

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

**VÕ TRIỀU LÝ**

**GIÁ TRỊ XÉT NGHIỆM Mp1p TRONG CHẨN ĐOÁN VÀ**

**DỰ BÁO NHIỄM NẤM *Talaromyces marneffe***

**Ở BỆNH NHÂN AIDS**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**TP.HỒ CHÍ MINH - Năm 2021**

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

VÕ TRIỀU LÝ

**GIÁ TRỊ XÉT NGHIỆM Mp1p TRONG CHẨN ĐOÁN VÀ  
DỰ BÁO NHIỄM NẤM *Talaromyces marneffe*  
Ở BỆNH NHÂN AIDS**

**NGÀNH: BỆNH TRUYỀN NHIỄM VÀ CÁC BỆNH NHIỆT ĐỚI**

**MÃ SỐ: 9720109**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:**

**1. PGS. TS. CAO NGỌC NGA**

**2. TS. NGUYỄN VĂN VĨNH CHÂU**

**TP.HỒ CHÍ MINH - Năm 2021**

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi, các kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận án là trung thực, khách quan và chưa từng được công bố ở bất kỳ nơi nào.

Tác giả luận án

Võ Triều Lý

## MỤC LỤC

Lời cam đoan	i
Danh mục chữ viết tắt	v
Danh mục bảng	viii
Danh mục hình	x
Danh mục biểu đồ	xi
Danh mục sơ đồ	xii
MỞ ĐẦU .....	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU .....	5
1.1. Bệnh lý nhiễm HIV và hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (AIDS) .....	5
1.2. Tình hình dịch HIV/AIDS tại Việt Nam.....	5
1.3. Dịch tễ bệnh do nấm <i>Talaromyces marneffe</i> .....	6
1.4. Đặc điểm vi nấm của <i>Talaromyces marneffe</i> .....	10
1.5. Cơ chế bệnh sinh của nấm <i>T.marneffe</i> .....	14
1.6. Đặc điểm lâm sàng bệnh do nấm <i>T.marneffe</i> .....	20
1.7. Kỹ thuật chẩn đoán bệnh do nấm <i>T.marneffe</i> .....	24
1.8. Điều trị bệnh do nấm <i>Talaromyces marneffe</i> .....	30
1.9. Tình hình nghiên cứu về giá trị xét nghiệm kháng nguyên Mp1p trong quản lý bệnh do nấm <i>T.marneffe</i> trên bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS.....	32
1.10. Tổng quan về địa điểm nghiên cứu .....	36
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	37

2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	37
2.2. Đối tượng nghiên cứu.....	37
2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu .....	38
2.4. Cỡ mẫu .....	38
2.5. Biến số và định nghĩa biến số trong nghiên cứu .....	39
2.6. Kỹ thuật đo lường và phương pháp thu thập số liệu .....	43
2.7. Quy trình nghiên cứu .....	52
2.8. Phương pháp phân tích số liệu .....	54
2.9. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu .....	56
Chương 3. KẾT QUẢ .....	57
3.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu .....	58
3.2. Đặc điểm phân bố nồng độ Mp1p và xác định các yếu tố liên quan .....	62
3.3. Xác định giá trị chẩn đoán nhiễm nấm <i>T.marneffe</i> của xét nghiệm ELISA Mp1p71	
3.4. Xây dựng mô hình chẩn đoán bệnh do nấm <i>T.marneffe</i> ở bệnh nhân AIDS, TCD4 < 100 tế bào/mm <sup>3</sup> .....	77
Chương 4. BÀN LUẬN .....	84
4.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu .....	84
4.2. Đặc điểm phân bố nồng độ Mp1p và xác định các yếu tố liên quan .....	91
4.3. Xác định điểm cắt của Mp1p trong chẩn đoán bệnh do nấm <i>T.marneffe</i> ở bệnh nhân AIDS có TCD4 <sup>+</sup> <100 tế bào/ mm <sup>3</sup> .....	96
4.4. Xây dựng mô hình chẩn đoán bệnh do nấm <i>T.marneffe</i> ở bệnh nhân AIDS, TCD4 < 100 tế bào/mm <sup>3</sup> .....	102

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....108

TÀI LIỆU THAM KHẢO

PHỤ LỤC 1. Phiếu thu thập số liệu

PHỤ LỤC 2. Phiếu công cấp thông tin và chấp thuận tham gia nghiên cứu

PHỤ LỤC 3. Phân bố Mp1p HT > 0,2 OD theo nơi cư ngụ trên 100.000 người nhiễm HIV (n=78)

PHỤ LỤC 4. Đặc điểm của các trường hợp không tương hợp mp1p huyết thanh và nước tiểu

PHỤ LỤC 5. Danh sách bệnh nhân tham gia nghiên cứu

PHỤ LỤC 6. Quyết định chấp thuận của hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới

PHỤ LỤC 7. Quyết định phê duyệt đề tài cấp cơ sở

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

### DANH MỤC VIẾT TẮT TIẾNG VIỆT

BN	Bệnh nhân
BV BNĐ	Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới
DNT	Dịch não tủy
ĐNB	Đông Nam Bộ
GH	Giới hạn
Hb	Hemoglobin
HT	Huyết thanh
KTC	Khoảng tin cậy
NTCH	Nhiễm trùng cơ hội
TN	Tây Nguyên
NT	Nước tiểu
QHTD	Quan hệ tình dục
TB	Tế bào
TCNT	Tiêu chảy nhiễm trùng
TCD4 <sup>+</sup>	Tế bào lymphô TCD4 <sup>+</sup>
Tm	<i>Talaromyces marneffe</i>
TPHCM	Thành phố Hồ Chí Minh

### DANH MỤC VIẾT TẮT TIẾNG ANH VÀ ĐỐI CHIẾU ANH VIỆT

AFB	Acid-fast bacillus	Trực khuẩn kháng cồn acid
AIDS	Acquired immunodeficiency syndrome	Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải
ALT	Alanine aminotransferase	
ARV	Antiretroviral	Thuốc kháng vi rút HIV
AST	Aspartate aminotransferase	

AUC	Area under the ROC Curve	Diện tích dưới đường cong
BMI	Body mass Index	Chỉ số khối cơ thể
CT scan	Computed Tomography Scan	Chụp cắt lớp điện toán
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay	Xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme
HIV	Human immunodeficiency virus	Vi rút gây suy giảm miễn dịch ở người
HRP	Streptavidin horseradish peroxidase	
IFA	Indirect immunofluorescence	Miễn dịch huỳnh quang gián tiếp
IgG	Immunoglobulin G	
IQR	Interquartile range	Khoảng tứ phân vị
IRIS	Immune reconstitution inflammatory syndrome	Hội chứng viêm phục hồi miễn dịch
JCV	John Cunningham (JC) virus	
MAb	Monoclonal antibody	Kháng thể đơn dòng
Mp1p	Mannoprotein 1	Kháng nguyên Mannoprotein 1
MRI	Magnetic Resonance Imaging	Chụp hình cộng hưởng từ t
MRSA	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	Tụ cầu kháng Methicillin
OD	Optical density	Mật độ quang
PAb	Polyclonal antibody	Kháng thể đa dòng
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi polymerase
ROC	Receiver operating characteristic	
SEN	Sensitivity	Độ nhạy
SPE	Specificity	Độ đặc hiệu



Th1	T helper 1	Tế bào T giúp đỡ 1
Th2	T helper 2	Tế bào T giúp đỡ 2
TMB	Tetramethylbenzidine	

## DANH MỤC BẢNG

<b>Bảng 2.1.</b> Tiêu chuẩn phân loại BMI.....	40
<b>Bảng 2.2.</b> Tiêu chuẩn phân loại mức độ thiếu máu .....	42
<b>Bảng 2.3.</b> Phân loại mức độ tương hợp theo chỉ số kappa .....	55
<b>Bảng 3.1.</b> Đặc điểm dân số - tiền căn liên quan HIV (n=533) .....	58
<b>Bảng 3.2.</b> Đặc điểm lâm sàng của nhóm bệnh <i>Talaromyces marneffe</i> (n=70) .....	61
<b>Bảng 3.3.</b> Đặc điểm cận lâm sàng của nhóm bệnh <i>Talaromyces marneffe</i> (n=70) .....	62
<b>Bảng 3.4.</b> Nồng độ Mp1p ở huyết thanh và nước tiểu ở nhóm bệnh nhân Tm (+) (n = 70) .....	62
<b>Bảng 3.5.</b> Nồng độ Mp1p ở huyết thanh và nước tiểu giữa 2 nhóm bệnh Tm (+) và NTCH khác .....	64
<b>Bảng 3.6.</b> Phân bố Mp1p huyết thanh và nước tiểu theo vị trí phân lập của Tm .....	65
<b>Bảng 3.7.</b> Phân bố nồng độ Mp1p theo độ nặng của Tm (n = 70) .....	67
<b>Bảng 3.8.</b> Phân tích đơn biến các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p huyết thanh (n = 533).....	68
<b>Bảng 3.9.</b> Phân tích đa biến các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p huyết thanh (n = 533).....	69
<b>Bảng 3.10.</b> Phân tích đơn biến các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p nước tiểu (n = 533).....	70
<b>Bảng 3.11.</b> Phân tích đa biến các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p nước tiểu (n = 533) .....	71
<b>Bảng 3.12.</b> Điểm cắt của Mp1p huyết thanh trong chẩn đoán bệnh do nấm <i>T.marneffe</i> .....	72

<b>Bảng 3.13.</b> Điểm cắt của Mp1p nước tiểu trong chẩn đoán bệnh do nấm <i>T.marneffeii</i> .	73
<b>Bảng 3.14.</b> So sánh diện tích dưới đường cong giữa 2 bệnh phẩm .....	74
<b>Bảng 3.15.</b> Giá trị chẩn đoán <i>T.marneffeii</i> khi kết hợp Mp1p huyết thanh và nước tiểu (n = 533) .....	74
<b>Bảng 3.16.</b> Mức độ tương hợp giữa Mp1p huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm nấm <i>T.marneffeii</i> (n = 533) .....	75
<b>Bảng 3.17.</b> Thời gian phát triển <i>T.marneffeii</i> hoặc tử vong của các trường hợp Mp1p $\geq$ 0,2 OD, cấy âm tính trong thời gian nhập viện (n = 14) .....	76
<b>Bảng 3.18.</b> Phân tích đơn biến các yếu tố liên quan đến nhiễm nấm <i>T.marneffeii</i> (n=533) .....	78
<b>Bảng 3.19.</b> Phân tích đa biến các đặc điểm liên quan nhiễm nấm <i>T.marneffeii</i> bằng phương pháp Backward Wald (Bước 5) .....	78
<b>Bảng 3.20.</b> Phân loại đối tượng dựa theo quan sát và dự đoán (n = 533) .....	79
<b>Bảng 3.21.</b> Phân tích đơn biến các yếu tố liên quan đến nhiễm nấm <i>T.marneffeii</i> (n=533) .....	81
<b>Bảng 3.22.</b> Phân tích đa biến các đặc điểm liên quan nhiễm nấm <i>T.marneffeii</i> bằng phương pháp Backward Wald (Bước 5) .....	81
<b>Bảng 3.23.</b> Phân loại đối tượng dựa theo quan sát và dự đoán (n = 533) .....	82
<b>Bảng 4.1.</b> Các tác nhân phân lập được trong máu của bệnh nhân nhiễm HIV .....	87
<b>Bảng 4.2.</b> Các đặc điểm lâm sàng phổ biến của bệnh nhân nhiễm nấm <i>T.marneffeii</i> ..	88
<b>Bảng 4.3.</b> So sánh giá trị trung vị của Mp1p huyết thanh và nước tiểu .....	92

## DANH MỤC HÌNH

<b>Hình 1.1.</b> Các cột mốc quan trọng về diễn tiến dịch tễ bệnh do nấm <i>T.marneffe</i> .....	7
<b>Hình 1.2.</b> Đặc điểm phân bố <i>T.marneffe</i> ở khu vực Đông Nam Á.....	8
<b>Hình 1.3.</b> Các hình thái của nấm <i>Talaromyces marneffe</i> .....	11
<b>Hình 1.4.</b> Mp1p tập trung trên thành tế bào <i>T.marneffe</i> dưới kính hiển vi điện tử miễn dịch ở các hình dạng: hạt men (A), bào tử đính (B) và dạng sợi (C).....	16
<b>Hình 1.5.</b> Sơ đồ và hình ảnh chứng minh Mp1p là mannoprotein sinh độc lực quan trọng của <i>T.marneffe</i> .....	18
<b>Hình 1.6.</b> Sơ đồ tìm hiểu về đặc tính sinh độc lực mannoprotein Mp1p của nấm <i>T.marneffe</i> .....	19
<b>Hình 1.7.</b> Tổn thương da trên bệnh nhân HIV nhiễm nấm <i>T.marneffe</i> lan tỏa .....	23
<b>Hình 1.8.</b> Biểu hiện lâm sàng bệnh do nấm <i>T.marneffe</i> và IRIS tại BV.BNĐ [102] ..	24
<b>Hình 1.9.</b> Hình ảnh nấm <i>T.marneffe</i> ở môi trường nuôi cấy .....	25
<b>Hình 1.10.</b> Phản ứng sandwich ELISA-Mp1p .....	29
<b>Hình 1.11.</b> Lượng giá độ nhạy và độ đặc hiệu của kháng nguyên Mp1p.....	33
<b>Hình 2.1.</b> Minh họa phản ứng ELISA Mp1p sử dụng đĩa 96 giếng .....	50
<b>Hình 3.1.</b> Bản đồ mật độ Mp1p huyết thanh > 0,2 OD theo nơi cư ngụ trên 100.000 người nhiễm HIV .....	63
<b>Hình 3.2.</b> Thang điểm đánh giá nguy cơ nhiễm nấm <i>Talaromyces marneffe</i> khi không thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p .....	80
<b>Hình 3.3.</b> Thang điểm đánh giá nguy cơ nhiễm nấm <i>Talaromyces marneffe</i> khi thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p .....	83

## DANH MỤC BIỂU ĐỒ

<b>Biểu đồ 1.1.</b> Số ca nhiễm <i>T. marneffei</i> trên bệnh nhân HIV/AIDS nhập viện tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới từ năm 1996-2009.....	10
<b>Biểu đồ 3.1.</b> Đặc điểm phân bố vi sinh sang thương da của mẫu nghiên cứu (n = 83).....	59
<b>Biểu đồ 3.2.</b> Đặc điểm phân bố vi sinh trong máu của mẫu nghiên cứu (n = 126).....	60
<b>Biểu đồ 3.3.</b> Phân bố nồng độ Mp1p ở huyết thanh và nước tiểu ở nhóm bệnh nhân nhiễm nấm <i>Talaromyces marneffei</i> (n = 70).....	63
<b>Biểu đồ 3.4.</b> Phân bố nồng độ Mp1p ở huyết thanh và nước tiểu giữa 2 nhóm bệnh Tm (+) và NTCH khác.....	65
<b>Biểu đồ 3.5.</b> Phân bố nồng độ Mp1p ở huyết thanh và nước tiểu ở nhóm bệnh nhân Tm (+) theo vị trí phân lập của Tm .....	66
<b>Biểu đồ 3.6.</b> Phân bố nồng độ Mp1p huyết thanh và nước tiểu theo độ nặng của Tm (n = 70) .....	67
<b>Biểu đồ 3.7.</b> Diện tích dưới đường cong của Mp1p huyết thanh chẩn đoán <i>T.marneffei</i> (AUC = 0,93; KTC 95%: 0,88-0,98; p <0,001) .....	72
<b>Biểu đồ 3.8.</b> Diện tích dưới đường cong của Mp1p nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm <i>T.marneffei</i> (AUC = 0,92; KTC 95%: 0,87-0,98; p <0,001) .....	73
<b>Biểu đồ 3.9.</b> Xác suất phát triển thành nấm <i>T.marneffei</i> hoặc tử vong sau 6 tháng theo dõi ở các trường hợp Mp1p $\geq 0,2$ OD, cấy âm tính lúc nhập viện (n = 14) .....	76

**DANH MỤC SƠ ĐỒ**

<b>Sơ đồ 2.1.</b> Nguyên lý xét nghiệm PAbs-MAb ELISA Mp1p .....	48
<b>Sơ đồ 2.2.</b> Qui trình xét nghiệm ELISA PAbs-MAb Mp1p .....	49
<b>Sơ đồ 2.3.</b> Quy trình nghiên cứu .....	53
<b>Sơ đồ 3.1.</b> Kết quả quá trình nghiên cứu .....	57
<b>Sơ đồ 3.2.</b> Sơ đồ theo dõi những trường hợp có Mp1p $\geq 0,2$ OD nhưng không phân lập được <i>T.marneffei</i> (n = 22) .....	75

## MỞ ĐẦU

Nhiễm HIV/AIDS vẫn còn là gánh nặng sức khỏe toàn cầu mặc dù đã có nhiều bước tiến trong chẩn đoán, điều trị và dự phòng kể từ khi vi rút HIV được phát hiện vào những năm 1980. Ước tính có khoảng 36,7 triệu người đang sống chung với HIV trên toàn thế giới, trong đó có gần 1 triệu trường hợp tử vong liên quan đến các nhiễm trùng cơ hội giai đoạn AIDS mỗi năm [51].

Góp phần làm tăng tỉ lệ tử vong này là bệnh lý nhiễm nấm *Talaromyces marneffeii* (*T.marneffeii*), đặc biệt được ghi nhận ở các quốc gia Châu Á, đứng hàng thứ 3 sau bệnh lao và bệnh do nấm *Cryptococcus neoformans* [81]. Đây là một bệnh lý nhiễm nấm toàn thân, dễ xảy ra khi bệnh nhân có số lượng TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup> [119], nên các biểu hiện thường gặp là sụt cân, gan lách lớn, hạch to, giảm tiêu cầu, sốt kéo dài. Các triệu chứng này không đặc hiệu và dễ trùng lặp với các nhiễm trùng cơ hội khác như bệnh lao, bệnh do nấm *Histoplasma capsulatum* hay bệnh do nấm *C.neoformans* [95]. Còn các biểu hiện sẩn da có hoại tử trung tâm ở mặt hoặc toàn thân, được xem là triệu chứng đặc trưng giúp nhận diện nhiễm nấm *T.marneffeii* thì chỉ gặp được trong 71% các trường hợp [95]. Các yếu tố này dẫn đến việc chậm trễ chẩn đoán, chậm trễ điều trị, và mặc dù có thuốc điều trị kháng nấm, tỉ lệ tử vong có thể tăng đến 20% - theo tác giả Thuy Le và cs (2011) [108].

Chẩn đoán xác định nhiễm nấm *T.marneffeii* dựa vào kết quả phân lập được tác nhân nấm trong máu, tại sang thương da, hạch bạch huyết hoặc từ các dịch cơ thể. Tuy nhiên, kết quả vi sinh thường chậm trễ và tỉ lệ phân lập thay đổi theo từng bệnh phẩm nên ảnh hưởng đến việc khẳng định chẩn đoán và kết quả điều trị. Một số nghiên cứu ghi nhận tỉ lệ phân lập *T.marneffeii* trong máu và sang thương da lần lượt là 76% và 84% [99],[108]. Như vậy, có khoảng 15-20% bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffeii* không được nhận diện bằng các xét nghiệm bệnh phẩm thường quy. Đối với những trường hợp này, chẩn đoán xác định có thể dựa vào cấy tủy xương khi bệnh cảnh lâm sàng gợi ý, và theo tác giả Wong và cs (2011) tỉ lệ phân lập nấm trong tủy xương đạt 100% ở các bệnh nhân

nhiễm *T.marneffei*. Tuy nhiên, chọc hút tủy xương là thủ thuật xâm lấn và chủ yếu chỉ thực hiện được ở các bệnh viện chuyên khoa huyết học [119].

Giải quyết các bất lợi này, các tác giả đã nghiên cứu sử dụng kỹ thuật ELISA để phát hiện kháng nguyên nấm *T.marneffei*. Tác giả Desakorn V và cs dùng ELISA và ngưng kết hạt latex đo kháng nguyên *T.marneffei* trong nước tiểu từ năm 1999 [39]. Sau đó Panichakul T. và cs (2002) tại Thái lan, khi dùng phương pháp sandwich ELISA phát hiện kháng nguyên hòa tan *T.marneffei* dựa vào kháng thể đơn dòng (MAb-monoclonal antibody) cho thấy độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương và giá trị tiên đoán âm lần lượt là 72%, 100%, 100% và 97% [83].

Gần đây hơn các tác giả sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử Taqman real time PCR để phát hiện gen Mp1 (**Mannoprotein 1**) – là gen mã hóa protein vách của *T. marneffei* [117] - từ các bệnh phẩm. Tuy vậy, các nghiên cứu cho thấy phương pháp này không giúp tăng khả năng chẩn đoán bệnh so với các kỹ thuật vi sinh thông thường, với độ nhạy từ 70% đến 77% và độ đặc hiệu 100% [56], [76]. Sự cải tiến về mặt kỹ thuật là sử dụng cùng lúc kháng thể đơn dòng MAb (Monoclonal Antibody) và kháng thể đa dòng PAb (Polyclonal Antibody) để phát hiện và nhận định đồng thời kháng nguyên và kháng thể Mp1p của *T.marneffei* từ nhóm tác giả Wang và cs (2011) tại Trung Quốc là bước đầu để lưu ý hơn về giá trị chẩn đoán của xét nghiệm này: độ nhạy 75%, độ đặc hiệu 99,4%, giá trị tiên đoán dương 83,3% và giá trị tiên đoán âm là 99,1% với ngưỡng cắt mật độ quang là 0,208 OD [117]. Kết quả này chưa thật sự đủ thuyết phục các nhà lâm sàng do cỡ mẫu của nghiên cứu này còn khá nhỏ (20 bệnh nhân nhiễm *T.marneffei* so với 549 trường hợp chứng). Tại Việt Nam, với nhu cầu cần có một kỹ thuật xét nghiệm giúp nhận diện sớm nấm *T.marneffei* nhằm khởi động điều trị kịp thời, tác giả N.T.M.Thu và cs (2017) đã sử dụng kỹ thuật này khảo sát hồi cứu trên 372 mẫu bệnh phẩm lưu trữ từ các bệnh nhân đã được khẳng định nhiễm *T.marneffei* qua cấy vi sinh, so sánh với 517 ca chứng không nhiễm loại nấm này. Kết quả đạt được là độ nhạy, độ đặc hiệu, độ chính xác lần lượt là 86%, 98% và 95% với điểm cắt là 0,5 OD, [18]. Xét nghiệm ELISA Mp1p với ngưỡng cắt này đã có thể được ứng dụng trên lâm sàng chưa? Yếu tố nào có liên quan đến nồng độ Mp1p? Chúng ta có thể phối hợp xét nghiệm ELISA Mp1p với các dữ liệu



lâm sàng để có thể giúp xây dựng mô hình chẩn đoán *T.marneffeii* sớm hay không? Với nghiên cứu hồi cứu này, các dữ liệu lâm sàng không đầy đủ và mẫu bệnh phẩm lưu trữ có thể ảnh hưởng đến kết quả phản ứng ELISA. Giới hạn của đề tài trên gợi lên cho chúng tôi sự cần thiết thực hiện đánh giá lại độ chính xác của xét nghiệm, thực hiện tiền cứu cụ thể trên các bệnh nhân HIV/AIDS bị nhiễm *T.marneffeii*, tìm hiểu các yếu tố liên quan đến giá trị xét nghiệm và đồng thời tìm cách xây dựng mô hình chẩn đoán phù hợp, từ đó góp phần xây dựng một chiến lược quản lý bệnh do nấm *T.marneffeii* tốt hơn tại Việt nam.

## MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

### MỤC TIÊU TỔNG QUÁT

Xác định giá trị xét nghiệm Mp1p huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm *T.marneffeii* ở bệnh nhân AIDS có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup>.

### MỤC TIÊU CỤ THỂ

1. Mô tả phân bố và các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p trong huyết thanh và nước tiểu ở bệnh nhân AIDS có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup>.
2. Xác định giá trị chẩn đoán và giá trị dự báo nhiễm nấm *T.marneffeii* của xét nghiệm ELISA Mp1p huyết thanh và nước tiểu ở bệnh nhân AIDS có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup>.
3. Xây dựng mô hình chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* dựa trên xét nghiệm ELISA Mp1p ở bệnh nhân AIDS có TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup>

## Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### 1.1. Bệnh lý nhiễm HIV và hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (AIDS)

Vi rút HIV (Human Immunodeficiency Virus), phát hiện đầu tiên vào năm 1983, là tác nhân quan trọng được biết gây nên tình trạng suy giảm miễn dịch cho cơ thể người. [50]. HIV lây truyền chủ yếu qua quan hệ tình dục không an toàn, truyền máu hoặc các chế phẩm của máu, dùng chung kim tiêm và từ mẹ sang con [33],[61]. Sau khi lây nhiễm vào tế bào của hệ miễn dịch, HIV tiêu hủy hoặc làm suy yếu chức năng của hệ miễn dịch, được thể hiện bằng sự suy giảm số lượng và chất lượng của các tế bào lympho TCD4<sup>+</sup>. Khi số lượng tế bào TCD4<sup>+</sup> giảm dưới 200 tế bào/mm<sup>3</sup>, người bệnh sẽ chuyển qua giai đoạn AIDS và dễ mắc các bệnh nhiễm trùng cơ hội, ung thư.

AIDS (Acquired immunodeficiency syndrome - Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải) là giai đoạn tiên triển nhất của tình trạng nhiễm HIV. Diễn tiến sang giai đoạn AIDS phụ thuộc vào sự tác động của vi rút, cơ thể vật chủ và yếu tố môi trường, hầu hết là trong vòng 10 năm sau khi nhiễm HIV. Điều trị bằng thuốc kháng retrovirus (ARV) có thể làm chậm tiến trình của bệnh và kéo dài tuổi thọ của người bị nhiễm HIV [24],[92]. Ngoài tình trạng giảm số lượng TCD4<sup>+</sup>, giai đoạn AIDS còn được nhắc đến khi bệnh nhân mắc phải các nhiễm trùng cơ hội như viêm phổi do *Pneumocystis jirovecii*, viêm màng não do *Cryptococcus neoformans*, nhiễm Toxoplasma hệ thần kinh trung ương, bệnh do nấm lan tỏa (*Penicillium, Histoplasma...*), lao ngoài phổi...Nếu không được điều trị sớm và đúng đắn, các nhiễm trùng cơ hội này chính là nguyên nhân dẫn đến tử vong ở bệnh nhân HIV [2]

### 1.2. Tình hình dịch HIV/AIDS tại Việt Nam

Trường hợp nhiễm HIV đầu tiên được chẩn đoán tại Việt Nam vào năm 1990 Đến cuối năm 2019, ước tính 221981 người nhiễm Hiv còn sống và 103406 người nhiễm Hiv đã tử vong. Dịch HIV ở Việt Nam được ghi nhận tập trung chủ yếu ở nhóm hành vi nguy cơ lây nhiễm cao là quan hệ tình dục không an toàn từ 63,2% lên 67,2%. Đặc biệt sự gia tăng tỉ lệ lây nhiễm HIV trong nhóm nam quan hệ tình dục đồng giới trẻ tuổi sẽ là nhóm nguy cơ nhiễm HIV chính tại Việt Nam [3].

Việt Nam đã có những bước tiến trong điều trị và quản lý nhiễm HIV/AIDS. Cuối năm 2019, gần 130000 bệnh nhân được tiếp cận ARV. Gần 72000 bệnh nhân được xét nghiệm tải lượng vi rút HOV định kỳ với 96% trường hợp HIVRNA < 1000 copies/mL [3]. Các phác đồ điều trị nhiễm trùng cơ hội chuẩn mực cũng được đưa ra. Tỷ lệ nhiễm HIV trong nhóm người tiêm chích ma túy và phụ nữ bán dâm đã giảm đáng kể nhờ những hoạt động can thiệp dự phòng. Tuy nhiên, tỷ lệ hiện mắc còn cao, số lượng TCD4<sup>+</sup> thấp trước điều trị cho thấy rằng HIV và nhiễm trùng cơ hội liên quan đến HIV vẫn còn là vấn đề sức khỏe cộng đồng quan trọng mà Việt Nam cần phải đương đầu trong thập kỷ tới [7], [80].

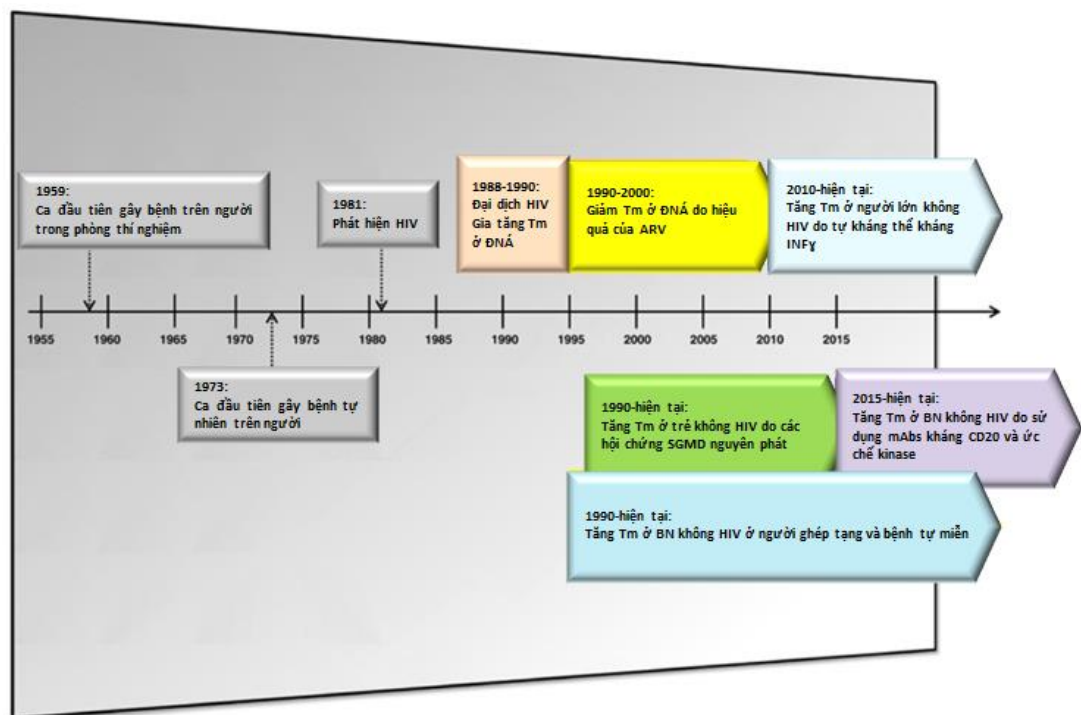
### **1.3. Dịch tễ bệnh do nấm *Talaromyces marneffe***

#### **1.3.1. Lịch sử bệnh do nấm *Talaromyces marneffe***

*Talaromyces marneffe* (*T.marneffe*) là nấm lưỡng hình gây bệnh chỉ điểm trên bệnh nhân AIDS ở khu vực Đông Nam Á. Trước năm 2011, *T. marneffe* được biết rộng rãi với danh pháp *Penicillium marneffe* do cấu trúc mang bào tử điển hình thuộc nhóm *Penicillium*. Mầm bệnh được phân lập đầu tiên trên một loài chuột tre (*Rhizomys sinensis*) trong lúc sử dụng loài chuột này cho mô hình thử nghiệm *Rickettsia tsutsugamushi* tại viện Pasteur Đà Lạt, Việt Nam vào năm 1956 [29]. Một số báo cáo cho thấy rằng vùng hiện diện của tác nhân *Penicillium* chính là vùng nhiệt đới: Đông Nam Châu Á, bắc Ấn Độ, QuangXi Trung quốc, Việt Nam, Thái Lan, Taiwan, Hong Kong... nơi mà được ghi nhận vừa có nhiễm trùng ở người và nhiễm trùng ở các loại gặm nhấm, đặc biệt là chuột tre. Tần suất nhiễm *Penicillium* này ở chuột tre khá cao, nên các loại gặm nhấm này được gọi ý là một yếu tố dịch tễ quan trọng cho chu kỳ sản sinh của *P. marneffe* [26]. Đặc điểm mô bệnh học cho thấy nhiễm trùng tập trung chủ yếu tại hệ võng nội mô, bao gồm gan, lách, hạch với các tế bào khổng lồ chứa nấm hạt men bên trong. Đặc điểm này gần giống với nhiễm nấm *Histoplasma capsulatum* và nhiễm ký sinh trùng *Leishmania spp.* Dựa trên phân loại thực vật học với 2 chủng nấm *Penicillium janthinellum* và *Penicillium citrinum*, tác giả Segretain đã đề xuất phân loại loài nấm gây bệnh mới vào họ *Penicillium*. Sau đó mầm bệnh được đặt tên *Penicillium marneffe*, theo

tên của viện trưởng viện Pasteur Đà Lạt - Hubert Marneffei. Tuy nhiên, sau này, dựa vào phân tích cây phả hệ và kiểu hình, sự biệt hóa của nấm, *Penicillium marneffei* được đổi tên thành *Talaromyces marneffei* [85].

Bệnh do nấm *Talaromyces marneffei* trên người được Segretain mô tả đầu tiên là một nhiễm trùng mắt phải trong phòng thí nghiệm khi ông tình cờ bị đâm kim vào ngón tay có chứa mầm bệnh khi đang tiêm vào chuột. Sau phơi nhiễm 9 ngày, ngón tay của ông xuất hiện một nốt nhỏ và viêm hạch nách. Nhiễm trùng được điều trị khỏi sau 30 ngày sử dụng nystatin đường uống. Tuy nhiên, nystatin được biết có sinh khả dụng qua đường uống cũng như khả năng chống lại *T.marneffei* rất kém, vì vậy thuốc hầu như không có khả năng điều trị khỏi nhiễm trùng của Segretain [93].



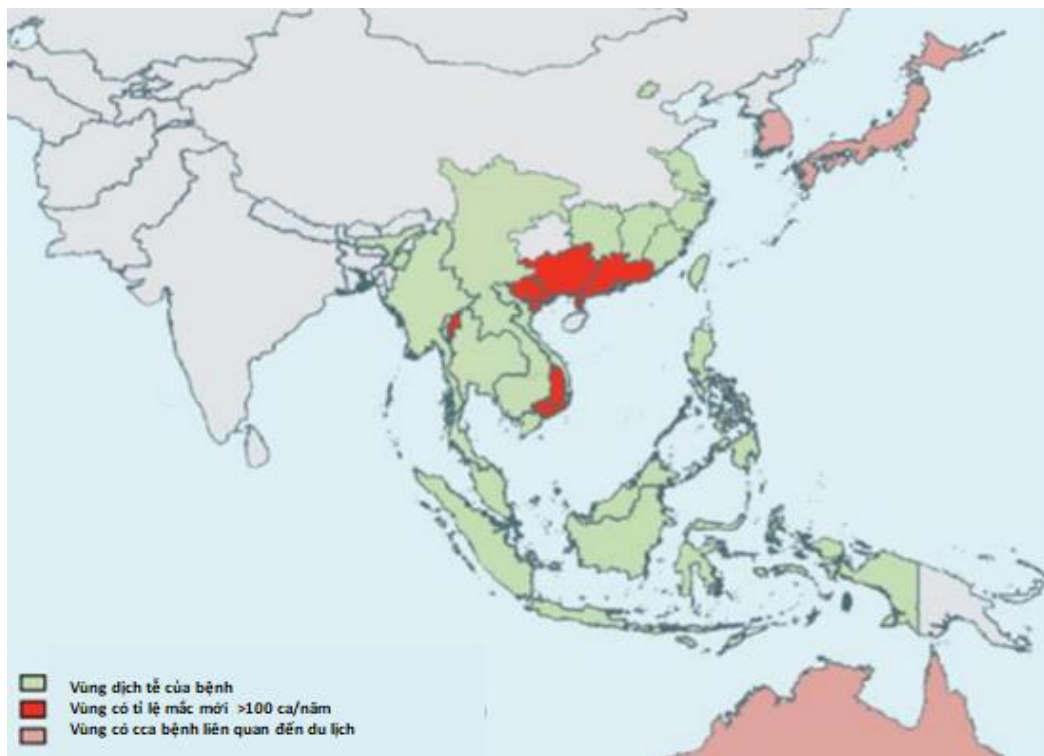
**Hình 1.1.** Các cột mốc quan trọng về diễn tiến dịch tễ bệnh do nấm *T.marneffei*

“Nguồn: Chan J.F.W, 2016” [36]

### 1.3.2. Tình hình bệnh do nấm *T.marneffe* trên thế giới và Việt Nam

#### 1.3.2.1. Tình hình bệnh do nấm *T.marneffe* trên thế giới

Trường hợp nhiễm *T.marneffe* tự nhiên trên người được báo cáo đầu tiên trên mục sư người Mỹ bị lymphoma Hodgkin vào năm 1973. Trong thời gian hóa trị, bệnh nhân đến vùng Đông Nam Á và phát bệnh khoảng 1 năm sau đó. *T. marneffe* được phân lập từ mẫu tử thiết gan hoại tử [47]. Trường hợp nhiễm nấm *T.marneffe* thứ hai được Pautler K.B. báo cáo vào năm 1984. Bệnh nhân có biểu hiện ho ra máu tái phát và được cắt bỏ thùy phổi. Kết quả bệnh học cho thấy hình ảnh u hạt với nấm hạt men và được cấy định danh là *T.marneffe* [84]. Từ năm 1984 đến năm 1988, các trường hợp bệnh bắt đầu xuất hiện ở châu Á. Jayanetra P. báo cáo 5 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffe* ở Bangkok và Deng ZL. ghi nhận 8 trường hợp ở Trung Quốc [44],[59].



