

Nghiên cứu

Đặc điểm màng biofilm vi khuẩn ở bệnh nhân viêm mũi xoang mạn trên kính hiển vi điện tử quét

Nguyễn Xuân Thành¹, Lê Tài Thế^{2*}, Phan Huy Hào¹, Tường Phi Vương¹, Cao Minh Thành², Nguyễn Thuỳ Trâm³, Đặng Anh Dũng^{2,4*}

¹Viện 69, Bộ Tư lệnh Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, Trường Đại học Y Hà Nội

³Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương

⁴Bệnh viện Thanh Nhàn

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): Lê Tài Thế; email: bsthelt07@gmail.com

Đặng Anh Dũng; email: danganhdung.hmu@gmail.com

Ngày nhận bài (Received): 03/05/2026; Ngày duyệt đăng (Accepted): 24/05/2026; Ngày xuất bản (Published): 10/08/2026

DOI:10.34071/jmp.2026.S-2.10

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định một số đặc điểm siêu cấu trúc của màng sinh học (biofilm) vi khuẩn trên niêm mạc mũi xoang ở bệnh nhân viêm mũi xoang mạn tính, qua đó góp phần làm rõ vai trò của biofilm trong cơ chế bệnh sinh và định hướng điều trị.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 11 mẫu niêm mạc mũi xoang của 11 bệnh nhân được chẩn đoán viêm mũi xoang mạn theo tiêu chuẩn EPOS 2020. Các mẫu được xử lý theo quy trình chuẩn và quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét ở độ phóng đại từ 1500 đến 5000 lần để đánh giá cấu trúc bề mặt và sự hiện diện của biofilm.

Kết quả: Biofilm được quan sát thấy ở 8/11 mẫu (72,7%), biểu hiện dưới dạng cấu trúc ba chiều phức tạp và không đồng nhất. Bề mặt niêm mạc bị tổn thương rõ rệt với tình trạng giảm, mất hoặc biến dạng lông chuyển, kèm theo sự tích tụ chất nhầy và mảnh vụn tế bào. Các vi khuẩn (hình cầu và hình que) phân bố dày đặc tỷ lệ 91%, được bao bọc trong lớp chất nền ngoại bào (EPS) dạng cấu trúc mạng lưới 3 chiều vô định hình. Sự liên kết chặt chẽ giữa vi khuẩn và EPS thể hiện đặc điểm siêu cấu trúc của biofilm trưởng thành.

Kết luận: Quy trình chuẩn bị mẫu mô mũi xoang viêm mạn tính cho hiển vi điện tử quét đã có thể giúp phát hiện sự hiện diện phổ biến của biofilm trên niêm mạc mũi xoang ở bệnh nhân viêm mũi xoang mạn với các đặc điểm siêu cấu trúc điển hình. Những phát hiện này góp phần làm sáng tỏ vai trò của biofilm trong bệnh sinh, đồng thời có ý nghĩa trong chẩn đoán, tiên lượng và định hướng các chiến lược điều trị nhắm trúng biofilm.

Từ khóa: Biofilm; viêm mũi xoang mạn tính; kính hiển vi điện tử quét.

Morphological features of bacterial biofilms in patients with chronic rhinosinusitis under scanning electron microscopy

Nguyen Xuan Thanh¹, Le Tai The^{1*}, Phan Huy Hao¹, Tuong Phi Vuong¹, Cao Minh Thanh², Nguyen Thuy Tram³, Dang Anh Dung^{2,4*}

¹Institute 69, Ho Chi Minh Mausoleum Command

²Hanoi Medical University Hospital, Hanoi Medical University

³National Institute of Hygiene and Epidemiology

⁴Thanh Nhan Hospital

Abstract

Objective: This study aimed to describe the morphological and ultrastructural characteristics of bacterial biofilms on the sinonasal mucosa in patients with chronic rhinosinusitis, thereby contributing to a better understanding of the role of biofilms in pathogenesis and treatment orientation.

Subjects and Methods: A cross-sectional descriptive study was conducted on 11 sinonasal mucosal specimens collected from 11 patients diagnosed with chronic rhinosinusitis according to the EPOS 2020 criteria. The specimens were processed using a standard protocol and examined under scanning electron microscopy at magnifications ranging from 1,500 to 5,000 × to evaluate surface structure and the presence of biofilms.

Results: Ultrastructural images revealed significant damage to the mucosal surface, including loss or

deformation of cilia, along with the accumulation of mucus and cellular debris. Biofilms were observed in 8 out of 11 samples (72.7%), presenting as complex and heterogeneous three-dimensional structures. The bacteria (spherical and rod-shaped) are densely distributed at a rate of 91%, enclosed within an amorphous three-dimensional extracellular matrix (EPS). The tight binding between the bacteria and EPS demonstrates the ultrastructural characteristics of the mature biofilm.

