

IDENTIFICATION OF DERMATOPHYTES USING MALDI-TOF MS AT HO CHI MINH CITY DERMATOLOGY HOSPITAL (2023-2024)

Thai Duc Luan^{1*}, Nhu Thi Hoa¹, Tran Thi Hue Van², Truong Thien Phu³
Vo Trinh Ha Nguyen¹, Pham Minh Chau⁴

1. University of Health Sciences - YA1 Administrative Building, Hai Thuong Lan Ong road,
VNU Ho Chi Minh city Urban Area, Di An city, Binh Duong province, Vietnam

2. Ho Chi Minh city University of Medicine and Pharmacy - 217 Hong Bang, District 5, Ho Chi Minh city, Vietnam

3. Cho Ray Hospital - 201B Nguyen Chi Thanh, District 5, Ho Chi Minh city, Vietnam

4. Pham Ngoc Thach University of Medicine - 2 Duong Quang Trung, District 10, Ho Chi Minh city, Vietnam

Received: 9/8/2024

Revised: 18/8/2024; Accepted: 29/8/2024

ABSTRACT

Objective: To determine the prevalence of dermatophyte species causing infections at Ho Chi Minh city Dermatology Hospital using the MALDI-TOF MS method.

Subject and method: A cross-sectional descriptive study was conducted on 166 dermatophyte strains, identified using the MALDI-TOF MS method.

Results: The MALDI-TOF MS method identified the dermatophyte species causing infections as follows: *Trichophyton mentagrophytes/Trichophyton interdigitale* (51.2%), *Trichophyton rubrum/Trichophyton violaceum* (42.2%), *Microsporum gypseum* (4.8%), and *Microsporum canis* (1.8%).

Conclusion: The MALDI-TOF MS method can be applied in the identification of dermatophyte infection agents.

Keywords: Dermatophytes, MALDI-TOF MS, fungal identification.

* Corresponding author

Email address: tdluan@medvnu.edu.vn

Phone number: (+84) 703512506

<http://doi.org/>



ĐỊNH DANH VI NẤM NGOÀI DA BẰNG PHƯƠNG PHÁP MALDI-TOF MS TẠI BỆNH VIỆN DA LIỄU THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH NĂM 2023-2024

Thái Đức Luân^{1*}, Nhữ Thị Hoa¹, Trần Thị Huệ Vân², Trương Thiên Phú³
Võ Trịnh Hà Nguyên¹, Phạm Minh Châu⁴

1. Trường Đại học Khoa học Sức khỏe - Tòa nhà hành chính YA1, đường Hải Thượng Lãn Ông, khu Đô thị Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh, thành phố Dĩ An, tỉnh Bình Dương, Việt Nam

2. Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh - 217 Hồng Bàng, Quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

3. Bệnh viện Chợ Rẫy - 201B Nguyễn Chí Thanh, Quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

4. Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch - 2 Dương Quang Trung, Quận 10, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 9/8/2024

Ngày chỉnh sửa: 18/8/2024; Ngày duyệt đăng: 29/8/2024

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định tỷ lệ các loài vi nấm ngoài da gây bệnh tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh bằng phương pháp MALDI-TOF MS.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 166 chủng dermatophytes và định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS.

Kết quả: Phương pháp MALDI-TOF MS giúp định danh được các loài vi nấm ngoài da gây bệnh lần lượt là *Trichophyton mentagrophytes/Trichophyton interdigitale* (51,2%), *Trichophyton rubrum/Trichophyton violaceum* (42,2%), *Microsporum gypseum* (4,8%), *Microsporum canis* (1,8%).

Kết luận: Phương pháp MALDI-TOF MS là phương pháp có thể được ứng dụng trong định danh tác nhân nhiễm vi nấm ngoài da.