**Hình 1.2.** Đặc điểm phân bố *T.marneffe* ở khu vực Đông Nam Á

“Nguồn: Limper.A.H, (2017)” [73]

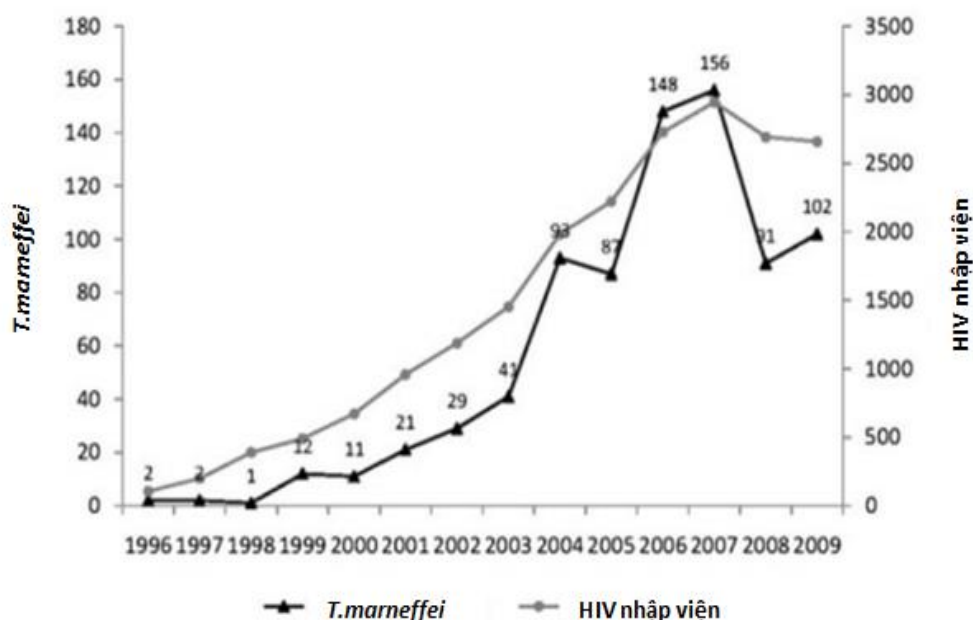
Ở bệnh nhân HIV, nhiễm nấm *T.marneffe* được chẩn đoán đầu tiên vào năm 1989 và bắt đầu gia tăng ở Thái Lan, Cambodia, Malaysia, Việt Nam, Hồng Kông, Đài Loan,

Trung Quốc và Ấn Độ [81],[96]. Sau đó, tác nhân gây bệnh này được xem là bệnh chỉ điểm nhiễm HIV khi TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup> [69]. Theo Supparatpinyo K và cs (1994) nhiễm nấm *T.marneffe* chiếm 20% các trường hợp AIDS nhập viện, chỉ đứng sau lao và viêm màng não nấm *C.neoformans* ở Chiang Mai [99]. Còn theo Wong KH. và cs (1998), bệnh do nấm *T.marneffe* chiếm 10% các trường hợp AIDS nhập viện, xếp sau viêm phổi do *Pneumocystis jiroveci* (PCP) và lao ở Hồng Kông [118] Các trường hợp nhiễm nấm *T.marneffe* trên cơ địa suy giảm miễn dịch gia tăng ngoài vùng bệnh lưu hành như Bỉ, Pháp, Đức, Hà Lan, Thụy Điển, Anh, Mỹ, Úc, Nhật sau khi bệnh nhân di chuyển đến khu vực Đông Nam Á [22],[32],[81],[82]. Yếu tố còn được lưu ý nữa là tỉ lệ tử vong do *T.marneffe* vẫn còn ở mức cao dù được điều trị thuốc kháng nấm thích hợp. Theo Rathakarn Kawila và cs (2013), tỉ lệ tử vong do *T.marneffe* trên bệnh nhân HIV/AIDS khoảng 20,7% [85].

### 1.3.2.2. Tình hình bệnh do nấm *T.marneffe* tại Việt Nam

Bệnh nhân đầu tiên được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe* tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới TP HCM vào năm 1996. Biểu hiện lâm sàng chính bao gồm sụt cân, nấm miệng, hạch cổ, sẩn da toàn thân có hoại tử trung tâm, thiếu máu với dung tích hồng cầu 12%. Bệnh nhân được xuất viện theo yêu cầu gia đình và tử vong sau 10 giờ xuất viện. Kết quả xét nghiệm máu sau đó cho thấy HIV dương tính và cấy máu phân lập được *T.marneffe*. Những trường hợp còn lại tiếp tục được chẩn đoán vào năm 1997 và năm 1998. Năm 2001, 4,3% bệnh nhân nhiễm HIV nhập viện được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe* tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới [57],[58]. Tỉ lệ nhiễm nấm *T.marneffe* tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới Trung Ương Hà Nội được ghi nhận là 5,59% vào năm 2008 [9]. Theo Vu H.V. và cs (2010), 11% bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffe* được ghi nhận tại Bệnh viện Việt Tiệp, Hải Phòng [115]. Tỉ lệ tử vong liên quan đến nhiễm nấm *T.marneffe* dao động từ 6,3%-13% [1]. Theo Thuy Le và cs (2011), tỉ lệ tử vong do nấm *T.marneffe* khoảng 20% [108]. Trong khi đó V.T.Son (2014) ghi nhận 33% trường hợp nhiễm HIV/AIDS tử vong liên quan đến nhiễm *T.marneffe* [109]. Các nghiên cứu trên cho thấy rằng nhiễm nấm *T.marneffe* vẫn còn là gánh nặng nhiễm trùng cơ hội ở bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS với tỉ lệ tử vong cao ở Việt Nam. Ngoài nguyên nhân là bệnh

nhân đã ở trong giai đoạn suy giảm miễn dịch nặng, còn có thể là do các kỹ thuật chẩn đoán hiện tại vẫn chưa đáp ứng được việc phát hiện sớm các trường hợp bệnh, nhằm khởi động sử dụng thuốc kháng nấm kịp thời.



**Biểu đồ 1.1.** Số ca nhiễm *T. marneffei* trên bệnh nhân HIV/AIDS nhập viện tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới từ năm 1996-2009

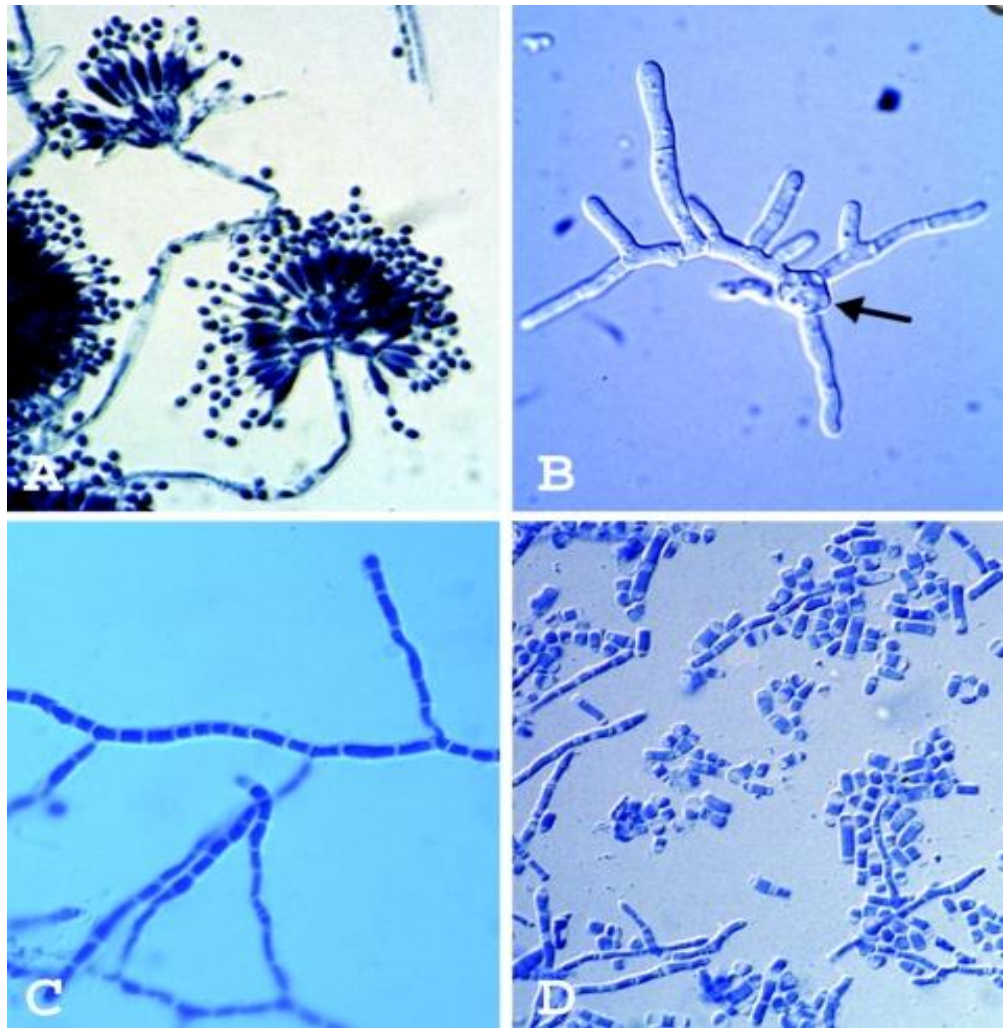
“Nguồn: Le.T., (2017)” [108]

#### 1.4. Đặc điểm vi nấm của *Talaromyces marneffei*

##### 1.4.1. Đặc điểm vi sinh của nấm *T.marneffei*

*Penicillium marneffei* thuộc giống *Penicillium* phân chi *Biverticillium* [74]. Vào năm 2011, phân loại này thay đổi khi dựa theo các phân tích cây phả hệ. Dữ liệu giải trình tự gen tiểu đơn vị lớn nhất của RNA polymerase II (*RPB1*) kết hợp với kiểu hình và extrolite, một hợp chất hóa học được tạo ra trong quá trình biệt hóa của nấm [91]. Kết quả nghiên cứu cho thấy *Penicillium* phân chi *Biverticillium* khác biệt với các loài *Penicillium* còn lại ở mức độ di truyền nhưng lại tương đồng với *Talaromyces*. Do vậy, *Penicillium* phân chi *Biverticillium* được kết hợp với chi *Talaromyces* để tạo thành một nhóm đơn ngành (monophyletic group). Từ thời gian này, *Penicillium marneffei* được định danh dưới tên mới là *Talaromyces marneffei* [90],[113].





**Hình 1.3.** Các hình thái của nấm *Talaromyces marneffeii*

(A): Cuống bào tử đỉnh (Conidiophores) sinh sản thể bình (phialides) và các chuỗi bào tử đỉnh (conidia). (B): Giai đoạn sớm của nấm sợi ở nhiệt độ 37°C. (C): Nấm sợi hình thành các bào tử đốt (arthroconidiogenesis) ở nhiệt độ 37°C. (D) Bào tử đốt và một vài nấm sợi phân nhánh. “Nguồn: Nongnuch.V., (2006)” [81]

*Talaromyces marneffeii* là loài nấm hoại sinh duy nhất trong số 354 loài *Penicillium* biểu hiện sự tăng trưởng lưỡng hình phụ thuộc nhiệt độ [113]. Ở nhiệt độ 25°C, nấm tập trung thành cụm màu hơi xanh xám, phát triển nhanh. Trong quá trình hình thành khuẩn lạc, *T.marneffeii* tạo ra sắc tố đỏ đặc trưng, khuếch tán vào môi trường thạch Sabouraud. Tính chất này được cho là tiêu chuẩn có giá trị chẩn đoán *T.marneffeii*. Trên kính hiển vi, ghi nhận hình dạng nấm sợi có vách ngăn, sinh cuống bào tử đỉnh

(conidiophores) và bào tử đỉnh (conidia). Đặc tính này tương tự với các loài *Penicillium* khác. Ở nhiệt độ 37°C, trên môi trường nhân tạo hoặc trong các mô của người, *T.marneffeii* phát triển dạng nấm hạt men. Nấm nội bào có kích thước từ 2 đến 3 µm trong khi nấm ngoại bào có thể kéo dài đến 10 µm. Chúng sinh sản bằng cách trực phân (binary fission) như vi khuẩn, không theo cách nảy chồi (budding) như những loài nấm hạt men khác. Sự phát triển phụ thuộc nhiệt độ là một đặc tính quan trọng giúp chẩn đoán *T.marneffeii*. Trái ngược với *T.marneffeii*, các loài *Penicillium* khác không có tính lưỡng hình và giống với *Aspergillus* hơn, với dạng sợi nấm ở mô [81].

Nghiên cứu đặc tính sinh hóa của *T.marneffeii* dựa trên các hoạt động của enzym. Cả hai hình thái của nấm *T.marneffeii* đều có phosphatase kiềm và phosphatase axit, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, không có trypsin, chymotrypsin, α-fucosidase. Esterase, lipase và galactosidase cũng được tìm thấy trong một số mẫu phân lập. Dựa vào những đặc tính sinh hóa, 17 tuýp sinh học khác nhau của *T.marneffeii* đã được công nhận [128].

#### 1.4.2. Đặc điểm sinh thái của nấm *T.marneffeii*

Nguồn chứa tự nhiên cũng như cách thức lây truyền nấm *T.marneffeii* trên người vẫn còn chưa xác định rõ trong khi một số nấm lưỡng hình gây bệnh khác trên người đã được xác định như *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis* và *Sporothrix schenckii*. Các giả thiết cho rằng nhiễm nấm *T.marneffeii* là hậu quả lây truyền từ động vật (zoonosis) hoặc từ môi trường chứa nấm hoại sinh (environmental sapronosis) hoặc cả hai (zoono-sapronosis).

Cho đến nay, chuột tre và người là 2 ký chủ tự nhiên duy nhất của *T.marneffeii*. Các loại chuột được ghi nhận có phân lập được *T.marneffeii* là *Rhizomys sisnesis*, *Rhizomys pruinusus*, *Rhizomys sumatrensis* và *Cannomys badius*. Tỷ lệ nhiễm nấm *T.marneffeii* ở các loài chuột tre từ 10%-100% phụ thuộc vào yếu tố ký chủ và yếu tố địa lý [81]. Sự phân bố địa lý các trường hợp nhiễm nấm *T.marneffeii* trên người và vùng sinh sống của các chủng chuột tre khá giống nhau. Điều này có thể được giải thích theo hai cách, hoặc chuột tre là ký chủ động vật bắt buộc trong vòng đời phát triển của nấm

*T.marneffe* hoặc chuột tre và *T.marneffe* cùng chọn môi trường sống giống nhau và chuột tre bị nhiễm *T. marneffe* là kết quả của sự “lạc chủ”.

Đường lây nhiễm *T.marneffe* được cho là do con người hít phải bào tử nấm trong không khí. Giả thuyết này bắt nguồn từ trường hợp nhiễm *T.marneffe* từ phòng thí nghiệm ở Paris, Pháp trên một người có tình trạng suy giảm miễn dịch và không có tiền sử du lịch đến vùng dịch tễ. Mặc dù không trực tiếp thao tác trên chủng trong phòng thí nghiệm nhưng nhân viên này có biểu hiện nhiễm *T.marneffe* sau đó [93]. Nghiên cứu mối liên quan giữa các yếu tố môi trường và tỉ lệ nhiễm bệnh, một nghiên cứu bệnh chứng tại Thái Lan cho thấy chuột tre không phải là yếu tố nguy cơ nhưng ghi nhận tuổi và nghề nông là hai yếu tố nguy cơ độc lập làm tăng nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffe* [38]. Theo Chariyalertsak.S và cs (1996), yếu tố theo mùa và phơi nhiễm với đất là hai yếu tố quan trọng liên quan tỉ lệ nhiễm *T.marneffe* [40]. Kết quả nghiên cứu này không khác biệt với Thuy Le và cs (2011) khi ghi nhận số ca nhiễm nấm *T.marneffe* tăng khoảng 30% vào tháng 8, tương ứng với mùa mưa tại miền nam Việt Nam [108].

Mặc dù các kết quả nghiên cứu đều ủng hộ *T.marneffe* là tác nhân gây bệnh từ môi trường hơn là từ động vật truyền sang người, tuy nhiên hầu hết các nghiên cứu phân lập nấm *T.marneffe* từ đất đều thất bại. Nghiên cứu của Vanittanakom N. (1995) trong phòng thí nghiệm cho thấy khả năng cạnh tranh *T.marneffe* trong mẫu đất tự nhiên thấp hơn nhiều lần so với mẫu đất đã tiệt trùng (6% so với 85%) [112]. Chariyalertsak.S (1996) tại Chiang Mai cho thấy chỉ phân lập được 1 trong 28 mẫu đất lấy từ hang chuột tre của *Rhizomys sumatrensis* và *Cannomys badius*. Các đặc tính về vi nấm của *T.marneffe* phân lập từ các loài chuột tre và người tương tự nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy *Rhizomys sumatrensis* và *Cannomys badius* có thể là ký chủ động vật quan trọng trong nhiễm nấm *T.marneffe* ở phía bắc Thái Lan [39].

Các kết quả nghiên cứu trái ngược nhau về nguồn chứa tự nhiên cũng như cách thức lây truyền nấm *T.marneffe* trên người đòi hỏi cần có nhiều nghiên cứu hơn về dịch tễ của bệnh.

## 1.5. Cơ chế bệnh sinh của nấm *T.marneffe*

### 1.5.1. Đặc điểm sinh bệnh học của nấm *T.marneffe*

*T.marneffe* được cho là tác nhân gây bệnh phổi tiên phát do hít phải bào tử nấm từ môi trường, sau đó lan sang các cơ quan khác qua đường máu. Độ nặng của bệnh phụ thuộc vào tình trạng miễn dịch của cơ thể vật chủ. Các tác giả ở Thái lan đã so sánh các biểu hiện lâm sàng cũng như các yếu tố tiên lượng của nhiễm nấm *T.marneffe* ở hai nhóm bệnh nhân HIV dương tính hay âm tính [85]. Trong nhóm HIV dương tính, nổi bật bởi tình trạng khởi bệnh nhanh chóng và triệu chứng trầm trọng nếu không được điều trị sớm. Các mô nhiễm nấm có thể biểu hiện những phản ứng mô bệnh học khác nhau. Ở các bệnh nhân suy giảm miễn dịch, có phản ứng hoại tử với đại thực bào và thâm nhiễm mô bào [48], [99]. Các tế bào nấm hạt men *T.marneffe* tồn tại ở cả môi trường nội và ngoại bào của cả đại thực bào, mô bào, phản ứng u hạt và mũ thường thấy trong phổi, da, gan và các mô dưới da [43], [59]. Ngoài ra, có thể quan sát thấy sự hình thành nhiều ổ áp xe và hoại tử trung tâm. Nhiễm nấm *T.marneffe* giống với nhiễm *Histoplasma capsulatum* vì cả hai mầm bệnh đều phát triển trong đại thực bào, gây viêm phổi cấp hay kéo dài, nhiễm trùng lan tỏa hay nhiễm trùng thứ phát[31], [81].

### 1.5.2. Đáp ứng miễn dịch trong nhiễm nấm *T.marneffe*

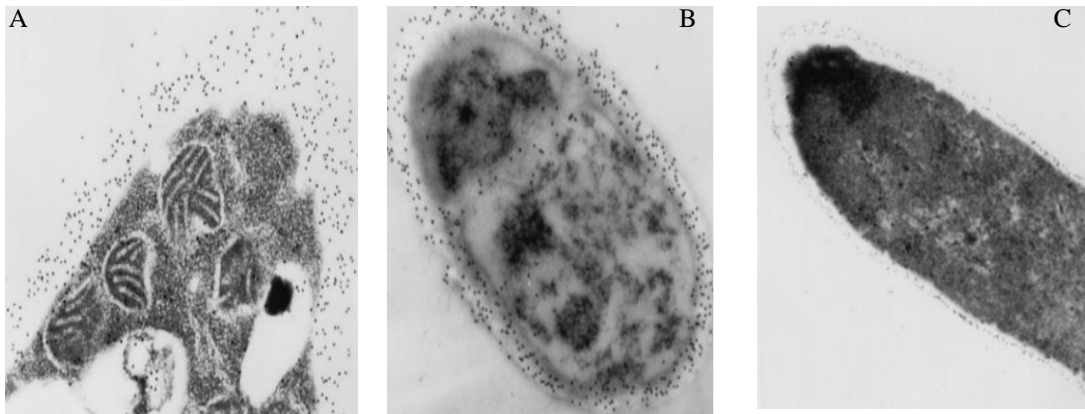
Cơ chế đáp ứng miễn dịch giữa vật chủ và nấm khi nhiễm *T.marneffe* vẫn chưa được hiểu rõ. Nhiễm trùng được cho là lây qua đường hô hấp khi hít phải bào tử đỉnh (conidia) có trong môi trường. Tuyến phòng ngự đầu tiên của hệ miễn dịch để đối phó với các bào tử đỉnh của nấm chính là các tế bào đại thực bào. Tuy nhiên, các bào tử đỉnh này được chứng minh có thể kết dính với laminin qua một quy trình phụ thuộc acid sialic là lectin. Laminin là một glycoprotein của lớp matrix ngoài tế bào, hiện diện ở các màng đáy [53], [54], [81]. Cách thức kết dính này có thể đóng một vai trò quan trọng trong sự bám dính của các bào tử đỉnh vào biểu mô phế quản phế nang trước khi bị tiêu hóa bởi các thực bào đơn nhân của vật chủ.

Nghiên cứu về tương tác giữa bạch cầu người và nấm hạt men *T.marneffe* của tác giả Rongrungruang Y. và cs (1999) cho thấy các đại thực bào có nguồn gốc từ tế bào

đơn nhân gắn và thực bào *T.marneffe* ngay cả khi không có phản ứng opsonin hóa, tình trạng gắn kết này phụ thuộc vào các cation hóa trị 2, các thụ thể nhận diện *T.marneffe* là một glycoprotein có phối nhiệm với nhóm N-acetyl-- $\beta$ -glucosaminyl. *T.marneffe* cũng có thể kích thích phản ứng bùng nổ của hệ hô hấp (respiratory burst), phản ứng phóng thích các hóa chất phản ứng từ các tế bào miễn dịch dù có hay không sự opsonin hóa và yếu tố hoại tử u alpha (Tumor necrosis factor-TNF- $\alpha$ ) [86]. Tương tự như những mầm bệnh nội bào khác, nấm *T.marneffe* chỉ có thể tồn tại trong đại thực bào khi có thể đề kháng lại các stress oxy hóa (oxidative stress). Cơ chế đề kháng của các tác nhân nội bào thường được biểu hiện bằng sự ức chế sản xuất các chất chuyển hóa oxygen phản ứng (reactive oxygen metabolites) hoặc bằng cách trung hòa các chất chuyển hóa ức chế của vật chủ (inhibitory host metabolites). Các nghiên cứu cho thấy nấm *T.marneffe* có thể sản xuất acid phosphatase, một trong những yếu tố độc lực của nấm nội bào, làm giảm pH của đại thực bào, giúp mầm bệnh trốn thoát kích thích phản ứng bùng nổ của hệ hô hấp (respiratory burst) và có thể sống sót, [128]. Trên các vật chủ khỏe mạnh, nhiễm nấm *T.marneffe* có thể khỏi trong vòng 2-3 tuần tùy thuộc vào số lượng vi nấm cấy truyền (inoculum size); Trong khi ở vật chủ bị suy giảm miễn dịch mất tế bào T, nhiễm nấm *T.marneffe* thường gây tử vong [64], [63]. Điều đó chứng tỏ rằng tế bào T, đặc biệt là tế bào TCD4<sup>+</sup> rất cần thiết để loại trừ nhiễm nấm *T.marneffe* trên ký chủ. Và ở bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS, điều này giải thích sự phát triển thành nấm lan tỏa ở các đối tượng này [101]. Cơ chế đáp ứng ở đây là sự hoạt hóa đại thực bào bằng các cytokin như gamma interferon (IFN- $\gamma$ ) có nguồn gốc từ tế bào T nhằm kiểm soát và loại bỏ tác nhân. Đây chính là đáp ứng miễn dịch thường gặp của vật chủ đối với các tác nhân gây bệnh nội bào [30], [62], [81].

### 1.5.3. Kháng nguyên mannoprotein Mp1p và đặc tính sinh độc lực của nấm *T.marneffe*

#### 1.5.3.1. Mp1p của nấm *T.marneffe*



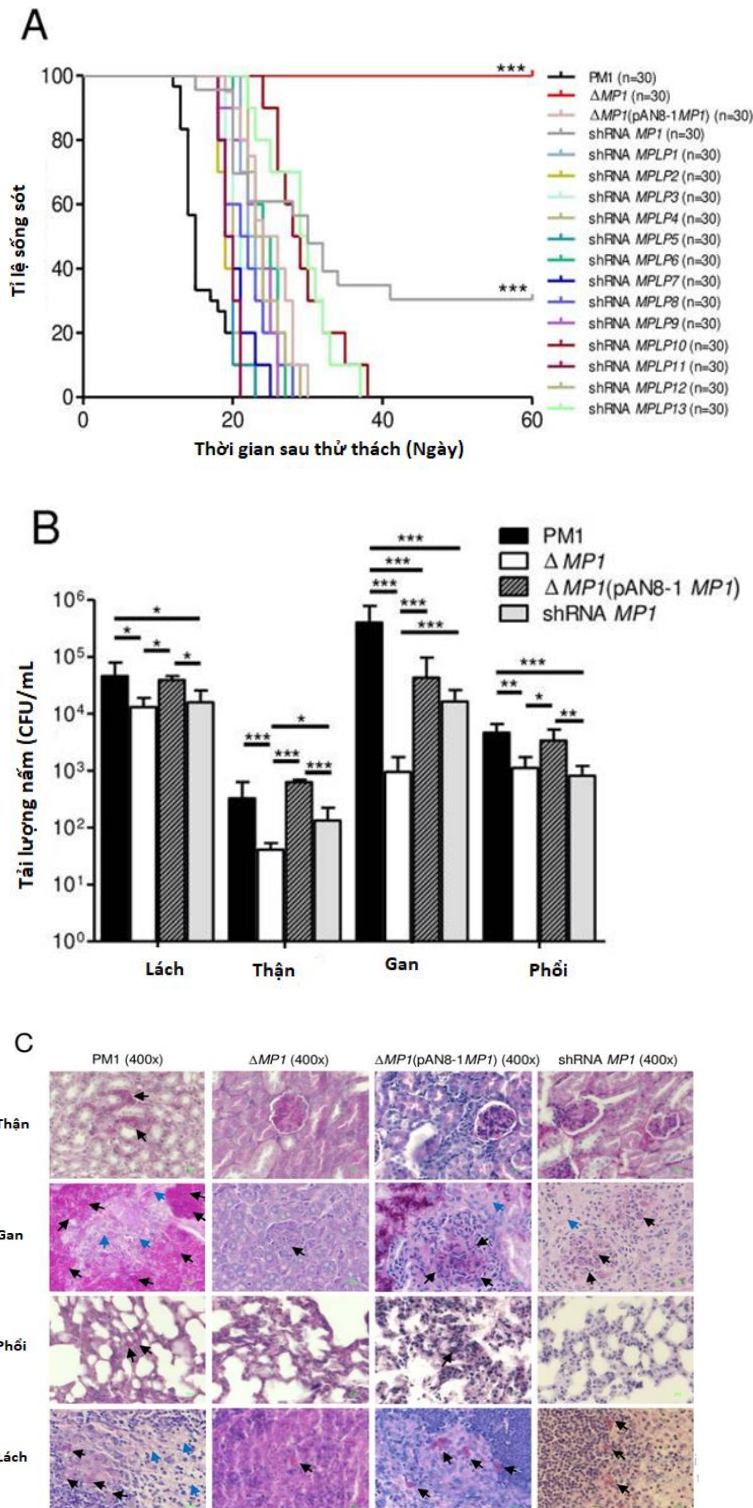
**Hình 1.4.** Mp1p tập trung trên thành tế bào *T.marneffe* dưới kính hiển vi điện tử miễn dịch ở các hình dạng: hạt men (A), bào tử đính (B) và dạng sợi (C)  
 “Nguồn: Cao.L. (1998)” [27]

Cao.L và cs (1998) đã xác định gen MP1 mã hóa để tạo ra một protein duy nhất (Mp1p) gồm 411 amino acid, có trọng lượng phân tử ước đoán 43 kDa. Đây là một mannoprotein, tập trung nhiều ở thành tế bào trong các hình thái của nấm *T.marneffe* như dạng hạt men, bào tử đính hay nấm sợi. Mannoprotein là một trong thành phần chính cấu tạo thành tế bào vi nấm và có nhiều chức năng sinh học khác nhau như quyết định hình dạng tế bào, hỗ trợ tăng trưởng và thay đổi hình dạng, cho phép gắn kết liên tế bào (sex agglutination), che bớt các lỗ hổng trên thành tế bào (porosity of the cell wall) [27]

#### 1.5.3.2. Thử nghiệm chứng minh đặc tính sinh độc lực của Mp1p

Các nghiên cứu gần đây cho thấy Mp1p là kháng nguyên sinh độc lực quan trọng của nấm *T.marneffe* khi tiến hành thực nghiệm trên mô hình chuột [67],[123]. Một số tác giả ghi nhận có sáu gen của nấm *Talaromyces marneffe* bao gồm sodA, cpeA, hsp70, alb1, pks11 và pks12 được xem là những gen tiềm năng mã hóa sinh

độc lực. Tuy nhiên, khi tiến hành gây đột biến trên mô hình thực nghiệm ở các gen alb1 (gen phụ trách sinh tổng hợp melanin), pks11 hoặc pks12 (gen phụ trách sinh tổng hợp acid mitorubrinic), tỉ lệ sống sót của chuột mang gen đột biến chiếm 10%-20%. Từ đó cho thấy alb1, pks11 và pks12 không phải là gen sinh độc lực chính của nấm *T.marneffei* [65],[121]. Các gen còn lại gồm sodA, cpeA và hsp70 ghi nhận biểu hiện khả năng sao mã cao bên trong đại thực bào nhiễm nấm *T.marneffei* gây stress oxy hóa (oxidative stress) đại thực bào cũng như giúp chuyển dạng nấm sợi tơ thành dạng nấm hạt men làm lan tràn nấm trong máu nhanh chóng. Tuy vậy, ba gen này không đặc trưng cho nấm *T.marneffei* do vẫn ghi nhận vai trò tương tự ở các loại nấm khác [65],[104]. Woo.P.C và cs (2016) tiến hành gây đột biến mất chức năng toàn phần và một phần trên gen Mp1 của nấm *T.marneffei* trên mô hình thực nghiệm ở chuột. Kết quả cho thấy với đột biến mất chức năng toàn phần gen Mp1 (Mp1 knockout mutant), tất cả chuột đều sống. Với đột biến mất chức năng bán phần gen Mp1 (partial knocking down of Mp1), tỉ lệ sống sót của chuột gia tăng có ý nghĩa trong khi 100% chuột đều tử vong so với kiểu gen Mp1 không đột biến. Tử thiết trên chuột ghi nhận mật độ nấm cao với cơ quan nội tạng hoại tử lớn ở nhóm mang gen Mp1 hoang dại so với 2 nhóm đột biến còn lại [123].



Đường cong biểu hiện sự sống còn của chuột Balb/c được thử nghiệm với *T.marneffeii* mang Mp1 không đột biến, Mp1 đột biến mất chức năng toàn phần, Mp1 đột biến mất chức năng bán phần (p<0.0001).

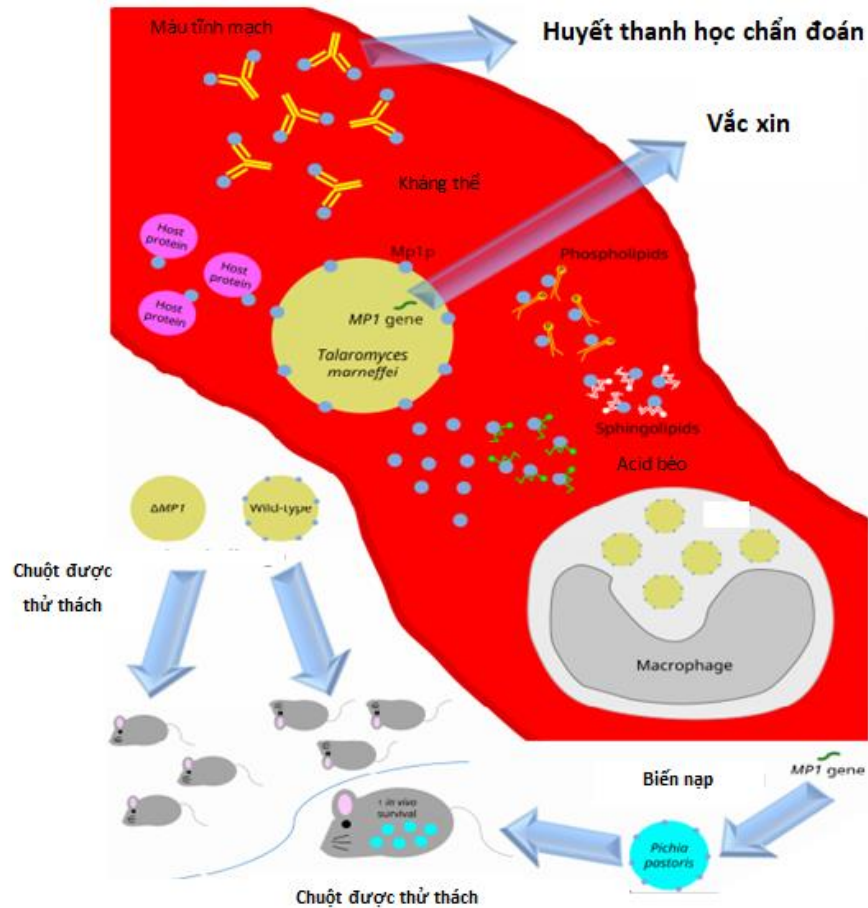
Tải lượng nấm trung bình ở lách, thận, gan và phổi của chuột Balb/c được thử thách với *T.marneffeii* mang Mp1 hoang dại, Mp1 đột biến toàn phần, Mp1 đột biến bán phần vào ngày thứ 12 của thử nghiệm (\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05).

Mô bệnh học của các cơ quan nội tạng của chuột Balb/c khi nhuộm bằng PAS vào ngày thứ 12 của thử nghiệm với nấm hạt men *T. marneffeii* (mũi tên đen) và mô hoại tử (mũi tên xanh dương).

**Hình 1.5.** Sơ đồ và hình ảnh chứng minh Mp1p là mannoprotein sinh độc lực quan trọng của *T.marneffeii*.

Nguồn: Woo.P.C, (2016) [123]





**Hình 1.6.** Sơ đồ tìm hiểu về đặc tính sinh độc lực mannoprotein Mp1p của nấm *T.marneffei*

Nguồn: Lau.S.K.P (2017)” [67]

Từ các nghiên cứu trên, Lau.S.K.P và cs (2017) đưa ra nhận xét rằng dù là một protein của thành tế bào nấm, Mp1p vẫn có thể được tiết ra môi trường xung quanh, Mp1p mang tính kháng nguyên rất mạnh, đóng vai trò chính tạo kháng thể đặc hiệu trong huyết thanh bệnh nhân, giúp chẩn đoán sớm nhiễm nấm *T. marneffei* bằng kỹ thuật huyết thanh học chẩn đoán. Mp1p giúp gia tăng sự tồn tại của nấm trong các đại thực bào, giúp nấm dễ xâm nhập nội bào do khả năng gắn kết cao với protein, các acid béo (acid arachidonic, acid palmitic), phospholipid và sphingolipid. Trên chuột thực nghiệm, khi

đưa gen Mpl biến nạp (transformed) vào dòng *Pichia pastoris* không sinh độc lực, thì không gây tử vong cho chuột. Với bước đầu như trên, các tác giả hy vọng rằng sự phối hợp các công cụ về genomic, transcriptomic, proteomic và metabolomic, có thể giúp hiểu được rõ hơn chức năng và vai trò các gen PKS khác của nấm *T.marneffeii*. Từ đó có thể xây dựng thành những dữ liệu cho việc đi tìm hoạt chất kháng nấm hoặc một vaccin hữu hiệu cho việc kiểm soát tình trạng nhiễm nấm *T. marneffeii* [67].