Conclusion: My procedure for preparing chronic sinus tissue samples for scanning electron microscopy in this report has enabled the detection of the widespread presence of biofilms on the nasal and sinus mucosa in patients with chronic rhinosinusitis, exhibiting typical ultrastructural features. These findings contribute to clarifying the role of biofilms in pathogenesis and are significant in diagnosis, prognosis, and guiding biofilm-targeted treatment strategies.

Keywords: *Bacteria biofilm; chronic rhinosinusitis; microflora; scanning electron microscopy.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm mũi xoang mạn (VMXM) là một bệnh lý viêm mạn tính của niêm mạc đường hô hấp trên và các xoang cạnh mũi, là một trong những bệnh mạn tính phổ biến nhất trên toàn thế giới [1], ảnh hưởng đến khoảng 16% dân số toàn cầu. Bệnh không chỉ gây suy giảm nghiêm trọng chất lượng cuộc sống mà còn tạo ra gánh nặng kinh tế lớn cho hệ thống y tế [2]. Theo tiêu chuẩn EPOS 2020, VMXM được xác định khi có hai hoặc nhiều triệu chứng, trong đó có một triệu chứng chính phải là ngạt mũi hoặc chảy dịch mũi (chảy dịch mũi trước/sau), kéo dài từ 12 tuần trở lên. Ngoài ra, có thể xảy ra đau hoặc tức nặng vùng mặt và giảm/mất khứu giác. Tình trạng này có thể có hoặc không có polyp mũi. Mặc dù các phương pháp điều trị hiện nay như kháng sinh, corticosteroid và phẫu thuật nội soi mũi xoang đã có nhiều tiến bộ nhưng một tỷ lệ lớn bệnh nhân vẫn gặp tình trạng diễn biến dai dẳng, tái phát nhiều lần hoặc đáp ứng kém với điều trị. Điều này cho thấy cơ chế bệnh sinh của VMXM rất phức tạp và chưa thực sự được làm sáng tỏ.

Trong những năm gần đây, màng sinh học vi khuẩn (biofilm) được xem là một yếu tố trung tâm trong cơ chế bệnh sinh của VMXM [3]. Biofilm là một cộng đồng vi sinh vật có tổ chức, bám dính lên bề mặt niêm mạc và được bao bọc bởi lớp chất nền ngoại bào (Extracellular polymeric substances - EPS). Lớp EPS này là một hỗn hợp polymer sinh học do vi khuẩn tiết ra gồm thành phần chính là polysaccharide, protein, lipid và DNA ngoại bào, tạo nên khung cấu trúc giúp vi khuẩn bám dính vào bề mặt nhằm giữ nước, chất dinh dưỡng và bảo vệ vi khuẩn trước sự tấn công của hệ miễn dịch và các chất kháng sinh. Do đó, sự hiện diện của biofilm được cho là đóng góp chủ yếu vào tính dai dẳng và bản chất khó điều trị của bệnh [1, 4]. Các nghiên cứu cho thấy tỷ lệ xuất hiện của biofilm ở bệnh nhân VMXM dao động từ 42 - 80% và liên quan chặt chẽ với mức độ nặng, tính kháng trị và nguy cơ tái phát của bệnh [2]. Về mặt bệnh sinh, biofilm đóng vai trò như một “ổ chứa vi khuẩn mạn tính”, liên tục kích hoạt phản ứng viêm và gây tổn thương

niêm mạc kéo dài. Cấu trúc đặc thù của lớp EPS và trạng thái chuyển hóa thấp của chúng, kết hợp khả năng thay đổi biểu hiện gen của vi khuẩn bên trong biofilm giúp chúng tăng khả năng đề kháng với kháng sinh mạnh hơn từ 10 đến 1000 lần so với dạng tự do. Ngoài ra, sự hiện diện của biofilm còn gây rối loạn chức năng lông chuyển và cản trở hệ thống thanh thải niêm dịch ở niêm mạc, tạo nên vòng xoắn bệnh lý viêm mạn tính khó kiểm soát [1, 3].

Hiện nay, việc nghiên cứu, phát hiện màng biofilm có thể được thực hiện thông qua các kỹ thuật hiện đại như kính hiển vi điện tử quét (scanning electron microscopy - SEM), kính hiển vi điện tử truyền qua (scanning electron microscopy - TEM), kính hiển vi đồng tiêu quét laser (confocal laser scanning microscope - CLSM) kết hợp với nhuộm tế bào sống/ chết hoặc lai huỳnh quang tại chỗ (fluorescent in situ hybridization - FISH) [1]. Các kỹ thuật này cho phép quan sát trực tiếp cấu trúc ba chiều của biofilm với độ phân giải cao bao gồm sự sắp xếp vi khuẩn, hệ thống kênh dẫn và thành phần EPS [5]. Việc xác định đặc điểm siêu cấu trúc của biofilm không chỉ mang ý nghĩa khoa học mà còn có giá trị lâm sàng quan trọng: (i) Đối với chẩn đoán, nhận diện sự hiện diện của vi khuẩn mà các phương pháp nuôi cấy thông thường thường bỏ sót; (ii) Đối với tiên lượng, đánh giá mức độ nặng và khả năng tái phát; (iii) Đối với điều trị, định hướng các chiến lược mới như phá vỡ cấu trúc EPS hoặc phối hợp liệu pháp sinh học nhằm tối ưu hóa hiệu quả điều trị, hướng tới cá thể hoá điều trị.

