến chứng của bệnh, các phác đồ kháng sinh điều trị và các yếu tố tiên lượng kết quả điều trị bệnh [39], [40], [41], [44].

Bệnh sốt chuột do *R. typhi* gây ra lần đầu tiên được Mooser mô tả vào năm 1921, từ đó đến nay đã có nhiều tác giả quan tâm nghiên cứu tìm hiểu về đặc điểm phân bố dịch tễ [103], [104], biểu hiện lâm sàng [7], [105], [106] và biến chứng của bệnh [81], [107], cũng như các phương pháp chẩn đoán và phác đồ điều trị bệnh [108]. Tuy nhiên đến nay vẫn chưa có vắc xin phòng bệnh và bệnh vẫn tản phát hoặc thành các ổ dịch nhỏ ở nhiều nơi trên thế giới [79]. Các nghiên cứu đã cho thấy, bệnh sốt chuột là một trong những nguyên nhân gây bệnh quan trọng trong sốt chưa rõ nguyên nhân ở khu vực Đông Nam Á nói chung và Việt Nam nói riêng [7], [12], [68], [109], [110].

Bệnh sốt đốm vùng núi đá (RMSF) được Maxcy mô tả từ năm 1899, sau đó năm 1906 Ricketts đã phân lập được căn nguyên gây bệnh là *R. rickettsii*. Từ đó tới nay với sự phát triển của các kỹ thuật sinh học phân tử và xét nghiệm nuôi cấy tế bào, đã phát hiện ra nhiều loài *Rickettsia* gây bệnh mới (hơn 32 loài), phân bố và gây bệnh ở khắp nơi trên thế giới, mang đặc trưng theo từng khu vực, địa phương [4], [111]. Trong bối cảnh đó, các nhà nghiên

cứu đã tập trung tìm hiểu về đặc điểm phân bố dịch tễ, về ổ chứa và môi giới trung gian truyền bệnh; về đặc điểm lâm sàng cũng như các kỹ thuật chẩn đoán xác định; về các biện pháp điều trị và phòng bệnh một cách hiệu quả [61], [112]. Tuy nhiên vẫn còn nhiều điểm chưa rõ trong cơ chế bệnh sinh và các yếu tố dẫn đến bùng phát bệnh cũng như yếu tố nguy cơ nặng của bệnh. Vì vậy bệnh sốt phát ban và sốt đốm do *Rickettsiaceae* được coi là bệnh mới nổi và tái nổi, đang được các tác giả quan tâm nghiên cứu ở nhiều nước trên thế giới [5], [111].

#### 1.7.1.2. Nghiên cứu ứng dụng các kỹ thuật chẩn đoán nhiễm *Rickettsiaceae*

Gần đây, bên cạnh việc tiếp tục nghiên cứu nâng cao giá trị chẩn đoán của các xét nghiệm huyết thanh học bằng việc nghiên cứu phát triển các xét nghiệm chẩn đoán nhanh [87], [113], [114], [115], nhiều tác giả đang quan tâm nghiên cứu ứng dụng các kỹ thuật sinh học phân tử (realtime PCR, nested PCR,...) để xác định nhanh chóng, chính xác các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh cũng như đặc điểm di truyền và kháng nguyên của các loài *Rickettsiaceae* để từ đó nghiên cứu sản xuất vắc xin phòng bệnh một cách chủ động [57], [98], [116], [117]. Ngoài ra, các tác giả đã tiến hành nghiên cứu ứng dụng các kỹ thuật sinh học phân tử như giải trình tự gen (Sequencing), PCR-RLFP và MLST để giải trình tự các gen đặc trưng của các loài vi khuẩn như gen 56 kDa TAS để xác định kiểu gen của *Orientia tsutsugamushi* [118], [119], [120]; tiến hành giải trình tự toàn bộ bộ gen của các loài *Rickettsiaceae* để xác định đặc điểm cấu trúc di truyền đặc trưng, xác định sự tiến hóa của các loài [98], [121]. Ngoài ra, các tác giả đi sâu tìm hiểu về các gen động lực của loài *Rickettsiaceae* liên quan với mức độ nặng, tử vong của bệnh [3], [122], [123] và nghiên cứu sản xuất vắc xin phòng bệnh [124].

#### 1.7.1.3. Nghiên cứu về các phác đồ điều trị bệnh do *Rickettsiaceae*

Smadel là một trong những người đầu tiên thử nghiệm điều trị chloramphenicol trên người bệnh nhiễm *Rickettsiaceae* vào năm 1948. Kết quả

thử nghiệm cho thấy, chloramphenicol có hiệu quả điều trị tốt: bệnh nhân nhanh chóng cắt sốt, không bị biến chứng và khỏi bệnh một thời gian ngắn sau điều trị [125]. Từ năm 1950, các dẫn suất của tetracycline (doxycyclin) được thử nghiệm và đưa vào điều trị Rickettsioses. Từ đó doxycyclin được ưu tiên để điều trị Rickettsioses do ưu điểm là hấp thu tốt qua đường tiêu hoá, có thời gian bán thải kéo dài và ít tác dụng phụ [126]. Mặc dù một số nghiên cứu cho thấy phác đồ ngắn ngày (3 ngày) vẫn có hiệu quả điều trị, tuy nhiên, do là thuốc kim khuẩn nên các khuyến cáo hiện nay doxycyclin được dùng 100mg mỗi 12 giờ, kéo dài 7 đến 10 ngày, một số trường hợp có thể kéo dài đến 14 ngày [112].

Chloramphenicol được khuyến cáo sử dụng bằng đường uống hoặc tiêm, với liều là 500 mg mỗi 6 giờ, trong thời gian từ 5 đến 7 ngày hoặc dùng kéo dài tới sau khi hết sốt từ 2 -3 ngày [112]. Một thử nghiệm lâm sàng được Song J.H tiến hành tại Hàn Quốc, đánh giá hiệu quả điều trị giữa phác đồ doxycycline ngắn ngày (100mg mỗi 12 giờ, dùng trong 3 ngày) so với phác đồ tetracycline 7 ngày (500 mg mỗi 6 giờ). Kết quả cho thấy, không có sự khác biệt về thời gian cắt sốt giữa 2 nhóm [127]. Năm 1996, Watt và cộng sự thông báo về sự xuất hiện của một số chủng *O. tsutsugamushi* giảm nhạy cảm với doxycycline và chloramphenicol tại miền Bắc Thái Lan [128]. Tuy nhiên, khi tiến hành nghiên cứu phân tích gộp cho thấy, kháng sinh doxycyclin và chloramphenicol vẫn có tác dụng tốt trong điều trị ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* [129]. Kháng sinh chloramphenicol đã được thông báo là có nguy cơ gây thiếu máu do giảm sinh tủy ở một số bệnh nhân mắc cảm và chống chỉ định khi người mẹ ở thời điểm sắp sinh do nguy cơ gây hội chứng xám ở trẻ sơ sinh [130].

Kháng sinh azithromycin là lựa chọn thay thế, dùng để điều trị cho các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*. Ives và cộng sự đã nghiên cứu thử nghiệm

trên tế bào sợi của chuột cho thấy, các loài Rickettsia đều nhạy với azithromycin trên invitro [131]. Một thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên đã được thực hiện ở 93 bệnh nhân sốt mò tại Hàn Quốc sau đó để đánh giá hiệu quả giữa phác đồ azithromycin 500 mg liều đơn với phác đồ doxycyclin 200 mg/ngày, trong 7 ngày. Kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu quả giữa 2 phác đồ là tương đương về thời gian cắt sốt, thời gian nằm viện và tỷ lệ tái phát [132]. Một nghiên cứu thử nghiệm đa trung tâm cũng được tiến hành gần đây tại Thái Lan để đánh giá hiệu quả điều trị giữa phác đồ doxycyclin 200mg/ngày x 7 ngày với phác đồ azithromycin 500 mg/ngày x 3 ngày cho thấy azithromycin không ưu thế hơn doxycyclin về thời gian cắt sốt, nhưng lại ít tác dụng phụ hơn doxycyclin [133]. Kết quả phân tích gộp của Wee I. chỉ ra rằng azithromycin là thuốc tốt nhất khi so sánh hiệu quả điều trị và tác dụng phụ so với kháng sinh doxycyclin [134].

### ***1.7.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam về các bệnh do Rickettsiaceae***

#### ***1.7.2.1. Nghiên cứu về bệnh sốt mò***

Trong những năm 1920 và đầu 1930, một số ca sốt mò lẻ tẻ được mô tả trong y văn về biểu hiện lâm sàng bao gồm sốt, có vết loét kèm theo nổi hạch tại chỗ, và phản ứng huyết thanh trong giai đoạn hồi phục dương tính với Proteus X19. Sau năm 1945, sốt mò trở thành vấn đề y tế quan trọng, gây những tổn thất đáng kể cho Quân đội Pháp về lực lượng: 5708 người bị bệnh và 158 ca tử vong. Những nơi được coi là vùng dịch sốt mò tiềm tàng tại Việt Nam là: Lạng Sơn, Sơn La (miền Bắc), Đông Hà - Quảng Trị (miền Trung) và Bến Cát – Bình Dương (miền Nam). Trong thập niên 1960 và 1970, đã có báo cáo về các trường hợp sốt mò ở các quân nhân Mỹ đồn trú ở miền Nam Việt Nam [47], [71]. Ở miền Bắc Việt Nam, năm 1965, Bùi Đại và Nguyễn Hòe đã thông báo về 5 ca bệnh được chẩn đoán là sốt mò trên cơ sở vết loét đặc hiệu ngoài da và phản ứng huyết thanh OXK dương tính. Sau đó vụ dịch sốt mò đầu tiên được ghi nhận ở Sơn La vào tháng 6 năm 1965 với hàng trăm người bị bệnh.



Cuối những năm 1990, một số nghiên cứu về bệnh sốt mò dựa trên kinh nghiệm lâm sàng và xét nghiệm huyết thanh học (Weil - Felix hoặc ELISA) đã được thực hiện ở một số bệnh viện lớn như nghiên cứu của Đỗ Văn Thành và cộng sự tại Viện y học Lâm sàng các bệnh Nhiệt đới; Nguyễn Văn Sơn tại bệnh viện Nhi Trung ương; Nguyễn Trọng Chính tại bệnh viện Trung ương Quân đội 108; Lê Văn An, Phan Quận và cộng sự tại Bệnh viện Trung ương Huế [14], [22], [24], [25]. Các nghiên cứu đã mô tả về đặc điểm lâm sàng, biến đổi cận lâm sàng của bệnh và kết quả điều trị bệnh.

Năm 2001, tác giả Phạm Thanh Thủy đã tiến hành nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng, phương pháp chẩn đoán và điều trị bệnh sốt mò [14], kết quả nghiên cứu cho thấy, bệnh sốt mò chiếm 3,5% trong số bệnh nhân vào viện điều trị và chiếm 33,5% trong số bệnh nhân sốt không rõ nguyên nhân được khảo sát. Các bệnh nhân đến từ 24 tỉnh từ biên giới phía Bắc và Tây Bắc đến các tỉnh Bắc Trung bộ. Bệnh nhân bị mắc bệnh vào tất cả các tháng trong năm, cao điểm nhất là từ tháng 5 tới tháng 11. Đa số (56,2%) là người làm ruộng và 72,9% sống ở nông thôn. Kết quả nghiên cứu của tác giả Phạm Thanh Thủy sau đó đã được Sugihiro Hamaguchi tổng hợp và công bố [68].

Trong những năm gần đây, với sự phát triển của kỹ thuật sinh học phân tử (PCR) trong chẩn đoán, đã giúp chẩn đoán nhanh chóng và chính xác các bệnh do *Rickettsiaceae* gây ra. Một số tác giả đã quan tâm nghiên cứu về các kiểu gen của *Orientia* như: Veasna Duong và cộng sự (2011) tại miền Trung Việt Nam, trong 13 bệnh nhân được giải trình tự gen mã hóa protein 56 kDa TSA nhóm Karp 10/13(77%), TA763 2/13 (15.5%) và JGv 1/13 (7.5%) [57]. Nghiên cứu của Lê Viêt Nhiệm (2016) tại miền Trung Việt Nam cho thấy, bệnh Rickettsioses (sốt mò và sốt chuột) chiếm tỷ lệ 10,8% trong tổng số 378 bệnh nhân sốt cấp tính vào viện. Kết quả giải trình tự gen 56 kDa TAS của 14 chủng *O. tsutsugamushi* cho thấy, kiểu gen Karp chiếm 64,4%, Kawasaki chiếm 14,2%, Gilliam (14,2%) và TA716 là 7,1% [110]. Theo nghiên cứu của

Nguyễn Lê Khánh Hằng ở miền Bắc Việt Nam năm 2015 – 2016 cho thấy, 42/63 (67%) có xét nghiệm PCR dương tính với *O. tsutsugamushi*, kết quả giải trình tự gen phát hiện 4 nhóm kiểu gen là Karp (55%), TA763 (17%), Gilliam (17%), và Kato (12%) [135]. Qua các nghiên cứu trên cho thấy, có sự lưu hành và phân bố đa dạng các kiểu gen của *O. tsutsugamushi* tại Việt Nam.

#### 1.7.2.2. Nghiên cứu về bệnh sốt chuột

Miller là tác giả đầu tiên thông báo về sốt *Rickettsiaceae* do bọ chét truyền tại Việt Nam qua một loạt các trường hợp sốt xảy ra ở lính Mỹ đồn trú gần Nha Trang trong những năm 60 - 70 của thế XX [136]. Tuy nhiên, ngoài báo cáo của Miller và một số ca bệnh lẻ tẻ khác trong thời gian xảy ra chiến tranh tại Việt Nam, sốt chuột gần như không được thông báo. Đến năm 2006, Azuma và cộng sự Nhật Bản báo cáo một ca bệnh sốt chuột lây nhiễm ở miền Nam Việt Nam và được chẩn đoán khi quay về Nhật Bản [137]. Trước đó bệnh chưa từng được ghi nhận tại miền Bắc Việt Nam và chưa được chẩn đoán trên lâm sàng.

Năm 2001, tác giả Phạm Thị Thanh Thủy đã tiến hành nghiên cứu tại Bệnh viện Bạch Mai, xác định được 135 ca sốt chuột bằng xét nghiệm kháng thể miễn dịch huỳnh quang gián tiếp, chiếm 33,3% trong số bệnh nhân sốt cấp tính không rõ nguyên nhân vào viện. Nghiên cứu của tác giả cho thấy, bệnh gặp ở nam nhiều hơn ở nữ (73,33% và 26,67%), ở các lứa tuổi, bệnh nhân cư trú ở 18 tỉnh miền Bắc và Bắc Trung Bộ. Các ca bệnh xuất hiện vào các tháng trong năm, cao điểm từ tháng 2 đến tháng 6; bệnh nhân sống ở thành phố, nông thôn và không bệnh nhân nào thông báo bị bọ chét đốt [138].

#### 1.7.2.3. Nghiên cứu về bệnh do *Rickettsiae* khác

Nghiên cứu của Nguyễn Vũ Trung và cộng sự (2017) thực hiện tại ở miền bắc Việt Nam xác định tỷ lệ lưu hành các kháng thể với các loài *Rickettsiaceae* ở trong bệnh viện và cộng đồng. Kết quả cho thấy, tỷ lệ IgG dương tính thấp đáng ngạc nhiên ở các bệnh nhân nhập viện được chẩn đoán nhiễm *Rickettsiaceae*

trước đó (9,14%), trong đó IgG dương tính với nhóm sốt phát ban (6,5%) cao hơn so với nhóm sốt mò (1,1%) và sốt đốm (1,7%). Nghiên cứu ở cộng đồng cũng cho thấy có sự lưu hành kháng thể với cả ba nhóm bệnh do *Rickettsiaceae* với tỷ lệ khác nhau theo từng khu vực [16]. Tuy nhiên chưa có báo cáo về đặc điểm dịch tễ và lâm sàng bệnh do *Rickettsia* khác ở Việt Nam.

### **1.7.3. Những hạn chế cần nghiên cứu thêm về bệnh do *Rickettsiaceae***

Nghiên cứu dịch tễ về huyết thanh học cho thấy ở miền Bắc Việt Nam có sự lưu hành của cả ba nhóm bệnh *Rickettsiaceae* [14], [16], [33]. Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây mới chỉ mô tả về các đặc điểm dịch tễ, lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh sốt mò, rất ít nghiên cứu về bệnh sốt chuột [14], [22], [24], [25]. Chúng ta chưa biết về sự tồn tại, lưu hành, phân bố của các loài *Rickettsiaceae* khác nhau và tác nhân nào là tác nhân gây bệnh phổ biến nhất ở Việt Nam cũng chưa từng được xem xét. Các nghiên cứu cũng chưa đề cập đến đặc điểm sinh học phân tử của các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh và mối liên quan giữa đặc điểm kiểu gen với đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và mức độ nặng của bệnh cũng như các yếu tố tiên lượng bệnh nặng và tử vong cũng chưa được quan tâm nghiên cứu.

Bệnh *Rickettsiaceae* có bệnh cảnh lâm sàng đa dạng, không đặc hiệu và khó chẩn đoán trên lâm sàng. Một số báo cáo cho thấy vi khuẩn bắt đầu giảm nhạy cảm với các kháng sinh sử dụng (doxycyclin và chloramphenicol). Nếu chậm trễ chẩn đoán và điều trị đặc hiệu, bệnh có thể có các biến chứng nặng và thậm chí có thể gây tử vong. Do đó, cần tiến hành nghiên cứu để tìm hiểu về đặc điểm dịch tễ, lâm sàng, cận lâm sàng đặc trưng của các bệnh do *Rickettsiaceae* gây ra; các yếu tố tiên lượng nặng, tử vong liên quan với kiểu hình và kiểu gen của các bệnh do *Rickettsiaceae* là hết sức cần thiết. Qua đó, sẽ cung cấp thêm tri thức khoa học giúp thầy thuốc lâm sàng định hướng chẩn đoán và điều trị bệnh sớm, từ đó hạn chế biến chứng và giảm tỷ lệ tử vong của các bệnh do *Rickettsiaceae* gây ra ở nước ta.

## Chương 2

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bao gồm 142 bệnh nhân được chẩn đoán xác định nhiễm *Rickettsiaceae* vào điều trị tại bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương, trong thời gian từ tháng 3 năm 2015 đến tháng 3 năm 2018.

##### 2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

Bao gồm các bệnh nhân (từ 15 tuổi trở lên) vào viện điều trị, thỏa mãn các tiêu chuẩn lựa chọn như sau:

- Sốt cấp tính ( $\geq 3$  ngày) chưa xác định được căn nguyên;
- Và có biểu hiện lâm sàng nghi ngờ nhiễm *Rickettsiaceae* như có vết loét (Eschar) ở da và/hoặc có ít nhất một trong các biểu hiện: da xung huyết, cứng mạc mắt xung huyết, phát ban, sưng hạch, gan to, lách to;
- Và bệnh nhân hoặc người bảo hộ hợp pháp đồng ý tham gia nghiên cứu.

Bệnh nhân được chẩn đoán xác định là nhiễm *Rickettsiaceae* khi thỏa mãn các tiêu chuẩn lựa chọn ở trên và có kết quả xét nghiệm realtime PCR máu dương tính với *Rickettsiaceae* [101],[102].

##### 2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ bệnh nhân

- Bệnh nhân sốt có bằng chứng rõ ràng do căn nguyên nhiễm trùng khác hoặc không trùng như ung thư, bệnh hệ thống tự miễn.
- Bệnh nhân đang được chẩn đoán và điều trị suy gan, suy thận.
- Bệnh nhân có đồng nhiễm HIV.
- Bệnh nhân hoặc người bảo hộ hợp pháp không đồng ý tham gia vào nghiên cứu này tại bất kỳ thời điểm nào trong quá trình nghiên cứu.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế dưới dạng: tiền cứu, mô tả cắt ngang.

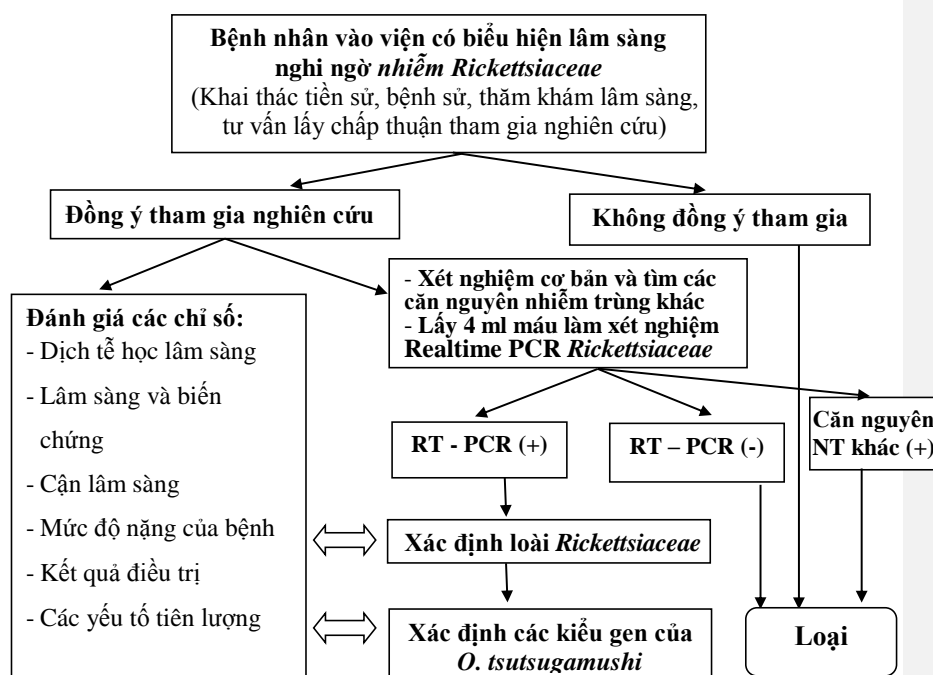
### 2.2.2. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu

Chọn mẫu thuận tiện theo thời gian nghiên cứu, lấy toàn bộ bệnh nhân đủ tiêu chuẩn chẩn đoán xác định nhiễm *Rickettsiaceae* vào điều trị tại Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương, từ tháng 3/2015 đến tháng 3/2018 để phân tích.

### 2.2.3. Quy trình nghiên cứu

#### 2.2.3.1. Sơ đồ tuyển bệnh nhân vào nghiên cứu

Bệnh nhân vào viện điều trị có các tiêu chuẩn theo mục 2.1.1 sẽ được tuyển vào nghiên cứu theo sơ đồ sau:



Sơ đồ 2.1: Sơ đồ tiến hành nghiên cứu

### 2.2.3.2. Các bước tiến hành

Bệnh nhân đủ tiêu chuẩn chọn vào nghiên cứu sẽ được giải thích kỹ về tình trạng bệnh và các bước tiến hành nghiên cứu:

- Lấy phiếu chấp thuận tham gia vào nghiên cứu.
- Hỏi bệnh nhân và/hoặc người nhà về tiền sử bệnh mạn tính, dịch tễ, khởi phát và diễn biến của bệnh, điều trị trước khi đến viện.

- Thăm khám lâm sàng, phát hiện các biểu hiện ở da, niêm mạc và các triệu chứng ở các hệ cơ quan của bệnh nhân.

- Làm các xét nghiệm và thăm dò cơ bản như: Công thức máu; đông máu cơ bản, sinh hóa máu đánh giá chức năng gan, thận, yếu tố viêm, điện giải đồ; tổng phân tích nước tiểu; chụp XQ lồng ngực, siêu âm ổ bụng; ghi điện tim; chọc dịch não tủy làm xét nghiệm nếu có biểu hiện viêm não, màng não.

- Chỉ định các xét nghiệm để loại trừ căn nguyên gây bệnh phổ biến như:

- + Chẩn đoán sốt xuất huyết Dengue: NS1 và/ hoặc IgM
- + Huyết thanh chẩn đoán bệnh do *Leptospira*
- + Xét nghiệm tìm ký sinh trùng sốt rét (nếu bệnh nhân có nghi ngờ)
- + Xét nghiệm chẩn đoán cúm
- + Huyết thanh chẩn đoán sởi IgM
- + Huyết thanh chẩn đoán Rubella IgM
- + Cây máu, cấy nước tiểu
- + Cây đờm hoặc bệnh phẩm đường hô hấp (nếu có triệu chứng hô hấp)

Đối với các bệnh nhân dương tính với các căn nguyên gây bệnh trên sẽ loại ra khỏi nghiên cứu.

- Đồng thời lấy ngay mẫu bệnh phẩm máu để gửi đi làm xét nghiệm chẩn đoán nhiễm *Rickettsiaceae*.

+ Bệnh nhân sẽ được lấy 4 ml máu cho vào ống nghiệm có chất chống đông EDTA để làm realtime PCR phát hiện nhiễm *Rickettsiaceae*.

+ Nếu kết quả realtime PCR âm tính (không đủ căn cứ khẳng định sốt do *Rickettsiaceae*) bệnh nhân sẽ được loại ra khỏi nghiên cứu. Bệnh nhân sẽ được theo dõi và điều trị theo như thường quy tại bệnh viện.

+ Nếu kết quả xét nghiệm realtime PCR dương tính với *O. tsutsugamushi*, tiến hành giải trình tự gen mã hóa cho protein màng có trọng lượng phân tử 56 kDa TSA để xác định kiểu gen của *O. tsutsugamushi* gây bệnh.

- Với các bệnh nhân được tuyển vào nghiên cứu, ngay sau khi đã lấy mẫu bệnh phẩm làm các xét nghiệm chẩn đoán sẽ được điều trị ngay bằng một trong những phác đồ kháng sinh (theo hướng dẫn của Bộ Y tế) [102] như sau:

+ Doxycycline liều 100 mg x 2 lần/ngày uống trong 5 -7 ngày, hoặc

+ Azithromycin 500 mg/ngày x 3 – 5 ngày, hoặc

+ Chloramphenicol với liều 50 mg/kg/ngày chia 2 lần x 5 - 7 ngày.

+ Hoặc bằng phác đồ phối hợp 2 kháng sinh: Doxycyclin kết hợp với Chloramphenicol đối với các bệnh nhân nặng có các biến chứng.

- Nếu bệnh nhân có biến chứng sẽ được điều trị thêm bằng các biện pháp hỗ trợ phù hợp với biến chứng xuất hiện.

- Theo dõi và đánh giá diễn biến của sốt, thay đổi các triệu chứng lâm sàng và biến đổi cận lâm sàng của bệnh nhân tại các thời điểm tuyển vào nghiên cứu (N0), ngày 1 (N1), ngày 3 (N3) và ngày 7 (N7) sau khi vào nghiên cứu hoặc ngay trước khi bệnh nhân ra viện (Nrv).

## **2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

### **2.2.1. Thời gian nghiên cứu**

Nghiên cứu được tiến hành trong thời gian 3 năm, từ tháng 3 năm 2015 đến tháng 3 năm 2018.

### **2.2.2. Địa điểm nghiên cứu**

Nghiên cứu được thực hiện tại Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương.

### 2.3. Nội dung nghiên cứu

#### 2.3.1. Mục tiêu 1 - Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* tại Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương.

##### 2.3.2.1. Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

Qua hỏi bệnh, khai thác người bệnh hoặc người nhà, xác định các đặc điểm dịch tễ học lâm sàng của bệnh nhân như:

- Phân bố theo lứa tuổi, theo giới, địa dư, theo nghề nghiệp và nơi cư trú.
- Phân bố theo tháng, theo mùa trong năm.
- Tiền sử bệnh mạn tính, chẩn đoán và điều trị trước khi vào viện.
- Tiền sử phơi nhiễm với yếu tố nguy cơ truyền bệnh.

##### 2.3.2.2. Đặc điểm lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

- Thời gian từ khi khởi phát sốt đến khi nhập viện; đặc điểm, tính chất sốt
- Các triệu chứng cơ năng: đau đầu, đau cơ, ho, buồn nôn, nôn...
- Các biểu hiện lâm sàng ở da, niêm mạc, hạch ngoại vi.
- Các biểu hiện lâm sàng: Mạch, huyết áp, nhiệt độ, nhịp thở, SpO<sub>2</sub>.
- Biểu hiện trên các hệ cơ quan: tuần hoàn, hô hấp, tiêu hóa, thần kinh.

##### 2.3.2.3. Biến đổi cận lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

Đánh giá sự thay đổi trong các chỉ số xét nghiệm, chẩn đoán hình ảnh và thăm dò chức năng, bao gồm:

- Biến đổi trong xét nghiệm công thức máu, đông máu cơ bản.
- Biến đổi trong xét nghiệm sinh hóa máu: Ure, Creatinin, Glucose, Bilirubin, Protein, Albumin, AST, ALT, LDH, CRP, PCT, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>,...
- Biến đổi trong xét nghiệm khí máu động mạch.
- Biến đổi trong xét nghiệm tổng phân tích nước tiểu.
- Biến loạn trong xét nghiệm dịch não tủy.
- Đánh giá thay đổi trên XQ lồng ngực, siêu âm ổ bụng, điện tâm đồ.



### **2.3.2. Mục tiêu 2 - Xác định các loài *Rickettsiaceae* và kiểu gen gây bệnh**

- Dựa vào kết quả realtime PCR để xác định các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh ở bệnh nhân sốt chưa rõ nguyên nhân được tuyển vào nghiên cứu.

- Dựa vào kết quả giải trình tự (Sequencing) 1 đoạn gen mã hóa cho protein màng ngoài 56 kDa TAS, xác định các kiểu gen của *O. tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò.

- So sánh sự khác biệt giữa các trình tự nucleotid của đoạn gen 56 kDa TAS được giải trình tự trong nghiên cứu với các trình tự gen đã được công bố trong ngân hàng gen (Genbank), từ đó xây dựng cây phát sinh loài.

+ Cây phát sinh loài *O. tsutsugamushi* so với các chủng trên thế giới.

+ Cây phát sinh loài *O. tsutsugamushi* so với các chủng ở Việt Nam.

- So sánh tìm ra đặc điểm dịch tễ, biểu hiện lâm sàng, biến đổi cận lâm sàng đặc trưng của các loài *Rickettsiaceae* được phát hiện trong nghiên cứu.

- So sánh tìm ra đặc điểm lâm sàng, biến đổi cận lâm sàng đặc trưng của các kiểu gen của *O. tsutsugamushi* được xác định trong nghiên cứu.

### **2.3.3. Mục tiêu 3 - Đánh giá kết quả điều trị và một số yếu tố tiên lượng nặng, tử vong ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

#### **2.3.3.1. Kết quả điều trị chung các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

- Tỷ lệ điều trị khỏi (bệnh nhân hết sốt và được cho ra viện); tỷ lệ tử vong (bệnh nhân tử vong tại viện hoặc trong tình trạng nguy kịch, gia đình xin về tử vong tại nhà).

- Thời gian cắt sốt trung bình của bệnh nhân sau khi được điều trị.

- Thời gian nằm viện điều trị của các bệnh nhân.

- So sánh kết quả điều trị và thời gian cắt sốt trung bình ở bệnh nhân theo loài *Rickettsiaceae* gây bệnh.

- So sánh kết quả điều trị và thời gian cắt sốt trung bình ở bệnh nhân theo kiểu gen của *O. tsutsugamushi*.

- So sánh kết quả điều trị bệnh nhân theo các phác đồ kháng sinh sử dụng.
- Đánh giá kết quả điều trị theo biến chứng và mức độ nặng của bệnh.
- Phân tích tìm hiểu các yếu tố có liên quan đến mức độ nặng của bệnh.
- Phân tích tìm hiểu các yếu tố có giá trị tiên lượng tử vong

#### 2.3.3.2. *Tìm các yếu tố tiên lượng bệnh nặng và kết quả điều trị bệnh*

- Tìm hiểu các yếu tố có liên quan với mức độ nặng của bệnh: Các yếu tố liên quan với suy đa tạng (MODS), với APACHE II  $\geq$  10 điểm.
- Tìm hiểu một số yếu tố tiên lượng tử vong của bệnh.

### 2.4. Các chỉ số và tiêu chuẩn đánh giá dừng trong nghiên cứu

#### 2.4.1. Các chỉ số dịch tễ học lâm sàng và dịch tễ học phân tử

##### 2.4.1.1. Các chỉ số dịch tễ học lâm sàng

Các chỉ số dịch tễ học lâm sàng bao gồm:

- Tuổi: Tính theo năm, phân nhóm 10 tuổi để so sánh giữa các nhóm [67]
- Giới tính: Tỷ lệ giữa giới nam và nữ
- Nghề nghiệp: Phân theo công việc chính bệnh nhân làm hàng ngày như: làm nông nghiệp, công nhân, hành chính, học sinh - sinh viên, lao động tự do,...
- Địa dư: Theo vùng miền (trung du, miền núi và đồng bằng), theo khu vực sinh sống (thành thị và nông thôn).
- Thời gian mắc bệnh: Theo tháng, theo mùa trong năm.
- Tiền sử phơi nhiễm, tiếp xúc với ổ chứa và trung gian truyền bệnh: chuột, ve, mò....
- Tiền sử chẩn đoán và điều trị trước khi vào viện; tiền sử bệnh mạn tính.

##### 2.4.1.2. Các chỉ số dịch tễ học phân tử

- Tỷ lệ % các loài *Rickettsiaceae* phát hiện trong nghiên cứu
- Tỷ lệ % các kiểu gen của *O. tsutsugamushi* phát hiện trong nghiên cứu
- Tỷ lệ phân bố các loài *Rickettsiaceae* theo khu vực và theo thời gian

- Tỷ lệ phân bố các kiểu gen *O. tsutsugamushi* theo khu vực và theo thời gian
- Tỷ lệ tương đồng giữa các trình tự gen của *O. tsutsugamushi* trong nghiên cứu so với các chủng tham chiếu đã được công bố trên ngân hàng gen.

#### **2.4.2. Các chỉ số đánh giá biểu hiện lâm sàng ở bệnh nhân**

##### **2.4.2.1. Đặc điểm của sốt và các triệu chứng cơ năng [139]**

- Tiêu chuẩn chẩn đoán sốt: khi nhiệt độ cặp ở nách  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$
- Tiêu chuẩn hết sốt: khi nhiệt độ cao nhất trong ngày cặp ở nách  $< 37,5^{\circ}\text{C}$
- Thời gian sốt trước khi nhập viện: được tính từ khi bệnh nhân bắt đầu khởi phát sốt đến khi bệnh nhân nhập viện.
- Mức độ sốt: Bao gồm sốt nhẹ: nhiệt độ từ  $37,5^{\circ}\text{C}$  đến  $38^{\circ}\text{C}$ ; sốt vừa: nhiệt độ từ  $38^{\circ}\text{C}$  đến  $39^{\circ}\text{C}$ ; sốt cao: nhiệt độ từ  $39^{\circ}\text{C}$  trở lên.
- Đặc điểm và tính chất khởi phát sốt:
  - + Đặc điểm sốt: khởi phát đột ngột (sốt cao ngay từ 1 đến 2 ngày đầu của bệnh) hay khởi phát từ từ (sốt tăng dần và nhiệt độ lên cao sau 3 đến 5 ngày).
  - + Tính chất sốt: sốt nóng hay sốt rét run. Kiểu sốt: liên tục hay từng cơn.
- Các triệu chứng cơ năng: Đau đầu, đau cơ, buồn nôn, nôn, ho, đau bụng, tiêu chảy được xác định trên cơ sở báo cáo của người bệnh.

##### **2.4.2.2. Biểu hiện ở da, dưới da và niêm mạc**

- Xung huyết da và kết mạc mắt khi có hiện tượng giãn mạch, hơi đỏ.
- Các dạng ban và tính chất của ban được xác định như sau:
  - + Ban dát (macular rash): ban không nổi gờ trên mặt da.
  - + Ban sần (papular rash): ban nổi gờ trên mặt da
  - + Ban xuất huyết (haemorrhagic rash): ban đỏ thẫm, căng da không mất
- Đặc điểm phân bố của ban được phân theo bộ phận giải phẫu của cơ thể: mặt, tay chân, thân mình và toàn thân.
- Vết loét (Eschar) được xác định là tổn thương loét nông thường hình bầu dục, có hoặc không có vảy đen, bờ có viền màu đỏ, không đau, không ngứa. Số lượng, kích thước và vị trí vết loét được ghi nhận và phân tích.