## 1.6. Đặc điểm lâm sàng bệnh do nấm *T.marneffeii*

### 1.6.1. Bệnh do nấm *T.marneffeii* trên bệnh nhân không HIV

Vào những năm đầu của thập niên 2000, bệnh do nấm *T.marneffeii* đã được nhiều tác giả lưu ý mô tả, vừa cả trên bệnh nhân có cơ địa rối loạn miễn dịch, lẫn cơ địa không rối loạn miễn dịch:

**Cơ địa có rối loạn miễn dịch:** bao gồm bất thường miễn dịch nguyên phát cũng như các rối loạn miễn dịch thứ phát như lupus ban đỏ, bệnh ác tính về máu có chỉ định liệu pháp trúng đích như kháng thể đơn dòng chống CD20 và ức chế kinase (kinase inhibitors), giảm tế bào TCD4 vô căn (idiopathic TCD4 lymphopenia), bệnh nhân ghép tạng có đến vùng dịch tễ, bệnh nhân ghép phổi từ Úc Châu có tiền sử đến Việt nam, bệnh nhân ghép gan và ghép tủy xương ở Trung Quốc [18],[36],[41],[122]. Lee.P.P. và cs (2012) còn báo cáo 5 trường hợp trẻ em nhiễm nấm *T.marneffeii* không HIV ở Hồng Kông và tất cả các trẻ này đều có bất thường về hệ miễn dịch, trong đó 1 trẻ được chẩn đoán hội chứng tăng IgE (Hyperimmunoglobulin E syndrome), 1 trẻ bất thường trục interleukin-12/interferon- $\gamma$ , 3 trẻ còn lại giảm bạch cầu lympho với số lượng tế bào giết tự nhiên (Natural killer cell) thấp [70].

**Cơ địa không rối loạn miễn dịch:** Zeng W. và cs (2015) ghi nhận 7 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffeii* ở trẻ nhỏ ở Quảng Tây, Trung Quốc với độ tuổi trung vị 23,4 tháng tuổi [130]. Một nghiên cứu của Ye.F. và cs (2015) đã báo cáo 2 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffeii* lan tỏa ở người lớn không HIV ở Quảng Đông, Trung Quốc không có tiền sử nhiễm nấm trước đó cũng như không ghi nhận các rối loạn miễn dịch đi kèm [127]. Các báo cáo hàng loạt ca ghi nhận 6 trong 92 bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffeii*

từ Chiang Mai và 3 trong 47 bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffeii* từ Hồng Kông với HIV âm tính [99],[126].

Ngoài tình trạng gây bệnh của *T. marneffeii* trên cơ địa HIV, các báo cáo hàng loạt ca về những trường hợp nhiễm nấm không HIV trên cho thấy khả năng gây bệnh của nấm trên các cơ địa bất thường miễn dịch. Các bất thường miễn dịch này có thể đã được nhận diện hoặc các bất thường chưa được nhận diện bằng các kỹ thuật xét nghiệm hiện có. Do vậy, khi chẩn đoán một trường hợp nhiễm nấm *T.marneffeii* cần đánh giá chức năng miễn dịch nhằm hiểu rõ hơn các thay đổi miễn dịch của ký chủ, làm rõ độ nhạy cảm của ký chủ đối với tác nhân gây bệnh này.

## **1.6.2. Bệnh do nấm *T.marneffeii* trên bệnh nhân HIV/AIDS**

### **1.6.2.1. Biểu hiện lâm sàng bệnh do nấm *T.marneffeii***

Nhiễm nấm *T.marneffeii* ở bệnh nhân HIV, chỉ điểm của giai đoạn AIDS, thường là biểu hiện của tình trạng nhiễm nấm lan tỏa gần như toàn thân. Các báo cáo hàng loạt ca vào thập niên 90 [41],[94] mô các trường hợp có sốt kéo dài (92%), sụt cân (76%), thiếu máu (77%) hạch lympho to, gan lớn; Đặc biệt nhất là sang thương đặc hiệu ngoài da; theo các tác giả thái Lan, khoảng 85% bệnh nhân có tổn thương da, phần lớn là các nốt sẩn có hoại tử lõm ở trung tâm (85,6%), còn lại là các dát hoặc sẩn khác. Tổn thương da đều tập trung trên mặt và cổ, ngoài ra có thể kèm theo các vị trí khác như chi trên, thân mình, chi dưới. Một số bệnh nhân ghi nhận có tổn thương dạng mụn mủ ở vòm miệng [111] [118]. Ngoài ra, các triệu chứng hô hấp cũng được ghi nhận: tác giả A.Deesomchok và cs trình bày những ca viêm phổi có hình ảnh thâm nhiễm lan tỏa trên X Quang, khẳng định bằng sự hiện diện của tác nhân *T.marneffeii* trong đàm và dịch tiết phế quản [42]. Tuy nhiên, những biểu hiện trên không hoàn toàn đặc hiệu cho nhiễm nấm *T.marneffeii* đơn thuần do có nhiều nhiễm trùng cơ hội khác cùng phối hợp ở bệnh nhân nhiễm HIV giai đoạn muộn hay do chính vi rút HIV gây ra, ngoại trừ đặc điểm về sang thương da [112].

Các biểu hiện nhiễm nấm *T marneffeii* có thể có những bệnh cảnh không thường gặp như: *T.marneffeii* có thể phân lập được ở gan dù không ghi nhận sang thương da [60]; tổn thương xương khớp cũng được quan sát ở nhiều vị trí khác nhau như xương sườn,

các xương dài, xương sọ, cột sống, xương bả vai và vùng xương thái dương hàm. Viêm khớp biểu hiện ở cả những khớp ngoại vi lớn và nhỏ của bàn ngón tay. Hình ảnh hủy xương thường thấy ở các xương dẹt của sọ, xương dài và các xương nhỏ ở ngón tay và ngón chân [75]; nhiễm trùng hệ thần kinh trung ương như viêm màng não cũng đã được báo cáo, tuy còn hiếm gặp [107].

Cũng nên lưu ý rằng, những biểu hiện lâm sàng nhiễm nấm *T.marneffei* vừa dễ trùng lấp với các nhiễm trùng toàn thân khác như bệnh lao, bệnh do nấm *C.neoformans* (Cryptococcosis), bệnh do nấm *Blastomyces* (Blastomycosis), bệnh do nấm *Histoplasma* (Histoplasmosis) đã đặt ra nhiều thách thức cho việc chẩn đoán tác nhân gây bệnh này [49],[75],[99].

Ngoài ra, khoảng 20-60% trường hợp nhiễm nấm *T.marneffei* ghi nhận có các nhiễm trùng cơ hội khác đi kèm như nấm thực quản, lao, viêm não *Toxoplasma gondii*, nhiễm *Herpes simplex*, viêm màng não nấm *Cryptococcus neoformans*, viêm phổi do *Pneumocystis jirovecii* hay nhiễm trùng huyết do *Salmonell spp* đã tạo ra khó khăn trong điều trị và góp phần gia tăng tỉ lệ tử vong của bệnh nhân [66], [71], [99].

Về biểu hiện cận lâm sàng, theo P.T.V.Anh và cs (2014) ghi nhận có giảm hemoglobin (100%), tăng LDH (60,8%), tăng AST (58,6%) và tăng ALT (22,9%). Về chẩn đoán hình ảnh, ghi nhận 79,7% bất thường trên siêu âm bụng, trong đó, gan to 50,7%, hạch ổ bụng 50,7%, dịch ổ bụng 34,8% và lách to 27,5% [1]. Do các biểu hiện lâm sàng của nhiễm nấm *T.marneffei* có thể nhầm lẫn với một số nhiễm trùng toàn thân khác nên việc chẩn đoán xác định nguyên nhân là rất quan trọng, giúp khởi động điều trị đặc hiệu kịp thời, giảm tỉ lệ tử vong.

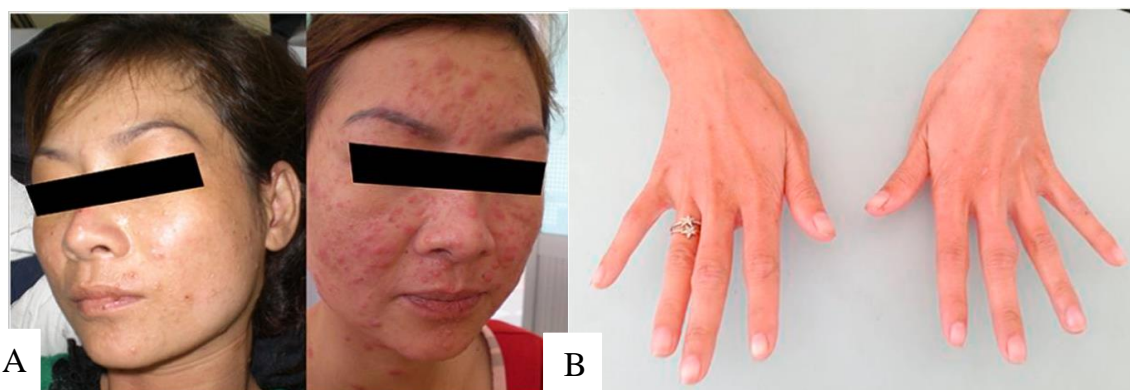


**Hình 1.7.** Tồn thương da trên bệnh nhân HIV nhiễm nấm *T.marneffeii* lan tỏa  
(Sử dụng với sự đồng thuận của bệnh nhân tại BV.BNĐ)

#### 1.6.2.2. Bệnh do nấm *T.marneffeii* và IRIS

Hội chứng viêm phục hồi miễn dịch (Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome - IRIS) đặc trưng bởi sự gia tăng quá mức phản ứng viêm đối với nhiễm trùng tiềm ẩn hoặc nhiễm trùng chưa biểu hiện rõ ràng (unmasking - IRIS bộc lộ) hoặc làm xấu đi nhiễm trùng đang điều trị đáp ứng tốt ban đầu (paradoxical IRIS - IRIS nghịch thường) sau khi điều trị ARV. Tình trạng giảm tải lượng vi rút quá nhanh và sự gia tăng số lượng TCD4<sup>+</sup> mạnh mẽ [94].

Nhiễm nấm *T.marneffeii* và hội chứng viêm phục hồi miễn dịch đã được ghi nhận qua một số báo ca với tần suất mắc mới và yếu tố nguy cơ vẫn chưa xác định rõ. Hầu hết các tác giả đề cập đến IRIS bộc lộ hơn là IRIS nghịch thường đối với bệnh do nấm *T.marneffeii* [88],[89],[97]. Hiện tại vẫn chưa có tiêu chuẩn vàng cũng như kỹ thuật xét nghiệm để chẩn đoán xác định nhiễm nấm *T.marneffeii* liên quan hội chứng viêm phục hồi miễn dịch. Tuy nhiên, có thể dựa vào thời gian khởi động điều trị ARV (thường sau 3 - 6 tháng), tải lượng HIV giảm 1log<sub>10</sub> copies/mL và sự gia tăng số lượng tế bào TCD4<sup>+</sup>. Các biểu hiện lâm sàng thường gặp sốt, sẩn da hoại tử trong tâm, viêm hạch cổ, viêm bao hoạt dịch của khớp gian đốt ngón (synovitis of the interphalangeal joints) (Hình1.8) [97]



**Hình 1.8.** Biểu hiện lâm sàng bệnh do nấm *T.marneffeii* và IRIS tại BV.BNĐ [103]

(A): *Sẩn da có hoại tử trung tâm tại thời điểm chẩn đoán Tm (trái) và viêm da dạng hồng ban (phải).*

(B): *Viêm bao hoạt dịch của khớp gian đốt ngón ngón trỏ và ngón giữa. Sử dụng với sự đồng thuận của bệnh nhân.*

### 1.7. Kỹ thuật chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffeii*

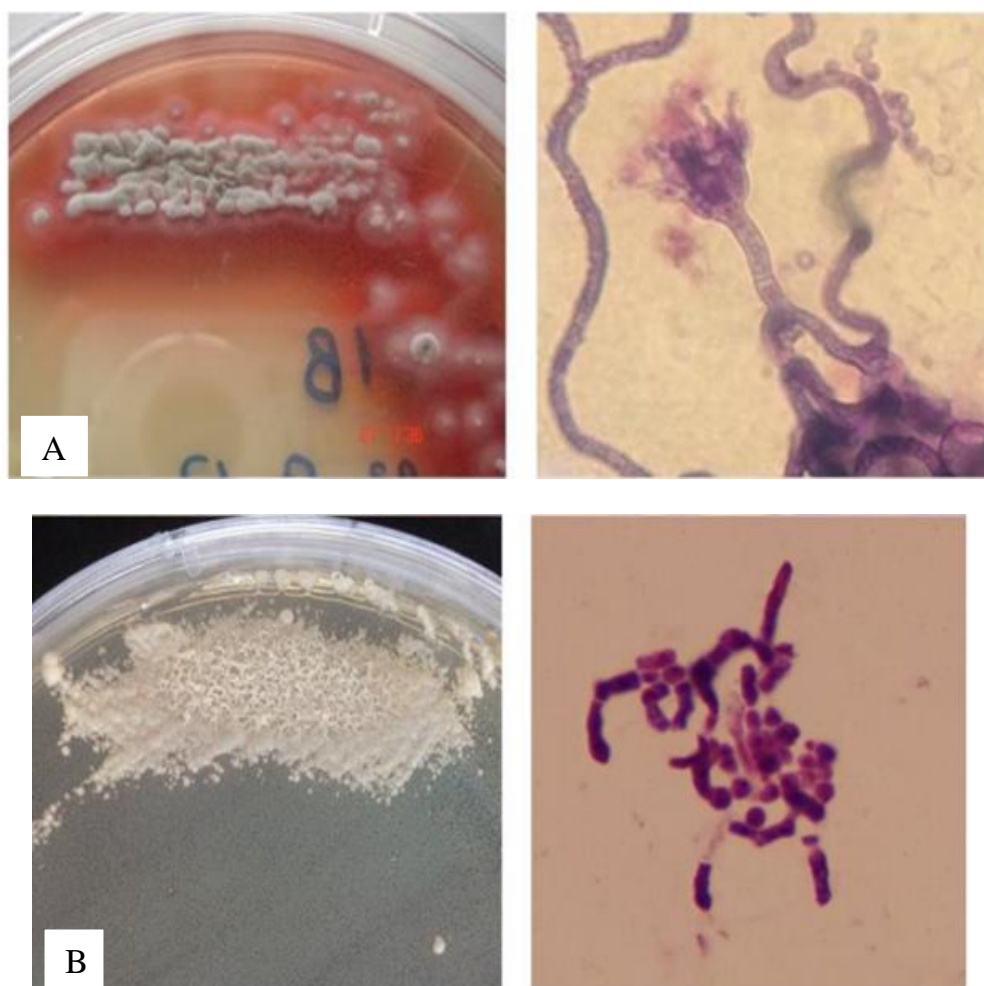
Do các biểu hiện lâm sàng của nhiễm nấm *T.marneffeii* có thể nhầm lẫn với một số nhiễm trùng toàn thân khác nên việc chẩn đoán xác định nguyên nhân là rất quan trọng, giúp khởi động điều trị đặc hiệu kịp thời. Biện pháp xác định nhiễm nấm *T.marneffeii* trên bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS hiện nay khá đa dạng.

#### 1.7.1. Chẩn đoán bằng phương pháp soi và nuôi cấy

Nhuộm soi trực tiếp các mẫu bệnh phẩm bao gồm máu, dịch hay tổ chức da, niêm mạc tổn thương, hạch bạch huyết, tủy xương, dịch não tủy, đàm, dịch rửa phế quản, dịch màng phổi, nước tiểu, phân, sinh thiết gan, mẫu thận, dịch màng tim, dạ dày, ruột [48], [99]. Chẩn đoán nhanh có thể thực hiện bằng nhuộm Wright từ bệnh phẩm tủy xương hoặc sinh thiết tổn thương da hoặc sinh thiết hạch [101].

Trong nhuộm hematoxylin - eosin, hình ảnh quan sát được là những bào tử đính có đốt phân đôi hoặc đơn bào hình tròn hoặc bầu dục nằm trong mô bào, đại thực bào [79],[101]. Sự hình thành vách ngăn của nấm hạt men nội bào là nét đặc trưng của *T.marneffeii*, giúp phân biệt mầm bệnh này với *H.capsulatum*. Cũng có thể quan sát hình

ảnh nấm hạt men ngoại bào thon dài hoặc có dạng xúc xích của *T.marneffeii* với một hoặc hai vách [48], [99]. Ở những bệnh nhân có hạch to, phương pháp chọc hút tế bào bằng kim nhỏ có thể giúp chẩn đoán nhanh nhiễm nấm *T.marneffeii*. Nấm hạt men nội và ngoại bào có vách ngăn khi nhuộm bằng GMS (Gomori Methenamine Silver) là hình ảnh đặc trưng của nấm *T.marneffeii* [35], [72].



**Hình 1.9.** Hình ảnh nấm *T.marneffeii* ở môi trường nuôi cấy

(Sử dụng với sự đồng thuận của bệnh nhân tại BV.BNĐ)

A: Nấm *T.marneffeii* dạng sợi, tiết sắc tố đỏ khi nuôi cấy ở thạch Sabouraud ở 25°C.

B: Nấm *T.marneffeii* dạng hạt men, khi nuôi cấy ở thạch Sabouraud ở 37°C

Môi trường cấy đặc hiệu của *T.marneffeii* là thạch Sabouraud. Nấm phát triển dạng sợi ở nhiệt độ 25°C trên thạch glucose Sabouraud không có cycloheximid, chuyển thành

nấm hạt men khi ủ ở nhiệt độ 37<sup>0</sup> C. Độ nhạy nuôi cấy nấm có khác nhau tùy theo bệnh phẩm: là tủy xương (100%), sinh thiết da (90%) và máu (76%) [99]. Như vậy, dựa vào hình thái học và sự biến đổi hình thái phụ thuộc nhiệt độ giúp chẩn đoán chính xác *T.marneffe* [73],[81].

### **1.7.2. Chẩn đoán huyết thanh học**

Xét nghiệm huyết thanh học bao gồm xét nghiệm tìm kháng thể và xét nghiệm tìm kháng nguyên.

#### **1.7.2.1. Xét nghiệm tìm kháng thể**

Nhiều phương pháp đã được triển khai để phát hiện những kháng thể chống lại kháng nguyên *T.marneffe* trong các mẫu bệnh phẩm lâm sàng. Các xét nghiệm này có khả năng giúp chẩn đoán nhanh nhiễm nấm *T.marneffe*, so với việc đợi kết quả cấy nấm. tạo điều kiện khởi động điều trị kháng nấm kịp thời.

Xuất phát từ một bệnh nhân người Ý bị nhiễm HIV có đến Thái Lan nhiều lần, nhưng không xác định được tình trạng nhiễm nấm bằng vi sinh, tác giả Viviani M.A và cs đã dùng quy trình micro- immuno diffusion sử dụng kháng nguyên hòa tan exogen của nấm *T.marneffe* giai đoạn nấm sợi (mycelial phase) để phát hiện kháng thể IgG precipitin. [114]. Tác giả Yuen K Y và cs thực hiện xét nghiệm kháng thể huỳnh quang gián tiếp phát hiện kháng thể IgG ở bệnh nhân nhiễm *T.marneffe* bằng sử dụng bào tử dính mọc mầm và nấm hạt men làm kháng nguyên. [129] Tuy nhiên, các báo cáo cho thấy xét nghiệm có độ nhạy thấp trong chẩn đoán bệnh (58,8%)

#### **1.7.2.2. Xét nghiệm tìm kháng nguyên**

Xét nghiệm tìm kháng nguyên được thực hiện ở nhiều bệnh phẩm khác nhau. Tác giả Desakorn V và cs thực hiện xét nghiệm ELISA phát hiện kháng nguyên nấm *T.marneffe* trong nước tiểu bằng cách sử dụng fluorescein isothiocyanate được tách chiết từ tổ có nồng độ cao kháng thể IgG được khảo sát trên 33 bệnh nhân HIV nhiễm nấm *T.marneffe*. Xét nghiệm này giúp phát hiện được kháng nguyên nấm trong nước tiểu ở tất cả 33 trường hợp (100%) với hiệu giá kháng nguyên trung bình 1:20, mà chỉ phát hiện



được ở 33% trên 300 ca chứng. Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương và giá trị tiên đoán âm của xét nghiệm chẩn đoán *T.marneffeii* là 97%, 98%, 84,4% và 99,7% với ngưỡng cắt 1:40 [46].

Ngoài ra, tác giả này còn thực hiện so sánh xét nghiệm ELISA dot blot và ngưng kết hạt latex (LA) tìm kháng nguyên nấm *T.marneffeii* trong nước tiểu trên 37 ca bệnh và 300 ca chứng. Về kết quả chung của các xét nghiệm này là: độ nhạy ELISA, dot blot ELISA và phản ứng ngưng kết hạt latex lần lượt là 97.3%, 94.6% và 100%; độ đặc hiệu là 98%, 97.3% và 99.3%. Trong ba xét nghiệm này, phản ứng ngưng kết hạt latex được xem là đơn giản nhất, nhanh nhất và cần được đánh giá trên các nghiên cứu đoàn hệ lớn hơn để có thể ứng dụng trong chẩn đoán sớm bệnh do nấm *T.marneffeii* bên cạnh các phương pháp thường quy [45],[46].

### **1.7.2.3 Xét nghiệm tìm kháng nguyên và kháng thể Mp1p.**

Gần đây, dấu ấn sinh học mới dựa vào gen *MPI*, gen mã hóa protein vách mannoprotein Mp1p đặc hiệu cho nấm *T.marneffeii* được khảo sát [27]. Kháng thể đơn dòng chống lại protein Mp1p tái tổ hợp và kháng thể đa dòng chống lại tế bào nấm hạt men đã được kết hợp nhằm phát hiện đồng thời kháng nguyên và kháng thể Mp1p của nấm *T. marneffeii* từ huyết thanh của bệnh nhân. Khi sử dụng phối hợp, tác giả Wang Y.F cho thấy độ nhạy là 75% (15/20) và độ đặc hiệu là 99,4% (537/540) [117]. Một nghiên cứu huyết thanh học về tỉ lệ hiện hành kháng nguyên Mp1p của hơn 8.000 bệnh nhân HIV ở Quảng Châu là 9,4% và gia tăng đến 28% khi tế bào TCD4<sup>+</sup> <50 tế bào/mm<sup>3</sup> [116].

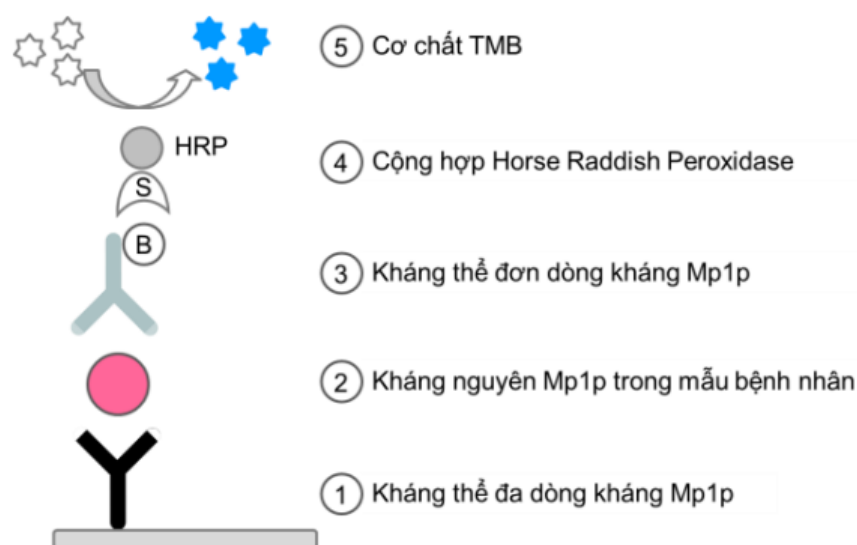
Còn tác giả Cao L và cs dùng phương pháp ELISA sử dụng mannoprotein (Mp1p) tái tổ hợp trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* cho thấy độ đặc hiệu cao (100%) và độ nhạy khoảng 80% ở bệnh nhân HIV nhiễm nấm *T.marneffeii* [28]. Và khi phối hợp xét nghiệm kháng nguyên và kháng thể để chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii*, độ nhạy đạt được 88%, giá trị tiên đoán dương 100% và giá trị tiên đoán âm 96% [27].

Như vậy, xét nghiệm này có khả năng phát hiện bệnh sớm hoặc giúp sàng lọc nhiễm nấm *T.marneffeii* trước khi triệu chứng xuất hiện hay không cần được lượng giá ở các nghiên cứu đoàn hệ tiến cứu với cỡ mẫu lớn.

#### 1.7.2.4 Phản ứng sandwich ELISA - Mp1p

Sandwich ELISA sử dụng để phát hiện kháng nguyên trong mẫu bệnh phẩm dựa trên nguyên tắc kháng nguyên được “kẹp giữa” cặp kháng thể, bao gồm kháng thể bắt giữ (capture antibody) và kháng thể phát hiện (detector antibody). Kháng thể bắt được cố định trên đĩa 96 giếng. Dung dịch chứa protein cần quan tâm sẽ được thêm vào. Kháng thể phát hiện có gắn biotin phát hiện phức hợp kháng nguyên - kháng thể hình thành. Enzyme đi kèm với ligand của biotin – streptavidin phát hiện phức hợp 3 protein bằng cách đổi màu cơ chất.

Cách thực hiện: kháng thể đa dòng được thu nhận từ thỏ trắng New Zealand được kiểm tra tính đặc hiệu bằng phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (Indirect immunofluorescence - IFA). 18 kháng thể đơn dòng được chọn lọc, so sánh dựa trên loại quyết định kháng nguyên (epitope), loại kháng thể và hoạt tính nhận diện *T.marneffei* ở dạng nấm men và nấm sợi bằng miễn dịch huỳnh quang. Hai kiểu ELISA sandwich, hoặc là hai loại kháng thể đơn dòng, hoặc một kháng thể đơn dòng và một kháng thể đa dòng được phát triển. Độ nhạy giữa hai kiểu ELISA được so sánh giữa protein tái tổ hợp Mp1p và dịch nuôi cấy *T.marneffei* ở dạng nấm men 37°C. Độ đặc hiệu được kiểm tra trên dịch nuôi cấy của 10 chủng nấm gây bệnh cơ hội phổ biến trên bệnh nhân HIV như *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* và *Cryptococcus neoformans*. So sánh độ nhạy trên 20 bệnh nhân xác định nhiễm *T. marneffei*, Wang.Y.F và cs (2011) ghi nhận ELISA với 1 kháng thể đa dòng và 1 kháng thể đơn dòng có độ nhạy cao hơn lần lượt là 75% so với 55% [117].



**Hình 1.10.** Phản ứng sandwich ELISA-Mp1p

“Nguồn: Wang.Y.F và cs (2011)” [117]

Ưu điểm của test được ghi nhận như sau: độ nhạy và độ đặc hiệu cao do sử dụng cặp kháng thể bắt và cặp kháng thể phát hiện, phù hợp với các kháng nguyên phức tạp đặc biệt khi mẫu bệnh nhân chưa tinh sạch. Và về khuyết điểm: thời gian phản ứng dài với nhiều bước rửa, sử dụng nhiều cặp kháng thể [131].

### 1.7.3. Chẩn đoán bằng kỹ thuật sinh học phân tử

PCR là kỹ thuật rất nhạy và đã được sử dụng rất nhiều để phát hiện nhiều loại nấm, vi khuẩn, vi rút... Kỹ thuật PCR xác định nấm *T.marneffeii* dựa trên đoạn mồi oligonucleotid đặc hiệu của loài nấm này. Phương pháp này được sử dụng thành công để xác định *T.marneffeii* từ mẫu sinh thiết da [102].

PCR-lai (PCR-hybridisation) được phát triển dựa trên gen mã hóa 18S rARN của *T.marneffeii*. Dù phương pháp này có độ nhạy và độ đặc hiệu cao song đòi hỏi nhiều công sức và kỹ thuật viên được đào tạo tốt [110].

PCR lồng (nested PCR) với đoạn mồi được thiết kế dựa trên 18S rRNA giúp phát hiện nấm *T.marneffeii* sau 2 ngày nuôi cấy [35]. Độ nhạy đạt 68.6% (24/35) và độ đặc hiệu 100% [1].

So với kỹ thuật real-time PCR, phương pháp PCR thông thường (conventional PCR) đòi hỏi nhiều công sức và có nguy cơ dương tính giả khi bị nhiễm lại sản phẩm PCR (post PCR contamination). Gần đây, TaqMan real-time PCR đã được nghiên cứu để phát hiện *T. marneffe* ở máu ngoại biên của 20 mẫu bệnh nhân nhiễm nấm và cho thấy độ nhạy 80% [23]. Theo H.T.A.Hien và cs (2016), kỹ thuật TaqMan real-time PCR của gen MP1 có độ nhạy 70,4% (19/27) và độ đặc hiệu 100% trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe* [56].

## **1.8. Điều trị bệnh do nấm *Talaromyces marneffe***

### **1.8.1. Các nghiên cứu về điều trị bệnh do nấm *T.marneffe***

Các tác giả lưu ý rằng tỉ lệ tử vong do nhiễm nấm *T.marneffe* ở bệnh nhân HIV/AIDS vẫn còn cao dù được chẩn đoán và điều trị kháng nấm thích hợp. Tỉ lệ này có thể lên đến 20% [99].

Đáp ứng lâm sàng và vi sinh tương quan với mô hình nhạy cảm với các thuốc nhóm azole trên in vitro, trong khi kết quả với Amphotericin B khó đánh giá hơn. Tuy nhiên tái phát là vấn đề lâu dài đáng lo ngại. Theo Supparatpinyo.K và cs (1998), 80 bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffe* lan tỏa không dùng liệu pháp duy trì ghi nhận 12 trường hợp có đáp ứng điều trị ban đầu bị tái phát trong vòng 6 tháng. Vậy điều trị duy trì itraconazole bằng đường uống có thể giúp dự phòng tái phát bệnh do nấm *T.marneffe* [98],[100].

Một thử nghiệm lâm sàng so sánh hiệu quả của Amphotericin B và itraconazole điều trị bệnh do nấm *T.marneffe* ghi nhận tỉ lệ tử vong do nấm ở hai nhóm không khác biệt sau hai tuần điều trị tấn công. Tuy nhiên, nguy cơ tử vong ở tuần lễ 24 ở nhóm itraconazole cao hơn ở nhóm Amphotericin B (21% vs 11,3%). Điều trị với Amphotericin B có đáp ứng lâm sàng cũng như khả năng thải trừ nấm nhanh hơn đồng thời nguy cơ tái phát và xuất hiện hội chứng viêm phúc hồi miễn dịch thấp hơn so với nhóm điều trị với itraconazole [106].

## 1.8.2. Các hướng dẫn điều trị bệnh do nấm *T.marneffe* trên thế giới

### 1.8.2.1. Theo hướng dẫn của Bộ Y Tế và Nhân sinh Hoa Kỳ (AIDSinfo - 2018) [21]

*Điều trị tấn công:* được khởi động bằng Amphotericin B liposomal 3 đến 5 mg/kg/ngày truyền tĩnh mạch trong 2 tuần đầu, sau đó củng cố bằng itraconazole 400 mg/ngày bằng đường uống trong 10 tuần tiếp theo. Voriconazole có thể được lựa chọn thay thế Amphotericin B với liều 6 mg/kg truyền tĩnh mạch mỗi 12 giờ trong ngày đầu, 4mg/kg mỗi 12 giờ trong ít nhất 3 ngày, sau đó 200 mg mỗi 12 giờ bằng đường uống trong tối đa 12 tuần.

*Điều trị duy trì (dự phòng thứ phát):* itraconazole 200 mg/ngày đường uống. Ngừng điều trị dự phòng thứ phát khi bệnh nhân sử dụng ARV, TCD4<sup>+</sup> > 100 tế bào/mm<sup>3</sup> và duy trì ít nhất 6 tháng.

### 1.8.2.2. Hướng dẫn điều trị bệnh do nấm *T.marneffe* tại Việt Nam [6]

*Điều trị tấn công:* phác đồ ưu tiên sử dụng Amphotericin B deoxycholate liều 0,7-1,5 mg/kg/ngày trong 2 tuần, sau đó chuyển sang itraconazole 200 mg x 2 lần/ngày (liều trẻ em 5 - 6 mg/kg x 2 lần/ngày) từ 8 đến 10 tuần.

Phác đồ thay thế (cho trường hợp nhẹ hoặc không có sẵn Amphotericin B): Itraconazole 200 mg 2 lần/ngày x 8 tuần.

*Điều trị duy trì:* Itraconazole 200 mg/ngày ở người lớn và 3 mg/kg/ngày ở trẻ em; ngừng khi người bệnh điều trị ARV có số lượng tế bào TCD4<sup>+</sup> > 200 tế bào/mm<sup>3</sup> ≥ 6 tháng.

## 1.8.3. Chiến lược điều trị dự phòng tiên phát bệnh do nấm *T.marneffe*

Tiềm năng điều trị dự phòng tiên phát đối với các bệnh nhiễm trùng cơ hội do nấm trên cơ địa HIV suy giảm miễn dịch nặng đã được chứng minh bằng thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên mù đôi tại Chiang Mai, Thái lan với liều itraconazole (200 mg/ngày) ở bệnh nhân có TCD4<sup>+</sup> < 200 tế bào/mm<sup>3</sup>. Nghiên cứu cho thấy tỉ lệ mắc mới của nấm *C.neoformans* và *T.marneffe* ở nhóm can thiệp giảm có ý nghĩa ở nhóm có can thiệp với TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup> [37]. Một nghiên cứu hồi cứu tại Chiang Mai cho thấy tỉ lệ mắc

mới nấm nội tạng không khác biệt có ý nghĩa giữa nhóm bệnh nhân sử dụng fluconazole 400mg mỗi tuần và itraconazole 200mg mỗi ngày trong suốt 12 tháng theo dõi với tỉ lệ mắc mới lần lượt là 7/276 (2,5%) và 2/32 (6,3%) [34]. Dựa vào kết quả của các nghiên cứu trên, *AIDSinfo* (2018) khuyến cáo điều trị dự phòng tiên phát bệnh do nấm *T.marneffeii* bằng itraconazole 200mg mỗi ngày hoặc fluconazole 400mg hàng tuần ở bệnh nhân có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup> đang sinh sống hoặc lui tới Thái lan, Việt nam và miền nam Trung Quốc, đặc biệt ở những vùng nông nghiệp [21]. Tuy vậy, chiến lược điều trị dự phòng tiên phát bệnh do nấm *T.marneffeii* vẫn chưa được đồng thuận rộng rãi do chi phí, tương tác thuốc và mối lo ngại về nguy cơ kháng thuốc tiềm tàng.