Kính hiển vi điện tử quét là một trong những phương pháp hiện đại nhất hiện nay, cho phép quan sát trực quan và đánh giá hiệu quả cấu trúc biofilm ở độ phân giải siêu vi [6]. Tuy nhiên, đặc tính sinh học của biofilm gây ra nhiều thách thức trong quá trình xử lý mẫu như lớp màng dễ bị rửa trôi, trong khi các thành phần vi khuẩn dễ bị biến dạng hoặc móp méo dưới tác động của các tác nhân hóa lý.

Tại Việt Nam, hiện chưa có nghiên cứu nào tập trung vào việc định danh và mô tả đặc điểm biofilm trên niêm mạc mũi xoang bằng kỹ thuật SEM. Do đó,

việc nghiên cứu hình thái siêu cấu trúc của biofilm ở niêm mạc mũi xoang là thực sự cần thiết, giúp làm sáng tỏ cơ chế bệnh sinh và nâng cao hiệu quả quản lý viêm mũi xoang mạn trong thực hành lâm sàng.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm hoàn thiện quy trình xử lý mẫu mô mũi xoang viêm mạn tính phục vụ cho kỹ thuật SEM, phát hiện sự hiện diện và xác định đặc điểm hình thái siêu cấu trúc của biofilm ở niêm mạc mũi xoang của bệnh nhân VMXM bằng kính SEM.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: 11 mẫu bệnh phẩm niêm mạc mũi xoang từ 11 bệnh nhân điều trị tại Trung tâm Tai Mũi Họng và Phẫu thuật cấy ốc tai-Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, được chẩn đoán viêm mũi xoang mạn theo tiêu chuẩn EPOS 2020 có nội soi và chụp cắt lớp vi tính (CLVT) mũi xoang.

- Tiêu chuẩn lựa chọn: Người bệnh trên 16 tuổi, không phân biệt giới tính đã được phẫu thuật nội soi mũi xoang và đồng ý tham gia nghiên cứu.

- Tiêu chuẩn loại trừ: Người bệnh không đáp ứng các tiêu chuẩn lựa chọn; Người bệnh không đồng ý tham gia nghiên cứu; Người bệnh không có mẫu bệnh phẩm phù hợp. Người bệnh bị ung thư, polyp, áp xe vùng mũi xoang.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Mô tả cắt ngang

2.3. Các kỹ thuật sử dụng:

***Quy trình xử lý mẫu ban đầu:** mẫu niêm mạc vùng mũi xoang, sau khi được phẫu thuật cắt bỏ, tiến hành cắt ra mảnh mẫu kích thước 5 mm x 5 mm x 5 mm theo chiều dọc từ trên bề mặt mẫu xuống dưới, đánh dấu vùng nghiên cứu bằng cách buộc mỗi chỉ chờ, cho vào trong lọ đựng 50 ml nước muối sinh lý trong 10 phút. Ngay sau đó, lấy mẫu cho ngay vào lọ vô khuẩn chứa dung dịch glutaraldehyde 2,5% pha đệm cacodylate 0,1 M (pH 7,2) ở 4°C bằng kẹp không mẫu, đã bọc ống silicon vào phía đầu rãnh răng cưa, kẹp theo chiều dọc mẫu, tránh kẹp vào mặt trên. Mẫu sau đó chuyển đến phòng xét nghiệm siêu cấu

trúc để thực hiện các quy trình tiếp theo. Bước xử lý mẫu ban đầu này rất quan trọng nhằm cố định và bảo tồn cấu trúc mô, cấu trúc biofilm ngay từ đầu, ngăn chặn sự biến dạng và tránh tổn hại mẫu, đồng thời có thể đảm bảo sự hiện diện của biofilm trong các bước tiếp theo và quan sát thấy xuất hiện khi soi kính.

***Quy trình xử lý mẫu và kỹ thuật chuẩn bị cho kính hiển vi điện tử quét (SEM):** Các mẫu sau bước cố định ban đầu được xử lý theo quy trình chuẩn tại phòng Nghiên cứu siêu cấu trúc, Khoa Hình thái học - Viện 69, Bộ Tư lệnh Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh.

- **Chuẩn bị mẫu:** Rửa nhẹ nhàng mẫu bằng đệm cacodylate 0,1 M, pH 7,2 trong 15 phút. Sau đó cố định bổ sung ngay bằng glutaraldehyde 2,5% ở 4°C trong 4 giờ. Tiếp theo, mẫu được rửa lại 3 lần bằng đệm cacodylate 0,1 M, pH 7,2 (mỗi lần 10 - 15 phút).