- Phù ngoại vi có hay không và mức độ phù được ghi nhận.

- Sung hạch được xác định khi hạch có kích thước từ 1 cm trở lên. Sung hạch khu vực vết loét là hạch gần vùng có vết loét; sung hạch toàn thân được xác định khi bệnh nhân có từ 2 nhóm hạch sung trở lên hoặc ít nhất có một nhóm hạch sung ngoài nơi khu trú của vết loét.

#### 2.4.2.3. Biểu hiện ở hệ hô hấp

- Triệu chứng ho và tính chất ho (ho khan hoặc có đờm) ghi nhận theo báo cáo của bệnh nhân (hoặc người nhà bệnh nhân).

- Tồn thương phổi: nghe phổi có ran hay không, nếu có xác định loại ran.

- Suy hô hấp: khi bệnh nhân có tồn thương phổi kèm theo khó thở dựa vào tần số thở và độ bão hòa oxy máu qua da ( $SpO_2$ ).

+ Bình thường tần số thở 16 - 20 chu kỳ/phút, tần số thở > 20 chu kỳ/phút là khó thở nhanh và tần số thở < 16 chu kỳ/phút được gọi là khó thở chậm.

+ Bình thường  $SPO_2$  từ 95% đến 100%, khi  $SpO_2$  từ 90% đến < 95% suy hô hấp nhẹ,  $SpO_2$  từ 85% đến < 90% suy hô hấp mức độ vừa và  $SpO_2$  < 85% suy hô hấp nặng, cần được hỗ trợ hô hấp cho bệnh nhân.

- Đánh giá các dạng tổn thương trên phim X - quang lồng ngực, xác định tổn thương dạng lưới, nốt, dày rãnh liên thùy, tràn dịch màng phổi, bóng tim to.

#### 2.4.2.4. Biểu hiện ở hệ tuần hoàn

- Tụt huyết áp được xác định khi huyết áp tâm thu (HATT) < 90 mmHg hoặc huyết áp tâm trương (HATTr) < 60 mmHg hoặc HATT giảm > 30 mmHg so với mức huyết áp bình thường.

- Loạn nhịp tim xác định qua thăm khám hoặc trên điện tim đồ.

- Viêm cơ tim: bệnh nhân có tình trạng hạ huyết áp, nhịp tim nhanh, loạn nhịp tim hoặc biểu hiện bất thường trên điện tim đồ và bóng tim to (tỷ lệ tim/ngực > 50%) trên phim XQ lồng ngực [146].

#### 2.4.2.5. Biểu hiện ở hệ tiêu hóa

- Triệu chứng tiêu chảy và đau bụng theo báo cáo của bệnh nhân; nếu có ghi nhận số lần trong ngày và số ngày bị tiêu chảy, vị trí đau bụng.
- Xuất huyết tiêu hóa khi có nôn ra máu hoặc đi ngoài phân đen.
- Gan, lách to được xác định khi sờ thấy dưới bờ sườn hoặc diện đục to hơn bình thường hoặc được xác định qua siêu âm ổ bụng.

#### 2.4.2.6. Biểu hiện thần kinh trung ương

- Biểu hiện não: tình trạng rối loạn ý thức, chậm chạp, hôn mê (theo bảng điểm Glasgow); co giật, hoặc dấu hiệu liệt thần kinh khu trú.
- Hội chứng màng não: bệnh nhân có đau đầu, có dấu hiệu gáy cứng (+), dấu hiệu kernig (+), vạch màng não (+).

### 2.4.3. Các chỉ số đánh giá biến đổi cận lâm sàng ở bệnh nhân

Các chỉ số xét nghiệm được đánh giá và so sánh với chỉ số sinh học bình thường của người Việt Nam [140].

#### 2.4.3.1. Biến đổi công thức máu

- Tình trạng thiếu máu: không thiếu máu khi hemoglobin (Hb)  $\geq 120$  g/L; thiếu máu nhẹ khi  $120 \text{ g/L} > \text{Hb} \geq 90 \text{ g/L}$ ; thiếu máu vừa khi  $90 \text{ g/L} > \text{Hb} \geq 60 \text{ g/L}$ ; thiếu máu nặng khi  $\text{Hb} < 60 \text{ g/L}$ .
- Thay đổi số lượng bạch cầu (BC): BC tăng khi số lượng  $> 10 \text{ G/L}$ ; BC bình thường khi số lượng từ 4 đến  $10 \text{ G/L}$ ; BC hạ khi số lượng  $< 4 \text{ G/L}$ .
- Thay đổi tỷ lệ bạch cầu lymphô: BC lymphô giảm khi tỷ lệ  $< 25\%$ ; BC lymphô bình thường khi từ 25 đến  $45\%$ ; BC lymphô tăng khi  $> 45\%$ .
- Thay đổi số lượng tiểu cầu (TC): TC bình thường khi số lượng tiểu cầu  $\geq 150 \text{ G/L}$ ; TC giảm nhẹ khi  $100 \leq \text{TC} < 150 \text{ G/L}$ ; TC giảm trung bình khi  $50 \leq \text{TC} < 100 \text{ G/L}$ ; TC giảm nặng khi  $< 50 \text{ G/L}$ .

#### 2.4.3.2. Biến đổi trong đông máu cơ bản

- Tỷ lệ Prothrombin (PT) bình thường từ 70% đến 140%, khi  $\text{PT} < 70\%$  (hoặc  $\text{PT}$  bệnh/chúng  $< 0,9$ ) được đánh giá là giảm.

- APTT bình thường 30 - 40 giây, khi APTT > 40 giây (hoặc APTT bệnh/chứng < 0,9) được đánh giá là tăng.

- Fibrinogen bình thường từ 2 đến 4 g/L, trung bình 2,5 g/l, khi fibrinogen < 2,5 g/L đánh giá là giảm, thường gặp trong đông máu nội mạc rải rác (DIC).

- D - Dimer bình thường dưới 500 µg/L, khi D - Dimer > 500 µg/L là tăng, thường gặp tăng tiêu thụ fibrinogen trong (DIC).

#### 2.4.3.3. *Biến đổi trong sinh hóa máu*

- Rối loạn chức năng thận, đánh giá qua xét nghiệm ure và creatinin máu

+ Bình thường ure máu ≤ 7,5 mmol/L, tăng khi ure > 7,5 mmol/L.

+ Bình thường creatinin máu từ 60 - 120 µmol/L đối với nam và từ 54 - 110 µmol/L đối với nữ; khi creatinin máu > 120 µmol/L là có suy thận.

- Rối loạn chức năng gan

+ Tăng bilirubin máu: khi bilirubin máu toàn phần >17 µmol/L; rối loạn chức năng gan khi bilirubin toàn phần tăng trên 2 lần bình thường (> 34 µmol/L).

+ Rối loạn albumin máu: albumin bình thường có giá trị từ 35g/L trở lên; albumin máu giảm khi < 35g/L.

+ Rối loạn enzyme gan: ALT và AST bình thường có giá trị < 40 UI/L; tăng nhẹ khi từ 40 UI/L đến < 80 UI/L, tăng vừa khi từ 80 UI/L đến < 200 UI/L; tăng cao khi ≥ 200 UI/L.

- Biến đổi điện giải đồ máu: khi có sự thay đổi các chỉ số của Natri, Kali và Clo so với giá trị bình thường.

+ Bình thường Natri: từ 135 mmol/L đến 145 mmol/L; hạ Natri khi < 135 mmol/L; tăng Natri khi > 145 mmol/L.

+ Bình thường Kali từ 3,5 mmol/L đến 5,0 mmol/L; hạ Kali khi  $K^+ < 3,5$  mmol/L; tăng Kali khi  $K^+ > 5,0$  mmol/L.

+ Bình thường Clo từ 96 mmol/L đến 106 mmol/L; hạ Clo khi  $Cl^- < 96$  mmol/L; tăng Clo khi  $Cl^- > 106$  mmol/L.

- Biến đổi các yếu tố viêm

+ Biến đổi C - reactive protein (CRP): Bình thường CRP có giá trị  $\leq 12$  mg/dL; tăng mức độ nhẹ khi  $12 < \text{CRP} \leq 30$  mg/dL; tăng cao khi  $30 < \text{CRP} \leq 100$ mg/dL, tăng rất cao khi  $\text{CRP} > 100$ mg/dL.

+ Biến đổi Procalcitonin (PCT): Bình thường  $\text{PCT} \leq 0,05$  ng/ml; tăng mức nhẹ khi  $0,05 < \text{PCT} \leq 0,5$  ng/ml; tăng vừa khi  $0,5 < \text{PCT} \leq 2$  ng/ml, tăng cao khi  $2 < \text{PCT} \leq 10$  ng/ml, tăng rất cao khi  $\text{PCT} > 10$  ng/ml.

#### 2.4.3.4. Biến đổi trong khí máu động mạch

- Đánh giá tình trạng toan hay kiềm qua pH. Bình thường pH từ 7,35 đến 7,45, khi  $\text{pH} > 7,45$  là có hiện tượng kiềm, khi  $\text{pH} < 7,35$  là có hiện tượng toan.

- Đánh giá tình trạng thông khí phổi qua chỉ số  $\text{PCO}_2$  và  $\text{HCO}_3^-$

+  $\text{PCO}_2$  bình thường từ 35 - 45 mmHg, khi  $\text{PCO}_2 < 35$  mmHg là giảm,  $\text{PCO}_2 > 45$  mmHg là tăng.

+ Bình thường  $\text{HCO}_3^-$  từ 22 - 26 mmHg, khi  $\text{HCO}_3^- < 22$  mmHg là giảm và khi  $\text{HCO}_3^- > 26$  mmHg là tăng.

- Đánh giá mức độ giảm oxy hóa máu và suy hô hấp qua  $\text{PaO}_2$  và  $\text{SaO}_2$

+  $\text{PaO}_2$  bình thường từ 80 - 100 mmHg, giảm nhẹ khi  $\text{PaO}_2$  từ 60 mmHg đến  $< 80$  mmHg và giảm nặng khi  $\text{PaO}_2 < 60$  mmHg.

+  $\text{SaO}_2$  bình thường từ 95 đến 100%, giảm nhẹ khi  $\text{SaO}_2$  từ 85 đến  $< 95\%$  và giảm nặng khi  $\text{SaO}_2 < 85\%$ .

#### 2.4.3.5. Biến đổi trong dịch não tủy

Bình thường dịch não tủy màu trong, tế bào  $\leq 12$  tế bào/mm<sup>3</sup>, protein  $\leq 0,45$  g/l, glucose từ 3,3 - 4,4 mmol/l và clorua từ 120 - 130 mmol/l. Khi các chỉ số trên biến đổi được xem là bất thường.

#### 2.4.3.6. Biến đổi trong tổng phân tích nước tiểu

Bình thường nước tiểu giữa dòng buổi sáng có pH 4,8 - 7,4, nitrit âm tính; protein  $< 0,1$  g/L, bạch cầu  $< 10$  bạch cầu/mm<sup>3</sup> và hồng cầu  $< 5$  hồng cầu/mm<sup>3</sup>. Khi các chỉ số trên tăng lên được xem là có biến loạn trong nước tiểu.

#### 2.4.3.7. Đánh giá thay đổi trên XQ lồng ngực

- Bóng tim có to hay không, nếu có, chỉ số tim ngực bao nhiêu.
- Tổn thương ở nhu mô phổi có hay không, nếu có loại tổn thương: mờ mô kẽ, hay mờ dạng lưới, nốt hay kính mờ, mờ một phần hay toàn bộ phổi.
- Tình trạng rãnh liên thùy phổi.
- Tình trạng góc sườn hoành có mờ hay không, nếu có mức độ mờ.

#### 2.4.3.8. Đánh giá thay đổi trên siêu âm ổ bụng

- Hình ảnh gan: Có to hay không, nếu có kích thước gan là bao nhiêu.
- Hình ảnh lách: Có to hay không, nếu có kích thước lách là bao nhiêu.
- Trần dịch khoang thanh mạc: Có hay không, nếu có vị trí, số lượng.

#### 2.4.3.9. Đánh giá các thay đổi trên điện tâm đồ

- Nhịp, tần số tim bao nhiêu chu kỳ/ phút, có rối loạn nhịp hay không, đặc điểm các sóng điện tim (P, Q, R, T, khoảng PQ, ST), có bất thường không, có biểu hiện nghi ngờ thiếu máu dưới nội mạc cơ tim hay không.

#### 2.4.4. Các biểu chứng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

Các biểu hiện sau đây được coi là biểu chứng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* [67], [141]:

- Viêm phổi: viêm phổi phát hiện qua nghe phổi có ran nổ, ẩm và/hoặc qua phim XQ lồng ngực. Có thể tiến triển thành hội chứng suy hô hấp cấp (ARDS) [142].

- Hạ huyết áp: HATT < 90mm Hg và/hoặc HATT<sub>r</sub> < 60 mmHg hoặc HATT giảm > 30 mmHg so với huyết áp bình thường của bệnh nhân. Sốc nhiễm khuẩn khi bệnh nhân có hạ huyết áp không đáp ứng với truyền dịch, chậm làm đầy mao mạch (refill) > 2 giây hoặc lactat máu động mạch > 4 mmol/l [143].

- Rối loạn chức năng gan: với biểu hiện vàng da, ứ mật trên lâm sàng và/hoặc bilirubin toàn phần trong máu tăng > 34  $\mu\text{mol/L}$ , rối loạn đông máu và/hoặc có biểu hiện hội chứng não gan [144].



- Suy thận cấp: khi creatinin máu  $>120 \mu\text{mol/L}$  hoặc thiếu niệu (mức lọc cầu thận của bệnh nhân  $<0,5 \text{ ml/kg/giờ}$  ít nhất trong 2 giờ) [145].

- Rối loạn thần kinh trung ương (RLTKTW): khi có rối loạn ý thức ( $\text{GCS} \leq 13$  điểm) và/hoặc có kèm theo viêm não màng não.

- Xuất huyết tiêu hoá: khi có nôn máu hay đi ngoài phân đen.

- Suy đa tạng (MODS) khi có suy chức năng từ 2 tạng trở lên bao gồm: Viêm phổi, sốc nhiễm khuẩn, suy chức năng gan, suy thận cấp và rối loạn thần kinh trung ương.

## 2.5. Các tiêu chuẩn và bảng điểm sử dụng trong nghiên cứu

### 2.5.1. Tiêu chuẩn đánh giá mức độ nặng của bệnh

Bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* được xem là nặng khi có suy đa tạng (MODS) và/hoặc có điểm APACHE II  $\geq 10$  hoặc điểm qSOFA  $\geq 2$  [147], [148].

### 2.5.2. Bảng điểm sử dụng trong nghiên cứu

2.5.2.1. Bảng điểm đánh giá nhanh tình trạng suy tạng (qSOFA) [149].

**Bảng 2.1. Bảng điểm đánh giá nhanh tình trạng suy đa tạng (qSOFA)**

Tiêu chuẩn đánh giá	Có	Không
Tình trạng ý thức ( $\text{GCS} < 15$ điểm)	1	0
Tần số thở $\geq 22$ chu kỳ/ phút	1	0
Huyết áp tâm thu $\leq 100 \text{ mmHg}$	1	0
<b>Tổng điểm qSOFA</b>	<b>Nguy cơ tử vong trong bệnh viện</b>	
0 – 1	Không có nguy cơ tử vong trong bệnh viện	
2 - 3	Nguy cơ tử vong tăng lên từ 3 đến 16 lần	

2.5.2.2. Bảng điểm đánh giá tình trạng sức khỏe dài hạn và các thông số sinh lý trong giai đoạn cấp, phiên bản II (APACHE II) [155].

**Bảng 2.2. Bảng điểm APACHE II**

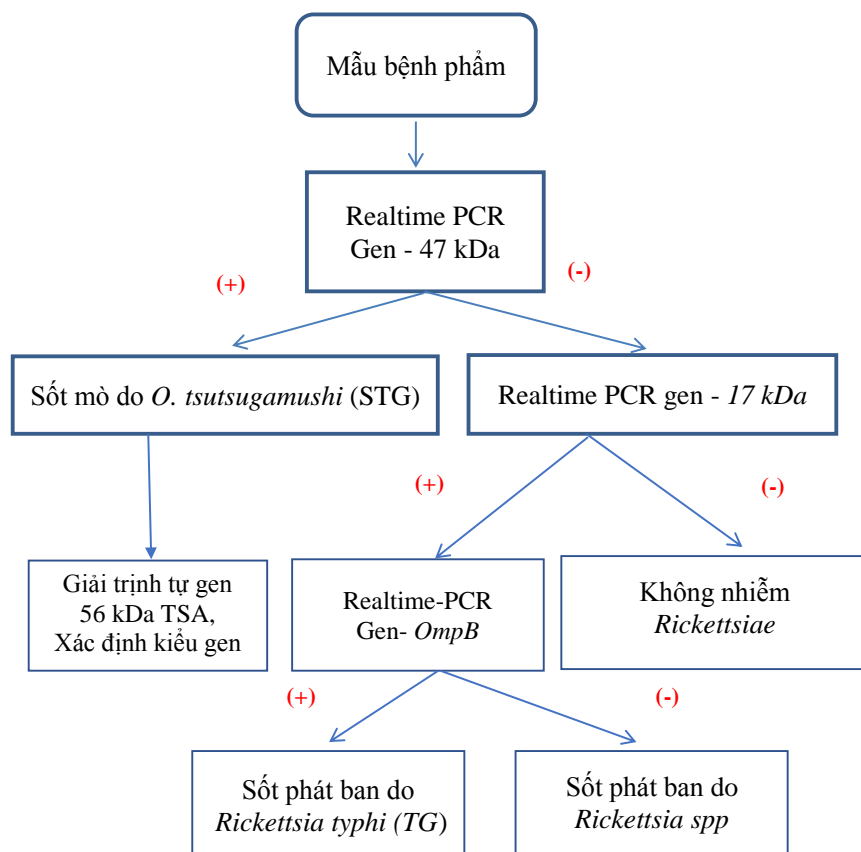
Đặc điểm	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Nhiệt độ (°C)	≥ 41	39-40,9		38,5-38,9	36 -38,4	34 -35,9	32 - 33,9	30 - 31,9	≤ 29,9
HATB (mmHg)	≥ 160	130-159	110-129		70-109		50 - 69		≤ 49
Tần số tim (ck/p)	≥ 180	140-179	110-139		70-109		55 - 69	40 - 54	≤ 39
Nhịp thở (ck/p)	≥ 50	35 - 49	-	25 - 34	12 - 24	10 - 11	6 - 9	-	≤ 5
PaO <sub>2</sub> (FiO <sub>2</sub> < 0,5)	-	-	-	-	> 70	61 - 70	-	55 - 60	≤ 55
pH máu động mạch	≥ 7,7	7,6-7,69	-	7,5 - 7,59	7,33 - 7,49	-	7,25-7,32	7,15-7,24	< 7,15
Na <sup>+</sup> máu (mmol/l)	≥ 180	160-179	155-159	150-154	130 - 149	-	120-129	111- 119	<110
K <sup>+</sup> máu (mmol/l)	≥ 7	6,0 - 6,9	-	5,5 - 5,9	3,5 - 5,4	3,0-3,4	2,5 - 2,9	-	< 2,5
Creatinin (μmol/l)	≥ 309	177-300	132-168	-	53 - 124	-	< 53	-	
Hematocrit (%)	> 60	-	50-59,9	46 - 49,9	30 - 45,9	-	20-29,9	-	< 20
Bạch cầu (G/L)	≥ 40	-	20-39,9	15 - 19,9	3 - 14,9	-	1-2,9	-	< 1
Glasgow	-	-	-	-	13 - 15	10 - 12	7 - 9	4 - 6	3
Tuổi	Tuổi < 44 (0), 45 - 54 (+ 2), 55 - 64 (+ 3), 65 - 74 (+5), tuổi ≥ 75 (+6)								
Bệnh cấp, mạn	Bệnh mạn tính nặng (+2), mô cấp cứu (+5), mô phiến (+2)								
<b>Tổng điểm</b>	<p><b>Là tổng cộng điểm của các chỉ số bên trên (từ 0 đến 30 điểm)</b></p> <p>Điểm APACHE II càng cao thì tỷ lệ tử vong càng cao.</p> <p>APACHE II ≥ 10 điểm được xem là nặng và có nguy cơ tử vong cao.</p>								

## 2.6. Các kỹ thuật xét nghiệm được sử dụng trong nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng các phương pháp chẩn đoán bằng kỹ thuật sinh học phân tử (realtime PCR và Sequencing) nhằm chẩn đoán nhanh chóng và chính xác các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh và các kiểu gen của *O.tsutsugamushi*. Các xét nghiệm này đều được thực hiện tại Khoa xét nghiệm của Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương với sự hỗ trợ của Phòng xét nghiệm tham chiếu *Rickettsiaceae* - Úc và Trung tâm nghiên cứu Y khoa Hải Quân Hoa Kỳ (Naval Medical Research Center - NMRC).

Tất cả bệnh nhân thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn vào nghiên cứu (tại mục 2.1) sẽ được tiến hành thu thập ngay mẫu bệnh phẩm là 4ml máu tĩnh mạch của bệnh nhân cho vào ống có chứa chất chống đông EDTA. Bệnh phẩm sau khi lấy phải được chuyển ngay tới Khoa Xét nghiệm Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương và được bảo quản ở điều kiện ngăn mát 2-4°C, để chờ tiến hành làm các bước xét nghiệm sinh học phân tử.

Quy trình thực hiện các xét nghiệm sinh học phân tử trong nghiên cứu lần lượt được thực hiện theo các bước như trong Sơ đồ 2.2



## Sơ đồ 2.2. Quy trình thực hiện các xét nghiệm sinh học phân tử

### 2.6.1. Kỹ thuật xác định nhiễm Rickettsiaceae bằng realtime PCR

- **Mục đích:** Xác định các gen đặc hiệu cho các loài Rickettsiaceae như gen mã hóa protein màng ngoài của *O. tsutsugamushi* có trọng lượng phân tử 47 kDa; gen mã hóa protein OmpB của *R. typhi* và gen mã hóa protein màng ngoài chung cho 2 nhóm *R. typhi* và *Rickettsia spp.* có trọng lượng phân tử 17 kDa [120], [150].

**- Vật liệu nghiên cứu:**

+ Hóa chất

- Dung dịch Ficoll tách lớp buffy coat
- Kit tách chiết DNA của Qiagen (QIAamp DNA Mini Kit, Đức).
- Kit Kapa Biosystems (Mỹ).
- MgCl<sub>2</sub> 50mM.
- Các cặp mồi của hãng IDT (Integrated DNA Technologies, của Hoa Kỳ).
- Nước cất

+ Vật tư tiêu hao

- Ống eppendorf 1,5 ml đã khử trùng và không chứa RNase
- Đầu côn loại 1-10 $\mu$ l, 20-200 $\mu$ l và 100-1000 $\mu$ l
- Khẩu trang, găng tay

+ Trang thiết bị và máy xét nghiệm

- Máy ly tâm Centrifuge 5424 của Eppendorf.
- Máy vortex BR-2000 vortexer của Bio Rad.
- Dụng cụ để giữ lạnh các ống PCR.
- Máy PCR Mastercycler gradient của Eppendorf.
- Máy 7500 Fast Real-Time PCR System, Applied Biosystems™

+ Các cặp mồi và probe sử dụng

Kỹ thuật realtime PCR sử dụng các cặp mồi được thiết kế đặc hiệu cho phát hiện bệnh nhân nhiễm các loài *Rickettsiaceae* khác nhau đã được Jiang, J và cộng sự công bố bao gồm: (1) gen mã hóa protein màng ngoài của *O. tsutsugamushi* có trọng lượng phân tử 47 kDa; (2) gen mã hóa protein màng ngoài chung cho chi *Rickettsia* có trọng lượng phân tử 17 kDa và (3) gen mã hóa protein *OmpB* của *R. typhi* [98]. Mồi và Taqman probe của 3 gen được trình bày ở bảng 2.1.

**Bảng 2.3. Trình tự các cặp mồi và probe của gen 47 kDa, 17 kDa và OmpB**

Tên	Trình tự (5'-3')
Primer 47 F	AACTGATTTTATTCAAACAACTAATGCTGCT
Primer 47 R	TATGCCTGAGTAAGATACRTGAATRGAATT
Probe 47	6FAM-TGGGTAGCTTTGGTGGACCGATGTTTAATCT-TAMRA
Primer 17 F	GGGCGGTATGAAYAAACAAG
Primer 17 R	CCTACACCTACTCCVACAAG
Probe 17	FAM-CCGAATTGAGAACCAAGTAATGC-TAMRA
Primer OmpB F	TGGTATTACTGCTCAACAAGCT
Primer OmpB R	CAGTAAAGTCTATTGATCCTACACC
Probe OmpB	FAM-CGCGATCGTTAATAGCAGCACCAGCATTATCGCG-BHQ1

**- Các bước tiến hành****+ Tách chiết lớp bạch cầu máu đơn nhân ngoại vi (PBMC)**

- 4ml máu được thu vào ống có chứa chất chống đông EDTA. Hút 2ml dung dịch Ficoll cho vào ống Falcon 15ml. Sau đó, hút toàn bộ 4ml máu đã thu nhả từ từ và nhẹ nhàng vào ống sao cho lớp máu nằm trên lớp Ficoll.

- Ly tâm 1800 vòng/phút trong 20 phút ở nhiệt độ phòng.

- Sau khi ly tâm hỗn hợp máu và ficoll được tách thành 4 lớp. Tiến hành hút lớp trên cùng chứa huyết tương ra ống cryotube 2ml. Hút hết lớp tiếp theo chứa PBMC ra ống cryotube 2ml.

- Ly tâm 1800 vòng/phút trong 20 phút ở nhiệt độ phòng, thu tủa và hoà lại trong 200 µl dung dịch đệm PBS.

Commented [MH1]: Em không rõ bước này ạ .

+ *Tách chiết DNA từ PBMC*

- Bước 1: Hút 20  $\mu$ l proteinase K vào ống eppendorf 1,5 ml.
- Bước 2: Cho tiếp 200  $\mu$ l PBMC vào ống sau đó cho thêm 200  $\mu$ l lysis buffer AL. Trộn đều bằng cách vortex trong 15 giây.
- Bước 3: Ủ hỗn hợp ở nhiệt độ 56<sup>0</sup>C trong 10 phút.
- Bước 4: Ly tâm để đẩy những dung dịch bám ở nắp ống xuống phía dưới.
- Bước 5: Bổ sung thêm 200  $\mu$ l ethanol (96 – 100%), trộn đều bằng vortex trong 15 giây. Sau khi trộn, ly tâm nhanh để đẩy dung dịch bám ở nắp ống xuống phía dưới.
- Bước 6: Cẩn thận chuyển toàn bộ dung dịch ở bước 5 lên cột lọc (đã có ống hứng loại 2 ml ở dưới). Đóng nắp và ly tâm ở 8000 vòng/phút trong 1 phút. Loại bỏ ống hứng có chứa dịch, chuyển cột lọc sang một ống hứng mới.
- Bước 7: Mở nắp cột lọc cẩn thận, thêm 500  $\mu$ l Wash buffer AW1. Đóng nắp và ly tâm ở 8000 vòng/phút trong 1 phút. Loại bỏ ống hứng có chứa dịch, chuyển cột lọc sang một ống hứng mới.
- Bước 8: Mở nắp cột lọc cẩn thận, thêm 500  $\mu$ l Wash buffer AW2. Đóng nắp và ly tâm ở 14000 vòng/phút trong 3 phút. Loại bỏ ống hứng có chứa dịch, chuyển cột lọc sang một ống hứng mới.
- Bước 9: Đặt cột lọc vào một ống hứng mới, ly tâm khô ở 14000 vòng/phút trong 1 phút.
- Bước 10: Loại bỏ ống hứng có chứa dịch và đặt cột lọc vào một ống eppendorf 1,5 ml mới. Mở nắp cột lọc cẩn thận, cho 50  $\mu$ l Elution buffer AE. Đóng nắp và ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 phút. Ly tâm ở 8000 vòng/phút trong 1 phút.

Sử dụng chứng âm là nước cất đã được khử trùng. Tiến hành tách chứng âm đồng thời với các bệnh phẩm khác.

+ Chuẩn bị Mix cho phản ứng Realtime PCR

• Kapa Robust Master Mix là hỗn hợp hóa chất chứa thành phần buffer, dNTP, Taq DNA polymerase đã được tối ưu hóa cho phản ứng PCR.

• Số lượng ống PCR cần cho một mẻ chạy PCR theo công thức: Số lượng ống = Số bệnh phẩm +2.

• Chứng dương: là plasmit chuẩn được cung cấp từ Phòng thí nghiệm *Rickettsia*, Trung tâm nghiên cứu y sinh Naval - Mỹ để phát hiện 3 nhóm vi khuẩn *Rickettsia* gây bệnh sốt cấp tính [151].

• Chứng âm: Nước cất

Một lần chạy Realtime PCR cần tiến hành đồng thời 2 loại chứng gồm: Chứng dương để đảm bảo các sinh phẩm và phản ứng PCR đã tiến hành đúng; Chứng âm để đảm bảo quá trình tách chiết DNA không bị bội nhiễm.

+ Thực hiện phản ứng realtime PCR

• Tiến hành làm tan đá các ống trong kit Kapa Robust Master Mix, 2X và các ống chứa primer, sau đó cho vào block lạnh.

• Lấy 1 ống eppendorf loại 1,5 ml đã khử trùng, không chứa RNase và để trong block lạnh, sau đó phối trộn các thành phần của Mix theo công thức theo như trong bảng 2.4.

**Bảng 2.4. Thành phần phản ứng realtime PCR**

Loại hóa chất	μl/phản ứng
Master Mix	12,5
50mM MgCl <sub>2</sub>	1,0
Forward primer (10 μM)	1,0
Reverse primer (10 μM)	1,0
Probe (10 μM)	1,0
Nước tự do không chứa acid nucleic	5,5
Tổng thể tích của phản ứng	22,0



- Hút 22  $\mu$ l phản ứng vào từng ống PCR bao gồm cả ống cho bệnh phẩm, chứng âm và chứng dương.

- Đặt các ống PCR vào dụng cụ làm lạnh và có thể bảo quản trong điều kiện 2-4°C trong lúc tiến hành tách chiết DNA.

- Thêm 3 $\mu$ l DNA của mẫu, chứng âm và chứng dương vào các ống PCR.

Ly tâm nhanh các ống PCR chứa các thành phần phản ứng. Chuyển các ống PCR vào máy realtime và cài theo chu trình nhiệt sau:

Cài đặt				
Chương trình	Chu kỳ	Mục đích	Nhiệt độ [°C]	Thời gian [hh:mm:ss]
Biến tính	1		95	00:02:00
Khuếch đại	40	Biến tính	95	00:00:30
		Bắt cặp	60	00:00:30

+ *Đảm bảo chất lượng xét nghiệm*

- Kiểm tra hạn sử dụng trên các hộp kit trước khi tiến hành thí nghiệm, tuyệt đối không sử dụng các kit hết hạn.

- Chạy đồng thời các ống chứng trong mỗi mẻ chạy.

- *Nhận định kết quả và báo cáo*

+ Tín hiệu huỳnh quang được đọc trên kênh FAM.

+ Mẫu có Ct  $\leq$  35 trên kênh FAM được xem là mẫu dương tính.

+ Mẫu không có tín hiệu trên kênh FAM được xem là mẫu âm tính.

Trong trường hợp chứng dương có kết quả âm tính, chứng âm có kết quả dương tính tiến hành lại toàn bộ mẻ thí nghiệm từ khâu pha Mix.

### 2.6.2. Kỹ thuật giải trình tự gen xác định kiểu gen của *O. tsutsugamushi*

- **Mục đích:** Giải trình tự gen 56 kDa TAS mã hoá cho protein màng ngoài vi khuẩn *O. tsutsugamushi*; so sánh với các trình tự giải được với các trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen (Genbank) nhằm xác định các kiểu gen.

Commented [MH2]: Em không rõ là nghiên cứu u của a anh để y tế y ctnm ạ .

**- Vật liệu nghiên cứu:**

+ Mẫu DNA: DNA có kết quả realtime PCR dương tính với gen 47 kDa của *O. tsutsugamushi*.

+ Hóa chất: Kit tinh sạch “Exsoap IT kit”, “PCR purification kit”; kit giải trình tự gen “BigDye terminator kit”.

+ Máy xét nghiệm: Hệ thống máy giải trình tự gen ABI 3130 Genetic Analyzer Fast của hãng Applied BioSystems.

+ Môi: Cặp môi đặc hiệu cho gen mã hoá cho protein 56 kDa TAS màng ngoài vi khuẩn *O. tsutsugamushi* theo các tài liệu [22], [152], [153], [154]. Trình tự các đoạn môi khuếch đại gen *O. tsutsugamushi* 56 kDa TAS như ở Bảng 2.5.

**Bảng 2.5. Trình tự các đoạn môi của gen *O. tsutsugamushi* 56 kDa TAS**

Tên	Trình tự (5'-3')
Otr56-573F (OtsuF)	5'-AATTGCTAGTGCAATGTCTG-3'
Otr56-980R (OtsuR)	5'-GGCATTATAGTAGGCTGAG-3'
Otr56-498F	5'-AATTAGTTTAGAATGGTTACCAC-3'
Otr56-1459R	5'-TCTGTATCTGTTTCGACAGATGCACTATTAG-3'

**- Các bước tiến hành**

+ *Khuếch đại gen *O. tsutsugamushi* 56 kDa:* Các mẫu dương tính với *O. tsutsugamushi* bằng RT - PCR sẽ được sử dụng để khuếch đại gen 56 kDa TAS của *O. tsutsugamushi* để tiến hành giải trình tự.

+ *Tinh sạch:* Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5 % và được tinh sạch 2 lần bằng Exsoap IT kit và PCR purification kit.

+ *Giải trình tự:* Sản phẩm PCR đã tinh sạch được giải trình tự bằng BigDye terminator kit, chạy trên máy giải trình tự gen ABI 3130 Genetic Analyzer Fast - của hãng Applied BioSystems.

+ *Phân tích*: Kết quả giải trình tự gen sẽ được phân tích bằng phần mềm ABI PRISM DNA Sequencing Analysis software version 3.0 (của hãng Applied BioSystems) và so sánh với các trình tự đã công bố trong ngân hàng gen (Genbank) trên BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Các trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen với các mã số truy cập từ MG735127 đến MG735183; MG872767 đến MG872771 và MG920487 đến MG920361.

### **2.6.3. Kỹ thuật xây dựng cây phát sinh loài**

- *Mục đích*: Cây phát sinh loài được xây dựng trên cơ sở phân tích sự tương đồng trình tự gen 56 kDa TSA của *O. tsutsugamushi* được giải trong nghiên cứu so với các trình tự đã được xác định và công bố trước đó ở Việt Nam và một số nước trên thế giới trong ngân hàng gen.

#### **- Các bước tiến hành:**

+ Các trình tự nucleotid của gen 56 kDa TSA trong nghiên cứu sẽ so sánh với các trình tự tham chiếu tại ngân hàng gen.

+ Phân tích và xây dựng cây phát sinh gen bằng phần mềm MEGA 7.0.26

- Các trình tự được căn chỉnh bằng lệnh Clustalw
- Phương pháp dựng cây: bằng phương pháp Neighbor - Joining.
- Tính khoảng cách di truyền giữa các trình tự bằng mô hình Kimura.
- Độ tương đồng (Bootstrap) được thực hiện 1000 lần và tương đồng từ 70% trở lên được xem là có ý nghĩa thống kê.

Hình ảnh hệ thống máy 7500 Fast Realtime PCR và máy giải trình tự gen ABI 3130 Genetic Analyzer Fast được mô tả ở Phụ lục 3.

