ỨNG DỤNG SINH HỌC PHÂN TỬ TRONG BỆNH NHIỄM TRÙNG

Từ phát hiện tác nhân đến quyết định lâm sàng

TS BS. Huỳnh Minh Tuấn

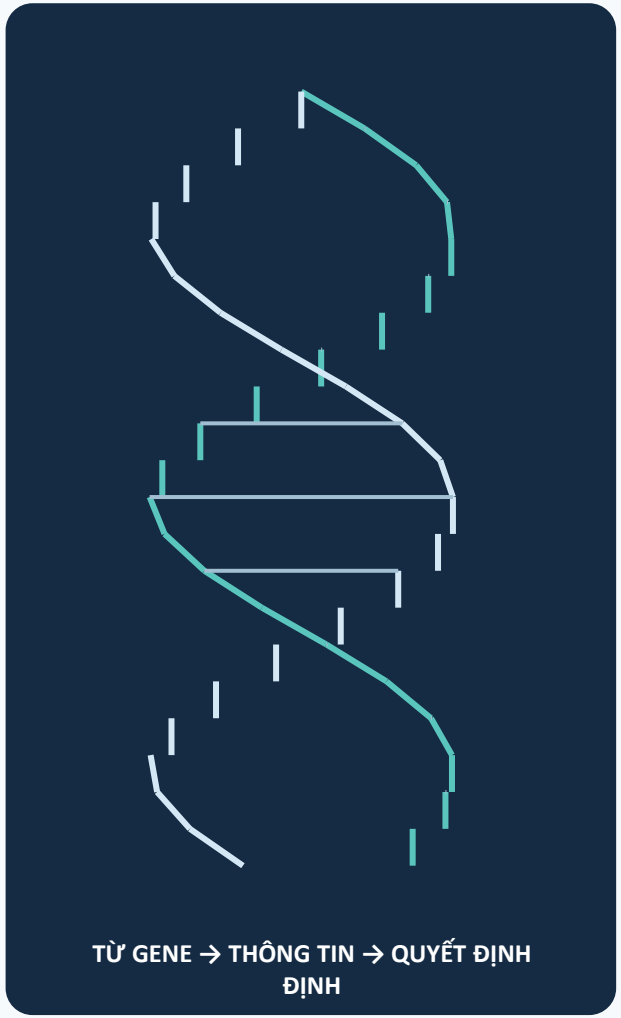
NGƯỜI BỆNH
Câu hỏi lâm sàng

→

XÉT NGHIỆM
Bằng chứng vi sinh

→

QUYẾT ĐỊNH
Điều trị · AMS · KSNK



TỪ GENE → THÔNG TIN → QUYẾT ĐỊNH ĐỊNH

CHỌN ĐÚNG XÉT NGHIỆM · HIỂU ĐÚNG KẾT QUẢ · HÀNH ĐỘNG ĐÚNG

TÌNH HUỐNG MỞ ĐẦU

Người bệnh đang nguy kịch: chúng ta cần biết điều gì?

CA BỆNH TẠI ICU · GIẢ ĐỊNH

NGƯỜI BỆNH

Nam, 68 tuổi

BIỂU HIỆN

Sốt 39°C · HA 80/45 mmHg

XÉT NGHIỆM

Lactate 4,2 mmol/L

NHẬN ĐỊNH

Nghi sốc nhiễm khuẩn, nguồn tiết niệu

XỬ TRÍ BAN ĐẦU

Hồi sức · Cấy máu · Kháng sinh kinh nghiệm

2 bộ cấy máu: trực khuẩn Gram âm

SÁU CÂU HỎI CẦN TRẢ LỜI

BỆNH CẢNH

Nhiễm khuẩn thực sự? Nguồn ở đâu?

TÁC NHÂN

Đó là vi khuẩn gì?

KHÁNG THUỐC

Có cơ chế kháng quan trọng?

ĐIỀU TRỊ

Vi khuẩn nhạy thuốc nào?

DỊCH TỄ

Liên quan đến các ca ICU khác?

HÀNH ĐỘNG

Thông tin này thay đổi xử trí gì?

Một kết quả vi sinh chưa thể trả lời tất cả câu hỏi lâm sàng.

Sáu nhu cầu thông tin - sáu câu hỏi khác nhau

PHÁT HIỆN

Có tác nhân không?

Soi · Nuôi cấy · NAAT

ĐỊNH DANH

Tác nhân nào?

MALDI-TOF · NAAT · Giải trình tự

ĐỊNH LƯỢNG

Có bao nhiêu vật liệu đích?

qPCR · Ví dụ: HBV DNA

KHÁNG THUỐC

Gene kháng? Nhạy thuốc?

Marker phân tử + AST kiểu hình

ĐẶC TRƯNG DI TRUYỀN

Dòng, kiểu gene nào?

MLST · WGS

LIÊN QUAN DỊCH TỄ

Các chủng liên quan đến đâu?

WGS + dữ liệu dịch tễ

Đây là sáu NHU CẦU THÔNG TIN, không phải sáu loại xét nghiệm phân tử.

Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024 · Valencia-Shelton F, et al. J Clin Microbiol. 2024

Truyền thống và phân tử: thay thế hay bổ sung?

PHƯƠNG PHÁP	GIÁ TRỊ NỔI BẬT	GIỚI HẠN CẦN NHỚ
Nhuộm soi	Gợi ý hình thái nhanh	Chưa định danh đầy đủ
Nuôi cấy + AST	Vi sinh vật sống; nhạy cảm kháng sinh	Có thể chậm hoặc âm tính
Kháng nguyên/kháng thể	Dấu ấn tác nhân hoặc đáp ứng miễn dịch	Phụ thuộc bệnh cảnh và thời điểm
NAAT / PCR	Phát hiện DNA hoặc RNA đích	Không chứng minh tác nhân còn sống
Giải trình tự	Biến thể, trình tự gene hoặc bộ gene	Cần phân tích và diễn giải

MALDI-TOF: khối phổ hỗ trợ định danh, thường từ vi sinh vật đã nuôi cấy; KHÔNG phải kỹ thuật NAAT.

Phương pháp khác nhau cung cấp các bằng chứng BỔ SUNG cho nhau.

Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024 · Wolk DM, et al. Clin Microbiol Rev. 2025

Phát hiện gene kháng ≠ kết quả kháng sinh đồ

CHAI CẤY MÁU DƯƠNG

PCR / NAAT GENE KHÁNG

Ví dụ: phát hiện blaNDM

Cho biết: gene trong phạm vi khảo sát được phát hiện.

Không trực tiếp cho biết MIC hoặc độ nhạy của mọi thuốc.

KHÁNG SINH ĐỒ KIỂU HÌNH

MIC / kết quả nhạy cảm

Đo mức nhạy cảm với các kháng sinh được thử.

Phải diễn giải theo breakpoint phù hợp.

Panel âm tính với gene được khảo sát KHÔNG đồng nghĩa vi khuẩn nhạy carbapenem.

Kết hợp PCR gene + AST + bệnh cảnh lâm sàng trước khi quyết định điều trị.

Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024 · Valencia-Shelton F, et al. J Clin Microbiol. 2024

Có kết quả nhanh ≠ có hành động nhanh

XÉT NGHIỆM ĐÃ CÓ KẾT QUẢ: 08:00

QUY TRÌNH PHỐI HỢP TỐT

08:05	Thông báo chủ động
08:15	Bác sĩ / AMS diễn giải
08:30	**Xem xét hành động phù hợp**

THÔNG BÁO THỤ ĐỘNG

08:00	Kết quả lưu trên hệ thống
Trong ngày	Chưa được đánh giá kịp thời
Hôm sau	**Mới xem xét xử trí**

TIME TO RESULT ——— **TIME TO APPROPRIATE ACTION**

* Thời gian trong sơ đồ là ví dụ giả định, không phải chuẩn thời gian.

Máy nhanh chỉ tạo giá trị khi kết quả được diễn giải và hành động kịp thời.

Từ hiểu công nghệ đến quyết định lâm sàng

CHỌN ĐÚNG

Khi nào cần xét nghiệm?

- Câu hỏi lâm sàng
- Bệnh phẩm và thời điểm
- Phương pháp phù hợp

→

HIỂU ĐÚNG

Kết quả có ý nghĩa gì?

- Đích xét nghiệm tìm kiếm
- Ý nghĩa dương tính / âm tính
- Giới hạn và bẫy diễn giải

→

HÀNH ĐỘNG ĐÚNG

Chúng ta làm gì tiếp?

- Điều trị và theo dõi
- Quản lý sử dụng kháng sinh
- Kiểm soát nhiễm khuẩn

WHEN TO TEST? → WHAT DOES IT MEAN? → WHAT SHOULD WE DO NEXT?

PHẦN II → Xét nghiệm phân tử phát hiện điều gì, bằng cách nào và vì sao có thể sai?

Valencia-Shelton F, et al. J Clin Microbiol. 2024 · Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024

DNA - RNA - gene - genome: xét nghiệm tìm điều gì?

HÌNH DUNG NHƯ MỘT CUỐN SÁCH

GENOME Toàn bộ "cuốn sách" di truyền



GENE: một vùng chức năng

TARGET

Đoạn trình tự được assay lựa chọn

DNA Vật liệu di truyền được khảo sát

RNA Target của nhiều xét nghiệm virus

VÍ DỤ TRONG BỆNH NHIỄM TRÙNG

- SARS-CoV-2: RNA đặc hiệu
- Lao: DNA của M. tuberculosis complex
- blaNDM: gene liên quan kháng carbapenem

PCR tìm vùng đích đã chọn - không tự đọc toàn bộ genome hoặc chứng minh đang gây bệnh.

Pathogen - specimen - target: không được đánh đồng

PATHOGEN

Vi sinh vật nào?

K. pneumoniae

SPECIMEN

Mẫu lấy ở đâu?

Dịch chai cấy máu dương

TARGET

Assay tìm trình tự nào?

