ỨNG DỤNG KỸ THUẬT PCR ĐA MỒI TRONG CHẨN ĐOÁN CÁC CĂN NGUYÊN GÂY NHIỄM TRÙNG ĐƯỜNG HÔ HẤP Ở TRẺ EM TẠI BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG

Phùng Thị Bích Thủy, Nguyễn Thanh Phúc, Trần Thị Sinh, Trần Thanh Tú
Bệnh viện Nhi Trung ương

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: *Nhiễm khuẩn hô hấp cấp tính là bệnh phổ biến trên toàn thế giới với tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong đứng hàng đầu trong các bệnh nhiễm khuẩn cấp ở trẻ em. Căn nguyên gây nhiễm trùng đường hô hấp chủ yếu là virus. Tuy nhiên việc xác định các căn nguyên gây bệnh bằng các phương pháp truyền thống vẫn còn nhiều hạn chế.* ***Mục tiêu:*** *Áp dụng phương pháp sinh học phân tử PCR đa mồi trong chẩn đoán các căn nguyên virus gây nhiễm trùng đường hô hấp tại Bệnh viện Nhi Trung ương.* ***Phương pháp:*** *Nghiên cứu mô tả tiến cứu 194 trẻ có độ tuổi từ 2 tháng đến 2 tuổi điều trị tại khoa Điều trị tự nguyện A, Bệnh viện Nhi Trung ương với chẩn đoán nhiễm trùng đường hô hấp, xác định bằng kỹ thuật PCR đa mồi từ tháng 7/2012 đến tháng 6/2013.* ***Kết quả:*** *Áp dụng kỹ thuật PCR đa mồi phát hiện được 143 bệnh nhân dương tính chiếm 73,7%. Trong đó 67,8% trường hợp chỉ nhiễm 1 loại virus và 32,2% trường hợp nhiễm từ 2 loại virus trở lên. Lứa tuổi hay nhiễm virus đường hô hấp nhất là nhóm trẻ từ 2 đến 5 tháng tuổi. RSV thường gặp nhất vào mùa thu (27/73 trường hợp) và đạt đỉnh vào mùa đông (28/73 trường hợp) trong khi Rhinovirus đạt đỉnh vào mùa thu (22/63) nhưng lại giảm thấp trong mùa đông (10/63). Ngoài ra Parainfluenza và Adenovirus cùng thường tăng cao vào mùa thu.* ***Kết luận:*** *Áp dụng kỹ thuật PCR đa mồi 18 loại virus đường hô hấp cho thấy độ nhạy, độ đặc hiệu cao, đồng thời rút ngắn được thời gian và có thể áp dụng trong xét nghiệm thường quy tại bệnh viện để tăng khả năng phát hiện căn nguyên virus trong nhiễm trùng hô hấp ở trẻ em.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm khuẩn hô hấp cấp tính là bệnh phổ biến trên toàn thế giới với tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong đứng hàng đầu trong các bệnh nhiễm khuẩn cấp ở trẻ em [1,2].

Theo số liệu của Tổ chức Y tế thế giới (TCYTTG) (2004), hàng năm tỷ lệ trẻ tử vong do viêm phổi chiếm gần 1/5 số trẻ tử vong trên toàn thế giới. Ở châu Âu tỷ lệ viêm phổi chiếm từ 30 đến 40 trường hợp/1.000 trẻ/năm [3].

Tại Việt Nam, theo thống kê của chương trình nhiễm khuẩn hô hấp cấp tính (NKHHCT) trung bình mỗi năm một trẻ có thể mắc nhiễm khuẩn hô hấp cấp từ 3-5 lần. Theo báo cáo tình hình bệnh tật trẻ em tại Bệnh viện Nhi Trung ương (1995-2004), tỷ lệ Bệnh nhi NKHHCT chiếm 24 % tổng số bệnh nhân nội trú. Tỷ lệ tử vong do viêm phế quản phổi đứng đầu trong các bệnh về hô hấp (75%), chiếm 21% so với tổng số tử vong chung ở trẻ em [1,3].

Căn nguyên gây viêm đường hô hấp ở trẻ em

rất đa dạng: virus, vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng. Các nghiên cứu (NC) gần đây cho thấy, ở các nước phát triển căn nguyên gây bệnh VPQP chủ yếu là do virus *(virus cúm, á cúm, hợp bào hô hấp, Rhinovirus, Enterovirus, Adenovirus.v.v.)* chiếm 80-90%. Ngược lại tại các nước đang phát triển, vi khuẩn vẫn là nguyên nhân quan trọng gây nhiễm khuẩn hô hấp cấp tính ở trẻ em, chiếm 75% [4] .