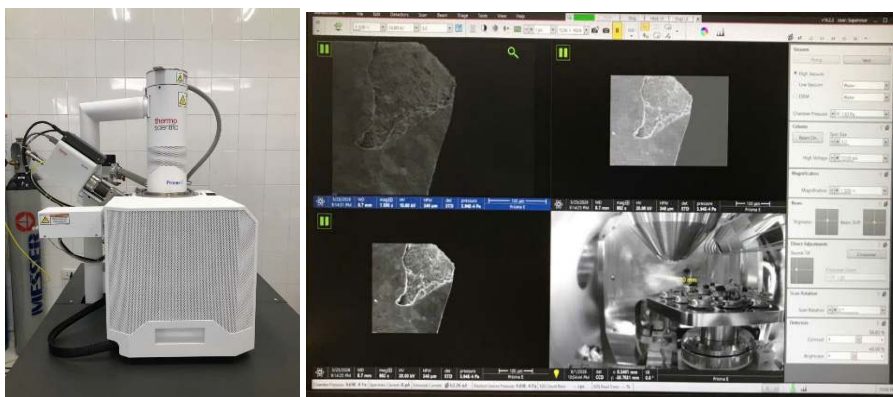
- **Cố định thứ cấp và khử nước:** Mẫu được cố định thứ cấp bằng osmium tetroxide (OsO_4) 1% trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, tiến hành khử nước bằng ethanol có nồng độ tăng dần (từ 30% đến 100%), mỗi nồng độ trong 10 - 15 phút.

- **Làm khô và mạ phủ mẫu:** Mẫu được chuyển sang dung dịch T-butyl, để trong ngăn đá tủ lạnh và làm khô bằng máy làm khô bốc bay chân không Freeze Drying Machine (Joel JFD-310 - Japan) trong 2 giờ. Sau khi khô, mẫu được gắn lên đế nhôm tiêu chuẩn bằng băng dính carbon hai mặt chuyên dụng và mạ phủ một lớp dẫn điện bằng vàng (gold sputtering) với máy mạ phủ JEOL JFC-1200 (Japan) để tối ưu hóa khả năng dẫn truyền điện tử.

- **Quan sát trên SEM:** Mẫu được đưa vào buồng mẫu của kính SEM PRISMA E (Thermo Fisher Scientific) (Hình 1); ở điện áp 10 kV với các độ phóng đại từ 1500 - 5000 lần; chỉnh lấy nét và chụp ảnh bằng hệ thống digital camera tích hợp trong kính.

- Chỉ tiêu quan sát, phân tích:

+ Mỗi mẫu được chụp 3 ảnh trên cùng độ phóng đại, lựa chọn góc soi quan sát thấy rõ nhất. Quan sát ở độ phóng đại từ 1500, 2500, 3500, 4000 và 5000 lần.



Hình 1. Kính SEM PRISMA E (Thermo) của Viện 69 và màn hình điều khiển

+ Tiêu chuẩn màng biofilm trên SEM: Là cấu trúc trên bề mặt mô cấu tạo phức tạp gồm: (i) thấy mạng lưới EPS phía trên, (ii) thấy vi khuẩn tập trung thành đám nằm trong chất nền; (iii) thấy cấu trúc 3 chiều bám phía trên niêm mạc mô.

- Đánh giá kết quả được thực hiện bởi 2 bác sĩ giải phẫu bệnh độc lập am hiểu lĩnh vực hiển vi điện tử. Các phân tích không đồng nhất sẽ được bàn bạc để thống nhất đánh giá.

Nghiên cứu được thông qua Hội đồng đạo đức của trường Đại học Y Hà Nội số 1901/GCN-HMUIRB ngày 29/8/2025.

3. KẾT QUẢ

3.1. Hình ảnh siêu cấu trúc niêm mạc VMXM

Dưới kính hiển vi điện tử quét SEM PRISMA E, bề mặt niêm mạc mũi xoang ở các mẫu bệnh phẩm viêm mạn tính thể hiện sự biến đổi cấu trúc sâu sắc so với niêm mạc bình thường:

- *Tổn thương lớp biểu mô*: Lớp tế bào biểu mô trụ giả tầng bình thường bị mất hoặc biến dạng lông chuyển. Quan sát thấy lông chuyển thưa, ngắn, gãy hoặc mất hoàn toàn trên diện rộng. Sự biến dạng này làm giảm chức năng vận chuyển chất nhầy, làm bề mặt niêm mạc trở nên gồ ghề, không đều, mất khả năng thanh thải niêm dịch đặc trưng của hệ thống lông chuyển thay vì trơn láng như niêm mạc khỏe mạnh