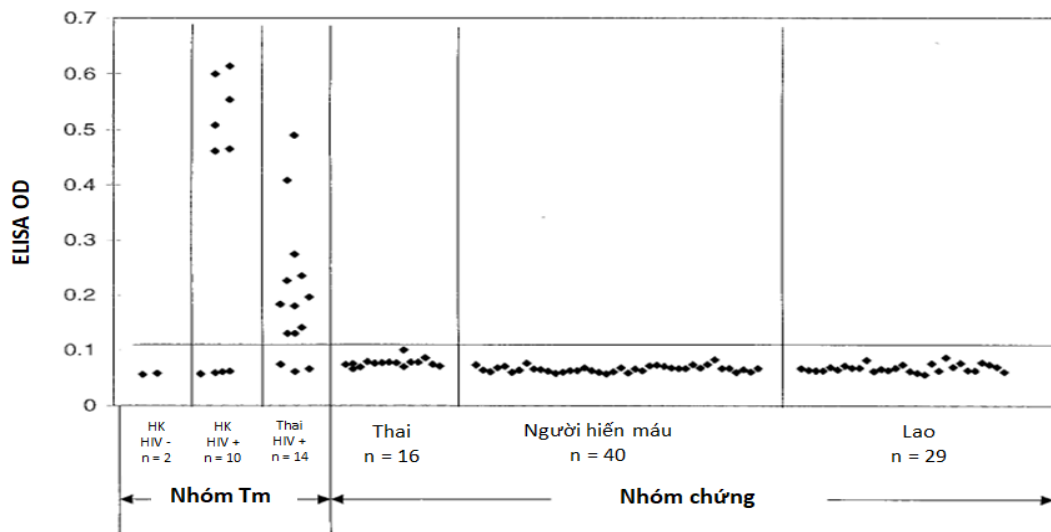
## **1.9. Tình hình nghiên cứu về giá trị xét nghiệm kháng nguyên Mp1p trong quản lý bệnh do nấm *T.marneffeii* trên bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS**

### **1.9.1. Tình hình nghiên cứu về giá trị xét nghiệm kháng nguyên Mp1p trên thế giới**

Từ những năm cuối của thập niên 90, tác giả Cao.L và cs đã tìm cách tiếp cận việc chẩn đoán về mặt phân tử cho các loại nhiễm trùng nấm toàn thân, bằng cách phát hiện các mannoproteins đặc hiệu trong máu. [21]. Nghiên cứu này đã cho thấy rằng Mp1p của *T.marneffeii* có thể được phát hiện từ phần ly trích của canh cấy tế bào nấm với kỹ thuật ELISA phát triển từ kháng thể kháng Mp1p. Kỹ thuật phát hiện kháng nguyên Mp1p dựa trên nguyên lý sandwich ELISA với hai kháng thể đa dòng được sử dụng, trong đó kháng thể kháng Mp1p của chuột lang (guinea pig anti-Mp1p antiserum) là kháng thể bắt giữ (capturing antibody) và kháng thể kháng Mp1p của thỏ (rabbit anti-Mp1p antiserum) là kháng thể phát hiện (detection antibody). Test đã được tiến hành trên 26 mẫu huyết thanh của bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* với 24 trường hợp HIV dương tính (10 bệnh nhân Hồng Kong và 14 bệnh nhân Thái Lan) và 2 trường hợp bệnh nhân Hồng Kong nhiễm *T.marneffeii* nhưng HIV âm tính. Nhóm chứng gồm 56 người khỏe mạnh và 29 bệnh nhân nhiễm lao. Kết quả cho thấy với ngưỡng cắt OD = 0,121, trong 26 bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffeii* ghi nhận 17 trường hợp có Mp1p dương tính và 9 trường hợp xét nghiệm Mp1p âm tính. Độ nhạy của xét nghiệm được xác định là 65% (17/26) và độ đặc hiệu 100%. 9 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffeii* có xét nghiệm

kháng nguyên Mp1p âm tính được phân tích kháng thể kháng Mp1p. Kết quả cho thấy 6 trường hợp có sự hiện diện kháng thể kháng Mp1p. Từ đó, tác giả cho rằng sự hiện diện kháng thể kháng Mp1p có thể đã trung hòa kháng nguyên; Tác giả cũng đã thực hiện trên một số lượng ca chứng lớn hơn (90 người cho máu khỏe mạnh, 20 bệnh nhân thương hàn và 55 bệnh nhân lao) và không ghi nhận trường hợp nào dương tính giả đồng thời nhân mạnh thêm một lần nữa tính khả đặc hiệu của test.[22]

Kết luận cuối cùng của nghiên cứu là có thể phối hợp xét nghiệm phát hiện kháng nguyên và kháng thể để tăng giá trị chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* [21]



**Hình 1.11.** Lượng giá độ nhạy và độ đặc hiệu của kháng nguyên Mp1p để chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffeii*

“Nguồn: Cao.L và cs (1999)[21]

Để nhấn mạnh hơn giá trị của Mp1p như một dấu ấn chỉ điểm cho *T. marneffeii*, Wang.Y.F và cs năm 2011 tại Hồng Kông đã tiến hành thực hiện protein Mp1p tái tổ hợp từ *Pichia pastoris*, sau đó phát triển kháng thể đơn dòng MAbs (monoclonal antibodies) và kháng thể đa dòng PAbs từ thỏ (rabbit polyclonal antibodies). Tác giả đã ứng dụng kỹ thuật sandwich ELISA trên 20 mẫu huyết thanh từ 14 bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffeii* và 540 ca chứng (gồm 15 trường hợp nhiễm nấm khác nhau và 525 người khỏe mạnh). Kết quả nghiên cứu cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu của phản ứng MAb-

MAb Mp1p ELISA lần lượt là 55% (11/20) và 75% (15/20) với OD = 0,317 và giá trị chẩn đoán của phản ứng PAbs-MAb Mp1p ELISA đạt độ nhạy là 75% (15/20) và độ đặc hiệu là 99,4% (537/540) với OD = 0,208. Tác giả đã cho thấy rằng cách kết hợp test kháng nguyên-kháng thể đã hỗ trợ cho việc chẩn đoán nhiễm *T.marneffeii* [117].

Tiếp theo đó, nhóm tác giả trên đã sử dụng bộ kit PAbs-MAb Mp1p ELISA này khảo sát hồi cứu 8131 mẫu huyết thanh bệnh nhân HIV để tìm tỉ lệ hiện mang kháng nguyên Mp1p của nấm *T.marneffeii* cùng lúc tìm hiểu các yếu tố thuận lợi cho tình trạng mang kháng nguyên Mp1p. Kết quả ghi nhận rằng tỉ lệ mang kháng nguyên Mp1p là 9,36% (761/8131). Tỉ lệ này có khuynh hướng gia tăng vào những tháng mùa mưa. Tuy nhiên quan trọng nhất là tỉ lệ phân bố kháng nguyên Mp1p thay đổi theo mức độ tế bào TCD4<sup>+</sup> (10,38% ở nhóm TCD4<sup>+</sup> từ 50 đến 100 tế bào/mm<sup>3</sup> và 28,06% ở nhóm TCD4<sup>+</sup> < 50 tế bào/mm<sup>3</sup>). Nghiên cứu cho thấy nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffeii* liên quan chặt với HIV giai đoạn AIDS (OR = 4,66; 95% KTC 3,94-5,51, p <0.001) cũng như số lượng tế bào TCD4<sup>+</sup> (OR = 2,9; 95% KTC 1,1-7,66, p <0.001 với TCD4<sup>+</sup> < 200 tế bào/mm<sup>3</sup> và OR = 24,26, 95% KTC 10,63-55,36, p <0.001 với TCD4<sup>+</sup> < 50 tế bào/mm<sup>3</sup>) [116]. Với kết quả trên, các tác giả đã đề nghị thực hiện xét nghiệm huyết thanh để giám sát tình trạng mang kháng nguyên Mp1p cho tất cả các bệnh nhân HIV có TCD4<sup>+</sup> < 50 tế bào/mm<sup>3</sup> [108]

### **1.9.2. Tình hình nghiên cứu về giá trị xét nghiệm kháng nguyên Mp1p ở Việt Nam**

Tại Việt Nam, các bác sĩ lâm sàng điều trị bệnh nhân HIV/AIDS vẫn dựa vào tiêu chuẩn vàng cho chẩn đoán nhiễm *T.marneffeii* cho đến nay là dựa trên phương pháp nuôi cấy từ máu và từ các bệnh phẩm khác chủ yếu từ sang thương da. Chẩn đoán về huyết thanh học chưa được đưa vào hướng dẫn chẩn đoán và điều trị của quốc gia.

Đề tài nghiên cứu được tác giả N.T.M.Thu và cs thực hiện và công bố năm 2017: khảo sát kháng nguyên Mp1p của *T.marneffeii* bằng kỹ thuật ELISA được đánh giá hồi cứu dựa trên 372 ca bệnh nhiễm *T.marneffeii* dựa trên bằng chứng nuôi cấy và 517 ca chứng không nhiễm *T.marneffeii*. Tác giả đã xác định ngưỡng cắt (cut-off) OD = 0,5 có chỉ số Youden cao nhất với độ chính xác (AUC) 95%, độ nhạy 86,3% và độ đặc hiệu là 98,1%. Nghiên cứu cũng cho thấy Mp1p ELISA có độ nhạy cao hơn đáng kể so với



phương pháp nuôi cấy từ máu, 86,3 % so với 73,2%. Hơn thế, thời gian trả kết quả của kỹ thuật Mp1p ELISA khoảng 5 giờ (so với cấy máu là  $6,6 \pm 3,0$  ngày) đã làm rút ngắn thời gian chẩn đoán nhiễm *T. marneffei*. Tuy nhiên, nghiên cứu sử dụng các mẫu huyết thanh dự trữ ở tủ đông  $-80^{\circ}\text{C}$  có thể ảnh hưởng đến nồng độ kháng nguyên Mp1p cũng như tác động đến ngưỡng cắt của Mp1p ELISA. Tuy nhiên, kết cục các trường hợp mang kháng nguyên Mp1p vẫn chưa được theo dõi nhằm khẳng định giá trị chẩn đoán thật sự của kỹ thuật xét nghiệm này [18].

Song song đó, một nghiên cứu bệnh chứng hồi cứu cũng từ cùng nhóm các tác giả trên được tiến hành từ năm 2012 đến 2016 tiến hành khảo sát giá trị chẩn đoán xét nghiệm Mp1p huyết tương và nước tiểu trên 269 bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffei* và nhóm chứng gồm 338 người tình nguyện khoẻ mạnh và 179 bệnh nhân nhiễm trùng với các tác nhân vi rút, vi trùng, lao, nấm và sốt rét. Kết quả cho thấy, với ngưỡng cắt 0,5 OD, độ nhạy của Mp1p ELISA huyết tương và nước tiểu lần lượt là 82,9% (223/269) và 86,2% (232/269). Khi kết hợp 2 bệnh phẩm huyết tương và nước tiểu, độ nhạy của Mp1p gia tăng có ý nghĩa thống kê với 88,8% (239/269), so với xét nghiệm huyết tương đơn thuần (82,9%,  $p < 0,001$ , McNemar test) hay xét nghiệm nước tiểu đơn thuần (86,2%,  $p = 0,02$ , McNemar test) [105].

Theo hiểu biết của chúng tôi cho đến nay, số công trình nghiên cứu hoặc khảo sát kháng nguyên Mp1p của *Talaromyces marneffei* còn giới hạn, chỉ thực hiện ở một số quốc gia vùng Đông Nam Châu Á, nơi mà tình trạng nhiễm loại nấm này đóng vai trò chỉ điểm bệnh nhân HIV vào giai đoạn AIDS. Do vậy, các nghiên cứu khảo sát về giá trị của Mp1p cho thấy kỹ thuật này có thể được sử dụng để tầm soát và chẩn đoán sớm bệnh, giúp khởi động điều trị kháng nấm kịp thời, góp phần giảm tỉ lệ tử vong do *T.marneffei*. Tuy nhiên, giá trị chẩn đoán thật sự của kháng nguyên Mp1p cần được lượng giá với cỡ mẫu lớn hơn và ở nhiều quần thể khác nhau, ví dụ các bệnh cảnh nhiễm trùng cơ hội khác dễ nhầm lẫn với nhiễm *T. marneffei*. Đồng thời cần thời gian dài hơn để theo dõi dọc các trường hợp mang kháng nguyên Mp1p nhưng chưa biểu hiện bệnh nhằm tăng giá trị tiên đoán của kỹ thuật này.

Việt Nam nằm trong vùng dịch tễ của nấm *T.marneffeii* với tỉ lệ tử vong còn cao mặc dù được điều trị kháng nấm thích hợp. Với các kỹ thuật chẩn đoán thường qui hiện tại, khả năng khẳng định bệnh do nấm *T.marneffeii* có thể còn chậm trễ hoặc thiếu sót nếu kết quả xét nghiệm cấy âm tính [108],[109]. Vì thế, với cỡ mẫu đủ lớn kết hợp theo dõi dọc các trường hợp mang kháng nguyên Mp1p chưa biểu hiện bệnh chúng tôi kỳ vọng khẳng định được giá trị chẩn đoán thật sự của Mp1p, từ đó có thể ứng dụng trong chẩn đoán sớm và dự báo trong theo dõi và quản lý nhiễm nấm *T.marneffeii* ở bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS.

### **1.10. Tổng quan về địa điểm nghiên cứu**

Khoa nhiễm E, Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới là trung tâm điều trị bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS nội trú lớn nhất khu vực miền Nam và Nam Trung Bộ với 20 giường hồi sức tích cực và 50 giường bệnh mức độ trung bình đến nặng. Khoa nhiễm E tiếp nhận khoảng 1800 bệnh nhân nội trú mỗi năm. Các bệnh cảnh lâm sàng thường gặp bao gồm nấm miệng (54%), lao (38%), hội chứng suy mòn (34%), nhiễm trùng đường hô hấp dưới (13%), bệnh do nấm *C.neoformans* (9%) và *T.marneffeii* (7%). Vì vậy, khoa nhiễm E được xem là địa điểm nghiên cứu phù hợp, khả thi chọn mẫu và đại diện cho dân số nghiên cứu [2]

## Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu cắt ngang mô tả có kết hợp theo dõi dọc nhóm Mp1p  $\geq 0,2$  OD nhưng chưa biểu hiện bệnh

### 2.2. Đối tượng nghiên cứu

#### 2.2.1. Dân số nghiên cứu

Bệnh nhân nhiễm HIV có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup> điều trị nội trú tại khoa Nhiễm E - Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới

#### Tiêu chuẩn chọn mẫu

Bệnh nhân nhiễm HIV, TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup> điều trị nội trú tại Khoa Nhiễm E - Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới trong thời gian nghiên cứu.

#### 2.2.1.1. Tiêu chuẩn chọn vào:

Bệnh nhân được chọn vào nghiên cứu nếu có đủ các tiêu chuẩn sau:

- Bệnh nhân  $\geq 18$  tuổi
- Được chẩn đoán nhiễm HIV theo tiêu chuẩn Bộ Y tế [6] , bao gồm: 3 xét nghiệm tìm kháng thể kháng HIV trong huyết thanh BN dương tính
- Có số lượng TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup>

#### 2.2.1.2. Tiêu chuẩn loại ra

Bệnh nhân không được thu tuyển vào nghiên cứu nếu có một trong các tiêu chuẩn sau:

- Bệnh nhân đang được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* hoặc viêm màng não nấm do *C.neoformans* điều trị với thuốc kháng nấm hoặc bệnh nhân đang sử dụng thuốc kháng nấm dự phòng nhiễm nấm.
- Bệnh nhân là phụ nữ mang thai

## 2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

### 2.3.1. Địa điểm nghiên cứu

Khoa Nhiễm E - Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới

### 2.3.2. Thời gian nghiên cứu

Thời gian tuyển bệnh vào nghiên cứu: từ tháng 12/2017 - 05/2019

Thời gian theo dõi đối với các trường hợp Mp1p  $\geq 0,2$  OD nhưng chưa biểu hiện bệnh: 6 tháng tính từ lúc được thu tuyển vào nghiên cứu.

## 2.4. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu cần thiết cho nghiên cứu phải đủ lớn để giải quyết mục tiêu chính của nghiên cứu là xác định giá trị chẩn đoán của Mp1p trong chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffei*.

Công thức tính cỡ mẫu để xác định giá trị chẩn đoán được xác lập như sau [12]:

Với mục tiêu ước tính độ nhạy:

$$n_{se} = \frac{TP + FN}{p_{dis}} \quad TP + FN = \frac{Z_{\alpha}^2 \times p_{se} \times (1 - p_{se})}{w^2}$$

Với mục tiêu ước tính độ đặc hiệu:

$$n_{sp} = \frac{FP + TN}{1 - p_{dis}} \quad FP + TN = \frac{Z_{\alpha}^2 \times p_{sp} \times (1 - p_{sp})}{w^2}$$

Trong đó:

TP (true positive): dương tính thật, FN (false negative): âm tính giả. FP (false positive): dương tính giả, TN (true negative): âm tính thật.

$p_{se}$ : độ nhạy mong muốn của xét nghiệm PAbS-MAb Mp1p ELISA.

$p_{sp}$ : độ đặc hiệu mong muốn của xét nghiệm PAbs-MAb Mp1p ELISA.

Độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm này sử dụng trong công thức tính cỡ mẫu trên dự đoán lần lượt là 0,85 và 0,98. Các thông số này cũng phù hợp với các giá trị trong công bố của tác giả N.T.M. Thu và cs (2014) cũng như của Wang Y.F và cs (2011) với độ nhạy là 0,86 và độ đặc hiệu là 0,99 khi chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffeii* [18], [117].

w: độ rộng của khoảng tin cậy 95%, chọn  $w=0,10$  đối với cỡ mẫu cần thiết cho độ nhạy và chọn  $w=0,05$  đối với cỡ mẫu cần thiết cho độ đặc hiệu.

p: tỉ lệ nhiễm nấm *Talaromyces marneffeii* trong dân số HIV có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup>, dự đoán  $p=0,1$ . (Theo P.T.V.Anh và cs (2014)) [1].

Cỡ mẫu cần thiết cho độ nhạy:

$$n_{se} = 1,96^2 \times 0,85 \times (1 - 0,85) / 0,1^2 / 0,1 = 490.$$

Cỡ mẫu cần thiết cho độ đặc hiệu:

$$n_{sp} = 1,96^2 \times 0,98 \times (1 - 0,98) / 0,05^2 / (1 - 0,1) = 35.$$

Vì  $n_{se} > n_{sp}$  nên chọn cỡ mẫu chung là  $n=490$ .

Ước tính tỉ lệ bỏ cuộc khoảng 7%, cỡ mẫu cần tăng lên sau khi điều chỉnh hiện tượng bỏ cuộc là  $n/(1 - 0,07)$ .

Như vậy cỡ mẫu tối thiểu dự kiến là **530 bệnh nhân**.

## 2.5. Biến số và định nghĩa biến số trong nghiên cứu

### 2.5.1. Xác định các biến số trong nghiên cứu

**Biến số kiểm soát:** tuổi, giới, nơi cư ngụ, BMI, đường lây (tiêm chích ma túy, QHTD, không rõ), tiền sử điều trị ARV, số lượng tế bào lymphô, nồng độ hemoglobin, transaminase (AST, ALT), TCD4<sup>+</sup>, tiền sử nhiễm nấm *T.marneffeii* hoặc viêm màng não nấm do *C.neoformans*, tiền sử dự phòng cotrim, dự phòng lao.

**Biến số độc lập:** Nồng độ Mp1p huyết thanh và Mp1p nước tiểu. Nồng độ Mp1p được tính là trị số liên tục, đo bằng OD

**Biến số phụ thuộc:** Bệnh do nấm *Talaromyces marneffeii* (có hoặc không có) dựa vào kết quả cấy máu, sang thương da, tủy xương hoặc các dịch của cơ thể

## 2.5.2. Định nghĩa các biến số

### 2.5.2.1. Đặc điểm dân số học

- **Tuổi:** tuổi được tính tròn năm, bằng cách lấy năm nhập viện trừ cho năm sinh.
- **Giới tính:** gồm 2 nhóm nam và nữ.
- **Chỉ số khối cơ thể (BMI):** cân nặng/[chiều cao]<sup>2</sup>

Trong đó:

- Cân nặng được tính bằng kilogram (kg)
- Chiều cao được tính bằng mét (m)

**Bảng 2.1.** Tiêu chuẩn phân loại BMI

“Nguồn: WHO (2004)” [125]

Phân loại	BMI (Kg/mm <sup>3</sup> )
Thiếu cân trầm trọng	< 16
Thiếu cân trung bình	16-16,9
Thiếu cân nhẹ	17-18,49
Bình thường	18,5-24,9
Tiền béo phì	25-29,9
Béo phì	≥30

- **Nơi cư ngụ:** chia thành các nhóm khu vực
  - Khu vực Đông Nam Bộ, bao gồm: Bình Phước, Bình Dương, Đồng Nai, Tây Ninh, Bà Rịa - Vũng Tàu
  - Khu vực Tây Nguyên, bao gồm: Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk, Đắk Nông và Lâm Đồng
  - Thành phố Hồ Chí Minh
  - Các khu vực còn lại

- **Mật độ nhiễm HIV trên 100.000 dân của từng khu vực:** được ước tính dựa vào số trường hợp nhiễm HIV và mật độ dân số của từng địa phương [20].

#### 2.5.2.2 Đặc điểm dịch tễ liên quan đến HIV

- **Đường lây truyền HIV:** Theo định nghĩa của CDC (Centers for Disease Control and Prevention) chia thành 3 nhóm
  - Tiêm chích ma túy: người chích ma túy bằng đường tĩnh mạch, có dùng chung kim tiêm với người khác
  - Quan hệ tình dục không an toàn: quan hệ tình dục đồng giới hoặc quan hệ tình dục với người có nguy cơ cao như tiêm chích ma túy, mại dâm, người có quan hệ đồng giới. Quan hệ tình dục khác giới
  - Không rõ nguồn lây: bệnh nhân không có tiêm chích ma túy và không có quan hệ tình dục
- **Điều trị ARV:**
  - Có điều trị: bệnh nhân đang được điều trị ARV hoặc bệnh nhân đã từng được điều trị ARV trước khi nhập viện
  - Không điều trị: bệnh nhân chưa bao giờ được điều trị ARV

#### 2.5.2.3 Đặc điểm lâm sàng

- **Sốt:** khi nhiệt độ đo ở nách cộng thêm  $0,5^{\circ}\text{C}$  và cao hơn  $38,3^{\circ}\text{C}$
- **Thời gian sốt:** từ lúc sốt đến lúc nhập Bệnh viện Bệnh nhiệt đới
- **Lách to:** khi kích thước lách  $\geq 12$  cm trên siêu âm
- **Gan to:** khi chiều cao gan  $\geq 15$  cm trên siêu âm
- **Hạch to trên lâm sàng:** khi kích thước hạch  $\geq 0,5$  cm (cổ, nách),  $\geq 1$  cm (bẹn)
- **Sẩn da:** sang thương da nông, chắc, gồ trên mặt da
  - Tình trạng thiếu máu: Khi nồng độ hemoglobin  $< 13$  g/dL đối với nam và  $< 12$  g/dL đối với nữ

**Bảng 2.2.** Tiêu chuẩn phân loại mức độ thiếu máu

“Nguồn: WHO (2011)” [124]

Mức độ (*)	Bình thường	Nhẹ	Trung bình	Nặng
Nam	$\geq 13$	11 - 12.9	8 - 10.9	$< 8$
Nữ	$\geq 12$	11 - 11.9	8 - 10.9	$< 8$

(\*): Hemoglobin (g/dL)

- **Bệnh nhiễm nấm *Talaromyces marneffei*:** Bệnh nhân được khẳng định nhiễm nấm *T. marneffei* khi có một trong các yếu tố sau về mặt vi sinh:
  - o Trong các bệnh phẩm da, tuỷ xương, hạch: Soi tươi thấy nấm hạt men nội và ngoại bào và cấy tìm nấm *T.marneffei*
  - o Cấy máu phân lập được nấm *T.marneffei*
- **Nhiễm nấm *Talaromyces marneffei* nặng:** Bệnh nhân có bằng chứng vi sinh nhiễm *T. marneffei* kèm biểu hiện suy hô hấp và/hoặc sốc:
  - o Suy hô hấp: tăng công cơ hô hấp hoặc có bất thường khí máu động mạch với giảm oxy máu (dưới 60 mmHg), SpO<sub>2</sub> dưới 90%/ khí trời, PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 200, hoặc tăng CO<sub>2</sub> máu (PaCO<sub>2</sub> trên 45 mmHg) [87].
  - o Sốc: huyết áp tâm thu dưới 90 mmHg hoặc huyết áp động mạch trung bình bé hơn hoặc bằng 65 mmHg.
- **Các nhiễm trùng cơ hội thường gặp** được định nghĩa dựa trên “Hướng dẫn điều trị và chăm sóc HIV/AIDS” của Bộ Y tế (2017) [6].
- Định nghĩa một số nhiễm trùng cơ hội thường gặp:
  - o **Lao phổi:** sốt, ho đàm, mồ hôi đêm, sụt cân  $\geq 2$  tuần, ho đàm máu, Xquang phổi nghi lao phổi, soi đàm: AFB (+) hoặc AFB (-)
  - o **Viêm màng não nấm *C.neoformans*:** Có biểu hiện lâm sàng của nhiễm trùng hệ thần kinh trung ương và có bằng chứng nhiễm nấm *Cryptococcus neoformans* trong dịch não tủy: nuôi cấy phân lập được nấm *Cryptococcus neoformans*.



- **Viêm phổi *Pneumocystis jirovecii***: sốt nhẹ, ho khan  $\geq 2$  tuần, đau ngực, khó thở tăng dần, diễn tiến bán cấp. Xquang phổi: tổn thương mô kẽ lan tỏa đối xứng 2 bên, đáp ứng điều trị cotrimoxazole liều cao và không tìm thấy tác nhân khác gây viêm phổi.
- **Viêm não do *Toxoplasma gondii***: sốt, đau đầu, lú lẫn, giảm vận động, tổn thương thần kinh khu trú, co giật, hôn mê. CT scan/MRI sọ não: hình ảnh “vòng nhẫn” tăng tính hiệu khi tiêm thuốc tương phản, có phù não xung quanh (hiệu ứng khối choáng chỗ), tổn thương đa ổ. Huyết thanh chẩn đoán *T.gondii* (IgG) dương tính. Đáp ứng nhanh (10 ngày) với điều trị cotrimoxazole.
- **Viêm não chất trắng đa ổ tiến triển do JCV**: khó nói, liệt nửa người, dấu tiêu não diễn tiếp từ từ. DNT: đạm tăng nhẹ. MRI/CT scan sọ não: đa tổn thương không đối xứng, trên hoặc dưới lều, không tăng quang, không hiệu ứng khối u.
- **Nhiễm nấm miệng**: bệnh nhân than nuốt đau ở họng, khám thấy màng trắng ở họng – miệng, phết màng trắng soi, cấy tìm nấm *Candida spp.*

## 2.6. Kỹ thuật đo lường và phương pháp thu thập số liệu

### 2.6.1. Kỹ thuật đo lường trong phòng xét nghiệm:

**2.6.1.1. Kỹ thuật nhuộm soi và nuôi cấy sang thương da tìm nấm:** được thực hiện tại phòng Vi sinh của Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới.

❖ *Kỹ thuật nhuộm soi sang thương da tìm nấm:*

- Bệnh phẩm sang thương da được nhuộm Giemsa 5%.
- Lam kính được quan sát dưới kính hiển vi quang trường 40X.
- Kỹ thuật nuôi cấy sang thương da tìm nấm:
  - Cho bệnh phẩm lên bề mặt của một đĩa môi trường thạch Sabouraud.
  - Ủ đĩa cấy ở nhiệt độ 25<sup>0</sup>C và 37<sup>0</sup>C trong ít nhất 5 ngày, kiểm tra mỗi ngày để quan sát sự tăng trưởng của vi nấm. Các khuẩn nấm mọc có thể là vi nấm hạt men hoặc vi nấm sợi tơ.
  - Khi các khuẩn đủ trưởng thành được soi dưới kính hiển vi như các bước soi tươi sang thương da.

- Thực hiện các xét nghiệm sinh hóa để định danh vi nấm.
  - Đối với các loại nấm hạt men:
    - ✓ Thực hiện xét nghiệm Api20C AUX định danh các loại nấm hạt men.
    - ✓ Thực hiện xét nghiệm: serum test, chromagar test để xác định một số các loài *Candida sp.*
    - ✓ Thực hiện xét nghiệm ure test để xác định *Cryptococcus neoformans*.
  - Đối với các loại nấm sợi:
    - ✓ Mẫu cần định danh *Aspergillus*: Cấy trên môi trường Sabouraud ủ ở 2 nhiệt độ và môi trường Czapek Dog để xác định loài.
    - ✓ Mẫu nghi ngờ *Talaromyces marneffeii*, *Histoplasma capsulatum*: dựa vào màu sắc, khúm nấm mọc trên Sabouraud và làm lame để xác định hình ảnh đặc trưng.
    - ✓ Các loại nấm sợi khác: định danh dựa trên hình ảnh đặc trưng trên lame hoặc phải thực hiện thêm các xét nghiệm khác để chẩn đoán.

**2.6.1.2. Kỹ thuật cấy máu:** được thực hiện tại phòng Vi sinh của Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới

❖ *Nguyên tắc*

Sử dụng môi trường Bactec (loại dùng để cấy vi sinh hiếu khí). Thiết bị chính sử dụng theo phương pháp phát hiện nồng độ CO<sub>2</sub> thông qua hệ thống phát huỳnh quang. Mẫu máu được bơm vào các chai môi trường và được đặt trong thiết bị huỳnh quang để ủ và đọc định kỳ. Mỗi chai có gắn cảm biến hóa học có thể phát hiện nồng độ CO<sub>2</sub> tăng hình thành do vi sinh vật phát triển. Kết quả đọc dương tính biểu thị có hiện diện một cách có cơ sở vi sinh sống trong chai. Trong chai môi trường Batec có chứa hạt Resin. để tăng cường khả năng hồi phục của vi sinh vật và làm giảm hoạt chất của kháng sinh trong máu.

❖ *Quy trình tiến hành:*

- Đặt các chai máu cấy vào trong máy Bactec 9240 sau khi đã nhập đầy đủ các thông tin.

- Các chai này được tự động kiểm tra mỗi 10 phút. Chai dương tính sẽ được xác định và thiết bị sẽ báo động để thông báo mẫu dương tính.
- Nếu các chai máu cấy được ủ trong 5 ngày và không mọc vi khuẩn hay nấm → ghi kết quả là âm tính.
- Khi máy báo có mẫu dương tính thì lấy chai dương tính ra khỏi máy → bằng kỹ thuật vô khuẩn dùng bơm tiêm 3cc để rút 0,5-1cc máu để nhuộm gram và cấy chuyên.
  - Nhuộm gram: nhỏ một giọt trên lam kính để nhuộm gram.
  - Nếu kết quả nhuộm gram cho thấy không có vi khuẩn thì tiếp tục cấy chuyên bệnh phẩm trên các đĩa BA (Blood Agar), MC (Mac Conkey Agar), SDA (Sabouraud Dextrose Agar) và ủ ở 35 - 37°C trong 24-72 giờ.
  - Nếu kết quả nhuộm gram cho thấy có vi khuẩn hoặc nấm sẽ xác định vi khuẩn gram âm hay dương, cầu khuẩn hay trực khuẩn hoặc nấm.
  - Cấy chuyên:
    - Cấy trên BA, MC nếu nhuộm gram cho thấy có trực trùng gram âm.
    - Cấy trên BA nếu nhuộm gram cho thấy cầu trùng gram dương. Đặt thêm đĩa OP (Optochin) nếu là cầu trùng gram dương đứng chuỗi.
    - Ngoài ra cấy thêm trên đĩa CA (Chocolate Agar) nếu nghi ngờ có trực khuẩn gram âm từ kết quả nhuộm gram.
    - Cấy trên đĩa SDA nếu soi thấy nấm từ kết quả nhuộm gram. Sau đó định danh nấm bằng môi trường api 20 C AUX (bio Merieux).

**2.6.1.3. Kỹ thuật xét nghiệm huyết học, sinh hóa, và miễn dịch:** được thực hiện tại phòng xét nghiệm của Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới.

Công thức máu được đo bằng kỹ thuật laser, điện trở khối, đo quang bằng máy ADVIA 2120i của hãng Seimens hoặc máy XN Series của hãng Sysmed.

Creatinin máu được đo bằng kỹ thuật đo động học Jaffé không khử protein bằng máy Cobas C501 của hãng Roche hoặc bằng kỹ thuật đo động học tự động bằng máy AU 5800 của hãng Beckman Coulter.

Transaminase (AST, ALT): hoạt độ của enzym AST, ALT trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzyme trên máy phân tích sinh hoá tự động COBAS C501.

Xét nghiệm HIV được hiện bằng các kỹ thuật sắc ký trên giấy bằng test Determine ½ Alere của hãng Abbott, kỹ thuật miễn dịch men vi hạt bằng máy Architect 2000i của hãng Abbott và máy Cobas E601 của hãng Roche.

Tế bào TCD4<sup>+</sup> được đo bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy bằng máy BD Fascalibur.

#### **2.6.1.4. Kỹ thuật xét nghiệm ELISA PAbs-MAb Mp1p huyết thanh và nước tiểu: thực hiện tại phòng xét nghiệm OUCRU**

##### *❖ Nguyên lý của xét nghiệm:*

Xét nghiệm miễn dịch Sandwich ELISA đo lượng kháng nguyên giữa hai lớp kháng thể. Trong xét nghiệm này, Mp1p được phát hiện bằng cách gắn kháng thể đa dòng (PAbs) kháng kháng nguyên Mp1p vào đáy vi phiến, sau đó cho mẫu bệnh phẩm lên trên bề mặt này. Nếu Mp1p có trong mẫu bệnh phẩm sẽ bị phát hiện bởi kháng thể đa dòng (PAbs). Phức hợp kháng nguyên - kháng thể này có thể được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể đơn dòng Mp1p (MAb) gắn với biotin. Kháng thể này có thể được gắn với enzyme streptavidin horseradish peroxidase (HRP) gây đổi màu, cho phép xác định sự hiện diện của Mp1p trong các mẫu bệnh phẩm.

##### *❖ Các bước thực hiện*

###### ○ Bước 1: Chuẩn bị bệnh phẩm

Huyết thanh: Quay ly tâm ống thu huyết thanh với tốc độ 1000 vòng/phút trong 5 ở nhiệt độ phòng.

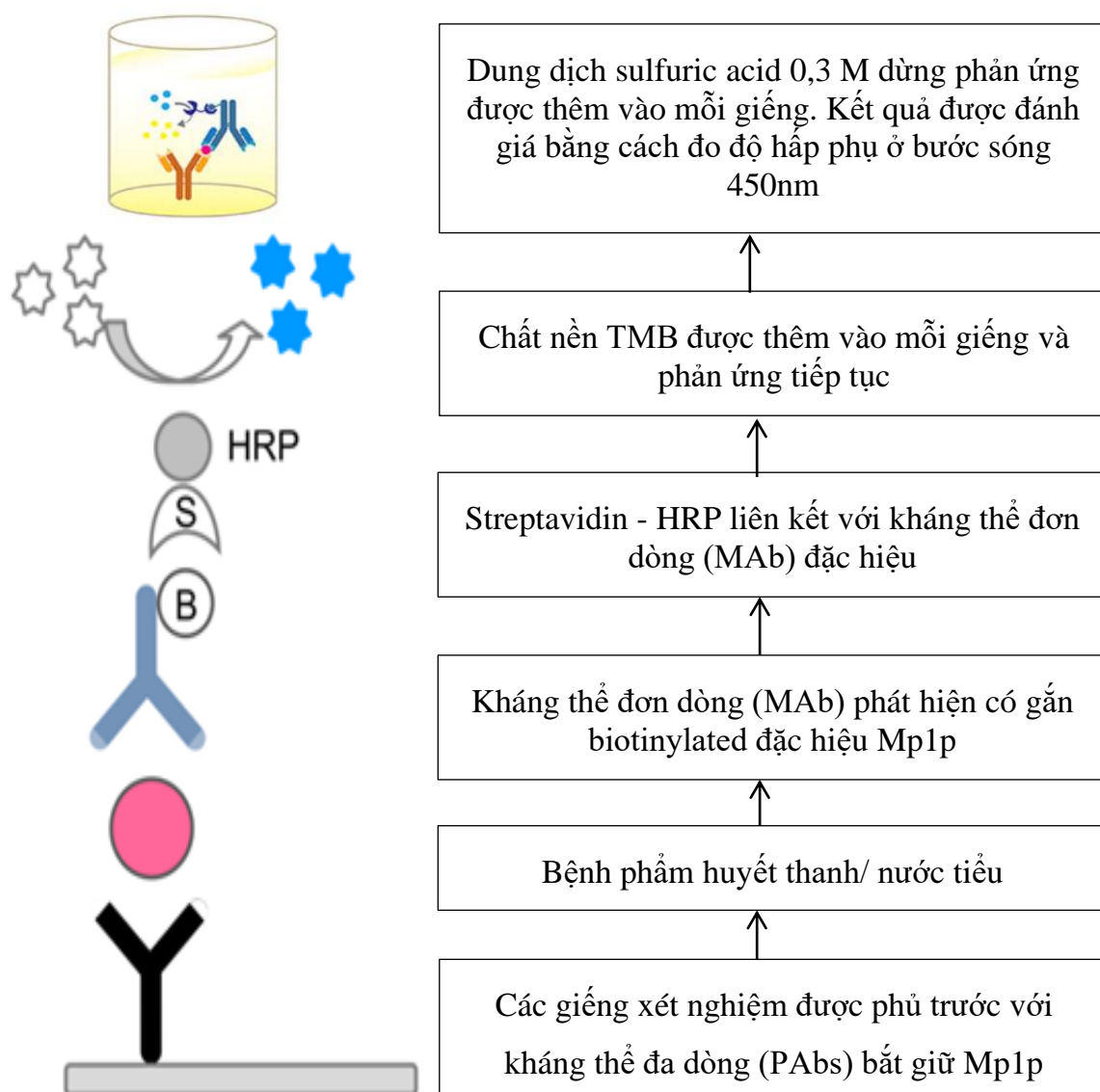
Nước tiểu: Quay ly tâm 1,5 mL nước tiểu với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút ở nhiệt độ phòng.