Từ khóa: Dermatophytes, MALDI-TOF MS, định danh vi nấm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh vi nấm ngoài da ảnh hưởng đến hàng triệu người ở trên toàn thế giới với nguy cơ mắc bệnh trong đời ước tính lên tới 20-25% [1], thậm chí có thể lên tới 40-60% ở vùng dịch tễ [2]. Trong những thập niên gần đây, bệnh vi nấm ngoài da (dermatophytes) có khuynh hướng trở nên phức tạp, khó chẩn đoán và điều trị, do nhiều nguyên nhân khác nhau, nhất là trên cơ địa suy giảm miễn dịch. Việc chẩn đoán chính xác tác nhân gây bệnh giúp lựa chọn phác đồ điều trị phù hợp, phương pháp theo dõi và ngăn ngừa tái phát hay tái nhiễm. Từ trước đến nay, các kỹ thuật truyền thống như soi trực tiếp dưới kính hiển vi và cấy phân lập nấm

từ bệnh phẩm vẫn được coi là phương thức chẩn đoán quan trọng trên lâm sàng.

Tại Việt Nam, chẩn đoán nhiễm vi nấm ngoài da dựa vào phương pháp hình thái học vẫn được xem là tiêu chuẩn vàng tại hầu hết các bệnh viện da liễu [3]. Hiện nay, cùng với sự phát triển của kỹ thuật phân tử, các kỹ thuật phân tử ngày càng được áp dụng nhiều hơn để xác định các loài vi nấm và chẩn đoán các bệnh lý da liễu, trong đó kỹ thuật MALDI-TOF MS (matrix assisted LASER desorption ionization time of flight mass spectrometry) bước đầu cho thấy một số ưu điểm nhất định trong quá trình thực hiện với chi phí thấp và rút ngắn thời gian chờ đợi kết quả xét

* Tác giả liên hệ

Email: tdluan@medvnu.edu.vn

Điện thoại: (+84) 703512506

<http://doi.org/>

nghiệm [4]. Nguyên tắc định danh của kỹ thuật MALDI-TOF MS liên quan đến việc so sánh các mẫu khối phổ của vi sinh vật với một cơ sở dữ liệu đã được xây dựng từ trước. Cơ sở dữ liệu của MALDI-TOF MS chứa các khối phổ đặc trưng của các chủng vi nấm đã được xác định chính xác [5]. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm mục tiêu xác định tỷ lệ các loài vi nấm ngoài da gây bệnh bằng phương pháp MALDI-TOF MS tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh năm 2023-2024.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu: Khoa xét nghiệm, Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh và Bộ môn Vi sinh học - Ký sinh học, Trường Đại học Khoa học Sức khỏe, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

- Thời gian nghiên cứu: từ tháng 11/2023 đến tháng 6/2024.

2.3. Đối tượng nghiên cứu:

- Dân số mục tiêu: nghiên cứu được thực hiện với mong muốn áp dụng kết quả lên các trường hợp bệnh do dermatophytes.

- Dân số chọn mẫu: bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 12/2023 đến tháng 6/2024 và được chẩn đoán mắc bệnh vi nấm ngoài da.

- Mẫu nghiên cứu: các chủng dermatophytes được phân lập từ tổn thương da của bệnh nhân trong nghiên cứu "Nghiên cứu hiệu quả kháng nấm in-vivo và in-vitro trên bệnh nhân nấm da do dermatophytes tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh đang được tiến hành tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh" của Nhữ Thị Hoa và thỏa mãn tiêu chuẩn chọn mẫu của nghiên cứu này.

2.4. Cỡ mẫu, chọn mẫu

- Cỡ mẫu được tính dựa vào công thức ước lượng tỷ lệ trong dân số:

$$n \geq \frac{Z^2_{1-\alpha/2} (1 - p)p}{d^2}$$

Trong đó: với độ tin cậy 95%, $\alpha = 0,05$ (xác suất sai lầm loại I); $d = 0,07$; $p = 0,714$ (tỷ lệ phân bố chủng *Trichophyton* sp. theo nghiên cứu của Hà Mạnh Tuấn và cộng sự tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh năm 2019 [6]).

Tính được $n \geq 162$ chủng dermatophytes. Loại trừ khả năng mất mẫu, nghiên cứu của chúng tôi thu thập được 166 chủng dermatophytes.