Đích định danh và gene trong panel

ĐỐI CHIẾU VỚI NGƯỜI BỆNH

Bệnh cảnh · Vị trí nhiễm · Giá trị bệnh phẩm · Phạm vi thẩm định

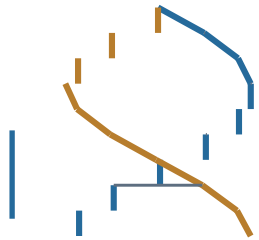
Cùng target dương tính nhưng khác bệnh phẩm → ý nghĩa lâm sàng có thể khác.

NAAT là nhóm xét nghiệm - PCR là 1 kỹ thuật trong nhóm

NAAT = Nucleic Acid Amplification Test • PCR = Polymerase Chain Reaction

TÁCH MẠCH

Denaturation



GẮN MỒI

Annealing



primer

KÉO DÀI

Extension



polymerase

CÁC LỰA CHỌN NAAT KHÁC

LAMP: khuếch đại đẳng nhiệt · TMA: khuếch đại qua phiên mã

Khuếch đại giúp dễ phát hiện target; không phải mọi NAAT đều là PCR.

CLSI MM03, 2015 · Bustin SA, et al. Clin Chem. 2025

PCR, RT-PCR, real-time PCR và qPCR: khác nhau thế nào?

TÊN GỌI	ĐẶC ĐIỂM	HIỂU NHANH
PCR	Khuếch đại DNA đích	Bước nền tảng
RT-PCR	RNA → cDNA → PCR	RT = phiên mã ngược
REAL-TIME PCR	Theo dõi tín hiệu khi khuếch đại	Real-time = theo dõi
qPCR	Định lượng target theo assay thẩm định	q = quantitative
RT-qPCR	RNA → cDNA + PCR định lượng	Kết hợp RT và qPCR

ĐẦU VÀO: DNA hay RNA?

ĐẦU RA: định tính hay định lượng?

Có Ct không mặc nhiên là xét nghiệm định lượng được thẩm định.

Bustin SA, et al. MIQE 2.0. Clin Chem. 2025;71:634–651

Từ bệnh phẩm đến kết quả PCR: 3 giai đoạn kiểm soát

TRƯỚC PHÂN TÍCH

Preanalytical

- Chỉ định phù hợp
- Lấy và vận chuyển mẫu
- Đúng bệnh phẩm cho assay

PHÂN TÍCH

Analytical

- Xử lý / tách chiết
- Khuếch đại và phát hiện
- Kiểm soát chất lượng

SAU PHÂN TÍCH

Postanalytical

- Xác nhận tính hợp lệ
- Báo cáo target và đơn vị
- Thông báo kết quả quan trọng

CÁC CONTROL KHÔNG CÙNG CHỨC NĂNG

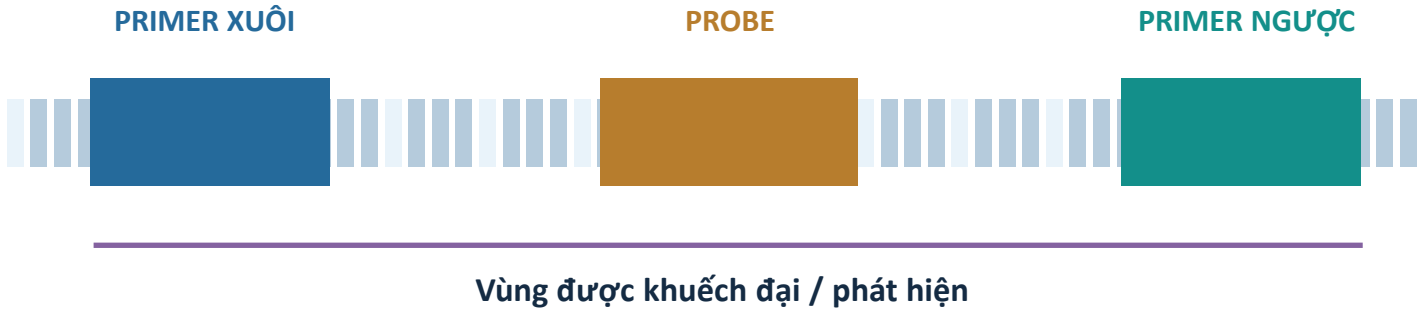
Positive control	Có thể phát hiện target	**Negative control**	Theo dõi nhiễm bẩn
Process / extraction	Giám sát xử lý mẫu	**Internal / adequacy**	Ức chế / độ đầy đủ mẫu

Control đạt chưa chứng minh bệnh phẩm đã lấy đúng vị trí hoặc phù hợp lâm sàng.

CLSI MM03, 2015 · ISO 20395:2019 · Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024

Primer - probe - target: PCR chỉ tìm những gì đã thiết kế

TRÌNH TỰ DNA ĐÍCH (MINH HỌA)



KHI TARGET THAY ĐỔI

Biến thể tại vùng gắn có thể làm tín hiệu yếu, Ct muộn hoặc âm tính giả.

PRIMER

Xác định vị trí bắt đầu khuếch đại

PROBE

Một số assay dùng để tạo tín hiệu

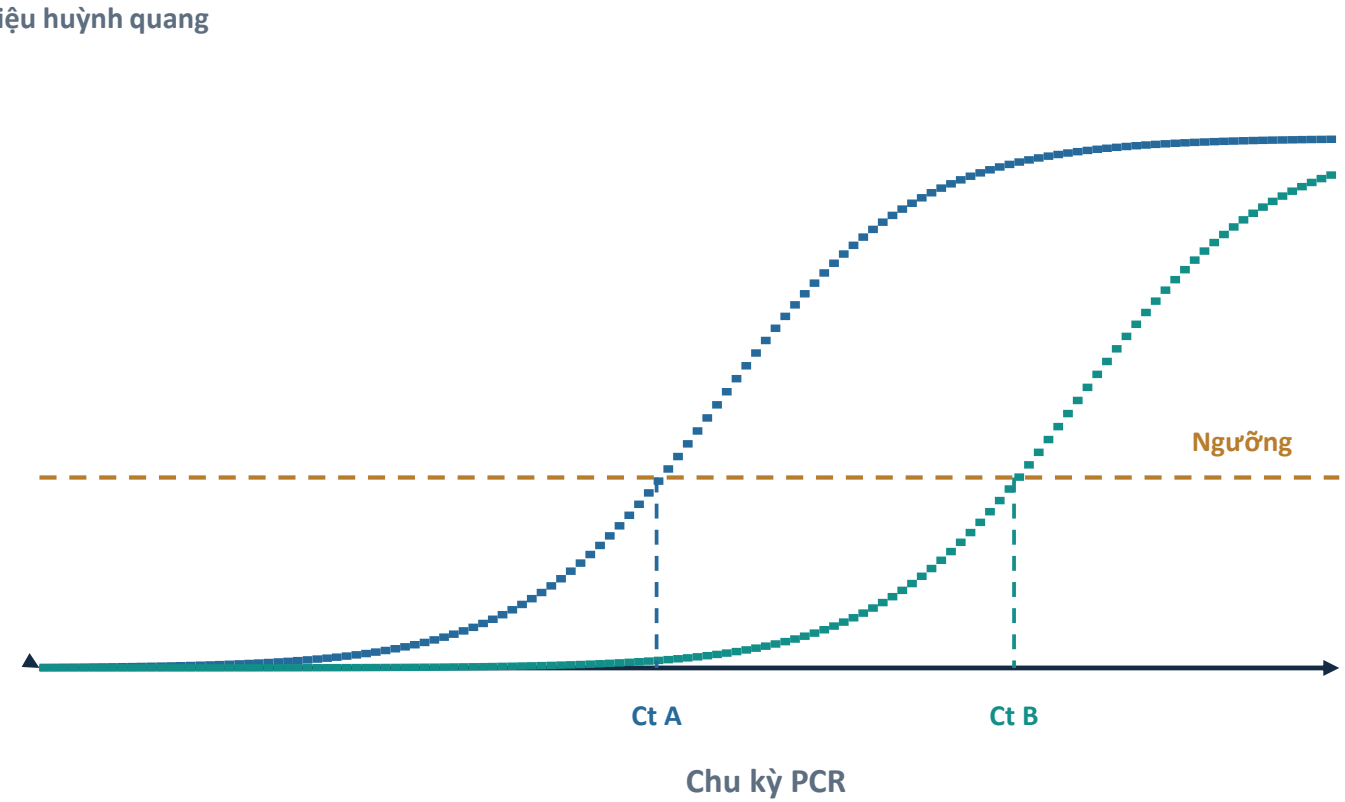
TARGET

Đoạn trình tự được xét nghiệm khảo sát

Âm tính với target trong panel ≠ âm tính với mọi tác nhân hay mọi gene kháng.

CLSI MM03, 2015 · Bustin SA, et al. Clin Chem. 2025

Ct/Cq: hiểu đường cong khuếch đại trước khi diễn giải



MẪU A

Ct ≈ 19

MẪU B

Ct ≈ 30

So sánh chỉ hợp lý khi cùng assay và điều kiện tương đương.

Ct/Cq là thông số phản ứng; không tự động là tải lượng virus hay mức độ nặng.