###### ○ Bước 2: Phủ kháng thể đa dòng bắt giữ

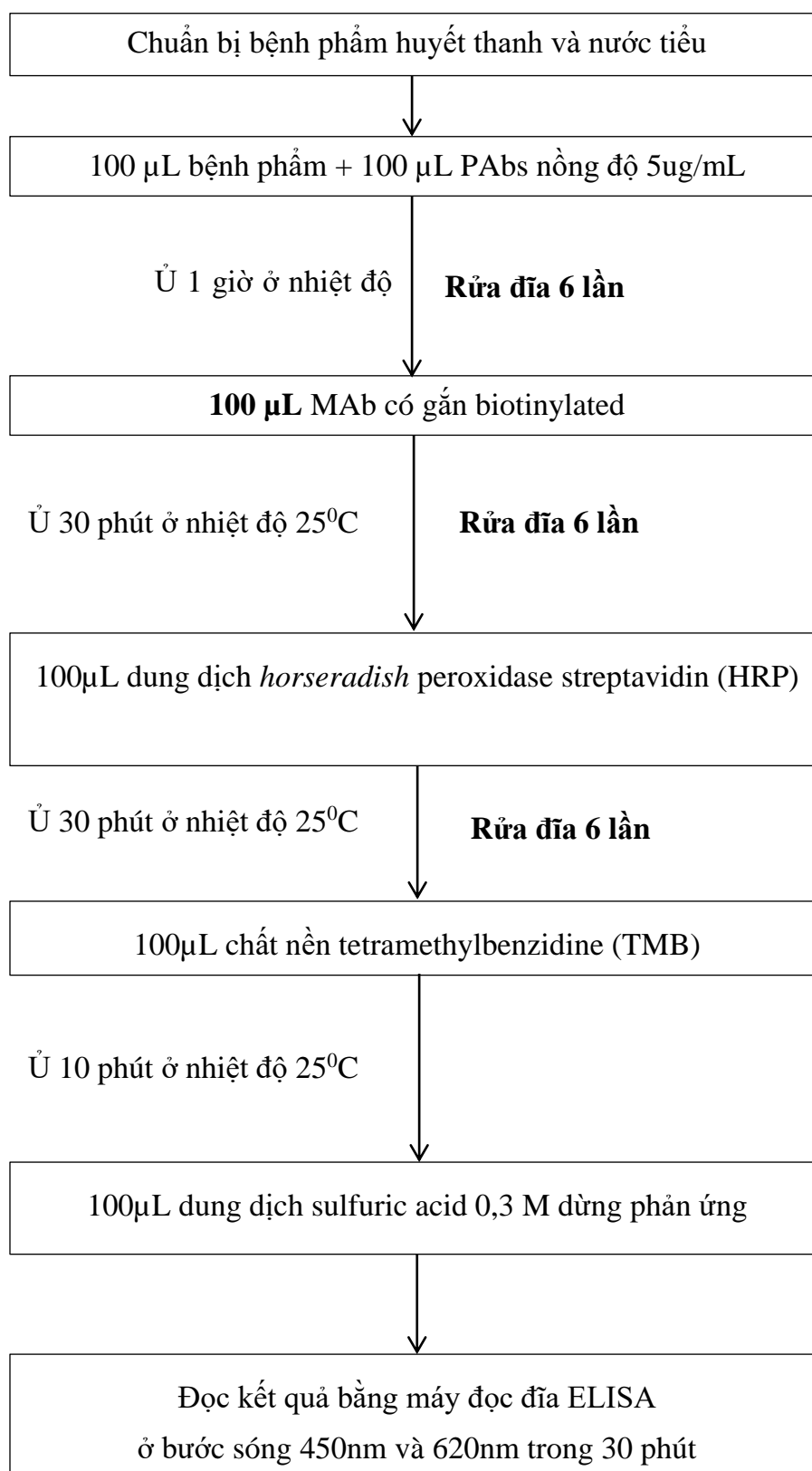
- Nhỏ 100  $\mu$ L huyết thanh vào giếng đã được phủ sẵn các kháng thể đa dòng bất giữ (Costar, Corning, NY, USA) với nồng độ PAbs là 5 $\mu$ g/mL và ủ 1 giờ ở nhiệt độ 37 $^{\circ}$ C.
- Rửa các giếng trên đĩa
- *Bước 3: Ủ dung dịch kháng thể đơn dòng*
  - Thêm 100  $\mu$ L kháng thể đơn dòng có gắn biotinylated vào giếng và ủ trong 30 phút ở nhiệt độ 25 $^{\circ}$ C
- *Bước 4: Ủ dung dịch Streptavidin-HRP*
  - Thêm 100 $\mu$ L dung dịch *horseradish* peroxidase streptavidin (HRP) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) vào từng giếng và ủ ở nhiệt độ phòng (20 - 25 $^{\circ}$ C) trong 30 phút
- *Bước 5: Ủ cơ chất TMB*
  - Thêm 100 $\mu$ L chất nền tetramethylbenzidine (TMB) (KPL, Gaithersburg, MD, USA) vào từng giếng và ủ ở nhiệt độ phòng trong vòng 10 phút
- *Bước 6: Đọc kết quả*
  - Thời gian xảy ra phản ứng 10 phút, sau đó thêm vào sulfuric acid 0,3 M để dừng phản ứng
  - Các đĩa được đọc bằng máy đọc đĩa ELISA (Loại Bio-Tek, Winooski Hoa Kỳ) ở bước sóng 450 nm và 620 nm trong 30 phút.
  - Đọc kết quả:  
$$OD \text{ mẫu} = OD_{450} - OD_{620}$$

OD ở 620nm là bộ lọc tham chiếu trừ các yếu tố gây nhiễu do đĩa nhựa.

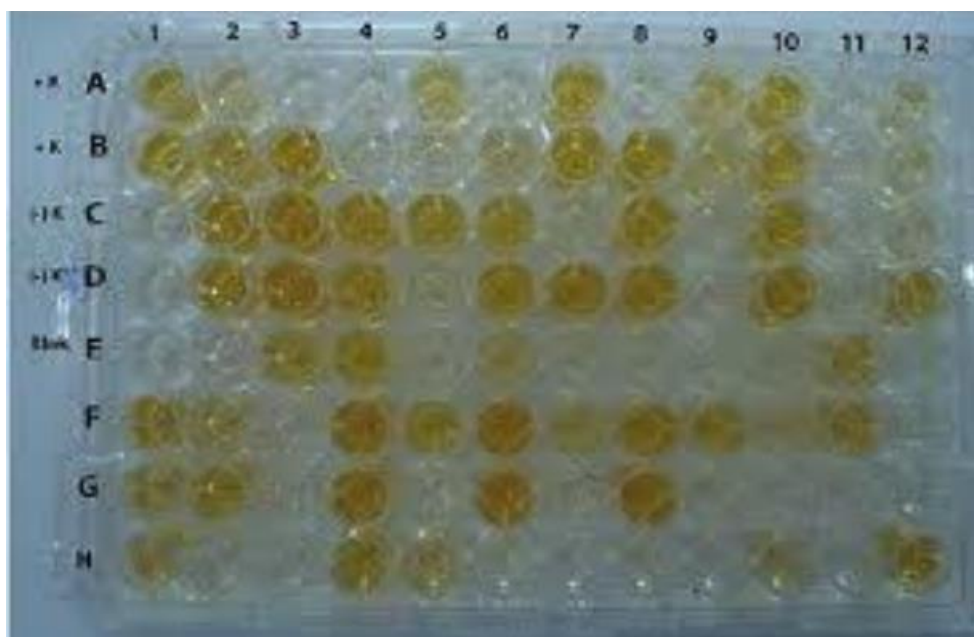
Mẫu nước tiểu, quay ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút. Lấy 100 $\mu$ L dịch nổi để chạy ELISA. Quy trình còn lại tương tự với mẫu huyết thanh.



**Sơ đồ 2.1.** Nguyên lý xét nghiệm PAb-MAb ELISA Mp1p



**Sơ đồ 2.2.** Qui trình xét nghiệm ELISA PAb-MAb Mp1p



**Hình 2.1.** Minh họa phản ứng ELISA Mp1p sử dụng đĩa 96 giếng sau khi cho dung dịch dừng phản ứng.

*Giá trị OD được đo ở bước sóng 450 nm với hệ thống đọc Aliger. Màu vàng thể hiện kháng nguyên Mp1p có hiện diện trong giếng. Màu đậm thể hiện lượng protein có trong mẫu ở nồng độ cao.*

## **2.6.2. Phương pháp thu thập số liệu**

### **2.6.2.1. Thu nhận bệnh nhân và thu thập dữ liệu trong bệnh viện**

Bệnh nhân được chẩn đoán HIV/AIDS nhập vào khoa nhiễm E, thỏa các tiêu chuẩn nhận bệnh kể trên, không có các tiêu chuẩn loại trừ, và đồng ý ký chấp thuận tham gia nghiên cứu được thu tuyển vào.

Bệnh nhân vào nghiên cứu được tiến hành thăm khám và thực hiện các xét nghiệm cận lâm sàng, xử trí theo phác đồ điều trị của bệnh viện Bệnh Nhiệt đới. Nghiên cứu viên không can thiệp vào quá trình điều trị. Ngay khi được chẩn đoán HIV có TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup>, bệnh nhân được lấy máu xét nghiệm Mp1p huyết thanh và nước tiểu cùng lúc với mẫu bệnh phẩm khác theo chỉ định thông thường của bác sĩ trong quá trình điều trị.



Nghiên cứu viên thu thập các thông tin (dân số học, dịch tễ và tiền căn) cần thiết bằng phỏng vấn trực tiếp qua bảng câu hỏi soạn sẵn, qua khám lâm sàng. Phần theo dõi diễn tiến bệnh và các kết quả xét nghiệm được ghi nhận từ hồ sơ bệnh án.

#### **2.6.2.2. Theo dõi bệnh nhân có Mp1p (+) sau xuất viện**

Các trường hợp Mp1p (+) nhưng không được chẩn đoán là nhiễm *T.marneffeii* trong thời gian nằm viện sẽ được theo dõi tại phòng tái khám ở khoa nhiễm E, bệnh viện Bệnh Nhiệt đới mỗi 4 tuần trong vòng tối đa 6 tháng hoặc cho đến bất kể khi nào bệnh nhân có triệu chứng bất thường nghi ngờ nhiễm trùng cơ hội. Tại thời điểm này, bệnh nhân được lấy máu và nước tiểu để đánh giá Mp1p, cấy máu, soi và cấy sang thương da (nếu có). Biến số kết cục nhiễm nấm *T.marneffeii* được ghi nhận trong suốt quá trình theo dõi.

Trường hợp bệnh nhân không tham gia tái khám, định kỳ mỗi 4 tuần, nhóm nghiên cứu sẽ liên lạc qua điện thoại ghi nhận tình trạng sống còn của bệnh nhân và các diễn biến chính.

#### **2.6.2.3. Mất theo dõi**

Mất dấu trong nghiên cứu là những trường hợp nghiên cứu viên đã cố gắng liên lạc bằng nhiều hình thức nhưng không được:

(1) không tìm thấy thông tin bệnh nhân tái khám trên hệ thống mạng ehospital của bệnh viện.

(2) không liên lạc được qua điện thoại: tối thiểu là 3 lần gọi cách nhau mỗi tuần, với 2 số điện thoại được bệnh nhân cung cấp trong lần nhập viện trước đó.

(3) không tìm được bệnh nhân theo số địa chỉ nhà đã được cung cấp trong lần thăm khám trước đó.

#### **2.6.3. Kiểm soát các sai lệch**

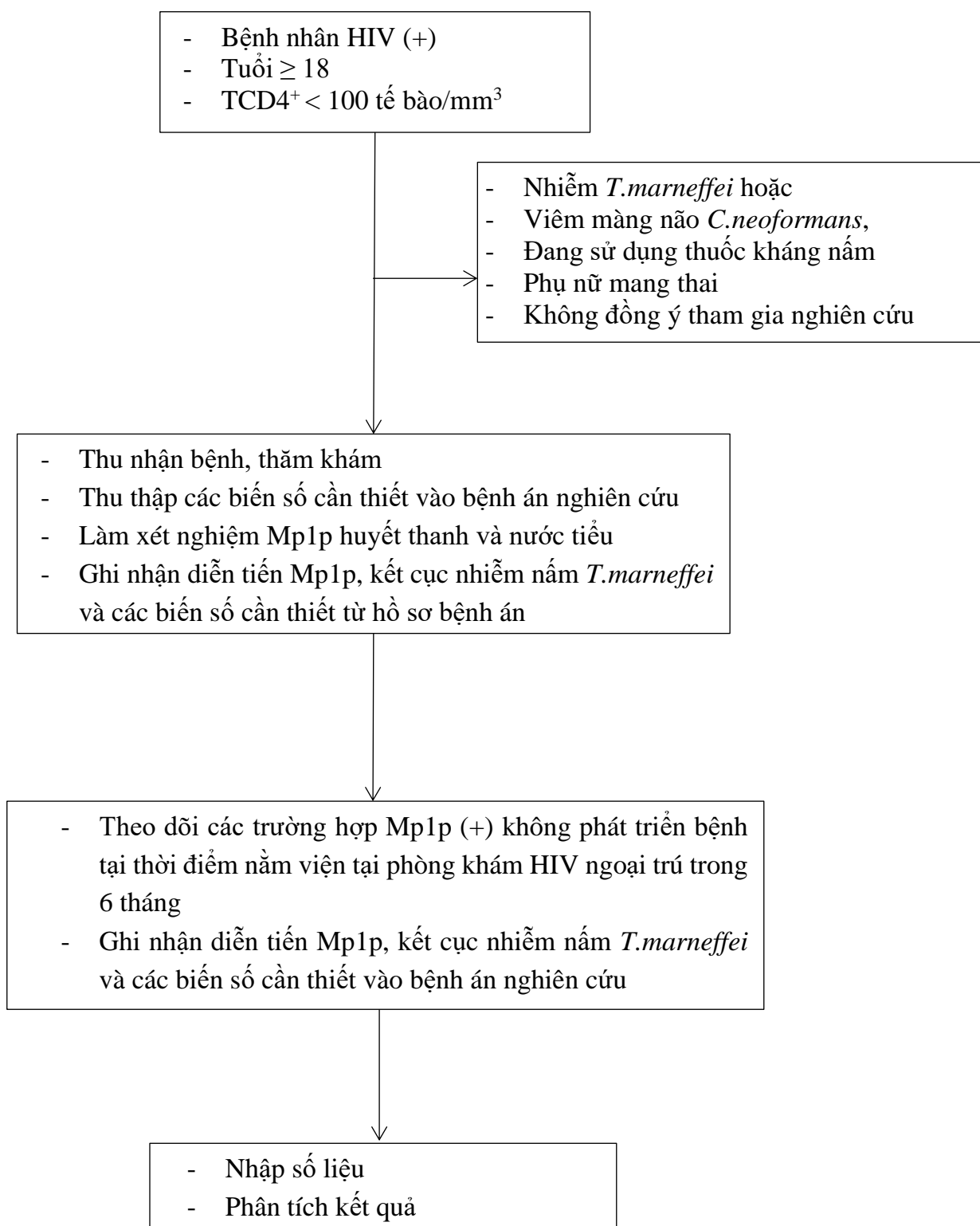
Thiết kế bộ câu hỏi khảo sát phù hợp, rõ ràng, dễ thu thập và chỉ lấy đủ thông tin cần thiết.

Giải thích rõ ràng mục đích nghiên cứu và nhấn mạnh tính khuyết danh.

Chỉ tiến hành nghiên cứu khi đối tượng nghiên cứu đã nắm rõ thông tin.

### **2.7. Quy trình nghiên cứu**

- Bệnh nhân HIV, TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup> điều trị nội trú tại Khoa Nhiễm E - Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới đủ tiêu chuẩn thu nhận sẽ được mời tham gia nghiên cứu.
- Thu thập bằng chứng chấp thuận vào nghiên cứu bằng bảng đồng thuận có chữ ký của bệnh nhân về nội dung cho lấy mẫu bệnh phẩm và sử dụng các thông tin về kết quả cho mục tiêu nghiên cứu.
- Các dữ liệu về yếu tố dịch tễ, lâm sàng và kết quả xét nghiệm được ghi nhận vào phiếu thu thập số liệu.
- Nhập và phân tích số liệu.



**Sơ đồ 2.3.** Quy trình nghiên cứu

## 2.8. Phương pháp phân tích số liệu

- Nhập và phân tích số liệu bằng phần mềm SPSS 24.0 và khi so sánh các biến, giá trị  $p < 0,05$  được xem là sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.
- Các biểu đồ, bảng đồ phân bố các biến số được phân tích bằng phần mềm R.3.6.2 và GraphPad Prsim 8.0.
- Dữ liệu được lọc và kiểm tra các sai sót do nhập liệu trước khi phân tích.
- Đối với biến số mất tính đối xứng và không có phân phối chuẩn sẽ chuyển dạng sang logarit, sau đó kiểm tra tính phân phối chuẩn của chuyển dạng logarit bằng phép kiểm Kolmogorov Smirnov.
- Kết quả tính toán và phân tích được trình bày dưới dạng bảng và biểu đồ.
- Các biến số định tính được tính bằng tỉ lệ phần trăm. Biến số định lượng được biểu diễn bằng giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn hay trung vị (khoảng tứ phân vị - IQR).
- Sự khác biệt về tỷ lệ giữa 2 nhóm được so sánh bằng phép kiểm chi bình phương.
- Các giá trị liên tục có phân phối chuẩn được so sánh bằng phép kiểm T (2 nhóm) hay phép kiểm ANNOVA ( $\geq 3$  nhóm).
- Các giá trị liên tục không có phân phối chuẩn được so sánh bằng phép kiểm Mann-Whitney U (2 nhóm), Phép kiểm dấu và hạng Wilcoxon (2 nhóm bất cặp) hay phép kiểm Kruskal Wallis ( $\geq 3$  nhóm).
- Phân tích hồi quy tuyến tính đơn biến và đa biến được sử dụng nhằm xác định các yếu tố liên quan kháng nguyên Mp1p huyết thanh và nước tiểu.
- Điểm cắt (cut - off) xác định các giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu của Mp1p huyết thanh và nước tiểu dựa vào chỉ số Youden. Chỉ số này được xác định bằng khoảng cách lớn nhất theo chiều dọc giữa điểm trên đường ROC và đường chéo đi qua gốc tọa độ và điểm (1,1). Nó còn được gọi là xác suất có điểm xa nhất trên đường ROC.

$$J = \text{giá trị lớn nhất (độ nhạy + độ đặc hiệu)}$$

- Đánh giá khả năng chẩn đoán hay độ chính xác của Mp1p dựa vào diện tích dưới đường cong (AUC: Area Under Curve). Giá trị AUC càng lớn, kỹ thuật xét nghiệm càng chính xác. Kỹ thuật chẩn đoán hoàn hảo nhất khi AUC bằng 1, và hoàn toàn

không có ý nghĩa chẩn đoán khi  $AUC = 0,5$ . Thông thường, AUC của các xét nghiệm chẩn đoán lâm sàng dao động từ 0,5 đến 1. Giá trị AUC càng gần 1, xét nghiệm càng có ý nghĩa ứng dụng. Kỹ thuật chuẩn đoán có giá trị AUC lớn hơn 0,9 có thể được coi là kỹ thuật có độ chính xác cao. AUC nằm trong khoảng 0,7 đến 0,9 được cho là có độ chính xác trung bình và 0,5 đến 0,7 có độ chính xác thấp. Một xét nghiệm chẩn đoán lý tưởng nhất vừa có độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Khi giá trị cut-off giữa nhóm bệnh và nhóm không bệnh thay đổi làm tăng độ nhạy thì đồng thời cũng làm giảm độ đặc hiệu và ngược lại [52]. Giá trị điểm cắt  $Mp1p$  sau khi được xác định sẽ được chia thành 2 nhóm  $Mp1p (+)$  và  $Mp1p (-)$  để đưa vào phân tích đơn biến và đa biến khi xây dựng mô hình chẩn đoán bệnh *Talaromyces marneffei*.

- Phân tích Kaplan Meier được sử dụng để xác định trung vị thời gian phát triển của nấm *T.marneffei* ở các trường hợp mang kháng nguyên  $Mp1p$  nhưng chưa biểu hiện bệnh trong thời gian nằm viện.
- Chỉ số kappa được sử dụng để đánh giá mức độ tương hợp giữa 2 bệnh phẩm huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffei*.

**Bảng 2.3.** Phân loại mức độ tương hợp theo chỉ số kappa

“Nguồn: McHugh Mary L. (2012)” [78]

Chỉ số Kappa	Mức độ tương hợp
0 – 0,20	Không
0,21 – 0,39	Rất yếu
0,40 – 0,59	Yếu
0,60 – 0,79	Trung bình
0,80 – 0,89	Mạnh
$\geq 0,90$	Rất mạnh

- Mô hình chẩn đoán bệnh do nấm *Talaromyces marneffei* được xây dựng dựa trên phân tích hồi qui logistic bằng phương pháp Backward Wald. Sau khi xác lập các yếu tố liên quan đến bệnh do nấm *Talaromyces marneffei*, các yếu tố này được sử

dụng xây dựng bảng điểm chẩn đoán bệnh do nấm *Talaromyces marneffe* bằng Monogram của phần mềm R.3.6.2.

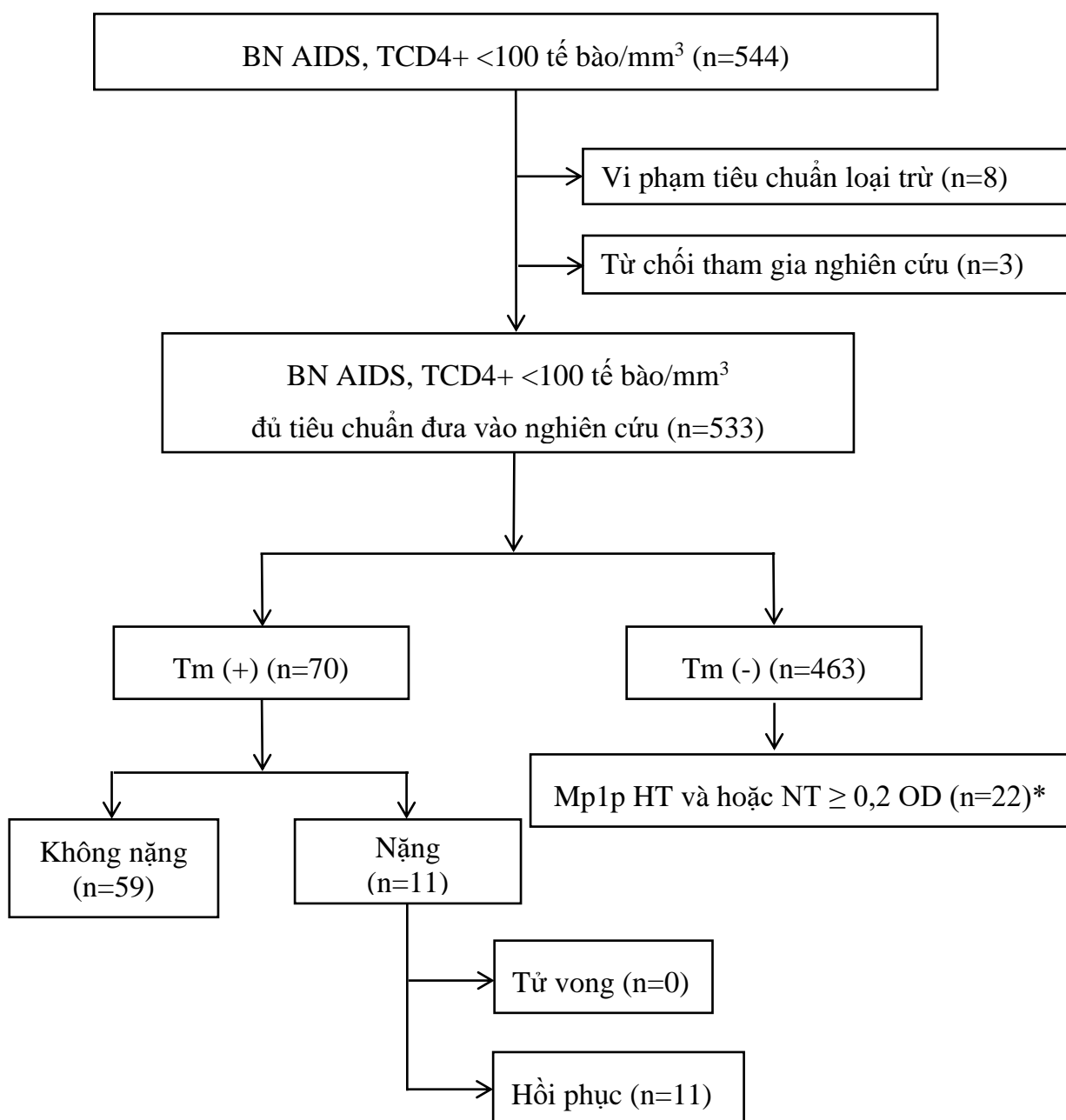
- Bản đồ phân bố mật độ Mp1p huyết thanh  $\geq 0,2$  OD theo nơi cư ngụ
- trên 100.000 người nhiễm HIV được vẽ bằng package ggplot của phần mềm R.3.6.2.

## **2.9. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu**

- Nghiên cứu tuân thủ hướng dẫn quốc gia về đạo đức trong nghiên cứu y sinh học
- Bệnh nhân được giải thích rõ ràng và đầy đủ các lợi ích cũng như nguy cơ trước khi tự nguyện ký "Phiếu đồng ý cung cấp thông tin và chấp thuận tham gia nghiên cứu".
- Những bệnh nhân không tham gia nghiên cứu không bị phân biệt đối xử, vẫn được khám và điều trị bình thường, theo những quy định của bệnh viện BNĐ, đảm bảo được quyền lợi của họ trong chẩn đoán và điều trị.
- Tất cả các thông tin cá nhân của người tham gia nghiên cứu sẽ được giữ bí mật tuyệt đối và được mã hóa trên phần mềm thống kê. Chỉ có nghiên cứu viên được tiếp cận những thông tin này.
- Bệnh nhân có quyền ngưng tham gia bất cứ thời điểm nào sau khi đồng ý vào nghiên cứu. Những trường hợp như vậy vẫn được điều trị và chăm sóc theo các hướng dẫn của bệnh viện như mọi bệnh nhân khác.
- Bệnh nhân chỉ chi trả chi phí chẩn đoán và điều trị thường quy cho chính bệnh nhân. Riêng xét nghiệm Mp1p huyết thanh và nước tiểu do nghiên cứu viên chi trả. Kết quả xét nghiệm Mp1p1 sẽ được thông báo cho bác sĩ điều trị tham khảo góp phần chẩn đoán và điều trị bệnh nhân.
- Nghiên cứu được sự chấp thuận của Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học cấp cơ sở của Bệnh viện Bệnh nhiệt đới theo quyết định số 08/HĐĐĐ ngày 29/01/2018.

### Chương 3. KẾT QUẢ

Có 533 bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS có số lượng TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup> điều trị tại khoa nhiễm E, bệnh viện Bệnh Nhiệt đới đủ tiêu chuẩn được thu thập vào nghiên cứu. Chúng tôi ghi nhận được các kết quả tóm tắt như trong sơ đồ sau đây:



**Sơ đồ 3.1.** Kết quả quá trình nghiên cứu

- Tm (+): Nhóm được chẩn đoán nhiễm *T.marneffeii*  
 Tm (-): Nhóm nhiễm trùng cơ hội khác  
 (\*): Theo dõi 6 tháng, kết cục được thể hiện ở sơ đồ 3.2

### 3.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu

#### 3.1.1. Đặc điểm dân số - tiền căn liên quan HIV của mẫu nghiên cứu

**Bảng 3.1.** Đặc điểm dân số - tiền căn liên quan HIV (n=533)

<b>Đặc điểm</b>	<b>Tần số (n)</b>	<b>Tỉ lệ (%)</b>
<b>Tuổi</b>	Trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn: 35,8 $\pm$ 8,6 tuổi	
< 40 tuổi	396	74,3
$\geq$ 40 tuổi	137	25,7
<b>Giới</b>	Nam	418 78,4
Nữ	115 21,6	
<b>BMI</b>	Trung vị (IQR): 17,3 (15,9 - 19)	
<b>Nơi cư ngụ</b>	TP.HCM	239 44,8
Khu vực Đông Nam Bộ	75	14,1
Khu vực Tây Nguyên	33	6,2
Các vùng khác	186	34,9
<b>Đường lây nhiễm HIV</b>	Tiêm chích ma túy	76 14,3
QHTD đồng giới	245	45,9
QHTD khác giới	174	32,6
Không rõ	38	7,2
<b>Điều trị ARV</b>	Không	364 68,3
Có	169	31,7

Ghi nhận tuổi trung bình của dân số nghiên cứu là 35,8  $\pm$  8,6 tuổi. Trong đó 74,3% thuộc độ tuổi < 40 tuổi. Nghiên cứu ghi nhận 78,4% (418/533) dân số trong mẫu là nam giới.

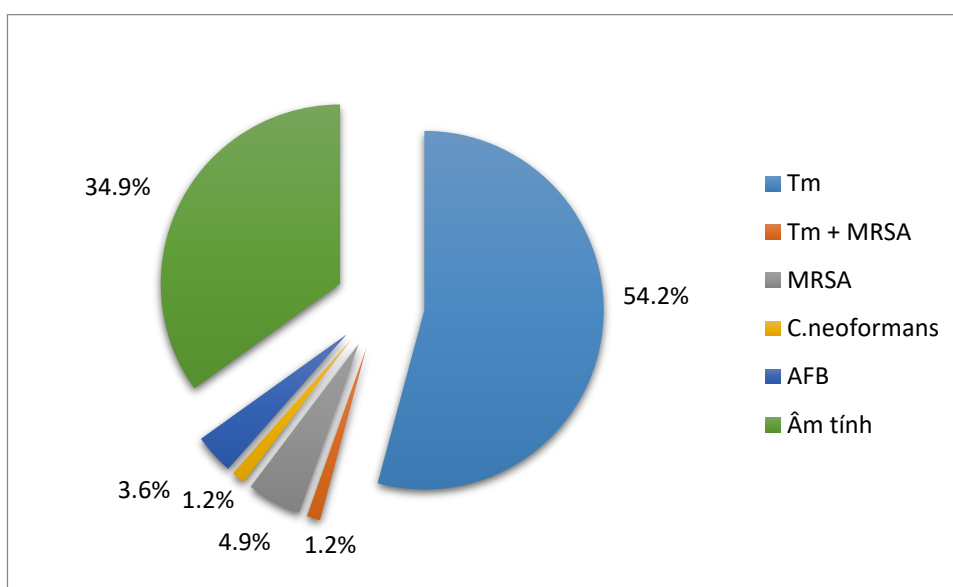
BMI của mẫu có trung vị 17,3 (15,9 - 19) kg/m<sup>3</sup>. Về nơi cư ngụ, 44,8% (239/533) trường hợp sống tại tại TP.HCM. Khu vực Đông Nam Bộ Bô và khu vực Tây Nguyên có tỉ lệ nhập viện thấp nhất, lần lượt là 14,1% (75/533) và 6,2% (33/533).



Về đường lây truyền HIV, nghiên cứu ghi nhận lây truyền do quan hệ tình dục đồng giới chiếm tỉ lệ cao nhất với 45,9% (245/533), kế tiếp là quan hệ tình dục khác giới với 32,6% (174/533). Lây truyền qua tiêm chích ma túy chiếm 14,3% (76/533) và 7,2% (38/533) trường hợp lây nhiễm HIV không rõ nguồn lây.

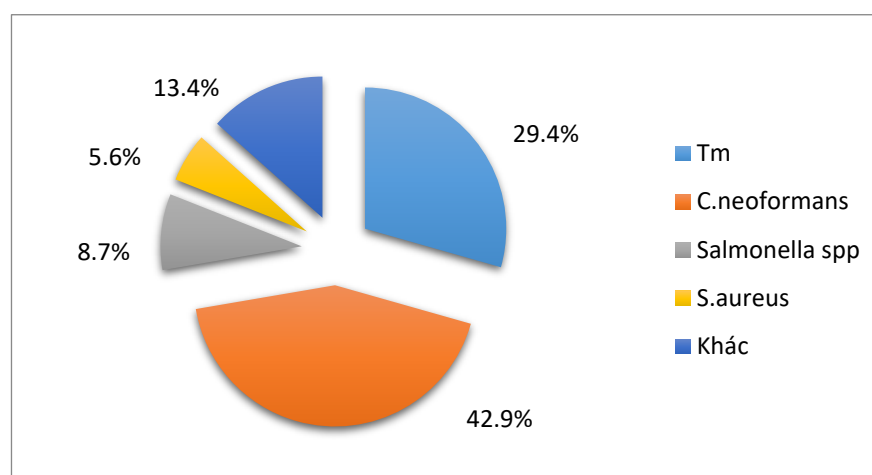
Về điều trị ARV, ghi nhận 68,3% (364/533) trường hợp không điều trị ARV.

### 3.1.2. Đặc điểm phân bố vi sinh của mẫu nghiên cứu



**Biểu đồ 3.1.** Đặc điểm phân bố vi sinh sang thương da của mẫu nghiên cứu (n = 83)

Nghiên cứu ghi nhận 83 trường hợp có sang thương lúc nhập viện. Tỉ lệ phân lập nấm *T.marneffeii* ở sang thương da cao nhất với 55,4% (46/533) (trong đó có 1 trường hợp đồng nhiễm với MRSA). Có 5 trường hợp MRSA phân lập ở da, 1 trường hợp *C.neoformans* và 3 trường hợp AFB (+). Có 34,9% (29/533) không phân lập được tác nhân gây bệnh ở sang thương da.



**Biểu đồ 3.2.** Đặc điểm phân bố vi sinh trong máu của mẫu nghiên cứu (n = 126)

Tỉ lệ phân lập được tác nhân gây bệnh trong máu là 126/533 trường hợp (23,6%). Trong nhóm tác nhân được phân lập, nấm *C.neoformans* chiếm tỉ lệ cao nhất với 42,9% (54/126). Gần 30% (38/126) trường hợp nhiễm nấm *T.marneffei* được phát hiện. Tỉ lệ *Salmonella spp* và MRSA được phân lập trong máu lần lượt là 8,7% (11/126) và 5,6% (7/126).

### 3.1.2. Đặc điểm nhóm bệnh *Talaromyces marneffei*

Sau khi quan sát 70 bệnh nhân, nghiên cứu ghi nhận tuổi trung bình của nhóm bệnh *T.marneffei* là  $32,9 \pm 7,7$  tuổi. Trong đó, nhóm tuổi < 40 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất 78,6% (55/70). Về phân bố giới tính, 84,5% (59/70) bệnh *T.marneffei* là nam giới. Trung vị BMI là 16,8 (15,1 - 18,3) và trung vị ngày bệnh là 21 (14 - 28). Bệnh nhân *T.marneffei* nhập viện cư ngụ chủ yếu tại TP.HCM và khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên lần lượt là 30% (21/70), 28,6% (20/70) và 22,8% (16/70).

Ghi nhận 85,7% (60/70) trường hợp nhiễm nấm *T.marneffei* có sốt lúc nhập viện. 52 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffei* có sản da, chiếm 74,3%. Trong đó, vị trí sản da ở mặt và ngực chiếm tỉ lệ cao nhất là 78,8% (41/52), có 7,8% (4/52) có sản da phân bố toàn thân.

Có 60% (42/70) trường hợp nhiễm nấm *T.marneffei* ghi nhận gan lách to. Về vị trí phân lập *T.marneffei*, phân lập mầm bệnh tại sản da chiếm 44,3% (31/70), phân lập

*T.marneffei* trong máu là 31,4% (22/70), phân lập mầm bệnh đồng thời tại 2 vị trí sẩn da và máu là 21,5% (15/70). Nghiên cứu ghi nhận 2 trường hợp chẩn đoán *T.marneffei* dựa vào tủy xương. Trong 70 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffei*, 59 trường hợp nhẹ, chiếm 84,3%.

**Bảng 3.2.** Đặc điểm lâm sàng của nhóm bệnh *Talaromyces marneffei* (n=70)

	<b>Đặc điểm</b>	<b>Tần số (n)</b>	<b>Tỉ lệ (%)</b>
<b>Tuổi</b>	Trung bình ± độ lệch chuẩn: 32,9 ± 7,7 tuổi		
	< 40 tuổi	55	78,6
	≥ 40 tuổi	15	21,4
<b>Giới</b>	Nam	59	84,3
	Nữ	11	15,7
<b>BMI</b>	Trung vị (IQR): 16,8 (15,1 - 18,3)		
<b>Nơi cư ngụ</b>	TP.HCM	21	30
	Khu vực Đông Nam Bộ	20	28,6
	Khu vực Tây Nguyên	16	22,8
	Các vùng khác	13	18,6
<b>Ngày bệnh</b>	Trung vị (IQR): 21 (14 - 28)		
<b>Sốt</b>		60	85,7
<b>Sẩn da (n=52)</b>		52	74,3
<b>Vị trí sẩn da</b>	Mặt	27	51,9
	Mặt + ngực	14	26,9
	Thân mình	5	9,6
	Chi	2	3,8
	Toàn thân	4	7,8
<b>Gan lách to</b>		42	60
<b>Chẩn đoán Tm theo vị trí phân lập</b>	Da và máu	15	21,4
	Da	31	44,3
	Máu	22	31,4
	Tủy xương	2	2,9
<b>Độ nặng của bệnh Tm</b>	Nhẹ	59	84,3
	Nặng	11	15,7

Nghiên cứu ghi nhận số lượng dòng lymphô, hồng cầu và tiểu cầu của bệnh nhân *Talaromyces marneffe* giảm. Theo đó, trung vị của lymphô là 0,35 (0,22 - 0,58) K/mm<sup>3</sup>, trung vị hemoglobin là 8,6 (7,5 - 10,7) g% và trung vị của tiểu cầu là 92 (43 - 152) K/mm<sup>3</sup>. Mặt khác, transaminase gia tăng trong các trường hợp bệnh *Talaromyces marneffe* với trung vị AST và ALT lần lượt là 122 (83 - 162) IU/mL và 56 (30 - 91) IU/mL. Trung vị TCD4<sup>+</sup> của các bệnh nhân nhiễm nấm *Talaromyces marneffe* là 11 (4 - 24) (TB/mm<sup>3</sup>).