### **2.6.4. Các xét nghiệm khác và kỹ thuật chẩn đoán hình ảnh**

Các xét nghiệm khác và các kỹ thuật chẩn đoán hình ảnh, thăm dò chức năng cho các bệnh nhân trong nghiên cứu đều được thực hiện tại Khoa xét nghiệm và Khoa chẩn đoán hình ảnh của Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương. Các đơn vị này đã đạt chuẩn chất lượng quốc tế theo tiêu chuẩn ISO 9001:2008 và ISO 15189:2012.

## 2.7. Thu thập và xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được thu thập vào bệnh án nghiên cứu mẫu (Phụ lục 1); sau đó được nhập và xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0, STATA với các thuật toán ứng dụng. Các biến định tính được trình bày dưới dạng tỷ lệ %, các biến định lượng được mô tả trị số trung bình (hoặc trung vị) và độ lệch chuẩn. So sánh và tìm hiểu mối liên quan giữa các biến số bằng các phép kiểm định thích hợp với ý nghĩa thống kê  $p < 0,05$  cho tất cả các phép kiểm định.

## 2.8. Đạo đức nghiên cứu

- Đây là nghiên cứu quan sát, bệnh nhân được giải thích đầy đủ và tự nguyện tham gia nghiên cứu.

- Số liệu trong đề tài luận án là một phần số liệu trong Đề tài Nghiên cứu mã số 106 - Y5, 04 - 2014.10 thuộc Quỹ Nafosted, Bộ Khoa học và Công nghệ, do bệnh viện Bệnh Nhiệt đới trung ương là cơ quan chủ trì đề tài, đã được Hội đồng đạo đức của Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương thông qua.

## 2.9. Hạn chế của nghiên cứu

Đề tài bị giới hạn ở nghiên cứu đặc điểm dịch tễ, lâm sàng, cận lâm sàng của các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* nhập viện điều trị tại bệnh viện tuyến Trung ương, chưa có điều kiện mở rộng nghiên cứu đối với những bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* ở tuyến cơ sở và ở cộng đồng nên chưa đại diện đầy đủ đặc điểm phân bố và các thể bệnh lâm sàng của các bệnh do *Rickettsiaceae* gây ra.

### Chương 3

#### KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

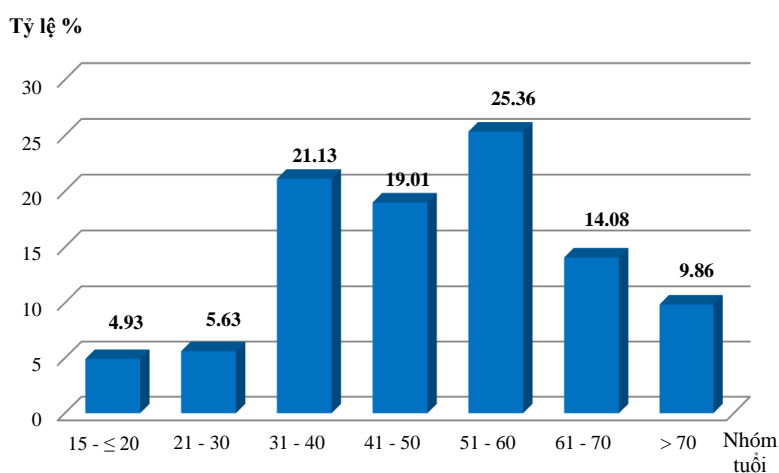
Trong thời gian nghiên cứu, có 142 bệnh nhân được chẩn đoán xác định nhiễm *Rickettsiaceae* đưa vào phân tích. Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* chiếm 142/42027 (0,34%) trong tổng số bệnh nhân nhập viện điều trị và chiếm 142/412 (34,5%) trong số bệnh nhân tuyển vào nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu của các bệnh nhân được mô tả như sau:

#### 3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân

##### 3.1.1. Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

##### 3.1.1.1. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi

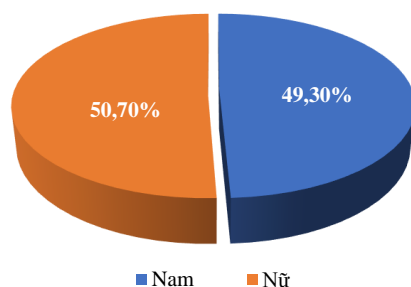
Tuổi trung bình của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* gặp trong nghiên cứu là  $49,41 \pm 16,28$  tuổi (từ 15 đến 88 tuổi)



**Biểu đồ 3.1. Phân bố bệnh nhân theo các nhóm tuổi**

*Nhận xét:* Bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* gặp ở tất cả các lứa tuổi, cả người trẻ ( $\leq 20$  tuổi) và người cao tuổi ( $> 70$  tuổi) đều bị mắc bệnh. Trong đó đa số ở lứa tuổi từ 31 - 60 (65,49%), cao nhất là ở nhóm tuổi 51 - 60 (25,36%).

### 3.1.1.2. Phân bố bệnh nhân theo giới



**Biểu đồ 3.2. Phân bố bệnh nhân theo giới**

*Nhận xét:* Bệnh do *Rickettsiaceae* gặp ở cả 2 giới nam và nữ là như nhau, trong đó gặp ở nam giới là 49,30% và ở nữ là 50,70%.

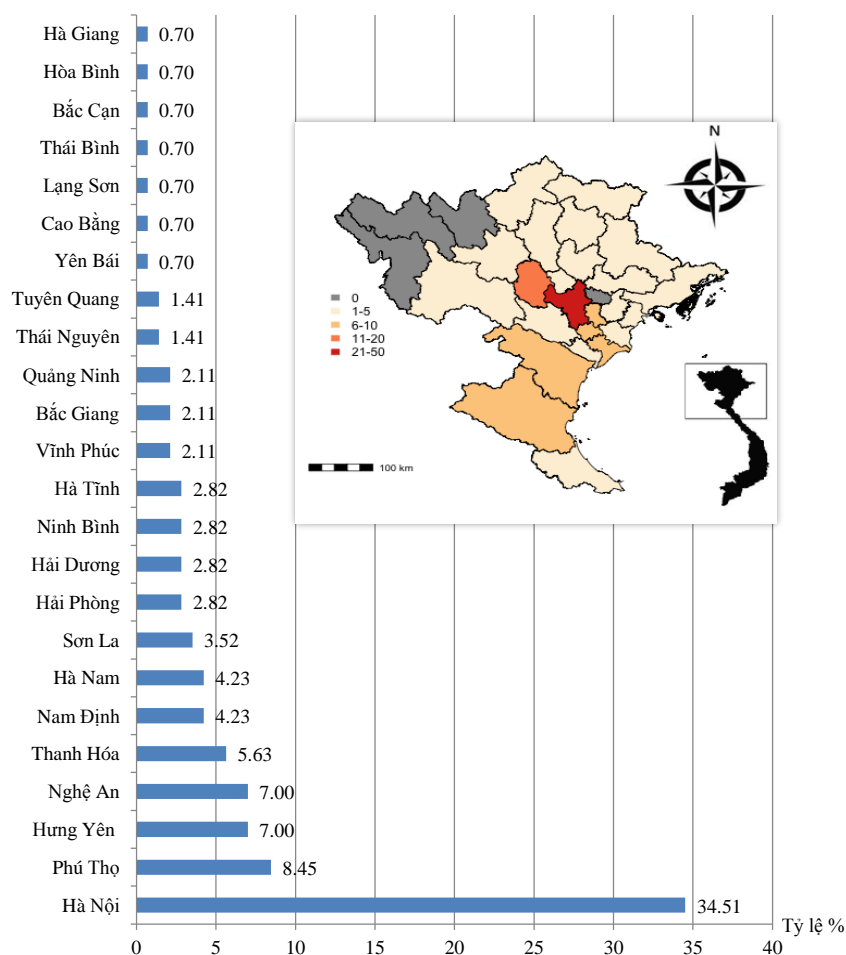
### 3.1.1.3. Phân bố bệnh nhân theo nghề nghiệp và nơi cư trú

**Bảng 3.1. Phân bố bệnh nhân theo nghề nghiệp và nơi cư trú**

Nghề nghiệp	Thành thị (n = 41)		Nông thôn (n = 101)		Tổng cộng (N = 142)	
	n	%	n	%	n	%
Làm nông nghiệp	10	24,39	62	61,39	72	50,70
Ở nhà/ngỉ hưu	9	21,95	15	14,85	24	16,90
Lao động tự do	13	31,70	12	11,88	25	17,61
Học sinh, sinh viên	4	9,76	2	1,98	6	4,23
Nghề khác	5	12,20	10	9,90	15	10,56

*Nhận xét:* Kết quả trong bảng cho thấy, 50,70% bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* làm nông nghiệp, 17,61% bệnh nhân là lao động tự do; người nghỉ hưu hoặc ở nhà nội trợ cũng nhiễm bệnh với tỷ lệ 16,90%, học sinh – sinh viên và các nghề khác gặp với tỷ lệ ít hơn. Trong khi bệnh nhân sống ở vùng nông thôn chủ yếu làm nghề nông nghiệp (61,39%), thì bệnh nhân sống ở khu vực thành thị đa số bệnh nhân là lao động tự do (31,70%).

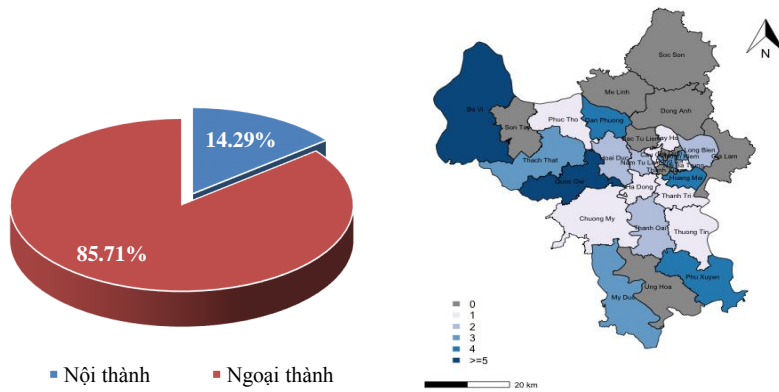
### 3.1.1.5. Phân bố bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* theo tỉnh, thành



**Biểu đồ 3.3. Phân bố các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiae* theo tỉnh, thành**

*Nhận xét:* Bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* gặp rải rác ở 24/29 tỉnh, thành ở miền Bắc và Bắc Trung bộ, trong đó chủ yếu là ở Hà Nội 34,51% (49/142) và các tỉnh lân cận như: Phú Thọ, Hưng Yên, Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Nam, Nam Định.

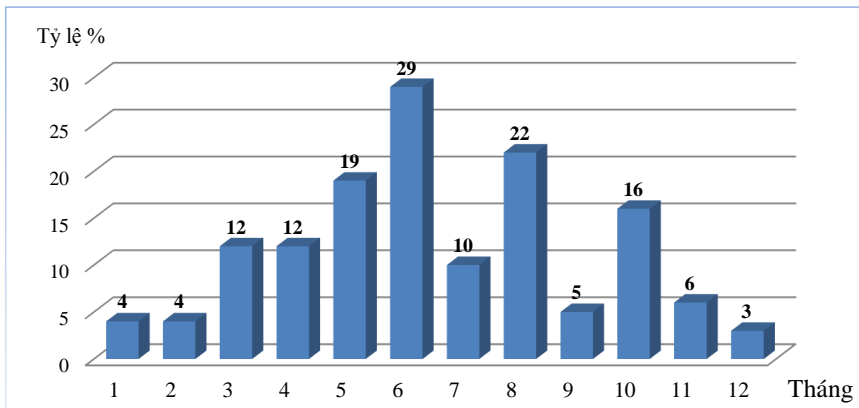
Các tỉnh khác gặp bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* với tỷ lệ thấp hơn (< 4%).



**Biểu đồ 3.4. Phân bố bệnh nhân nhiễm Rickettsiaceae ở Hà Nội**

*Nhận xét:* Tại Hà Nội, đa số bệnh nhân sống ở các quận, huyện ngoại thành, chiếm tỷ lệ 85,71%, trong đó cao nhất là tại Huyện Ba Vì và Quốc Oai, đều gặp 10,20%. Ngoài ra, cũng có 14,29% bệnh nhân sống ở các quận nội thành.

**3.1.1.6. Phân bố bệnh nhân nhiễm Rickettsiaceae theo thời gian trong năm**



**Biểu đồ 3.5. Phân bố bệnh nhân theo thời gian trong năm**

*Nhận xét:* Bệnh nhân nhiễm Rickettsia nhập viện điều trị rải rác quanh năm, trong đó tập trung từ tháng 5 đến tháng 10 chiếm 71,13% (101/142), cao nhất vào tháng 6 là 20,42% (29/142).



## 3.1.1.7. Tiền sử chẩn đoán và điều trị của bệnh nhân trước khi vào viện

**Bảng 3.2. Chẩn đoán của bệnh nhân trước khi vào viện**

Đặc điểm	Số bệnh nhân (n = 142)	Tỷ lệ %
Chưa được chẩn đoán	43	30,28
Chẩn đoán ở bệnh viện cơ sở	99	69,72
- Nhiễm khuẩn huyết	24	16,90
- Sốt do Rickettsiaceae	21	14,79
- Sốt chưa rõ nguyên nhân	16	11,27
- Sốt vi rút	15	10,56
- Sốt xuất huyết dengue	12	8,45
- Viêm phổi	11	7,75

*Nhận xét:* Có 69,72% bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trong nghiên cứu đã được điều trị tại các bệnh viện tuyến cơ sở, thì 54,93% chẩn đoán nhầm sang bệnh khác, chỉ có 14,79% được chẩn đoán đúng sốt do *Rickettsiaceae*.

**Bảng 3.3. Tiền sử điều trị kháng sinh trước khi vào viện**

Loại kháng sinh dùng	Số bệnh nhân (n = 142)	Tỷ lệ %
Chưa được điều trị kháng sinh	88	61,97
Điều trị kháng sinh phù hợp (*)	10	7,04
Điều trị kháng sinh không phù hợp	44	30,99
- Cephalosporin	8	5,63
- Quinolon	6	4,23
- Carbapenem	3	2,11
- Kháng sinh khác	27	19,02

\* Kháng sinh doxycyclin, chloramphenicol hoặc azithromycin

*Nhận xét:* Có 38,03% bệnh nhân trong nghiên cứu đã được điều trị kháng sinh trước khi vào viện, trong đó 7,04% bệnh nhân được dùng kháng sinh phù hợp còn lại 30,99% bệnh nhân dùng kháng sinh không phù hợp.

### 3.1.2. Biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

#### 3.1.2.1. Các triệu chứng cơ năng

**Bảng 3.4. Các triệu chứng cơ năng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

Đặc điểm	Số bệnh nhân (n = 142)	Tỷ lệ %
Sốt	142	100,00
Đau đầu	128	90,14
Đau cơ	105	73,94
Ho	64	45,07
Buồn nôn	43	30,28
Nôn	31	21,83
Tiêu chảy	30	21,13
Đau họng	22	15,49
Đau bụng	20	14,08
Khó thở	18	12,68

*Nhận xét:* Trong các triệu chứng cơ năng gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*, 100% bệnh nhân có biểu hiện sốt, đau đầu (90,14%), đau cơ (73,94%). Ngoài ra các triệu chứng khác gặp với tỷ lệ ít hơn như: ho (45,07%), buồn nôn (30,28%), nôn (21,83%), tiêu chảy (21,13%), đau họng (15,49%), đau bụng (14,08%) và khó thở (12,68%).

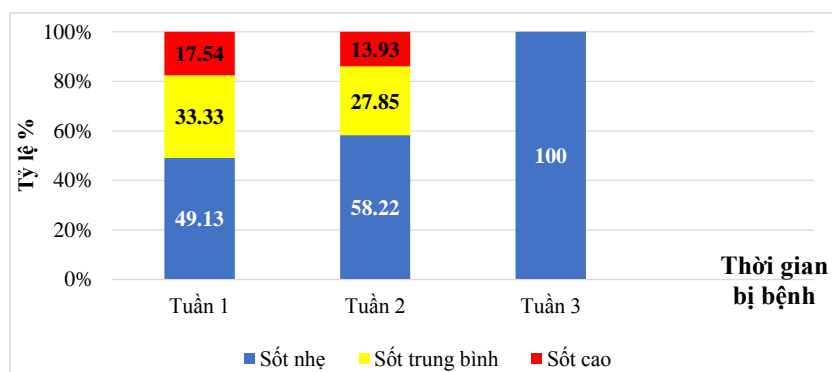
### 3.1.2.2. Đặc điểm và tính chất sốt của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

Thời gian bệnh nhân sốt trung bình trước khi vào viện là  $8,63 \pm 3,02$  ngày (từ 3 đến 18 ngày). Đặc điểm sốt ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* như sau:

**Bảng 3.5. Đặc điểm sốt của các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

Đặc điểm và tính chất sốt		Số bệnh nhân (n = 142)	Tỷ lệ %
Khởi phát sốt	Đột ngột	98	69,01
	Tăng dần	44	30,99
Kiểu sốt	Sốt liên tục	85	59,86
	Sốt giao động	57	40,14
Tính chất sốt	Sốt nóng	107	75,35
	Ổn lạnh, rét run	35	24,65
Mức độ sốt (Khi vào viện)	Sốt nhẹ (37,5 - 38,5 °C)	80	56,34
	Trung bình (38,6 - 39,5 °C)	41	28,87
	Sốt cao (> 39,5 °C)	21	14,79
Thời gian sốt trước vào viện	≤ 7 ngày	57	40,14
	> 7 - ≤ 14 ngày	78	54,93
	> 14 ngày	7	4,93

*Nhận xét:* Bệnh nhân sốt do *Rickettsiaceae* thường khởi phát đột ngột (69,01%), sốt liên tục (59,86%) hoặc giao động (40,14%), đa số sốt nóng (75,35%), ít khi sốt rét run (24,65%); thường gặp sốt mức độ nhẹ (56,34%) hoặc sốt trung bình (28,87%), ít trường hợp sốt cao (14,79%). Bệnh nhân thường nhập viện từ 1 (40,14%) đến 2 tuần (54,93%) sau khi khởi phát sốt.



**Biểu đồ 3.6. Mức độ sốt của bệnh nhân theo tuần bị bệnh**

*Nhận xét:* Trong tuần bệnh đầu tiên, bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* đa số sốt ở mức độ nhẹ (49,13%), hoặc trung bình (33,33%), tỷ lệ sốt cao ít (17,54%). Mức độ sốt giảm dần ở tuần thứ 2 và sang tuần bệnh thứ 3 chỉ còn sốt mức độ nhẹ.

### 3.1.2.3. Biểu hiện ở da và niêm mạc của bệnh nhân *Rickettsiaceae*

**Bảng 3.6. Biểu hiện trên da và niêm mạc ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

Triệu chứng	Số bệnh nhân (n = 142)	Tỷ lệ %
Xung huyết da	115	80,99
Xung huyết kết mạc	99	69,71
Vết loét (Eschar)	64	45,07
Phát ban	54	38,02
Phù ngoại vi	34	23,94
Sung hạch	32	22,53
Vàng da/vàng mắt	19	13,38
Xuất huyết dưới da	15	10,56

*Nhận xét:* Biểu hiện hay gặp trên da và niêm mạc ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* là: xung huyết da (80,99%), xung huyết kết mạc (69,71%), vết loét trên da gặp 45,07%. Các triệu chứng khác gặp ít hơn là phát ban, phù ngoại vi, sung hạch, vàng da, vàng mắt và xuất huyết dưới da.

**Bảng 3.7. Đặc điểm vết loét ở bệnh nhân nhiễm Rickettsiaceae**

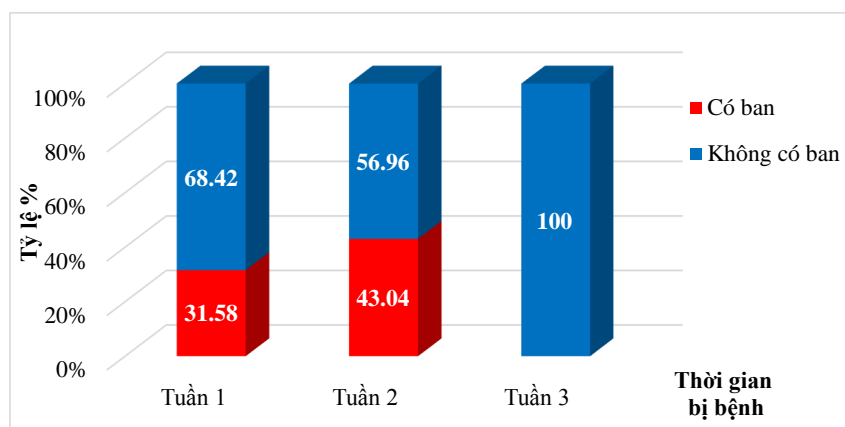
Đặc điểm vết loét		Số lượng BN (n = 64)	Tỷ lệ %
Số lượng	Một vết loét	62	96,87
	Hai vết loét	2	3,13
Kích thước	≤ 5mm	16	25,00
	> 5 -10 mm	34	53,13
	> 10 mm	14	21,87
Vị trí	Vùng bụng	16	25,00
	Vùng bẹn	12	18,75
	Vùng nách	6	9,39
	Nền cổ	5	7,81
	Ngực	5	7,81
	Hông lưng	4	6,25
	Da bìu, dương vật	4	6,25
	Vai	3	4,69
	Đùi, cẳng chân	3	4,69
	Vùng mông	2	3,12
	Sau tai	2	3,12
	Các vị trí khác	2	3,12

*Nhận xét:* Trong số 64 bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* có vết loét trên da, hầu hết bệnh nhân chỉ có 1 vết loét (96,87%), kích thước từ 5 - 10 mm (53,13%), phân bố ở nhiều vị trí khác nhau trên cơ thể, hay gặp ở vùng kín, có da mỏng như ở vùng bụng (25,00%), bẹn (18,75%), vùng nách (9,39%), ở vùng nền cổ, ngực đều gặp 7,81%, các vị trí khác trên cơ thể cũng có thể gặp vết loét với tỷ lệ ít hơn. Hình ảnh vết loét ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* - theo Phụ lục 2.

**Bảng 3.8. Đặc điểm ban ở bệnh nhân nhiễm Rickettsiaceae**

Đặc điểm ban		Số bệnh nhân (n = 54)	Tỷ lệ %
Dạng ban	Ban dát	35	64,81
	Ban dát sần	19	35,19
Vị trí ban	Toàn thân	32	59,26
	Thân mình	13	24,07
	Tay, chân	7	12,96
	Ở mặt	2	3,71

*Nhận xét:* Hai dạng ban hay gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* là: ban dát (64,81%) hoặc ban dát sần (35,19%). Vị trí của ban hay gặp là ở toàn thân (59,26%), ở thân mình (24,07%) hoặc tay chân (12,96%), ít khi ở mặt (3,71%).

**Biểu đồ 3.7. Tỷ lệ xuất hiện ban theo tuần bị bệnh**

*Nhận xét:* Triệu chứng phát ban ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* thường xuất hiện trong tuần đầu tiên (31,58%) hoặc tuần thứ 2 (43,04%) của bệnh, không gặp ban ở tuần bệnh thứ 3 của bệnh.

## 3.1.2.4. Biểu hiện trên các hệ cơ quan ở bệnh nhân sốt do Rickettsiaceae

**Bảng 3.9. Biểu hiện trên các triệu chứng ở hệ cơ quan**

<b>Biểu hiện lâm sàng</b>	<b>Số bệnh nhân (n = 142)</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
<b>Hệ tuần hoàn</b>		
Mạch $\geq 80$ (ck/p)	134	94,37
HA tâm trương $\leq 60$ (mmHg)	50	35,21
HA tâm thu $\leq 90$ (mmHg)	18	12,68
Loạn nhịp tim	5	3,52
<b>Hệ hô hấp</b>		
Nhịp thở $\geq 20$ ck/p	98	69,01
SpO <sub>2</sub> $\leq 90\%$	30	21,13
Ran phổi	35	24,65
<b>Hệ tiêu hóa</b>		
Gan to	18	12,68
Lách to	11	7,75
Cô chướng	2	1,41
<b>Hệ thần kinh</b>		
Rối loạn ý thức	15	10,56
Gáy cứng (+)	2	1,41
Kernig (+)	2	1,41

*Nhận xét:* Những triệu chứng gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trên hệ tuần hoàn là: mạch nhanh (94,37%), hạ huyết áp tâm trương (35,21%), hạ huyết áp tâm thu gặp 12,68%; trên hệ hô hấp gặp thở nhanh (69,0%), ran ở phổi (24,65%) và giảm oxy hóa máu SpO<sub>2</sub>  $\leq 90\%$  (21,13%). Ngoài ra có thể gặp gan to (12,68%), lách to (7,75%) và rối loạn ý thức (10,56%); gáy cứng chỉ gặp 1,41%.

### 3.1.3. Biến đổi cận lâm sàng của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

#### 3.1.3.1. Thay đổi các chỉ số trong công thức máu của bệnh nhân

**Bảng 3.10. Thay đổi các chỉ số trong công thức máu (n = 142)**

Công thức máu		Số bệnh nhân (n = 142)	Tỷ lệ %
Nồng độ Hb (g/l)	Hb $\geq$ 120	83	58,45
	120 > Hb $\geq$ 90	52	36,62
	90 > Hb $\geq$ 60	7	4,93
Bạch cầu (G/l)	BC > 10	46	32,40
	10 $\geq$ BC $\geq$ 4	85	59,86
	BC < 4	11	7,74
Tỷ lệ BC ĐNNT (%)	> 70%	78	54,92
	60 - 70%	32	22,54
	< 60%	32	22,54
Tỷ lệ BC Lymphô (%)	< 25%	97	68,31
	25 - 45%	37	26,06
	> 45%	8	5,63
Tiểu cầu (G/l)	TC $\geq$ 150	47	33,10
	150 > TC $\geq$ 100	26	18,31
	100 > TC $\geq$ 50	45	31,69
	TC < 50	24	16,90

*Nhận xét:* Các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* có thể thiếu máu nhẹ (36,62%) hoặc vừa (4,93%). Số lượng bạch cầu trong giới hạn bình thường (59,86%) hoặc tăng nhẹ (> 10 G/L) chiếm 32,40%, trong đó tăng bạch cầu ĐNNT (54,92%). Giảm tiểu cầu < 150 G/l gặp ở 66,90% số bệnh nhân, trong đó có giảm tiểu cầu nặng (< 50 G/l) gặp 16,90%.



## 3.1.3.2. Biến đổi trong xét nghiệm đông máu của bệnh nhân

**Bảng 3.11. Biến đổi trong xét nghiệm đông máu cơ bản (n = 116)**

Xét nghiệm đông máu		Số bệnh nhân (n = 116)	Tỷ lệ %
Prothrombin (%)	Giảm (< 70%)	36	31,03
	Bình thường (≥ 70%)	80	68,97
Fibrinogen (g/l)	Giảm (< 2,5 g/l)	41	35,34
	Bình thường (≥ 2,5 g/l)	75	64,66
APTT (s)	Bình thường (≤ 40 s)	59	50,86
	Tăng (> 40 s)	57	49,14
INR	Bình thường (≤ 1,5)	112	96,55
	Tăng (> 1,5)	4	3,45
D-Dimer (µg/L) (n = 41)	Bình thường ≤ 500 µg/L	2	4,88
	Tăng > 500 µg/L	39	95,12

*Nhận xét:* Trong số 116 bệnh nhân được xét nghiệm đông máu cơ bản khi vào viện thì 1/3 bệnh nhân có biểu hiện tăng tiêu thụ các yếu tố đông máu như: giảm tỷ lệ prothrombin <70% (31,03%); giảm fibrinogen < 2,5 g/l (35,34%); APTT kéo dài trên 40 giây (49,14%). Trong đó, chỉ có 3,45% bệnh nhân có rối loạn đông máu nặng với INR > 1,5. Ngoài ra, 95,12% (39/41) bệnh nhân có D - Dimer > 500 µg/L.

## 3.1.3.3. Biến đổi trong hóa sinh máu của bệnh nhân (n = 142)

**Bảng 3.12. Biến đổi các xét nghiệm đánh giá chức năng gan**

Các chỉ số sinh hóa máu		Số bệnh nhân	Tỷ lệ %
AST (UI/L - 37°C) (n= 142)	AST < 40 UI/L	8	5,63
	40 ≤ AST < 80 UI/L	40	28,17
	80 ≤ AST < 200 UI/L	55	39,44
	AST ≥ 200 UI/L	38	26,76
ALT (UI/L - 37°C) (n = 142)	ALT < 40 UI/L	15	10,56
	40 ≤ ALT < 80 UI/L	40	28,17
	80 ≤ ALT < 200 UI/L	64	45,07
	ALT ≥ 200 UI/L	23	16,20
Protein (n = 56)	Bình thường (≥ 65 g/L)	35	62,50
	Giảm (< 65 g/L)	21	37,50
Albumin (n= 109)	Bình thường (≥ 35 g/L)	40	36,70
	Giảm (< 35 g/L)	69	63,30
Bilirubin TP (n = 94)	Tăng (> 17μmol/l)	36	38,30
	Bình thường (≤ 17μmol/l)	58	61,70

*Nhận xét:* Các rối loạn chức năng gan gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* là tăng enzyme gan AST ≥ 40 UI/L (94,37%), hay gặp tăng từ 80 - 200 UI/L (39,44%) và tăng ALT ≥ 40 UI/l (89,44%), hay gặp tăng từ 80 - 200 UI/L (45,07%). Ngoài ra còn gặp giảm albumin máu < 35 g/l (63,30%), giảm protein toàn phần < 65 g/l (37,50%) và tăng bilirubin toàn phần > 17μmol/l (38,30%).

**Bảng 3.13. Rối loạn chức năng thận, điện giải đồ và yếu tố viêm**

Các chỉ số sinh hóa máu		Số bệnh nhân	Tỷ lệ %
Ure (n = 142)	Bình thường ( $\leq 7,5$ mmol/l)	110	77,46
	Tăng ( $> 7,5$ mmol/l)	32	22,54
Creatinin (n = 142)	Bình thường ( $\leq 120$ $\mu$ mol/L)	122	85,92
	Tăng ( $> 120$ $\mu$ mol/L)	20	14,08
Na <sup>+</sup> (n = 142)	Hạ ( $< 135$ mmol/l)	108	76,06
	Bình thường (135 -145 mmol/l)	34	23,94
K <sup>+</sup> (n = 142)	Hạ ( $< 3,5$ mmol/l)	53	37,32
	Bình thường (3,5 - 5 mmol/l)	88	61,97
	Tăng ( $> 5$ mmol/l)	1	0,71
CRP (n =132)	CRP $\leq 12$ mg/dl	10	7,58
	12 < CRP $\leq 30$ mg/dl	13	9,85
	30 < CRP $\leq 100$ mg/dl	45	34,09
	CRP > 100 mg/dl	64	48,48
PCT (n= 121)	PCT $\leq 0,05$ ng/ml	4	3,31
	0,05 < PCT $\leq 0,5$ ng/ml	27	22,31
	0,5 < PCT $\leq 2$ ng/ml	45	37,19
	2 < PCT $\leq 10$ ng/ml	31	25,62
	PCT > 10 ng/ml	14	11,57

*Nhận xét:* Rối loạn chức năng thận gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* bao gồm tăng ure máu (22,54%) và suy thận (14,08%). Rối loạn điện giải gặp ở bệnh nhân là hạ natri (76,06%) và hạ kali máu (37,32%). Hầu hết bệnh nhân đều có tăng yếu tố viêm CRP > 12 mg/dl (92,42%), trong đó tăng > 100 mg/dl (48,48%) và tăng PCT > 0,05 ng/ml (96,69%), trong đó tăng > 2 ng/ml (37,19%).

## 3.1.3.4. Thay đổi trong xét nghiệm khí máu động mạch của bệnh nhân

**Bảng 3.14. Thay đổi trong xét nghiệm khí máu động mạch (n = 53)**

Xét nghiệm khí máu động mạch		Số bệnh nhân (n = 53)	Tỷ lệ %
pH	Giảm (< 7,35)	4	7,55
	Bình thường (7,35 - 7,45)	18	33,96
	Tăng (> 7,45)	31	58,49
PCO <sub>2</sub>	Giảm (< 35 mmHg)	44	83,02
	Bình thường (35 – 45 mmHg)	8	15,09
	Tăng (> 45 mmHg)	1	1,89
PaO <sub>2</sub>	Giảm nặng (< 60 mmHg)	22	41,51
	Giảm nhẹ (60 - 80 mmHg)	21	39,62
	Bình thường (> 80 mmHg)	10	18,87
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Giảm (< 22 mmHg)	22	41,51
	Bình thường (22- 26 mmHg)	26	49,06
	Tăng (> 26 mmHg)	5	9,43

*Nhận xét:* Trong 53 bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* được làm xét nghiệm khí máu động mạch, các biến loạn trong khí máu gặp là: kiềm hô hấp với PH > 7,45 (58,49%), PCO<sub>2</sub> < 35 mmHg (83,02%), HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> < 22 mmHg (41,51%). Đa số bệnh nhân có giảm oxy hóa máu ở mức độ nặng (41,51%) hoặc giảm nhẹ (39,62%), chỉ có 18,87% bệnh nhân có oxy hóa máu bình thường.

## 3.1.3.5. Biểu hiện bất thường trên siêu âm ổ bụng và XQ lồng ngực

**Bảng 3.15. Biểu hiện bất thường trên siêu âm ổ bụng, màng phổi**

<b>Đặc điểm</b>	<b>Số bệnh nhân (n = 127)</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
Tràn dịch thanh mạc	54	42,52
- Tràn dịch màng phổi	36	28,35
- Tràn dịch đa màng	10	7,87
- Tràn dịch ổ bụng	8	6,30
Gan to	18	14,17
Lách to	11	8,66

*Nhận xét:* Trong 127 bệnh nhân được siêu âm ổ bụng và màng phổi, 42,52% bệnh nhân có tràn dịch thanh mạc, trong đó tràn dịch màng phổi gặp 28,35%, tràn dịch đa màng 7,87% và tràn dịch màng bụng 6,30%. Ngoài ra gặp gan to (14,17%) và lách to (8,66%).

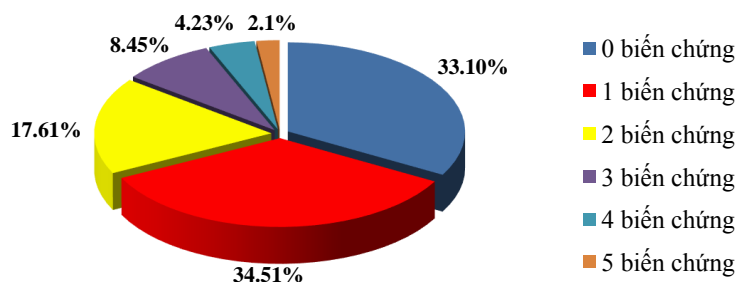
**Bảng 3.16. Biểu hiện bất thường trên phim XQ lồng ngực**

<b>Đặc điểm</b>	<b>Số bệnh nhân (n = 128)</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
Tổn thương nhu mô phổi	48	37,50
- Tổn thương dạng lưới	45	35,16
- Thâm nhiễm nốt	3	2,34
Mờ góc sườn hoành	29	22,66
Dày rãnh liên thùy	8	6,25
Bóng tim to	5	3,91

*Nhận xét:* Trong 128 bệnh nhân được chụp XQ lồng ngực, 37,50% bệnh nhân có tổn thương nhu mô phổi, trong đó hay gặp là tổn thương dạng lưới (35,16%), thâm nhiễm nốt gặp 2,34%. Ngoài ra, còn gặp hình ảnh mờ góc sườn hoành (22,66%), dày rãnh liên thùy (6,25%) và bóng tim to (3,91%).