Cùng một mẫu: hai assay có thể cho Ct khác nhau

MỘT MẪU RNA GIẢ ĐỊNH

ASSAY A

22

Ct giả định · Target X

ASSAY B

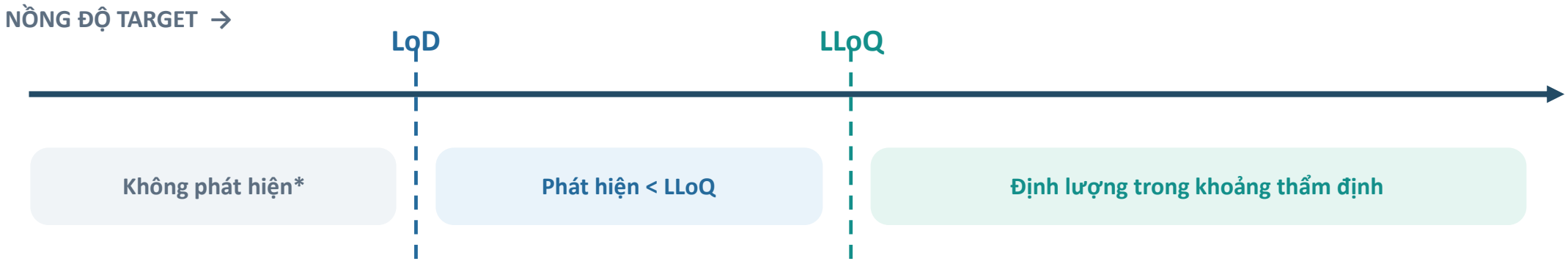
28

Ct giả định · Target Y

KHÔNG SO SÁNH TRỰC TIẾP Ct KHI ASSAY CHƯA CHỨNG MINH TƯƠNG ĐƯƠNG

Không có công thức Ct → IU/mL hoặc kết luận khả năng lây nhiễm dùng chung cho mọi assay.

LoD - LoQ - viral load: phát hiện khác với định lượng



* LoD thường xác định theo xác suất phát hiện (ví dụ 95%), không phải ranh giới tuyệt đối.

NOT DETECTED	DETECTED < LLoQ	QUANTIFIED
Không phát hiện theo assay	Có target, chưa định lượng tin cậy	Ví dụ: HBV DNA theo IU/mL

Detected dưới LLoQ không phải âm tính, cũng không phải con số viral load chính xác.

ISO 20395:2019 · Bustin SA, et al. Clin Chem. 2025

TÌNH HUỐNG THỰC HÀNH

HBV DNA “detected, below LLoQ”: kết luận gì?

PHIẾU KẾT QUẢ

Bệnh phẩm: huyết tương

Xét nghiệm: HBV DNA định lượng

DETECTED, BELOW LLoQ

LLoQ giả định của assay: 20 IU/mL

CÁCH HIỂU NÀO ĐÚNG?

A. HBV DNA hoàn toàn âm tính

B. Nồng độ chính xác bằng 20 IU/mL

C. **Có phát hiện, nhưng chưa định lượng tin cậy**

D. Luôn là dấu hiệu thất bại điều trị

Không gộp “dưới LLoQ” vào âm tính, và không tự thay đổi điều trị từ một kết quả đơn lẻ.

ISO 20395:2019 · WHO Guidelines for hepatitis B, 2024

Singleplex - multiplex - syndromic panel: ba khái niệm

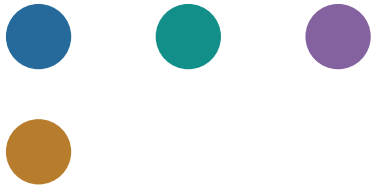
SINGLEPLEX

Một target



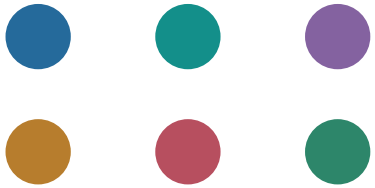
MULTIPLEX

Nhiều target



SYNDROMIC PANEL

Theo hội chứng



VD: panel viêm màng não / viêm não

VÍ DỤ: PNEUMONIA PANEL DƯƠNG P. aeruginosa + RHINOVIRUS

Không tự động kết luận cả hai đều đang gây viêm phổi.

Panel nhiều target giúp phát hiện rộng hơn - không thay thế diễn giải căn nguyên gây bệnh.

Phát hiện đúng target ≠ chẩn đoán đúng bệnh ≠ hữu ích

ANALYTICAL VALIDITY

Có phát hiện đúng target?

LoD · phản ứng chéo · độ chụm

→

CLINICAL VALIDITY

Có xác định đúng bệnh?

Nhạy / đặc hiệu chẩn đoán

→

CLINICAL UTILITY

Có giúp chăm sóc tốt hơn?

Quyết định điều trị · AMS · KSNK

PCR phát hiện chính xác DNA Pseudomonas trong đàm → chưa chứng minh đang gây viêm phổi.

Độ nhạy phân tích tốt không tự động đồng nghĩa giá trị lâm sàng cao.

Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024 · Lewinski MA, et al. J Mol Diagn. 2023

Cùng xét nghiệm, kết quả dương chưa chắc cùng ý nghĩa

TRƯỚC XÉT NGHIỆM

Xác suất đã có bệnh trước khi làm test

→

THÔNG TIN TEST

Độ nhạy, độ đặc hiệu và kết quả

→

SAU XÉT NGHIỆM

Xác suất mắc bệnh được cập nhật

PPV Trong những kết quả dương, tỷ lệ thực sự có bệnh

NPV Trong những kết quả âm, tỷ lệ thực sự không có bệnh

PPV và NPV còn phụ thuộc vào xác suất bệnh trong nhóm người được xét nghiệm.

Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024 · Valencia-Shelton F, et al. J Clin Microbiol. 2024

Cùng độ nhạy 90%, đặc hiệu 99%: PPV khác rất xa

CÙNG ASSAY: ĐỘ NHẠY 90% · ĐỘ ĐẶC HIỆU 99% · 10.000 NGƯỜI

QUẦN THỂ A • Tỷ lệ bệnh 1%

Dương tính thật	90
Dương tính giả	99
PPV	**47,6%**

QUẦN THỂ B • Tỷ lệ bệnh 20%

Dương tính thật	1.800
Dương tính giả	80
PPV	**95,7%**

Đặc hiệu 99% KHÔNG có nghĩa 99% kết quả dương tính đều là dương tính thật.

PCR vs sequencing: tìm trình tự hay đọc trình tự?

TARGETED PCR

Có target đã chọn?

Ví dụ: blaNDM

→

TARGETED SEQUENCING

Vùng gene có biến thể gì?

Đọc một vùng gene

→

WGS

Bộ gene có đặc điểm gì?

So sánh chủng ICU

→

mNGS

Những trình tự nào có trong mẫu?

Khảo sát rộng nhiều nguồn

Không phải thang "kỹ thuật càng rộng càng tốt": chọn theo câu hỏi cần trả lời.

Tìm target · Đọc trình tự · So sánh bộ gene · Khảo sát rộng là các mục tiêu khác nhau.

Định danh bằng “dấu vân tay” phổ khối, không phải PCR

VI SINH VẬT

Khuẩn lạc hoặc mẫu đã xử lý

→

MALDI-TOF MS

Đo phổ m/z đặc trưng

→

CƠ SỞ DỮ LIỆU

Đối chiếu → định danh

VÍ DỤ: MALDI-TOF ĐỊNH DANH KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Chưa biết vi khuẩn có KPC/NDM hay MIC meropenem là bao nhiêu.

MALDI định danh dựa trên phổ khối; không trực tiếp đọc DNA/RNA hoặc tự cho MIC.

MALDI-TOF có thể khảo sát kháng thuốc, nhưng không mặc nhiên đo MIC

ĐỊNH DANH MALDI	**Đây là vi khuẩn gì?**	Phổ protein đặc trưng
THỬ THỦY PHÂN	**Có hoạt tính carbapenemase?**	Phân tử thuốc và sản phẩm biến đổi
MALDIxin / MARKER	**Có dấu hiệu liên quan kháng thuốc?**	Lipid A / peptide đặc hiệu
AST / MIC	**Thuốc ức chế vi khuẩn ở mức nào?**	Thử nhạy cảm đã thẩm định

Một nền tảng ≠ một loại kết quả • Mỗi ứng dụng phải thẩm định riêng

Phát hiện enzyme hoặc marker kháng thuốc KHÔNG tự động cung cấp giá trị MIC.

Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024 · CLSI M100, 2026

8 câu hỏi trước khi diễn giải một kết quả phân tử

NGƯỜI BỆNH	Vì sao chỉ định?
BỆNH PHẨM	Lấy ở đâu, phù hợp không?
THỜI ĐIỂM	Lấy khi nào? Đã điều trị?
PHƯƠNG PHÁP	NAAT, qPCR hay sequencing?
TARGET	Xét nghiệm tìm những gì?
KẾT QUẢ	Detected, Ct, IU/mL, LLoQ?
GIỚI HẠN	Ngoài panel? Gần LoD?
HÀNH ĐỘNG	Điều trị, theo dõi, AMS, KSNK?

Chọn đúng bệnh phẩm → Hiểu đúng điều assay phát hiện → Hành động đúng.

Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024

Diagnostic Stewardship: xét nghiệm đúng chưa đủ, phải sử dụng đúng

NGƯỜI BỆNH

Đúng đối tượng

CÂU HỎI

Đúng nhu cầu

BỆNH PHẨM

Đúng vị trí

XÉT NGHIỆM

Đúng phương pháp

THỜI ĐIỂM

Đúng thời gian

DIỄN GIẢI

Đúng ý nghĩa

HÀNH ĐỘNG PHÙ HỢP

Điều trị - Theo dõi - AMS - Kiểm soát nhiễm khuẩn

DxS không phải giảm xét nghiệm bằng mọi giá, mà tối ưu giá trị của xét nghiệm.

Valencia-Shelton F, et al. J Clin Microbiol. 2024 · Miller JM, et al. CID. 2024

Trước khi đặt y lệnh: 3 câu hỏi cần trả lời

BỆNH CẢNH PHÙ HỢP?

Xác suất trước xét nghiệm

Có hội chứng, nguy cơ hoặc triệu chứng gợi ý?

→

ĐÚNG CÂU HỎI?

Target và phạm vi xét nghiệm

Assay trả lời được điều cần biết không?

→

CÓ GIÁ TRỊ SỬ DỤNG?

Quyết định tiếp theo

Kết quả hỗ trợ điều trị, KSNK hay theo dõi?

Ngoại lệ quan trọng: nghi nhiễm trùng nguy kịch → không trì hoãn hồi sức và điều trị cấp cứu.

