

NEW FUNGAL INFECTIONS DIAGNOSIS: REVIEW

Tran Thi Hue Van*, Dinh Quoc Long

University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City - 217 Hong Bang, Ward 11, Dist 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received: 05/02/2025

Revised: 25/02/2025; Accepted: 13/03/2025

ABSTRACT

Currently, there are numerous methods available for diagnosing fungal infections that have been developed and implemented in hospitals. However, each method has its own advantages and disadvantages regarding sensitivity, accuracy, time, and so on. To improve the accuracy and speed of diagnosing fungal infections, several new methods are being tested by researchers on clinical samples. Most of these improved methods operate independently of pathogen isolation, meaning that diagnosis transitions from being considered definitive to being probabilistic. Although there is the advantage of not relying on culture, most methods lack standardization. This review aims to examine the methods for diagnosing systemic fungal infections, from diagnostic classification through methods regarded as “gold standards” to molecular techniques currently in use, and finally discuss some more future-oriented approaches.

Keywords: *Candida*, fungal, diagnostic test.

*Corresponding author

Email: huevan@ump.edu.vn **Phone:** (+84) 919103109 **Https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD3.2117**

CÁC KỸ THUẬT MỚI TRONG CHẨN ĐOÁN NHIỄM TRÙNG NẤM: TỔNG QUAN

Trần Thị Huệ Vân*, Đinh Quốc Long

Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh - 217 Hồng Bàng, P. 11, Q. 5, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 05/02/2025

Chỉnh sửa ngày: 25/02/2025; Ngày duyệt đăng: 13/03/2025

TÓM TẮT

Hiện nay có rất nhiều phương pháp dùng để chẩn đoán nấm đã ra đời và được áp dụng tại các cơ sở y tế, tuy nhiên mỗi phương pháp sẽ có những ưu - nhược điểm khác nhau như độ nhạy, độ chính xác, thời gian,... Để cải thiện độ chính xác và tốc độ chẩn đoán nhanh nhiễm trùng nấm, một số phương pháp mới đã ra đời dựa trên sự kết hợp những phương pháp cũ sẵn có. Hầu hết các phương pháp cải tiến này đều độc lập với việc phân lập mầm bệnh, điều đó có nghĩa là chẩn đoán chuyên từ được coi là đã được chứng minh sang có khả năng xảy ra. Mặc dù có lợi thế là không phụ thuộc vào nuôi cấy, nhưng phần lớn các phương pháp đều thiếu sự chuẩn hóa. Bài tổng quan này nhằm mục đích xem xét phương pháp chẩn đoán nhiễm trùng nấm toàn thân, từ phân loại chẩn đoán, thông qua các phương pháp được coi là “*tiêu chuẩn vàng*”, đến các phương pháp phân tử hiện đang được sử dụng và cuối cùng đề cập đến một số phương pháp tiếp cận mang tính tương lai hơn.

Từ khóa: *Candida*, nấm, kỹ thuật chẩn đoán.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm trùng nấm hiện nay vẫn đang được coi nhẹ tại các cơ sở y tế trên toàn cầu và chỉ được coi là vấn đề có liên quan đến sức khỏe, trong khi đó nhiễm khuẩn và virus đã được xem là vấn đề sức khỏe cộng đồng trong nhiều thập kỷ qua [1].

Theo Quỹ Hành động Toàn cầu về Nhiễm trùng Nấm báo cáo, hàng năm có hơn 300 triệu người mắc bệnh nhiễm trùng nấm toàn thân và trong số đó có khoảng 1,5 triệu người tử vong do nhiễm trùng nấm [2]. Các tác nhân gây bệnh nấm phụ thuộc vào nhiều yếu tố, ở các nước kém phát triển tác nhân phổ biến là *Cryptococcus* spp. và *Pneumocystis* spp., thường liên quan đến AIDS. Ở những nước phát triển, nhiễm trùng nấm chủ yếu là do *Candida* spp., *Aspergillus* spp. và *Cryptococcus* spp. [3]. *Blastomyces*, *Histoplasma*, *Paracoccidioides* và *Coccidioides* là các loại nấm đặc hữu gây nhiễm trùng tại chỗ, nhưng chúng có thể tiến triển thành nhiễm trùng toàn thân và gây bệnh nghiêm trọng hơn đối với những bệnh nhân có nguy cơ cao [4].