- Phương pháp chọn mẫu: chọn mẫu thuận tiện 166 chủng dermatophytes sau canh cấy đáp ứng tiêu chuẩn chọn mẫu.

- Tiêu chuẩn chọn mẫu: soi tươi bệnh phẩm dương tính với dermatophytes (thấy sợi tơ nấm phân nhánh có vách ngăn và có chuỗi bào tử đốt) và canh cấy phân lập trên thạch SDA (sabouraud dextrose agar) dương tính với dermatophytes.

- Tiêu chuẩn loại trừ: canh cấy SDA bị ngoại nhiễm nặng không thể tách khúm dermatophytes và canh cấy SDA đồng nhiễm nấm men.

2.5. Biến số nghiên cứu

- Đặc điểm dịch tễ: giới tính, tuổi, nơi ở của bệnh nhân.

- Đặc điểm định danh MALDI-TOF MS: kết quả định danh nấm bằng phương pháp MALDI-TOF MS (theo giống và theo loài), giá trị định danh confidence value bằng phương pháp định danh MALDI-TOF MS.

2.6. Phương pháp thu thập số liệu

- Phỏng vấn trực tiếp để thu thập thông tin về dịch tễ học, giải thích và cho đối tượng ký giấy đồng thuận tham gia nghiên cứu.

- Lấy mẫu bệnh phẩm và soi tươi mẫu bệnh phẩm với dung dịch dịch KOH 15%. Kết quả dương tính dermatophytes: phát hiện sợi tơ nấm phân nhánh có vách ngăn và chuỗi bào tử đốt. Kết quả âm tính (loại khỏi mẫu nghiên cứu): có sợi tơ nấm nhưng không có bào tử đốt hoặc không thấy sợi tơ nấm.

- Nuôi cấy mẫu bệnh phẩm lên môi trường SDA được bổ sung thêm Gentamycin và Chloramphenicol, ủ ở nhiệt độ 25°C. Theo dõi mỗi ngày để phát hiện sớm tình trạng ngoại nhiễm. Trường hợp có dấu hiệu ngoại nhiễm, nhanh chóng bắt khúm dermatophytes (nếu được) và cấy vào đĩa SDA khác.

- Định danh mẫu bệnh phẩm bằng phương pháp MALDI-TOF MS theo hướng dẫn của Vitek MS: thời điểm định danh vi nấm bằng phương pháp MALDI-TOF MS được khuyến cáo từ 5-25 ngày kể từ thời điểm nuôi cấy. Quá trình lấy mẫu lưu ý không để lẫn bệnh phẩm và môi trường nuôi cấy. Mẫu vi nấm được phá hủy thành tế bào và chiết xuất protein bằng ethanol 70%, acid formic 70%, acetonitrile 70% (VITEK® MS MOULD KIT) và hỗn hợp chất nền 100 ml gồm Alpha-cyano-4-hydroxy-cinnamic acid 3,10g, ethanol 25,57g, acetonitrile 25,44g, chất hòa tan (VITEK® MS



CHCA) được sử dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất để thực hiện định danh bằng máy VITEK® MS. Kết quả định danh được xử lý kết quả bằng phần mềm VITEK® MS PRIME V3.3 Knowledge Base [7], [8].

2.7. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu phỏng vấn và xét nghiệm sau khi hoàn thành được nhập liệu bằng phần mềm Excel 2020 và xử lý số liệu bằng phần mềm IBM SPSS Statistics 20.0. Dữ liệu được làm sạch và hiệu chỉnh các sai sót do nhập liệu.

2.8. Đạo đức nghiên cứu

- Nghiên cứu thực hiện trên mẫu bệnh phẩm từ

đối tượng trong nghiên cứu “Nghiên cứu hiệu quả kháng nấm in-vivo và in-vitro trên bệnh nhân nấm da do dermatophytes tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh” của Nhữ Thị Hoa. Mẫu nghiên cứu được sử dụng có sự đồng thuận của chủ nhiệm đề tài và thông qua Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch và Trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh.