Hãy bắt đầu bằng câu hỏi của người bệnh, không phải danh mục xét nghiệm của máy.

Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024 · Valencia-Shelton F, et al. 2024

Máy tốt không cứu được bệnh phẩm không phù hợp

VIÊM PHỔI / VAP	VIÊM MÀNG NÃO	NHIỄM KHUẨN HUYẾT
Bệnh phẩm hô hấp dưới	Dịch não tủy	Máu

Bốn câu hỏi về bệnh phẩm

Vị trí lấy · Thời điểm · Chất lượng mẫu · Phạm vi thẩm định của assay

Panel từ chai cấy máu dương ≠ PCR thực hiện trực tiếp trên máu.

Cùng xét nghiệm, kết quả thay đổi theo thời điểm lấy mẫu

GIAI ĐOẠN SỚM

Một số tác nhân có lượng target chưa đủ để phát hiện.

→

BỆNH ĐANG HOẠT ĐỘNG

Khả năng phát hiện tùy tác nhân, loại mẫu và diễn tiến.

→

SAU ĐIỀU TRỊ

Acid nucleic đôi khi vẫn tồn lưu dù tác nhân mất khả năng sống.

SEPSIS Lấy cấy máu sớm, lý tưởng trước kháng sinh — nhưng không trì hoãn điều trị cấp cứu.

Không có một đường cong DNA/RNA theo thời gian áp dụng cho mọi tác nhân.

Phát hiện DNA/RNA ≠ vi sinh vật sống ≠ nhiễm trùng hoạt động

NUCLEIC ACID DETECTED		VIABILITY		ACTIVE INFECTION
Có tín hiệu trình tự đích.	≠	Vi sinh vật còn khả năng sống.	≠	Vi sinh vật đang gây bệnh trong bối cảnh phù hợp.

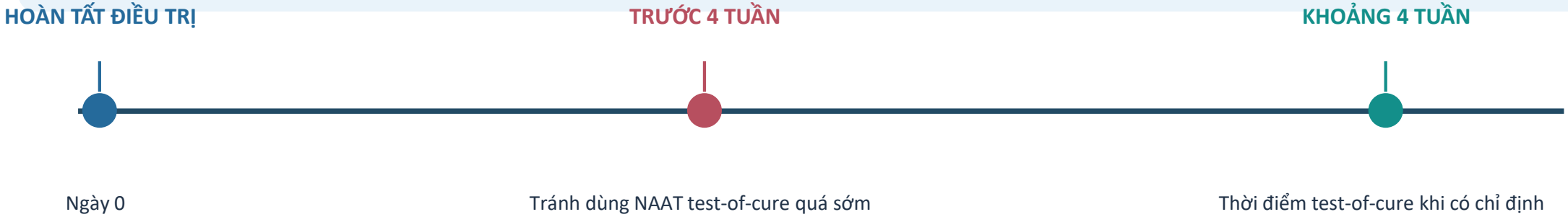
PCR dương sau điều trị có thể là phát hiện đúng target, không phải “dương tính giả phân tích”.

Dương tính phân tử cần được đối chiếu với sự sống của tác nhân và bệnh cảnh.

VÍ DỤ CLINICAL UTILITY

Chlamydia: không kiểm tra khỏi bệnh bằng NAAT quá sớm

NAAT có thể còn dương tính do acid nucleic tồn lưu sau điều trị hiệu quả



KHÔNG MANG THAI

Thường không cần test-of-cure nếu điều trị phù hợp.

MANG THAI

Khuyến cáo test-of-cure khoảng 4 tuần.

NAAT dương quá sớm sau điều trị không tự động chứng minh thất bại điều trị.

CDC. Chlamydial Infections, STI Treatment Guidelines

Colonization khác infection: dương tính chưa phải là bệnh

COLONIZATION / MANG VI SINH VẬT

Vi sinh vật hiện diện

Nhưng không gây bệnh tại thời điểm đánh giá

INFECTION / NHIỄM TRÙNG

Vi sinh vật gây bệnh

Cần hội chứng lâm sàng và bằng chứng phù hợp

Ví dụ: C. difficile - phát hiện gene độc tố chưa chứng minh độc tố đang gây bệnh.

Detected pathogen ≠ Disease caused by that pathogen.

IDSA/SHEA CDI guideline 2017/2018 · Miller JM, et al. 2024

Hai người bệnh cùng NAAT dương, có nên xử trí như nhau?

NGƯỜI BỆNH A

NAAT dương

- Phân thành khuôn
- Không tiêu chảy
- Không có hội chứng CDI phù hợp

Không chẩn đoán CDI chỉ từ NAAT dương.

NGƯỜI BỆNH B

NAAT dương

- Tiêu chảy mới xuất hiện
- ≥3 lần phân không thành khuôn/24 giờ
- Cần loại trừ nguyên nhân khác

Đánh giá CDI theo thuật toán phù hợp.

Nếu chưa có tiêu chí nhận mẫu rõ ràng, ưu tiên thuật toán xét nghiệm có thành phần độc tố.

McDonald LC, et al. Clin Infect Dis. 2018 · CDC CDI guidance

Panel âm tính: không phát hiện target ≠ không có nhiễm trùng

NOT DETECTED = Không phát hiện target nằm trong phạm vi xét nghiệm với điều kiện đã đánh giá

NGOÀI PANEL

Tác nhân không được khảo sát

DƯỚI LoD

Lượng target quá thấp

SAI BỆNH PHẨM

Mẫu không đại diện

SAI THỜI ĐIỂM

Lấy mẫu không tối ưu

VẤN ĐỀ KỸ THUẬT

Ức chế hoặc lỗi phản ứng

INVALID / INDETERMINATE

Không phải âm tính hợp lệ

Không loại trừ bệnh chỉ vì một panel âm tính khi xác suất lâm sàng vẫn cao.

Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024 · Lewinski MA, et al. J Mol Diagn. 2023

Nghi viêm não nhưng ME panel âm tính: bước tiếp theo là gì?

NGHI VIÊM NÃO + ME PANEL ÂM TÍNH

PHẠM VI PANEL

Tác nhân nghi ngờ có nằm trong panel?

XÉT NGHIỆM KHÁC

Có cần PCR đặc hiệu, nuôi cấy hoặc khảo sát khác?

BỆNH PHẨM

Dịch não tủy và dữ liệu CSF có phù hợp?

THỜI ĐIỂM

Lấy mẫu lúc nào? Đã điều trị trước đó?

Không ngừng đánh giá bệnh cảnh nguy hiểm chỉ dựa vào một ME panel âm tính.

Miller JM, et al. Clin Infect Dis. 2024 · Lewinski MA, et al. 2023

Gene kháng thuốc bổ sung, không mặc nhiên thay thế AST kiểu hình

GENOTYPE — blaKPC, blaNDM, đột biến đã khảo sát

↓

CƠ CHẾ KHÁNG — Enzyme hoặc cơ chế sinh học tương ứng

↓

PHENOTYPE / AST — MIC / nhạy cảm của từng kháng sinh

Gene detected → có marker được khảo sát

Gene not detected ≠ vi khuẩn nhạy

Gene kháng có thể dự báo rất tốt ở vài cặp tác nhân–thuốc, nhưng không cho toàn bộ MIC.

Tamma PD, et al. CID. 2024 · Miller JM, et al. CID. 2024

CA LÂM SÀNG / CẤY MÁU DƯƠNG

K. pneumoniae + blaNDM: biết sớm điều gì, chưa biết gì?

CHAI CẤY MÁU DƯƠNG → PANEL NHANH

Klebsiella pneumoniae + blaNDM DETECTED

THÔNG TIN CÓ GIÁ TRỊ

- Có marker metallo-β-lactamase NDM
- Cần rà soát điều trị sớm
- Thông báo AMS / KSNK phù hợp

CHƯA ĐƯỢC KẾT LUẬN

- Chưa suy ra MIC mọi kháng sinh
- Chưa khẳng định một thuốc chắc hiệu quả
- Vẫn cần AST và dữ liệu người bệnh

Có thể hành động sớm, nhưng quyết định điều trị phải tổng hợp gene + AST + bệnh cảnh.

Tamma PD, et al. Clin Infect Dis. 2024 · Miller JM, et al. 2024

Từ kết quả xét nghiệm đến hành động: cả một quy trình

BÁO CÁO ĐÚNG

Target · Mẫu · Giới hạn

→

THÔNG BÁO SỚM

Cảnh báo · Người nhận

→

DIỄN GIẢI ĐÚNG

Lâm sàng · AST · Dịch tễ

→

HÀNH ĐỘNG

Điều trị · AMS · KSNK

CHỈ SỐ THEO DÕI

Thời gian đến điều trị phù hợp + kết cục chăm sóc người bệnh

Xét nghiệm nhanh chỉ phát huy giá trị khi kết quả đến đúng người và được sử dụng kịp thời.

Wolk DM, et al. Clin Microbiol Rev. 2025 · Valencia-Shelton F, et al. 2024

Bốn kiểu kết quả - bốn cách tư duy lâm sàng

DƯƠNG TÍNH + PHÙ HỢP

Đánh giá giá trị chẩn đoán và hành động theo bệnh cảnh.

DƯƠNG TÍNH + KHÔNG PHÙ HỢP

Xem xét mang tác nhân, tồn lưu hoặc khả năng khác.

ÂM TÍNH + NGHI NGỜ CAO

Rà soát bệnh phẩm, thời điểm, target và xét nghiệm khác.

KHÔNG HỢP LỆ / CHƯA XÁC ĐỊNH

Không xem như âm tính; phối hợp labo để xử lý.

Đừng bao giờ diễn giải một kết quả phân tử mà quên người bệnh.

ỨNG DỤNG THEO HỘI CHỨNG LÂM SÀNG

NHIỄM KHUẨN HUYẾT / SEPSIS

Sốc nhiễm khuẩn: thông tin nào cần biết sớm?