Năm 2021, đại dịch COVID-19 xảy ra và mối lo ngại liên quan đến virus SARS-CoV-2 gây ra ngày càng tăng. Theo Sharma et al., nhiễm trùng do SARS-CoV-2 dẫn đến giảm tế bào T, cụ thể là CD4+T và CD8+T làm hệ thống miễn dịch suy yếu khiến bệnh nhân dễ mắc các bệnh nhiễm nấm hơn [5]. Một trong những bộ nấm liên quan nhiều đến các bệnh nhiễm trùng sau COVID-19 là *Mucorales*, trong đó *Rhizopus arrhizus*

là nguyên nhân gây ra hầu hết các trường hợp bệnh nấm đen trên toàn thế giới [6], tiếp theo là *Rhizomucor pusillus*, *Apophysomyces*, *variabilis* và *Lichtheimia corymbifera* [7]. Theo một báo cáo tại Ấn Độ, từ ngày 5/5 đến 3/8/2021, có khoảng 47.508 trường hợp nhiễm và 4425 trường hợp tử vong do nấm đen liên quan đến COVID-19. Cũng trong thời gian này, số lượng bệnh nhân nhập viện vào các đơn vị chăm sóc đặc biệt do nhiễm trùng nấm đen liên quan đến COVID-19 đã tăng từ 2 ca mỗi tháng lên 600 ca mỗi tháng và Chính phủ Ấn Độ tuyên bố đây là một đại dịch. Những bệnh nhân nhiễm trùng nấm đen kết hợp với nhiễm COVID-19 làm cho tiên lượng bệnh nặng hơn và tăng tỷ lệ tử vong, điều này có thể do hệ thống y tế quá tải, vệ sinh kém trong môi trường chăm sóc sức khỏe, chẩn đoán muộn và hệ thống miễn dịch của bệnh nhân suy yếu dẫn đến nhiễm trùng nấm nghiêm trọng hơn [8]. Bên cạnh đó, các steroid glucocorticoid được sử dụng trong điều trị COVID-19 cụ thể như methylprednisolone và dexamethasone, chúng có liên quan đến tác dụng ức chế miễn dịch, cũng như làm tăng lượng đường trong máu, khiến bệnh nhân dễ bị nhiễm trùng nấm [9].

Bên cạnh đó, đại dịch COVID-19 có thể đã làm tăng sự lây truyền các bệnh nhiễm trùng nấm do *Candida auris*. Do đó, các đợt bùng phát *C. auris* đã được báo cáo tại các đơn vị chăm sóc đặc biệt COVID-19 [10], [11]. Một bệnh viện ở Tây Ban Nha đã báo sự gia tăng nhiễm trùng *C. auris* trong đại dịch và tỷ lệ tử vong

*Tác giả liên hệ

Email: huevan@ump.edu.vn Điện thoại: (+84) 919103109

https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD3.2117

trong vòng 28 ngày do bệnh nhiễm trùng huyết do nấm *C. auris* tăng từ 33,3% lên 57,1% [11].

Việc áp dụng các kỹ thuật chẩn đoán nhiễm trùng nấm trong bệnh viện hiện nay là cấp thiết, đặc biệt trong bối cảnh gia tăng tỷ lệ nhiễm nấm xâm lấn. Chẩn đoán sớm và chính xác nhiễm trùng nấm là rất quan trọng để cải thiện kết quả điều trị và giảm tỷ lệ tử vong. Trong bài tổng quan này chúng tôi phân tích những ưu và nhược điểm của các phương pháp được sử dụng thường xuyên tại các cơ sở y tế nhằm giúp các kỹ thuật viên có một cái nhìn rõ hơn để lựa chọn một phương pháp phù hợp nhất tại cơ sở làm việc để nâng cao hiệu quả và độ chính xác trong chẩn đoán nấm. Bên cạnh đó, chúng tôi tóm tắt những phương pháp mới được kết hợp từ các phương pháp đã sẵn có tạo ra một kỹ thuật chẩn đoán nhanh chóng và chính xác cao.

2. ƯU NHƯỢC ĐIỂM CỦA CÁC PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN CÁC LOÀI NẤM

Hiện nay, các phương pháp chẩn đoán xác định nấm được xem là tiêu chuẩn vàng như nuôi cấy nấm, soi kính hiển vi và mô bệnh học, được hầu hết các cơ sở y tế áp dụng. Các phương pháp này đều có ưu điểm và nhược điểm. Tuy nhiên ngay cả khi có các kỹ thuật hiện đại hơn, các phương pháp thông thường này vẫn tiếp tục được sử dụng để so sánh và xác nhận [12].