- Nghiên cứu đảm bảo tính bí mật riêng tư của đối tượng bao gồm phiếu trả lời phỏng vấn và mẫu bệnh phẩm sẽ được mã hóa. Toàn bộ thông tin thu được sẽ được giữ bí mật, chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Một số đặc điểm dịch tễ của đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Một số đặc điểm dịch tễ của đối tượng nghiên cứu (n = 166)

Thời gian nhiễm		Số lượng	Tỷ lệ
Giới tính	Nam	98	59,0%
	Nữ	68	41,0%
Tuổi	< 18 tuổi	21	12,7%
	18-29 tuổi	52	31,3%
	30-59 tuổi	85	51,2%
	≥ 60 tuổi	8	4,8%
	Tuổi trung bình	34,3 ± 15,1	
Nơi ở	Thành phố Hồ Chí Minh	73	44,0%
	Đông Nam Bộ (trừ thành phố Hồ Chí Minh)	39	23,5%
	Đồng bằng Sông Cửu Long	42	25,3%
	Duyên hải Nam Trung Bộ	8	4,8%
	Tây Nguyên	3	1,8%
	Bắc Trung Bộ	1	0,6%

Nghiên cứu thu thập được 166 mẫu bệnh phẩm đáp ứng tiêu chuẩn chọn mẫu với một số đặc điểm về dịch tễ và lâm sàng được thể hiện trên bảng 1:

- Về giới tính, tỷ lệ nam (59%) cao hơn tỷ lệ nữ (41%), tỷ lệ nam nhiều hơn tỷ lệ nữ 1,44 lần.
- Về tuổi đối tượng nghiên cứu phân phối chuẩn, đối tượng nhỏ tuổi nhất là 7 tuổi, đối tượng lớn tuổi nhất là 71 tuổi, tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu là 34,3 ± 15,1 tuổi.
- Nhóm tuổi 30-59 tuổi là nhóm chiếm đa số (51,2%), kế tiếp là nhóm 18-29 tuổi (31,3%), nhóm dưới 18 tuổi chiếm 12,7%, nhóm từ 60 tuổi trở lên chỉ chiếm 4,8%.
- Về nơi ở, chủ yếu đối tượng nghiên cứu sống ở thành phố Hồ Chí Minh chiếm 44%, còn lại là ở các tỉnh, thành phố ở khu vực khác như đồng bằng sông Cửu Long chiếm 25,3%, Đông Nam Bộ (trừ thành phố Hồ Chí Minh) chiếm 23,5%, duyên hải Nam Trung Bộ chiếm 4,8%, Tây Nguyên chiếm 1,8%, Bắc Trung Bộ chiếm 0,6%.

3.2. Kết quả phân bố các chủng vi nấm được định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS

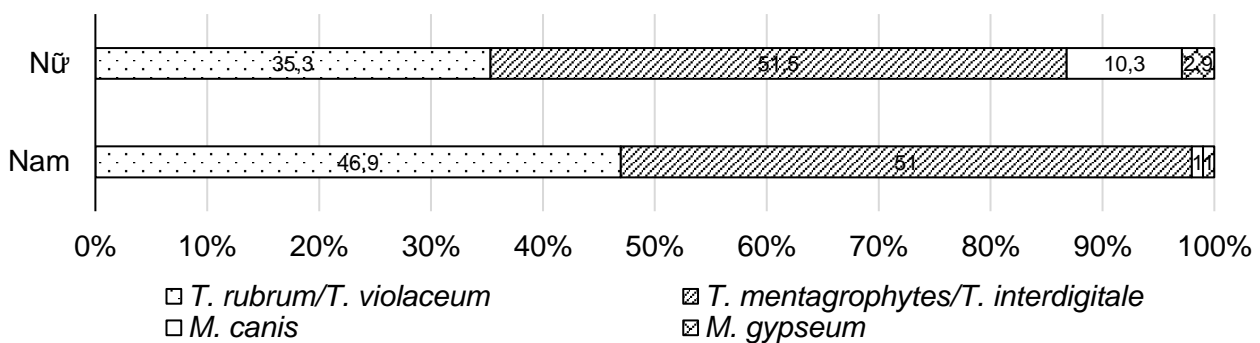
Bảng 2. Kết quả phân bố các chủng vi nấm được định danh bằng phương pháp định danh MALDI-TOF MS (n = 166)