Hiện nay có nhiều phương pháp xác định các căn nguyên virus gây bệnh trong viêm đường hô hấp truyền thống như nuôi cấy virus, test huyết thanh, miễn dịch huỳnh quang và gần đây kỹ thuật PCR được áp dụng rộng rãi cho độ nhạy, độ đặc hiệu và rút ngắn được thời gian chẩn đoán hơn so với các phương pháp khác tuy nhiên phương pháp này chỉ làm riêng lẻ cho từng loại virus. Việc chẩn đoán sớm các căn nguyên virut sẽ làm hạn chế được việc sử dụng kháng sinh không cần thiết cho bệnh nhân và nâng cao hiệu quả điều trị cũng như giảm chi phí điều trị.

Kỹ thuật PCR đa mồi xTAG là một kỹ thuật mới, hiện đại có thể phát hiện cùng lúc được 18 căn nguyên virus gây bệnh đường hô hấp. Đây là kỹ thuật chưa được ứng dụng chẩn đoán ở bệnh viện nào ở Việt Nam. Chính vì vậy chúng tôi tiến hành đề tài nghiên cứu "Ứng dụng kỹ thuật PCR đa mồi trong chẩn đoán các căn nguyên gây nhiễm trùng đường hô hấp ở trẻ em tại Bệnh viện Nhi Trung ương", với mục tiêu: *có thể đưa kỹ thuật này vào ứng dụng trong xét nghiệm chẩn đoán thường quy tại bệnh viện.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 7/2012 đến tháng 6/2013 với bệnh phẩm dịch tỵ hầu của 194 bệnh nhi có độ tuổi từ 2 tháng đến 2 tuổi được chẩn đoán nhiễm trùng hô hấp dưới cấp tính nhập viện điều trị tại khoa Tự nguyện A - Bệnh viện Nhi Trung ương.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả tiến cứu.

Ứng dụng kỹ thuật PCR đa mồi 18 virus để xác định căn nguyên gây NTHHCT tại khoa Nghiên cứu Sinh học phân tử các bệnh truyền nhiễm - Bệnh viện Nhi Trung ương:

- Tách chiết để thu nhận RNA/DNA của các căn nguyên và người trên máy tách chiết tự động MagNA Pure 2.0 của hãng Roche.

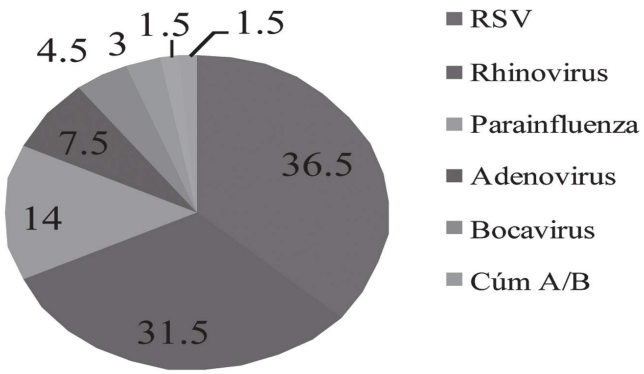
- Thực hiện kỹ thuật PCR đa mồi theo kit xTAG® Respiratory Viral Panel (RVP) FAST của Abbott xác định các căn nguyên.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tỷ lệ nhiễm virus trong nhóm trẻ NTHHCT từ 2 tháng - 2 tuổi

Nghiên cứu được tiến hành với 194 những bệnh nhân nhiễm trùng hô hấp dưới cấp tính từ 2 tháng đến 2 tuổi nhập viện điều trị với tuổi trung bình là 9,2 ± 6,56 tháng, tỷ lệ nam/nữ là 1,99/1. Số bệnh nhân có kết quả xét nghiệm virus dương tính bằng kỹ thuật PCR đa mồi là 143 bệnh nhân chiếm 73,7%. Trong đó 67,8% trường hợp chỉ nhiễm 1 loại virus và 32,2% trường hợp nhiễm từ 2 loại virus trở lên.