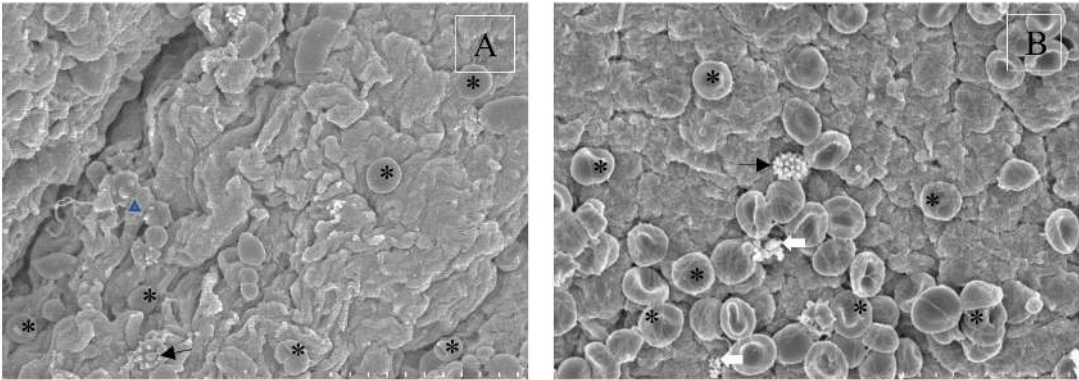
- *Sự tăng tiết và tích tụ chất nhầy*: Trên bề mặt niêm mạc xuất hiện các mảng chất nhầy đặc, phân bố không đồng nhất. Các mảng chất nhầy này thường kết dính với quần thể vi khuẩn và mảnh vụn tế bào chết tạo thành các khối phức hợp.

- *Các thành phần khác*: Sự hiện diện của các tế bào hồng cầu và các dị vật hữu cơ nằm rải rác trên bề mặt niêm mạc, phản ánh tình trạng viêm mạn tính đang diễn ra và sự rối loạn của hàng rào bảo vệ bề mặt niêm mạc.

Bảng 1. Đặc điểm siêu cấu trúc niêm mạc trên SEM của các mẫu quan sát

Đặc điểm tổn thương niêm mạc trên SEM	Số lượng (n = 11)	Tỷ lệ (%)
Tổn thương niêm mạc, giảm/ mất lớp lông chuyển, bong tróc biểu mô	10	91
Tăng tiết nhầy, tích tụ chất nhầy và chất vô định hình	11	100

Viêm mũi xoang mạn gây tổn thương niêm mạc vùng mũi và xoang với tỷ lệ cao, giảm và mất lớp lông chuyển, bong tróc biểu mô gặp ở 10/11 (91%) và toàn bộ số ca nghiên cứu đều có tình trạng tăng tiết nhầy, tích tụ chất nhầy cùng các chất vô định hình. Bên cạnh đó, có thể bắt gặp hồng cầu, bạch cầu, đại thực bào... xen lẫn trên bề mặt.



Hình 2. Ảnh SEM niêm mạc mũi xoang cho thấy bề mặt niêm mạc không đồng đều, có nhiều hồng cầu (*) và các mảnh vụn ngoại lai chưa được rửa trôi (⇔), lớp chất nhầy (▲) và có bạch cầu bám dính (→) xen lẫn trên bề mặt. Không quan sát rõ hệ thống lông chuyển, gợi ý tổn thương niêm mạc và rối loạn chức năng thanh thải niêm dịch. SEM A x 1500; B x 2000

3.2. Đặc điểm hình thái siêu cấu trúc biofilm trên SEM.

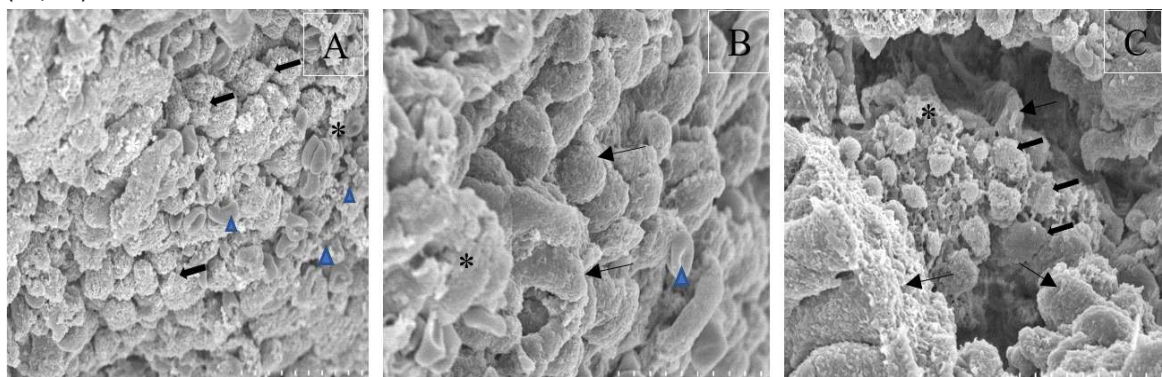
Quan sát bằng SEM cho thấy màng biofilm có cấu trúc siêu hiển vi 3 chiều phức tạp và không đồng nhất trên bề mặt nền. Biofilm bao gồm các tế bào vi khuẩn

phân bố dày đặc có cả hình cầu và hình que, được bao bọc trong lớp EPS biểu hiện dưới dạng mạng lưới vô định hình, dạng gel và bán sợi, tạo thành một khung cấu trúc liên tục, đóng vai trò liên kết giữa các tế bào và hỗ trợ bám dính lên bề mặt mô.