Bảng 1. Tổng quan về ưu điểm và nhược điểm của các phương pháp chẩn đoán nấm: Proven diagnosis

Phương pháp	
Ưu điểm	Nhược điểm
Cấy nấm [13]	
<ul style="list-style-type: none"> - Phát hiện tác nhân gây bệnh nấm; - Phát hiện khả năng kháng thuốc chống nấm; - Xác định ở cấp độ loài. 	<ul style="list-style-type: none"> - Thời gian xử lý lâu; đối với nấm men (5 ngày) và nấm mốc (4 tuần); - Khó khăn lựa chọn môi trường thích hợp; - Điều trị bệnh nhân trễ; - Dễ bị nhiễm từ môi trường; - Độ nhạy thấp đối với bệnh nấm <i>Candida</i> máu và <i>Aspergillosis</i>.
Soi kính hiển vi [12]	
<ul style="list-style-type: none"> - Hình ảnh hóa cấu trúc nấm; - Phân tích hình dạng, theo dõi chuyển động và phân loại vi sinh vật; - Trực quan hóa quá trình hình thành màng tế bào của nấm. 	<ul style="list-style-type: none"> - Không cho phép xác định chi hoặc loài nấm; - Dễ bị nhầm lẫn giữa các loài nấm.

Phương pháp	
Ưu điểm	Nhược điểm
Bệnh học mô học [12]	
<ul style="list-style-type: none"> - Phát hiện sự xâm lấn mô của nấm; - Phát hiện phản ứng của vật chủ hoặc hoại tử mô. 	<ul style="list-style-type: none"> - Hình ảnh mô bệnh học tương tự giữa một số loại nấm; - Việc sử dụng thuốc nhuộm không phải lúc nào cũng cung cấp khả năng nhận dạng chính xác ở cấp độ loài; - Độ nhạy hạn chế.
Môi trường nuôi cấy sinh màu [14]	
<ul style="list-style-type: none"> - Phát hiện trong các mẫu đa vi nấm; - Phát hiện và định danh <i>Candida</i> ở cấp độ loài; - Nhanh chóng và tiết kiệm chi phí. 	<ul style="list-style-type: none"> - Khó phân biệt giữa các loài <i>Candida non-albicans</i>; - Khó phân biệt các loài <i>Candida</i> gây bệnh mới nổi, chẳng hạn như <i>C. auris</i>; - Sự tương đồng về kiểu hình giữa các loài có liên quan có thể cản trở sự phân biệt ở cấp độ loài.
FISH [12]	
<ul style="list-style-type: none"> - Xác định chính xác các bệnh nhiễm trùng <i>Candida spp.</i>; - Tiết kiệm thời gian, so với các phương pháp thông thường; - Độ đặc hiệu và độ nhạy cao. 	<ul style="list-style-type: none"> - Giới hạn phát hiện lớn; - Giảm số lượng đầu dò axit nucleic peptide (PNA) có sẵn trên thị trường.
MALDI-TOF [12]	
<ul style="list-style-type: none"> - Xác định tác nhân gây bệnh ở cấp độ chi, loài và chủng; - Xác định chính xác và nhanh chóng <i>Candida spp.</i> và <i>Aspergillus spp.</i>; - Độ chính xác cao so với các phương pháp thông thường; - Thực hiện dễ dàng; - Giảm chi phí cho mỗi lần phân tích; - Có thể áp dụng cho nhiều loại vi sinh vật; - Phân biệt các loài có quan hệ họ hàng gần; - Có tiềm năng lớn để thử nghiệm khả năng nhạy cảm với thuốc kháng nấm. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cần có bước chiết xuất trước; - Không có khả năng định lượng; - Chi phí thiết bị ban đầu cao; - Giới hạn phạm vi loài trong cơ sở dữ liệu tham chiếu nấm của các hệ thống MS MALDI-TOF có sẵn; - Cơ sở dữ liệu cần được cập nhật liên tục để bao phủ các loài nấm hiếm nhất và mới nổi.

Phương pháp	
Ưu điểm	Nhược điểm
Hệ thống xác định kiểu hình bằng sinh hóa [15]	
<ul style="list-style-type: none"> - Giảm chi phí; - Định lượng và định tính; - Xác định chính xác mẫu chưa biết; 	<ul style="list-style-type: none"> - Phương pháp tốn nhiều công sức và thời gian; - Kết quả chỉ có sau vài ngày; - Độ nhạy thấp để xác định và phân biệt các loài gây bệnh mới nổi, chẳng hạn như <i>C. auris</i>.

Bảng 2. Tổng quan về ưu điểm và nhược điểm của các phương pháp chẩn đoán nấm: Proven diagnosis