### 3.1.4. Các biến chứng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

#### 3.1.4.1. Số lượng các biến chứng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*



**Biểu đồ 3.8. Số lượng các biến chứng ở bệnh nhân**

*Nhận xét:* 66,9% bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* có ít nhất 1 biến chứng, trong đó chủ yếu có từ 1 biến chứng (34,51%) đến 2 biến chứng (17,61%). Bệnh nhân có từ 3 đến 5 biến chứng gặp 13,78%.

#### 3.1.4.2. Các biến chứng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

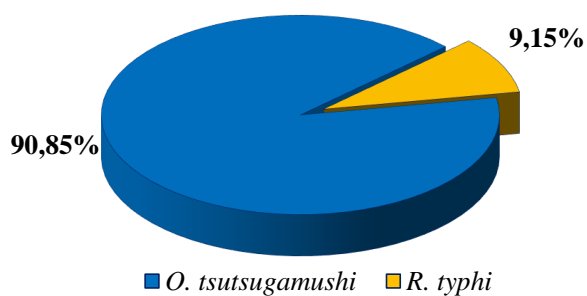
**Bảng 3.17. Các biến chứng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

Biến chứng	Số bệnh nhân (n = 142)	Tỷ lệ %
Hạ huyết áp	50	35,21
Viêm phổi	48	33,80
Suy thận cấp	20	14,08
Rối loạn chức năng gan	19	13,38
Rối loạn thần kinh trung ương	15	10,56
Xuất huyết tiêu hóa	4	2,82
Suy đa tạng (MODS)	37	26,06

*Nhận xét:* Các biến chứng gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* là: hạ huyết áp (35,21%), viêm phổi (33,80%), rối loạn chức năng gan (13,38%), rối loạn thần kinh trung ương (10,56%), suy thận cấp (14,08%) và xuất huyết tiêu hóa (2,82%). Biến chứng suy đa tạng gặp ở 26,06% bệnh nhân.

### 3.2. Xác định các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh

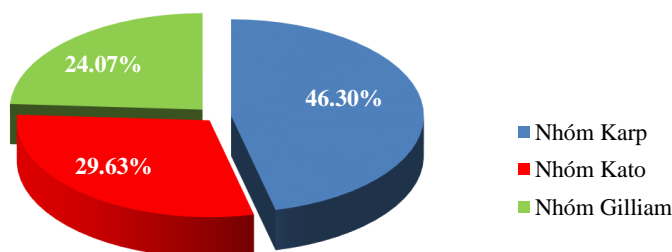
#### 3.2.1. Các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh



**Biểu đồ 3.9. Các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh**

*Nhận xét:* Trong thời gian nghiên cứu, chúng tôi đã xác định có 2 loài *Rickettsiaceae* là: *Orientia tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò, chiếm tỷ lệ 90,85% (129/142) và *Rickettsia typhi* gây bệnh sốt chuột, chiếm tỷ lệ 9,15% (13/142).

#### 3.2.2. Các kiểu gen của *Orientia tsutsugamushi*

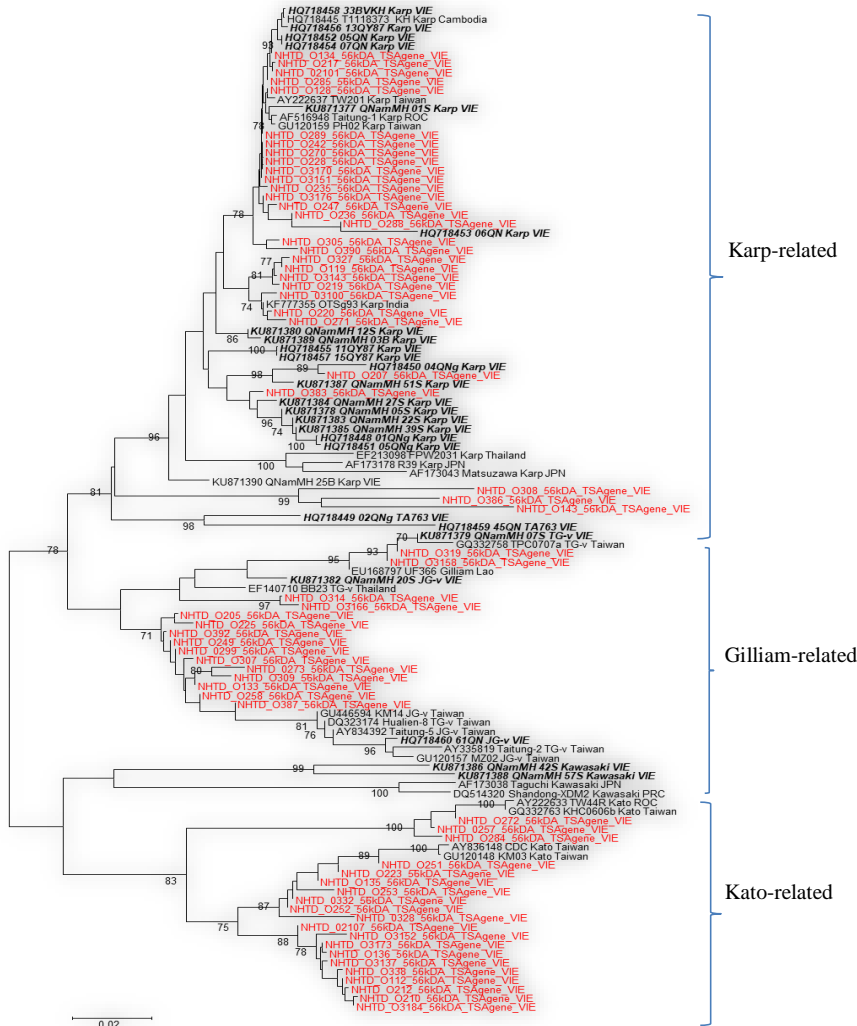


**Biểu đồ 3.10. Các kiểu gen của *O. tsutsugamushi***

*Nhận xét:* Kết quả giải trình tự 54 gen 56 kDa TAS của *O. tsutsugamushi* đã phát hiện 3 kiểu gen là Karp chiếm 46,30% (25/54), Kato chiếm 29,63% (16/54) và Gilliam chiếm 24,07% (13/54).

3.2.3. Phân tích phát sinh loài của các chủng *Orientia tsutsugamushi*

3.1.3.1. Cây phát sinh loài *O. tsutsugamushi*, dựa trên trình tự gen 56 kDa TSA



**Hình 3.1.** Sơ đồ cây phát sinh loài của *Orientia tsutsugamushi*

Màu đỏ là các trình tự phát hiện trong nghiên cứu so với  
Màu đen: các trình tự ở Việt Nam (in nghiêng) và trên thế giới (in đứng)



**Nhận xét:** Cây phát sinh gen 56kDa TAS của *O. tsutsugamushi* trên cho thấy tất cả trình tự phát hiện trong nghiên cứu của chúng tôi đều hình thành từ 3 nhánh chính có liên quan với 3 kiểu gen là Karp, Kato và Gilliam.

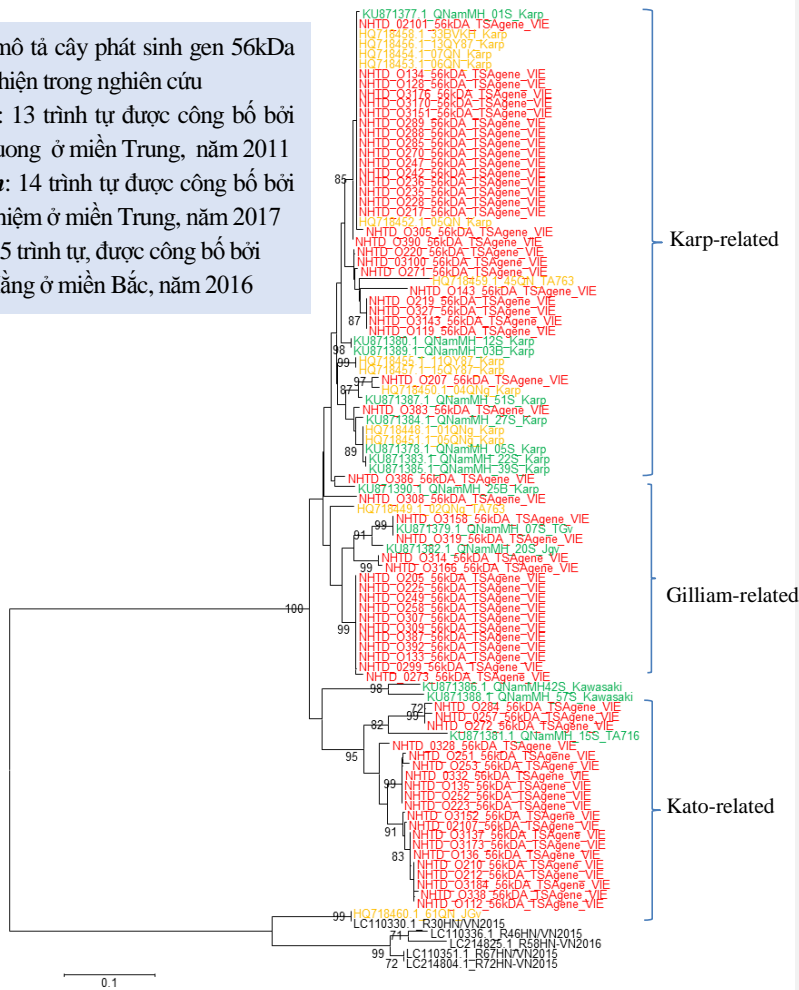
### 3.1.3.2. Cây phát sinh loài *O. tsutsugamushi* lưu hành ở Việt Nam

**Màu đỏ:** mô tả cây phát sinh gen 56kDa TSA phát hiện trong nghiên cứu

**Màu cam:** 13 trình tự được công bố bởi Veasna Duong ở miền Trung, năm 2011

**Màu xanh:** 14 trình tự được công bố bởi Lê Viết Nhiệm ở miền Trung, năm 2017

**Màu đen:** 5 trình tự, được công bố bởi N. L. K. Hằng ở miền Bắc, năm 2016



**Hình 3.2. Sơ đồ cây phát sinh loài của *O. tsutsugamushi* ở Việt Nam**

*Nhận xét:* Phân tích cây phát sinh loài *O. tsutsugamushi* lưu hành ở Việt Nam cho thấy, các trình tự được phát hiện trong nghiên cứu có mối liên quan gần gũi với các trình tự gen đã được phát hiện và công bố ở miền Trung Việt Nam. Qua đó khẳng định đây là các chủng đóng vai trò dịch tễ quan trọng gây bệnh sốt mò ở Việt Nam, cần được quan tâm nghiên cứu để sản xuất vắc xin phòng bệnh.

### 3.1.3.3. Mức độ tương đồng trình tự gen 56 kDa TSA so với gen tham chiếu

**Bảng 3.18. Mức độ tương đồng giữa các trình tự gen 56 kDa TSA**

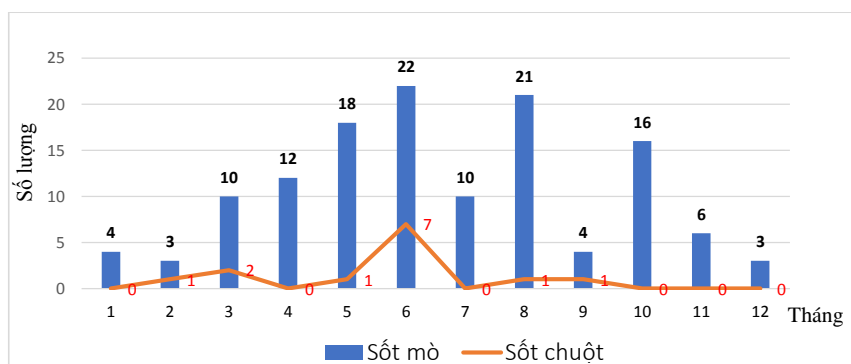
Kiểu gen	Gen tham chiếu	Mức tương đồng
Nhóm Karp	HQ718453 (Hàn Quốc)	95% - 100%
	KU871377 (Miền Trung Việt Nam)	97% - 100%
Nhóm Kato	AY836148 (Đài Loan)	96% - 100%
	GQ332763 (Đài Loan)	99% - 100%
Nhóm Gilliam	EF140710 (Thái Lan)	94% - 96%
	KU871382 (Miền Trung Việt Nam)	96%

*Nhận xét:* Khi tiến hành so sánh mức độ tương đồng giữa các trình tự phát hiện trong nghiên cứu với các chuỗi tham chiếu (trên ngân hàng gen) đã được phát hiện và công bố tại Việt Nam và các nước trong khu vực cho thấy, các chuỗi thuộc kiểu gen Karp tương đồng 95% - 100% so với chuỗi tham chiếu; các chuỗi thuộc kiểu gen Kato tương đồng 96% - 100% so với chuỗi tham chiếu và các chuỗi thuộc kiểu gen Gilliam tương đồng từ 94% - 96% so với các chuỗi tham chiếu.

### 3.2.4. Đặc điểm gây bệnh của các loài Rickettsiaceae và các kiểu gen

#### 3.2.4.1. Phân bố bệnh nhân theo căn nguyên và theo thời gian

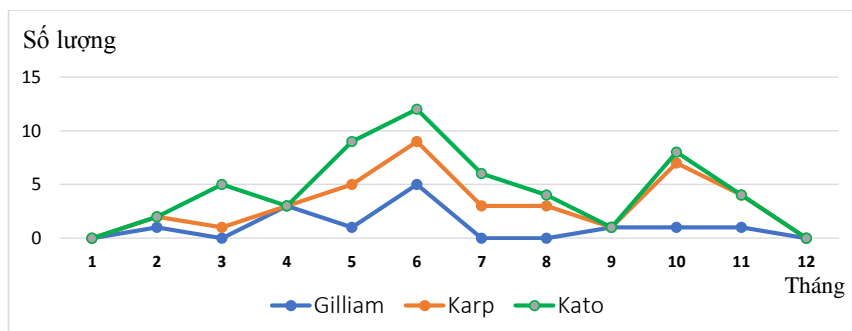
##### a. Phân bố các bệnh nhân sốt mò và sốt chuột theo thời gian



**Biểu đồ 3.11. Phân bố các bệnh nhân sốt mò và sốt chuột theo thời gian**

*Nhận xét:* Bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột đều mắc bệnh và nhập viện rải rác ở các tháng trong năm, cao điểm từ tháng 5 đến tháng 10 và, mức cao nhất tháng 6, (17,05% với bệnh nhân sốt mò và 53,85% với bệnh nhân sốt chuột).

##### b. Phân bố các kiểu gen gây bệnh sốt mò theo thời gian



**Biểu đồ 3.12. Phân bố các kiểu gen gây bệnh sốt mò theo thời gian**

*Nhận xét:* Cả 3 kiểu gen Gilliam, Karp và Kato đều phân bố và gây bệnh rải rác trong năm. Trong đó, kiểu gen Karp và Kato gây bệnh cao điểm vào tháng 6 và tháng 10, còn kiểu gen Gilliam chỉ gây bệnh cao điểm vào tháng 6.

## 3.2.4.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng theo căn nguyên gây bệnh

**Bảng 3.19. Đặc điểm lâm sàng giữa bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột**

<b>Đặc điểm</b>	<b>Sốt mò (<i>O. tsutsugamushi</i>) (n = 129)</b>	<b>Sốt chuột (<i>R. typhi</i>) (n = 13)</b>	<b>P</b>
Thời gian sốt trước viện	8,76 ± 3,05	7,38 ± 2,50	> 0,05***
Thời gian cắt sốt (ngày)	4,26 ± 2,51	3,54 ± 1,20	> 0,05***
Đau đầu	116 (89,92)	12 (92,31)	> 0,05**
Đau cơ	96 (74,42)	9 (69,23)	> 0,05**
Da xung huyết	106 (82,17)	9 (69,23)	> 0,05**
Xung huyết kết mạc	91 (70,54)	8 (61,54)	> 0,05**
Vết loét (Eschar)	64 (49,61)	0 (0,00)	-
Phát ban	50 (38,76)	4 (30,77)	> 0,05**
Phù ngoại vi	33 (25,58)	1 (7,69)	> 0,05**
Sung hạch	28 (21,71)	0 (0,00)	-
Gan to	17 (13,18)	1 (7,69)	> 0,05**
Có biến chứng	89 (68,99)	6 (46,15)	< 0,05**
Suy đa tạng	36 (27,91)	1 (7,69)	> 0,05**
qSOFA ≥ 2 điểm	20 (15,50)	1 (7,69)	> 0,05**
APACHE II ≥ 10 điểm	36 (27,91)	2 (15,38)	> 0,05**

\*Chi - Square test, \*\* Fisher exact test, \*\*\* Mann - Whitney U Test

**Nhận xét:** Kết quả nghiên cứu cho thấy, vết loét ở da và sung hạch chỉ gặp trong sốt mò, không gặp trong sốt chuột. Tỷ lệ gặp biến chứng ở bệnh nhân sốt mò cao hơn bệnh nhân sốt chuột ( $p < 0,05$ ). Các biểu hiện lâm sàng khác không khác biệt đáng kể giữa bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột.

**Bảng 3.20. Biến đổi cận lâm sàng giữa bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột**

<b>Đặc điểm</b>	<b>Sốt mò (n = 129) n (%)</b>	<b>Sốt chuột (n = 13) n (%)</b>	<b>P</b>
Hemoglobin < 120 g/L	55 (42,64)	4 (30,77)	> 0,05**
Bạch cầu > 10 G/L	43 (33,33)	3 (23,08)	> 0,05**
Tiểu cầu < 150 G/L	85 (65,89)	10 (76,92)	> 0,05**
AST ≥ 80 UI/L	84 (65,12)	9 (69,23)	> 0,05**
ALT ≥ 80 UI/L	80 (62,02)	7 (53,85)	> 0,05**
Albumin < 35 g/L	63 (48,84)	6 (46,15)	> 0,05**
Bilirubin >17 μmol/L	33 (25,58)	3 (23,08)	> 0,05**
Ure > 7,5 mmol/l	30 (23,26)	2 (15,38)	> 0,05**
Creatinin >120 μmol/L	19 (14,73)	1 (7,69)	> 0,05**
Natri < 135 mmol/L	95 (73,64)	13 (100,00)	> 0,05**
Kali < 3,5 mmol/l	48 (37,21)	5 (38,46)	> 0,05**
CRP > 30 mg/dL	99 (76,74)	10 (76,92)	> 0,05**
PCT > 0,5 ng/ml	79 (61,24)	11 (84,62)	> 0,05**

\*\* Fisher exact test

*Nhận xét:* Qua kết quả phân tích cho thấy, các biến đổi xét nghiệm khác trong công thức máu, chức năng gan, chức năng thận, các yếu tố viêm CRP và PCT khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

3.2.4.3. Biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng theo kiểu gen của *O. tsutsugamushi***Bảng 3.21. Biểu hiện lâm sàng giữa các kiểu gen của *O. tsutsugamushi***

<b>Biểu hiện lâm sàng</b>	<b>Gilliam (n = 13) n (%)</b>	<b>Karp (n = 25) n (%)</b>	<b>Kato (n = 16) n (%)</b>	<b>p</b>
Thời gian sốt trước viện	8,62 ± 2,60	9,16 ± 3,46	9,44 ± 2,92	> 0,05***
Thời gian cắt sốt (ngày)	3,92 ± 1,75	5,20 ± 3,51	4,44 ± 2,53	> 0,05***
Đau đầu	13 (100,00)	24 (96,00)	14 (87,50)	> 0,05**
Đau cơ	12 (92,31)	20 (80,00)	13 (81,25)	> 0,05*
Xung huyết da	11 (84,62)	23 (92,00)	14 (87,50)	> 0,05**
Xung huyết kết mạc	10 (76,92)	19 (76,00)	11 (68,75)	> 0,05**
Vết loét (Eschar)	9 (69,23)	20 (80,00)	8 (50,00)	> 0,05**
Phát ban	6 (46,15)	9 (36,00)	8 (50,00)	> 0,05**
Phù ngoại vi	1 (7,69)	8 (32,00)	3 (18,75)	> 0,05**
Sung hạch	8 (61,54)	5 (20,00)	3 (18,75)	< 0,05**
Gan to	0 (0,00)	5 (20,00)	2 (12,50)	> 0,05**
Có biến chứng	7 (53,85)	22 (88,00)	9 (56,25)	< 0,05**
Suy đa tạng	2 (15,38)	9 (36,00)	4 (25,00)	> 0,05**
qSOFA ≥ 2 điểm	2 (15,38)	5 (20,00)	4 (25,00)	> 0,05**
APACHE II ≥ 10 điểm	3 (23,08)	7 (28,00)	4 (25,00)	> 0,05**

\*Chi - Square test, \*\* Fisher exact test, \*\*\* Kruskal Wallis test

*Nhận xét:* Qua phân tích cho thấy, tỷ lệ gặp biến chứng và sung hạch khác nhau giữa 3 kiểu gen gây bệnh sốt mò (với  $p < 0,05$ ). Bệnh nhân sốt mò do kiểu gen Karp gặp biến chứng nhiều hơn do kiểu gen Gilliam và Kato. Bệnh nhân do kiểu gen Gilliam hay gặp sung hạch nhiều hơn. Các triệu chứng khác không có sự khác biệt đáng kể giữa 3 kiểu gen của *O. tsutsugamushi* ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.22. Biến đổi xét nghiệm giữa các kiểu gen của *O. tsutsugamushi***

<b>Đặc điểm</b>	<b>Gilliam (n = 13) n (%)</b>	<b>Karp (n = 25) n (%)</b>	<b>Kato (n = 16) n (%)</b>	<b>p</b>
Hemoglobin < 120 (g/L)	5 (38,46)	10 (40,00)	4 (25,00)	> 0,05**
Bạch cầu > 10 (G/L)	8 (61,54)	9 (36,00)	6 (37,50)	> 0,05**
Tiểu cầu < 150 (G/L)	6 (46,15)	21 (84,00)	11 (68,75)	< <b>0,05**</b>
AST ≥ 80 (UI/L)	7 (53,85)	20 (80,00)	11 (68,75)	>0,05**
ALT ≥ 80 (UI/L)	11 (84,62)	18 (72,00)	8 (50,00)	>0,05**
Albumin < 35 (g/L)	5 (38,46)	16 (64,00)	6 (37,50)	> 0,05**
Bilirubin >17μmol/L	1 (7,69)	6 (24,00)	0 (0,00)	> 0,05**
Ure > 7,5 (mmol/L)	0 (0,00)	9 (36,00)	3 (18,75)	< <b>0,05**</b>
Creatinin >120 (μmol/L)	1 (7,69)	8 (32,00)	2 (12,50)	> 0,05**
Natri < 135 (mmol/L)	10 (76,92)	20 (80,00)	12 (75,00)	> 0,05*
Kali < 3,5 (mmol/l)	4 (30,77)	10 (40,00)	4 (25,00)	> 0,05**
CRP > 30 (mg/dL)	13 (100,0)	19 (76,00)	13 (81,25)	> 0,05*
PCT > 0,5 (ng/ml)	5 (38,46)	21 (84,00)	10 (62,50)	< <b>0,05**</b>

\*Chi - Square test \*\* Fisher exact test

*Nhận xét:* Tỷ lệ giảm tiểu cầu < 150 G/l, tăng ure máu > 7,5 mmol/l và tăng PCT > 0,5 ng/ml khác nhau giữa 3 kiểu gen gây bệnh sốt mò ( $p < 0,05$ ). Bệnh nhân do kiểu gen Karp gặp giảm tiểu cầu, tăng urê máu và tăng procalcitonin cao hơn so với kiểu gen Kato và Gilliam. Các thay đổi xét nghiệm khác không có sự khác biệt đáng kể giữa bệnh nhân do 3 kiểu gen Karp, Kato và Gilliam ( $p > 0,05$ ).

### 3.3. Kết quả điều trị và các yếu tố tiên lượng

#### 3.3.1. Kết quả điều trị

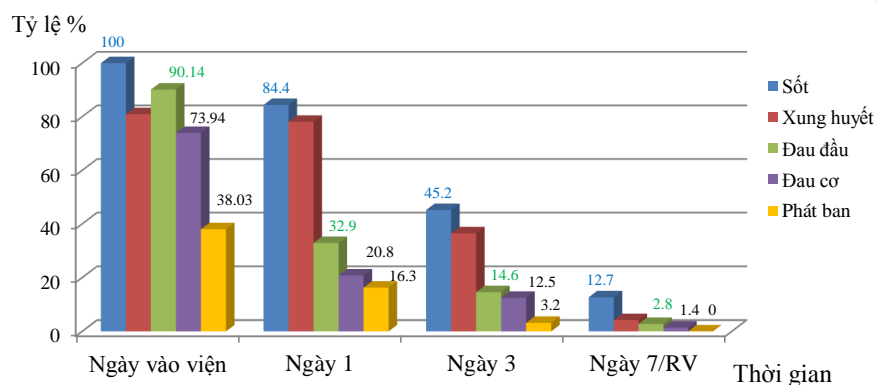
##### 3.3.1.1. Các phác đồ kháng sinh điều trị cho bệnh nhân

**Bảng 3.23. Các phác đồ kháng sinh điều trị cho bệnh nhân**

Điều trị	Số bệnh nhân (N = 142)	Tỷ lệ %
<b>Kháng sinh đặc hiệu</b>	<b>142</b>	<b>100</b>
Doxycyclin	74	52,11
Doxycyclin + Chloramphenicol	52	36,62
Azithromycin	9	6,34
Chloramphenicol	7	4,93

*Nhận xét:* 100% bệnh nhân nhiễm Rickettsia sau khi vào viện đều được điều trị bằng kháng sinh đặc hiệu: doxycyclin (52,11%); doxycyclin phối hợp chloramphenicol (36,62%); azithromycin (6,34%) và chloramphenicol (4,93%).

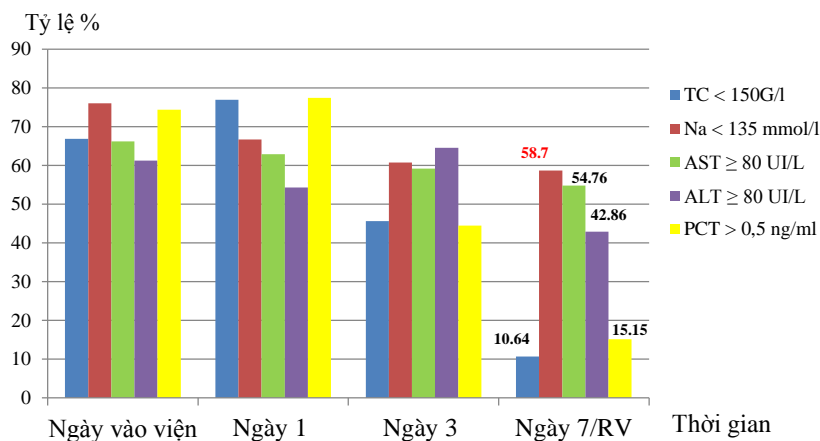
##### 3.3.1.2. Thay đổi một số triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm theo điều trị



**Biểu đồ 3.13. Thay đổi một số triệu chứng lâm sàng theo thời gian điều trị**

*Nhận xét:* Tỷ lệ các triệu chứng lâm sàng hay gặp ở bệnh nhân nhiễm Rickettsiaceae như sốt, đau đầu, đau cơ, xung huyết da và phát ban giảm dần qua các ngày điều trị và trở về bình thường sau vào viện 7 ngày hoặc khi xuất viện.



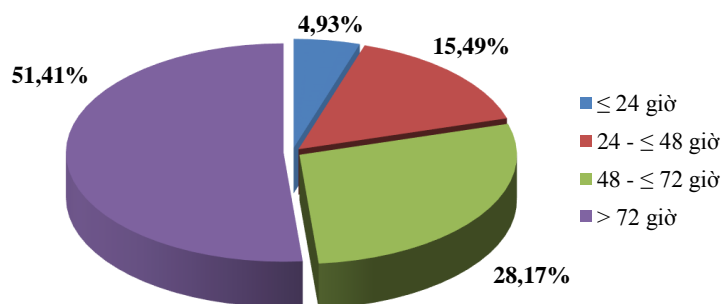


**Biểu đồ 3.14. Thay đổi một số chỉ số xét nghiệm theo thời gian điều trị**

*Nhận xét:* Biến đổi cận lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* như hạ tiểu cầu, hạ natri, tăng enzyme gan AST, ALT, tăng procalcitonin có xu hướng giảm dần vào các ngày 1, 3, 7 sau khi được điều trị. Tuy nhiên, 58,7% bệnh nhân còn tăng AST ≥ 80 UI/L và 54,76% hạ natri sau 7 ngày điều trị.

### 3.3.1.3. Thời gian cắt sốt của bệnh nhân

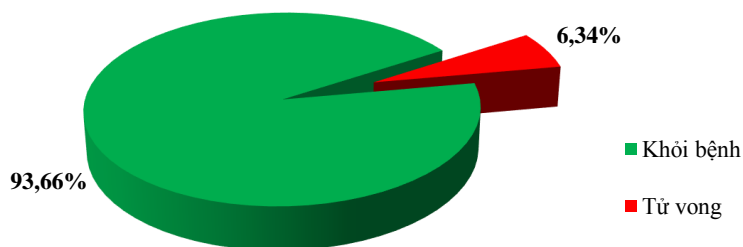
Thời gian cắt sốt trung bình của bệnh nhân là  $4,19 \pm 2,43$  ngày (1 - 18 ngày)



**Biểu đồ 3.15. Thời gian cắt sốt của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

*Nhận xét:* Có 28,17% bệnh nhân cắt sốt trong vòng 48 - ≤ 72 giờ, 15,49% bệnh nhân cắt sốt trong vòng 24 - ≤ 48 giờ, chỉ có 4,93% bệnh nhân cắt sốt trong vòng 24 giờ sau khi vào viện; còn lại 51,41% bệnh nhân cắt sốt trên 72 giờ.

## 3.3.1.4. Tỷ lệ tử vong



**Biểu đồ 3.16. Tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân nhiễm Rickettsiaceae**

*Nhận xét:* Đa số bệnh nhân nhiễm Rickettsiaceae được điều trị khỏi (93,66%), chỉ có 6,34% bệnh nhân tử vong mặc dù đã được điều trị đặc hiệu.

## 3.3.1.5. Kết quả điều trị theo phác đồ kháng sinh sử dụng

**Bảng 3.24. So sánh kết quả điều trị giữa doxycyclin và azithromycin**

Đặc điểm	Doxycyclin (n = 74)	Azithromycin (n = 9)	P
<b>Đặc điểm bệnh nhân trước điều trị</b>			
Thời gian bắt đầu dùng KS	8,42 ± 3,16	8,00 ± 2,72	> 0,05***
Điểm APACHE II ≥ 10	12 (16,22)	2 (22,22)	> 0,05**
Có suy đa tạng	11 (14,86)	1 (11,11)	> 0,05**
<b>Kết quả điều trị</b>			
Điều trị khỏi	72 (97,30)	8 (88,89)	>0,05**
Thời gian hết sốt (ngày)	3,84 ± 1,78	5,88 ± 2,53	< 0,05***
Thời gian nằm viện (ngày)	6,99 ± 3,38	9,62 ± 5,23	< 0,05***

\*\* Fisher exact test \*\*\* Mann Whitney U test

*Nhận xét:* Nhóm bệnh nhân được điều trị bằng doxycyclin có thời gian cắt sốt và thời gian nằm viện điều trị ngắn hơn so với nhóm được điều trị bằng azithromycin (với  $p < 0,05$ ).

### 3.3.1.6. Kết quả điều trị bệnh nhân nhiễm Rickettsiaceae theo căn nguyên

**Bảng 3.25. Kết quả điều trị theo loài Rickettsiaceae gây bệnh**

Kết quả điều trị		<i>O. tsutsugamushi</i> (n = 129)	<i>R. typhi</i> (n = 13)	P
Kết quả	Khỏi bệnh	120 (93,02)	13 (100,00)	> 0,05**
	Tử vong	9 (6,98)	0 (0,00)	
Thời gian cắt sốt (ngày)		4,26 ± 2,51	3,54 ± 1,20	> 0,05***
Thời gian nằm viện (ngày)		8,75 ± 5,69	7,23 ± 2,74	> 0,05***

\*\* Fisher exact test, \*\*\*Mann - Whitney test

*Nhận xét:* Tất cả 9 bệnh nhân tử vong gặp trong nghiên cứu đều do *O. tsutsugamushi* gây ra. Thời gian cắt sốt và thời gian nằm viện điều trị trung bình của bệnh nhân sốt do *O. tsutsugamushi* và bệnh nhân sốt do *R. typhi* khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.26. Kết quả điều trị bệnh theo các kiểu gen gây bệnh sốt mò**

Kết quả điều trị		Gilliam (n = 13)	Karp (n = 25)	Kato (n = 16)	P
Kết quả	Khỏi	13 (100,00)	24 (96,00)	14 (87,50)	> 0,05*
	Tử vong	0 (0,0)	1 (4,00)	2 (12,50)	
Thời gian cắt sốt (ngày)		3,92 ± 1,75	5,20 ± 3,51	4,44 ± 2,53	> 0,05***
Thời gian nằm viện (ngày)		6,23 ± 3,47	9,56 ± 6,79	8,62 ± 4,43	> 0,05***

\*\* Fisher exact test \*\*\* Kruskal Wallis Test

*Nhận xét:* Bệnh nhân tử vong trong nghiên cứu gặp ở kiểu gen Karp 1 bệnh nhân chiếm 4,00% và Kato gặp 2 bệnh nhân (12,50%). Thời gian cắt sốt trung bình và thời gian nằm viện điều trị ở bệnh nhân sốt mò do 3 kiểu gen khác biệt không có ý nghĩa thống kê, với  $p > 0,05$ .

## 3.3.1.7. Kết quả điều trị bệnh nhân theo các biến chứng

**Bảng 3.27. Kết quả điều trị bệnh nhân theo biến chứng**

Kết quả điều trị		Có biến chứng (n = 95)	Không biến chứng (n = 47)	p
Kết quả	Khỏi bệnh	86 (90,53)	47 (100,00)	< 0,05**
	Tử vong	9 (9,47)	0 (0,00)	
Thời gian cắt sốt (ngày)		4,34 ± 2,80	3,89 ± 1,37	> 0,05***
Thời gian nằm viện (ngày)		9,13 ± 6,16	7,57 ± 3,65	> 0,05***

\*\* Fisher exact test, \*\*\*Mann - Whitney test

*Nhận xét:* Tất cả bệnh nhân tử vong đều rơi vào nhóm có biến chứng. Thời gian cắt sốt và thời gian nằm viện ở nhóm có biến chứng dài hơn so với nhóm không có biến chứng, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.28. So sánh kết quả điều trị bệnh nhân theo từng biến chứng**

Biến chứng	Tổng số (n = 142) n (%)	ĐT khỏi (n = 133) n (%)	Tử vong (n = 9) n (%)	p
Hạ huyết áp	50 (35,21)	46 (34,59)	4 (44,44)	> 0,05**
Viêm phổi	48 (33,80)	41 (30,83)	7 (77,78)	< 0,05**
Suy thận	20 (14,08)	16 (12,03)	4 (44,44)	< 0,05**
Rối loạn chức năng gan	19 (13,38)	16 (12,03)	3 (33,33)	> 0,05**
Rối loạn ý thức	15 (10,56)	10 (55,56)	5 (55,56)	< 0,05**
Tiểu cầu < 50 G/l	24 (16,90)	20 (15,4)	4 (44,44)	< 0,05**
Xuất huyết tiêu hóa	4 (2,82)	2 (1,50)	2 (22,22)	< 0,05**

\*\* Fisher exact test

*Nhận xét:* Kết quả phân tích cho thấy, tỷ lệ xuất hiện các biến chứng (viêm phổi, suy thận, rối loạn ý thức, tiểu cầu hạ < 50 G/l, xuất huyết tiêu hóa) ở nhóm bệnh nhân tử vong cao hơn so với nhóm được điều trị khỏi ( $p < 0,05$ ).