**Bảng 3.3.** Đặc điểm cận lâm sàng của nhóm bệnh *Talaromyces marneffe* (n=70)

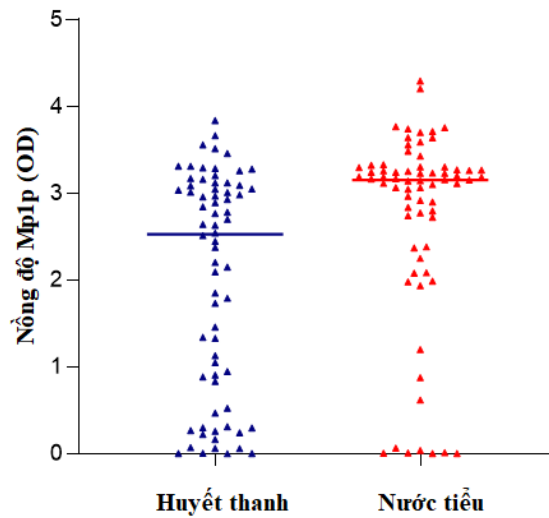
	Trung vị	Khoảng tứ phân vị (IQR)
<b>Bạch cầu (K/mm<sup>3</sup>)</b>	4,1	2,3 - 7,5
<b>Lymphô (K/mm<sup>3</sup>)</b>	0,35	0,22 - 0,58
<b>Hb (g%)</b>	8,6	7,5 - 10,7
<b>Tiểu cầu (K/ mm<sup>3</sup>)</b>	92	43 - 152
<b>AST (IU/mL)</b>	122	83 - 162
<b>ALT (IU/mL)</b>	56	30 - 91
<b>Creatinin (µL/L)</b>	75	58 - 91
<b>TCD4<sup>+</sup> (TB/ mm<sup>3</sup>)</b>	11	4 - 24

### 3.2. Đặc điểm phân bố nồng độ Mp1p và xác định các yếu tố liên quan

#### 3.2.1. Đặc điểm phân bố nồng độ Mp1p

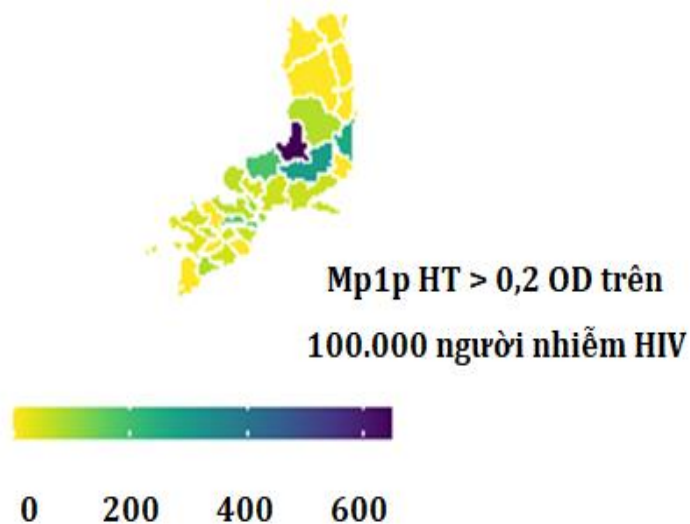
**Bảng 3.4.** Nồng độ Mp1p ở huyết thanh và nước tiểu ở nhóm bệnh nhân Tm (+)  
(n = 70)

Đặc điểm	Mp1p huyết thanh	Mp1 nước tiểu	p*
Trung vị IQR (OD)	2,53 (0,76 - 3,01)	3,15 (2,38 - 3,29)	< <b>0,001</b>



**Biểu đồ 3.3.** Phân bố nồng độ Mp1p ở huyết thanh và nước tiểu ở nhóm bệnh nhân nhiễm nấm *Talaromyces marneffe* (n = 70)

Ghi nhận nồng độ Mp1p huyết thanh của bệnh nhân Tm là 2,53 (0,76 - 3,01) OD thấp hơn nồng độ Mp1p nước tiểu là 3,15 (2,38 - 3,29), khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$

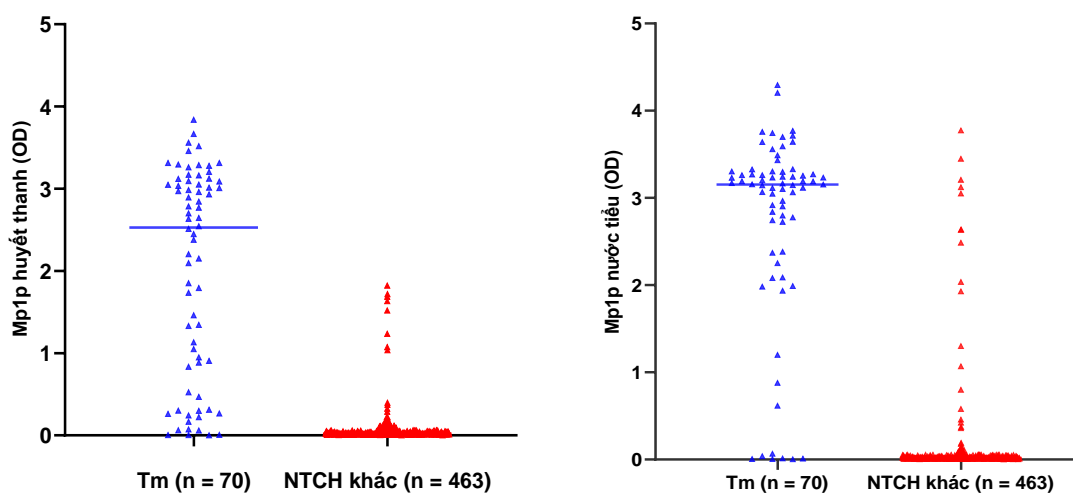


**Hình 3.1.** Bản đồ mật độ Mp1p huyết thanh > 0,2 OD theo nơi cư ngụ trên 100.000 người nhiễm HIV

Bản đồ ước đoán phân bố mật độ Mp1p huyết thanh theo nơi cư ngụ. Nghiên cứu ghi nhận 78 trường hợp có nồng độ Mp1p huyết thanh > 0,2 OD, chiếm 14,6%. Dựa vào các trường hợp nhập viện, phân bố dân số ở các khu vực cũng như số trường hợp nhiễm HIV trên 100.000 dân, nghiên cứu cho thấy mật độ kháng nguyên Mp1p tập trung chủ yếu ở các bệnh nhân đến từ các tỉnh khu vực Tây Nguyên và Đông Nam Bộ, trong đó có 4 tỉnh có mật độ Mp1p cao nhất là Đắc Nông (651:100.000 người nhiễm HIV), Lâm Đồng (292:100.000 người nhiễm HIV), Khánh Hoà (257:100.000 người nhiễm HIV) và Bình Phước (183:100.000 người nhiễm HIV); Khu vực các tỉnh miền Tây Nam Bộ có mật độ Mp1p thấp hơn, khoảng 50:100.000 người nhiễm HIV. (Phụ lục-3)

**Bảng 3.5.** Nồng độ Mp1p ở huyết thanh và nước tiểu giữa 2 nhóm bệnh Tm (+) và NTCH khác

<b>Đặc điểm</b>	<b>Tm</b>	<b>NTCH khác</b>	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>KTC 95%</b>
<b>Trung vị IQR (OD)</b>	<b>(n=70)</b>	<b>(n=463)</b>			
<b>Mp1p huyết thanh</b>	2,53 (0,76 - 3,01)	0,02 (0,01 - 0,05)	<b>&lt;0,001</b>	20,8	9,6 - 45,5
<b>Mp1p nước tiểu</b>	3,15 (2,38 - 3,29)	0,02 (0,01 - 0,03)	<b>&lt;0,001</b>	7,1	5,2 - 10,1



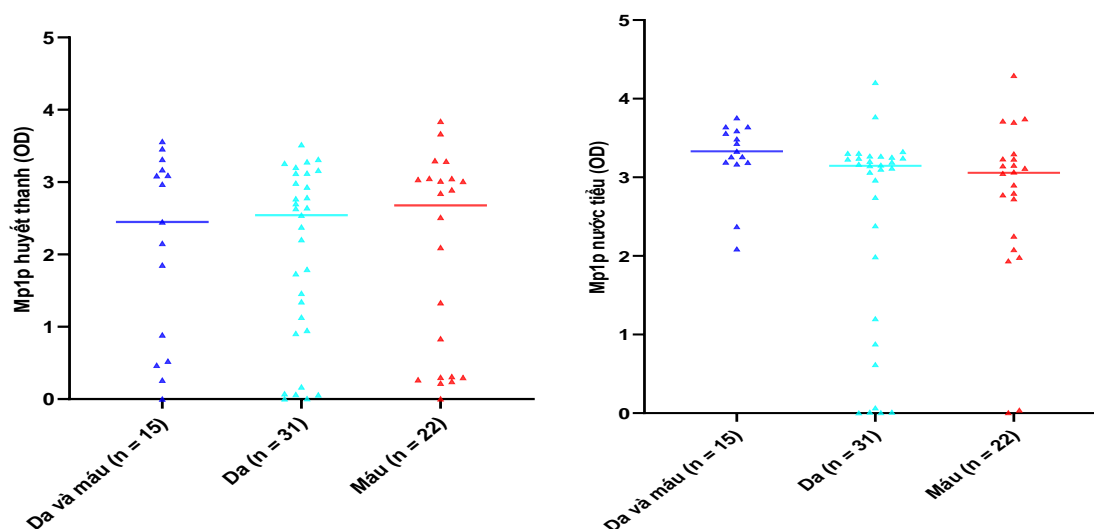
**Biểu đồ 3.4.** Phân bố nồng độ Mp1p ở huyết thanh và nước tiểu giữa 2 nhóm bệnh Tm (+) và NTCH khác

Ghi nhận giá trị trung vị của Mp1p huyết thanh ở nhóm nhiễm nấm *T.marneffei* là 2,53 (0,76 - 3,01) OD cao hơn nhóm NTCH khác là 0,02 (0,01 - 0,05) OD, với  $p < 0,001$ . Đối với bệnh phẩm nước tiểu, nồng độ Mp1p ở nhóm nhiễm nấm *T.marneffei* là 3,15 (2,38 - 3,29) OD cao hơn nhóm NTCH khác là 0,02 (0,01 - 0,03) OD,  $p < 0,001$ .

**Bảng 3.6.** Phân bố Mp1p huyết thanh và nước tiểu theo vị trí phân lập của Tm  
(n = 68)

Đặc điểm	Da và máu (n=15)	Da (n=31)	Máu (n=22)	TX** (n=2)	p*
Trung vị (IQR (OD))					
Mp1p huyết thanh	2,45 (0,52-3,17)	2,54 (0,95-3,12)	2,68 (0,29-3,05)	1,05-2,96	0,87
Mp1p nước tiểu	3,33 (3,19-3,60)	3,15 (1,20-3,26)	3,06 (2,21-3,25)	2,84-2,92	0,06

(\*) Kruskal-Wallis, (\*\*): Giá trị Mp1p của 2 bệnh nhân phân lập Tm ở tủy xương



**Biểu đồ 3.5.** Phân bố nồng độ Mp1p ở huyết thanh và nước tiểu ở nhóm bệnh nhân Tm (+) theo vị trí phân lập của Tm

Trung vị Mp1p huyết thanh ở 3 vị trí phân lập nấm *T.marneffei* gồm “da và máu”, “da” và “máu” lần lượt là 2,45 (0,52-3,17) OD, 2,54 (0,95-3,12) OD, 2,68 (0,29-3,05) OD và không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về trung vị nồng độ Mp1p giữa 3 nhóm ( $p = 0,87$ ).

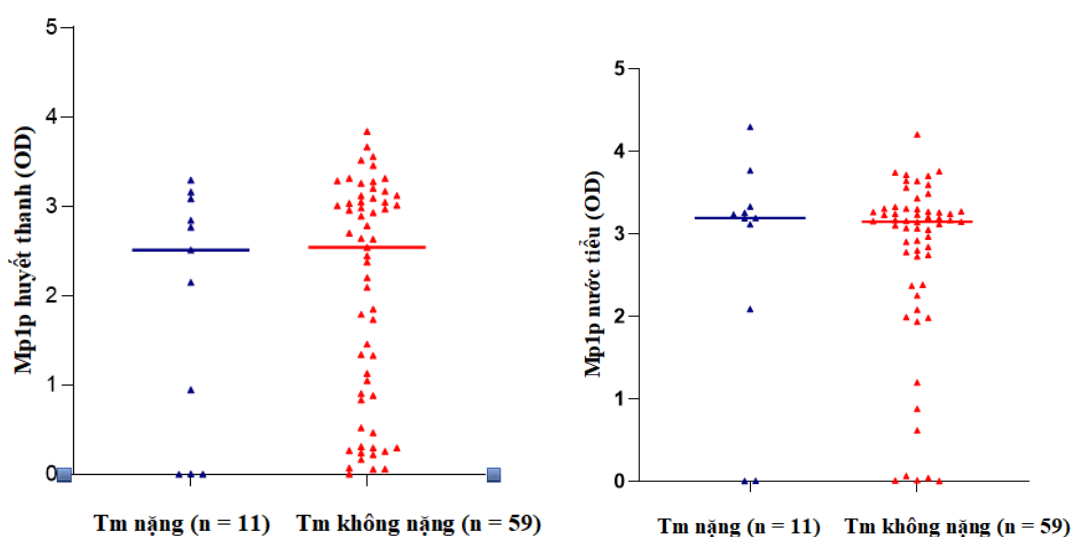
Đối với bệnh phẩm nước tiểu, giá trị trung vị của Mp1p cũng ghi nhận không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở 3 nhóm ( $p = 0,06$ ), trong đó trung vị ở nhóm “da và máu” là 3,33 (3,19-3,60) OD, “da” là 3,15 (1,20-3,26) OD và “máu” là 3,06 (2,21-3,25) OD.

Có 2 trường hợp phân lập nấm *T.marneffei* ở tủy xương với nồng độ Mp1p huyết thanh là 1,05 OD và 2,96 OD và Mp1p nước tiểu là 2,84 OD và 2,92 OD.



**Bảng 3.7.** Phân bố nồng độ Mp1p theo độ nặng của Tm (n = 70)

Đặc điểm	Nặng (n=11)	Không nặng (n=59)	p	OR	KTC 95%
Trung vị IQR (OD)					
<b>Mp1p huyết thanh</b>	2,51 (0,06 - 3,08)	2,54 (0,83 - 3,09)	0,51	1,1	0,6 - 1,8
<b>Mp1p nước tiểu</b>	3,19 (2,01 - 3,33)	3,14 (2,38 - 3,29)	0,48	1,3	0,6 - 2,6

**Biểu đồ 3.6.** Phân bố nồng độ Mp1p huyết thanh và nước tiểu theo độ nặng của Tm (n = 70)

Ghi nhận có 11 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffe* nặng, chiếm 15,7%.

Khi tiến hành so sánh nồng độ Mp1p ở 2 nhóm nhiễm nấm *T.marneffe* nặng và không nặng lần lượt trên 2 bệnh phẩm huyết thanh và nước tiểu cho thấy giá trị trung vị của Mp1p huyết thanh ở nhóm nhiễm nấm *T.marneffe* nặng là 2,51 (0,06 - 3,08) OD không khác biệt với nhóm nhiễm nấm *T.marneffe* không nặng là 2,54 (0,83 - 3,09) OD, với  $p = 0,51$ . Đối với bệnh phẩm nước tiểu, giá trị trung vị của Mp1p ở nhóm nhiễm nấm *T.marneffe* nặng là 3,19 (2,01 - 3,33) OD không khác biệt với nhóm nhiễm nấm *T.marneffe* không nặng là 3,14 (2,38 - 3,29) OD, với  $p = 0,48$ .

### 3.2.2. Xác định các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p

#### 3.2.2.1. Xác định các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p huyết thanh

**Bảng 3.8.** Phân tích đơn biến các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p huyết thanh (n = 533)

Các yếu tố	$\beta$	KTC 95%		$\alpha$	p
BMI	- 0,013	- 0,04	0,08	0,552	0,31
Sần da	- 1,203	- 0,01	- 0,03	2,539	<0,001
Gan lách to	- 0,545	- 1,37	- 0,02	1,27	0,01
ĐNB và TN	- 0,442	- 1,04	- 0,003	1,115	<0,001
Hb (g%)	- 0,540	- 0,69	- 0,067	0,859	<0,001
Tiểu cầu (K/ $\mu$ L)	- 0,03	- 0,39	- 0,01	0,801	<0,001
TCD4 <sup>+</sup> /10 (TB/ $\mu$ L)	- 0,038	- 0,61	- 0,033	0,415	0,009
AST/40 (IU/mL)	0,086	- 0,27	- 0,089	0,132	0,01

$\alpha$ : hệ số chặn (intercept),  $\beta$ : độ dốc (slope)

Tiến hành phân tích hồi quy tuyến tính đơn biến ghi nhận các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p huyết thanh gồm có sần da, gan lách to, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, Hemoglobin, tiểu cầu, TCD4<sup>+</sup> và AST.

Theo mã hóa biến số danh định trong nghiên cứu, có sần da, có gan lách to và sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên là “1”, nhóm không có sần da, không có gan lách to, sống ở khu vực khác là “2”, nghiên cứu ghi nhận nhóm có sần da, gan lách to và sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên đều có nồng độ Mp1p huyết thanh cao hơn nhóm không sần da, không gan lách to và sống tại các khu vực khác với  $p < 0,001$ .

Mặt khác, khi nồng độ Hemoglobin giảm 1g% thì nồng độ Mp1p tăng lên theo mô hình đơn biến Mp1p (OD) =  $\beta$  (Hb) +  $\alpha$  = (-0,54) x (-1) + 0,859 = 1,369 OD. Tương tự, khi tiểu cầu giảm 1000 tế bào/ $\mu$ L và số lượng TCD4<sup>+</sup> giảm 10 tế bào/ $\mu$ L thì nồng độ Mp1p tăng lần lượt là 0,831 OD và 0,453 OD.

Gia tăng AST cũng liên quan đến gia tăng nồng độ Mp1p. Theo đó, khi AST tăng 40 IU/mL thì nồng độ Mp1p tăng lần lượt là 0,218 OD.

**Bảng 3.9.** Phân tích đa biến các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p huyết thanh (n = 533)

Các yếu tố	$\beta$	KTC 95%		p
$\alpha$	2,137			
Sẩn da	- 0,983	- 1,15	- 0,81	<b>0,001</b>
Gan lách to	- 0,128	- 0,27	0,02	0,08
ĐNB và TN	- 0,165	- 0,32	- 0,04	<b>0,02</b>
Hb (g%)	- 0,006	- 0,03	0,02	0,61
Tiểu cầu (K/ $\mu$ L)	- 0,002	- 0,57	- 0,26	<b>0,001</b>
TCD4 <sup>+</sup> /10 (TB/ $\mu$ L)	- 0,024	- 0,05	- 0,009	<b>0,047</b>
AST/40 (IU/mL)	0,024	0,016	1,047	0,16

Khi tiến hành phân tích hồi quy đa biến, ghi nhận 4 yếu tố độc lập liên quan đến nồng độ Mp1p huyết thanh gồm có sẩn da, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, tiểu cầu và TCD4<sup>+</sup> với mô hình Mp1p (OD) = 2,137 - 0,983 x sẩn da - 0,165 x ĐNB và TN - 0,002 x Tiểu cầu (K/ $\mu$ L) - 0,024 x TCD4<sup>+</sup>/10 (tế bào/ $\mu$ L). Như vậy, từ mô hình nhận thấy có hiện diện sẩn da, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, giảm số lượng tiểu cầu cũng như giảm số tế bào TCD4<sup>+</sup> là các biến số độc lập liên quan đến sự gia tăng nồng độ Mp1p huyết thanh.

### 3.2.2.2. Xác định các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p nước tiểu

**Bảng 3.10.** Phân tích đơn biến các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p nước tiểu (n = 533)

Các yếu tố	$\beta$	KTC 95%		$\alpha$	p
<b>BMI</b>	- 0,032	- 0,06	0,01	1,012	0,06
<b>Sần da</b>	- 1,563	- 1,77	- 1,36	3,324	<b>&lt;0,001</b>
<b>Gan lách to</b>	- 0,793	- 0,98	- 0,59	1,825	<b>0,01</b>
<b>ĐNB và TN</b>	- 0,692	- 0,91	- 0,47	1,687	<b>&lt;0,001</b>
<b>Hb (g%)</b>	- 0,067	- 0,103	- 0,03	1,112	<b>&lt;0,001</b>
<b>Tiểu cầu (K/<math>\mu</math>L)</b>	- 0,004	- 0,004	- 0,003	1,203	<b>0,001</b>
<b>TCD4<sup>+</sup>/10 (TB/<math>\mu</math>L)</b>	- 0,063	- 0,1	- 0,03	0,600	<b>0,01</b>
<b>AST/40 (IU/mL)</b>	0,078	- 0,043	- 0,114	0,286	<b>&lt;0,001</b>

Tiến hành phân tích hồi quy đơn biến ghi nhận các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p nước tiểu gồm có sần da, gan lách to, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, Hemoglobin, tiểu cầu, TCD4<sup>+</sup> và AST.

Ghi nhận nhóm có sần da, gan lách to và sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên đều có nồng độ Mp1p nước tiểu cao hơn nhóm không sần da, không gan lách to và sống tại các khu vực khác với p < 0,001.

Mặt khác, khi nồng độ Hemoglobin giảm 1g% thì nồng độ Mp1p tăng lên 1,179 OD. Tương tự, khi tiểu cầu giảm 1000 tế bào/ $\mu$ L và số lượng TCD4<sup>+</sup> giảm 10 tế bào/ $\mu$ L thì nồng độ Mp1p tăng lần lượt là 1,207 OD và 0,663.

Gia tăng AST cũng liên quan đến gia tăng nồng độ Mp1p. Theo đó, khi AST tăng 40 IU/mL thì nồng độ Mp1p tăng lần lượt là 0,364 OD.

**Bảng 3.11.** Phân tích đa biến các yếu tố liên quan đến nồng độ Mp1p nước tiểu (n = 533)

Các yếu tố	$\beta$	KTC 95%		p
$\alpha$	4,318			
Sẩn da	- 1,202	- 1,41	- 0,98	<0,001
Gan lách to	- 0,271	- 0,45	- 0,08	0,003
ĐNB và TN	- 0,338	- 0,54	- 0,18	0,001
Hb (g%)	0,001	- 0,02	0,04	0,693
Tiểu cầu (K/ $\mu$ L)	- 0,002	- 0,78	- 0,39	<0,001
TCD4 <sup>+</sup> /10 (TB/ $\mu$ L)	- 0,045	- 0,08	- 0,01	0,002
AST/40 (IU/mL)	0,011	- 0,004	0,05	0,09

Khi tiến hành phân tích hồi quy đa biến, ghi nhận 5 yếu tố độc lập liên quan đến nồng độ Mp1p nước tiểu gồm có sẩn da, có gan lách to, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, tiểu cầu và TCD4<sup>+</sup> với mô hình Mp1p (OD) = 4,318 - 1,202 x sẩn da - 0,217 x gan lách to - 0,338 x ĐNB và TN - 0,002 x tiểu cầu (K/ $\mu$ L) - 0,045 x TCD4<sup>+</sup>/10 (tế bào/ $\mu$ L). Như vậy, ghi nhận có hiện diện sẩn da, có gan lách to, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, giảm số lượng tiểu cầu cũng như giảm số tế bào TCD4<sup>+</sup> là các biến số độc lập liên quan đến gia tăng nồng độ Mp1p nước tiểu.

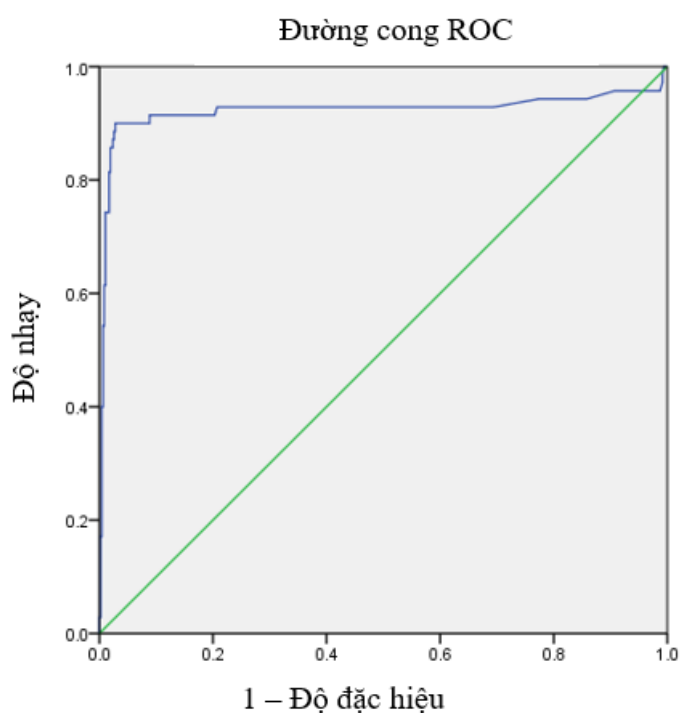
### 3.3. Xác định giá trị chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffei* của xét nghiệm ELISA Mp1p

#### 3.3.1. Xác định điểm cắt của Mp1p huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffei*

Diện tích dưới đường cong AUC = 0,93 (KTC 95%: 0,88-0,98; p <0,001), chỉ số Youden lớn nhất = 0,856 tương ứng với Mp1p huyết thanh là 0,22 OD có độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhất lần lượt là: SEN = 88,6% (62/70) và SPE = 97,0% (449/463).

**Bảng 3.12.** Điểm cắt của Mp1p huyết thanh trong chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffe*

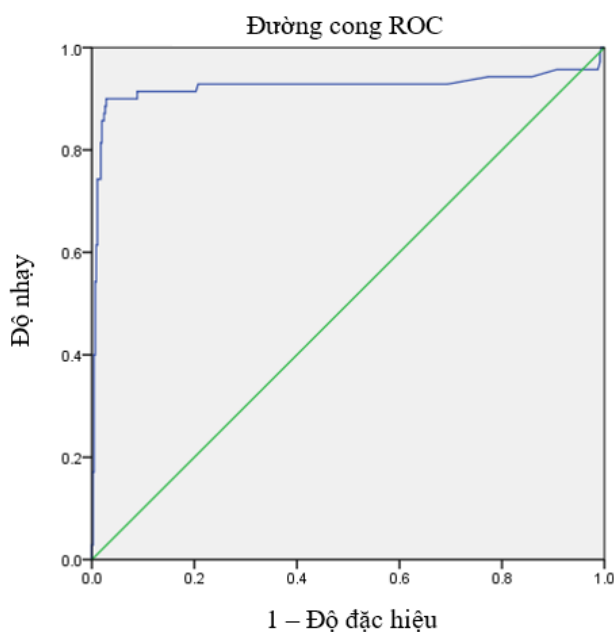
Mp1p	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Chỉ số Youden
0,0015	1,000	0,002	0,002
0,0035	0,971	0,013	- 0,016
0,0025	0,986	0,011	- 0,003
...	...	...	...
0,2095	0,886	0,965	0,851
0,2175	0,886	0,968	0,854
0,2205	0,886	0,97	0,856
0,2225	0,871	0,97	0,841
...	...	...	...
3,61400	0,029	1	0,029
3,75350	0,014	1	0,014



**Biểu đồ 3.7.** Diện tích dưới đường cong của Mp1p huyết thanh chẩn đoán *T.marneffe* (AUC = 0,93; KTC 95%: 0,88-0,98; p <0,001)

**Bảng 3.13.** Điểm cắt của Mp1p nước tiểu trong chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffe*

Mp1p	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Chỉ số Youden
0,00250	1,000	0,002	0,002
0,00350	1,000	0,006	0,006
0,00450	0,986	0,099	- 0,005
...	...	...	...
0,44100	0,900	0,968	0,868
0,51950	0,900	0,970	0,870
0,59900	0,900	0,972	0,872
0,70900	0,886	0,972	0,858
...	...	...	...
3,99000	0,029	1,000	0,029
4,25000	0,014	1,000	0,014



**Biểu đồ 3.8.** Diện tích dưới đường cong của Mp1p nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm *T.marneffe*  
(AUC = 0,92; KTC 95%: 0,87-0,98; p <0,001)

Diện tích dưới đường cong AUC = 0,92 (KTC 95%: 0,87-0,98; p <0,001), chỉ số Youden lớn nhất = 0,872 tương ứng với Mp1p nước tiểu là 0,60 OD có độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhất lần lượt là: SEN = 90% (63/70) và SPE = 97,2% (450/463)

**Bảng 3.14.** So sánh diện tích dưới đường cong giữa 2 bệnh phẩm

Bệnh phẩm	Diện tích dưới đường cong	KTC 95%		p
		GH dưới	GH trên	
Mp1p huyết thanh	0,93	0,88	0,98	<0,001
Mp1p nước tiểu	0,92	0,87	0,98	<0,001

Khi so sánh diện tích dưới đường cong giữa 2 bệnh phẩm cho thấy Mp1p huyết thanh và nước tiểu đều giúp chẩn đoán tốt nhiễm nấm *T.marneffeii* với AUC của Mp1p huyết thanh và Mp1p nước tiểu lần lượt là AUC huyết thanh = 0,93; KTC 95%: 0,88-0,98; p <0,001 và AUC nước tiểu = 0,92; KTC 95%: 0,87-0,98; p <0,001.

### 3.3.2. Đánh giá sự tương hợp giữa Mp1p huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii*

**Bảng 3.15.** Giá trị chẩn đoán *T.marneffeii*

khi kết hợp Mp1p huyết thanh và nước tiểu (n = 533)

Đặc điểm	<i>T.marneffeii</i>		Tổng	
	Có	Không		
Mp1p	Dương	65	20	85
	Âm	5	443	448
Tổng		70	463	533

Khi kết hợp Mp1p huyết thanh và Mp1p nước tiểu gia tăng độ nhạy trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* 92,3% (65/70) nhưng làm giảm tương đối độ đặc hiệu 95,7% (443/463).



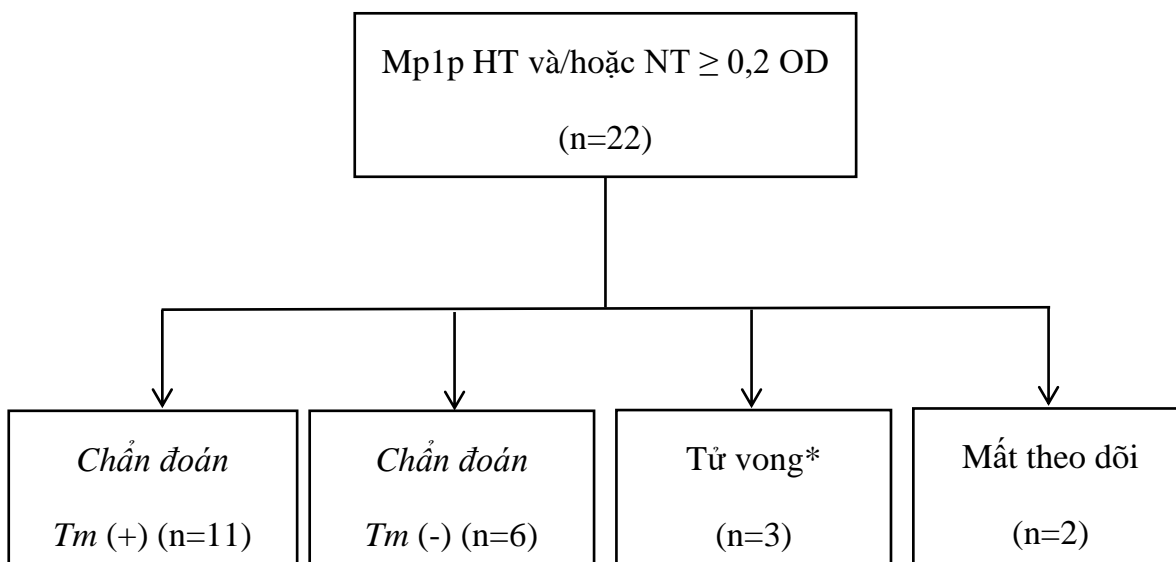
**Bảng 3.16.** Mức độ tương hợp giữa Mp1p huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* (n = 533)

Bệnh phẩm		Nước tiểu		k	p
		Dương	Âm		
Huyết thanh	Dương	68	9	0,870	0,001
	Âm	8	448		

Với điểm cắt Mp1p huyết thanh = 0,22 OD (SEN = 88,6% và SPE = 97%) và Mp1p nước tiểu = 0,6 OD (SEN = 90% và SPE = 97,2%), xác định Mp1p huyết thanh dương tính khi Mp1p  $\geq$  0,22 OD và Mp1p nước tiểu dương tính khi Mp1p  $\geq$  0,6 OD. Chỉ số *k* (*kappa*) được sử dụng để đánh giá mức độ tương hợp của 2 bệnh phẩm huyết thanh và nước tiểu.

Kết quả cho thấy chỉ số *kappa* = 0,870, *p* = 0,001; Như vậy, có sự tương hợp mạnh giữa Mp1p huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffeii*.

### 3.3.3. Xác định giá trị dự báo nhiễm nấm *Talaromyces marneffeii* của xét nghiệm ELISA Mp1p



**Sơ đồ 3.2.** Sơ đồ theo dõi những trường hợp có Mp1p  $\geq$  0,2 OD nhưng không phân lập được *T.marneffeii* (n = 22)

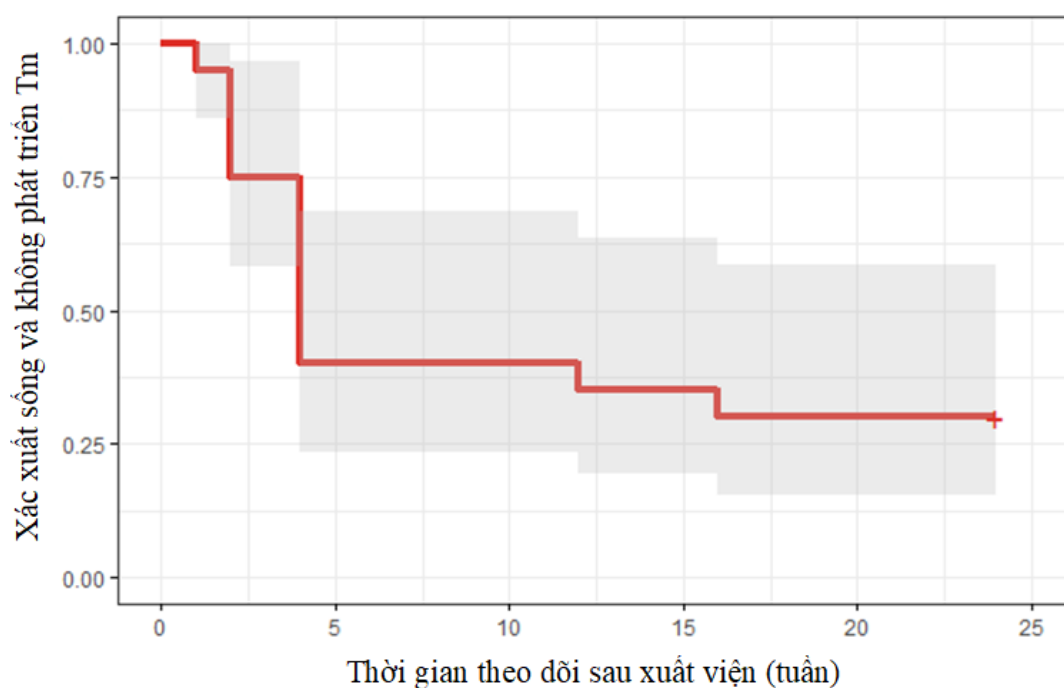
Ghi nhận 22 trường hợp có Mp1p  $\geq$  0,2 OD nhưng không phân lập được *T.marneffeii*. Dựa vào điểm cắt Mp1p đã xác lập, có 21 trường hợp Mp1p (+) và 1 trường

hợp Mp1p (-). Sau 6 tháng theo dõi, trong 22 trường hợp Mp1p  $\geq 0,2$  OD ghi nhận 11 trường hợp được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe*, 6 trường hợp không nhiễm nấm *T.marneffe* sau 6 tháng, 3 trường hợp Mp1p (+) tử vong (2 trường hợp lao phổi, suy hô hấp, 1 trường hợp suy kiệt) và 2 trường hợp mất theo dõi.

**Bảng 3.17.** Thời gian phát triển *T.marneffe* hoặc tử vong của các trường hợp Mp1p  $\geq 0,2$  OD, cấy âm tính trong thời gian nhập viện (n = 14)

Thời gian (tuần)	1	2	4	12	16
Trường hợp	1	3	7*	2**	1

(\*): 5 Tm và 2 tử vong, (\*\*): 1 Tm và 1 tử vong



**Biểu đồ 3.9.** Xác suất phát triển thành nấm *T.marneffe* hoặc tử vong sau 6 tháng theo dõi ở các trường hợp Mp1p  $\geq 0,2$  OD, cấy âm tính lúc nhập viện (n = 14)

Ghi nhận 1 trường hợp có thời gian chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe* ngắn nhất từ lúc Mp1p (+) đến lúc phân lập là 1 tuần. 3 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffe* được chẩn đoán sau 2 tuần. Sau 4 tuần theo dõi có 5 trường hợp *T.marneffe* và 2 trường hợp

tử vong. Ghi nhận 1 trường hợp nhiễm *T.marneffe*i và 1 trường hợp tử vong sau 12 tuần. Có 1 trường hợp có thời gian chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe*i dài nhất là 16 tuần.