Chủng vi nấm	Số lượng	Tỷ lệ
<i>T. rubrum/T. violaceum</i>	70	42,2%
<i>T. mentagrophytes/T. interdigitale</i>	85	51,2%
<i>M. canis</i>	3	1,8%
<i>M. gypseum</i>	8	4,8%

Kết quả định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS ghi nhận được 4 nhóm nấm gây bệnh theo. Tất cả 166 bệnh phẩm (100%) đều có kết quả giá trị định danh cofidence value 99,9, trong đó số lượng các chủng vi nấm được định danh theo thứ tự lần lượt là *T. mentagrophytes/T. interdigitale* (chiếm 51,2%), *T. rubrum/T. violaceum* (chiếm 42,2%), *M. gypseum* (chiếm 4,8%), *M. canis* (chiếm 1,8%).

3.3. Kết quả phân bố các chủng vi nấm được định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS theo giới tính và nhóm tuổi

Biểu đồ 1. Tỷ lệ kết quả định danh hình thái học theo đặc điểm giới tính



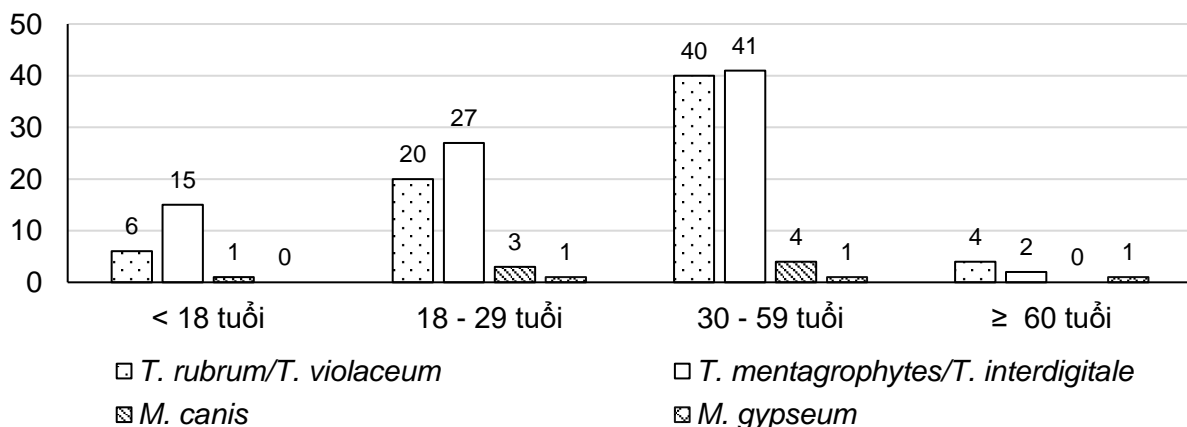
Biểu đồ 1 thể hiện tỷ lệ kết quả định danh hình thái học theo đặc điểm giới tính.

- Ở nam giới, *Trichophyton* sp. là giống nấm gây bệnh chiếm đa số 98% (trong đó *T. rubrum/T. violaceum* chiếm 46,9% và *T. mentagrophytes/T. interdigitale* chiếm 51,0%), *Microsporum* sp. chỉ chiếm 2,0% (trong đó *M. canis* chiếm 1,0% và *M. gypseum* chiếm 1,0%).

- Ở nữ giới, *Trichophyton* sp. cũng là giống nấm gây bệnh chiếm đa số nhưng chỉ chiếm 86,8% (trong đó *T. rubrum/T. violaceum* chiếm 35,3% và *T. mentagrophytes/T. interdigitale* chiếm 51,5%), *Microsporum* sp. chiếm đến 13,2% (trong đó *M. canis* chiếm 10,3% và *M. gypseum* chiếm 2,9%).