## 3.3.1.8. Kết quả điều trị bệnh nhân theo mức độ nặng của bệnh

**Bảng 3.29. Kết quả điều trị bệnh nhân theo suy đa tạng (MODS)**

Kết quả điều trị		Có MODS (n = 37)	Không MODS (n = 105)	p
Kết quả	Khỏi bệnh	29 (78,38)	104 (99,05)	< 0,05**
	Tử vong	8 (2,62)	1 (0,95)	
Thời gian cắt sốt (ngày)		5,05 ± 3,46	3,89 ± 1,88	< 0,05***
Thời gian nằm viện (ngày)		10,70 ± 7,42	7,88 ± 4,45	< 0,05***

\*\* Fisher exact test, \*\*\*Mann - Whitney test

*Nhận xét:* Bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* có biến chứng suy đa tạng có tỷ lệ tử vong, thời gian cắt sốt và thời gian nằm viện trung bình cao hơn ở nhóm bệnh nhân không có suy đa tạng, với  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.30. Kết quả điều trị bệnh nhân theo thang điểm APACHE II**

Kết quả điều trị		APACHE II ≥ 10 (n = 38)	APACHE II < 10 (n = 104)	p
Kết quả	Khỏi bệnh	32 (84,21)	101 (97,12)	< 0,05**
	Tử vong	6 (15,79)	3 (2,88)	
Thời gian cắt sốt (ngày)		4,89 ± 3,67	3,93 ± 1,73	> 0,05***
Thời gian nằm viện (ngày)		11,53 ± 8,22	7,55 ± 3,57	< 0,05***

\*\* Fisher exact test, \*\*\*Mann - Whitney test

*Nhận xét:* Nhóm bệnh nhân có điểm APACHE II ≥ 10 có tỷ lệ tử vong cao hơn và thời gian nằm viện điều trị dài hơn so với nhóm bệnh nhân có điểm APACHE II < 10 ( $p < 0,05$ ). Thời gian cắt sốt trung bình giữa 2 nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

### 3.3.2. Các yếu tố tiên lượng bệnh nặng theo suy đa tạng

**Bảng 3.31. Phân tích đơn biến các yếu tố có liên quan với suy đa tạng**

Đặc điểm	Có MODS (n = 37) n (%)	Không MODS (n = 105) n (%)	p*	OR (95% CI)
Tuổi $\geq 65$	11 (29,73)	14 (13,33)	< 0,05	2,75 (1,12 – 6,78)
Sốt $\geq 10$ ngày	19 (51,35)	37 (35,24)	> 0,05	1,94 (0,91 – 4,14)
Phát ban	17 (45,95)	37 (35,24)	> 0,05	1,56 (0,73 – 3,34)
Vết loét (Eschar)	21 (56,76)	43 (40,95)	> 0,05	1,89 (0,89 - 4,04)
Xuất huyết dưới da	8 (21,62)	7 (6,67)	< 0,05	3,86 (1,29 - 11,55)
Phù ngoại vi	20 (54,05)	14 (13,33)	< 0,001	7,65 (3,25 - 18,02)
qSOFA $\geq 2$	14 (37,84)	10 (9,52)	< 0,001	5,78 (2,28 - 14,67)
APACHE II $\geq 10$	19 (51,35)	19 (18,10)	< 0,001	4,78 (2,12 - 10,78)
Tiểu cầu < 50 G/L	16 (43,24)	8 (7,62)	< 0,001	9,24 (3,50 - 24,39)
AST $\geq 80$ UI/L	28 (75,68)	65 (61,90)	> 0,05	1,78 (0,76 – 4,15)
PCT $\geq 0,5$ ng/mL	29 (78,38)	61 (58,10)	< 0,05	3,24 (1,41 - 7,41)
Kiểu gen Karp	9/15 (60,00)	16/39 (41,03)	> 0,05	2,16 (0,64 – 7,26)
Kiểu gen Kato	4/15 (30,77)	12/39 (26,67)	> 0,05	0,82 (0,22 – 3,10)
Kiểu gen Gilliam	2/15 (13,33)	11/39 (28,21)	> 0,05	0,39 (0,08 – 2,03)

\* Phân tích hồi quy logistic đơn biến

*Nhận xét:* Phân tích hồi quy logistic đơn biến cho thấy, bệnh nhân ở độ tuổi  $\geq 65$ , có biểu hiện: xuất huyết dưới da, phù ngoại vi, điểm qSOFA  $\geq 2$  và APACHE II  $\geq 10$ , tiểu cầu < 50 G/L, PCT  $\geq 0,5$  ng/mL là các yếu tố có liên quan với biến chứng suy đa tạng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*.

**Bảng 3.32. Phân tích đa biến, các yếu tố nguy cơ suy đa tạng**

<b>Đặc điểm</b>	<b>p**</b>	<b>OR</b>	<b>95% CI</b>
Tuổi $\geq 65$	$> 0,05$	0,44	0,08 - 2,52
Xuất huyết dưới da	$> 0,05$	3,03	0,30 - 30,53
Phù ngoại vi	$> 0,05$	0,84	0,15 - 4,77
Tiểu cầu $< 50$ G/L	<b><math>&lt; 0,05</math></b>	4,16	1,21 - 14,37
PCT $\geq 2$ ng/mL	$> 0,05$	1,04	0,37 - 2,91
qSOFA $\geq 2$	<b><math>&lt; 0,05</math></b>	1,99	1,25 - 2,62
APACHE II $\geq 10$	<b><math>&lt; 0,05</math></b>	10,27	1,51 - 69,79

\*\* Phân tích hồi quy logistic đa biến

*Nhận xét:* Khi đưa các yếu tố nguy cơ với suy đa tạng vào phân tích hồi quy logistic đa biến cho thấy, giảm tiểu cầu  $< 50$  G/l, qSOFA  $\geq 2$  điểm và APACHE II  $\geq 10$  điểm là các yếu tố có liên quan độc lập với suy đa tạng (với  $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.33. Tương quan giữa điểm qSOFA và APACHE II với số tạng bị suy**

<b>Mối tương quan</b>	<b>Hệ số tương quan r*</b>	<b>p</b>
Số điểm qSOFA - Số tạng suy	0,62	$< 0,01$
Số điểm APACHE II - Số tạng suy	0,43	$< 0,01$

\* Pearson

*Nhận xét:* Số điểm qSOFA và số điểm APACHE II có tương quan mức độ trung bình với số tạng suy. Tuy nhiên, số điểm qSOFA tương quan với số tạng suy chặt chẽ hơn so với số điểm APACHE II (với hệ số tương quan r lần lượt là 0,62 và 0,43).

### 3.3.3. Các yếu tố tiên lượng tử vong ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

**Bảng 3.34. Phân tích đơn biến, các yếu tố có liên quan đến tử vong**

Đặc điểm	ĐT khỏi (n = 133) n (%)	Tử vong (n = 9) n (%)	p*	OR (95% CI)
Tuổi $\geq 65$	24 (18,05)	1 (11,11)	$> 0,05$	0,56 (0,07 - 4,76)
Sốt $\geq 10$ ngày	52 (39,10)	4 (44,44)	$> 0,05$	1,25 (0,32 - 4,86)
Phù ngoại vi	28 (21,05)	6 (66,67)	$< 0,05$	7,50 (1,76 - 31,89)
Xuất huyết dưới da	11 (8,27)	4 (44,44)	$< 0,05$	8,87 (2,08 - 37,92)
Giảm tiểu cầu $< 50$ G/L	20 (15,04)	4 (44,44)	$< 0,05$	4,52 (1,12 - 18,29)
Rối loạn ý thức (GCS $\leq 13$ )	10 (7,52)	5 (55,56)	$< 0,05$	15,38 (3,56 - 66,49)
Viêm phổi	41 (30,83)	7 (77,78)	$< 0,05$	7,85 (1,56 - 39,45)
Hạ huyết áp	46 (34,59)	4 (44,44)	$> 0,05$	1,51 (0,39 - 5,91)
Rối loạn chức năng gan	16 (12,03)	3 (33,33)	$> 0,05$	3,66 (0,83 - 16,08)
Suy thận	16 (12,31)	4 (44,44)	$< 0,05$	5,70 (1,39 - 23,47)
Suy đa tạng (MODS)	29 (21,81)	8 (88,89)	$< 0,05$	28,69 (3,45 - 238,8)
qSOFA $\geq 2$	15 (11,28)	6 (66,67)	$< 0,05$	15,73 (3,56 - 69,56)
APACHE II $\geq 10$	32 (24,06)	6 (66,67)	$< 0,05$	6,31 (1,49 - 26,69)

\* Phân tích hồi quy logistic đơn biến

*Nhận xét:* Phân tích hồi quy logistic đơn biến cho thấy, phù ngoại vi, xuất huyết dưới da, giảm tiểu cầu  $< 50$  G/l, rối loạn ý thức (GCS  $\leq 13$ ), viêm phổi, suy thận, suy đa tạng, tổng số điểm qSOFA  $\geq 2$  và APACHE II  $\geq 10$  điểm là các yếu tố tiên lượng tử vong ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*.



**Bảng 3.35. Phân tích đa biến các yếu tố tiên lượng tử vong ở bệnh nhân**

<b>Đặc điểm</b>	<b>p**</b>	<b>OR</b>	<b>95% CI</b>
Giảm tiểu cầu < 50 G/L	> 0,05	0,92	0,17 - 5,08
Viêm phổi	> 0,05	0,97	0,12 - 8,16
Suy đa tạng (MODS)	<b>&lt; 0,05</b>	18,92	1,57 - 228,61
qSOFA $\geq$ 2	<b>&lt; 0,05</b>	5,63	1,05 - 30,25
APACHE II $\geq$ 10	> 0,05	2,18	0,41 - 11,45

\*\* Phân tích hồi quy logistic đa biến

*Nhận xét:* Khi đưa một số yếu tố nguy cơ được khảo sát vào phân tích hồi quy logistic đa biến cho thấy, điểm qSOFA  $\geq$  2 và suy đa tạng là các yếu tố tiên lượng độc lập dẫn đến tử vong ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*, ( $p < 0,05$ ).

## CHƯƠNG 4

### BÀN LUẬN

#### 4.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân

##### 4.1.1. Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

###### 4.1.1.1. Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* phát hiện trong nghiên cứu

Trong thời gian nghiên cứu (từ tháng 3/2015 đến tháng 3/2018), có 142 bệnh nhân được chẩn đoán xác định nhiễm *Rickettsiaceae* bằng xét nghiệm realtime PCR, chiếm 0,34% trong tổng số bệnh nhân nhập viện điều trị và chiếm 34,5% trong tổng số bệnh nhân sốt cấp tính chưa rõ nguyên nhân được tuyển vào nghiên cứu. Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của Hamaguchi và Phạm Thị Thanh Thủy, tại Bệnh viện Bạch Mai từ 3/2001 - 2/2003, chẩn đoán bệnh bằng phương pháp huyết thanh học với bệnh nhân sốt mò chiếm 40,93% và sốt chuột chiếm 33,33% trong số bệnh nhân sốt chưa rõ nguyên nhân [68]. Nhưng lại cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Lê Việt Nhiệm tại miền Trung Việt Nam, năm 2017, tỷ lệ sốt do *Rickettsiaceae* chiếm 25,4% trong số sốt cấp tính không rõ nguyên nhân [110]; và nghiên cứu của một số tác giả trong khu vực như: Simaly Phongmany tại bệnh viện Mahosot - Lào năm 2006, tỷ lệ nhiễm *Rickettsiaceae* là 27,0% trong số bệnh nhân vào viện [12]; báo cáo của Suputtamongkol Y tại 6 bệnh viện của Thái Lan từ 2000 - 2003, tỷ lệ nhiễm *Rickettsiaceae* chiếm 17,8% [56]. Tỷ lệ nhiễm *Rickettsiaceae* khác nhau giữa các nghiên cứu cho thấy mức độ lưu hành của bệnh do *Rickettsiaceae* khác nhau giữa các nước trong khu vực, khác nhau giữa các vùng miền ở mỗi nước và khác nhau giữa các thời điểm trong cùng một vùng, miền. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi một lần nữa khẳng định, *Rickettsiaceae* là căn nguyên đóng vai trò gây bệnh sốt cấp tính quan trọng trong khu vực nói chung và ở Việt Nam nói riêng.

#### 4.1.1.2. Tuổi và giới của bệnh nhân

Tỷ lệ bệnh nhân nam và nữ nhiễm *Rickettsiaceae* trong nghiên cứu của chúng tôi tương đương nhau, lần lượt là 49,30% và 50,07% (Biểu đồ 3.2). Tỷ lệ này tương tự như kết quả nghiên cứu của tác giả Phạm Thanh Thủy (nam 50,6% và nữ 49,4%) [67]; Đỗ Văn Thành (nam 49,0% và nữ 51,0%) [155]. nhưng lại khác so với nghiên cứu của Lê Văn An (nam 61,0% và nữ 39,0%) [19] và Nguyễn Trọng Chính (nam 60,9% và nữ 39,1%) [17]. Theo chúng tôi, tỷ lệ nam nữ phản ánh sự khác biệt trong yếu tố phơi nhiễm cũng như quần thể bệnh nhân được điều trị tại cơ sở nghiên cứu. Đối tượng phục vụ tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương (nghiên cứu hiện tại của chúng tôi và của Phạm Thanh Thủy và Đỗ Văn Thành) là quần thể bệnh nhân ở cộng đồng, trong khi tác giả Nguyễn Trọng Chính nghiên cứu ở bệnh viện 108, bao gồm chủ yếu là quân nhân và một số dân thường nên tỷ lệ nam cao hơn nữ. Tỷ lệ nam cao hơn nữ trong nghiên cứu của Lê Văn An tại Thừa Thiên Huế phản ánh đặc điểm phơi nhiễm khác nhau giữa nam và nữ tại địa phương đó.

Bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trong nghiên cứu gặp ở tất cả các lứa tuổi, thấp nhất là 15 và cao nhất là 88 tuổi, trung vị là 50 tuổi, trong đó đa số gặp ở lứa tuổi từ 31 - 60 tuổi (65,49%), đây là lứa tuổi lao động chính; tuy nhiên người cao tuổi (> 60 tuổi) cũng mắc bệnh với tỷ lệ là 24,94% (Biểu đồ 3.1). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự như kết quả nghiên cứu của Phạm Thanh Thủy và Suputtamongkol Y cho thấy, bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* gặp ở mọi lứa tuổi, hay gặp ở lứa tuổi lao động [56], [67]. Như vậy, mọi lứa tuổi đều có nguy cơ nhiễm *Rickettsiaceae*; tuy nhiên, những người trong độ tuổi lao động có tỷ lệ mắc bệnh cao hơn vì trong quá trình lao động họ có nguy cơ phơi nhiễm với mầm bệnh qua các trung gian truyền bệnh trong môi trường cao hơn các lứa tuổi khác.

#### 4.1.1.3. Phân bố bệnh nhân theo nghề nghiệp và nơi cư trú

Bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trong nghiên cứu của chúng tôi đa số sống ở vùng nông thôn (71,13%) và làm nông nghiệp (50,00%); ngoài ra khu vực thành thị cũng gặp 28,87% số bệnh nhân (Biểu đồ 3.3). Trong khi bệnh nhân sống ở vùng nông thôn chủ yếu làm nông nghiệp (60,40%), thì bệnh nhân sống ở khu vực thành thị đa số là lao động tự do (31,71%). Ngoài ra những người nghỉ hưu hoặc những người làm nội trợ cũng nhiễm bệnh với tỷ lệ 16,90%, học sinh - sinh viên và các nghề khác gặp với tỷ lệ ít hơn (Bảng 3.1). Phân bố nghề nghiệp và nơi cư trú của bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với nghiên cứu của Phạm Thị Thanh Thủy với 56,2% làm ruộng và 72,9% bệnh nhân sống ở vùng nông thôn [67] và của Hamaguchi tỷ lệ bệnh nhân sống ở Hà Nội là 41,6%; làm ruộng là 47,1% [68]. Đặc điểm phân bố bệnh nhân như trên có thể giải thích là do, khu vực nông thôn là nơi có nhiều đồng cỏ, bụi rậm, sông suối đây là điều kiện thuận lợi cho ổ chứa (chuột đồng) và trung gian truyền bệnh (ấu trùng mò, bọ chét) phát triển. Những người làm nông nghiệp, khi lao động sẽ có nguy cơ phơi nhiễm với mầm bệnh nhiều hơn. Còn ở khu vực thành thị những người lao động tự do là những người làm các công việc ngoài trời nhiều hơn nên có nguy cơ phơi nhiễm với khu vực có trung gian truyền bệnh nhiều hơn do đó mắc bệnh cao hơn các nghề khác. Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi một lần nữa khẳng định Rickettsioses là bệnh hay gặp ở vùng nông thôn; những người làm nông nghiệp có nguy cơ phơi nhiễm với mầm bệnh cao và là đối tượng chính bị bệnh. Ngoài ra những người lao động tự do, hoặc những người ở nhà mà có tiếp xúc với những khu vực có trung gian truyền bệnh như bãi cỏ, bụi rậm, bờ sông, bờ suối,... đều có nguy cơ bị bệnh. Những người làm việc văn phòng, hoặc học sinh sinh viên ít tiếp xúc với những khu vực trên thì ít có nguy cơ phơi nhiễm với trung gian truyền bệnh nên bị bệnh ít hơn. Do đó, những

người làm nông nghiệp cần chú ý sử dụng các biện pháp phòng hộ tránh côn trùng, tiến túc đốt khi lao động ở những nơi có nguy cơ phơi nhiễm cao với mầm bệnh và trung gian truyền bệnh.

#### 4.1.1.4. Phân bố bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* theo địa dư

Bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* cư trú ở 24 tỉnh/thành của miền Bắc và Bắc Trung Bộ. Trong đó, đông nhất là ở Hà Nội (34,51%) và các tỉnh lân cận Hà Nội như Phú Thọ (8,45%), Hưng Yên (7,0%), Nghệ An (7,0%); các tỉnh có số bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* đến viện thấp hơn là Lạng Sơn, Bắc Kạn, Thái Nguyên và Tuyên Quang (Biểu đồ 3.3). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự như của Hamaguchi, 39,3% bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* sống ở Hà Nội [68]. Điều này có thể giải thích là do nghiên cứu được tiến hành tại bệnh viện Trung ương đóng trên địa bàn Hà Nội, thường tiếp nhận điều trị chủ yếu cho các bệnh nhân sống ở Hà Nội và các tỉnh lân cận; chỉ một số ít bệnh nhân nặng từ các tỉnh chuyển đến. Như vậy, số bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* được phát hiện và điều trị tại bệnh viện chúng tôi chỉ là một “phần nổi của tảng băng chìm”, vì không phải tất cả bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* ở các tỉnh đều được chuyển đến Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương để điều trị. Các yếu tố ảnh hưởng đến số lượng bệnh nhân đến bệnh viện là tình trạng nặng của bệnh, điều kiện kinh tế, khoảng cách từ địa phương tới Hà Nội và khả năng chẩn đoán bệnh của bác sỹ tại tuyến cơ sở. Số lượng bệnh nhân không đồng đều giữa các tỉnh chưa phản ánh mức độ lưu hành thực sự của bệnh mà phụ thuộc trước hết vào khoảng cách từ các địa phương tới Hà Nội: tỉnh nào càng gần Hà Nội, số bệnh nhân đến bệnh viện càng nhiều. Gánh nặng thực sự của bệnh do *Rickettsiaceae* tại các địa phương chắc chắn vượt xa con số bệnh nhân được phát hiện trong nghiên cứu của chúng tôi.

Trong số 49 bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* ở Hà Nội, đa số các bệnh nhân sống ở các quận, huyện ngoại thành (85,71%), trong đó cao nhất là tại huyện Ba Vì và Quốc Oai đều chiếm 10,20%, ở đây có nhiều đồng cỏ và đồi cây, là điều kiện thuận lợi cho trung gian truyền bệnh lưu hành và phát triển. Tuy nhiên bệnh nhân sống trong nội thành cũng gặp (14,29%) - Biểu đồ 3.4. Nguyên nhân của tình trạng nhiễm *Rickettsiaceae* ngay cả ở trong các quận nội thành theo chúng tôi, là do có sự tồn tại và lưu hành của các vector truyền bệnh ở các vườn hoa, bãi cỏ trong các công viên; ngoài ra các khoảng đất/vườn ở các hộ gia đình ở các vùng mới được đô thị hóa, là những nơi quần thể mò, chuột lưu hành và truyền bệnh. Hoặc có thể là do bệnh nhân đi du lịch ở ngoại thành và nhiễm bệnh. Nghiên cứu điều tra dịch tễ học về tỷ lệ lưu hành kháng thể IgG với bệnh do *Rickettsiaceae* lưu hành trong cộng đồng cho thấy ở ngay trong nội thành Hà Nội cũng có sự lưu hành kháng thể với cả 3 nhóm bệnh do *Rickettsiaceae*: Dương tính với *R. typhi* gây bệnh sốt chuột là 42,3%, với *O. tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò là 27,8% và với *Rickettsiaceae* spp là 29,9% [16]. Để hiểu rõ hơn về vấn đề này cần tiến hành nghiên cứu điều tra dịch tễ học các bệnh do *Rickettsiaceae* thêm tại cộng đồng.

#### 4.1.1.5. Phân bố bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* theo thời gian trong năm

Bệnh nhân nhiễm *Rickettsia* nhập viện điều trị rải rác quanh năm, trong đó tập trung từ tháng 5 đến tháng 10 chiếm 71,13%, cao nhất vào tháng 6 là (20,42%), (Biểu đồ 3.5). Đây là thời gian miền Bắc có lượng mưa, nhiệt độ và độ ẩm cao trong năm - là điều kiện thuận lợi để vector truyền bệnh phát triển. Theo các nghiên cứu, tỷ lệ nhiễm *Rickettsiaceae* liên quan mật thiết đến tính chất mùa hoạt động của vector truyền bệnh. Sự thay đổi về số lượng mật độ vector và trung gian truyền bệnh *Rickettsiaceae* là một yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm *Rickettsiaceae* ở vùng bệnh lưu hành [55], [56]. Như vậy, thời gian có số bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* nhập viện đông nhất trong nghiên cứu của chúng tôi,

trùng với thời gian phát triển thuận lợi của quần thể vector truyền bệnh *Rickettsiaceae* như mò, bọ chét, ve... [56]. Nghiên cứu của chúng tôi chỉ tiến hành tại bệnh viện và không khảo sát được các yếu tố dịch tễ học khác có liên quan trong cộng đồng nên kết quả của chúng tôi chỉ nói lên tính chất mùa của các ca bệnh mà không phản ánh đầy đủ được đặc điểm dịch tễ học của bệnh do *Rickettsiaceae* gây ra trong cộng đồng. Vì vậy, để hiểu rõ hơn đặc điểm phân bố dịch tễ của bệnh do *Rickettsiaceae* liên quan với các đặc điểm sinh thái cũng như trung gian truyền bệnh cần triển khai nghiên cứu thêm ở cộng đồng.

#### 4.1.1.6. Tiền sử chẩn đoán và điều trị của các bệnh nhân trước khi vào viện

Trong số bệnh nhân nghiên cứu của chúng tôi, 69,7% đã được điều trị tại các bệnh viện tuyến cơ sở trước khi vào viện. Trong đó chỉ có 14,79% bệnh nhân được chẩn đoán đúng là bệnh do *Rickettsiaceae*, còn lại 11,27% bệnh nhân được chẩn đoán sót chưa rõ nguyên nhân và 43,66% bệnh nhân được chẩn đoán nhầm sang các bệnh khác như: nhiễm khuẩn huyết, sốt vi rút, sốt xuất huyết dengue, viêm phổi, (Bảng 3.2). Ngoài ra, có 38,0% bệnh nhân trong nghiên cứu đã được điều trị kháng sinh trước khi vào viện thì chỉ có 7,04% bệnh nhân được điều trị kháng sinh có tác dụng với *Rickettsiaceae* là doxycyclin, azithromycin hoặc chloramphenicol (Bảng 3.3); còn lại phần lớn (30,99%) bệnh nhân được dùng kháng sinh không phù hợp, trong đó có cả kháng sinh nhóm carbapenem. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự như kết quả nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Thanh Thủy [67] và Hamaguchi [68]. Theo chúng tôi, bệnh nhân bị chẩn đoán nhầm sang bệnh khác và điều trị kháng sinh chưa phù hợp là do hạn chế về các xét nghiệm chẩn đoán xác định căn nguyên *Rickettsiaceae* gây bệnh, trong khi biểu hiện lâm sàng của các bệnh do *Rickettsiaceae* thường đa dạng và không đặc hiệu [1] nên thầy thuốc chẩn đoán bệnh thường chỉ dựa vào kinh nghiệm lâm sàng của bản thân, dễ chẩn đoán nhầm sang bệnh khác, dẫn đến chỉ định kháng sinh không đúng, không có tác dụng điều trị (kể cả kháng sinh đắt tiền như nhóm carbapenem).

#### **4.1.2. Đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

##### **4.1.2.1. Đặc điểm và tính chất khởi phát sốt ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

Trong những ngày đầu khởi bệnh, biểu hiện lâm sàng của các bệnh do *Rickettsiaceae* thường không đặc hiệu và giống với các bệnh sốt cấp tính khác. Thời gian trung bình từ khi khởi phát sốt đến khi bệnh nhân vào viện là  $8,63 \pm 3,02$  ngày (từ 3 đến 18 ngày). Trong đó 54,93% bệnh nhân nhập viện trong tuần thứ hai, 40,14% bệnh nhân nhập viện trong tuần đầu tiên và chỉ có 4,93% bệnh nhân nhập viện trong tuần thứ 3 của bệnh (Bảng 3.5). Thời gian nhập viện trung bình của bệnh nhân sau sốt trong nghiên cứu của chúng tôi ngắn hơn so với nghiên cứu của một số tác giả trước đây như: Phạm Thanh Thủy ( $10,3 \pm 4,2$  ngày) [67], Đỗ Văn Thành ( $12,22 \pm 3,95$  ngày) [155], Lê Đăng Hà và Cao Văn Viên ( $11,52 \pm 5,23$  ngày) [20]. Như vậy, trong thời gian từ 2015 - 2018 bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* nhập viện tuy có ngắn hơn so với báo cáo trước đây, nhưng vẫn còn tương đối dài ( $8,63 \pm 3,02$  ngày); như vậy bệnh nhân vẫn chưa được chẩn đoán sớm và điều trị kịp thời. Điều này có thể giải thích là do, sự thiếu hiểu biết về bệnh cảnh lâm sàng và dịch tễ học của bệnh cũng như hạn chế về các kỹ thuật xét nghiệm chẩn đoán xác định bệnh.

Theo y văn và các kết quả nghiên cứu cho thấy, sốt là biểu hiện xuất hiện đầu tiên của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*. Tỷ lệ bệnh nhân có sốt (100%) đã được nhiều tác giả báo cáo như Lê Văn An, Nguyễn Trọng Chính, Lê Đăng Hà và Cao Văn Viên, Phạm Thanh Thủy [17], [19], [20], [67]. Tất cả bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi đều nhập viện vì sốt trong vòng 1 đến 3 tuần của bệnh. Tính chất sốt của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trong nghiên cứu của chúng tôi đa số khởi phát đột ngột (69,01%), có thể sốt liên tục (59,86%) hoặc dao động (40,14%) và thường sốt nóng (75,35%), ít khi sốt rét run (24,65%). Tại thời điểm nhập viện, bệnh nhân thường sốt nhẹ (56,34%) hoặc trung bình (28,87%), ít khi sốt cao (14,79%), (Bảng 3.5). Đặc



điểm và tính chất sốt của bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như kết quả nghiên cứu của tác giả khác như Nguyễn Trọng Chính, 70,7% bệnh nhân khởi phát sốt đột ngột và 73,1% sốt liên tục [17]; Phạm Thị Thanh Thủy 64,9% khởi phát sốt đột ngột và 91,6% sốt liên tục [67]. Như vậy, đặc điểm khởi phát và tính chất sốt của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* như ở trên có thể giúp các thầy thuốc định hướng chẩn đoán phân biệt với sốt do các căn nguyên gây bệnh khác.

#### 4.1.2.2. Triệu chứng cơ năng của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

Bên cạnh biểu hiện sốt, các triệu chứng cơ năng hay gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* là đau đầu, đau cơ, có thể có kèm theo ho, buồn nôn và nôn [1], [70]. Trong nghiên cứu của chúng tôi những triệu chứng cơ năng gặp lần lượt là đau đầu (90,14%), đau cơ (73,94%) và các biểu hiện khác ít gặp hơn là ho (45,07%), buồn nôn (30,28%), nôn (21,83%), tiêu chảy (21,13%), đau họng (15,49%), đau bụng (14,08%) và khó thở gặp 12,68% - Bảng 3.4. Tỷ lệ gặp triệu chứng đau đầu, đau cơ trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như nghiên cứu của tác giả khác như: Phạm Thị Thanh Thủy 81,2% có biểu hiện đau đầu và 67,7% có biểu hiện đau cơ [69]; Nguyễn Trọng Chính, 100% đau đầu, 78,4% đau cơ [17]; Hamaguchi 69,6% có đau đầu và 73,4% có đau cơ [68]. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi một lần nữa khẳng định tính phổ biến của các triệu chứng trên trong bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*.

#### 3.1.2.3. Biểu hiện ở da và niêm mạc của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

Xung huyết da và niêm mạc là biểu hiện thường gặp trong nhiễm *Rickettsiaceae*, có giá trị gợi ý chẩn đoán [1]. Tỷ lệ gặp triệu chứng này trong nghiên cứu của một số tác giả như sau: Nguyễn Trọng Chính - 92,6%, Lê Đăng Hà và Cao Văn Viên - 86,2%, Đỗ Văn Thành - 76%, Phạm Thanh Thủy - 88,0% [17], [20], [67], [155]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, xung huyết da gặp ở 80,96% bệnh nhân và xung huyết kết mạc mắt gặp ở 69,71% số bệnh

nhân (Bảng 3.6). Tỷ lệ gặp xung huyết da và niêm mạc ở bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi tương đương với nghiên cứu của các tác giả trước đó. Như vậy, xung huyết da và niêm mạc là triệu chứng thường gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* và có thể sử dụng cho định hướng chẩn đoán bệnh trên lâm sàng. Ngoài biểu hiện xung huyết da và niêm mạc, các biểu hiện khác cũng gặp ở da của các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trong nghiên cứu là vết loét (45,07%), phát ban (38,03%), phù ngoại vi (23,94%), sưng hạch (22,54%), vàng da/vàng mắt (13,68%) và xuất huyết dưới da (10,56%).

*Vết loét ở da* là một dấu hiệu đặc hiệu của bệnh sốt mò và được đề cập đến trong hầu hết các nghiên cứu về lâm sàng của bệnh. Tần suất gặp vết loét ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiae* trong nghiên cứu của Hamaguchi là 27,8 % (trong đó 62,9% ở bệnh nhân sốt mò và 2,9% ở bệnh nhân sốt chuột) [68]. Tỷ lệ gặp vết loét ở bệnh nhân sốt mò dao động từ 42,1% (George M. Varghese) [74] đến 46% (Berman và Kundin) [71], 64,9% (Phạm Thanh Thủy) [67] và 90 - 100% như nghiên cứu của Lê Văn An, Nguyễn Trọng Chính, Đỗ Văn Thành và Nguyễn Văn Sơn [17], [19], [155], [156]. Tỷ lệ gặp vết loét ở bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi là 45,07%, trong đó 96,87% bệnh nhân chỉ có 1 vết loét và chỉ có 2 bệnh nhân là có 2 vết loét; kích thước vết loét 5 - 10 mm (53,13%); vết loét phân bố ở nhiều vị trí khác nhau trên cơ thể, hay gặp ở vùng kín, có da mỏng như ở vùng bụng (25,00%), vùng bẹn (18,75%), vùng nách (9,39%), vùng nền cổ và vùng ngực đều gặp 7,81%, các vị trí khác trên cơ thể cũng có thể gặp vết loét với tỷ lệ ít hơn (Bảng 3.7). Tỷ lệ gặp vết loét trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của Hamaguchi, nhưng thấp hơn so với nghiên cứu của Phạm Thanh Thủy và các tác giả khác. Sự khác biệt về tỷ lệ gặp vết loét ở bệnh nhân giữa các nghiên cứu có thể giải thích là do một số nguyên nhân như: (1) đặc tính của các chủng *Rickettsiaceae* gây bệnh phát hiện trong nghiên cứu là khác nhau (vết

loét thường xuất hiện trong sốt mò và hầu như không gặp ở bệnh nhân sốt chuột) [1]; (2) tình trạng miễn dịch của cơ thể chủ (vết loét thường xuất hiện trong sốt mò tiên phát và ít hơn trong sốt mò thứ phát), (3) và đặc điểm nhân chủng học (thường gặp ở người da trắng và ít gặp ở những người có nước da sẫm màu) [157]. Ngoài ra, (4) hiểu biết về bệnh và kỹ năng thăm khám của các thầy thuốc lâm sàng cũng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tỷ lệ phát hiện vết loét. Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu tiến cứu có định hướng tìm vết loét một cách chủ động, tuyền vào nghiên cứu tất cả những bệnh nhân sốt không rõ nguyên nhân, dù có vết loét hay không. Đó đó, tỷ lệ có vết loét trong nghiên cứu của chúng tôi có thể phản ánh trung thực tỷ lệ có vết loét ở các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trên thực tế.

*Phát ban* được Giáo sư Bùi Đại coi là một trong ba triệu chứng cơ bản hay gặp ở bệnh nhân sốt mò (vết loét, phát ban và sung hạch bạch huyết) [70]. Theo tác giả, phát ban thường xuất hiện vào cuối tuần thứ nhất của bệnh, có dạng dát hoặc dát sần, đôi khi có ban xuất huyết; ban có thể xuất hiện đầu tiên ở thân, sau đó lan ra các chi, hoặc mọc không có thứ tự, tồn tại khoảng 4-5 ngày. Một số bệnh nhân có ban thưa và mờ, chỉ xuất hiện thoáng qua [67]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi gặp 38,03% bệnh nhân có phát ban, ban xuất hiện trong tuần đầu tiên bệnh (31,58%) hoặc tuần bệnh thứ 2 (43,04%), không gặp phát ban ở bệnh nhân trong tuần bệnh thứ 3 (Biểu đồ 3.7). Tỷ lệ gặp phát ban theo tác giả Bùi Đại là 72% [70], Berman và Kundin là 34% [71], Hamaguchi là 31,2% [68], Phạm Thanh Thủy gặp 34,3%. Tỷ lệ phát ban dao động như vậy, có thể do chủng *Rickettsiaceae* gây bệnh khác nhau; thời gian bị bệnh và tình trạng miễn dịch của các quần thể bệnh nhân khác nhau giữa các nghiên cứu. Các dạng ban gặp trong nghiên cứu của chúng tôi là: ban dát (64,81%) hoặc ban dát sần (35,19%); vị trí hay gặp ở toàn thân (59,26%) hoặc chỉ ở thân mình (24,07%), chân tay và ở mặt gặp ít hơn (Bảng 3.8). Ngoài ra

xuất huyết dưới da cũng gặp 10,56%. Các quan sát về ban của chúng tôi tương tự báo cáo của Bùi Đại, Lê Đăng Hà và Phạm Thị Thanh Thủy [20], [67], [70].