### **3.4. Xây dựng mô hình chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffe*i ở bệnh nhân AIDS, TCD4 < 100 tế bào/mm<sup>3</sup>**

#### **Xây dựng mô hình chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffe*i**

Các đặc điểm dịch tễ, lâm sàng, cận lâm sàng liên quan đến bệnh do nấm *T.marneffe*i gồm nơi cư ngụ, sần da, gan lách to, bạch cầu, lymphocyte, hemoglobin, tiểu cầu, TCD4<sup>+</sup>, AST sẽ được đưa vào mô hình đa biến nhằm xác lập các yếu tố liên quan thực sự đối với bệnh do nấm *T.marneffe*i [11],[68],[108]. Với số trường hợp nhiễm nấm *T.marneffe*i trong mẫu nghiên cứu là 70 nên số lượng biến số được lựa chọn đưa vào mô hình phân tích đa biến gồm các biến số: nơi cư ngụ, sần da, gan lách to, hemoglobin, tiểu cầu, TCD4<sup>+</sup>, AST và kháng nguyên Mp1p.

ELISA Mp1p là một kỹ thuật xét nghiệm mới và chưa có sẵn. Vì vậy chúng tôi tiến hành xây dựng mô hình chẩn đoán dựa trên tiềm năng thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p của từng cơ sở y tế.

#### **3.4.1. Xây dựng mô hình chẩn đoán khi không thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p**

Phân tích đa biến các đặc điểm liên quan nhiễm nấm *T.marneffe*i bằng phương pháp Backward Wald

## Bước 1-4

**Bảng 3.18.** Phân tích đơn biến các yếu tố liên quan đến nhiễm nấm *T.marneffeii* (n=533)

Các yếu tố	OR	KTC 95%		p
ĐNB và TN	4,49	1,89	12,44	0,01
Sần da (+)	54,58	18,96	157,15	<0,001
Gan lách to (+)	0,84	0,34	2,11	0,71
Hb (g%)	1,06	0,86	1,30	0,56
TIÊU CẦU (K/ $\mu$ L)	1,02	1,01	1,05	0,01
TCD4 <sup>+</sup> /10 (TB/mm <sup>3</sup> )	1,16	0,95	1,42	0,14
AST/40 (IU/mL)	0,99	0,86	1,15	0,96

Phương pháp Backward Wald nhận diện các yếu tố có  $p > 0,05$  và loại dần các yếu tố bắt đầu từ  $p$  cao nhất. Ghi nhận AST ( $p=0,96$ ), gan lách to ( $p=0,71$ ), hemoglobin ( $p=0,56$ ), TCD4<sup>+</sup> ( $p=0,14$ ) lần lượt được loại khỏi mô hình chẩn đoán.

## Bước 5

**Bảng 3.19.** Phân tích đa biến các đặc điểm liên quan nhiễm nấm *T.marneffeii* bằng phương pháp Backward Wald (Bước 5)

Các yếu tố	OR	KTC 95%	p
ĐNB và TN	4,16	1,68 - 10,28	0,01
Sần da (+)	60,09	22,12 - 163,20	<0,001
TIÊU CẦU (K/ $\mu$ L)	1,02	1,01 - 1,04	0,01

Sau khi phân tích đa biến các đặc điểm liên quan nhiễm nấm *T.marneffeii* bằng phương pháp Backward Wald, nhận thấy có 3 yếu tố liên quan đến nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffeii* có ý nghĩa thống kê. Theo đó, sần da làm tăng nguy cơ mắc bệnh với OR = 60,09 (KTC 95%: 22,12 - 163,20),  $p < 0,001$ . Cư ngụ tại ĐNB và TN cũng như giảm số lượng tiểu cầu làm tăng nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffeii* lần lượt với OR = 4,16 (KTC

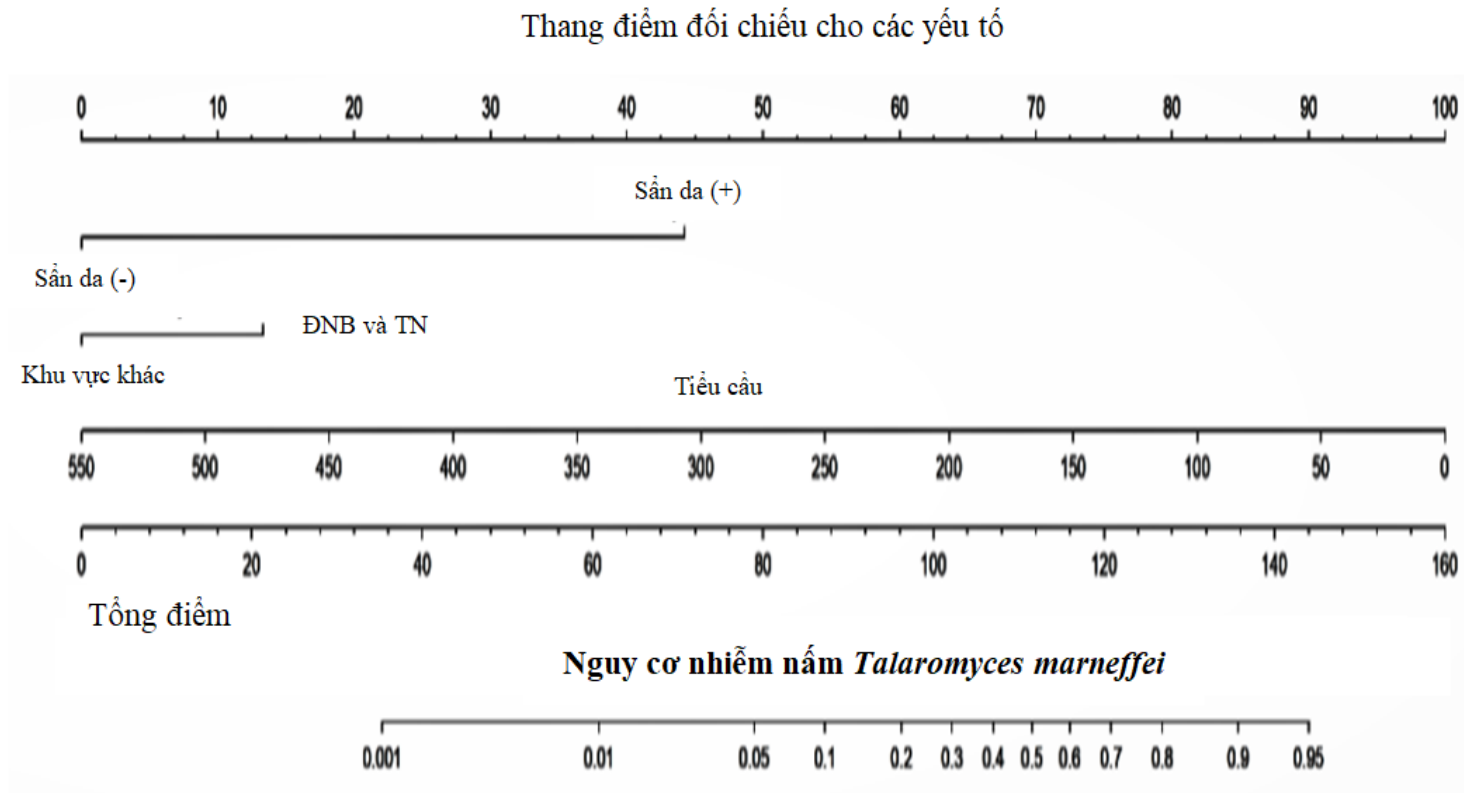
95%: 1,68 - 10,28),  $p = 0,01$  và  $OR = 1,02$  (KTC 95%: 1,01 - 1,04),  $p = 0,01$ . Ba yếu tố này được sử dụng xây dựng bảng điểm chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffe* bằng Monogram của phần mềm R.3.6.2 (Hình 3.2)

**Bảng 3.20.** Phân loại đối tượng dựa theo quan sát và dự đoán (n = 533)

		Tm dự đoán		% chính xác
		Có	Không	
Tm quan sát	Có	48	22	68,6
	Không	9	454	98,1
Tỉ lệ dự đoán đúng chung (Overall percentage)				94,2

Với mô hình gồm 3 yếu tố dự đoán (Nơi cư ngụ, sẩn da, tiêu cầu) cho thấy trong 70 trường hợp có nhiễm nấm *T.marneffe* thật sự, thì mô hình dự đoán có 60 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffe*, tỉ lệ dự đoán đúng là  $48/70 = 68,6\%$ . Trong 463 trường hợp không phải nhiễm nấm *T.marneffe*, mô hình dự đoán có 454 trường hợp, tỉ lệ dự đoán đúng là  $454/463 = 98,1\%$ . Tỉ lệ dự đoán đúng chung của mô hình là  $(48+454)/533 = 94,2\%$ .

Từ thang điểm đánh giá nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffe* khi không thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p cho thấy nếu bệnh nhân nhập viện có sẩn da (45 điểm), sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên (15 điểm) và số lượng tiêu cầu 100 K/ $\mu$ L (80 điểm). Như vậy, tổng điểm trong trường hợp này là 140 điểm và nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffe* là 92%. Do tỉ lệ đoán đúng nấm *T.marneffe* theo mô hình 68,6% nên tỉ lệ dự đoán đúng thật sự trong tình huống này là 63,1%.



**Hình 3.2.** Thang điểm đánh giá nguy cơ nhiễm nấm *Talaromyces marneffe* khi không thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p

### 3.4.2. Xây dựng mô hình chẩn đoán khi thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p

Phân tích đa biến các đặc điểm liên quan nhiễm nấm *T.marneffeii* bằng phương pháp Backward Wald

Bước 1-4

**Bảng 3.21.** Phân tích đơn biến các yếu tố liên quan đến nhiễm nấm *T.marneffeii* (n=533)

Các yếu tố	OR	KTC 95%		p
ĐNB và TN	5,59	1,51	20,77	0,01
Sần da (+)	140,93	15,67	1267,45	<0,001
Gan lách to (+)	0,41	0,11	1,51	0,18
Hb (g%)	1,17	0,85	1,64	0,33
TIÊU CẦU (K/ $\mu$ L)	1,02	1,01	1,04	0,02
TCD4 <sup>+</sup> /10 (TB/ $\mu$ L)	0,94	0,68	1,29	0,72
AST/40 (IU/mL)	0,91	0,72	1,14	0,40
Mp1p (+)	706,48	73,15	6823,83	<0,001

Phương pháp Backward Wald nhận diện các yếu tố có  $p > 0,05$  và loại dần các yếu tố bắt đầu từ  $p$  cao nhất. Ghi nhận TCD4<sup>+</sup> ( $p=0,72$ ) AST ( $p=0,40$ ), hemoglobin ( $p=0,33$ ), gan lách to ( $p=0,18$ ), , lần lượt được loại khỏi mô hình chẩn đoán.

Bước 5

**Bảng 3.22.** Phân tích đa biến các đặc điểm liên quan nhiễm nấm *T.marneffeii* bằng phương pháp Backward Wald (Bước 5)

Các yếu tố	OR	KTC 95%	p
ĐNB và TN	4,42	1,30 - 14,99	0,02
Sần da (+)	100,93	12,62 - 808,45	<0,001
TIÊU CẦU (K/ $\mu$ L)	1,02	1,01 - 1,04	0,02
Mp1p (+)	451,32	56,29 - 3618,42	<0,001

Sau khi phân tích đa biến các đặc điểm liên quan nhiễm nấm *T.marneffei* bằng phương pháp Backward Wald, nhận thấy có 4 yếu tố liên quan đến nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffei* có ý nghĩa thống kê. Theo đó, xét nghiệm Mp1p dương tính làm tăng nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffei* với OR = 451,32 (KTC 95%: 44,75 - 2869,42),  $p = 0,001$ . Sẩn da làm tăng nguy cơ mắc bệnh với OR = 100,93 (KTC 95%: 12,62 - 808,45),  $p < 0,001$ . Cư ngụ tại ĐNB và TN cũng như giảm số lượng tiểu cầu làm tăng nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffei* lần lượt với OR = 4,42 (KTC 95%: 1,30 - 14,99),  $p = 0,02$  và OR = 1,02 (KTC 95%: 1,01 - 1,04),  $p = 0,02$ . Bốn yếu tố này được sử dụng xây dựng bảng điểm chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffei* bằng Monogram của phần mềm R.3.6.2 (Hình 3.3)

**Bảng 3.23.** Phân loại đối tượng dựa theo quan sát và dự đoán (n = 533)

		Tm dự đoán		% chính xác
		Có	Không	
Tm quan sát	Có	60	10	85,7
	Không	6	457	98,7
Tỉ lệ dự đoán đúng chung (Overall percentage)				97,0

Với mô hình gồm 4 yếu tố dự đoán (Nơi cư ngụ, sẩn da, tiểu cầu và kháng nguyên Mp1p) cho thấy trong 70 trường hợp có nhiễm nấm *T.marneffei* thật sự, thì mô hình dự đoán có 60 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffei*, tỉ lệ dự đoán đúng là  $60/70 = 85,7\%$ . Trong 463 trường hợp không phải nhiễm nấm *T.marneffei*, mô hình dự đoán có 457 trường hợp, tỉ lệ dự đoán đúng là  $457/463 = 98,7\%$ . Tỉ lệ dự đoán đúng chung của mô hình là  $(60+457)/533 = 97\%$ .

Từ thang điểm đánh giá nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffei* khi có thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p cho thấy nếu bệnh nhân nhập viện có sẩn da (70 điểm), sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên (20 điểm) và số lượng tiểu cầu  $100 \text{ K}/\mu\text{L}$  (80 điểm) và Mp1p (+) (80 điểm). Như vậy, tổng điểm trong trường hợp này là 250 điểm và nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffei* là 99%. Do tỉ lệ đoán đúng nấm *T.marneffei* theo mô hình 85,7% nên tỉ lệ dự đoán đúng thật sự trong tình huống này là 85,7%.





## Chương 4. BÀN LUẬN

Chúng tôi thu nhận được 533 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn vào nghiên cứu, qua những số liệu đã được trình bày trong phần kết quả nghiên cứu, một số vấn đề sẽ được phân tích bàn luận theo trình tự như sau:

### 4.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu

#### 4.1.1. Đặc điểm dân số - tiền căn của mẫu nghiên cứu

Bảng 3.1. ghi nhận trung bình độ tuổi của dân số nghiên cứu là  $35,8 \pm 8,6$  tuổi; trong đó 74,3% (396/533) thuộc độ tuổi < 40 tuổi. Nghiên cứu cũng ghi nhận 78,4% (418/533) dân số trong mẫu là nam giới. Số liệu này tương đối phù hợp so với nghiên cứu của N.T.H.Quế (2018) và B.T.B.Hạnh (2015) cũng như các báo cáo về tình trạng nhiễm HIV của Bộ Y tế Việt Nam. Trong đó, theo N.T.H.Quế (2018), tuổi trung vị của bệnh nhân AIDS có  $TCD4^+ < 100$  tế bào/mm<sup>3</sup> là 36, khoảng tứ phân vị là [31 - 41] với nhóm tuổi từ 25 – 49 chiếm tỉ lệ cao nhất (83,8%) và tỉ lệ nam giới cao gấp ba lần nữ giới [15]. Nghiên cứu của B.T.B.Hạnh (2015) cũng ghi nhận tuổi trung vị của bệnh nhân HIV giai đoạn AIDS là 35 tuổi, khoảng tứ phân vị là [31 – 38] và tỉ lệ nam giới là 73,7% [10]. Phân bố nhóm tuổi nhiễm HIV được Bộ Y tế Việt Nam (2017) ghi nhận nhóm tuổi 20 – 40 tuổi chiếm đa số các trường hợp nhiễm HIV, cũng theo báo cáo này tỉ lệ nhiễm HIV có xu hướng giảm trong nhóm nữ với năm 2013 là 32,5% và năm 2017 là 22% [5].

Về cân nặng, BMI trung vị của mẫu nghiên cứu là 17,3 (IQR: 15,9 – 19) (Bảng 3.1). Điều này có thể lý giải là do nghiên cứu thực hiện trên đối tượng bệnh nhân nhiễm HIV suy giảm miễn dịch tế bào trầm trọng với số lượng tế bào  $TCD4^+ < 100$  tế bào/mm<sup>3</sup>, nên thường có các tình trạng bệnh lý khác kèm theo như tiêu chảy kéo dài, nhiễm lao hoặc đồng nhiễm các nhiễm trùng cơ hội khác. Điều này dẫn đến BMI của bệnh nhân trong các nghiên cứu này đều thấp. Nghiên cứu của tác giả Đ.N.H.Mẫn (2001) thực hiện trên đối tượng bệnh nhân nhiễm *P.marneffe* cũng cho thấy có 88,2% bệnh nhân có biểu hiện suy kiệt, sụt cân [11].

Về nơi cư ngụ, tỉ lệ bệnh nhân AIDS có TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup> cư ngụ tại thành phố Hồ Chí Minh chiếm tỉ lệ cao nhất với 44,8% (239/533), kế đến là khu vực Tây Nam Bộ với 14,1% (75/533) (Bảng 3.1). Điều này phù hợp với chức năng của Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới, là trung tâm chính chăm sóc và điều trị bệnh nhân nhiễm HIV giai đoạn tiến triển với nhiều nhiễm trùng cơ hội phức tạp ở khu vực phía nam.

Về đường lây truyền HIV, quan hệ tình dục là đường lây truyền thường gặp nhất, chiếm tỉ lệ 78,5% (419/533), trong đó lây truyền qua quan hệ tình dục đồng giới chiếm tỉ lệ cao với 45,9% (245/533). Tiêm chích ma túy chiếm tỉ lệ thấp hơn với 14,3% (76/533), có 7,2% (38/533) không rõ nguồn lây. Tuy nhiên, theo nghiên cứu trước đó của tác giả N.Q.Trung (2009) và N.L.N.Tùng (2010) cho thấy tiêm chích ma túy là nguy cơ hàng đầu của lây truyền HIV [16],[19]. Sự khác biệt này cho thấy sự phân bố HIV theo đường lây truyền đã có sự thay đổi theo thời gian. Thực vậy, theo Bộ Y tế (2014), đường lây truyền HIV qua đường tiêm chích ma túy đang có xu hướng giảm dần còn lây truyền qua đường tình dục thì ngược lại, có xu hướng tăng dần qua các năm từ 2007 - 2013 [8]. Từ đó cho thấy sự gia tăng tỉ lệ lây nhiễm HIV trong nhóm nam quan hệ tình dục đồng giới, đặc biệt ở nhóm dân số trẻ tuổi dần sẽ là nhóm nguy cơ chính nhiễm mới HIV ở Việt Nam.

Về tình trạng điều trị ARV, nghiên cứu ghi nhận 68,3% (364/533) trường hợp không uống ARV (Bảng 3.1). Kết quả nghiên cứu cũng tương đối phù hợp với nghiên cứu trước đó của N.T.H.Quế và cs (2018) với 56,4% bệnh nhân HIV có TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup> [15]. Trong dân số suy giảm miễn dịch nặng, tỉ lệ bệnh nhân đã điều trị ARV còn thấp làm gia tăng nguy cơ tử vong. Các trường hợp này thường được chẩn đoán nhiễm HIV muộn khi đã có biểu hiện nhiễm trùng cơ hội giai đoạn 3,4. Kết quả cho thấy rằng cần tăng cường chiến lược 90 – 90 – 90 đặc biệt ở nhóm quan hệ tình dục đồng giới nhằm nhận diện sớm các trường hợp nhiễm HIV và khởi động điều trị ARV kịp thời nhằm giảm tỉ lệ nhập viện do các bệnh nhiễm trùng cơ hội.

#### 4.1.2. Đặc điểm phân bố vi sinh của mẫu nghiên cứu

Trong 83 trường hợp phân lập được tác nhân từ sang thương da lúc nhập viện, *T.marneffeii* chiếm đa số với 55,4% (Biểu đồ 3.1). Từ đó, cho thấy sẩn da là một triệu chứng lâm sàng quan trọng trong nhiễm nấm *T.marneffeii*. Qua đó, đứng trước bệnh nhân nhiễm HIV, đặc biệt là bệnh nhân giai đoạn muộn, xuất hiện sang thương da đặc trưng cần nghĩ ngay đến tác nhân gây bệnh này. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 1 trường hợp sẩn da phân lập được *C.neoformans*. Theo Hayashida M.Z. và cs (2017), sẩn da trong bệnh cảnh nhiễm nấm *C.neoformans* không phổ biến, chiếm 10%, và thường đi kèm với biểu hiện lâm sàng đặc trưng là nhiễm trùng hệ thần kinh trung ương [55]. Nghiên cứu cũng ghi nhận 3 trường hợp lao da. Đây là biểu hiện lâm sàng ít gặp của lao. Tuy vậy, do dân số nghiên cứu của chúng tôi bao gồm các bệnh nhân có mức độ suy giảm miễn dịch tế bào trầm trọng ( $\text{TCD4}^+ < 100 \text{ TB/mm}^3$ ) nên bệnh cảnh lao thường lan tỏa với tổn thương nhiều cơ quan khác nhau [77].

Gần một phần tư số bệnh nhân trong nghiên cứu phân lập được tác nhân gây bệnh trong máu. So với nghiên cứu của N.L.N.Tùng và cs cùng thực hiện tại BV BNĐ năm 2005 trên đối tượng bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS, tỉ lệ phân lập được các tác nhân trong nghiên cứu này cao hơn (23,6% so với 17,3%) [17]. Điều này có thể được lý giải là do nghiên cứu của chúng tôi chỉ chọn những bệnh nhân có suy giảm miễn dịch tế bào trầm trọng với số lượng tế bào  $\text{TCD4}^+$  từ  $100 \text{ TB/mm}^3$  trở xuống, trong khi nghiên cứu của N.L.N.Tùng thu thập tất cả các bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS nhập viện. Ngoài ra, sự khác biệt này cũng có thể liên quan đến sự phát triển trong kỹ thuật cấy máu trong thời gian gần đây đã làm tăng khả năng phân lập tác nhân gây bệnh. Về phân bố thành phần các tác nhân phân lập được, cả 2 nghiên cứu đều ghi nhận được tỉ lệ phân lập được nấm cao nhất, đặc biệt là nấm *C.neoformans* (Bảng 4.1). Điều này cho thấy tỉ lệ nhiễm nấm huyết vẫn là một vấn đề sức khỏe quan trọng ở bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS, đặc biệt là những bệnh nhân nhiễm HIV giai đoạn cuối. Thực vậy, theo nghiên cứu của chúng tôi, 68,3% (364/533) bệnh nhân không ghi nhận uống ARV, do vậy nhóm dân số này vẫn chưa được sàng lọc và điều trị dự phòng tiên phát nấm *C.neoformans* bằng fluconazole liều cao theo hướng dẫn của quốc gia nhằm

giảm tỉ lệ bệnh do nấm *C.neoformans* [4]. Mặc khác, Việt nam vẫn chưa có hướng dẫn quốc gia, chiến lược sàng lọc và điều trị dự phòng tiên phát cho nhóm đối tượng nguy cơ cao nhiễm nấm *T.marneffeii* bao gồm bệnh nhân có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup> đang sinh sống hoặc di chuyển tới Thái Lan, Việt Nam và miền nam Trung Quốc nên tỉ lệ nhiễm nấm *T.marneffeii* không khác biệt so với nghiên cứu của N.L.N.Tùng và cs năm 2005 [4],[17],[21]. Nếu như trong nghiên cứu của N.L.N.Tùng và cs năm 2005, tỉ lệ nhiễm trùng huyết do *S.aureus* và *Samonella spp* là tương đương nhau thì trong nghiên cứu này, tỉ lệ nhiễm trùng huyết *Samonella spp* cao hơn *S.aureus* (Bảng 4.1). Kết quả này có thể là do nguồn lây truyền HIV đã có sự thay đổi từ tiêm chích ma túy sang quan hệ tình dục không an toàn, đặc biệt là quan hệ tình dục đồng giới; kéo theo tỉ lệ nhiễm *S.aureus* giảm và gia tăng tỉ lệ nhiễm trùng huyết do *Salmonella spp*.

**Bảng 4.1.** Các tác nhân phân lập được trong máu của bệnh nhân nhiễm HIV

Tác nhân	Chúng tôi	N.L.N.Tùng và cs (2005) [17]
<i>C.neoformans</i>	42,9%	46,8%
<i>T.marneffeii</i>	29,4%	29,8%
<i>Salmonella spp</i>	8,7%	4,9%
<i>S.aureus</i>	5,6%	5,4%

#### 4.1.3. Đặc điểm nhóm bệnh *Talaromyces marneffeii*

Tuổi trung bình của nhóm bệnh *Talaromyces marneffeii* trong nghiên cứu là  $32,9 \pm 7,7$  tuổi; trong đó, nhóm tuổi < 40 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất. Về giới tính, 84,5% (59/70) bệnh *Talaromyces marneffeii* là nam giới. Những đặc điểm dịch tễ học này cũng giống với nghiên cứu của tác giả Đ.N.H.Mẫn thực hiện tại BV Bệnh Nhiệt đới từ năm 1996 đến 2001; theo đó, tuổi trung bình nhiễm bệnh là  $30,21 \pm 8,54$ , độ tuổi gặp nhiều nhất là 25 – 30 tuổi và nam giới cũng chiếm đa số với 85,3% [11].

**Bảng 4.2.** Các đặc điểm lâm sàng phổ biến của bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffei*.

	<b>Chúng tôi</b>	<b>Supparatpinyo và cs (1994)</b>	<b>Đ.N.H.Mẫn (1996 – 2001)</b>	<b>Thuy Le và cs (2011)</b>	<b>Larsson và cs (2012)</b>
<b>Đặc điểm</b>	<b>Miền Nam Việt nam n = 70</b>	<b>Chiang Mai Thái Lan n = 80</b>	<b>Miền Nam Việt Nam n = 34</b>	<b>Miền Nam Việt nam n = 513</b>	<b>Miền Bắc Việt nam n = 127</b>
Sốt	85,7%	93%	97,1%	82%	93%
Sẩn da	74,3%	68%	91,2%	71%	83%
Gan lách to	60%	51%	81,8%	56%	61%

Nghiên cứu ghi nhận 85,7% (60/70) trường hợp có sốt lúc nhập viện, 74,3% (52/70) có sẩn da sẩn da và 60% (42/70) có gan lách to. Kết quả này cũng tương tự với các báo cáo trước như của Supparatpinyo và cs (1994), Đ.N.H.Mẫn (2001), Thuy Le và cs (2011) và Larsson và cs (2012) [11],[66],[99],[108] (Bảng 4.2). Từ đó cho thấy các biểu hiện lâm sàng như sốt, sẩn da và gan lách to tương đối phổ biến, hằng định theo thời gian và không khác biệt giữa các địa điểm nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu cho thấy sẩn da của nhiễm nấm *T.marneffei* phân bố chủ yếu ở mặt và ngực (51,9% (27/52) ở mặt và 26,9% (14/52) ở mặt và ngực). Kết quả này cũng tương tự với kết quả trong nghiên cứu của Vanittanakon và cs năm 1997, trong đó ghi nhận các sang thương da tập trung chủ yếu tại mặt, ngực và tay [111]. Nghiên cứu của Đ.N.H.Mẫn (1996 – 2001) ghi nhận 93,9% sẩn da tập trung ở vùng đầu mặt. Tương tự, theo P.T.Nhàn năm 2015 cũng cho thấy sẩn da tập trung ở mặt là chủ yếu với 88,4% tiếp đến là ngực và thân mình đều là 15,48% [11],[14]. Từ các kết quả trên, có thể rút ra kết luận sẩn da của *T.marneffei* thường có đặc điểm là các sẩn da hoại tử trung tâm xuất hiện tập trung ở mặt, ngực. Đây là một đặc điểm lâm sàng giúp phân biệt nhiễm nấm *T.marneffei* và các NTCH khác.

Về vị trí phân lập *Talaromyces marneffeii*, phân lập mầm bệnh tại sẩn da chiếm 44,3% (31/70), phân lập *Talaromyces marneffeii* trong máu là 31,4% (22/70), phân lập mầm bệnh đồng thời tại 2 vị trí sẩn da và máu là 21,5% (15/70). Nghiên cứu ghi nhận 2 trường hợp chẩn đoán *Talaromyces marneffeii* dựa vào tủy xương.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ phân lập được *T.marneffeii* từ da chiếm tỉ lệ cao nhất với 65,7% (31 trường hợp chỉ phân lập được từ da; 15 trường hợp từ cả máu và da), sau đó là cấy máu với 50,7% (22 trường hợp chỉ phân lập được từ máu; 15 trường hợp từ cả máu và da). Theo nghiên cứu của Thuy Le và cs năm 2015 và P.T.Nhàn năm 2015 ghi nhận tỉ lệ phân lập nấm *T.marneffeii* ở sẩn da và máu cũng không cao với tỉ lệ phân lập ở sẩn da của 2 tác giả lần lượt là 95% và 29,4% và ở máu là 84% và 88,2% [14],[68]. Từ các kết quả trên cho thấy máu và sẩn da là 2 bệnh phẩm thường qui để phân lập nấm *T.marneffeii* nhưng độ nhạy vẫn còn thấp và dao động nhiều. Như trong trường hợp phân lập từ sẩn da, tỉ lệ phân lập được tác nhân có thể dao động từ 29,4% đến 95%. Do vậy, việc chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* thật sự là một thách thức trong thực hành lâm sàng.

Tủy xương được xem là bệnh phẩm có độ nhạy cao trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii*. Theo Nongnuch Vanittanakom và cs (2006), độ nhạy của tủy xương trong chẩn đoán xác định nhiễm nấm *T.marneffeii* là 100% [81]. Thật vậy, trong nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận 2 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffeii* được chẩn đoán dựa vào cấy tủy xương. Đây là 2 trường hợp nhiễm HIV nhập viện vì sốt kéo dài, không sẩn da, được cấy máu nhiều lần nhưng không phân lập được tác nhân gây bệnh. Bệnh nhân ghi nhận nồng độ kháng nguyên Mp1p huyết thanh và nước tiểu của 2 bệnh nhân đều trên 0,21 OD (theo ngưỡng cắt của Wang.Y.F và cs (2011) [117]. Trong đó bệnh nhân 1 có nồng độ Mp1p huyết thanh và nước tiểu lần lượt là 1,05 và 2,84 OD và bệnh nhân 2 là 2,96 và 2,92 OD. Từ đây cho thấy xét nghiệm Mp1p ELISA có thể góp phần định hướng chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii*, đặc biệt ở các trường hợp có bệnh cảnh nhiễm trùng dễ nhầm lẫn và không phân lập được tác nhân gây bệnh bằng các bệnh phẩm thường qui như máu và sẩn da. Hơn nữa, đối với các trường hợp nghi ngờ nhiễm nấm *T.marneffeii* nhưng không phân lập được tác nhân từ

máu và sang thương da, bác sĩ lâm sàng có thể xem xét việc tìm tác nhân này trong bệnh phẩm tủy xương.

Trong nghiên cứu, 59 trường hợp nhẹ, chiếm 84,3%. Khi so sánh với nghiên cứu của tác giả N.L.N.Tùng (2011) cũng được thực hiện tại BV Bệnh Nhiệt đới cho thấy việc điều trị *T.marneffe* đã đạt được một số thành quả nhất định. Theo N.L.N.Tùng (2011), 65,8% có suy hô hấp, 15,8% có sốc và 27,7% tử vong, trong khi đó nghiên cứu của chúng tôi chỉ ghi nhận 15,7% (11 trường hợp) nặng (bao gồm cả sốc và suy hô hấp) và không ghi nhận trường hợp tử vong nào. Điều đó là do hiện tại, bệnh nhân được tiếp cận với các thuốc điều trị sớm và tốt hơn trước, cũng như các phương tiện hồi sức ngày càng có nhiều tiến bộ.

Ở nhóm bệnh nhân nhiễm *T.marneffe*, đa phần bệnh nhân có bạch cầu thấp (4,1; KTC 95%: 2,3 – 7,5 K/ul), lympho bào thấp (0,59; KTC 95%: 0,34 – 0,86 K/ul), thiếu máu (8,6; KTC 95%: 7,5 – 10,7g/dl), tiểu cầu thấp (92; KTC 95%: 43 – 152 K/ul), AST cao (122; KTC 95%: 83 – 162 UI/ml), ALT cao (56; KTC 95%: 30 – 91 K/ul) (Bảng 3.3). Các đặc điểm huyết học và sinh hóa của bệnh nhân nhiễm *T.marneffe* trong nghiên cứu tương tự với kết quả trong nghiên cứu khác. Theo Thụy Le và cs năm 2015, ở những bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffe* có số lượng lympho, nồng độ hemoglobin, tiểu cầu, AST, ALT lần lượt là 0,395 (0,232 – 0,696) K/ul, 8 (6 – 9,8) g/dl, 82 (42 – 150) K/ul, 122 (63 – 230) UI/l, 60 (34 – 119) UI/l [68]; theo nghiên cứu của Larsson và cs năm 2012 thực hiện trên 127 bệnh nhân nhiễm *T.marneffe* cũng ghi nhận số lượng bạch cầu trung bình là 5,7 K/ul, nồng độ hemoglobin trung bình là 9,2 g/dl, tiểu cầu trung bình là 134 K/ul, AST trung bình là 189 UI/l, ALT trung bình là 82 UI/l [66]. Qua đó cho thấy các đặc điểm cận lâm sàng như thiếu máu, tăng transaminase của nhiễm *T.marneffe* vẫn phổ biến và hằng định theo thời gian và địa điểm. Vậy những đặc điểm như bạch cầu thấp, tiểu cầu thấp, thiếu máu, tăng men gan xuất hiện hằng định giúp gợi ý chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe*.



## 4.2. Đặc điểm phân bố nồng độ Mp1p và xác định các yếu tố liên quan

### 4.2.1. Đặc điểm phân bố nồng độ Mp1p

Chúng tôi ghi nhận mật độ kháng nguyên Mp1p tập trung chủ yếu ở các tỉnh khu vực Tây Nguyên và Đông Nam Bộ, trong đó có 4 tỉnh có mật độ Mp1p cao nhất là Đắc Nông (651:100.000 người nhiễm HIV), Lâm Đồng (292:100.000 người nhiễm HIV), Khánh Hoà (257:100.000 người nhiễm HIV) và Bình Phước (183:100.000 người nhiễm HIV); Khu vực các tỉnh miền Tây Nam Bộ có mật độ Mp1p thấp hơn, khoảng 50: 100.000 người nhiễm HIV (Hình 3.1). Kết quả ước lượng mật độ mang kháng nguyên này cũng tương tự với Thụy Le và cs (2015). Theo đó, mật độ nhiễm *T.marneffeii* trên 100.000 ca nhiễm HIV ở khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên cao nhất lần lượt là 130: 100.000 người nhiễm HIV, 200: 100.000 người nhiễm HIV. Khu vực Đồng bằng sông Cửu Long có mật độ thấp nhất với 16: 100.000 người nhiễm HIV [68]. Từ kết quả nghiên cứu trên cho thấy khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên thật sự là vùng dịch tễ quan trọng trong chẩn đoán bệnh do mầm *T.marneffeii*. Mặt khác, chúng tôi nhận thấy mật độ nấm *T.marneffeii* ở các khu vực ngoài thành phố Hồ Chí Minh có thể đã ước lượng thấp hơn trong nghiên cứu này so với mật độ nhiễm nấm thực tế do bệnh nhân sống xa bệnh viện Bệnh Nhiệt đới và không có cơ hội đến bệnh viện để chẩn đoán. Vì vậy, xét nghiệm Mp1p có thể rất hữu ích giúp đánh giá gánh nặng bệnh tật thật sự của nấm *T.marneffeii* khi tiến hành nghiên cứu trên các dân số nhiễm HIV khác nhau ở từng khu vực.

Bảng 3.5, Biểu đồ 3.4 cho thấy giá trị trung vị của Mp1p huyết thanh ở nhóm nhiễm nấm *T.marneffeii* là 2,53 (0,76 - 3,01) OD cao hơn nhóm NTCH khác là 0,02 (0,01 - 0,05) OD, với  $p < 0,001$ . Đối với bệnh phẩm nước tiểu, nồng độ Mp1p ở nhóm nhiễm nấm *T.marneffeii* là 3,15 (2,38 - 3,29) OD cao hơn nhóm NTCH khác là 0,02 (0,01 - 0,03) OD,  $p < 0,001$ . Sự khác biệt này cũng đã được tìm thấy trong nghiên cứu của tác giả N.T.M.Thu năm 2017 [18].

**Bảng 4.3.** So sánh giá trị trung vị của Mp1p huyết thanh và nước tiểu

	Chúng tôi			N.T.M. Thu (2017)		
	Tm (n = 70)	NTCH khác (n = 463)	p	Tm (n = 372)	NTCH khác (n = 517)	p
Mp1p huyết thanh	2,53 (0,76 - 3,01)	0,02 (0,01 - 0,05)	<0,001	3.5 (2.3 – 3.8)	0.04 (0.02 – 0.9)	<0.001
Mp1p nước tiểu	3,15 (2,38 - 3,29)	0,02 (0,01 - 0,03)	<0,001			

Từ kết quả trên cho thấy xét nghiệm kháng nguyên Mp1p có giá trị trong việc chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii*.