Trên biểu đồ 1 chúng tôi thấy, tỷ lệ các loại virus phân lập được từ đường hô hấp *RSV* thường gặp nhất (36,5%), tiếp đến là *Rhinovirus* (31,5%), *Parainfluenza* (14%) và *Adenovirus* (7,5%).



Biểu đồ 1. Tỷ lệ các loại virus phân lập được

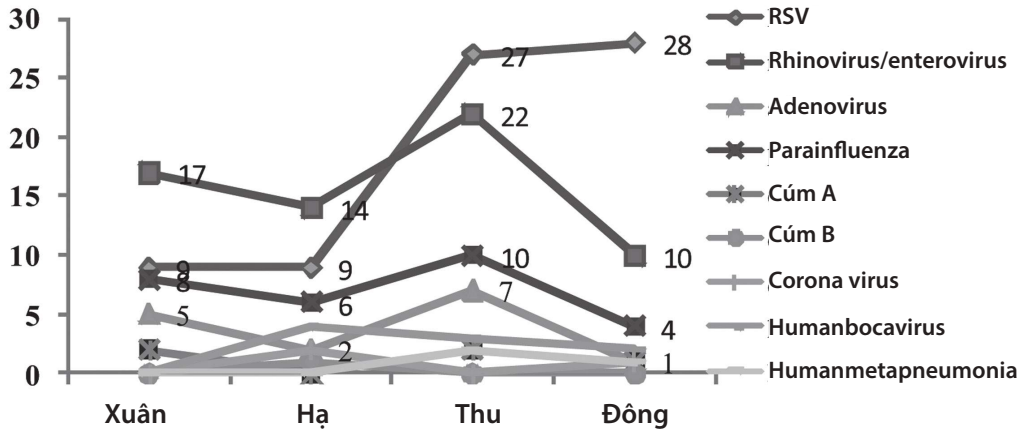
3.2 . Tỷ lệ nhiễm virus trong quần thể nghiên cứu ở giới tính và nhóm tuổi

Trong 194 mẫu bệnh phẩm xét nghiệm chúng tôi thấy tỷ lệ nhiễm virus RSV, *Rhinovirus/Enterovirus, Parainfluenza, Adenovirus* ở trẻ nam nhiều hơn trẻ nữ ngoại trừ một số virus chiếm tỷ lệ thấp.

Lứa tuổi hay nhiễm virus đường hô hấp dưới cao nhất là nhóm trẻ từ 2 đến 5 tháng tuổi: 92/200 bệnh nhân (chiếm 46%). Tỷ lệ nhiễm virus giảm dần khi tuổi tăng dần và thấp nhất ở nhóm tuổi 12 – 24 tháng. Trong đó nhóm *Rhinovirus* và *RSV* thường gặp nhất.

3.3. Đặc điểm căn nguyên virus nhiễm trùng đường hô hấp theo mùa

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, tỷ lệ RSV thường gặp nhất vào mùa thu (27/73 trường hợp) và đạt đỉnh vào mùa đông (28/73 trường hợp) trong khi Rhinovirus đạt đỉnh vào mùa thu (22/63) nhưng lại giảm thấp trong mùa đông (10/63). Ngoài ra *Parainfluenza* và *Adenovirus* cùng thường tăng cao vào mùa thu. Các loại virus khác ít khác biệt giữa các mùa trong năm. Kết quả được mô tả ở biểu đồ 2.



Biểu đồ 2. Tỷ lệ nhiễm virus trong quần thể nghiên cứu và giới tính

3.4. Mối liên quan giữa đồng nhiễm virus và vi khuẩn

Bảng 1. Mối liên quan giữa đồng nhiễm virus và vi khuẩn

	Virus dương tính	Virus âm tính	Tổng
Vi khuẩn (+)	23 (11,9%)	6 (3,1%)	29 (15%)
Vi khuẩn (-)	120 (61,9%)	45 (23,2%)	165 (85%)
Tổng	143 (73.7%)	51 (26.3%)	194 (100%)

Kết quả thể hiện mối liên quan giữa virus và vi khuẩn được thể hiện ở bảng 1 cho thấy, có 23/194 bệnh nhân (chiếm 11,9%) nhiễm đồng thời cả virus và vi khuẩn. Tỷ lệ nhiễm virus đơn độc là 120/194 bệnh nhân chiếm 61,9%.

Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm virus cao nhất ở nhóm được chẩn đoán là viêm tiểu phế quản là 68/143 bệnh nhân (chiếm tỷ lệ 47,6%) và trong nhóm này *RSV* chiếm tỷ lệ cao nhất 45/68 bệnh nhân (66,2%). Tỷ lệ virus phân lập dương tính thấp nhất trong nhóm viêm phế quản 22/143 bệnh nhân (16%). *RSV* là virus được phân lập dương tính nhiều nhất trong tổng số các loại virus 73/143 bệnh nhân (51,4%).

4. BÀN LUẬN

4.1. Tỷ lệ nhiễm virus trong NTHHDCT

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả ở biểu đồ 1 cho thấy có 143/194 trẻ NTHHDCT từ 2 tháng- 2 tuổi được xác định là nhiễm virus đường hô hấp, chiếm 73,7%. So sánh với các nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm virus trên dịch tỵ hầu ở trẻ dưới 5 tuổi của các tác giả khác như: Ou SY (2009) là 178/345 chiếm 51,6%, Preeti Bharaj (2009) là 106/301 chiếm 35,2%, Chun JK là 147/297 chiếm 49,5%, Gilles Guerrier (2012) là 491/1006 chiếm 48,8% [5,6,7,8]. Tỷ lệ phát hiện được virus trong NTHHDCT của chúng tôi là cao hơn so với các nghiên cứu khác trên thế giới có thể do đối tượng nghiên cứu của chúng tôi ở lứa tuổi nhỏ hơn và thời điểm chúng tôi lấy bệnh phẩm để phân lập virus cũng sớm hơn.

Kết quả trên biểu đồ 1 cũng cho thấy đa số bệnh nhân (67,8%) chỉ nhiễm 1 loại virus, còn lại là từ 2 loại virus trở lên (32,2%).

Theo kết quả nghiên cứu của Gilles Guerrier năm 2012 tại Campuchia cho thấy chỉ có 60/491 (12,2%) bệnh nhân NTHHDCT nhiễm từ 2 loại virus đường hô hấp dưới trở lên [7]. Chun JK năm 2009 tại Hàn Quốc cho thấy tỷ lệ đồng nhiễm virus (từ 2 loại virus trở lên) là 11,6% (17/147) [5]. Preeti Bharaj năm 2009 tại Delhi năm 2009 cho thấy có 20/106 bệnh nhân (chiếm 18,8%) đồng nhiễm virus [6]. Như vậy tỷ lệ nhiễm một loại virus chiếm đa số, đồng nhiễm virus chỉ chiếm tỷ lệ vừa phải. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi hoàn toàn tương đồng với các tác giả nghiên cứu trước đây.

Trong số các loại virus phân lập được từ đường hô hấp, *RSV* thường gặp nhất (36,5%), tiếp đến là *Rhinovirus* (31,5%), *Parainfluenza* (14%) và *Adenovirus* (7,5%). Theo nghiên cứu của Preeti Bharaj, Chun JK và Gilles Guerrier cho thấy RSV có tỷ lệ nhiễm cao nhất tiếp theo là *Rhinovirus, Parainfluenza, Adenovirus,* cúm A/B [5,6,7].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đối phù hợp với các kết quả nghiên cứu trên thế giới trong đó *RSV* thường chiếm tỷ lệ cao nhất ở các bệnh nhân NTHHDCT. Do đó ở những bệnh nhân nhi vào viện vì nhiễm NTHHCT nên đặt *RSV* là căn nguyên vi sinh nguy cơ hàng đầu.

4.2. Tỷ lệ nhiễm virus trong quần thể nghiên cứu ở giới tính và nhóm tuổi

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, tỷ lệ trẻ nam mắc NTHHDCT cao hơn hẳn trẻ nữ. Trong số những trẻ phân lập được virus dương tính thì tỷ lệ nam giới cũng cao hơn (66,4% và 33,6%). Theo J.K Chun nghiên cứu tại Hàn Quốc năm 2009 không có sự khác biệt về giới tính giữa các trẻ mắc NTHHDCT [5].