Kết quả phân tích cũng cho thấy tỷ lệ các loài nấm da gây bệnh ở hai giới có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$; test χ^2).

Biểu đồ 2. Kết quả định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS theo đặc điểm nhóm tuổi (đơn vị: mẫu bệnh phẩm)



Biểu đồ 2 thể hiện kết quả định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS theo nhóm tuổi, kết quả nghiên cứu cho thấy *Trichophyton* sp. là giống nấm gây bệnh chủ yếu ở các nhóm tuổi, trong đó *T. mentagrophytes/T. interdigitale* là loài gây bệnh phổ biến nhất ở cả 3 nhóm tuổi (< 18 tuổi, 18-29 tuổi và 30-59 tuổi) với tỷ lệ lần lượt là 68,2%; 52,9% và 47,7%. *T. rubrum/T. violaceum* là loài chiếm số lượng lớn nhất ở nhóm ≥ 60 tuổi (57,1%). Sự khác biệt về tỷ lệ các chủng vi nấm ngoài da ở các nhóm tuổi khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

4. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Về giới tính, tỷ lệ nam (59%) cao hơn tỷ lệ nữ (41%), nam nhiều hơn nữ 1,44 lần. Tỷ lệ này tương đồng với hầu hết các nghiên cứu trong và ngoài nước, trong đó nam giới có tỷ lệ nhiễm vi nấm ngoài da cao hơn nữ khoảng 1,2-2,2 lần. Sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm nấm theo giới tính có thể được giải thích do có nhiều yếu tố liên quan đến bệnh nấm da, một trong các yếu tố là các hoạt động thể lực mạnh, ra nhiều mồ hôi và nam giới thường hoạt động thể lực nhiều hơn nữ. Bên cạnh đó, sự khác biệt giới tính này được cho là do progesterone vì nó được cho là đóng một vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa sự nhân lên của dermatophytes đã được chứng minh bằng thực nghiệm.

Về tuổi đối tượng nghiên cứu phân phối chuẩn, đối tượng nhỏ tuổi nhất là 7 tuổi, lớn tuổi nhất là 71 tuổi, tuổi trung bình của là $34,3 \pm 15,1$ tuổi. Kết quả tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiên cứu trước đó ($p < 0,001$, test-t). Như vậy, có thể thấy độ tuổi bệnh nhân nhiễm nấm da rất đa dạng, tùy thuộc vào khu vực dịch tễ và địa điểm tiến hành nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy nhóm tuổi 30-59 chiếm đa số (51,2%), nhóm từ 60 tuổi trở lên chỉ chiếm 4,8%. Có thể đây là lứa tuổi trưởng thành, hoạt động nhiều, tiếp xúc với nhiều yếu tố nguy cơ khác nhau nên hay có tổn thương ở da nói chung và nhiễm nấm da nói riêng.

Về nơi ở, nhìn chung có thể thấy bệnh nhân nhiễm vi nấm ngoài da đến khám tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh chủ yếu là tại thành phố Hồ Chí Minh và các tỉnh, thành khu vực phía Nam. Các đối tượng người bệnh cũng đại diện cho nhiều đối tượng khác nhau trong xã hội về hoàn cảnh kinh tế, nghề nghiệp cũng như trình độ học vấn. Điều này cũng giúp cho mẫu nghiên cứu bao phủ được đa dạng các đối tượng nhiễm nấm da trong quần thể.