Phương pháp	
Ưu điểm	Nhược điểm
1,3 β-D-glucan [16]	
<ul style="list-style-type: none"> - Phát hiện các tác nhân gây bệnh nấm có liên quan; - Không xâm lấn; - Kết quả nhanh; - NPV cao rất tốt cho việc sàng lọc nhiễm trùng nấm xâm lấn; 	<ul style="list-style-type: none"> - Xét nghiệm không đặc hiệu của nấm; - Độ nhạy thấp hơn và số lượng kết quả dương tính giả cao; - Một số loại nấm sản xuất ít β-D-glucan (<i>Cryptococcus</i> spp.) hoặc không sản xuất (<i>Blastomyces</i> spp. và nấm mốc nhầy);
Kháng nguyên và kháng thể mannan [16]	
<ul style="list-style-type: none"> - Hiệu suất tốt nhất khi kết hợp hai dấu ấn sinh học; - Không xâm lấn; - Kinh tế; - Mang lại kết quả nhanh chóng. 	<ul style="list-style-type: none"> - Độ đặc hiệu hạn chế do cộng sinh bình thường hoặc xâm chiếm do loài <i>Candida</i>; - Độ nhạy hạn chế của xét nghiệm kháng thể đối với bệnh nhân suy giảm miễn dịch; - Độ nhạy thấp đối với <i>C. krusei</i> và <i>C. parapsilosis</i>.
Galactomannan [16]	
<ul style="list-style-type: none"> - Marker chỉ điểm tốt để phát hiện bệnh Aspergillosis xâm lấn; - Hữu ích cho việc đánh giá đáp ứng với điều trị kháng nấm. 	<ul style="list-style-type: none"> - Độ nhạy thấp đối với chẩn đoán sớm. - Phản ứng chéo với <i>Fusarium</i> spp. và <i>Histoplasma</i> spp.; - Độ nhạy thấp đối với <i>Aspergillus fumigatus</i>.

Phương pháp	
Ưu điểm	Nhược điểm
Dựa trên kháng thể (Miễn dịch huỳnh quang, ELISA, Xét nghiệm dòng chảy, Xét nghiệm ngưng kết Latex) [16]	
<ul style="list-style-type: none"> - Độ chính xác cao hơn các dấu ấn huyết thanh tiêu chuẩn; - Chi phí thấp; - Thực hiện dễ dàng và nhanh chóng (có thể áp dụng cho POC). 	<ul style="list-style-type: none"> - Giảm độ nhạy đối với bệnh nhân suy giảm miễn dịch; - Độ đặc hiệu hạn chế; - Phân tích cẩn thận đối với bệnh nhân không có dấu hiệu lâm sàng; - Phương pháp kháng nguyên-kháng thể vẫn chưa khả dụng đối với một số tác nhân gây bệnh nấm (bệnh mucormycosis, bệnh fusariosis và bệnh scedosporiosis).

Bảng 3. Tổng quan về ưu điểm và nhược điểm của các phương pháp chẩn đoán nấm: Probable diagnosis

Phương pháp	
Ưu điểm	Nhược điểm
Hình ảnh nấm xâm lấn [17]	
<ul style="list-style-type: none"> - Có nhiều lựa chọn hình ảnh; - Thông tin tổng quan tại một số thời điểm; - Theo dõi tiến triển của bệnh nhiễm trùng cũng như phản ứng của bệnh nhân với liệu pháp chống nấm. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cần có phương pháp chụp ảnh đa phương thức; - Việc sử dụng từng phương pháp chụp ảnh đều có giới hạn và cụ thể.
PCR [18]	
<ul style="list-style-type: none"> - Thời gian ngắn; - Độ nhạy và độ đặc hiệu cao; - qPCR cho phép định lượng DNA khuếch đại theo thời gian thực; - Cho phép xác định loài và phân biệt trong loài; - Có thể loại trừ hoặc chẩn đoán chung, nhiễm trùng nấm xâm lấn; - Ít bị bội nhiễm. 	<ul style="list-style-type: none"> - PCR truyền thống không cho phép định lượng DNA được khuếch đại; - Thiếu chuẩn hóa các kỹ thuật phân lập DNA nấm; - Lựa chọn cẩn thận các đoạn môi và tối ưu hóa các điều kiện phản ứng; - Các phương pháp dựa trên PCR có thể khó áp dụng cho một số mẫu, đặc biệt là các mẫu không vô trùng, chẳng hạn như BAL.

3. KẾT HỢP CÁC PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN MỚI

Gần đây, sự kết hợp các khía cạnh sáng tạo của nhiều phương pháp khác nhau đã được các nhà nghiên cứu tìm ra, để đảm bảo chẩn đoán nhanh chóng và hiệu quả [19]. Sự kết hợp các phương pháp là tập hợp một số ưu điểm từ các phương pháp đơn lẻ tạo thành một phương pháp mới tối ưu nhất. Những phương pháp này giúp tiết kiệm thời gian chẩn đoán và chẩn đoán chính xác hơn từ đó giúp giảm chi phí cho người bệnh.