Với *RSV,* virus thường gặp trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ nam/nữ của trẻ nhiễm *RSV* là 1,81/1. Theo tác giả Đoàn Mai Thanh, năm 2006 tại khoa Hô Hấp Bệnh viện Nhi Trung ương, cũng nhận thấy tỷ lệ nhiễm *RSV* ở trẻ trai cao gấp 2,52 lần trẻ gái [10]. Hồ Chí Thanh, năm 2002 tại Bênh viện Nhi Đồng I, tỷ lệ này là 1,68/1 [11]. Phạm Minh Hồng, năm 2004 tại Bệnh viện Nhi Đồng II tỷ lệ là 1,88/1 [9]. Rietveld E, năm 2005 tại Netherlands tỷ lệ là 1,45/1 [12]. Như vậy, trẻ trai bị mắc *RSV* cao hơn hẳn trẻ gái. Nguyên nhân nam giới chiếm tỷ lệ cao hơn nữ giới chúng tôi chưa xác định được chính xác, tuy nhiên có thể yếu tố mất cân bằng giới tính trong xã hội Việt Nam hiện nay với tỷ lệ nam giới ngày càng tăng và đặc tính biệt trong số 194 trẻ từ 2 tháng đến 2 tuổi nhập viện vì NTHHDCT thì tỷ lệ nam cũng vượt trội hơn hẳn so với nữ (1,99/1).

Trong kết quả của chúng tôi, lứa tuổi hay nhiễm virus đường hô hấp nhất là nhóm trẻ từ 2 đến 5 tháng tuổi. Tỷ lệ nhiễm virus giảm dần khi tuổi tăng dần và thấp nhất ở nhóm tuổi 12 – 24 tháng. Trong đó nhóm *Rhinovirus* và *RSV* thường gặp nhất.

Theo tác giả Hồ Chí Thanh, năm 2002, tỷ lệ nhiễm *RSV* ở nhóm trẻ dưới 6 tháng là cao nhất chiếm 43% [11]. Phạm Minh Hồng, năm 2004, tỷ lệ nhiễm *RSV* cũng cao nhất ở trẻ dưới 6 tháng (86%) [9]. Đoàn Mai Thanh năm 2006, nhóm tuổi nhiễm *RSV* cao nhất là dưới 6 tháng tuổi là 53,1% [10]. Các nghiên cứu của tác giả nước ngoài cũng cho một cái nhìn tương tự: nghiên cứu của Hussey GD năm 2000, trẻ dưới 6 tháng là đối tượng mắc NTHHDCT do *RSV* là cao nhất [13].

Nhìn chung, trẻ dưới 1 tuổi thường gặp nhất và đặc biệt là trẻ từ nhóm tuổi 2 tháng đến dưới 5 tháng tuổi. Có thể giải thích điều này là do ở lứa tuổi này bản thân trẻ chưa có miễn dịch chủ động, chủ yếu do kháng thể từ mẹ truyền sang, lượng IgA trong dịch tiết trên bề mặt niêm mạc phế quản của trẻ còn chưa hoàn chỉnh nên khả năng chống lại các bệnh nhiễm trùng nói chung và virus nói riêng còn kém.

4.3. Đặc điểm căn nguyên vi sinh theo mùa

Trong nghiên cứu của chúng tôi, biểu đồ 2 chỉ ra rằng *RSV* thường gặp nhất vào mùa thu (27/73 trường hợp) và đạt đỉnh vào mùa đông (28/73 trường hợp) trong khi *Rhinovirus* đạt đỉnh vào mùa thu (22/63) nhưng lại giảm thấp trong mùa đông (10/63). Ngoài ra *Parainfluenza* và *Adenovirus* cũng thường tăng cao vào mùa thu. Ngoài các loại virus chính thường gặp ở trên, các loại virus khác do số lượng phân lập dương tính còn ít nên chưa thấy được sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm giữa các mùa trong năm.

Theo tác giả J.-K. Chun năm 2009, *RSV* được tìm thấy đỉnh điểm vào tháng 11 và tháng 12 (mùa đông) [5]. Preeti Bharaj năm 2009 chỉ ra tỷ lệ nhiễm *RSV* tăng cao vào cuối mùa thu và đạt đỉnh vào mùa đông [6], tỷ lệ nhiễm *Cúm A* tăng vào các tháng mùa đông và *Humametapneumovirus* tăng vào mùa xuân. Gilles Guerrier năm 2012 tại Campuchia chỉ ra rằng phân bố chung của virus đạt đỉnh vào mùa thu từ tháng 6 đến tháng 10 [7]. Riêng *RSV* thường gặp nhất ở cả hai mùa là mùa khô và mùa mưa, trong khi việc nhiễm *Parainfluenza* và *Rhinovirus* không theo mùa. *Humanmetapneumovirus* đạt đỉnh và mùa mưa. Như vậy kết quả của các tác giả khác trên