NGƯỜI BỆNH	CẤY MÁU	CÂU HỎI NGAY LÚC NÀY
Nam 68 tuổi · ICU HA 80/45 mmHg · lactate 4,2 mmol/L Nghi ổ nhiễm tiết niệu; đã hồi sức và dùng kháng sinh.	Chai cấy máu dương tính Nhuộm Gram: trực khuẩn Gram âm Chưa định danh, chưa có AST.	Tác nhân nào? Có marker kháng thuốc? Phác đồ hiện tại phù hợp? Cần hành động gì tiếp?

Bệnh cảnh → Bệnh phẩm → Xét nghiệm → Diễn giải → Hành động

Không trì hoãn điều trị sepsis để chờ PCR; xét nghiệm nhanh giúp tối ưu hóa điều trị sau đó.

Cấy máu dương: 3 con đường cho 3 đầu ra

MOLECULAR BCID

Trực tiếp từ dịch chai cấy máu dương theo assay.
Phát hiện tác nhân và marker kháng nằm trong panel.

→

MALDI-TOF MS

Định danh bằng khối phổ; từ khuẩn lạc hoặc bệnh phẩm xử lý phù hợp.

→

PHENOTYPIC AST

Kháng sinh đồ nhanh hoặc thường quy.
Đánh giá tính nhạy cảm đối với thuốc được khảo sát.

Các thông tin này bổ sung cho nhau nhưng không thay thế việc đánh giá người bệnh.

Biết tên vi khuẩn ≠ phát hiện gene kháng ≠ biết MIC.

BCID, MALDI-TOF hay rapid AST: chọn công cụ nào?

BCID

Câu hỏi: tác nhân/marker nào nằm trong panel?
Giới hạn: không loại trừ các target ngoài panel.

→

MALDI-TOF

Câu hỏi: tên loài vi sinh vật?
Giới hạn: không tự động có MIC hay AST.

→

RAPID AST

Câu hỏi: vi khuẩn nhạy với thuốc nào?
Giới hạn: chỉ áp dụng các loài/thuốc/điều kiện đã chuẩn hóa.

Các thông tin này bổ sung cho nhau nhưng không thay thế việc đánh giá người bệnh.

Đo thời gian thực tế từ lấy mẫu đến hành động, không chỉ thời gian chạy máy.

Phát hiện blaKPC hoặc blaNDM: kết luận đến đâu?

blaKPC DETECTED

Gene mã hóa KPC carbapenemase.
Thông tin cơ chế có thể định hướng sớm việc đánh giá phác đồ.

blaNDM DETECTED

Gene mã hóa NDM metallo-β-lactamase.
Lưu ý quan trọng khi đánh giá β-lactam/BLI và carbapenem.

CHƯA BIẾT TỪ PCR: MIC của từng thuốc. · Mọi cơ chế kháng phối hợp. · Thuốc nào chắc chắn có hiệu quả.

Không phát hiện gene thuộc panel cũng không chứng minh carbapenem còn nhạy.

Từ kết quả phân tử đến quyết định kháng sinh

KẾT QUẢ SỚM

1

Tác nhân + marker thuộc panel

→

NGƯỜI BỆNH

2

Sốc? Vị trí nhiễm? Kiểm soát ổ nhiễm?

→

ĐIỀU TRỊ

3

Kháng sinh hiện tại + tiền sử vi sinh

→

HỘI CHẨN

4

AMS / KSNK khi cần

→

ĐÁNH GIÁ LẠI

5

AST, MIC, liều và PK/PD

Kết quả từ từng bước phải được tích hợp vào quyết định lâm sàng tiếp theo.

Thông tin nhanh phải dẫn đến quyết định phù hợp, không tự động tăng phổ kháng sinh.

Xét nghiệm nhanh cải thiện chăm sóc: đo chỉ số gì?

CHỈ SỐ QUY TRÌNH

Thời gian đến định danh
Thời gian thông báo chủ động
Thời gian đến điều trị thích hợp
Thời gian đến de-escalation

CHỈ SỐ KẾT QUẢ

Mức sử dụng kháng sinh
Thời gian nằm viện
Chi phí, nguồn lực
Các kết cục lâm sàng đã định nghĩa

Đối chiếu hai nhóm thông tin trước khi kết luận hoặc điều chỉnh xử trí.

Đánh giá cả hệ thống chuyển giao kết quả, không chỉ tốc độ của thiết bị.

VAP: panel dương tính nhiều tác nhân - điều trị ai?

BỆNH CẢNH	PNEUMONIA PANEL	CẦN DIỄN GIẢI
Nam 72 tuổi, thở máy ngày 8 Sốt, tăng nhu cầu oxy, thâm nhiễm phổi mới Mẫu: dịch hút nội khí quản.	P. aeruginosa: detected Rhinovirus/enterovirus: detected Marker kháng trong panel: not detected.	Căn nguyên thật hay colonization? Virus có liên quan bệnh cảnh? Cần nuôi cấy và AST?

Bệnh cảnh → Bệnh phẩm → Xét nghiệm → Diễn giải → Hành động

Nhiều target dương tính không đồng nghĩa nhiều tác nhân đang gây viêm phổi.

Đường hô hấp trên vs đường hô hấp dưới

NGOÁY MŨI HỌNG

Phù hợp với nhiều xét nghiệm virus hô hấp được thẩm định.

ĐÀM

Đường hô hấp dưới nếu lấy được mẫu đủ chất lượng.

DỊCH HÚT NỘI KHÍ QUẢN

Bệnh phẩm thường dùng ở người bệnh đặt ống nội khí quản.

BAL

Bệnh phẩm đường hô hấp dưới trong những chỉ định chọn lọc.

Không mặc nhiên coi BAL luôn tốt hơn; bệnh phẩm phải phù hợp assay và hội chứng.

Pneumonia panel bán định lượng cho biết điều gì?

MOLECULAR SIGNAL	KHÔNG TƯƠNG ĐƯƠNG	DIỄN GIẢI
Một số assay báo mức tín hiệu / khoảng bản sao nucleic acid của vi khuẩn.	Số vi khuẩn sống CFU/mL của nuôi cấy định lượng Tải vi khuẩn thực tế trong phổi	Mức cao có thể tăng nghi ngờ trong bối cảnh phù hợp, không tự động chẩn đoán VAP.

Các thông tin này bổ sung cho nhau nhưng không thay thế việc đánh giá người bệnh.

Molecular abundance ≠ vi khuẩn còn sống ≠ căn nguyên gây bệnh.

IDSA/ASM 2024 · Lewinski 2023

Nhiều target được phát hiện: đồng nhiễm hay tình cờ?

CÓ THỂ LÀ	CẦN ĐỐI CHIẾU
Đồng nhiễm thực sự	Hội chứng và hình ảnh học
Mang vi sinh vật không gây bệnh	Vị trí, chất lượng bệnh phẩm
Acid nucleic tồn lưu	Diễn tiến, dùng kháng sinh
Phát hiện không liên quan ca hiện tại	Nuôi cấy và bằng chứng bổ sung

Đối chiếu hai nhóm thông tin trước khi kết luận hoặc điều chỉnh xử trí.

Điều trị tác nhân gây bệnh, không điều trị mọi target dương tính.

Lewinski 2023 · IDSA/ASM 2024

Khi nào pneumonia panel hỗ trợ de-escalation?

1	2	3	4	5
BỆNH CẢNH	**BỆNH PHẨM**	**PHẠM VI PANEL**	**BẰNG CHỨNG KHÁC**	**ĐÁNH GIÁ LẠI**
Có phù hợp?	Lấy ở đâu? Chất lượng?	Tác nhân/gene nào đã khảo sát?	Nuôi cấy, AST, đáp ứng	Thu hẹp phổ khi có cơ sở

Kết quả từ từng bước phải được tích hợp vào quyết định lâm sàng tiếp theo.

Virus dương không loại trừ đồng nhiễm vi khuẩn; gene kháng âm không chứng minh nhạy.

ATS/IDSA 2016 · IDSA/ASM 2024

NHIỄM TRÙNG THẦN KINH TRUNG ƯƠNG

Nghi viêm não: chọn xét nghiệm phân tử nào?

NGƯỜI BỆNH	CÔNG CỤ XÉT NGHIỆM	KHI KHÓ CHẨN ĐOÁN
Nữ 45 tuổi Sốt, đau đầu, rối loạn tri giác Dịch não tủy gợi ý viêm; chưa rõ căn nguyên.	Targeted PCR Meningitis/encephalitis panel Huyết thanh học, nuôi cấy, mẫu ngoài CSF	Cân nhắc mNGS tại cơ sở phù hợp Đánh giá lại căn nguyên ngoài panel.

Bệnh cảnh → Bệnh phẩm → Xét nghiệm → Diễn giải → Hành động

Xét nghiệm được chọn theo hội chứng và nguy cơ; không trì hoãn điều trị cấp cứu.

IDSA/ASM 2024 · IDSA Encephalitis 2008

Targeted PCR hay meningitis/encephalitis panel?

TARGETED PCR	ME PANEL
Trả lời câu hỏi với một tác nhân nghi ngờ cụ thể. Ví dụ HSV PCR khi nghi viêm não do HSV.	Khảo sát đồng thời các tác nhân có trong panel. Âm tính không loại trừ nguyên nhân ngoài danh mục.

KHI NGHI HSV CAO: PCR âm sớm có thể cần xét nghiệm lại sau 3-7 ngày theo đánh giá chuyên môn.

Không cần lặp lại toàn bộ panel chỉ vì một tác nhân vẫn nghi ngờ.

HHV-6 DNA trong dịch não tủy: có phải viêm não?