Bảng 2. Kết quả quan sát thấy siêu cấu trúc biofilm trên SEM

Đặc điểm biofilm trên SEM	Số lượng (n = 11)	Tỷ lệ (%)
Quan sát thấy biofilm, EPS	8	72,7
Quan sát thấy cụm vi khuẩn	9	81,8

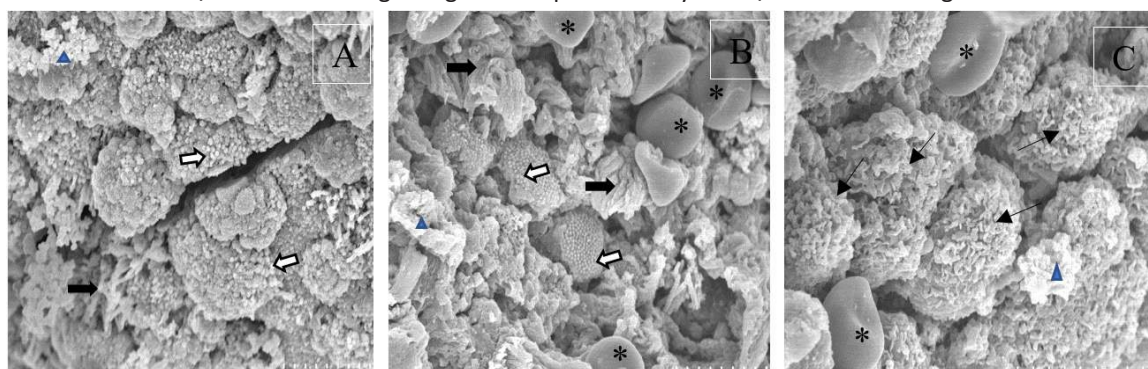
Hình ảnh tổ hợp biofilm trên bề mặt niêm mạc vùng mũi xoang chỉ có thể quan sát trên kính hiển vi điện tử. Kết quả nghiên cứu thấy biofilm xuất hiện ở 8/11 mẫu (72,7%) và cụm vi khuẩn phát hiện ở 9/11 mẫu (81,8%).



Hình 3. Hình ảnh SEM niêm mạc mũi xoang cho thấy bề mặt biểu mô bị tổn thương, mất lông chuyển, xen lẫn chất nhầy và chất vô định hình (*), hồng cầu (▲) được bao quanh bởi EPS có các cụm vi khuẩn tụ lại thành microcolonies (→), tạo thành cấu trúc mạng lưới 3 chiều (↔) đặc trưng của biofilm.

SEM: A x 1500; B, C x 2500

Hình thái các cụm vi khuẩn trong màng biofilm quan sát thấy các đặc điểm như trong hình 3 bên dưới.



Hình 4. Hình ảnh siêu cấu trúc của biofilm (↔) và các cụm vi khuẩn đặc trưng.

Hình A, B vi khuẩn hình cầu (⇔), Hình C vi khuẩn hình que (→), Hồng cầu (*), lớp chất nhầy, chất vô định hình (▲). SEM. A,B x 3500; C x 5000

4. BÀN LUẬN

Vùng mũi xoang là cửa ngõ đầu tiên của hệ hô hấp cho nên thường xuyên tiếp xúc với môi trường bên ngoài. Do đó chỉ cần có sự thay đổi về nhiệt độ, độ ẩm, ô nhiễm môi trường, vi sinh vật là có thể dẫn đến các thay đổi trong sự cân bằng cơ thể. Bình thường cơ thể có cơ chế tự bảo vệ và thích nghi, do đó cơ thể khỏe mạnh luôn chống lại được vi sinh vật và các tác động khác. Khi đó, cấu trúc siêu vi bề mặt niêm mạc mũi xoang tương đối đều đặn, được phủ bởi các tế bào biểu mô trụ giả tầng có lông chuyển (ciliated

pseudostratified epithelium). Các lông chuyển sắp xếp song song, mật độ cao và hướng tương đối thống nhất, xen kẽ là các vi nhung mao (microvilli) và các lỗ tiết nhầy nhỏ. Tuy nhiên, trái ngược với đặc điểm trên, ở những bệnh nhân bị VMXM, là bệnh có đặc điểm tái phát nhiều lần và khó điều trị khỏi, dai dẳng. Tổn thương niêm mạc khi quan sát có thể bắt gặp các tình trạng như giảm hoặc mất lông chuyển bề mặt, bong tróc niêm mạc, tăng tiết nhầy, tích tụ chất nhầy, các đám vi khuẩn các loại cùng trong một hệ hỗn hợp bề mặt đa dạng với bộ khung là biofilm có bản chất