thế giới cũng tương tự kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Theo nghiên cứu của Hồ Chí Thanh, tỷ lệ nhiễm *RSV* cao nhất từ tháng 6 đến tháng 10, đặc biệt là tháng 7 và 8 [11]. Thời gian này tương ứng với mùa mưa của miền Nam. Miền Bắc nói chung và Hà Nội nói riêng thường gặp đợt dịch *RSV* muộn hơn vào mùa đông, vì mùa mưa ở đây thường không kéo dài trong khi vào mùa đông nhiệt độ ngoài trời hạ thấp trong khi độ ẩm thì cao dẫn đến tăng nguy cơ nhiễm lạnh và mắc NTHHDCT trong khi Miền Nam không có đặc tính thời tiết như trên. Theo tác giả Đoàn Mai Thanh, số bệnh nhân nhập viện NTHHDCT, nhiễm *RSV* rải rác tất cả các tháng trong năm từ tháng 8 đến tháng 10 mắc nhiều hơn và đỉnh cao là tháng 9 [10].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi rất phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả trong nước đặc biệt khu vực phía Bắc, có sai khác tuy nhiên không đáng kể với các tác giả phía Nam và nước ngoài. Nguyên nhân được cho là ở các nước khí hậu nhiệt đới, khi thời tiết chuyển mùa từ thu sang đông và mùa đông ẩm thấp thì người ta thấy rằng trong những tháng này, có sự song song về bệnh nhân bị NTHHDCT tăng cao, và hơn nữa tỷ lệ xác định được virus dương tính trong các bệnh nhân NTHHDCT cũng cao hơn hẳn.

4.4. Tính đồng nhiễm vi khuẩn trong nhóm nhiễm virus

Kết quả ở bảng 1, cho thấy, trong số 143 bệnh nhân phân lập virus dương tính (73,7%), đa số bệnh nhân nhiễm virus đơn độc là 120/194 bệnh nhân chiếm 61,9%.

Theo nghiên cứu của Đoàn Mai Thanh tại khoa Hô hấp bệnh viện Nhi trung ương năm 2006, tỷ lệ NTHHDCT do *RSV* có bội nhiễm vi khuẩn là 9,88% [10], như vậy trung bình 10 trẻ mắc NTHHDCT do virus *RSV* thì có một trẻ bội nhiễm thêm vi khuẩn, tương tự kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Điều này nói lên rằng hầu hết các trường hợp mắc NTHHDCT không có chỉ định sử dụng thuốc kháng sinh. Do vậy thực hành lâm sàng không nên dùng kháng sinh một cách hệ thống mà chỉ sử dụng kháng sinh khi có bằng chứng của nhiễm khuẩn thông qua xét nghiệm bạch cầu, CRP, procalcitonin và xét nghiệm cấy vi khuẩn dương tính để giảm nguy cơ kháng thuốc và nguy cơ tăng chi phí điều trị một cách không cần thiết.

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 194 bệnh nhân NTHHDCT từ 2 tháng đến 2 tuổi, chúng tôi đã xác định được 143 bệnh nhân nhiễm virus bằng kỹ thuật PCR đa mồi chúng tôi thu được kết quả như sau:

- 73,7% bệnh nhân nhiễm trùng hô hấp dưới cấp tính từ 2 tháng đến 2 tuổi có kết quả phân lập virus dương tính. Đa số bệnh nhân chỉ nhiễm 1 loại virus. Lứa tuổi hay nhiễm virus đường hô hấp nhất là nhóm trẻ từ 2 đến 5 tháng tuổi.

- *RSV* thường gặp nhất vào mùa thu (27/73 trường hợp) và đạt đỉnh vào mùa đông (28/73 trường hợp) trong khi *Rhinovirus* đạt đỉnh vào mùa thu (22/63) nhưng lại giảm thấp trong mùa Đông (10/63). Ngoài ra *Parainfluenza* và *Adenovirus* cùng thường tăng cao vào mùa thu.