MỘT KẾT QUẢ	NHỮNG KHẢ NĂNG	CẦN ĐÁNH GIÁ
HHV-6 DNA detected trong CSF PCR phát hiện trình tự virus, chưa tự xác định căn nguyên.	Viêm não do HHV-6 Tái hoạt hoặc DNA hiện diện không gây bệnh Chromosomally integrated HHV-6	Tình trạng miễn dịch Biểu hiện và MRI Tải lượng, mẫu khác, căn nguyên khác

Các thông tin này bổ sung cho nhau nhưng không thay thế việc đánh giá người bệnh.

ciHHV-6 có thể gây PCR dương mà không chứng minh virus đang nhân lên.

mNGS dịch não tủy: khi nào đi xa hơn PCR?

CÓ THỂ CÂN NHẮC

Nghi nhiễm trùng CNS còn cao
Xét nghiệm thường quy chưa có căn nguyên
Nghi tác nhân ngoài panel
Có labo và chuyên gia thẩm định

CẦN HIỂU GIỚI HẠN

Nhiễm bẩn và trình tự nền
Độ nhạy không đồng đều
Ảnh hưởng mẫu, thời điểm, độ sâu đọc
TAT, chi phí, diễn giải

Đối chiếu hai nhóm thông tin trước khi kết luận hoặc điều chỉnh xử trí.

mNGS bổ sung khả năng tìm tác nhân bất ngờ, không thay thế mọi xét nghiệm thường quy.

NHIỄM TRÙNG TIÊU HÓA

Khi nào cần chỉ định GI multiplex panel?

NÊN CÂN NHẮC

Tiêu chảy nặng, sốt hoặc phân máu
Suy giảm miễn dịch
Nghi ổ dịch / yêu cầu y tế công cộng
Tiêu chảy kéo dài với nguy cơ

KHÔNG LẠM DỤNG

Tiêu chảy cấp nhẹ tự giới hạn
Xét nghiệm rộng không có câu hỏi lâm sàng
Diễn giải tất cả target dương là bệnh

Đối chiếu hai nhóm thông tin trước khi kết luận hoặc điều chỉnh xử trí.

GI panel hữu ích khi đúng người bệnh và đúng câu hỏi cần trả lời.

C. difficile NAAT dương không tự động là CDI

NAAT PHÁT HIỆN	CHẨN ĐOÁN CDI CẦN
Gene liên quan khả năng sinh độc tố, tùy xét nghiệm. Có thể phát hiện chủng mang gene nhưng không gây bệnh.	Tiêu chảy mới, không giải thích được Thường ≥3 lần phân không thành khuôn/24 giờ Thuật toán xét nghiệm phù hợp và đánh giá triệu chứng

Đối chiếu hai nhóm thông tin trước khi kết luận hoặc điều chỉnh xử trí.

NAAT dương ≠ độc tố đang gây bệnh; không xét nghiệm người bệnh không phù hợp.

GI panel nhiều dương tính: cần làm gì?

NHÌN TARGET

1

Tác nhân nào được phát hiện?

SO BỆNH CẢNH

2

Ai phù hợp triệu chứng?

ĐÁNH GIÁ

3

Đồng nhiễm / mang / tồn lưu?

XÉT NGHIỆM TIẾP

4

Có cần nuôi cấy, AST?

Y TẾ CÔNG CỘNG

5

Có cần thông báo?

Kết quả từ từng bước phải được tích hợp vào quyết định lâm sàng tiếp theo.

Không điều trị mọi target; một số tác nhân cần phân lập để phục vụ giám sát dịch.

Chẩn đoán lao: từ nhuộm soi đến molecular rapid test

TRUYỀN THỐNG

Nhuộm soi AFB: nhanh nhưng giới hạn độ nhạy.
Nuôi cấy: chứng minh vi khuẩn sống, hỗ trợ DST.

→

MOLECULAR RAPID

NAAT được WHO khuyến cáo: phát hiện MTB complex sớm, kể cả một số trường hợp soi âm.

→

THÔNG TIN KHÁNG

Một số assay phát hiện marker kháng thuốc để định hướng xét nghiệm và điều trị sớm.

Các thông tin này bổ sung cho nhau nhưng không thay thế việc đánh giá người bệnh.

Rapid molecular testing đóng vai trò trung tâm nhưng không xóa bỏ nuôi cấy và đánh giá lâm sàng.

MTB detected + rifampicin resistance detected

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM	Ý NGHĨA	HÀNH ĐỘNG
MTB complex: DETECTED Rifampicin resistance marker: DETECTED Trong phạm vi assay đang sử dụng.	Bằng chứng phân tử hỗ trợ chẩn đoán lao Cảnh báo lao kháng rifampicin sớm.	Đánh giá chương trình lao Xét nghiệm kháng thuốc mở rộng KSNK và điều trị theo thuật toán WHO

Bệnh cảnh → Bệnh phẩm → Xét nghiệm → Diễn giải → Hành động

Kết quả này không cho biết toàn bộ kiểu nhạy cảm của các thuốc chống lao.

Lao ngoài phổi: PCR âm có loại trừ bệnh?

TẠI SAO CÓ THỂ ÂM?

Tải lượng vi khuẩn thấp
Bệnh phẩm ít hoặc không đại diện
Vi khuẩn phân bố không đều
Hiệu năng thay đổi theo vị trí bệnh

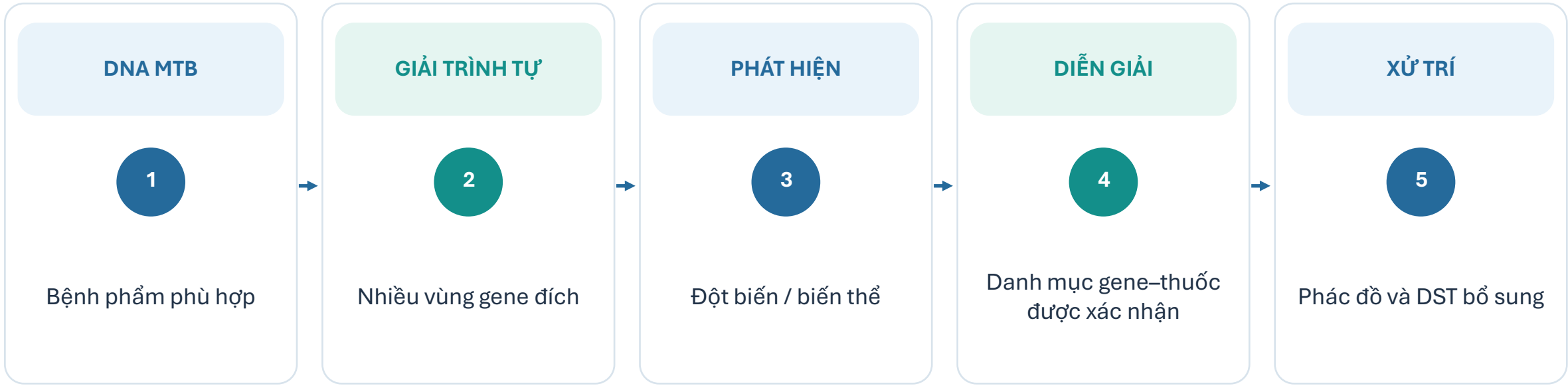
NẾU NGHI NGỜ VẪN CAO

Chọn mẫu và NAAT phù hợp
Bổ sung nuôi cấy, mô bệnh học
Đánh giá lâm sàng, hình ảnh học
Không dừng chẩn đoán chỉ vì PCR âm

Đối chiếu hai nhóm thông tin trước khi kết luận hoặc điều chỉnh xử trí.

Độ nhạy phụ thuộc vị trí nhiễm và bệnh phẩm, nhất là lao màng não.

Targeted NGS: từ đột biến đến dự đoán kháng thuốc lao



Kết quả từ từng bước phải được tích hợp vào quyết định lâm sàng tiếp theo.

Không phải mọi biến thể đều gây kháng; âm tính không chứng minh nhạy với mọi thuốc.

NHIỄM VIRUS

Anti-HCV dương: người bệnh còn nhiễm HCV không?

SÀNG LỌC

Anti-HCV: phản ánh phơi nhiễm / đáp ứng miễn dịch.

→

REFLEX RNA

Thực hiện HCV RNA trên mẫu phù hợp theo quy trình.

→

RNA DETECTED

HCV hiện hoạt

RNA NOT DETECTED

Không có RNA phát hiện trong mẫu

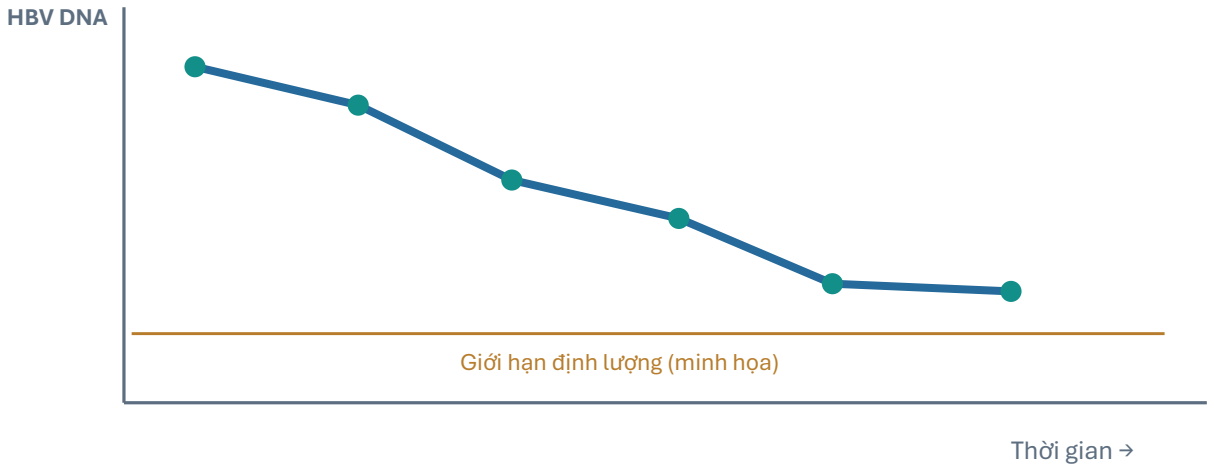
Diễn giải cùng thời điểm phơi nhiễm, tình trạng miễn dịch và mục đích chẩn đoán.