3.1. Bảng *Candida* và bảng nấm sợi

Bảng *Candida* và bảng nấm sợi là một kỹ thuật được Carvalho-Pereira et al. đề xuất vào năm 2020 dựa trên phương pháp PCR đa môi kết hợp với điện di mao quản, để tách các sản phẩm PCR và xác định kích thước sản phẩm bằng GeneScan [20]. Bảng *Candida* sử dụng các đoạn môi đặc hiệu để xác định 5 loài phổ biến nhất liên quan đến nhiễm trùng do *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* và *C. krusei*), và bảng nấm sợi sử dụng các đoạn môi đặc hiệu để xác định các loài nhiễm trùng phổ biến nhất do *Aspergillus* spp. (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus* và *A. niger*) và *R. arrhizus*. Chẩn đoán được thực hiện thông qua hình ảnh hóa bảng, dựa trên phân tích các đỉnh với sự kết hợp của các trọng lượng phân tử khác nhau và huỳnh quang. Điểm mới nổi bật của nghiên cứu này là sử dụng các đoạn môi đặc hiệu tạo ra các độ dài amplicon khác nhau và đặc hiệu cho từng loài kết hợp với các chất huỳnh quang khác nhau. Các bảng được thiết kế cho phép diễn giải thực tế và trực tiếp các kết quả bằng cách trực quan hóa/xác định các amplicon đặc hiệu trong bảng. Phân tích cũng cho phép xác định bất kỳ đỉnh nào không ở đúng vị trí/huỳnh quang khi so sánh với bảng, hỗ trợ việc diễn giải các kết quả dương tính giả. Phương pháp này cho thấy độ nhạy là 89% và độ đặc hiệu là 100% khi sử dụng máu toàn phần hoặc huyết thanh [20].

3.2. Phân tích tế bào pha rắn

Phương pháp phân tích tế bào pha rắn ra đời từ việc kết hợp sử dụng hai phương pháp là kính hiển vi huỳnh quang và phương pháp phân tích tế bào dòng chảy. Phương pháp cải tiến này cho phép phát hiện và định lượng nhiều loại vi sinh vật, chẳng hạn như nấm và vi khuẩn [21]. Phương pháp này cung cấp kết quả nhanh chóng, hoàn toàn tự động, trực tiếp thông qua các mẫu lâm sàng. Tuy nhiên, phương pháp phân tích tế bào pha rắn vẫn gặp một số trở ngại trong các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng, đặc biệt là liên quan đến việc xác nhận và thẩm định phương pháp. Lies et al. sử dụng phương pháp này để xác định *A. fumigatus* trong các mẫu không khí, vì việc kiểm soát bào tử trong không khí là một yếu tố dịch tễ học quan trọng. Các kết quả thu được cho thấy một số lợi thế khi so sánh với các phương pháp nuôi cấy truyền thống như tế bào học pha rắn có ngưỡng phát hiện thấp (4 tế bào/ m³) và cung cấp kết quả trong vòng 24 giờ [22]. Khi phân tích 16 mẫu lâm sàng, với mục tiêu xác định các *Candida* có trong máu toàn phần của

bệnh nhân được chẩn đoán hoặc nghi ngờ nhiễm nấm *Candida* huyết học. Ưu điểm của phương pháp này khi so sánh với nuôi cấy máu là có thể cung cấp kết quả nhanh hơn (4 giờ) và cũng định lượng chính xác các loài *Candida*, vì tất cả các bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh nhiễm nấm *Candida* huyết học trước đó đều cho kết quả dương tính. Ngoài ra, phương pháp này cũng có thể xác định các bệnh nhiễm trùng hỗn hợp, có trong 5/16 mẫu lâm sàng được phát hiện [23].

3.3. Biến đổi Fourier hồng ngoại

Phương pháp biến đổi Fourier hồng ngoại (FTIR) dựa trên các nguyên tắc của quang phổ. Chức năng của phương pháp này dựa trên việc truyền bức xạ hồng ngoại qua mẫu, tại đó một số bức xạ cuối cùng bị hấp thụ. Máy dò của thiết bị tạo ra quang phổ biểu diễn dấu ấn phân tử của mẫu được phân tích. Về mặt lâm sàng, các vi sinh vật khác nhau sẽ tạo ra các dấu ấn khác nhau và có thể phân biệt chúng thông qua việc phân tích quang phổ được tạo ra. Potocki et al. đã sử dụng phương pháp FTIR với mục tiêu chính là phân biệt *Candida non-albicans* với các loài *C. albicans*, vì các loài non-albicans chủ yếu liên quan đến khả năng kháng thuốc chống nấm được sử dụng. FTIR đã được sử dụng trong 25 mẫu *Candida* spp. lâm sàng được phân lập và đã phân biệt từng mẫu do sự đa dạng của quang phổ của mỗi loài tạo ra. Phương pháp này có nhiều hứa hẹn liên quan đến việc tìm kiếm các gen kháng thuốc kháng nấm, vì các loài kháng thuốc sẽ tạo ra quang phổ khác so với các loài không kháng thuốc [24]. Theo Erukhimovitch, sự phân biệt giữa nhiễm trùng do vi khuẩn và nấm vẫn là một vấn đề, đặc biệt là do những điểm tương đồng về triệu chứng. Do đó, phương pháp FTIR được coi là một công cụ sàng lọc tuyệt vời trong những tình huống này vì vi khuẩn và nấm tạo ra quang phổ hoàn toàn khác nhau. Nghiên cứu này đã sử dụng các chủng nấm và vi khuẩn để đánh giá khả năng áp dụng FTIR trong việc phân biệt các tác nhân gây bệnh này và kết quả cho thấy có thể phân biệt chỉ trong 1 giờ [25].