Việc áp dụng kỹ thuật PCR đa mồi trong chẩn đoán 18 loại căn nguyên virus đường hô hấp có thể sử dụng thường quy tại bệnh viện để tăng khả năng phát hiện căn nguyên trong NTHHCT. Đây là kỹ thuật có độ nhạy, độ đặc hiệu cao, rút ngắn được thời gian sàng lọc chẩn đoán các căn nguyên virus gây nhiễm trùng đường hô hấp, mang lại hiệu quả trong điều trị cho bệnh nhi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ môn Nhi** (2000), "Nhiễm khuẩn hô hấp cấp tính", *Bài giảng Nhi khoa, Trường Đại học Y Hà Nội,* tr. 321 - 324.

2. **WHO (1994)**, "The management of Acute Respiratory Infection in children", Practical Guideline for outpatient care, *Geneva WHO,* pp. 26.

3. **WHO** (2004), "Who/Unicef joit statement: management of pneumonianin community senttings".

4. **WHO** (2007), "Acute Respiratory Infection in children"

5. **Chun JK, Kim HS, Cheong HM, Kim KS, Kang C.** (2009), "Establishing a surveillance network for severe lower respiratory tract infections in Korean infants and young children", *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.*

6. **Preeti Bharaj, Wayne M Sullender** (2009), "Respiratory viral infections detected by multiplex PCR among pediatric patients with lower respirstory tract infections seen at an urban hospital in Delhi from 2005- 2007", *Virology Journal.*

7. **Gilles Guerrier, MD.** (2012), "Acute viral lower respirsatory tract infections in Cambodian children: Clinical and epidemiologic characteristics".

8. **Ou SY, Lin GY.** (2009), "Viral pathogens of acute lower respiratory tract infection in hospitalized children from East Guangdong of China", *Article in Chinese.*

9. **Phạm Thị Minh Hồng** (2004), "Vai trò của virus hợp bào đường hô hấp trong viêm tiểu phế quản ở trẻ em và các yếu tố tiên lượng", *Luận án Tiến sĩ y học, Đại học Y Dược, TP Hồ Chí Minh.*

10. **Đoàn Mai Thanh** (2005), *"Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng nhiễm trùng đường hô hấp dưới cấp tính do virus hợp bào đường hô hấp tại khoa Hô hấp Bệnh viện nhi Trung ương từ 1/2005 – 9/2005",* Luận văn thạc sĩ y khoa, Trường Đại học Y Hà Nội.

11. **Hồ Chí Thanh** (2002), *"Đặc điểm viêm tiểu phế quản do virus hợp bào đường hô hấp ở trẻ từ 2 tháng tuổi đến 2 tuổi tại khoa Hô hấp Bệnh viện Nhi Đồng I"*, Luận án thạc sĩ y khoa, Trường Đại học Y dược TP Hồ Chí Minh.

12. **Rietveld, Vergouwe Y, Stryerberg EW, el al.** (2006), "Hospitalization for Respiratory syncytial virus infection in young children: Development of a Clinical Prediction Rule", *Pediatr Infect Dis J, 25,* pp.201-207.

13. **Hussey GD, Apolles P, et al.** (2000), "Respiratory syncytial virus pneumonia in the hospital setting: leng of stay, charges and mortality", *J Pediat Aug;* 137(2), pp.227-32.

ABSTRACT

APPLY MULTIPLEX PCR TO DIAGNOSIS OF PATHOGEN WHICH CAUSED RESPIRATORY INFECTIOUS DISEASE IN CHILDREN IN NATIONAL HOSPITAL OF PEDIATRICS

Background: Respiratory infectious disease are common disease in the world with incidence and mortality forefront of infectious disease in children. Pathogen of respiratory tract infections mainly viruses. However, determining the cause of the illness by the traditional method is still limited. **Aims:** Apply multiplex PCR to diagnosis pathogen which caused respiratory infectious disease in children in National Hospital of Pediatrics. **Method:** Analysis 194 children who from 2 months to 2 years old admitted General Pediatrics A Department, National Hospital of Pediatrics. Multiplex PCR were using during from July 2012 to June 2013. **Result:** Using multiplex PCR detected 73.7% positive patients, there are 67.8% infected with one of virus and 32.2% infected with more than 2 viruses. Age of children respiratory infected common from 2 to 5 months. The most common RSV fall (27/73 cases) and peaked in winter (28/73 cases) while Rhinovirus peaked in autumn (22/63), but lower in the winter (10/63). Parainfluenza and Adenovirus and generally higher in fall. **Conclusion:** Apply multiplex PCR technique to diagnosis of pathogen which caused respiratory infectious disease in children have sensitive, specific and short time and can be apply in routine test in hospital.