Anti-HCV dương có thể vẫn tồn tại sau khi virus đã được loại bỏ.

Anti-HCV dương không đủ chẩn đoán HCV đang hoạt động; cần HCV RNA.

HBV DNA: giá trị nằm ở xu hướng theo thời gian

XU HƯỚNG HBV DNA QUA CÁC LẦN ĐO



KHI DIỄN GIẢI

Đơn vị IU/mL; log10 IU/mL
Giới hạn định lượng
Nhiều thời điểm đo
Phối hợp ALT, diễn tiến và điều trị

Cùng một xét nghiệm, xu hướng lặp lại có ý nghĩa hơn một kết quả đơn lẻ.

Không kết luận thất bại điều trị từ một giá trị bất thường chưa được kiểm tra.

HIV RNA và CMV DNA: đều là viral load, khác mục tiêu

HIV RNA

Đánh giá mức virus huyết tương
Theo dõi đáp ứng điều trị ARV
Đọc theo ngưỡng và mục tiêu của hướng dẫn HIV

CMV DNA

Đánh giá DNAemia trong nhóm nguy cơ
Mẫu huyết tương hay máu toàn phần rất quan trọng
Ngưỡng can thiệp tùy nguy cơ, assay và chương trình ghép

ĐIỂM CẦN NHỚ: CMV DNAemia không tự chứng minh bệnh CMV ở cơ quan; không có ngưỡng điều trị CMV chung mọi trung tâm.

Không chuyển ngưỡng viral load từ virus này sang virus khác.

Nghi nấm xâm lấn: PCR có đủ chẩn đoán?

BỆNH CẢNH	BẰNG CHỨNG CẦN CÓ	SHPT BỔ SUNG
Bệnh bạch cầu cấp · giảm bạch cầu hạt kéo dài Sốt dai dẳng · CT ngực có tổn thương dạng nốt.	Hình ảnh học + nguy cơ Soi, nuôi cấy và mô bệnh học khi phù hợp Galactomannan / β-D-glucan theo chỉ định	Aspergillus PCR hoặc xét nghiệm nấm khác Diễn giải theo bệnh phẩm và assay.

Bệnh cảnh → Bệnh phẩm → Xét nghiệm → Diễn giải → Hành động

PCR nấm là một mảnh ghép, không tự khẳng định nấm xâm lấn.

Aspergillus PCR, Pneumocystis PCR và fungal sequencing

ASPERGILLUS PCR

Có DNA Aspergillus trong bệnh phẩm đã khảo sát?
Không tự chứng minh aspergillosis xâm lấn.

→

PNEUMOCYSTIS PCR

Có DNA P. jirovecii?
Cần phân biệt nhiễm bệnh và colonization theo bệnh cảnh.

→

FUNGAL ITS / 18S

Phát hiện hoặc định danh trình tự nấm theo kỹ thuật.
Không mặc nhiên cho biết kháng thuốc.

Các thông tin này bổ sung cho nhau nhưng không thay thế việc đánh giá người bệnh.

Phát hiện DNA nấm ≠ bệnh nấm xâm lấn; cần bằng chứng tích hợp.

NAAT trong STI: đúng site, đúng test, đúng time

SINH DỤC

Mẫu âm đạo/cổ tử cung hoặc nước tiểu đầu dòng khi phù hợp.

TRỰC TRÀNG

Lấy mẫu khi có chỉ định theo vị trí phơi nhiễm và assay.

HẦU HỌNG

Xét nghiệm theo vị trí phơi nhiễm và phạm vi thẩm định.

SAU ĐIỀU TRỊ

NAAT quá sớm có thể thấy acid nucleic tồn lưu; nghi lậu kháng cần nuôi cấy/AST.

Âm tính ở một vị trí không loại trừ STI tại vị trí khác.

Sinh học phân tử ký sinh trùng: khi nào hữu ích?

PHÁT HIỆN / ĐỊNH DANH

Giardia, Cryptosporidium, Entamoeba spp. và các tác nhân theo assay.

→

PHÂN BIỆT LOÀI

Hỗ trợ phân biệt E. histolytica gây bệnh với E. dispar bằng target đặc hiệu.

→

KẾT HỢP

Chọn bệnh phẩm đúng; xem chất bảo quản tương thích; phối hợp soi, kháng nguyên, huyết thanh học.

Các thông tin này bổ sung cho nhau nhưng không thay thế việc đánh giá người bệnh.

Molecular parasitology bổ sung độ phân giải, không thay thế mọi phương pháp truyền thống.

Từ gene kháng thuốc đến quyết định điều trị

GENOTYPE	Gene hoặc biến thể được phát hiện	blaNDM · mecA
↓		
CƠ CHẾ KHÁNG	Enzyme · thay đổi đích · giảm tính thấm	Tác động sinh học
↓		
PHENOTYPE / AST	MIC hoặc vòng vô khuẩn → S / I / R	Theo chuẩn CLSI/EUCAST
↓		
QUYẾT ĐỊNH LÂM SÀNG	Thuốc · ổ nhiễm · liều · PK/PD · người bệnh	Điều trị cá thể hóa

Gene kháng là một lớp bằng chứng; không tự động cho biết toàn bộ MIC hay đáp ứng điều trị.

CLSI M100, 36th ed. 2026 · EUCAST v16.1 · Samuelsen et al. 2026

Gram dương: mecA/mecC & vanA/vanB thay đổi đích tác động

S. aureus: mecA / mecC

PBP thông thường → PBP2a / PBP2c



β-lactam gắn tốt



Ái lực thấp với nhiều β-lactam

Thay đổi protein đích → phenotype kháng methicillin

Enterococcus: vanA / vanB

D-Ala–D-Ala → D-Ala–D-Lac



Glycopeptide gắn đích phù hợp



Gắn đích giảm → kháng có thể xuất hiện

Gene vanA/vanB không tương ứng một MIC cố định

Giá trị dự đoán của marker kháng phải gắn với đúng tác nhân, đúng assay và AST.

Kháng carbapenem: có hoặc không có carbapenemase

CÓ CARBAPENEMASE

Enzyme thủy phân carbapenem

KPC (A) · NDM / VIM / IMP (B)
OXA-48-like, một số OXA ở Acinetobacter (D)

Kháng sinh bị bất hoạt

KHÔNG DO CARBAPENEMASE

MẤT / GIẢM PORIN	Thuốc đi vào ít hơn
ESBL / AmpC	Kết hợp giảm tính thấm
EFFLUX	Thuốc bị đẩy ra ngoài

Carbapenem-resistant ≠ carbapenemase-producing; gene panel âm tính ≠ nhạy carbapenem.

PCR gene âm tính nhưng meropenem kháng: có mâu thuẫn?

CARBAPENEMASE PANEL

blaKPC / blaNDM / blaVIM

blaIMP / blaOXA-48-like

NOT DETECTED

PHENOTYPIC AST

Klebsiella pneumoniae · máu

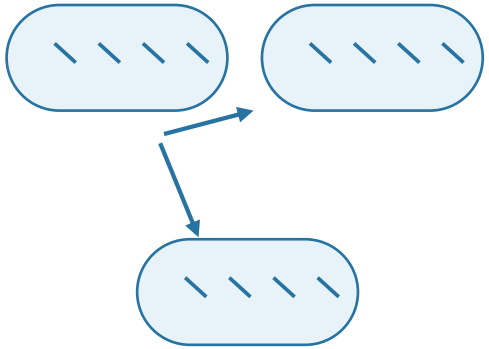
MEROPENEM: R

Có thể do cơ chế ngoài panel, phối hợp ESBL/AmpC + porin hoặc sai lệch cần xác minh.

Hai kết quả có thể đều đúng: PCR chỉ xét target, AST đo kiểu hình của vi khuẩn.

Clone - plasmid - gene module: cái gì đang lan truyền?

CLONE



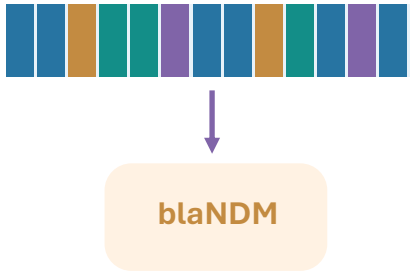
Lan cả dòng vi khuẩn

PLASMID



Trao đổi DNA giữa vi khuẩn

GENE MODULE



Di chuyển cấu trúc mang gene

Đơn vị lan truyền có thể là cả clone, một plasmid hoặc một cấu trúc mang gene kháng.

1 nghiên cứu Singapore: liên kết clone và plasmid

NGHIÊN CỨU CPE TẠI SINGAPORE (4,7 NĂM)

1.215 isolate CPE · 779 người bệnh thu nhận CPE



CLONE	PLASMID	CHƯA LIÊN KẾT
327 người bệnh · 42,0%	349 người bệnh · 44,8%	103 người bệnh · 13,2%

42,0% và 44,8% là phân loại lây truyền suy đoán của một nghiên cứu, không phải tỷ lệ chung của bệnh viện.

Marimuthu K, et al. Nat Commun. 2022;13:3054 · DOI:10.1038/s41467-022-30637-5

16S rRNA gene sequencing: hỗ trợ khi nuôi cấy khó

GENE MÃ HÓA 16S rRNA CỦA VI KHUẨN



Vùng bảo tồn

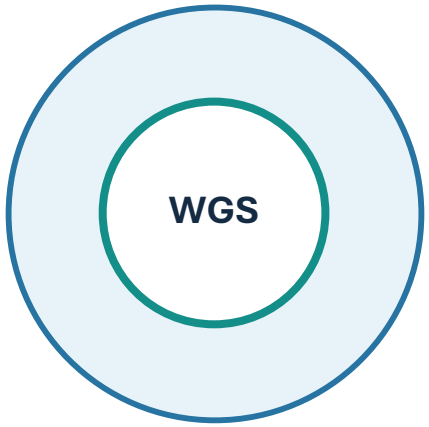
Vùng biến thiên giúp phân biệt

MẪU	KHUẾCH ĐẠI	GIẢI TRÌNH TỰ	SO SÁNH	DIỄN GIẢI
Mô van tim / mô sâu	DNA gene 16S	Đọc đoạn trình tự	Cơ sở dữ liệu	Định danh có giới hạn

16S gene sequencing nhận diện DNA vi khuẩn; không phải xét nghiệm tìm mọi tác nhân hay cung cấp AST.