3.4. Tán xạ Raman tăng cường bề mặt

Tán xạ Raman tăng cường bề mặt (SERS) là sự kết hợp giữa quang phổ Raman và việc sử dụng các hạt nano, trước đây đã được sử dụng để phát hiện một số sinh vật gây bệnh, bao gồm cả nấm. Kỹ thuật này cung cấp phân tích định tính và định lượng, cho phép theo dõi các phân tử sinh học có liên quan đến lâm sàng và thiết lập các cấu hình phân tử để xác định mức độ nghiêm trọng của nhiễm trùng nấm. Hu et al. sử dụng phương pháp này nhằm mục đích phát hiện và xác định trực tiếp các loài *Candida* trong huyết thanh bằng cách kết hợp các hạt nano, quang phổ SERS và phân tích thống kê đa biến OPLS-DA. Trong thí nghiệm này, các hạt nano từ tính Fe₃O₄@PEI cho thấy hiệu quả bắt giữ cao các tế bào *Candida* trong huyết thanh, do lực hút tĩnh điện, tạo ra phức hợp Fe₃O₄@PEI/*Candida*. Sau đó, các hạt nano bạc tích điện dương (AgNPs+) được sử dụng làm chất nền cho SERS, để tăng cường độ tín hiệu. Phương pháp

này được mô tả là nhanh, giá cả phải chăng và không phá hủy cấu trúc di truyền, vì không yêu cầu nuôi cấy tinh khiết, phá vỡ thành tế bào hoặc chiết xuất DNA. Nó cho thấy độ chính xác là 99,8% và hiệu quả thu giữ Fe₃O₄@PEI trong mẫu huyết thanh lần lượt là 95,9%, 98,0% và 79,6% đối với *C. albicans*, *C. tropicalis* và *C. krusei* [26].

3.5. Công nghệ nano

Công nghệ nano ngày càng được áp dụng nhiều trong các lĩnh vực liên quan đến sức khỏe. Sojinrin et al. đã phát triển một nghiên cứu để phát hiện sự hiện diện của nấm dựa trên các hạt nano vàng. Khi các hạt nano vàng tiếp xúc với nấm chúng sẽ chịu những thay đổi về cấu trúc và hình thái, từ hình cầu sang hình sao và đổi màu từ đỏ sang xanh. Kỹ thuật này cho thấy độ nhạy là 80% và độ đặc hiệu là 95% đối với chẩn đoán bệnh nấm chân vận động viên. Đây là một phương pháp giúp phát hiện nhanh chóng, đơn giản và giá thành thấp, nhưng không cho phép xác định cụ thể các tác nhân gây bệnh [27].

3.6. Cộng hưởng từ hạt nhân

Cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) đã được sử dụng để xác định và phát hiện loài vi sinh vật, thông qua việc sử dụng các hạt nano, kết hợp với phân tích bằng cộng hưởng từ. Các phương pháp NMR có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc sau PCR thông thường để phân tích sản phẩm. T2Candida® là phương pháp đầu tiên được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ công nhận để chẩn đoán bệnh nấm *Candida* xâm lấn. Đây là một nền tảng tự động dựa trên NMR, cho phép xác định 5 loài *Candida* spp. (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* và *C. krusei*) trực tiếp từ các mẫu lâm sàng của máu toàn phần hoặc huyết thanh, trong vòng 3–5 giờ [28]. Đầu tiên, mẫu lâm sàng được đưa vào chiết xuất DNA tự động, sau đó phân tích bằng cộng hưởng từ. Trong nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng, T2Candida® đã chứng minh độ nhạy là 91,1% và độ đặc hiệu là 99,4%, đây là một thành tựu lớn liên quan đến chẩn đoán phân tử [29].