*Sung hạch ngoại vi* là một trong 3 triệu chứng cơ bản có giá trị chẩn đoán sốt mò theo nhận định của Bùi Đại [70]. Theo các tác giả, sung hạch tại chỗ là sung hạch gần vị trí có vết loét và thường xuất hiện ở giai đoạn sớm sau khi vi khuẩn xâm nhập qua vết đốt hoặc vị trí da bị tổn thương. Sung hạch toàn thân là sung từ 2 nhóm hạch trở lên hoặc sung hạch ở xa vị trí vết loét và thường xuất hiện ở giai đoạn muộn hơn, khi vi khuẩn từ hạch viêm tại chỗ di cư theo các đại thực bào tới tổn thương các hạch ở xa (Bùi Đại). Trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ gặp sung hạch ở 22,54% bệnh nhân và thường sung hạch tại khu vực vết loét. Tỷ lệ sung hạch trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của Hagamuchi (37,1%) và thấp hơn so với nghiên cứu của Phạm Thị Thanh Thủy (63,7%), Nguyễn Trọng Chính (78%), Lê Đăng Hà (89,7%). Sự khác biệt về tỷ lệ sung hạch có thể là do sự khác biệt giữa các quần thể bệnh nhân nghiên cứu và khác nhau về tiêu chí xác định hạch to giữa các tác giả.

#### 3.1.2.4. Biểu hiện trên các hệ cơ quan ở bệnh nhân sốt do *Rickettsiaceae*

Theo y văn và các nghiên cứu trước đây cho thấy, bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* thường có tổn thương ở đa cơ quan [1], [70]. Tỷ lệ gặp tổn thương ở các cơ quan khác nhau theo từng giai đoạn và mức độ nặng của bệnh, những tổn thương trên các hệ cơ quan trong nghiên cứu của chúng tôi như sau:

##### - Về biểu hiện trên hệ tuần hoàn

Trong nghiên cứu của chúng tôi, các biểu hiện tuần hoàn gặp bao gồm: mạch nhanh  $\geq 80$  chu kỳ/phút (94,37%), hạ huyết áp tâm trương  $\leq 60$  mmHg (35,21%), hạ huyết áp tâm thu  $\leq 90$  mmHg (12,68%) và loạn nhịp tim ở 5 bệnh nhân (Bảng 3.9). Ngoài ra, theo một số tác giả, các biểu hiện về tim

mạch có thể gặp trong bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* như: phân ly mạch - nhiệt độ hoặc nhịp tim nhanh, hạ huyết áp tâm thu, huyết áp tâm trương hoặc hạ huyết áp tư thế, viêm cơ tim, và suy tim [24], [70], [157]. Tuy nhiên, trên thực tế, còn ít nghiên cứu đề cập đến các biểu hiện tim mạch ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* do những biểu hiện này tương đối hiếm gặp và để xác định sự có mặt của các biểu hiện này cần có những kỹ năng và phương tiện hỗ trợ chẩn đoán nhất định như: ghi điện tim đánh giá hoạt động điện cơ tim, chụp X-quang ngực phát hiện bóng tim to và siêu âm tim đánh giá chức năng tim. Chúng tôi sử dụng tần số mạch và huyết áp của bệnh nhân để đánh giá tình trạng tim mạch của bệnh nhân nghiên cứu. Biểu hiện hạ huyết áp được xác định khi huyết áp tâm thu < 90 mm Hg hoặc huyết áp tâm trương < 60 mm Hg; mạch nhanh được xác định khi trên 80 chu kỳ/phút. Tác giả Song đã coi huyết áp tâm thu < 90mm Hg là biến chứng về tim mạch và thấy 16,8% bệnh nhân có biểu hiện này [158]. Đỗ Văn Thành gặp 41% bệnh nhân có biểu hiện hạ huyết áp < 90 mm Hg [155]. Phạm Thanh Thủy gặp 7,8% bệnh nhân có huyết áp < 85 mmHg [67], Hamaguchi gặp hạ huyết áp ít hơn, ở 2,4% bệnh nhân [68]. Như vậy, tỷ lệ hạ huyết áp khác nhau giữa các nghiên cứu có thể là do có sự khác biệt về quần thể bệnh nhân nghiên cứu (thời gian bị bệnh, mức độ nặng của bệnh). Theo chúng tôi, có nhiều nguyên nhân dẫn đến tình trạng hạ huyết áp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* như mất nước do sốt cao, tình trạng viêm và giãn mạch (hạ huyết áp tâm trương hoặc huyết áp tư thế) và giảm sức co bóp của cơ tim [24], [70]. Theo khuyến cáo, bệnh nhân hạ huyết áp cần được đánh giá chức năng tuần hoàn (như làm điện tim, siêu âm tim phát hiện viêm cơ tim, kiểm soát áp lực tĩnh mạch trung tâm), bù dịch có kiểm soát và điều trị thuốc vận mạch trong các trường hợp hạ huyết áp nặng để ngăn ngừa các biến chứng suy đa phủ tạng [159].

### - Về biểu hiện ở hệ hô hấp

Các biểu hiện hô hấp gặp ở bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi bao gồm: ho khan hoặc ho có đờm (45,07%), nhịp thở nhanh  $\geq 20$  chu kỳ/phút (69,01%); nghe phổi có ran nổ/ảm (24,65%) và suy hô hấp ( $SpO_2 \leq 90\%$ ), gặp ở 16,3% bệnh nhân. Tỷ lệ gặp ran phổi ở bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như của Hamaguchi (24,0%) [68]. Tỷ lệ gặp ran phổi trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với các tác giả Lê Văn An - 19,5%, nhưng lại thấp hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Trọng Chính - 30,9% và Phạm Thanh Thủy - 41,6% [17], [19], [67]. Sự khác biệt này có thể là do thời gian bệnh nhân nhập viện khác nhau quần thể nghiên cứu và căn nguyên gây bệnh khác nhau.

Chúng tôi đã đánh giá tổn thương phổi trên phim XQ lồng ngực của bệnh nhân. Trong số 128 bệnh nhân được chụp phim XQ lồng ngực khi vào viện thì 37,5% bệnh nhân có hình ảnh tổn thương trên phim. Tỷ lệ này thấp hơn so với nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Thanh Thủy (54,2%), Song (59,4%) [158] và Choi (72%) [160]. Các tổn thương phát hiện trên phim XQ lồng ngực trong nghiên cứu của chúng tôi là hình mờ dạng lưới (35,16%), thâm nhiễm nốt (2,34%), dày rãnh liên thùy (6,25%), mờ góc sườn hoành (22,66%) và bóng tim to (3,91%) (Bảng 3.16). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự như báo cáo của các tác giả Yeon J.J, Song và nghiên cứu của Choi, tổn thương phổi trong bệnh nhân Rickettsioses thường là tổn thương dạng lưới, lưới nốt là các hình ảnh đặc trưng cho viêm phổi kẽ [58], [158], [160].

Trong số bệnh nhân nghiên cứu, 53 bệnh nhân có biểu hiện hô hấp đã được làm xét nghiệm khí máu động mạch. Các biến loạn trong khí máu động mạch gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* là: kiềm hô hấp với  $PH > 7,45$  (58,5%),  $PCO_2 < 35$  mmHg (83,0%),  $HCO_3^- < 22$  mmHg (62,3%) và giảm oxy hóa máu mức độ nặng (41,51%) hoặc mức độ trung bình (39,62 %), (Bảng

3.14). Trong số các bệnh nhân khó thở, suy hô hấp và được làm xét nghiệm khí máu động mạch, có 11 bệnh nhân có đủ tiêu chuẩn chẩn đoán hội chứng suy hô hấp cấp (ARDS), trong đó chỉ có 4/11 bệnh nhân được điều trị khỏi với điều trị kháng sinh và thở máy hỗ trợ tích cực. Trên thực tế đã có một số tác giả báo cáo về viêm phổi ARDS trong sốt mò như tác giả Venkategowda P.M, Varghese G.M, và Tsay R.W [74], [77], [161]. Các tác giả nhận thấy, bệnh nhân thường có viêm phổi kẽ trước khi tiến triển thành ARDS, và thường có biểu hiện giảm tiểu cầu cũng như biến chứng khác kèm theo; khi bệnh nhân viêm phổi ARDS thường có tiên lượng nặng [74], [77]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tính phổ biến của các tổn thương phổi ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*. Do đó cần nghĩ đến bệnh Rickettsioses ở các bệnh nhân sốt và có biểu hiện viêm phổi kẽ; cần sử dụng kháng sinh thích hợp và hỗ trợ hô hấp tích cực là những biện pháp quan trọng để điều trị cho các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* có biến chứng viêm phổi ARDS.

**- Về biểu hiện ở hệ tiêu hóa**

Triệu chứng tiêu hoá gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* bao gồm: buồn nôn (30,28%), nôn (21,83%), tiêu chảy (21,13%), đau bụng (14,08%), gan to (12,68%), lách to (7,75%) - Bảng 3.4 và Bảng 3.9. Triệu chứng đau bụng cũng được một số tác giả báo cáo như Berman và Kundin gặp đau bụng ở 17% số bệnh nhân. Phongmany và cộng sự gặp đau bụng 22% [12], Hamaguchi gặp 18,5% [68]. Theo ghi nhận của chúng tôi, đau bụng thường khu trú ở vùng thượng vị hoặc hạ sườn phải và có liên quan đến gan to. Ngoài ra, trong nghiên cứu của chúng tôi gặp 4 bệnh nhân bị xuất huyết tiêu hoá (chiếm 2,4%). Đây là một biến chứng hiếm gặp, nhưng cũng đã được Phạm Thị Thanh Thủy thông báo gặp 5 bệnh nhân [67]. Các bệnh nhân xuất huyết tiêu hóa trong nghiên cứu của chúng tôi có tiểu cầu hạ thấp < 50 G/l, cả 4 bệnh nhân đều đáp ứng tốt với các biện pháp điều trị hỗ trợ như truyền hồng cầu, tiểu cầu...

Gan to và lách to là biểu hiện thường được tìm kiếm và báo cáo trong bệnh do *Rickettsiaceae*. Để đánh giá và xác định tình trạng gan và lách to thường qua thăm khám đánh giá diện đục của gan và lách trên lâm sàng hoặc qua siêu âm ổ bụng. Trong nghiên cứu chúng tôi gặp gan to 12,68% và lách to gặp 7,75% bệnh nhân (Bảng 3.9). Tỷ lệ gan to, lách to phát hiện trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với báo cáo của các tác giả như: Lê Đăng Hà và Cao Văn Viên (56,2% và 16,75%) [20]; Phạm Thị Thanh Thủy (55,0% và 17,9%) [67] và Hamaguchi gặp gan và/hoặc lách to là 43,7% [68]. Theo chúng tôi, sự khác biệt này có thể là do khác nhau về quần thể bệnh nhân nghiên cứu và thời gian bệnh nhân được tiếp cận điều trị. Bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi có thời gian tiếp cận bệnh viện để điều trị sau khi bị bệnh ngắn hơn so với các tác giả khác nên gặp bệnh nhân có gan, lách to ít hơn.

Tràn dịch thanh mạc: Chúng tôi phát hiện tràn dịch thanh mạc ở 42,52% bệnh nhân được siêu âm ổ bụng - màng phổi, trong đó hay gặp nhất là tràn dịch màng phổi chiếm 28,35%, tràn dịch đa màng gặp 7,87% và tràn dịch màng bụng gặp 6,30% (Bảng 3.15). Tràn dịch thanh mạc trong sốt mò cũng đã được các tác giả ghi nhận và báo cáo như Nguyễn Văn Sơn gặp tràn dịch màng phổi 6,4% [17], [156], Đỗ Văn Thành gặp tràn dịch màng phổi 9% và màng tim 9% [155]; Phạm Thị Thanh Thủy gặp tràn dịch thanh mạc 12,7% [67]. Tràn dịch thanh mạc trong nhiễm *Rickettsiaceae* được cho là có liên quan đến tổn thương thành mạch và rối loạn chức năng gan [58], [70], [162]. Các nghiên cứu cổ điển về sốt mò không thấy báo cáo biểu hiện này (Berman và Kundin, Hazlett), lý do là lượng dịch trong các khoang thanh mạc thường không nhiều nên rất khó phát hiện trên lâm sàng. Nguyễn Trọng Chính chỉ phát hiện được tràn dịch màng phổi qua chụp XQ lồng ngực [17]; Yeon và cộng sự có thể phát hiện được tràn dịch màng bụng và màng phổi qua XQ lồng ngực và siêu âm [17], [58]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tràn dịch đa



màng được phát hiện qua siêu âm ổ bụng và phim XQ phổi; lượng dịch nhiều nhất đo được trên siêu âm là 4,8 cm. Như vậy, qua nghiên cứu cho thấy tràn dịch thanh mạc có thể gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* và thường không nhiều nên chẩn đoán trên lâm sàng thường khó khăn. Vì vậy, cần áp dụng các biện pháp như siêu âm ổ bụng – màng phổi và chụp XQ lồng ngực thẳng để hỗ trợ chẩn đoán.

#### **- Biểu hiện thần kinh**

Rối loạn ý thức do viêm não màng não là biểu hiện của hệ thần kinh trung ương có thể gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* [1]. Viêm não màng não trong *Rickettsioses* có bản chất là viêm màng não nước trong do viêm mao mạch, phù não và được coi là biến chứng của bệnh [74]. Đây là một trong các biến chứng nghiêm trọng của bệnh khi bệnh nhân không được chẩn đoán và điều trị kịp thời bằng kháng sinh đặc hiệu [70]. Trong số bệnh nhân nghiên cứu của chúng tôi, có 15 bệnh nhân có biểu hiện tổn thương thần kinh trung ương (10,56%). Trong đó 12 bệnh nhân được chọc dịch não tủy xét nghiệm, kết quả 8/12 bệnh nhân có biến loạn trong dịch não tủy. Biến chứng viêm não màng não cũng đã được ghi nhận trong nghiên cứu của Phạm Thị Thanh Thủy (18,0%) [67] và Hamaguchi (5,2%) [68]. Các bệnh nhân viêm màng não của chúng tôi thường có dịch não tủy biến loạn nhẹ, tăng protein (từ 0,45 đến 1,34 g/l) và 7/12 bệnh nhân tăng bạch cầu (từ 12 - 78 BC/mm<sup>3</sup>), trong đó ưu thế tăng bạch cầu lympho. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với thông báo của Phan Quận [163], viêm màng não ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* chủ yếu gặp viêm màng não nước trong. Như vậy, các biến chứng thần kinh viêm não màng não có thể gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*. Vì vậy, với bệnh nhân sốt cấp tính tại vùng dịch lưu hành có các biểu hiện thần kinh tương tự phải được đánh giá và cân nhắc điều trị theo hướng do *Rickettsiaceae*.

### **4.1.3. Biến đổi cận lâm sàng của bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

#### **4.1.3.1. Biến đổi trong công thức máu của bệnh nhân**

Biến loạn trong công thức máu ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* như thiếu máu và giảm tiểu cầu đã được một số tác giả báo cáo [17], [62], [63]. Tất cả bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi đều được làm xét nghiệm công thức máu ngay sau khi vào viện, các biến loạn trong công thức máu ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* như sau:

Thiếu máu ( $Hb < 120 \text{ g/l}$ ) được phát hiện ở 41,55% số bệnh nhân, trong đó 4,93% bệnh nhân thiếu máu nặng ( $Hb < 60 \text{ g/l}$ ). Thiếu máu trong sốt mò đã được một số tác giả thông báo: Nguyễn Trọng Chính thấy thiếu máu ở 85,9% số bệnh nhân [17]; Phạm Thị Thanh Thủy gặp thiếu máu ở 51,6% bệnh nhân, trong đó có 1,6% bệnh nhân có thiếu máu nặng ( $Hb 28\text{g/L}$ ) [67]. Theo chúng tôi, thiếu máu nặng liên quan đến tình trạng xuất huyết và thiếu máu nhẹ có thể liên quan đến tình trạng giảm sinh tủy hoặc hoạt hóa quá mức của các đại thực bào. Hiện tượng hoạt hóa quá mức các đại thực bào ở bệnh nhân sốt do *Rickettsiaceae* đã được các tác giả Loussaief và Ki Mi-Jeong báo cáo [45], [164].

Số lượng bạch cầu: Trong nghiên cứu của chúng tôi, đa số bệnh nhân có số lượng bạch cầu bình thường (59,86%), 32,40% bệnh nhân có bạch cầu  $> 10 \text{ G/L}$  (trong đó 59,86% tăng bạch cầu đa nhân trung tính) và chỉ có 7,74% bệnh nhân có bạch cầu  $< 4 \text{ G/l}$ . Tỷ lệ tăng bạch cầu ở các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như trong nghiên cứu của Hamaguchi (30,9%) [68]. Tăng bạch cầu là biểu hiện phản ứng của hệ thống miễn dịch đối với các tác nhân gây bệnh. Do *Rickettsiaceae* là các vi khuẩn ký sinh nội bào nên bạch cầu thường tăng nhẹ (trung bình  $9,7 \pm 5,3 \text{ tế bào/ mm}^3$ ). Khác với trong nhiễm vi rút thường tăng bạch cầu lymphocyte, 54,92% bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* tăng bạch cầu đa nhân trung tính. Đây là một đặc điểm

cần lưu ý để định hướng chẩn đoán bệnh do nhiễm *Rickettsiaceae* với các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn và các bệnh nhiễm vi rút có phát ban khác.

Giảm tiểu cầu là một biến đổi về huyết học trong sốt mò được nhiều tác giả báo cáo. Nguyễn Trọng Chính gặp tiểu cầu hạ <100 G/L ở 9,1% số bệnh nhân [17]; Đỗ Văn Thành gặp hạ tiểu cầu ở 24,3% [155]; Phạm Thị Thanh Thủy gặp tiểu cầu < 100 G/l là 28,6%; Hamaguchi gặp hạ tiểu cầu ở 45,0% [68]. Trong nghiên cứu của chúng tôi tiểu cầu giảm <100 G/L gặp ở 48,59% số bệnh nhân; trong đó tiểu cầu giảm nặng < 50 G/L gặp ở 18,31% số bệnh nhân. Nguyên nhân giảm tiểu cầu được các tác giả giải thích là do *Rickettsiaceae* xâm nhập và làm tổn thương tế bào nội mạc mạch máu và tăng tiêu thụ tiểu cầu; thậm chí có thể dẫn tới đông máu nội mạch rải rác và rối loạn đông máu; ngoài ra hiện tượng giảm tiểu cầu còn có thể là do hiện tượng thực bào quá mức hoặc do ức chế giảm sinh tủy [71], [123]. Nghiên cứu của chúng tôi một lần nữa khẳng định, giảm tiểu cầu là một biến đổi huyết học khá phổ biến trong bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*. Giảm tiểu cầu ở bệnh nhân sốt cấp tính tại vùng dịch tễ có thể là một gợi ý cho chẩn đoán Rickettsioses và cần chẩn đoán phân biệt với các bệnh sốt có giảm tiểu cầu khác như sốt xuất huyết dengue. Tiểu cầu có chức năng hàn gắn thành mạch vì vậy, mức độ hạ tiểu cầu có liên quan chặt chẽ đến mức độ nặng của bệnh và giảm tiểu cầu <50 G/L được các tác giả coi là một biến chứng của Rickettsioses [64].

#### 4.1.3.2. Biến đổi trong xét nghiệm đông máu của bệnh nhân

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 116 bệnh nhân được xét nghiệm đông máu cơ bản sau khi vào viện, khoảng 1/3 bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* có biến loạn trong đông máu, trong đó 31,03% bệnh nhân có tỷ lệ Prothrombin giảm < 70%; giảm fibrinogen < 2,5 g/l gặp 35,09%; APTT kéo dài trên 40 giây gặp 48,96% và tăng D - Dimer > 500 µg/L gặp 95,12% trong số 41 bệnh nhân được làm xét nghiệm (bảng 3.11). Hiện tượng rối loạn đông máu trong sốt mò

cũng đã được tác giả Jim W.T, Thap L.C và Venkategowda báo cáo [72], [77]. Các tác giả giải thích giảm tiểu cầu là do vi khuẩn gây tổn thương tế bào nội mạc mạch máu từ đó kích hoạt hệ thống đông máu nội mạch rải rác (DIC), gây tăng tiêu thụ các yếu tố đông máu làm giảm fibrinogen và làm tăng các sản phẩm giáng hóa của fibrinogen là D - Dimer. Ngoài ra, hiện tượng DIC có thể gây tắc các vi mạch và giảm tưới máu các tạng dẫn tới suy đa tạng [63], [77]. Vì vậy bên cạnh việc đánh giá mức độ giảm tiểu cầu của các bệnh nhân, cần đánh giá mức độ rối loạn các yếu tố đông máu. Từ đó, giúp thầy thuốc phát hiện sớm các biến chứng của bệnh trên lâm sàng.

#### 4.1.3.3. Biến đổi trong hóa sinh máu của bệnh nhân

##### - Rối loạn chức năng gan

Gan là cơ quan dễ bị tổn thương trong nhiễm *Rickettsiaceae*, rối loạn chức năng gan thể hiện qua xét nghiệm sinh hoá máu như tăng bilirubin, tăng enzyme gan và hạ protein máu. Trong nghiên cứu của chúng tôi, hầu hết các bệnh nhân đều có tăng enzyme gan: AST  $\geq$  40 UI/l gặp 94,37%, ALT  $\geq$  40 UI/l gặp 89,44%; ngoài ra tăng bilirubin toàn phần  $>$  17 $\mu$ mol/l gặp 38,03% và giảm albumin máu  $<$  35 g/l gặp 67,89% (Bảng 3.12). Rối loạn chức năng gan ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trong nghiên cứu của chúng tôi gần tương tự như báo cáo của tác giả Chanta, tăng enzyme gan gặp 96,3% trong đó tăng AST (96,3%), tăng ALT (66,7%), hạ albumin máu (42,6%), tăng bilirubin máu (7,4%) [165]. Tác giả cũng nhận thấy rằng bệnh nhân có tỷ lệ enzyme AST, ALT càng cao, albumin càng thấp thì bệnh càng nặng. Hiện tượng tăng enzyme gan ở bệnh nhân sốt mò cũng đã được các tác giả khác mô tả: Nguyễn Trọng Chính gặp tăng ALT 67,2% và tăng ALT ở 70,3% bệnh nhân [17]; Đỗ Văn Thành thấy 97% bệnh nhân tăng AST và 91% có tăng ALT [155]; Song thấy 93,1% bệnh nhân sốt mò có AST hoặc ALT tăng và 69,2% có albumin máu giảm  $<$ 30 g/L [158]; Hamaguchi enzyme AST hoặc ALT tăng  $>$  40 UI/L gặp ở 97,5% bệnh nhân sốt mò và 96,3% bệnh nhân sốt

chuột [68]. Nguyên nhân làm tăng enzyme gan theo Bùi Đại và Varghese là do tình trạng đáp ứng miễn dịch quá mức sau khi nhiễm vi khuẩn gây hủy hoại tế bào gan [69], [104]. Như vậy, rối loạn chức năng gan rất phổ biến trong sốt do *Rickettsiaceae* và tăng các enzyme gan có thể là một dấu hiệu gợi ý chẩn đoán căn bệnh này trên lâm sàng. Mức độ tăng enzyme gan và tăng bilirubin cũng đã được một số tác giả báo cáo là các yếu tố tiên lượng suy đa tạng và tử vong [73], [165].

#### **- Rối loạn chức năng thận**

Trong nghiên cứu của chúng tôi, suy thận bao gồm tăng ure máu > 7,5 mmol/l gặp 22,54% và tăng creatinin > 120  $\mu$ mol/l gặp 14,08% trong số bệnh nhân được làm xét nghiệm (Bảng 3.13). Theo Bùi Đại, bản chất của tổn thương thận trong Rickettsioses là viêm mao mạch, dẫn đến viêm thận kẽ từng ổ, thoái hoá tế bào ống thận, thiếu máu cầu thận và xuất huyết tổ chức kẽ [70]. Kết quả rối loạn chức năng thận ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như kết quả nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Thanh Thủy (tăng ure máu gặp 30,9%; tăng creatinin máu gặp 12,9%) [67]; Hamaguchi gặp tăng ure máu 26,1% (sốt mò gặp 36,4% và sốt chuột gặp 21,0%), tăng creatinin 7,7% (sốt mò gặp 11,5% và sốt chuột gặp 4,5%) [68]. Biến đổi chức năng thận trong sốt mò cũng đã được tác giả khác thông báo: Nguyễn Trọng Chính gặp tăng ure máu ở 3,9% số bệnh nhân sốt mò, tăng creatinin ở 2,0%, [17]; Đỗ Văn Thành thấy 19% bệnh nhân có tăng ure máu, 41% có protein niệu, và 38% có bạch cầu niệu [155]. Bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ suy thận cao hơn so với Nguyễn Trọng Chính và Hamaguchi, nhưng lại tương đương với Đỗ Văn Thành và Phạm Thanh Thủy; Sự khác biệt về tỷ lệ suy thận có thể giải thích bằng thời điểm vào viện sớm hay muộn của bệnh nhân nghiên cứu. Các biến loạn chức năng thận ở bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi phản ánh mức độ nặng của bệnh, giúp thầy thuốc lâm sàng có định hướng trong chẩn đoán và điều trị.

### **- Rối loạn điện giải đồ**

Rối loạn điện giải đồ gặp trong nghiên cứu của chúng tôi là: hạ natri máu < 135 mmol/l gặp 76,06%, hạ Kali < 3,5 mmol/l gặp 37,32%. Chúng tôi không gặp bệnh nhân tăng natri máu, chỉ gặp 1 bệnh nhân tăng kali > 5 mmol/l (0,71%). Hiện tượng hạ natri máu ở bệnh nhân Rickettsioses đã được ghi nhận trong y văn tuy nhiên chưa được quan tâm nghiên cứu nhiều [1], [79]. Rối loạn điện giải đồ máu cũng đã được ghi nhận trong nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Thanh Thủy (hạ natri gặp 52,1%, hạ kali gặp 2,8%) [67]; Jim W.T hạ natri gặp 41% [72]. Hiện tượng hạ natri và kali được giải thích có thể là do bệnh nhân sốt cao mất muối qua mồ hôi và truyền dịch nhược trương, đa niệu dẫn tới mất các điện giải qua nước tiểu.

### **- Các yếu tố viêm CRP và procalcitonin**

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tăng CRP gặp 92,42% và tăng PCT gặp 96,69% trong số bệnh nhân được xét nghiệm (Bảng 3.13). Trong đó hay gặp tăng CRP > 30 mg/dl (82,57%), (trung bình  $98,3 \pm 174,0$  mg/l; trường hợp tăng cao nhất 432 mg/l) và PCT  $\geq 0,5$  ng/ml (74,38%), (trung bình  $5,2 \pm 14,2$  ng/ml; trường hợp tăng cao nhất 100 ng/ml). Hiện tượng tăng các yếu tố viêm CRP đã được một số tác giả báo cáo: Jim W.T gặp 95% bệnh nhân có tăng CRP > 8 mg/dl; Mahdi Asmaa Sabr gặp 100% bệnh nhân tăng CRP, tăng cao nhất vào ngày thứ 8 sau sốt [166]. Nguyên nhân tăng CRP và PCT trong nhiễm *Rickettsiaceae* được giải thích là do cơ chế bệnh sinh của bệnh: *Rickettsiaceae* ký sinh trong đại thực bào và các bạch cầu mono, kích thích tế bào bạch cầu tiết ra các cytokin (TNF -  $\alpha$ , IL 10, ...) làm hóa ứng động bạch cầu và hoạt hóa các đại thực bào đến tiêu diệt vi khuẩn. Sản phẩm quá trình này làm giãn mạch, phù nề tại mô viêm và làm tăng CRP và procalcitonin [45], [99], [118]. Như vậy, cùng với các dấu hiệu lâm sàng và cận lâm sàng gợi ý khác, tăng các yếu tố viêm (CRP, PCT) là các chỉ điểm rất có giá trị

giúp thầy thuốc lâm sàng định hướng nhiễm *Rickettsiaceae* và đánh giá mức độ phản ứng viêm toàn thân để đưa ra thái độ và các biện pháp điều trị phù hợp cho người bệnh.

#### **4.1.4. Biểu chứng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

Chúng tôi gặp 66,90% bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* có ít nhất một biến chứng, trong đó hạ huyết áp gặp 35,21%, viêm phổi gặp 33,80%, suy thận (14,08%), rối loạn chức năng gan (13,38%), rối loạn thần kinh trung ương 10,56%, và xuất huyết tiêu hóa (2,82%); suy đa tạng gặp ở 26,06% bệnh nhân (Bảng 3.17). Trong số bệnh nhân có biến chứng, đa số gặp bệnh nhân có 01 biến chứng chiếm 34,51%; 2 biến chứng gặp 17,61% và từ 3 biến chứng trở lên chiếm tỷ lệ 13,78%, (Biểu đồ 3.8). Tỷ lệ gặp biến chứng ở bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như báo cáo của tác giả Phạm Thị Thanh Thủy gặp 49,6% bệnh nhân sốt mò có biến chứng, hay gặp nhất là tổn thương thần kinh trung ương (18%), vàng da/tăng bilirubin máu (16,7%), tổn thương phổi nặng (15,5%); suy thận (8,8%), hạ huyết áp (7,8%), giảm tiểu cầu nặng (8,4%) và xuất huyết tiêu hóa (2,0%) [67]. Theo Bùi Đại, các biến chứng của sốt mò bao gồm: biểu hiện phổi có khó thở, viêm cơ tim có truy mạch, viêm não màng não [70]. Song và cộng sự gặp tụ HA ở 16,8% số bệnh nhân, suy hô hấp ở 23,8%, giảm tiểu cầu nặng ở 25,7%; suy thận cấp ở 14,9%, giảm albumin máu ở 69,2%, và rối loạn chức năng gan ở 93,1% [158]. Sirisathana cũng coi viêm phổi và viêm màng não là biến chứng của sốt mò [167]. Các biến chứng được lựa chọn có thể khác nhau, nói lên quan điểm của mỗi tác giả. Chúng tôi chọn 6 biến chứng (hạ huyết áp, viêm phổi, rối loạn chức năng gan, rối loạn thần kinh trung ương, suy thận, viêm cơ tim và xuất huyết tiêu hóa) là những biểu hiện nội tạng nặng, có thể xác định dễ dàng trên lâm sàng và một số xét nghiệm sẵn có.

## 4.2. Xác định các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh

### 4.2.1. Các loài *Rickettsiaceae* gây bệnh trong nghiên cứu

Bằng kỹ thuật realtime PCR xác định các gen đặc trưng theo loài, chúng tôi đã xác định có hai loài *Rickettsiaceae* gây bệnh trong thời gian nghiên cứu là *O. tsutsugamushi* gây bệnh sốt sốt mò, chiếm tỷ lệ 90,85% và *R. typhi* gây bệnh sốt chuột chiếm 9,15% trong số 142 bệnh nhân nghiên cứu (Biểu đồ 3.9) và chiếm lần lượt 31,31% và 3,16% trong số 412 bệnh nhân sốt không rõ nguyên nhân được tuyển vào nghiên cứu. Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* trong số bệnh nhân sốt không rõ nguyên nhân ở nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với báo cáo của Lê Viết Nhiệm tại Quảng Nam năm 2017 là 25,4% [110]. Kết quả này cho thấy, có sự khác nhau trong căn nguyên gây sốt cấp tính không rõ nguyên nhân giữa miền Bắc và miền Trung. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu của các tác giả khác như: Lê Thị Hội năm 2017 tại Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương, sốt mò chiếm 23%, sốt chuột chiếm 7,5% trong số bệnh nhân sốt cấp tính chưa rõ nguyên nhân [151]. Nghiên cứu của Hamaguchi sốt mò chiếm 40,9%, sốt chuột chiếm 33,3% trong số bệnh nhân sốt không rõ nguyên nhân [68]. Theo nghiên cứu của Suputtamongkol Y tại 6 bệnh viện của Thái Lan cho thấy tỷ lệ sốt mò là 16,1% và sốt chuột là 1,7% [56]. Theo Simaly Phongmany nghiên cứu tại Lào cho thấy, sốt mò chiếm 14,8%, sốt chuột chiếm 9,6%, sốt phát ban chiếm 2,6% [12]. Tỷ lệ bệnh nhân sốt chuột trong số bệnh nhân sốt không rõ nguyên nhân được phát hiện trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của tác giả Hamaguchi và Phạm Thị Thanh Thủy (33,33%) [21], [68], sự khác biệt này có thể là do các phương pháp chẩn đoán bệnh dùng trong các nghiên cứu khác nhau. Phương pháp chẩn đoán dùng trong nghiên cứu của tác giả Hamaguchi và Phạm Thị Thanh Thủy là phương pháp huyết thanh học (IFA) nên đôi khi dương tính chéo với các loài khác. Trong khi chúng tôi dùng phương pháp realtime PCR để chẩn đoán xác



định căn nguyên với độ nhạy khoảng 70% và độ đặc hiệu 100% [151]. Nghiên cứu của chúng tôi một lần nữa củng cố thêm dịch tễ học của các bệnh do *Rickettsiaceae* tại miền Bắc Việt Nam nói riêng và khu vực Đông Nam Á nói chung, bệnh sốt mò chiếm tỷ lệ cao nhất, tiếp đến là bệnh sốt chuột, bệnh do *Rickettsiaceae* khác cũng có thể gặp với tỷ lệ ít hơn.

#### **4.2.2. Các kiểu gen của *O. tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò**

Để xác định các kiểu gen của *O. tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò trong thời gian nghiên cứu, chúng tôi đã tiến hành giải trình tự gen 56 kDa TAS đặc trưng cho protein màng ngoài của *O. tsutsugamushi*. Trong số 129 mẫu bệnh phẩm có PCR dương tính với *O. tsutsugamushi*, chỉ có 54 mẫu có đủ nồng độ di truyền để tiến hành giải trình tự gen 56 kDa TAS thành công. Kết quả giải trình tự gen, chúng tôi đã xác định được 3 kiểu gen gây bệnh sốt mò là: Karp chiếm 46,29%, Kato gặp 29,63% và Gilliam gặp 24,07% (Biểu đồ 3.10). Kiểu gen Karp chiếm đa số cũng đã được một số tác giả báo cáo như: Veasna Duong ở miền Trung (2011), đã xác định được 3 kiểu gen của *O. tsutsugamushi* là Karp 10/13(77%), TA763 2/13 (15.5%) và JGv 1/13 (7.5%) [57]; Lê Việt Nhiệm ở miền Trung (2017), Karp 9/14 (64,4%), nhóm Kawasaki 2/14 (14,2%) và TA716 là 1/14 (7,1%) [110]; Nguyễn Lê Khánh Hằng ở miền Bắc Việt Nam (2016), đã phát hiện 4 kiểu gen là: Karp (55%), TA763 (17%), Gilliam (17%), và Kato (12%) [135]. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng như kết quả nghiên cứu của tác giả trước đây cho thấy kiểu gen Karp chiếm ưu thế và là kiểu gen chính gây bệnh sốt mò ở Việt Nam.

#### **4.2.3. Cây phát sinh loài của *O. tsutsugamushi***

Từ kết quả giải trình tự 1 đoạn của gen 56 kDa TSA đặc hiệu của *O. tsutsugamushi*, đối chiếu sự tương đồng giữa các chuỗi đã được phát hiện và được công bố trên ngân hàng gen, từ đó xây dựng cây phát sinh loài (Hình 3.2). Phân tích và so sánh đặc điểm tương đồng di truyền giữa các

chuỗi được phát hiện trong nghiên cứu với các chủng đã được công bố trên ngân hàng gen cho thấy, kiểu gen Karp tương đồng 95% - 100% so với chuỗi tham chiếu HQ718453 từ Hàn Quốc và 97% - 100% so với chuỗi KU871377 ở miền Trung Việt Nam; nhóm Kato tương đồng 96% - 100% so với chuỗi tham chiếu AY836148 và tương đồng 99% - 100% so với chuỗi GQ332763 từ Đài Loan; nhóm Gilliam tương đồng từ 94% - 96% so với các chuỗi tham chiếu EF140710 từ Thái Lan và 96% so với chuỗi KU871382 từ miền Trung Việt Nam (Bảng 3.18). Như vậy các chủng *O. tsutsugamushi* phát hiện trong nghiên cứu của chúng tôi có liên quan gần gũi với các chủng đã được phát hiện và công bố ở các nước trong khu vực. Tuy nhiên vẫn có sự khác biệt trong trình tự gen từ 0% đến 6% so với các chủng tham chiếu. Elizabeth và cộng sự đã tiến hành giải trình tự bộ gen của tám chủng *O. tsutsugamushi* là Boryong, Ikeda, FPW1038, Gilliam, Karp, Kato, TA686, TA763, UT76, UT176. Tác giả đã phân tích, so sánh cây phát sinh gen 56 kDa và cây gen lõi cho thấy, các chủng Kato và Ikeda có liên quan gần gũi với các chủng Karp, UT176 và UT76 nhiều hơn so với các chủng TA686 và Gilliam [40]. Điều này một lần nữa cho thấy sự đa dạng trong cấu trúc di truyền của các chủng vi khuẩn *O. tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò.