WGS: từ một isolate đến nhiều lớp thông tin

MỘT ISOLATE



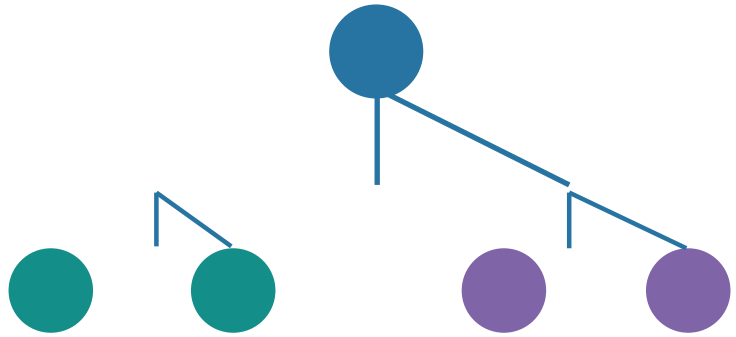
ĐỊNH DANH	Loài · ST · lineage
KHÁNG THUỐC	Gene · biến thể
ĐỘC LỰC	Một số determinant
LIÊN QUAN	cgMLST · SNP
PLASMID	Cấu trúc khi đủ dữ liệu

WGS cung cấp độ phân giải di truyền cao, nhưng không tự động suy ra toàn bộ MIC hoặc đường lây.

Samuelsen et al. Clin Microbiol Infect. 2026 · Doll et al. 2024

Lineage, clone và ST: ba thuật ngữ cần phân biệt

LINEAGE / CLONE



Nguồn gốc tiến hóa chung; phạm vi tùy phương pháp

SEQUENCE TYPE (MLST)

Ví dụ: tổ hợp allele của 7 locus

2	5	1	3	4	8	7

Cùng ST ≠ cùng ổ dịch gần đây

ST là nhãn kiểu allele - cùng ST không đủ kết luận cùng ổ dịch hay lây gần đây.

Từ MLST đến cgMLST & SNP: độ phân giải tăng dần

MLST / ST

Một số locus
Nhãn ST

7 locus minh họa

→

cgMLST

Nhiều locus genome lõi
Khoảng cách allele

Hàng trăm–nghìn locus

→

SNP

Khác biệt nucleotide
Pipeline được chuẩn hóa

Nhiều vị trí nucleotide

Độ phân giải tăng, nhưng không có ngưỡng SNP/allele chung để chứng minh lây trực tiếp.

Khoảng cách allele hoặc SNP phải đặt trong phương pháp, bối cảnh và mật độ lấy mẫu - không có ngưỡng chung.

ĐIỀU TRA DỊCH

Ba người bệnh ICU cùng genomic cluster: ai lây cho ai?

NGƯỜI BỆNH A



K. pneumoniae
Cùng ST · cùng cluster

NGƯỜI BỆNH B



K. pneumoniae
Cùng ST · cùng cluster

NGƯỜI BỆNH C



K. pneumoniae
Cùng ST · cùng cluster

Cần biết thêm: tầm soát lúc nhập viện · di chuyển giường/khoa · thời gian tiếp xúc · nguồn chung · ca chưa lấy mẫu

Genome gần nhau hỗ trợ giả thuyết liên kết dịch tễ, nhưng không chứng minh chiều lây trực tiếp.

Bốn nguyên tắc chống suy luận quá mức từ WGS

FIRST POSITIVE

≠ NGÀY THU NHẬN

Phát hiện đầu tiên không phải lúc mắc

SAME CLONE

≠ LÂY TRỰC TIẾP

Có thể có nguồn chung hoặc trung gian

INDEX CASE

≠ NGUỒN LÂY

Ca phát hiện đầu tiên không chắc là nguồn

KHÔNG THẤY LIÊN KẾT

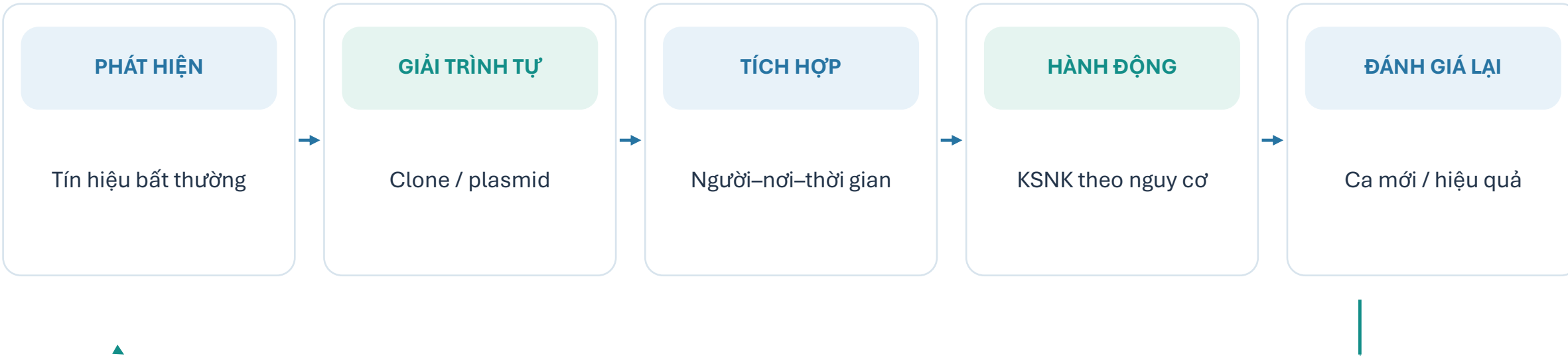
≠ KHÔNG CÓ LÂY

Phụ thuộc mật độ và chất lượng lấy mẫu

WGS chỉ mô tả các isolate đã được lấy mẫu; kết luận lây truyền phải tương xứng bằng chứng.

Doll et al. Curr Infect Dis Rep. 2024 · CDC MDRO Containment 2024

Vòng lặp genomic surveillance & kiểm soát nhiễm khuẩn



Sequence → Integrate → Act → Reassess; không chờ WGS mới bắt đầu phòng ngừa cần thiết.

Năm điểm quan trọng về dịch tễ học phân tử

Gene kháng	≠ toàn bộ AST
Gene âm tính	≠ nhạy thuốc
Cùng ST	≠ cùng ổ dịch
Cùng clone	≠ lây trực tiếp
WGS + dịch tễ	→ KSNK tốt hơn

Chọn đúng xét nghiệm – Hiểu đúng bằng chứng – Hành động đúng vì người bệnh.

6 KEY CONCEPT

CÂU HỎI LÂM SÀNG

Bắt đầu từ người bệnh, không bắt đầu từ danh mục xét nghiệm.

ĐÚNG MẪU - ĐÚNG LÚC

Đúng bệnh phẩm, đúng thời điểm và đúng phạm vi thẩm định.

PHÁT HIỆN ≠ GÂY BỆNH

DNA/RNA dương tính chưa chứng minh tác nhân sống hoặc đang gây bệnh.

HIỂU GIỚI HẠN ASSAY

Ct ≠ viral load; âm tính panel ≠ loại trừ mọi căn nguyên.

GENE ≠ TOÀN BỘ AST

Kết hợp gene kháng, kiểu hình, PK/PD và đặc điểm người bệnh.

WGS ≠ LÂY TRỰC TIẾP

Liên quan di truyền phải đi cùng người – nơi – thời gian.

Thông điệp xuyên suốt: CHỌN ĐÚNG XÉT NGHIỆM → HIỂU ĐÚNG KẾT QUẢ → HÀNH ĐỘNG ĐÚNG.

Tóm tắt: 5 phần - 1 tư duy chung

I	**TỪ NHU CẦU LÂM SÀNG** Đặt câu hỏi đúng: cần biết điều gì để chăm sóc người bệnh?
II	**NỀN TẢNG CÔNG NGHỆ** Hiểu PCR, qPCR, Ct/Cq, LoD-LoQ, multiplex, sequencing.
III	**DIAGNOSTIC STEWARDSHIP** Chỉ định hợp lý -đọc đúng kết quả dương, âm và giới hạn.
IV	**ỨNG DỤNG THEO HỘI CHỨNG** Sepsis, VAP, CNS, tiêu hóa, lao, virus, nấm và STI.
V	**KHÁNG THUỐC & DỊCH TỄ GENOME** Gene kháng - AST - WGS - điều tra dịch - KSNK.

TỪ PHÁT HIỆN TÁC NHÂN → TÍCH HỢP BẰNG CHỨNG → QUYẾT ĐỊNH TỐT HƠN CHO NGƯỜI BỆNH.

Thông tin liên hệ

TS BS. HUỲNH MINH TUẤN

Trưởng Bộ môn Vi sinh-Ký sinh, Trường Y, Đại Học Y Dược TPHCM
Trưởng Khoa Kiểm soát nhiễm khuẩn, Bệnh Viện Đại Học Y Dược TPHCM

Cell: **+84 90 934 9918**

Email: **huynhtuan@ump.edu.vn**

KẾT NỐI - TRAO ĐỔI - HỢP TÁC TRONG VI SINH LÂM SÀNG VÀ KIỂM SOÁT NHIỄM KHUẨN.

Chân thành cảm ơn

Quý Đồng nghiệp đã lắng nghe



TS BS. Huỳnh Minh Tuấn