3.7. Cảm biến sinh học

Cảm biến sinh học được thiết kế như các thiết bị di động chuyển đổi thông tin sinh học và sinh hóa thành tín hiệu phân tích đầu ra. Các đầu dò cảm biến sinh học nấm được sản xuất để chẩn đoán lâm sàng phải đáp ứng một số yêu cầu như lựa chọn cẩn thận một dấu ấn sinh học cụ thể của tác nhân gây bệnh mục tiêu, phải phù hợp với hệ thống nhận dạng sinh học và giữ các đặc điểm có thể đo lường được liên quan đến điều kiện bình thường hoặc nhiễm trùng. Pla et al. đã mô tả một cảm biến nano cải tiến để phát hiện *C. auris*, phương pháp này có độ nhạy cao (85%) và độ chọn lọc (100%) để phát hiện *C. auris* từ các mẫu nuôi cấy máu, kết quả cũng có thể thu được trong vòng một giờ và kỹ thuật đơn giản [30].

3.8. Xét nghiệm hợp chất hữu cơ dễ bay hơi

Xét nghiệm hợp chất hữu cơ dễ bay hơi (VOC) là một phương pháp mới để chẩn đoán bệnh aspergillosis xâm

lấn, với độ nhạy >90%. Trong nghiên cứu này, một số chất chuyển hóa đặc trưng của *A. fumigatus* được phát hiện từ hơi thở ra của bệnh nhân [31]. Tính chất cải tiến của kỹ thuật này là sử dụng một hệ thống khứu giác nhân tạo để phân biệt một số VOC do tác nhân gây bệnh tạo ra, được gọi là “dấu ấn hơi thở”. Phần lớn các VOC do *A. fumigatus* tạo ra được xác định bằng kỹ thuật này là 3-octanone, 2-pentylfuran, isoamyl alcohol, ethanol và các chất khác. Tuy nhiên, việc phát hiện các chất chuyển hóa này thường liên quan đến bệnh aspergillosis phổi.

4. KẾT LUẬN

Sự tiến bộ của khoa học kỹ thuật đã cho ra đời nhiều phương pháp chẩn đoán mới để phát hiện và xác định chính xác các tác nhân gây bệnh nấm có liên quan đến lâm sàng. Việc phát triển các phương pháp mới và tự động hơn mang lại kết quả nhanh hơn giúp cải thiện nhiều trong việc quản lý lâm sàng các bệnh nhiễm nấm. Tuy nhiên, vẫn còn một chặng đường dài để đạt được sự chuẩn hóa trên toàn cầu đối với các phương pháp này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Nucci and K. A. Marr, “Emerging fungal diseases,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 41, no. 4, pp. 521-526, 2005.
- [2] F. Bongomin, S. Gago, R. O. Oladele, and D. W. Denning, “Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision,” *Journal of fungi*, vol. 3, no. 4, p. 57, 2017.
- [3] G. Janbon, J. Quintin, F. Lanternier, and C. d’Enfert, “Studying fungal pathogens of humans and fungal infections: Fungal diversity and diversity of approaches,” *Microbes and Infection*, vol. 21, no. 5-6, pp. 237-245, 2019.
- [4] A. H. Damasceno-Escoura et al., “Histoplasmosis in HIV-infected patients: epidemiological, clinical and necropsy data from a Brazilian teaching hospital,” *Mycopathologia*, vol. 185, pp. 339-346, 2020.
- [5] S. Sharma, M. Grover, S. Bhargava, S. Samdani, and T. Kataria, “Post coronavirus disease mucormycosis: a deadly addition to the pandemic spectrum,” *The Journal of Laryngology & Otolology*, vol. 135, no. 5, pp. 442-447, 2021.
- [6] S. Gokulshankar and B. K. Mohanty, “COVID-19 and black fungus,” *Asian J Med Health Sci*, vol. 4, no. 1, p. 138, 2021.
- [7] A. Hagen, “COVID-19-associated mucormycosis: triple threat of the pandemic,” 2022.
- [8] A. Mendonca, H. Santos, R. Franco-Duarte, and P. Sampaio, “Fungal infections diagnosis—past, present and future,” *Research in Microbiology*, vol. 173, no. 3, p. 103915, 2022.
- [9] A. S. Chouhan, B. Parihar, and B. Rathod, “Overuse of Steroid Drugs Methylprednisolone