từ các EPS. Kết quả ghi nhận ở Bảng 1 cho thấy rằng về cơ bản bệnh nhân mắc viêm mũi-xoang mạn đều có tổn thương niêm mạc với tỷ lệ trên 90% trên SEM. Điều này phản ánh rằng sau thời gian bị viêm nhiễm, sự tấn công thường xuyên của vi khuẩn và độc tố đã làm suy yếu hệ miễn dịch và sự toàn vẹn của tổ chức niêm mạc mũi và xoang mũi. Ban đầu có thể chỉ suy giảm lông chuyển, tăng tiết nhầy, sau dần dần sẽ làm mất hẳn lớp lông chuyển, dịch tiết nhày bao phủ và các chất vô định hình nhiều cùng với sự xuất hiện đan xen tế bào bạch cầu, đại thực bào cho thấy rõ về tổn thương viêm mạn tính. Hậu quả dẫn đến sự viêm nhiễm tái đi tái lại, kể cả khi có liệu pháp kháng sinh phổ rộng trị liệu.

Kết quả quan sát siêu cấu trúc biofilm trong nghiên cứu này cho thấy sự tương đồng khá lớn với các mô tả của nhiều nghiên cứu trước đó [6], điểm khác biệt rõ nét nhất nằm ở đặc điểm hệ vi khuẩn bám trên bề mặt niêm mạc. Điều này có thể được lý giải bởi sự đa dạng của quần thể vi khuẩn viêm mạn tính ở những vị trí khác nhau trong khoang mũi xoang, khác biệt về các cỡ mẫu nghiên cứu, môi trường sống cũng như giai đoạn bệnh và quá trình điều trị cá thể hóa của từng bệnh nhân ở các nghiên cứu là khác nhau. Chính những yếu tố này đã tạo nên sự đa dạng về chủng loại và mật độ của các quần thể vi khuẩn trong cấu trúc biofilm.

Sự phát triển của biofilm thường bắt đầu với sự bám dính của vi khuẩn vào một bề mặt. Sự hình thành màng sinh học bắt đầu khi các tế bào vi khuẩn tự do nhận biết các điều kiện thuận lợi như hợp chất hóa học bề mặt, sự hiện diện của chất dinh dưỡng, nhiệt độ phù hợp hoặc một pH nhất định [7]. Cùng với nhiều nghiên cứu hơn về màng biofilm và sự hiểu biết tăng lên, biofilm đã được chứng minh có liên quan chặt chẽ đến tính kéo dài dai dẳng và mãn tính của các nhiễm trùng vết thương mạn, đặc biệt là ở các bệnh nhân có bệnh lý nền kéo dài, giảm sức đề kháng như loét tỳ đè, loét bàn chân do tiểu đường, tai biến mạch máu não và các bệnh lý viêm nhiễm lâu năm khác như viêm mũi xoang mạn.

Ở độ phóng đại cao (> 3000 lần), thấy biofilm được tổ chức thành các tập hợp vi khuẩn với hình dạng không đều, phân bố rải rác trên bề mặt. Chúng tôi quan sát bắt gặp với 9/11 (81,8%) các trường hợp. Các cụm này được ngăn cách bởi các khoảng rỗng và cấu trúc dạng kênh, có thể đóng vai trò trong vận chuyển chất dinh dưỡng và trao đổi chất. Kết quả này gợi ý rằng sự hiện diện thường xuyên với tỷ lệ khá cao của các cụm vi khuẩn là bằng chứng giá trị nhất khẳng định rằng thủ phạm chính của viêm mũi xoang mạn là do các vi khuẩn đã tồn tại, trú ẩn ở vùng mũi xoang. Bề mặt tổng thể có đặc điểm gồ ghề, xấp và

không đồng đều, phản ánh sự tích tụ đáng kể của EPS và mức độ trưởng thành của biofilm. Sự liên kết chặt chẽ giữa tế bào vi sinh vật và lớp EPS, cùng với tính không đồng nhất về không gian và sự hiện diện của các kênh nội tại, gợi ý biofilm ở giai đoạn trưởng thành (hiếm gặp).

Dựa trên các đặc điểm nhận diện biofilm khi đối chiếu với các tiêu chí chung của các tác giả nước ngoài khác trước đó về biofilm bao gồm các tế bào vi khuẩn phân bố dày đặc có cả hình cầu và hình que, được bao bọc trong lớp EPS biểu hiện dưới dạng mạng lưới vô định hình, dạng gel và bán sợi, tạo thành một khung cấu trúc liên tục, đóng vai trò liên kết giữa các tế bào và hỗ trợ bám dính lên bề mặt mô. Chúng tôi ghi nhận 8/11 mẫu niêm mạc (chiếm 72,7%) có sự hiện diện của biofilm. Tỷ lệ này tương đồng với kết quả của một số nghiên cứu trước đây (khoảng từ 75% đến 76,7%) [1, 5]. Tuy nhiên tỷ lệ này thấp hơn so với một số công bố có cỡ mẫu lớn hơn (ví dụ 25 với tỷ lệ 83%) [6]. Sự khác biệt về tỷ lệ phát hiện có thể do cỡ mẫu và tính chất chọn mẫu ở mỗi nghiên cứu là khác nhau. Ngoài ra một nguyên nhân quan trọng có thể gây ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu quần thể vi khuẩn xuất hiện hoặc hình ảnh của biofilm đó là quy trình xử lý mẫu ban đầu, kỹ thuật chuẩn bị mẫu cho soi SEM, nhất là công đoạn cố định ban đầu và giai đoạn rửa mẫu. Thời gian cố định mẫu trong dung dịch glutaraldehyd 2,5% cần sớm và đủ thời gian, đủ lượng dung dịch cần, động tác rửa thật nhẹ nhàng để tránh hiện tượng rung lắc mẫu mạnh gây bong màng và các cụm vi khuẩn.