Khi tiến hành phân tích và so sánh thêm về trình tự gen giữa các chủng *O. tsutsugamushi* đã được phát hiện và công bố ở Việt Nam trong cây phát sinh loài cho thấy, các trình tự được phát hiện trong nghiên cứu của chúng tôi có mối liên quan gần gũi với các trình tự gen đã được phát hiện và công bố ở miền Trung Việt Nam với ưu thế của kiểu gen Karp (Hình 3.3). Qua đó một lần nữa khẳng định Karp là chủng đóng vai trò dịch tễ quan trọng gây bệnh sốt mò ở Việt Nam, cần được quan tâm nghiên cứu để phát triển vắc xin phòng bệnh.

#### **4.2.4. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng theo căn nguyên gây bệnh**

##### **4.2.4.1. Đặc điểm phân bố của bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột**

Kết quả nghiên cứu cho thấy, bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột đều mắc bệnh và nhập viện rải rác ở các tháng trong năm, cao điểm từ tháng 5 đến tháng 10, mắc cao nhất tháng 6 (17,05% với bệnh nhân sốt mò và 53,85% với bệnh nhân sốt chuột), Biểu đồ 3.11. Về đặc điểm phân bố bệnh nhân sốt mò theo kiểu gen gây bệnh, chúng tôi thấy cả 3 kiểu gen Gilliam, Karp và Kato đều phân bố và gây bệnh rải rác trong năm. Trong đó, kiểu gen Karp và Kato gây bệnh cao điểm vào tháng 6 và tháng 10, còn kiểu gen Gilliam gây bệnh cao điểm vào tháng 6 (Biểu đồ 3.12). Kết quả phân bố bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như báo cáo của tác giả Phạm Thị Thanh Thủy và Đoàn Thị Hải Yến [21], [67]. Theo các tác giả đây là tháng có nhiệt độ và lượng mưa cao là điều kiện cho trung gian truyền bệnh (mò và bọ chét phát triển). Hơn nữa tháng 6 và tháng 10 là hai tháng ở miền Bắc bước vào thu hoạch vụ mùa nên người làm nông nghiệp có nguy cơ phơi nhiễm cao với mầm bệnh khi lao động trên cánh đồng.

##### **4.2.4.2. Đặc điểm lâm sàng giữa bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột**

Bệnh nhân sốt mò do *O. tsutsugamushi* gặp ở các lứa tuổi, tuổi trung bình là  $49,53 \pm 16,82$  tuổi, tỷ lệ gặp ở hai giới như nhau, đa số sống ở vùng nông thôn (75,19%) và làm nông nghiệp (50,39%); thời gian bệnh nhân sốt trung bình trước khi vào viện là  $8,76 \pm 3,05$  ngày. Các biểu hiện lâm sàng gặp ở bệnh nhân sốt mò là: sốt gặp ở 100% bệnh nhân, đau đầu (89,92%), đau cơ (74,42%), da xung huyết (82,17%), xung huyết kết mạc (70,54%). Vết loét ở da gặp (49,61%), ngoài ra cũng gặp biểu hiện khác với tỷ lệ ít hơn như: phát ban (38,76%), phù ngoại vi (25,58%), sưng hạch (2,71%) và gan to (13,18%). Các biến đổi cận lâm sàng gặp ở bệnh nhân sốt mò là: giảm tiểu cầu  $< 150$  G/L (65,89%), thiếu máu, hemoglobin  $< 120$  g/l (45,74%); tăng bạch cầu  $> 10$

G/L (33,33%); tăng các yếu tố viêm CRP > 30 mg/dL (76,74%), PCT > 0,5 ng/ml (61,24); tăng enzyme gan AST  $\geq$  80 UI/L (65,89%), ALT  $\geq$  80 UI/L (62,02%), giảm albumin máu < 35 g/L (48,84%), hạ natri máu < 135 mmol/L (73,64%), suy gan (13,95%) và suy thận (14,73%).

Bệnh nhân sốt chuột do *R. typhi* cũng gặp ở các lứa tuổi khác nhau, trung bình là  $48,15 \pm 8,28$  tuổi; thời gian sốt trước khi vào viện là  $7,38 \pm 2,50$  ngày. Các biểu hiện lâm sàng ở bệnh nhân sốt chuột xuất hiện với tỷ lệ tương tự như bệnh nhân sốt mò. Tuy nhiên có một số điểm khác biệt đó là: bệnh nhân sốt chuột gặp ở giới nam nhiều hơn giới nữ (84,62% và 15,48%), gặp ở vùng thành thị nhiều hơn vùng nông thôn (69,23% và 30,77%) và đặc biệt chúng tôi không gặp vết loét và sung hạch ở bệnh nhân sốt chuột, (Bảng 3.20). Đặc điểm không có vết loét trên da và không sung hạch ở bệnh nhân sốt chuột trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Hamaguchi [68] và tổng hợp trong y văn [1], [79]. Như vậy, sự khác biệt về biểu hiện lâm sàng trên có thể là căn cứ giúp định hướng căn nguyên *Rickettsiaceae* gây bệnh trong thực hành lâm sàng. Ngoài ra, một điểm đáng chú ý nữa là tỷ lệ gặp biến chứng ở bệnh nhân sốt mò cao hơn bệnh nhân sốt chuột ( $p < 0,05$ ). Mức độ nặng (Suy đa tạng, qSOFA  $\geq$  2 điểm, APACHE II  $\geq$  10 điểm) gặp ở bệnh nhân sốt mò cao hơn bệnh nhân sốt chuột tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Điều này có thể là do số lượng bệnh nhân sốt chuột gặp trong nghiên cứu ít hơn so với bệnh nhân sốt mò nên khi so sánh giữa 2 nhóm không thấy sự khác biệt rõ rệt. Các biến đổi cận lâm sàng gặp ở bệnh nhân sốt chuột như: hạ tiểu cầu, hạ natri máu, tăng enzyme gan, tăng yếu tố viêm CRP và PCT cao hơn ở bệnh nhân sốt mò. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ), Bảng 3.20. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả của Hamaguchi khi tác giả so sánh các đặc điểm lâm sàng đặc trưng và biến chứng giữa bệnh nhân sốt mò

với bệnh nhân sốt chuột [68]. Như vậy, biểu hiện lâm sàng ở bệnh nhân sốt mò thường nặng hơn bệnh nhân sốt chuột.

#### 4.2.4.3. Biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng theo kiểu gen của *O. tsutsugamushi*

Khi phân tích và so sánh biểu hiện lâm sàng giữa 3 kiểu gen (Gilliam, Karp và Kato) của *O. tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò (Bảng 3.21) chúng tôi thấy tỷ lệ gặp biến chứng và sung hạch khác nhau giữa 3 kiểu gen ( $p < 0,05$ ). Bệnh nhân sốt mò do kiểu gen Karp gặp biến chứng nhiều hơn do kiểu gen Gilliam và Kato (88,00% so với 53,85% và 56,25%). Bệnh nhân do kiểu gen Gilliam hay gặp sung hạch nhiều hơn kiểu gen Karp và Kato (61,54% so với 20,00% và 18,75%). Các biểu hiện khác như thời gian sốt trước khi vào viện, thời gian cắt sốt, tỷ lệ xuất hiện triệu chứng đau đầu, đau cơ, xung huyết da/nhiêm mạc, vết loét trên da, phát ban, phù ngoại vi, sung hạch, gan to; và mức độ nặng của bệnh như suy đa tạng, qSOFA  $\geq 2$  điểm và APACHE II  $\geq 10$  điểm không có sự khác biệt đáng kể giữa 3 kiểu gen của *O. tsutsugamushi* ( $p > 0,05$ ). Một số tác giả đã nghiên cứu về các kiểu gen *O. tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò, như tác giả Duong Veasna và Lê Viết Nhiệm ở miền Trung Việt Nam [57], [110]; Nguyễn Lê Khánh Hằng ở miền Bắc Việt Nam [135]. Tuy nhiên, các tác giả chưa đề cập đến biểu hiện lâm sàng gây bởi các kiểu gen. Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên mô tả về đặc điểm lâm sàng giữa các kiểu gen của *O. tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò. Đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân sốt mò do 3 kiểu gen trong nghiên cứu của chúng tôi khác nhau không rõ rệt có thể là do lượng bệnh nhân ở mỗi nhóm chưa nhiều ( $< 30$  bệnh nhân). Tuy nhiên kiểu gen Karp chiếm đa số và gây ra biến chứng nhiều hơn vì vậy cần được chú ý hơn trên lâm sàng. Sự hiểu biết về kiểu gen gây bệnh sốt mò và mối liên quan của chúng với đặc điểm lâm sàng của bệnh sẽ giúp bác sỹ lâm sàng đưa ra chẩn đoán và điều trị thích hợp cho từng bệnh nhân cụ thể.

Phân tích biến đổi các chỉ số cận lâm sàng ở các bệnh nhân sốt mò giữa 3 kiểu gen gây bệnh cho thấy, bệnh nhân sốt mò do kiểu gen Karp có tỷ lệ giảm tiểu cầu  $< 150$  (G/L), tăng urê máu  $> 7,5$  (mmol/L) và tăng procalcitonin  $> 0,5$  (ng/ml) cao hơn so với kiểu gen Kato và Gilliam ( $p < 0,05$ ). Các biến đổi xét nghiệm khác (giảm nồng độ hemoglobin, tăng bạch cầu máu, tăng enzyme gan AST, ALT; hạ natri máu, hạ albumin máu, tăng bilirubin toàn phần, tăng ceatinin, tăng CRP,...) không có sự khác biệt đáng kể giữa 3 nhóm kiểu gen Karp, Kato và Gilliam ( $p > 0,05$ ), Bảng 3.22. Giảm tiểu cầu và tăng procalcitonin được tác giả Phạm Thị Thanh Thủy, Song và Chang báo cáo là các yếu tố tiên lượng bệnh nặng [67], [158]. Vì vậy, cần đặc biệt lưu ý các biến đổi xét nghiệm trên ở các bệnh nhân do kiểu gen Karp trong thực hành lâm sàng.

### **4.3. Kết quả điều trị và các yếu tố tiên lượng**

#### **4.3.1. Kết quả điều trị**

##### *4.3.1.1. Các phác đồ kháng sinh điều trị*

Sau khi bệnh nhân vào viện, 100% bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* được dùng các kháng sinh điều trị đặc hiệu theo phác đồ khuyến cáo điều trị của Bộ Y tế. Đa số bệnh nhân được điều trị bằng phác đồ kháng sinh doxycyclin (88,73%), trong đó 52,11% bệnh nhân được dùng doxycyclin đơn độc – là các bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng nhẹ (83,87% bệnh nhân có APACHEII  $< 10$  điểm) và 36,62% bệnh nhân được dùng phác đồ doxycyclin phối hợp với chloramphenicol – đa số là các bệnh nhân nặng (38,46% bệnh nhân có APACHEII  $\geq 10$  điểm). Ngoài ra có 9/142 (6,34%) bệnh nhân (trẻ em hoặc phụ nữ mang thai) được dùng kháng sinh azithromycin và 4,93% bệnh nhân dùng kháng sinh chloramphenicol để điều trị (Bảng 3.23). Ngoài các kháng sinh điều trị đặc hiệu ở trên, 99/142 (69,72%) bệnh nhân được dùng thêm các kháng sinh (nhóm Betalactam, new quinolon) phối hợp để điều trị theo kinh nghiệm hoặc do nghi ngờ có bội nhiễm thêm các vi khuẩn khác [168].

#### 4.3.1.2. Thay đổi một số triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm theo điều trị

Khi theo dõi sự thay đổi của các triệu chứng lâm sàng và một số chỉ số xét nghiệm hay gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* theo thời gian điều trị chúng tôi thấy, các triệu chứng lâm sàng hay gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* như sốt, đau đầu, đau cơ, xung huyết da và phát ban giảm dần qua các ngày điều trị và trở về bình thường hoặc biến mất sau vào viện 7 ngày hoặc trước khi bệnh nhân xuất viện (Biểu đồ 3.13). Các biến đổi cận lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* như hạ tiểu cầu, hạ natri, tăng enzyme gan AST, ALT, tăng procalcitonin cũng có xu hướng giảm dần vào các ngày 1, 3, 7 sau khi được điều trị đặc hiệu. Tuy nhiên, sau điều trị 1 tuần vẫn còn 58,7% bệnh nhân còn hạ natri máu, 54,76% bệnh nhân tăng enzyme AST, 42,86% tăng enzyme ALT và 15,15% bệnh nhân còn tăng procalcitonin > 0,5 ng/ml (Biểu đồ 3.12). Qua đó cho thấy, mặc dù bệnh nhân đã hết sốt, các biểu hiện lâm sàng và cận lâm sàng dần hồi phục sau khi bệnh nhân được điều trị tuy nhiên vẫn còn hiện tượng hủy hoại tế bào gan. Hiện tượng này cũng đã được Varghese nghiên cứu và giải thích là do đáp ứng viêm hệ thống còn tồn tại và gây viêm hoại tử tế bào gan ngay cả sau khi vi khuẩn đã bị tiêu diệt. Sau đó enzyme gan sẽ dần trở về bình thường sau một vài tuần [106].

#### 4.3.1.3. Thời gian cắt sốt của bệnh nhân

Thời gian cắt sốt trung bình của bệnh nhân là  $4,19 \pm 2,43$  ngày (từ 1 đến 18 ngày). Trong đó, 51,41% bệnh nhân cắt sốt trên 72 giờ, 28,17% cắt sốt trong vòng 48 - 72 giờ, 15,49% cắt sốt trong vòng 24 - 48 giờ và chỉ có 4,93% bệnh nhân cắt sốt trong vòng 24 giờ sau khi điều trị (Biểu đồ 3.13); Thời gian cắt sốt trung bình và thời gian nằm viện điều trị không có sự khác biệt giữa bệnh nhân sốt mò và bệnh nhân sốt chuột, cũng như giữa ba nhóm kiểu gen Karp, Kato và Gilliam gây bệnh sốt mò (Bảng 3.25 và 3.26). Tác giả Chao C.C. và cộng sự đã nghiên cứu tìm hiểu các gen mã hóa các protein tới sự nhạy cảm với kháng

sinh doxycyclin của các chủng *O. tsutsugamushi* được phân lập, cho thấy có sự khác biệt rõ rệt giữa kiểu gen nhóm Karp và 2 kiểu gen AFSC4 và AFSC7 [169]. Thời gian cắt sốt trung bình và tỷ lệ bệnh nhân cắt sốt trong vòng 48 giờ sau khi điều trị kháng sinh đặc hiệu là các chỉ số thường được các tác giả sử dụng để đánh giá hiệu quả điều trị. Thời gian cắt sốt trung bình trong nghiên cứu của các tác giả là: Lê Đăng Hà và Cao Văn Viên ( $3,27 \pm 1,71$  ngày) [156], Phạm Thị Thanh Thủy là  $2,6 \pm 2,2$  ngày [67]; Đỗ Văn Thành là 1,8 ngày [155], Silpapojakul, thời gian cắt sốt trung bình là 1 ngày, tỷ lệ tử vong là 20% (24/120) [170]. Theo chúng tôi, thời gian gian cắt sốt của bệnh nhân phụ thuộc vào thời gian bệnh nhân được tiếp cận điều trị đặc hiệu, tình trạng đáp ứng miễn dịch của bệnh nhân, tỷ lệ xuất hiện các biến chứng và đáp ứng với kháng sinh điều trị.

#### 4.3.1.4. Tỷ lệ tử vong

Nghiên cứu của chúng tôi có 9 bệnh nhân tử vong, chiếm tỷ lệ 6,34% trong tổng số bệnh nhân nghiên cứu. Tất cả bệnh nhân tử vong đều là bệnh nhân sốt mò (Bảng 3.25), trong đó 1 bệnh nhân do kiểu gen Karp, 2 bệnh nhân do kiểu gen Kato và 6 bệnh nhân chưa rõ kiểu gen (Bảng 3.26). Tất cả bệnh nhân tử vong khi vào viện đều đã có biến chứng suy đa phủ tạng (suy hô hấp, hạ huyết áp, suy gan, suy thận, hạ tiểu cầu nặng  $< 50$  G/l) dẫn đến tử vong, mặc dù đã được điều trị tích cực bằng kháng sinh và các biện pháp hỗ trợ. Tỷ lệ bệnh nhân tử vong trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Thanh Thủy (1,2%) [67] do tác giả chỉ tính bệnh nhân tử vong tại bệnh viện, chúng tôi tính cả những bệnh nhân tử vong tại viện và các bệnh nhân quá nặng, gia đình xin về tử vong tại nhà. Rickettsioses là bệnh có thể diễn biến nặng và gây tử vong nếu không được chẩn đoán đúng và điều trị kịp thời. Trước đây, khi chưa có khi có kháng sinh đặc trị, tỷ lệ tử vong trong sốt mò có thể lên tới 30 - 60% [171] và sốt chuột có thể lên đến 4% [79]. Từ



khi có các kháng sinh đặc trị (tetracyclin, doxycyclin và chloramphenicol), tỷ lệ tử vong trong Rickettsioses đã được cải thiện rõ rệt. Tuy nhiên vẫn có những trường hợp nhiễm *Rickettsiaceae* tử vong biến chứng quá nặng như viêm phổi ARDS hay suy đa tạng. Tỷ lệ tử vong hiện nay ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* từ 1,2% đến 7,8%, tùy theo từng nghiên cứu [76].

#### 4.3.1.5. Kết quả điều trị theo phác đồ kháng sinh sử dụng

Bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* được điều trị bằng doxycyclin và azithromycin có thời gian bắt đầu dùng kháng sinh sau khởi phát sốt và có mức độ bệnh trước điều trị (tỷ lệ APACHE II  $\geq 10$  điểm và có suy đa tạng) như nhau, cho kết quả điều trị với tỷ lệ khỏi như nhau. Tuy nhiên nhóm được điều trị bằng doxycyclin có thời gian cắt sốt và thời gian nằm viện điều trị ngắn hơn so với nhóm được điều trị bằng azithromycin, Bảng 3.24. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả nghiên cứu của tác giả Yeon -Sook Kim ở Hàn Quốc (2002 -2003), khi so sánh hiệu quả của azithromycin 500 mg liều đơn với doxycyclin 200mg/ngày, dùng trong 7 ngày, kết quả tỷ lệ điều trị khỏi của nhóm azithromycin (100%) cao hơn nhóm doxycyclin (93,5%); thời gian cắt sốt của nhóm azythromycin ngắn hơn nhóm doxycyclin [132]. Yirong Fang và cộng sự đã tiến hành một phân tích gộp (Meta-analysis) 17 thử nghiệm lâm sàng phác các đồ điều trị sốt mò ở khu vực Đông Nam Á cho thấy doxycyclin có tác dụng điều trị nhanh hơn nhưng có nhiều tác dụng phụ hơn so với nhóm bệnh nhân được điều trị bằng azithromycin và chloramphenicol [129].

#### 4.3.1.6. Kết quả điều trị theo các biến chứng

Để đánh giá ảnh hưởng của các biến chứng lên kết quả điều trị, chúng tôi đã so sánh tỷ lệ xuất hiện các biến chứng giữa nhóm bệnh nhân được điều trị khỏi và nhóm bệnh nhân tử vong; cũng như thời gian cắt sốt giữa nhóm bệnh nhân có và không có biến chứng. Kết quả cho thấy, thời gian cắt sốt và

thời gian nằm viện điều trị trung bình khác biệt giữa 2 nhóm, nhưng tỷ lệ tử vong ở nhóm có biến chứng cao hơn so với nhóm không có biến chứng, (Bảng 3.27). Và tỷ lệ xuất hiện các biến chứng (viêm phổi, suy thận, viêm não màng não, tiểu cầu giảm < 50 G/l, xuất huyết tiêu hóa) ở nhóm bệnh nhân tử vong cao hơn nhóm điều trị khỏi, (với  $p < 0,05$ ), (Bảng 3.28). Như vậy, các biến chứng có ảnh hưởng đến kết quả điều trị, làm tăng tỷ lệ tử vong hoặc thời gian cắt sốt kéo dài. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Thanh Thùy [67].

#### **4.3.2. Các yếu tố tiên lượng bệnh nặng**

Mức độ nặng của bệnh được đánh giá qua suy đa và điểm APACHE II  $\geq 10$  điểm. Trong nghiên cứu chúng tôi gặp suy đa tạng 26,06% và APACHE II  $\geq 10$  (26,76%). Qua phân tích cho thấy, tỷ lệ tử vong và thời gian cắt sốt, thời gian nằm viện điều trị trung bình ở bệnh nhân có biến chứng suy đa tạng cao hơn nhóm bệnh nhân không có suy đa tạng, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$  (Bảng 3.29). Tỷ lệ bệnh nhân suy đa tạng gặp trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của G. M. Varghese (34%). Theo tác giả G. M. Varghese, bệnh nhân suy đa tạng có tỷ lệ tử vong cao hơn so với nhóm không suy đa tạng (25% so với 0,7%) [76]. Khi phân tích hồi quy logistic đơn biến cho thấy: tuổi  $\geq 65$ , xuất huyết dưới da, phù ngoại vi, điểm qSOFA  $\geq 2$ , APACHE II  $\geq 10$  điểm, giảm tiểu cầu < 50 G/L, tăng PCT  $\geq 0,5$  ng/mL có liên quan với suy đa tạng, Bảng 3.30. Khi so sánh giữa nhóm bệnh nhân có suy đa tạng với bệnh nhân không suy đa tạng, chúng tôi nhận thấy: tuổi  $\geq 65$ , xuất huyết dưới da, phù ngoại vi, điểm qSOFA  $\geq 2$  và APACHE II  $\geq 10$  điểm, giảm tiểu cầu < 50 G/L, tăng PCT  $\geq 0,5$  ng/mL ở các bệnh nhân có suy đa tạng cao hơn so với nhóm bệnh nhân không suy đa tạng ( $p < 0,05$ ), Bảng 3.31. Khi phân tích các yếu tố có liên quan ở trên vào phân tích hồi quy logistic đa biến cho thấy, tiểu cầu giảm < 50 G/L, qSOFA  $\geq 2$  điểm và APACHE  $\geq 10$  điểm là các yếu tố có liên quan độc lập với suy đa tạng ( $p < 0,05$ ). Kết quả này cũng giống như báo cáo của tác giả Mi-Ok Jang cho thấy tỷ lệ các biến chứng và tử

vong cao hơn ở những bệnh nhân cao tuổi (trên 65 tuổi) [172]. Tìm hiểu mối tương quan cho thấy, điểm qSOFA và điểm APACHE II có tương quan mức độ trung bình với số tạng suy. Tuy nhiên, điểm qSOFA tương quan chặt chẽ hơn so với điểm APACHE II ( $r$  là 0,62 và 0,43).

#### **4.3.3. Các yếu tố tiên lượng tử vong ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae***

Chúng tôi tiến hành so sánh tỷ lệ xuất hiện các biểu hiện lâm sàng và cận lâm sàng giữa nhóm bệnh nhân điều trị khỏi và nhóm tử vong để tìm hiểu các yếu tố có nguy cơ và tiên lượng tử vong ở các bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*. Phân tích đơn biến cho thấy, tỷ lệ phù ngoại vi, xuất huyết dưới da, giảm tiểu cầu  $< 50$  G/l, rối loạn thần kinh trung ương, viêm phổi, suy thận, suy đa tạng, điểm qSOFA  $\geq 2$  và APACHE II  $\geq 10$  ở nhóm bệnh nhân tử vong cao hơn so với nhóm điều trị khỏi ( $p < 0,05$ ), (Bảng 3.34). Khi phân tích hồi quy logistic đa biến cho thấy, điểm qSOFA  $\geq 2$  và suy đa tạng (MODS) là các yếu tố tiên lượng độc lập tử vong ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*, (Bảng 3.35). Một số tác giả cũng đã nghiên cứu về các yếu tố tiên lượng bệnh nặng và tử vong ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* như: nghiên cứu của Varghese G.M. cho thấy, vàng da, sốc cần dùng vận mạch, viêm phổi ARDS, suy hô hấp cần thở máy và suy thận là các yếu tố có liên quan đến tử vong [60]. Nghiên cứu của Silpajakul tuổi  $> 65$  và suy thận là các yếu tố tiên lượng độc lập tử vong [161]. Theo Bonell, tỷ lệ tử vong tăng lên gấp 5 lần ở người cao tuổi [173]. Nghiên cứu của Mathew G. cho thấy điểm APACHE II và thời gian sốt là yếu tố tiên lượng độc lập tử vong [174]. Như vậy, với những bệnh nhân khi nhập viện có suy đa tạng và/hoặc qSOFA  $\geq 2$  điểm hoặc APACHE II  $\geq 10$  điểm, tuổi cao, xuất hiện các biến chứng (sốc, viêm phổi, suy thận, suy gan, rối loạn thần kinh trung ương) bên cạnh việc điều trị kháng sinh đặc hiệu cần được theo dõi và điều trị tích cực để hạn chế tối đa nguy cơ tử vong cho bệnh nhân.

## KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 142 trường hợp nhiễm *Rickettsiaceae* được khẳng định bằng realtime PCR tại Bệnh viện bệnh Nhiệt đới Trung ương trong thời gian từ 3/2015 đến 3/2018, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

### 1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*

- Bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* gặp ở mọi lứa tuổi, ở 2 giới như nhau, rải rác trong năm, cao điểm từ tháng 5 đến tháng 10 (71,13%), ở 24 tỉnh thành, đa số làm nông nghiệp (50,70%) và sống ở vùng nông thôn (71,13%).

- Các biểu hiện lâm sàng hay gặp ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae* là: sốt (100%), đau đầu (90,14%), đau cơ (73,94%), ho (45,07%), da xung huyết (80,99%), xung huyết kết mạc (69,71%), vết loét (45,07%), phát ban (38,03%), sung hạch (22,54%) và gan to (12,68%).

- Các biến đổi cận lâm sàng hay gặp ở bệnh nhân là: tăng các yếu tố viêm PCT > 0,05 ng/L (96,69%), CRP > 12 mg/dl (92,42%), tăng enzyme gan AST  $\geq$  40 UI/L (91,0 %), ALT  $\geq$  40 UI/L (89,44%), hạ natri máu (76,06%), giảm albumin máu (67,89%) và giảm tiểu cầu < 150 G/l (66,90%).

### 2. Các loài *Rickettsiaceae* và kiểu gen gây bệnh phát hiện trong nghiên cứu

- Hai loài *Rickettsiaceae* được xác định trong thời gian nghiên cứu là *Orientia tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò (90,85%) và *Rickettsia typhi* gây bệnh sốt chuột (9,15%).

- Ba kiểu gen của *Orientia tsutsugamushi* gây bệnh sốt mò được xác định là: Karp (46,29%), Kato (29,63%) và Gilliam (24,07%). Chúng có liên quan gần gũi về mặt di truyền so với các chủng tham chiếu trong khu vực.

- Bệnh nhân sốt mò có biến chứng nhiều hơn ở bệnh nhân sốt chuột ( $p < 0,05$ ). Vết loét ở da và sung hạch ngoại vi chỉ gặp ở bệnh nhân sốt mò với tỷ lệ lần lượt là 49,61% và 21,71%, không gặp ở bệnh nhân sốt chuột.

- Bệnh nhân do kiểu gen Karp gặp tỷ lệ biến chứng giảm tiểu cầu, tăng ure và tăng procalcitonin cao hơn so với kiểu gen Kato và Gilliam ( $p < 0,05$ ).

### **3. Kết quả điều trị và các yếu tố tiên lượng bệnh nặng, tử vong**

- Thời gian cắt sốt trung bình của bệnh nhân là  $4,19 \pm 2,43$  ngày; tỷ lệ tử vong là 6,34% (đều là bệnh nhân sốt mò). Không có sự khác biệt về thời gian cắt sốt giữa bệnh nhân sốt mò với bệnh nhân sốt chuột và giữa các kiểu gen.

- Bệnh nhân được điều trị bằng kháng sinh doxycyclin có thời gian cắt sốt và thời gian nằm viện ngắn hơn so với bệnh nhân được điều trị bằng azithromycin.

- Tuổi bệnh nhân  $\geq 65$ , xuất huyết dưới da, phù ngoại vi, qSOFA  $\geq 2$  điểm và APACHE II  $\geq 10$  điểm, giảm tiểu cầu  $< 50$  G/L, tăng PCT  $\geq 0,5$  ng/mL là các yếu tố có liên quan với suy đa tạng. Phân tích hồi quy logistic đa biến cho thấy, tiểu cầu giảm  $< 50$  G/l, qSOFA  $\geq 2$  điểm và APACHE II  $\geq 10$  điểm là các yếu tố có liên quan độc lập với suy đa tạng.

- Các biểu hiện xuất huyết dưới da, giảm tiểu cầu  $< 50$  G/l, rối loạn thần kinh trung ương, viêm phổi, suy thận, suy đa tạng, điểm qSOFA  $\geq 2$  và APACHE II  $\geq 10$  có giá trị tiên lượng tử vong. Phân tích hồi quy logistic đa biến cho thấy, điểm qSOFA  $\geq 2$  và suy đa tạng là các yếu tố tiên lượng độc lập tử vong ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*.

### KIẾN NGHỊ

1. Nên áp dụng kỹ thuật Realtime PCR trong chẩn đoán xác định nhiễm *Rickettsiaceae* ở bệnh nhân sốt kéo dài chưa rõ nguyên nhân khi có những biểu hiện nghi ngờ.

2. Cần nghiên cứu thêm về đặc điểm phân bố và gây bệnh của các loài *Rickettsiaceae* cũng như đặc điểm sinh học phân tử các căn nguyên gây bệnh trên quy mô toàn quốc, từ đó có các biện pháp phòng bệnh và điều trị hiệu quả.

3. Kháng sinh doxycyclin đường uống được ưu tiên sử dụng điều trị cho các bệnh sốt do *Rickettsiaceae*. Kháng sinh azithromycin có thể dùng để thay thế điều trị cho phụ nữ có thai và trẻ em dưới 8 tuổi.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU  
ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Vũ Minh Điền, Nguyễn Vũ Trung, Lê Thị Hoi, Bùi Vũ Huy, Nguyễn Văn Mùi (2017). Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ, lâm sàng và xét nghiệm ở bệnh nhân sốt mò điều trị tại Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương (3/2015 - 3/2017). *Tạp chí Truyền nhiễm Việt Nam*. Số 4(20), 11 - 16.
2. Vu Minh Dien, Nguyen Vu Trung, Le Thi Hoi, Bui Vu Huy, Nguyen Van Mui (2018). Clinical manifestations, paraclinical profiles and predictors of outcomes of Scrub Typhus at National Hospital for Tropical Diseases in northern Vietnam. *National Hospital for Tropical Diseases*. No. 3(23), 36 - 44.
3. Nguyen Vu Trung, Le Thi Hoi, Vu Minh Dien, et al. (2019). Clinical Manifestations and Molecular Diagnosis of Scrub Typhus and Murine Typhus, Vietnam, 2015 - 2017. *Journal of Emerging Infectious Diseases*. Vol. 25, No. 4, 633 - 641

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. David H., Walker J. (2015), Stephen Dumler and Thomas Marrie, *Rickettsial Diseases, Harrison's Principle of Internal Medicine*, D.L. Kasper, Editor. 1154 - 1162.
2. Didier Raoult, (2015), *Introduction to Rickettsioses, Ehrlichioses, and Anaplasmosis, Mandell Douglas and Bennett Principles and Practice of Infectious Diseases, 8th*, Mandell, Douglas, and Bennett's, Editors. Elsevier Inc: Philadelphia. 2194 - 2197.
3. Abdad Mohammad Yazid, Abou Abdallah Rita, F. Pierre-Edouard, et al (2018). A Concise Review of the Epidemiology and Diagnostics of Rickettsioses: Rickettsia and Orientia spp. *Journal of clinical microbiology*. 56(8):e01728-17.
4. Luce-Fedrow A., Lehman M. L, Kelly D. J, et al (2018). A Review of Scrub Typhus (Orientia tsutsugamushi and Related Organisms): Then, Now, and Tomorrow. *Trop Med Infect Dis*. 3(1).
5. Adem P. V, (2019). Emerging and re-emerging rickettsial infections. *Semin Diagn Pathol*. 36(3):146-151.
6. Chang Ko, Lee Nan-Yao, Ko Wen-Chien, et al., (2017). Identification of factors for physicians to facilitate early differential diagnosis of scrub typhus, murine typhus, and Q fever from dengue fever in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 50(1):104-111.
7. Daniel J. Sexton, Stephen B. Calderwood and Jennifer Mitty, (2017). The epidemiology and clinical manifestations of murine typhus, in *Uptodate: Literature review current through*. This topic last updated: Mar 08, 2017.2017.
8. Daniel J. Sexton, Micah T. McClain, (2017). *Clinical manifestations and diagnosis of Rocky Mountain spotted fever*, Uptodate: Literature review current through: May 2017. This topic last updated: May 18, 2016., Stephen B Calderwood and Sheldon L Kaplan, Editors.



9. Liu Dongyou (2015), Rickettsia, Molecular Medical Microbiology (Second Edition), *Schwartzman and Yi-Wei Tang, Editors*. Academic Press: Boston. 2043-2056.
10. Jiang Ju, Sangkasuwan V., Lerthusnee K., et al., (2005). Molecular evidence of human infection with TT-118, Rickettsia honei, from Thailand. *Emerg Infect Dis*. 11:1475-1477.
11. Edouard S., Bhengsi S., Dowell S. F., et al (2014). Two human cases of Rickettsia felis infection, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 20(10):1780-1.
12. Phongmany S., Rolain J-M., Phetsouvanh R., et al (2006). Rickettsial Infections and Fever, Vientiane, Laos. *Emerg. Infect Dis*. 12(2):256-262.
13. Kasper Matthew R., Blair Patrick J., Touch Sok, et al (2012). Infectious etiologies of acute febrile illness among patients seeking health care in south-central Cambodia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 86(2):246-253.
14. Jiang J., Myers T. E., Rozmajzl P. J., et al (2015). Seroconversions to Rickettsiae in US Military Personnel in South Korea. *Emerg Infect Dis*. 21(6):1073-4.
15. Fang Li-Qun, Liu Kun, Li Xin-Lou, et al (2015). Emerging tick-borne infections in mainland China: An increasing public health threat. *The Lancet. Infectious diseases*. 15.
16. Trung N. V., Hoi L. T., Thuong N. T. H., et al (2017). Seroprevalence of Scrub Typhus, Typhus, and Spotted Fever Among Rural and Urban Populations of Northern Vietnam. *Am J Trop Med Hyg*. 96(5):1084-1087.
17. Nguyễn Trọng Chính, (2004). Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và điều trị bệnh sốt mò tại Viện 108 (1998 - 2003). *Tạp chí Y học thực hành*. 3(474):61 -64.
18. Phạm Xuân Đà, (2005). Nghiên cứu dịch tễ học hồi cứu tổng quan về cơ chế lây truyền Orientia tsutsugamushi trong véc tơ truyền bệnh. *Tạp chí Y học thực hành*. 1(501):31 - 34.
19. Lê Văn An, Nguyễn Đình Khoa, Phan Trung Tiến (2005). Chẩn đoán bệnh sốt mò (Scrub typhus) do Orientia tsutsugamushi ở Thừa Thiên Huế. *Y học thực hành*. (521):68 - 73.