4.2. Kết quả phân bố các chủng vi nấm được định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS

Nghiên cứu của chúng tôi lựa chọn thực hiện bằng máy Vitek MS (Pháp). Theo công bố của nhà sản xuất, kỹ thuật MALDI-TOF MS trong định danh nấm sợi có độ chính xác đến giống là 93,8% [CI 95% = 92,8-94,7] và độ chính xác đến loài là 91,1% [CI 95% = 89,9-92,2]. Đối với định danh các loài dermatophytes, Vitek MS định danh được 9 loài/phức bộ *Trichophyton* sp., 6 loài *Microsporium* sp. và 1 loài *Epidermophyton* sp. Kết quả định danh có độ nhận diện đến loài khi giá trị confidence value từ 60-99,9 và chỉ có một vi sinh vật hoặc phức bộ vi sinh vật được nhận diện. Kết quả định danh không rõ ràng khi có từ 2-4 vi sinh vật hoặc phức bộ vi sinh vật được nhận diện và tổng giá trị confidence value của chúng là 100. Các trường hợp còn lại được xem là không xác định chính xác hoặc không có dữ liệu phù hợp [8]. Đôi khi cũng cần bổ sung các dữ liệu tham chiếu để phân biệt các loài vi nấm có quan hệ gần gũi với nhau. Điển hình như các loài nấm da *T. rubrum* và *T. violaceum* hoặc *T. mentagrophytes* và *T. interdigitale* không thể phân biệt bằng phương pháp MALDI-TOF MS thông thường mà cần phải bổ sung các dữ liệu tham chiếu phối hợp [9].

Nghiên cứu của chúng tôi bảo đảm thực hiện đầy đủ các bước của kỹ thuật bởi các kỹ thuật viên có nhiều kinh nghiệm. Thời điểm định danh vi nấm bằng phương pháp MALDI-TOF MS được khuyến cáo từ 5-25 ngày kể từ thời điểm nuôi cấy trên thạch SDA. Kết quả định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS, tất cả 166 bệnh phẩm (100%) đều có giá trị định danh confidence value 99,9, trong đó số lượng các chủng vi nấm được định danh theo thứ tự lần lượt là *T. mentagrophytes/T. interdigitale* (51,2%), *T. rubrum/T. violaceum* (42,2%), *M. gypseum* (4,8%) và *M. canis* (1,8%). Một số loài nấm đặc trưng cho các thể bệnh nấm tóc, nấm móng không phân lập được trong nghiên cứu của chúng tôi như *T. tonsurans*, *T. verrucosum*... do các bệnh phẩm phân lập được thu thập trên các thể bệnh nấm da trơn, không có bệnh phẩm các thể bệnh nấm tóc, nấm móng.

Kết quả phân bố các chủng vi nấm gây bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi khác với các nghiên cứu trước đó cũng được thực hiện tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh, khi *T. mentagrophytes/T. interdigitale* là loài vi nấm gây bệnh có số lượng lớn nhất mà không phải là phức bộ *T. rubrum* [6], [9]. Một số nghiên cứu khác gần đây cũng cho thấy, tại một số khu vực đã ghi nhận sự chuyển dịch về loài gây bệnh chính từ *T. rubrum* sang *T. mentagrophytes* ở một số quốc

gia, đặc biệt là Ấn Độ, Iran và Úc trong khoảng từ năm 2018 đến nay. Các phương pháp giải trình tự gen bước đầu ghi nhận *T. mentagrophytes* có thể đã lan rộng do việc lạm dụng rộng rãi clobetasol propionate tại chỗ và các phân tử steroid khác pha trộn với các tác nhân kháng nấm và kháng khuẩn. Việc sử dụng không đúng cách các kem chống nấm có chứa corticosteroid được giả thuyết là nguyên nhân chính dẫn đến sự xuất hiện này [11]. Như vậy, mặc dù chưa có những nghiên cứu so sánh về đặc điểm giải trình tự gen kháng thuốc của *T. mentagrophytes* trong nghiên cứu của chúng tôi, tuy nhiên đây cũng là đặc điểm cảnh báo tỷ lệ nhiễm vi nấm kháng thuốc trong cộng đồng.