- and Dexamethasone (Oral) Causes a Diabetic Patient to Become Infected With the Black Fungus of the Corona Virus,” 2021.
- [10] C. Prestel, “Candida auris outbreak in a COVID-19 specialty care unit—Florida, July–August 2020,” *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, vol. 70, 2021.
- [11] J. V. Mulet Bayona et al., “Impact of the SARS-CoV-2 pandemic in candidaemia, invasive aspergillosis and antifungal consumption in a tertiary hospital,” *Journal of Fungi*, vol. 7, no. 6, p. 440, 2021.
- [12] R. Franco-Duarte et al., “Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms—from past to present,” *Microorganisms*, vol. 7, no. 5, p. 130, 2019.
- [13] J. R. Bao, R. N. Master, R. S. Jones, R. B. Clark, E. C. Moore, and K. L. Shier, “Recovery and its dynamics of filamentous fungi from clinical specimen cultures: an extensive study,” *Microbiology Spectrum*, vol. 9, no. 1, pp. 10-1128, 2021.
- [14] A. M. Borman, M. Fraser, and E. M. Johnson, “CHROMagar™ Candida Plus: A novel chromogenic agar that permits the rapid identification of *Candida auris*,” *Medical mycology*, vol. 59, no. 3, pp. 253-258, 2021.
- [15] Y.-S. Huang et al., “High rates of misidentification of uncommon *Candida* species causing bloodstream infections using conventional phenotypic methods,” *Journal of the Formosan Medical Association*, vol. 120, no. 5, pp. 1179-1187, 2021.
- [16] C. Lass-Flörl, E. Samardzic, and M. Knoll, “Serology anno 2021—fungal infections: from invasive to chronic,” *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 27, no. 9, pp. 1230-1241, 2021.
- [17] B. D. Alexander et al., “Guidance on imaging for invasive pulmonary aspergillosis and mucormycosis: from the imaging working group for the revision and update of the consensus definitions of fungal disease from the EORTC/MSGERC,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 72, no. Supplement_2, pp. S79-S88, 2021.
- [18] I. Camp, G. Manhart, C. Schabereiter-Gurtner, K. Spettel, B. Selitsch, and B. Willinger, “Clinical evaluation of an in-house panfungal real-time PCR assay for the detection of fungal pathogens,” *Infection*, vol. 48, pp. 345-355, 2020.
- [19] P. L. White et al., “Nucleic acid tools for invasive fungal disease diagnosis,” *Current Fungal Infection Reports*, vol. 14, pp. 76-88, 2020.
- [20] J. Carvalho-Pereira et al., “Multiplex PCR based strategy for detection of fungal pathogen DNA in patients with suspected invasive fungal infections,” *Journal of Fungi*, vol. 6, no. 4, p. 308, 2020.
- [21] L. M. E. Vanhee, E. D’Haese, I. Cools, H. J. Nelis, and T. Coenye, “Detection and quantification of bacteria and fungi using solid-phase cytometry,” pp. 25-41: Springer.
- [22] L. M. E. Vanhee, H. J. Nelis, and T. Coenye, “Rapid detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* in environmental air samples using solid-phase cytometry,” *Environmental science & technology*, vol. 43, no. 9, pp. 3233-3239, 2009.
- [23] L. M. E. Vanhee, W. Meersseman, K. Lagrou, J. Maertens, H. J. Nelis, and T. Coenye, “Rapid and direct quantification of viable *Candida* species in whole blood by use of immunomagnetic separation and solid-phase cytometry,” *Journal of clinical microbiology*, vol. 48, no. 4, pp. 1126-1131, 2010.
- [24] L. Potocki, J. Depciuch, E. Kuna, M. Worek, A. Lewinska, and M. Wnuk, “FTIR and Raman spectroscopy-based biochemical profiling reflects genomic diversity of clinical *Candida* isolates that may be useful for diagnosis and targeted therapy of candidiasis,” *International journal of molecular sciences*, vol. 20, no. 4, p. 988, 2019.
- [25] V. Erukhimovitch, V. Pavlov, M. Talyshinsky, Y. Souprun, and M. Huleihel, “FTIR microscopy as a method for identification of bacterial and fungal infections,” *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, vol. 37, no. 5, pp. 1105-1108, 2005.
- [26] S. Hu et al., “Rapid detection method for pathogenic *Candida* captured by magnetic nanoparticles and identified using SERS via AgNPs+,” *International Journal of Nanomedicine*, pp. 941-950, 2021.
- [27] T. Sojinrin et al., “Plasmonic gold nanoparticles for detection of fungi and human cutaneous fungal infections,” *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 409, pp. 4647-4658, 2017.
- [28] N. Peker, N. Couto, B. Sinha, and J. W. Rossen, “Diagnosis of bloodstream infections from positive blood cultures and directly from blood samples: recent developments in molecular approaches,” *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 24, no. 9, pp. 944-955, 2018.
- [29] E. Mylonakis et al., “T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: a clinical trial,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 60, no. 6, pp. 892-899, 2015.
- [30] L. Pla et al., “Oligonucleotide-capped nanoporous anodic alumina biosensor as diagnostic tool for rapid and accurate detection of *Candida auris* in clinical samples,” *Emerging microbes & infections*, vol. 10, no. 1, pp. 407-415, 2021.
- [31] M. G. Gerritsen et al., “Profiling of volatile organic compounds produced by clinical *Aspergillus* isolates using gas chromatography–mass spectrometry,” *Medical mycology*, vol. 56, no. 2, pp. 253-256, 2018.