Nghiên cứu này vẫn tồn tại một số hạn chế nhất định đặc biệt là về cỡ mẫu, vị trí lấy mẫu, và hình ảnh SEM của mẫu ở bệnh lý khác để so sánh nên chưa thể đại diện hoàn toàn trong việc xác định chính xác tỷ lệ lưu hành biofilm trên quần thể bệnh nhân VMXM tại Việt Nam và phân tích về đặc điểm đặc trưng của biofilm. Trong thời gian tới, cần có những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn, kết hợp kỹ thuật SEM với các phương pháp hình thái học và sinh học phân tử hiện đại như TEM, CLSM hoặc FISH để phân tích sâu hơn đặc điểm biofilm theo từng nhóm bệnh nhân cụ thể. Những hướng tiếp cận này sẽ góp phần quan trọng trong việc xác lập vai trò của biofilm như một dấu ấn (marker) trong chẩn đoán, tiên lượng và cá thể hóa điều trị bệnh VMXM.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu bước đầu khẳng định sự hiện diện phổ biến của biofilm trên niêm mạc mũi xoang ở bệnh nhân viêm mũi xoang mạn với đặc điểm siêu cấu trúc điển hình như sự hình thành các cụm vi khuẩn mật độ cao, lớp chất nền ngoại bào (EPS) bao

phủ và cấu trúc mạng lưới ba chiều phức tạp. Kết quả bước đầu này không chỉ khẳng định hiệu quả của việc nghiên cứu quy trình chuẩn bị mẫu mô vùng mũi xoang mạn để phân tích trên SEM, mà còn đã góp phần làm sáng tỏ cơ chế bệnh sinh của các trường hợp viêm mũi xoang mạn kéo dài và bổ sung dữ liệu thông tin về bản chất tổ chức của vi khuẩn trên bề mặt niêm mạc vùng mũi xoang viêm mạn tính, đồng thời cho thấy có ý nghĩa quan trọng trong việc định hướng các chiến lược chẩn đoán mới và tối ưu hóa phác đồ điều trị nội - ngoại khoa nhắm đích vào biofilm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Manciola LG, Jeican II, Tudoran LB, Albu S. Biofilms and inflammation in patients with chronic rhinosinusitis. *Med Pharm Rep* 2020 Oct 25;93(4):374–383. doi: 10.15386/mpr-1691.
2. Popov G, Aleksandrov R, Petkova V, Kaneva R, Gergova R, Kundurzhiev T, et al. Analysis of Bacterial Biofilm Formation and MUC5AC and MUC5B Expression in Chronic Rhinosinusitis Patients. *J Clin Med*. 2023 Feb 23;12(5):1808. doi: 10.3390/jcm12051808.
3. Kaliniak S, Fiedoruk K, Spalek J, Piktel E, Durnaś B, Gózdź S, et al. Remodeling of paranasal sinuses mucosa functions in response to biofilm induced inflammation. *J Inflamm Res*. 2024 Feb 26;17:1295-1323. doi:10.2147/JIR.S443420.
4. Costerton W, Veeh R, Shirtliff M, Pasmore M, Post C, Ehrlich G. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest* 2003 Nov;112(10):1466–77. doi: 10.1172/JCI20365.
5. Długaszewska J, Leszczynska M, Lenkowski M, Tatarska A, Pastusiak T, Szyfter W. The pathophysiological role of bacterial biofilms in chronic sinusitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2016 Aug;273(8):1989–94. doi: 10.1007/s00405-015-3650-5.
6. Głowacki R, Stręk P, Zagórska-Świeży K, Składzień J, Oleś K, Hydzik-Sobocińska K, et al. Biofilm from patients with chronic rhinosinusitis. Morphological SEM studies. *Otolaryngologia Polska* 2008; 62(3):305–310. doi: 10.1016/S0030-6657(08)70260-9.
7. Domouchtsidou A, Ioannou P, Lianou A, Tsante KA, Tsakri D, Bonova E, et al. Biofilms in clinical infection: pathophysiology, diagnosis, and the evolving therapeutic landscape. *J Clin Microbiol* 2026 Dec 17;64(3): e01042-25. doi: 10.1128/jcm.01042-25.