4.3. Kết quả phân bố các chủng vi nấm được định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS theo giới tính và nhóm tuổi

Kết quả phân tích trong nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy tỷ lệ các loài nấm da gây bệnh ở hai giới có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$; test χ^2). Nghiên cứu cho thấy ở nữ giới có xu hướng nhiễm vi nấm ngoài da ưa thú như *M. canis*, *T. mentagrophytes*... nhiều hơn có thể do thói quen thường xuyên tiếp xúc với vật nuôi trong nhà - một nguyên nhân gây bệnh. Trong khi đó ở nam giới lại có xu hướng nhiễm các loài vi nấm ưa người như *T. rubrum*, *T. interdigitale*... do các thói quen sinh hoạt, vệ sinh cũng như có các yếu tố thuận lợi khác để nhiễm nấm da. Đây là đặc điểm quan trọng để lựa chọn thuốc điều trị và các biện pháp phòng ngừa phù hợp.

Sự khác biệt về tỷ lệ các chủng vi nấm ngoài da ở các nhóm tuổi khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Đối tượng nghiên cứu của chúng tôi chưa ghi nhận các loài nấm da đặc trưng cho từng lứa tuổi khác nhau. Vì vậy, việc định danh các tác nhân gây bệnh vi nấm ngoài da là cần thiết trong lâm sàng cần phải được thực hiện rộng rãi trong quá trình theo dõi điều trị.

5. KẾT LUẬN

Phương pháp MALDI-TOF MS là phương pháp có thể được ứng dụng trong định danh tác nhân nhiễm vi nấm ngoài da. Đây là một phương pháp nhanh chóng, chi phí thấp và có thể ứng dụng trong thực hành lâm sàng. Tuy nhiên, để kiểm tra tính chính xác của kết quả định danh, cần kết hợp thêm các nghiên cứu so sánh bằng các phương pháp đặc trưng khác như hình thái học hoặc giải trình tự gen. Bên cạnh đó, cần xây dựng và bổ sung thêm cơ sở dữ liệu định danh MALDI-TOF

MS trong vi nấm ngoài da để hỗ trợ định danh các chủng vi nấm có quan hệ gần gũi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] World Health Organization, Epidemiology and Management of common skin diseases in children in developing countries, 2005.
- [2] Chanyachailert P, Leeyaphan C, Bunyaratavej S, Cutaneous Fungal Infections Caused by Dermatophytes and Non-Dermatophytes: An Updated Comprehensive Review of Epidemiology, Clinical Presentations, and Diagnostic Testing, *J. Fungi*, 2023, Vol. 9, No.6.
- [3] Bộ Y tế, *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh da liễu*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2015.
- [4] Shivaprakash M, Rudramurthy, Shaw D, Overview and Update on the Laboratory Diagnosis of Dermatophytosis, *Clin. Dermatology Rev.*, 2017, Vol.1, No.1, 3-11.
- [5] L'Ollivier C, Ranque S, MALDI-TOF-Based Dermatophyte Identification, *Mycopathologia*, 2017, Vol.182, No.1-2, pp. 183-192.
- [6] Hà Mạnh Tuấn, Vũ Quang Huy, Trần Phủ Mạnh Siêu, Nguyễn Quang Minh Mẫn, Một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, dịch tễ trên bệnh nhân nhiễm nấm da tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh, *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*, 2019, Vol.23, No.3, pp. 194-199.
- [7] Bio Mérieux, *Vitek MS Workflow User manual clinical use*, Lyon: bioMérieux, 2016.
- [8] BioMérieux, *VITEK® MS PRIME V3.3 Knowledge Base - User Manual Supplement*. Lyon: bioMérieux, 2022.
- [9] Bouchara J.P, Nenoff P, Gupta AK, Chaturvedi V, *Dermatophytes and dermatophytoses*, Springer, 2021.
- [10] Tăng Tuấn Hải, Trần Phủ Mạnh Siêu, Ngô Quốc Đạt, Các thuốc kháng nấm hiện nay trên bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh năm 2021, *Tạp chí Y học Việt Nam*, 2021, Vol.508, No.2, pp. 358-362.
- [11] Zhan P, Liang G, Liu W, Dermatophytes and dermatophytic infections worldwide, *Dermatophytes and Dermatophytoses*, 2021.