20. Lê Đăng Hà, Cao Văn Viên và cộng sự (2001), *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm, chẩn đoán và điều trị bệnh sốt mò do Rickettsia tsutsugamushi*. Viện Y học Lâm sàng Các bệnh Nhiệt đới, Hà Nội.
21. Phạm Thanh Thủy, Đoàn Hải Yến, (2013). Một số đặc điểm dịch tễ học các bệnh nhân sốt Rickettsia do bọ chét chuột truyền tại Bệnh viện Bạch Mai 2001 - 2002. *Tạp chí Y học dự phòng*. Tập XXIII, số 6 (142):75 - 81.
22. Bakshi Diprabhanu, Singhal Pradeep, Mahajan Sanjay, et al (2007), *Development of a real-time PCR assay for the diagnosis of scrub typhus cases in India and evidence of the prevalence of new genotype of O. tsutsugamushi*. Vol. 104. 63-71.
23. Henry Katherine M., Jiang Ju, Rozmajzl Patrick J., et al., (2007). Development of quantitative real-time PCR assays to detect Rickettsia typhi and Rickettsia felis, the causative agents of murine typhus and flea-borne spotted fever. *Molecular and Cellular Probes*. 21(1):17-23.
24. David H. Walker J. Stephen Dumler, Lucas S. Blanton, et al. (2018). *Rickettsial Diseases, Harrison's Principles of Internal Medicine, 20th* McGraw-Hill Education: Singapore.
25. Daniel H Paris, Allen L. Richards, Nicholas P.J. Day (2015), *Orientia, Molecular Medical Microbiology*. p. 2057-2096.
26. Wood H., Artsob H. (2012). Spotted fever group rickettsiae: a brief review and a Canadian perspective. *Zoonoses Public Health*. 59 Suppl 2:65-79.
27. Walker D. H., (2007). Rickettsiae and rickettsial infections: the current state of knowledge. *Clin Infect Dis*. 45 Suppl 1:S39-44.
28. Mansueto P., Vitale G., Cascio A., et al (2012). New insight into immunity and immunopathology of Rickettsial diseases. *Clin Dev Immunol*. 2012:967852.
29. Walker D. H., (2014), *Rickettsia*. Reference Module in Biomedical Sciences: Elsevier.
30. Tamura A., Ohashi N., Urakami H., et al., (1995). Classification of Rickettsia tsutsugamushi in a new genus, Orientia gen. nov., as Orientia tsutsugamushi comb. nov. *Int J Syst Bacteriol*. 45(3):589-91.

31. Fournier P. E., Dumler J. S., Greub G., et al (2003). Gene sequence-based criteria for identification of new rickettsia isolates and description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp. nov. *J Clin Microbiol.* 41(12):5456-65.
32. Richards A. L. (2012). Worldwide detection and identification of new and old rickettsiae and rickettsial diseases. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 64(1):107-10.
33. Weinert L. A., Werren J. H., Aebi A. et al (2009). Evolution and diversity of *Rickettsia* bacteria. *BMC Biol.* 7:6.
34. Liu Dongyou, (2015), *Rickettsia*, *Molecular Medical Microbiology* Academic Press: Boston. 2043-2056.
35. McLeod M. P., Qin X., Karpathy S. E. et al (2004). Complete genome sequence of *Rickettsia typhi* and comparison with sequences of other rickettsiae. *J Bacteriol.* 186(17):5842-55.
36. Sentausa E., El Karkouri K., Robert C. et al (2012). Genome sequence of *Rickettsia conorii* subsp. *caspia*, the agent of Astrakhan fever. *J Bacteriol.* 194(17):4763-4.
37. Roux V. and Raoult D. (1995). Phylogenetic analysis of the genus *Rickettsia* by 16S rDNA sequencing. *Res Microbiol.* 146(5):385-96.
38. Ngwamidiba M., Blanc G., Ogata H., et al (2005). Phylogenetic study of *Rickettsia* species using sequences of the autotransporter protein-encoding gene *sca2*. *Ann N Y Acad Sci.* 1063:94-9.
39. Fuxelius Hans-Henrik, Darby Alistair, Min Chan-ki, et al (2008). The genomic and metabolic diversity of *Rickettsia*. *Research in microbiology.* 158:745-53.
40. Elizabeth M. Batty, Chaemchuen S., Blacksell S., et al (2018). Long-read whole genome sequencing and comparative analysis of six strains of the human pathogen *Orientia tsutsugamushi*. *PLoS Negl Trop Dis.* 12(6):e0006566.

41. Ruang-areerate, T., P. Jeamwattanalert, W. Rodkvamtook, et al (2011). Genotype Diversity and Distribution of *Orientia tsutsugamushi* Causing Scrub Typhus in Thailand. *Journal of Clinical Microbiology*. 49(7):2584.
42. Qiang Y., Tamura A., Urakami H., et al (2003). Phylogenetic characterization of *Orientia tsutsugamushi* isolated in Taiwan according to the sequence homologies of 56-kDa type-specific antigen genes. *Microbiol Immunol*. 47(8):577-83.
43. Lin P. R., Tsai H. P., Tsui P. Y., et al (2011). Genetic typing, based on the 56-kilodalton type-specific antigen gene, of *Orientia tsutsugamushi* strains isolated from chiggers collected from wild-caught rodents in Taiwan. *Appl Environ Microbiol*. 77(10):3398-405.
44. Bùi Khắc Hậu, Lê Văn Phụng, (2009), Vi khuẩn Y học. *Vi khuẩn ký sinh nội bào bắt buộc*, Nhà xuất bản giáo dục Việt nam. 481-494.
45. Ki Mi-Jeong, Kim Mee-Kyung and Kang Jae-Seung (2006). *Orientia tsutsugamushi* inhibits tumor necrosis factor  $\alpha$  production by inducing interleukin 10 secretion in murine macrophages. *Microbial Pathogenesis*. 40(1):1-7.
46. Parola P. and Raoult D. (2001). Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis*. 32(6):897-928.
47. Xu Guang, Walker David H., Jupiter Daniel, et al (2017). A review of the global epidemiology of scrub typhus. *PLoS neglected tropical diseases*. 11(11):e0006062-e0006062.
48. Sprong Hein, Wielinga Peter R., Fonville Manoj, et al (2009). Ixodes ricinus ticks are reservoir hosts for *Rickettsia helvetica* and potentially carry flea-borne *Rickettsia* species. *Parasites & vectors*. 2(1):41-41.
49. Abdad Mohammad Yazid, Stenos John and Graves Stephen, (2011). *Rickettsia felis*, an emerging flea-transmitted human pathogen. *Emerging health threats journal*. 4:7168-7168.
50. Legendre Kelsey P. and Macaluso Kevin R. (2017). *Rickettsia felis*: A Review of Transmission Mechanisms of an Emerging Pathogen. *Tropical medicine and infectious disease*. 2(4):64.

51. Blanton Lucas S. and Walker David H. (2015), 191 - *Rickettsia prowazekii* (Epidemic or Louse-Borne Typhus), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition), J.E.B.D.J. Blaser, Editor Content Repository Only!: Philadelphia. 2217-2220.e1.
52. Merhej Vicky, Angelakis Emmanouil, Socolovschi Cristina, et al., (2014). Genotyping, evolution and epidemiological findings of *Rickettsia* species. *Infection, Genetics and Evolution*. 25:122-137.
53. Kelly D. J., Fuerst P. A., Ching W. M., et al (2009). Scrub typhus: the geographic distribution of phenotypic and genotypic variants of *Orientia tsutsugamushi*. *Clin Infect Dis*. 48 Suppl 3:S203-30.
54. Akram S. M., Jamil R. T. and Gossman W. G. (2019), *Rickettsia Akari* (*Rickettsialpox*), *StatPearls* StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island FL.
55. Takahashi M., Misumi H., Urakami H., et al (2004). Mite vectors (Acari: Trombiculidae) of scrub typhus in a new endemic area in northern Kyoto, Japan. *J. Med. Entomol. Jan*. 41(1):107-14.
56. Suputtamongkol Y., Suttinont C., Niwatayakul K., et al (2009). Epidemiology and Clinical Aspects of *Rickettsioses* in Thailand. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1166(1):172-179.
57. Duong Veasna, Mai Trinh Thi Xuan, Blasdel Kim, et al (2013). Molecular epidemiology of *Orientia tsutsugamushi* in Cambodia and Central Vietnam reveals a broad region-wide genetic diversity. *Infection, Genetics and Evolution*. 15:35-42.
58. Yeon Joo Jeong, Suk Kim, Yeh Dae Wook, et al (2007). Scrub Typhus: Clinical, Pathologic, and Imaging Findings. *RadioGraphics*. 27(1): 161-172.
59. Mokrani K., Fournier P. E., Dalichaouche M., et al (2004). Reemerging threat of epidemic typhus in Algeria. *Journal of clinical microbiology*. 42(8):3898-3900.

60. Tsioutis C., Zafeiri M., Avramopoulo A., et al (2017). Clinical and laboratory characteristics, epidemiology, and outcomes of murine typhus: A systematic review. *Acta Trop.* 166:16-24.
61. Walker David H. and Blanton Lucas S. (2015), *Rickettsia rickettsii and Other Spotted Fever Group Rickettsiae (Rocky Mountain Spotted Fever and Other Spotted Fevers)*, Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition), Philadelphia. 2198-2205.e4.
62. Parola Philippe, Paddock Christopher D., Socolovschi Cristina, et al (2013). Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clinical microbiology reviews.* 26(4):657-702.
63. Raoult Didier, (2015), *Rickettsia akari (Rickettsialpox)*, Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition), J.E.B.D.J. Blaser, Editor Content Repository Only!: Philadelphia. 2206-2207.
64. Mediannikov Oleg, Socolovschi Cristina, Edouard Sophie, et al (2013). Common epidemiology of Rickettsia felis infection and malaria, Africa. *Emerging infectious diseases.* 19(11):1775-1783.
65. Derne Bonnie, W. Philip, Musso Didier, et al (2015). Distribution of rickettsioses in Oceania: Past patterns and implications for the future. *Acta Tropica.* 143(0):121-133.
66. Seong Seung-Yong, Choi Myung-Sik and Kim Ik-Sang (2001). Orientia tsutsugamushi infection:overview and immune responses. *Microbes and Infection.* 3(1):11-21.
67. Phạm Thị Thanh Thủy (2007), *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, phương pháp chẩn đoán và điều trị bệnh sốt mò.* Đại học Y Hà Nội, Hà Nội.
68. Hamaguchi Sugihiro, Cuong Ngo, Tra Doan, et al (2015), *Clinical and Epidemiological Characteristics of Scrub Typhus and Murine Typhus Among Hospitalized Patients with Acute Undifferentiated Fever in Northern Vietnam.* Vol. 92.

69. Park Jin, Woo Soo-Han and Lee Chang-Seop, (2016). Evolution of Eschar in Scrub Typhus. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 95(6):1223-1224.
70. Bùi Đại (2003), Bách khoa thư bệnh học, *Bệnh sốt do mò*. Vol. 2. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học. 88 - 92.
71. Berman S.J. and Kundin W.D. (1973). Scrub typhus in South Vietnam. A study of 87 cases. *Ann. Intern. Med.* 79(1):26-30.
72. Jim Wai-Tim, Chiu Nan-Chang, Chan Wai-Tao, et al (2009). Clinical Manifestations, Laboratory Findings and Complications of Pediatric Scrub Typhus in Eastern Taiwan. *Pediatrics & Neonatology*. 50(3):96-101.
73. Sivarajan S., Shivalli S., Bhuyan D., et al (2016). Clinical and paraclinical profile, and predictors of outcome in 90 cases of scrub typhus, Meghalaya, India. *Infect Dis Poverty*. 5(1):91.
74. Varghese George M., Trowbridge Paul, Janardhanan Jeshina, et al (2014). Clinical profile and improving mortality trend of scrub typhus in South India. *International Journal of Infectious Diseases*. 23:39-43.
75. Song S.W., Kim K.T., Ku Y.M., et al (2004). Clinical role of interstitial pneumonia in patients with scrub typhus: a possible marker of disease severity. *J. Korean Med. Sci. Oct.* 19(5):668-73.
76. Varghese George M., Janardhanan Jeshina, Trowbridge Paul, et al (2013). Scrub typhus in South India: clinical and laboratory manifestations, genetic variability, and outcome. *International Journal of Infectious Diseases*. 17(11):e981-e987.
77. Venkategowda Pradeep M., Rao S. Manimala, Mutkule Dnyaneshwar P. et al (2015). Scrub typhus: Clinical spectrum and outcome. *Indian journal of critical care medicine : peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*. 19(4):208-213.
78. Mahdi A. S., Al-Khalili S. M., Chung C. C. et al (2019). Scrub Typhus Complicated by ARDS, Myocarditis, and Encephalitis Imported to Oman from Nepal. *Oman Med J*. 34(3):254-256.

79. Blanton Lucas S., Dumler J. Stephen and Walker David H. (2015), *Rickettsia typhi* (Murine Typhus), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition), *J.E.B.D.J. Blaser, Editor Content Repository Only!*: Philadelphia. 2221-2224.e2.
80. Bernabeu-Wittel M., Pachon J., Alarcon A. et al. (1999). Murine typhus as a common cause of fever of intermediate duration: a 17-year study in the south of Spain. *Arch Intern Med.* 159(8):872-6.
81. Shafi H. and Hipolito L. G. (2019). Murine typhus presenting with status epilepticus. *Int J Infect Dis.* 83:145-147.
82. K., S., Chayakul P., Krisanapan S. et al (1993). Murine typhus in Thailand: clinical features, diagnosis and treatment. *Q J Med.* 86(1):43-7.
83. Vander T., Medvedovsky M., Valdman S. et al (2003). Facial paralysis and meningitis caused by *Rickettsia typhi* infection. *Scand J Infect Dis.* 35(11-12):886-7.
84. Dumler J. S., Taylor J. P. and Walker D. H. (1991). Clinical and laboratory features of murine typhus in south Texas, 1980 through 1987. *JAMA.* 266(10):1365-70.
85. Silpapojakul K., Mitarnun W., Ovarlarnporn B. et al (1996). Liver involvement in murine typhus. *QJM.* 89(8):623-9.
86. Buckingham S. C., Marshall G. S., S.G. E. et al (2007). Clinical and laboratory features, hospital course, and outcome of Rocky Mountain spotted fever in children. *J Pediatr.* 150(2):180-4, 184 e1.
87. Sanap S.S, Thakur V.A, Maniar J.M. et al (2017). Weil-Felix Test - A Diagnostic Tool for Rickettsial Diseases. *Austin J Clin Pathol.* 4(1): 1046. ISSN:2381-9170.
88. Kularatne S. A. and Gawarammana I. B. (2009). Validity of the Weil-Felix test in the diagnosis of acute rickettsial infections in Sri Lanka. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 103(4):423-4.
89. Aydin S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides.* 72:4-15.



90. Paris Daniel H. and Dumler J. Stephen (2016). State of the art of diagnosis of rickettsial diseases: the use of blood specimens for diagnosis of scrub typhus, spotted fever group rickettsiosis, and murine typhus. *Current opinion in infectious diseases*. 29(5):433-439.
91. Koh G. C., Maude R. J., Paris D. H. et al (2010). Diagnosis of scrub typhus. *Am J Trop Med Hyg*. 82(3):368-70.
92. Lim C., Paris D. H., Blacksell S. D. et al (2015). How to Determine the Accuracy of an Alternative Diagnostic Test when It Is Actually Better than the Reference Tests: A Re-Evaluation of Diagnostic Tests for Scrub Typhus Using Bayesian LCMs. *PLoS One*. 10(5):e0114930.
93. Ananthanarayan R. and Jayaram C. K. (2009), *Rickettsiaceae*, *Paniker Textbook of Microbiology. 8th edition*. 412 - 421.
94. Chao C. C., Belinskaya T., Zhang Z. et al (2015). Development of Recombinase Polymerase Amplification Assays for Detection of *Orientia tsutsugamushi* or *Rickettsia typhi*. *PLoS Negl Trop Dis*. 9(7):e0003884.
95. Kim Dong-Min, Park Geon, H.S. Kim et al (2011). Comparison of Conventional, Nested, and Real-Time Quantitative PCR for Diagnosis of Scrub Typhus. *Journal of Clinical Microbiology*. 49(2):607-612.
96. Znazen A., Khrouf F., Elleuch N. et al (2013). Multispacer typing of *Rickettsia* isolates from humans and ticks in Tunisia revealing new genotypes. *Parasit Vectors*. 6:367.
97. Paris D. H., Aukkanit N., Jenjaroen K. et al (2009). A highly sensitive quantitative real-time PCR assay based on the groEL gene of contemporary Thai strains of *Orientia tsutsugamushi*. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 15(5): 488-495.
98. Jiang J., Chan T.C., Temenak J.J. et al (2004). Development of a quantitative real-time polymerase chain reaction assay specific for *Orientia tsutsugamushi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg. Apr*. 70(4):351-6.

99. Sonthayanon P., Peacock S. J., Chierakul W., et al (2010). High rates of homologous recombination in the mite endosymbiont and opportunistic human pathogen *Orientia tsutsugamushi*. *PLoS Negl Trop Dis*. 4(7):e752.
100. Duong V., Blassdell K., May T. T. et al (2013). Diversity of *Orientia tsutsugamushi* clinical isolates in Cambodia reveals active selection and recombination process. *Infect Genet Evol*. 15:25-34.
101. Rahi Manuj, Gupte M. D., Bhargava Anurag et al (2015). DHR-ICMR Guidelines for diagnosis & management of Rickettsial diseases in India. *The Indian journal of medical research*. 141(4):417-422.
102. Bộ Y tế, (2016), *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh Truyền nhiễm*. Ban hành kèm theo Quyết định số 5642/QĐ-BYT ngày 31/12/2015 của Bộ trưởng Bộ Y tế Hà Nội: Nhà xuất bản Y học. 60 - 64.
103. Aouam A., Toumi A., Ben Brahim H. et al (2015). Epidemiological, clinical and laboratory features of murine typhus in central Tunisia. *Med Mal Infect*. 45(4):124-7.
104. Kuo C. C., Wardrop N., Chang C. T. et al (2017). Significance of major international seaports in the distribution of murine typhus in Taiwan. *PLoS Negl Trop Dis*. 11(3):e0005430.
105. Balleydier, E., G. Camuset, C. Socolovschi et al (2015). Murine typhus, Reunion, France, 2011-2013. *Emerg Infect Dis*. 21(2):316-9.
106. Kuan L. Y., Ng H. L., Ang B. et al (2017). Murine typhus masquerading as retiform purpura-like rashes. *Clin Exp Dermatol*. 42(8):928-930.
107. Spernovasilis N., Tsioutis C., Zafeiri M. et al (2017). Severe Murine Typhus Presenting with Acalculous Cholecystitis: A Case Report and Literature Review. *Case Rep Med*. 2017:3769074.
108. Newton Paul N., Keolouanghot Vally, Lee Sue J. et al (2019). A Prospective, Open-label, Randomized Trial of Doxycycline Versus Azithromycin for the Treatment of Uncomplicated Murine Typhus. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 68(5):738-747.

109. Suttinont C., Losuwanaluk K., Niwatayakul K. et al (2006). Causes of acute, undifferentiated, febrile illness in rural Thailand: results of a prospective observational study. *Ann Trop Med Parasitol.* 100(4):363-70.
110. Le-Viet Nhiem, Le Viet-Nho, Chung Hai et al (2019). Prospective case-control analysis of the aetiologies of acute undifferentiated fever in Vietnam. *Emerging microbes & infections.* 8(1):339-352.
111. Satjanadumrong J., Robinson M. T., Hughes T. et al (2019). Distribution and Ecological Drivers of Spotted Fever Group Rickettsia in Asia. *Ecohealth.*
112. Blanton Lucas S. (2019). The Rickettsioses: A Practical Update. *Infectious Disease Clinics of North America.* 33(1):213-229.
113. Blacksell Stuart D., Kingston Hugh W. F., Tanganuchitcharnchai Ampai et al (2018). Diagnostic Accuracy of the InBios Scrub Typhus Detect™ ELISA for the Detection of IgM Antibodies in Chittagong, Bangladesh. *Tropical medicine and infectious disease.* 3(3):95.
114. Saraswati K., Phanichkrivalkosil M., Day N. P. J. et al (2019). The validity of diagnostic cut-offs for commercial and in-house scrub typhus IgM and IgG ELISAs: A review of the evidence. *PLoS Negl Trop Dis.* 13(2):e0007158.
115. Yang S. L., Tsai K. H., Chen H. F. et al (2019). Evaluation of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Recombinant 56-kDa Type-Specific Antigens Derived from Multiple *Orientia tsutsugamushi* Strains for Detection of Scrub Typhus Infection. *Am J Trop Med Hyg.* 100(3):532-539.
116. Diop A., Raoult D. and Fournier P. E. (2019). Paradoxical evolution of rickettsial genomes. *Ticks Tick Borne Dis.* 10(2):462-469.
117. Segura F., Pons I., Sanfeliu I. et al (2016). Shell-vial culture, coupled with real-time PCR, applied to *Rickettsia conorii* and *Rickettsia massiliae*-Bar29 detection, improving the diagnosis of the Mediterranean spotted fever. *Ticks Tick Borne Dis.* 7(3):457-61.

118. Denison Amy M., Amin Bijal D., Nicholson William L. et al (2014). Detection of *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri*, and *Rickettsia akari* in Skin Biopsy Specimens Using a Multiplex Real-time Polymerase Chain Reaction Assay. *Clinical Infectious Diseases*. 59(5):635-642.
119. Prakash J. A. J, Reller M. E, Barat N. et al (2009). Assessment of a quantitative multiplex 5' nuclease real-time PCR for spotted fever and typhus group rickettsioses and *Orientia tsutsugamushi*. *Clinical Microbiology and Infection*. 15, Supplement 2:292-293.
120. Tantibhedhyangkul Wiwit, Wongsawat Ekkarat, Silpasakorn Saowaluk, et al (2017). Use of Multiplex Real-Time PCR To Diagnose Scrub Typhus. *Journal of clinical microbiology*. 55(5):1377-1387.
121. Tay S.T., Rohani Y.M., Ho T.M. et al (2005). Sequence analysis of the hypervariable regions of the 56 kDa immunodominant protein genes of *Orientia tsutsugamushi* strains in Malaysia. *Microbiol. Immunol*. 49(1):67-71.
122. Adhikari Shital, Poudel Ramesh Sharma, Shrestha Shakti et al (2018). Predictors of Mortality in Scrub Typhus Infection Requiring Intensive Care Admission in Tertiary Healthcare Centre of Nepal. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*. 2018:4867958-4867958.
123. Park S. W., Lee C. S., Kim J. H. et al (2019). Severe fever with thrombocytopenia syndrome: comparison with scrub typhus and clinical diagnostic prediction. *BMC Infect Dis*. 19(1):174.
124. Walker, D.H. (2016). Current understanding of scrub typhus immunity and vaccine development: the way ahead. *International Journal of Infectious Diseases*. 45:17.
125. Smadel Joseph E. (1949). Chloramphenicol (chloromycetin) in the treatment of infectious diseases. *The American Journal of Medicine*. 7(5):671-685.
126. Panpanich R. and Garner P. (2002). Antibiotics for treating scrub typhus. *Cochrane Database Syst Rev*. (3):CD002150.

127. Song J. H., Lee C., Chang W. H. et al (1995). Short-course doxycycline treatment versus conventional tetracycline therapy for scrub typhus: a multicenter randomized trial. *Clin Infect Dis.* 21(3):506-10.
128. Watt G., Chouriyagune C., Ruangweerayud R., et al (1996). Scrub typhus infections poorly responsive to antibiotics in northern Thailand. *Lancet. Jul 13.* 348(9020):86-9.
129. Fang Yirong, Huang Zhaohui, Tu Chunyu, et al (2012). Meta-analysis of Drug Treatment for Scrub Typhus in Asia. *Internal Medicine.* 51(17):2313-2320.
130. Daniel J Sexton, Stephen B Calderwood and Jennifer Mitty, *Scrub typhus: Treatment and prevention*, in <https://www.uptodate.com/contents/scrub-typhus-treatment-and-prevention2017>.
131. Ives T. J., Manzewitsch P., Regnery R. L., et al (1997). In vitro susceptibilities of Bartonella henselae, B. quintana, B. elizabethae, Rickettsia rickettsii, R. conorii, R. akari, and R. prowazekii to macrolide antibiotics as determined by immunofluorescent-antibody analysis of infected Vero cell monolayers. *Antimicrob Agents Chemother.* 41(3):578-82.
132. Kim Yeon-Sook, Yun Hwan-Jung, Shim Soo Kyoung et al (2004). A Comparative Trial of a Single Dose of Azithromycin versus Doxycycline for the Treatment of Mild Scrub Typhus. *Clinical Infectious Diseases.* 39(9):1329-1335.
133. Phimda Kriangsak, Hoontrakul Siriwan, Suttinont Chuanpit, et al (2007). Doxycycline versus azithromycin for treatment of leptospirosis and scrub typhus. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 51(9):3259-3263.
134. Wee I., Lo A. and Rodrigo C. (2017). Drug treatment of scrub typhus: a systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 111(8):336-344.
135. Nguyen Hang L.K., Pham Hang T.T., Nguyen Tinh V., et al (2017). The genotypes of Orientia tsutsugamushi, identified in scrub typhus patients in northern Vietnam. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 111(3):137-139.

136. Miller M. B., Blankenship R., Bratton J. L. et al (1974). Murine typhus in Vietnam. *Mil Med.* 139(3):184-6.
137. Azuma Momoyo, Nishioka Yasuhiko, Ogawa Motohiko, et al (2006). Murine typhus from Vietnam, imported into Japan. *Emerging infectious diseases.* 12(9):1466-1468.
138. Phạm Thanh Thủy (2013). Một số đặc điểm dịch tễ học các bệnh nhân sốt Rickettsia do bọ chét chuột truyền tại Bệnh viện Bạch Mai 2001-2002. *Tạp chí Y học dự phòng.* Tập XXIII(Sô 6):142.
139. Charles A. Dinarello and Reuven Porat, (2015), *Fever, Harrison's Principles of Internal Medicine, 19<sup>th</sup>* McGraw-Hill Companies: New York. 123 - 126.
140. Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương (2005). *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng* Hà Nội: Nhà xuất bản Y học. 947.
141. Peesapati N., Lakkapragada R., Sunitha S. et al (2015). Clinical manifestations and complications of scrub typhus: A hospital-based study from North Andhra. *Astrocyte.* 2(3):116-120.
142. Richard T. Ellison and Gerald R. Donowitz, (2015), *Acute Pneumonia, Principles and Practice of Infectious Diseases 19<sup>th</sup>*, M.D.a. Bennett, Editor Elsevier Inc: Philadelphia. p. 823 - 238.
143. Robert S. Munford, (2015), *Severe Sepsis and Septic Shock, Harrison's Principles of Internal Medicine 19<sup>th</sup>* McGraw-Hill Companies, Inc: New York. 1751 - 1752.
144. Marc G. Ghany and J.H. Hoofnagle, (2015), *Approach to the Patient with Liver Disease, Harrison's Principles of Internal Medicine 19<sup>th</sup> Edition.* McGraw-Hill Companies: New York. 1989 - 1999.
145. Sushrut S. Waikar and Joseph V. Bonventre, (2015), *Acute Kidney Injury, Harrison's Principles of Internal Medicine, 19<sup>th</sup>* McGraw-Hill Companies, New York. 1799 - 1805.
146. Neal K. Lakdawala, Lynne W. Stevenson and Joseph Loscalzo, (2015), *Cardiomyopathy and Myocarditis, Harrison's Principles of Internal Medicine, 19<sup>th</sup>* McGraw-Hill Companies, Inc: New York. 1557 - 1559.

147. Park Sang-Won, Lee Chang-Seop, Lee Chi Kug et al (2011). Severity predictors in eschar-positive scrub typhus and role of serum osteopontin. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 85(5):924-930.
148. Balasubramanian, P., N. Sharma, M. Biswal et al (2018). Critical Illness Scoring Systems: Sequential Organ Failure Assessment, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, and Quick Sequential Organ Failure Assessment to Predict the Clinical Outcomes in Scrub Typhus Patients with Organ Dysfunctions. *Indian journal of critical care medicine : peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*. 22(10):706-710.
149. Raith E. P., Udy A. A., Bailey M. et al (2017). Prognostic Accuracy of the SOFA Score, SIRS Criteria, and qSOFA Score for In-Hospital Mortality Among Adults With Suspected Infection Admitted to the Intensive Care Unit. *JAMA*. 317(3):290-300.
150. Gillespie Joseph J., Beier Magda S., Rahman M. Sayeedur, et al (2007). Plasmids and Rickettsial Evolution: Insight from Rickettsia felis. *PLOS ONE*. 2(3):e266.
151. Lê Thị Hội (2015). Ứng dụng kỹ thuật Realtime PCR để xác định 3 nhóm vi khuẩn Rickettsia gây bệnh sốt cấp tính ở người. *Tạp chí Truyền nhiễm Việt Nam*. 4:41 – 45.
152. McLeod Michael P., Qin Xiang, Karpathy Sandor E., et al (2004). Complete genome sequence of Rickettsia typhi and comparison with sequences of other rickettsiae. *Journal of bacteriology*. 186(17):5842-5855.
153. Liao Hsiao-Mei, Chao Chien-Chung, Lei Haiyan, et al (2016). Genomic Sequencing of Orientia tsutsugamushi Strain Karp, an Assembly Comparable to the Genome Size of the Strain Ikeda. *Genome announcements*. 4(4):e00702-16.
154. Nakayama Keisuke, Yamashita Atsushi, Kurokawa Ken, et al (2008). The Whole-genome sequencing of the obligate intracellular bacterium Orientia tsutsugamushi revealed massive gene amplification during reductive genome evolution. *DNA research : an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes*. 15(4):185-199.

155. Đỗ Văn Thành, Nguyễn Thị Hạnh, Lê Đăng Hà và cộng sự (2000). *Nghiên cứu bệnh cảnh lâm sàng, xét nghiệm và điều trị bệnh do Rickettsia tsutsugamushi*. Tập 1:234 - 242.
156. Nguyễn Văn Sơn (2004), *Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm và điều trị bệnh sốt mò Rickettsia tsutsugamushi ở trẻ em*. Đại học Y Hà Nội, Hà Nội.
157. Wisseman C.L. (1991). Rickettsial infections, Hunters Tropical Medicine, 7th edition. Saunders Company, Philadelphia: 256-282.
158. Song S.W., Kim K.T., Ku Y.M., et al (2004). Clinical role of interstitial pneumonia in patients with scrub typhus: a possible marker of disease severity. *J. Korean Med. Sci. Oct.* 19(5):668-73.
159. Rhodes A., Evans L. E., Alhazzani W., et al (2017). Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med.* 43(3):304-377.
160. Choi Y. H., Kim S. J., Lee J. Y., et al (2000). Scrub typhus: radiological and clinical findings. *Clin Radiol.* 55(2):140-4.
161. Tsay R.W. and Chang F.Y. (2002). Acute respiratory distress syndrome in scrub typhus. *Q.J.M. Feb.* 95(2):126-8.
162. Watt G. and Parola P. (2003). Scrub typhus and tropical rickettsioses. *Curr. Opin. Infect. Dis. Oct.* 16(5):429-36. Review.
163. Phan Quận (2003). Sốt mò với biến chứng viêm não màng não. *Y học thực hành.* 12 (469):62 - 64.
164. Loussaief C., Toumi A., Ben Brahim H, et al (2014). Macrophage activation syndrome: rare complication of murine typhus. *Pathol Biol (Paris).* 62(1):55-6.
165. Chanta C., Triratanapa K., Ratanasirichup P., et al (2007). Hepatic dysfunction in pediatric scrub typhus: role of liver function test in diagnosis and marker of disease severity. *J Med Assoc Thai.* 90(11):2366-9.



166. Mahdi Asmaa Sabr, Al-Khalili Sulien Mubarak, Chung Chao Chien, et al (2019). Scrub Typhus Complicated by ARDS, Myocarditis, and Encephalitis Imported to Oman from Nepal. *Oman medical journal*. 34(3):254-256.
167. Sirisanthana V., Puthanakit T. and Sirisanthana T. (2003). Epidemiologic, clinical and laboratory features of scrub typhus in thirty Thai children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 22:341-5.
168. Tsai Chen-Chi, Lay Chorng-Jang, Wang Chun-Lung, et al (2010). Levofloxacin versus tetracycline antibiotics for the treatment of scrub typhus. *International Journal of Infectious Diseases*. 14(1):e62-e67.
169. Chao C. C., Garland D. L., Dasch G. A., et al (2009). Comparative proteomic analysis of antibiotic-sensitive and insensitive isolates of *Orientia tsutsugamushi*. *Ann N Y Acad Sci*. 1166:27-37.
170. Silpapojakul K., Varachit B. and Silpapojakul K. (2004). Paediatric scrub typhus in Thailand: a study of 73 confirmed cases. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. Jun.* 98(6):354-9.
171. Bùi Đại (2005), *Bệnh học truyền nhiễm*. Bệnh do Rickettsia (Rickettsioses), Hà Nội: Nhà Xuất Bản Y học. 312 -317.
172. Jang Mi-Ok, Kim Ji Eun, Ahn Joon Hwan, et al (2014). Differences in the clinical presentation and the frequency of complications between elderly and non-elderly scrub typhus patients. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 58(2):196-200.
173. Bonell Ana, Lubell Yoel, Newton Paul N., et al (2017). Estimating the burden of scrub typhus: A systematic review. *PLoS neglected tropical diseases*. 11(9):e0005838-e0005838.
174. Griffith Mathew, Peter John Victor, Karthik Gunasekaran, et al (2014). Profile of organ dysfunction and predictors of mortality in severe scrub typhus infection requiring intensive care admission. *Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*. 18(8):497-502.

## PHỤ LỤC 2

### HÌNH ẢNH BAN, VẾT LOÉT VÀ PHIM PHỔI CỦA BỆNH NHÂN

#### 1. Hình ảnh xung huyết da và kết mạc ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*



Bệnh nhân Trần Thị V, nữ, 49 tuổi. Chẩn đoán sốt mò

#### 2. Hình ảnh phát ban trên da ở bệnh nhân nhiễm *Rickettsiaceae*



Phạm Minh Đ, nam, 60 tuổi  
Chẩn đoán sốt mò

Lê Tuấn T, nam, 46 tuổi  
Sốt phát ban bọ chét chuột

### 3. Một số hình ảnh vết loét (Eschar) gặp ở bệnh nhân sốt mò



Đoàn Thị T, nữ 40 tuổi



Nguyễn Thị L, nữ 58 tuổi

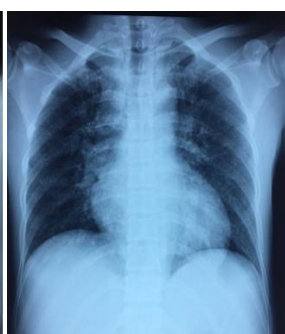
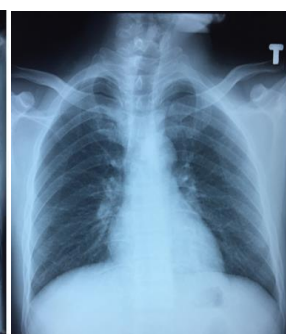


Lê Tuấn T, nam 46 tuổi



Nguyễn Văn B, nam 65 tuổi

### 4. Hình ảnh viêm phổi trên phim chụp XQ lồng ngực thẳng



Phạm Minh Đ, nam 60t   Nguyễn Đại L, nam, 30t   Lê Tuấn T, nam, 46t

**PHỤ LỤC 3**  
**CÁC MÁY XÉT NGHIỆM SINH HỌC PHÂN TỬ**



Hệ thống Real-Time PCR 7500 của hãng Applied Biosystems



ABI Hệ thống PRISM 3130 Genetic Analyzer của hãng HITACHI