Từ Bảng 3.4, Biểu đồ 3.3, chúng tôi nhận thấy nồng độ Mp1p huyết thanh của bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffeii* là 2,53 (0,76 - 3,01) OD thấp hơn nồng độ Mp1p nước tiểu là 3,15 (2,38 - 3,29), khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ . Đây là một phát hiện đặc biệt và cần nhiều nghiên cứu hơn để giải thích chính xác. Mặt khác, nghiên cứu cũng đã ghi nhận 22 trường hợp phát hiện được Mp1p trong huyết thanh và nước tiểu có nồng độ  $> 0,2$  OD nhưng không phân lập được vi nấm trong thời gian nằm viện và ghi nhận 63,6% (14/22) trường hợp này sau đó đều phát triển thành bệnh hoặc tử vong trong vòng 16 tuần theo dõi (1-16 tuần) (Sơ đồ 3.2). Điều đó cho thấy rằng xét nghiệm kháng nguyên Mp1p thật sự là một công cụ hữu ích, giúp nhận diện diện các trường hợp nhiễm nấm *T.marneffeii* sớm hơn các kỹ thuật nuôi cấy mầm bệnh thường qui.

Mặt khác, chúng tôi cũng ghi nhận các trường hợp nhiễm nấm *T.marneffeii* nhưng nồng độ Mp1p thấp. Chúng tôi giả thuyết rằng việc không phát hiện được kháng nguyên hoặc nồng độ kháng nguyên thấp trong các ca bệnh *T.marneffeii* thường do bệnh nhân đã điều trị với thuốc kháng nấm trước đó, hoặc bệnh nhân ở giai đoạn tiến triển bệnh khác nhau mà *T. marneffeii* không lưu hành trong máu, hoặc kháng

nguyên Mp1p được trung hòa với kháng thể do miễn dịch cải thiện sau khi bệnh nhân đáp ứng tốt với điều trị ARV, hoặc liên quan đến sự biến đổi cấu trúc protein Mp1p.

Về giả thiết 1, số ca sử dụng thuốc kháng nấm toàn thân đã được loại trừ trước khi vào nghiên cứu. Tuy nhiên, một số trường hợp bệnh nhân tự sử dụng thuốc kháng nấm đường uống không kê toa, chủ yếu là fluconazole và itraconazole trước khi lấy mẫu sẽ không được nhận diện chính xác. Về giả thiết 2, hiện nay có rất ít các nghiên cứu khảo sát tình trạng đáp ứng miễn dịch tạo kháng thể trung hòa của bệnh nhân đối với nấm *T. marneffei*. Các nghiên cứu sử dụng kháng thể để chẩn đoán nhiễm nấm *T. marneffei* còn hạn chế và cho thấy nhiễm *T. marneffei* không tạo kháng thể lâu dài [120]. Về giả thiết 3, biến đổi cấu trúc protein Mp1p dẫn đến không gắn kết với các kháng thể đa dòng và đơn dòng. Tuy vậy, kết quả xét nghiệm kháng nguyên Mp1p đều dương tính từ dịch nuôi cấy của 8 chủng *T. marneffei* cho thấy không có sự biến đổi về cấu trúc protein Mp1p ở các trường hợp âm tính giả. Điều này có thể loại bỏ giả thuyết về khả năng đột biến gen MP1 hoặc thay đổi cấu trúc thứ cấp của protein Mp1p ở các trường hợp không phát hiện kháng nguyên Mp1p lưu hành trong máu [18].

Trong nghiên cứu, giá trị trung vị của Mp1p trong huyết thanh và nước tiểu tương đương nhau ở những trường hợp phân lập nấm *T.marneffei* từ “da”, “máu” và “da và máu” (Bảng 3.6 và Biểu đồ 3.5) cũng như độ nặng nhiễm nấm *T.marneffei* (Bảng 3.7 và Biểu đồ 3.6). Qua đó cho phép giả thiết rằng hoặc kháng nguyên Mp1p được phóng thích nhanh chóng và ồ ạt sau khi nấm *T.marneffei* xâm nhập hoặc cần gia tăng số lượng ca bệnh *T.marneffei* với các biểu hiện lâm sàng khác nhau và độ nặng khác nhau để tìm thấy sự khác biệt phân bố nồng độ Mp1p. Tuy vậy, theo N.T.M.Thu và cs (2017) ghi nhận sự hiện diện kháng nguyên Mp1p trong máu là yếu tố tiên lượng nguy cơ tử vong độc lập, làm tăng rủi ro tử vong gấp 3 lần, bên cạnh các yếu tố nguy cơ khác như tuổi cao, số lượng TCD4<sup>+</sup> dưới 50 tế bào/mm<sup>3</sup>, và đồng hiện diện kháng nguyên nấm *C. neoformans* [18]. Ngoài ra, nồng độ kháng nguyên Mp1p không khác biệt giữa nhóm phân lập *T.marneffei* từ “da” với nhóm từ “máu” hay “máu và da” cho thấy xét nghiệm tìm kháng nguyên Mp1p có thể giúp phát hiện

được những trường hợp nhiễm bệnh ngay cả khi mà bệnh nhân có kết quả cấy máu âm tính.

Thêm một điều đáng lưu ý là nồng độ Mp1p trong huyết thanh và nước tiểu ở cả 2 trường hợp bệnh được chẩn đoán thông qua phân lập được *T.marneffeii* trong tủy xương đều tương đối cao và gần bằng với các nhóm *T.marneffeii* với các vị trí phân lập khác (nồng độ Mp1p huyết thanh là 1,05 OD và 2,96 OD và Mp1p nước tiểu là 2,84 OD và 2,92 OD). Từ đó cho thấy Mp1p được xem là một xét nghiệm hiệu quả, đơn giản và ít xâm lấn, giúp định hướng và nhận diện các trường hợp nhiễm *T.marneffeii* khó chẩn đoán mà trước đây cần phải thực hiện cấy tủy xương - một kỹ thuật xâm lấn, thường chỉ được thực hiện tại các BV chuyên khoa Huyết học.

#### **4.2.2. Các yếu tố liên quan đến Mp1p huyết thanh và nước tiểu**

##### **4.2.2.1. Các yếu tố liên quan đến Mp1p huyết thanh**

Sau khi tiến hành phân tích hồi quy đa biến, ghi nhận 4 yếu tố độc lập liên quan đến nồng độ Mp1p huyết thanh gồm có sẩn da, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, tiểu cầu và TCD4<sup>+</sup> với mô hình Mp1p (OD) = 2,137 - 0,983 x sẩn da - 0,165 x ĐNB và TN - 0,002 x TIỂU CẦU (K/ $\mu$ L) - 0,024 x TCD4<sup>+</sup>/10 (tế bào/ $\mu$ L). Như vậy, từ mô hình nhận thấy có hiện diện sẩn da, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, giảm số lượng tiểu cầu cũng như giảm số tế bào TCD4<sup>+</sup> làm gia tăng nồng độ Mp1p huyết thanh. Trong đó mối liên quan mạnh nhất là việc có sang thương da với  $\beta$  là - 0.983. Các yếu tố này cũng là các triệu chứng hay gặp của với nhiễm nấm *T.marneffeii* trong y văn và các nghiên cứu trước đây của C.N.Nga và cs năm 2011, N.L.N.Tùng và cs năm 2007, P.T.V.Anh và cs năm 2014, Thuy Le và cs năm 2015 [1],[13],[17],[68].

Từ mô hình trên nhận thấy việc sàng lọc nhiễm nấm *T.marneffeii* bằng kháng nguyên Mp1p huyết thanh cần lưu ý tập trung vào nhóm bệnh nhân đặc biệt như có sẩn da, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, giảm tiểu cầu và giảm tế bào TCD4<sup>+</sup>. Nếu như biểu hiện sẩn da là một dấu hiệu rất đặc trưng của bệnh nên có thể nhận diện dễ dàng trong khi tiểu cầu thấp và tế bào TCD4<sup>+</sup> là những biểu hiện thường

gặp ở bệnh nhiễm HIV giai đoạn tiến triển và dễ trùng lặp với các nhiễm trùng cơ hội khác. Khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên thật sự là vùng dịch tễ của bệnh do nấm *T.marneffeii* và là một yếu tố quan trọng liên quan tình trạng mang kháng nguyên Mp1p huyết thanh. Như vậy, với mô hình trên bác sĩ lâm sàng có thể ứng dụng để quyết định trường hợp nào thực sự cần chỉ định xét nghiệm Mp1p huyết thanh vừa tăng khả năng chẩn đoán sớm nhiễm nấm *T.marneffeii* ở nhóm bệnh nhân nguy cơ cao vừa giảm chi phí xét nghiệm Mp1p ở các nhóm đối tượng chưa cần thiết.

#### 4.2.2.2. Các yếu tố liên quan đến Mp1p nước tiểu

Các yếu tố độc lập liên quan đến nồng độ Mp1p nước tiểu gồm có sẩn da, có gan lách to, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, tiểu cầu và TCD4<sup>+</sup> với mô hình Mp1p(OD) = 4,318 - 1,202 x sẩn da - 0,217 x gan lách to - 0,338 x ĐNB và TN - 0,002 x TIỂU CẦU (K/ $\mu$ L) - 0,045 x TCD4<sup>+</sup>/10 (tế bào/ $\mu$ L). Như vậy, ghi nhận có hiện diện sẩn da, có gan lách to, sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, giảm số lượng tiểu cầu cũng như giảm số tế bào TCD4<sup>+</sup> làm gia tăng nồng độ Mp1p nước tiểu.

Tương tự như nồng độ Mp1p huyết thanh, các yếu tố này cũng là các triệu chứng hay gặp của với nhiễm nấm *T.marneffeii* trong y văn và các nghiên cứu trước đây của C.N.Nga và cs năm 2011, N.L.N.Tùng và cs năm 2007, P.T.V.Anh và cs năm 2014, Thuy Le và cs năm 2015 [1],[13],[17],[68]. Qua mô hình trên, cho thấy giá trị của nồng độ Mp1p nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm *T.marneffeii*. Mặt khác, việc lấy nước tiểu xét nghiệm được thực hiện dễ dàng và ít nguy cơ phơi nhiễm HIV hơn là việc xét nghiệm huyết thanh nên việc xét nghiệm Mp1p nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* tỏ ra ưu thế trong thực hành lâm sàng, đặc biệt trong sàng lọc và chẩn đoán sớm bệnh do nấm *T.marneffeii* ở bệnh nhân AIDS ngoại trú.

### **4.3. Xác định điểm cắt của Mp1p trong chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffe* ở bệnh nhân AIDS có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/ mm<sup>3</sup>**

#### **4.3.1. Xác định điểm cắt của Mp1p huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffe***

Nghiên cứu đã xác định được điểm cắt của giá trị Mp1p trong huyết thanh tốt nhất là 0,22, với độ nhạy, độ đặc hiệu và chỉ số Youden lần lượt là 88,6% (62/70), 97% (449/463) và 0,856 (Bảng 3.12 và Biểu đồ 3.7). Giá trị ngưỡng cắt OD trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn nghiên cứu của tác giả N.T.Mai Thu và cs năm 2017 (0,22 so với 0,5). Nghiên cứu của tác giả N.T.Mai Thu và cs (2017) khảo sát hồi cứu với các dữ liệu lâm sàng không đầy đủ, mẫu bệnh phẩm lưu trữ có thể ảnh hưởng đến kết quả phản ứng ELISA [18]. Nếu so sánh với kết quả của tác giả Wang và cs (2011) cũng thực hiện phát hiện kháng nguyên Mp1p bằng kháng thể đơn dòng và đa dòng trên trên 20 bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffe*, 540 trường hợp chứng (15 bệnh nhân nhiễm nấm khác nhau và 525 người khỏe mạnh) tại Trung Quốc, giá trị OD của 2 nghiên cứu là gần tương đương nhau (0,22 và 0,208) [117]. Từ đó, có thể thấy giá trị OD của Mp1p để xác định ngưỡng cắt trong xác định nhiễm *T.marneffe* là khoảng 0,2. Tuy vậy, phương pháp phân tích ROC cho phép cân nhắc tất cả các giá trị điểm cắt dựa trên độ nhạy và độ đặc hiệu. Việc lựa chọn ngưỡng điểm cắt tối ưu chủ yếu dựa trên mục tiêu thực tế điều trị.

Mặt khác, nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận độ nhạy cao hơn trong nghiên cứu của Wang và cs năm 2011 (86% so với 75%). Sự khác biệt này là có thể đến từ các sự khác biệt cỡ mẫu nghiên cứu, sự khác nhau về chủng *T.marneffe* phân bố theo từng khu vực hay chất lượng protein trong mẫu bệnh phẩm (mẫu bệnh phẩm tươi hay mẫu bệnh phẩm đông lạnh). Từ kết quả trong nghiên cứu và của tác giả Wang và cs (2011) [117], chúng tôi nhận thấy xét nghiệm Mp1p trong huyết thanh là một xét nghiệm có độ đặc hiệu cao từ 97% - 99%. Đây là một công cụ rất hữu ích giúp người bác sĩ lâm sàng có thể định hướng chẩn đoán các nhiễm trùng cơ hội khác bệnh nếu kết quả xét nghiệm Mp1p âm tính.

Nghiên cứu của chúng tôi, của tác giả Wang và cs (2011) và của tác giả N.T.Mai Thu và cs (2017) đều cho thấy xét nghiệm tìm kháng nguyên Mp1p trong huyết thanh bằng kỹ thuật kháng thể đơn dòng và đa dòng PABs-MAB Mp1p ELISA cho độ nhạy, độ đặc hiệu, cũng như độ chính xác cao trong chẩn đoán nhiễm *T.marneffei* [18],[117]. Qua đó, cho thấy đây là một xét nghiệm triển vọng trong thực hành lâm sàng. Một lợi điểm nữa của xét nghiệm tìm kháng nguyên Mp1p cần được nhấn mạnh là kỹ thuật này có thể rút thời gian chẩn đoán bệnh ngắn (6 giờ) so với phương pháp nuôi cấy truyền thống (có thể cần tới 10 - 14 ngày) để xác định nhiễm nấm *T.marneffei*. Không những vậy, xét nghiệm này còn có thể thực hiện được tại các cơ sở y tế chưa đủ có khả năng thực hiện các kỹ thuật nuôi cấy. Tuy nhiên, cả 2 nghiên cứu của chúng tôi và Wang và cs (2011) đều được thực hiện tại Việt Nam và Trung Quốc; vì vậy, các nghiên cứu khác cần được thực hiện tại các khu vực khác nhau trên thế giới, đặc biệt là khu vực Đông Nam Á - được xem là vùng dịch tễ của nhiễm nấm *T.marneffei* cũng như trên các đối tượng suy giảm miễn dịch khác nhằm lượng giá chính xác giá trị chẩn đoán của xét nghiệm Mp1p này.

Khi dùng đường cong ROC và chỉ số Youden, chúng tôi tìm được ngưỡng cắt của giá trị OD Mp1p nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffei* là 0,6 OD với độ nhạy, độ đặc hiệu và chỉ số Youden cao nhất lần lượt là 90% (63/70), 97,2% (450/463) và 0,872. Hiện tại chưa có một nghiên cứu nào khác xác định ngưỡng cắt, độ nhạy, độ đặc hiệu của xét nghiệm tìm Mp1p trong nước tiểu. Tuy nhiên với giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu tìm được trong nghiên cứu cho thấy đây là một xét nghiệm có giá trị cao trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffei*.

Trong nghiên cứu chúng tôi tìm được ngưỡng cắt Mp1p trong nước tiểu là 0,6 OD. Tuy nhiên từ Bảng 3.13. có thể nhận thấy khi ngưỡng cắt từ 0,44 OD đến 0,6 OD không làm thay đổi giá trị của độ nhạy và độ đặc hiệu tăng không đáng kể, 96,8% so với 97,2%; điều này có thể liên quan đến sự phân tán dữ liệu trong khoảng giá trị này mà cụ thể là không có kết quả OD của Mp1p nước tiểu nào của các ca nhiễm nấm *T.marneffei* nằm trong khoảng giá trị này (Biểu đồ 3.8). Điều này có thể là do số ca bệnh do nấm *T.marneffei* trong nghiên cứu không đủ lớn. Vì vậy cần thực hiện

thêm các nghiên cứu để xác định giá trị ngưỡng cắt thật sự của Mp1p trong nước tiểu tron chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe*.

Việc sử dụng đường cong ROC và chỉ số Youden cho phép so sánh giá trị của các điểm cắt khác nhau dựa trên việc tối ưu hóa độ nhạy và độ đặc hiệu bằng phương pháp toán học. Tuy nhiên, trên thực tế lâm sàng việc áp dụng giá trị điểm cắt nào còn cần cân nhắc nhiều yếu tố. Việc giảm giá trị điểm cắt để tăng độ nhạy giúp phát hiện nhiều trường hợp bệnh nhưng lại làm giảm độ đặc hiệu dẫn tới có những trường hợp bị chẩn đoán lầm dẫn tới tăng gánh nặng điều trị, bao gồm chi phí và tác dụng phụ của thuốc. Theo N.T.M.Thu và cs (2017), khi tăng điểm cắt từ 0,2 lên 0,5, độ nhạy giảm từ 91% xuống 86,5% (4,5%) và độ đặc hiệu tăng từ 89,9% lên 98,1% (8,2%). Với tỉ lệ nhiễm nấm *T. marneffe* trong dân số nhiễm HIV khoảng 10% thì cứ trong 1000 người nhiễm HIV, tăng điểm cắt từ 0,2 lên 0,5 sẽ chẩn đoán thành công 4,5 bệnh nhân nhiễm nấm *T. marneffe*. Đồng thời, sẽ có khoảng 74 người không nhiễm nấm *T. marneffe* phải điều trị thuốc kháng nấm Amphotericin B và duy trì itraconazole tối thiểu trong vòng 6 - 12 tháng. Trong trường hợp này, chi phí cho việc điều trị thêm 74 người phải được cân nhắc với giảm tỷ lệ tử vong ở nhóm bệnh nhân nhiễm nấm *T. marneffe* không được điều trị là 4,5 người [6],[18]. Do vậy, việc quyết định lựa chọn ngưỡng cắt Mp1p còn tùy thuộc chiến lược ứng dụng xét nghiệm kháng nguyên Mp1p trong thực hành lâm sàng trên nhóm đối tượng bệnh nhân nội trú với các triệu chứng lâm sàng gợi ý *T.marneffe* hay sàng lọc trên diện rộng nhóm bệnh nhân ngoại trú không triệu chứng lâm sàng. Những nghiên cứu tiếp theo cần tiếp tục thực hiện để đánh giá thực tế các tiêu chí trong việc quyết định lựa chọn điểm cắt Mp1p cân bằng giữa âm tính giả, dương tính giả, tỉ lệ mắc bệnh và nguy cơ mắc bệnh trên các nhóm bệnh nhân nhiễm HIV với các mức độ suy giảm miễn dịch tế bào khác nhau.

Khi so sánh diện tích dưới đường cong giữa 2 bệnh phẩm cho thấy Mp1p huyết thanh và nước tiểu đều giúp chẩn đoán tốt nhiễm nấm *T.marneffe* với AUC của Mp1p huyết thanh và Mp1p nước tiểu lần lượt là AUC huyết thanh = 0,93; KTC 95%: 0,88-



0,98;  $p < 0,001$  và AUC nước tiểu = 0,92; KTC 95%: 0,87-0,98;  $p < 0,001$ . Từ đó cho thấy cả 2 xét nghiệm này đều có giá trị cao trong việc chẩn đoán nhiễm *T.marneffeii*.

Khi so sánh diện tích dưới đường cong (AUC) của Mp1p trong huyết thanh và nước tiểu, nghiên cứu cho thấy cả hai xét nghiệm này đều có giá trị cao và tương đương nhau trong việc chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* (Bảng 3.14). Theo N.T.Mai Thu và cs năm 2017 cũng cho thấy xét nghiệm Mp1p trong nước tiểu có độ nhạy cao hơn là trong huyết thanh (86,2% vs 82,9%), tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,06$ ) [18]. Qua đó cho thấy xét nghiệm Mp1p nước tiểu có giá trị chẩn đoán bệnh tương đương, thậm chí là cao hơn xét nghiệm Mp1p trong huyết thanh để phát hiện bệnh nhân nhiễm *T.marneffeii*. Điều này cũng phù hợp với việc nghiên cứu tìm được giá trị trung vị OD Mp1p của nước tiểu cao hơn của huyết thanh. Thêm vào đó nước tiểu là một bệnh phẩm dễ lấy, ít xâm lấn cũng như hạn chế nguy cơ lây nhiễm HIV cho nhân viên y tế. Vì vậy, xét nghiệm tìm Mp1p trong nước tiểu hứa hẹn sẽ giúp ích nhiều cho bác sĩ lâm sàng trong việc chẩn đoán *T.marneffeii*.

#### **4.3.2. Đánh giá sự tương hợp giữa Mp1p huyết thanh và Mp1p nước tiểu trong chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffeii***

Bảng 3.15. cho thấy khi kết hợp Mp1p trong huyết thanh và trong nước tiểu là tăng độ nhạy của xét nghiệm (92,3% (65/70) so với 88,6% (62/70) (huyết thanh) và 90% (63/70) (nước tiểu)). Nghiên cứu của tác giả N.T.Mai Thu và cs năm 2017 cũng cho thấy khi kết hợp cả 2 xét nghiệm huyết thanh và nước tiểu làm tăng độ nhạy trong việc phát hiện bệnh nhiễm nấm *T.marneffeii* (88,8% so với 82,9% (huyết thanh),  $p < 0,001$  và 86,2% (nước tiểu) với  $p < 0,02$  [18]. Từ đó cho thấy, khi kết hợp cả 2 xét nghiệm này sẽ làm tăng khả năng phát hiện bệnh nhiễm nấm *T.marneffeii* và có thể ứng dụng khi bệnh cảnh lâm sàng gợi ý như không phân lập được tác nhân gây bệnh trong các bệnh phẩm nuôi cấy thường qui như máu hoặc sang thương da.

Với ngưỡng xác định dương tính của Mp1p huyết thanh là  $\geq 0,22$  OD và của nước tiểu là  $\geq 0,6$  OD. Hai xét nghiệm này có chỉ số tương hợp cao ( $k = 0,870$ ) (Bảng 3.16). Kết quả này phù hợp với đặc điểm sinh bệnh học của nấm *T.marneffeii*. Đây là

nấm hệ thống nên khi bệnh nhân nhiễm tác nhân gây bệnh này, nấm sẽ lan tỏa khắp các hệ cơ quan trong cơ thể và phóng thích kháng nguyên tiết Mp1p [28],[31],[81]. Vì vậy, chúng ta có thể tìm thấy kháng nguyên của nấm *T.marneffeii* ở khắp các hệ cơ quan trong cơ thể. Hơn thế, chỉ số tương hợp cao giữa hai bệnh phẩm huyết thanh và nước tiểu một lần nữa cho thấy xét nghiệm Mp1p nước tiểu có thể dùng để thay thế Mp1p trong huyết thanh để chẩn đoán nhiễm *T.marneffeii* đặc biệt là ở những tuyến y tế cơ sở và đồng thời giảm nguy cơ phơi nhiễm cho nhân viên y tế.

Trong nghiên cứu cũng ghi nhận có 17 bệnh nhân không tương hợp trong chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffeii* (Phụ lục 4). Khi tiến hành phân tích 17 trường hợp không tương hợp, 9 trường hợp Mp1p huyết thanh dương tính nhưng Mp1p nước tiểu âm tính có 4 trường hợp được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* (44,4%), bao gồm 2 trường hợp được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* trong thời gian nằm viện (Mp1p huyết thanh và nước tiểu: 0,31 và 0,04 OD, 1,73 và 0,01 OD) và 2 trường hợp được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* sau xuất viện tuần thứ 2 và tuần thứ 4 (Mp1p huyết thanh và nước tiểu: 0,38 và 0,42 OD, 0,37 và 0,39 OD). Ngoài ra, chúng tôi nhận thấy 2 trường hợp có Mp1p nước tiểu gần với điểm cắt 0,44 OD.

Mặt khác, 8 trường Mp1p huyết thanh âm tính nhưng Mp1p nước tiểu dương tính có 7 trường hợp được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* (87,5%), bao gồm 3 trường hợp được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* trong thời gian nằm viện và 4 trường hợp được chẩn đoán sau xuất viện (2 trường hợp sau tuần 4 và 1 trường hợp sau tuần thứ 12 và 1 trường hợp sau tuần thứ 16 xuất viện) và trong 8 trường hợp này không ghi nhận trường hợp nào có nồng độ Mp1p huyết thanh tiệm cận với điểm cắt 0,22 OD. Từ đây cho thấy các trường hợp Mp1p huyết thanh âm tính nhưng Mp1p nước tiểu dương tính cần được theo dõi chặt chẽ để nhận diện sớm nhiễm nấm *T.marneffeii*.

### 4.3.3. Xác định giá trị dự báo nhiễm nấm *Talaromyces marneffe* của xét nghiệm ELISA Mp1p

Trong nghiên cứu ghi nhận 22 trường hợp có Mp1p  $\geq 0,2$  OD nhưng không phân lập được *T.marneffe* lúc nhập viện và được theo dõi trong 6 tháng. Kết quả cho thấy tỉ lệ phát triển bệnh do nấm *T.marneffe* là 50% (11/22), và 3 trường hợp tử vong (Sơ đồ 3.2). Điều này cho thấy những bệnh nhân mang kháng nguyên Mp1p này có thể được xem là bệnh cảnh nhiễm *T.marneffe* tiềm ẩn; Có 5 trong 11 trường hợp phát triển bệnh ghi nhận vừa được khởi động điều trị ARV trước đó từ 4 đến 12 tuần. Đồng thời ghi nhận 6 trường hợp mang kháng nguyên Mp1p khỏe mạnh sau 24 tuần theo dõi và 6 trường hợp này đều được khởi động điều trị ARV sau đó. Từ kết quả trên cho phép đặt giả thiết rằng tình trạng hồi phục miễn dịch tế bào sau điều trị ARV hoặc có thể liên quan đến hội chứng viêm phục hồi miễn dịch bộc lộ bệnh (unmasking Immune reconstitution inflammatory syndromes (IRIS)) hoặc gia tăng khả năng thải trừ mầm bệnh ra khỏi cơ thể. Hội chứng viêm phục hồi miễn dịch đã được đề cập đối với các nhiễm trùng cơ hội như lao và nấm *C.neoformans* và đã có chiến lược điều trị dự phòng tiên phát đối với các trường hợp nhiễm lao và nhiễm nấm tiềm ẩn bằng các xét nghiệm Interferon Gamma (đối với lao), LFA-CrAg (đối với nấm *C.neoformans*) [21]. Hội chứng viêm phục hồi miễn dịch liên quan nhiễm nấm *T.marneffe* cũng đã được một số tác giả đề cập và đa phần là bệnh cảnh hội chứng viêm phục hồi miễn dịch bộc lộ, tương tự ghi nhận của chúng tôi [88],[97],[103]. Về khả năng thải trừ kháng nguyên Mp1p khi miễn dịch tế bào hồi phục, Cao và cs (1999) ghi nhận kháng nguyên Mp1p có thể được loại bỏ hoàn toàn nhờ kháng thể trung hòa khi hệ thống miễn dịch được hồi phục [27].

Theo “Hướng dẫn điều trị và chăm sóc HIV/AIDS” của Bộ Y tế, những bệnh nhân tìm thấy kháng nguyên của nấm *Cryptococcus neoformans* trong máu (LFA-CrAg) sẽ được điều trị dự phòng tiên phát bằng fluconazole, tuy nhiên với nấm *Talaromyces marneffe* lại chưa có khuyến cáo về điều trị dự phòng tiên phát [6]. AIDSinfo (2018) khuyến cáo điều trị dự phòng tiên phát bệnh do nấm *T.marneffe* bằng itraconazole 200mg mỗi ngày hoặc fluconazole 400mg hàng tuần ở bệnh nhân

có TCD4 <100 tế bào/mm<sup>3</sup> ở bệnh nhân đang sinh sống hoặc lui tới Thái lan, Việt nam và miền nam Trung Quốc, đặc biệt ở những vùng nông nghiệp. Tuy vậy, chiến lược điều trị dự phòng tiên phát bệnh do nấm *T.marneffe* vẫn chưa được đồng thuận rộng rãi do chi phí, tương tác thuốc và mối lo ngại về nguy cơ kháng thuốc [21]. Từ kết quả trong nghiên cứu, chúng tôi đề nghị xét nghiệm tìm kháng nguyên Mp1p nên được thực hiện tầm soát nhiễm nấm *T.marneffe* đối với những bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS có số lượng tế bào TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup> trong thực hành lâm sàng. Với những bệnh nhân có xét nghiệm Mp1p dương tính cần được hoặc theo dõi chặt chẽ hoặc xem xét điều trị dự phòng tiên phát.

Trong số 11 ca nhiễm nấm *T.marneffe* phát hiện được, thời gian trung vị phát hiện được nhiễm nấm từ thời điểm xét nghiệm dương tính là 4 tuần, thời gian ngắn nhất là 1 tuần, dài nhất là 16 tuần. Từ đó chúng tôi nhận thấy những bệnh nhân có xét nghiệm Mp1p (+), cần được theo dõi chặt chẽ trong vòng 16 tuần, đặc biệt là trong 4 tuần đầu tiên. Vì đây là khoảng thời gian ghi nhận được nhiều trường hợp chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe* (9 trên tổng số 11 trường hợp). Bulterys.P.L và cs (2013) tiến hành nghiên cứu những bệnh nhân nhiễm HIV được chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe* (n = 719), viêm màng não nấm *C.neoformans* (n = 1598) tại bệnh viện Bệnh Nhiệt đới từ 2004 đến 2010, đồng thời ghi nhận các biến số nhiệt độ, độ ẩm, lượng mưa, dữ liệu nhập viện. Kết quả cho thấy độ ẩm là yếu tố môi trường quan trọng nhất đối với sự phát triển nấm *T.marneffe* và thời gian ủ bệnh của *T.marneffe* ước đoán là 3 tuần sau phơi nhiễm [25].

#### **4.4. Xây dựng mô hình chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffe* ở bệnh nhân AIDS, TCD4 < 100 tế bào/mm<sup>3</sup>**

##### **4.4.1. Xây dựng mô hình chẩn đoán khi không thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p**

Để xây dựng mô hình chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe*, chúng tôi chọn 7 biến số có liên quan đến nhiễm nấm *T.marneffe* để đưa vào mô hình phân tích hồi qui đa biến bằng kỹ thuật Backward. Sau khi phân tích đa biến, chúng tôi tìm được 3

yếu tố liên quan độc lập với nhiễm nấm *T.marneffeii* bao gồm sản da (OR = 60,09, KTC 95%: 22,12 – 163,20); cư ngụ tại ĐNB và TN (OR = 4,16, KTC 95%: 1,68 - 10,28), và giảm số lượng tiểu cầu (OR = 1,02, KTC 95%: 1,01 - 1,04). Tương tự như các nghiên cứu của tác giả Thuy Lê và cs (2015), N.L.N.Tùng (2007), P.T.V.Anh và cs (2014), nghiên cứu cũng tìm được mối liên hệ mạnh giữa nhiễm nấm *T.marneffeii* và sản da [1],[17],[68]. Đây cũng là triệu chứng lâm sàng đặc trưng nhất và thường được dùng để chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* trong thực hành lâm sàng. Các yếu tố liên quan độc lập như sống tại khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên hay tiểu cầu thấp cũng đã được ghi nhận trong các nghiên cứu của tác giả Thuy Lê (2015), N.L.N.Tùng (2007) [17],[68].

Các yếu tố như số lượng tế bào TCD4<sup>+</sup>, men gan, nồng độ Hemoglobin, gan lách to tìm được mối liên hệ với nhiễm nấm *T.marneffeii* khi phân tích đơn biến, nhưng khi tiến hành phân tích đa biến lại không tìm được các mối liên quan. Các triệu chứng này cũng là các triệu chứng được ghi nhận nhiều ở những bệnh nhân nhiễm *T.marneffeii* trong y văn và qua các nghiên cứu như nghiên cứu của Thuy Lê và cs (2015), P.T.Vân Anh (2014) N.L.N.Tùng (2007), C.N.Nga (2011), Vanittanakom (1997) [1],[13],[17],[68],[111]. Việc không tìm được các mối liên quan có thể là do nghiên cứu chọn mẫu từ những bệnh nhân HIV, nhập viện có số lượng tế bào TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup>. Đây là nhóm bệnh nhân nhiễm HIV ở giai đoạn AIDS có nhiều bệnh nhiễm trùng cơ hội kèm theo. Điều này dẫn tới đa phần các bệnh nhân trong nhóm chứng cũng có các đặc điểm như số lượng tế bào TCD4<sup>+</sup> thấp, thiếu máu. Thật vậy, nghiên cứu của các tác giả N.Q.Trung, B.T.B.Hạnh, N.T.H,Quế cũng thực hiện tại nhóm đối tượng này tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới trên những trường hợp viêm màng não nấm *C.neoformans* cũng đã ghi nhận một tỉ lệ cao bệnh nhân thiếu máu, gan lách to hay tăng transaminase [10],[15],[19] hay như trong mẫu nghiên cứu tỉ lệ bệnh nhân trong dân số chung có gan lách to cũng lên tới 25,5%, nồng độ Hb trung bình là 9,9 g%, TCD4<sup>+</sup> trung bình là 17 UI/l. Trước đây, các bác sĩ lâm sàng thường dùng các triệu chứng này như một gợi ý để chẩn đoán nhiễm *T.marneffeii*; tuy nhiên nghiên cứu đã chỉ ra rằng các dấu hiệu này không có giá trị cao trong chẩn đoán

nhiễm nấm *T.marneffe* nhất là ở những bệnh nhân có số lượng TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup> vì dễ trùng lặp với các bệnh nhiễm trùng cơ hội giai đoạn AIDS.

Bảng 3.20 cho thấy mô hình dự đoán có giá trị cao trong việc chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe* khi dùng chính mẫu nghiên cứu làm dữ liệu để đánh giá hiệu quả của mô hình. Mô hình có độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương và tiên đoán âm lần lượt là 68,6%, 98,1%, 84,2% và 95,4% với tỉ lệ dự đoán đúng chung của mô hình là 94,2%. Từ đó có thể thấy mô hình này giúp chẩn đoán đúng nhiễm nấm *T.marneffe* không cao (68,6%) nhưng giúp loại trừ nhiễm nấm *T.marneffe* cao (98,1%) ở bệnh nhân nhiễm HIV có TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup>.

Hình 3.2. cho thấy thang điểm đóng góp của từng yếu tố trong mô hình chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe*. Đây là một công cụ hữu ích, giúp bác sĩ nhận diện sớm nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffe* trong thực hành lâm sàng. Cụ thể, một bệnh nhân AIDS, TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup>, nhập viện vì sẩn da, cư ngụ ở khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, tiểu cầu 100 K/mm<sup>3</sup>. Dựa vào thang điểm đánh giá nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffe*, tổng điểm nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffe* là 45 + 15 + 80 = 140 điểm. Vậy nguy cơ nhiễm nấm *T.marneffe* là 92%. Tuy nhiên, tỉ lệ dự đoán đúng thật sự nhiễm nấm *T.marneffe* là 92% x 68,6% = 63,1%.

#### 4.4.2. Xây dựng mô hình chẩn đoán khi thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p

Khi phối hợp thêm xét nghiệm Mp1p với 7 yếu tố của mô hình cũ, chúng tôi tìm được một mô hình dự đoán gồm 4 yếu tố: nơi cư ngụ, sẩn da, tiểu cầu và kháng nguyên Mp1p.

Nghiên cứu đã tìm được mối liên hệ rất mạnh giữa kháng nguyên Mp1p (+) và nhiễm nấm *T.marneffe*. Vì nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên sử dụng xét nghiệm Mp1p (+) kết hợp với các yếu tố lâm sàng để chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe* nên hiện tại chưa có nghiên cứu nào khác khảo sát về giá trị Mp1p trong các mô hình hồi quy đa biến. Tuy nhiên, như đã trình bày ở những phần trên, xét nghiệm Mp1p có giá trị cao trong chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe* với độ nhạy, độ đặc hiệu trong chẩn đoán nhiễm *T.marneffe* lần lượt là 88,6% và 97,0%. Sau khi

phân tích đa biến, giá trị này càng được thể hiện rõ; khi OR của xét nghiệm Mp1p (+) lên tới 451,32, cao hơn rất nhiều so với OR của sẩn da là 100,93; một biểu hiện lâm sàng rất đặc trưng của nhiễm nấm *T.marneffeii* đã được ghi nhận qua hầu hết các nghiên cứu khác nhau [1],[17],[68],[111]. Từ đó cho thấy xét nghiệm ELISA Mp1p là yếu tố tiên đoán cực mạnh trong chẩn đoán tác nhân gây bệnh này đồng thời mở ra một triển vọng mới trong việc sử dụng xét nghiệm này để nhận diện sớm nhiễm *T.marneffeii* trong thực hành lâm sàng và nên chăng nên thực hiện xét nghiệm này ở tất cả các bệnh nhân nhiễm HIV có TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup> để chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii*.

Bảng 3.23 cho thấy, khi phối hợp thêm Mp1p, mô hình có giá trị cao hơn trong việc chẩn đoán bệnh nhân bị nhiễm *T.marneffeii* với có độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương và tiên đoán âm lần lượt là 85,7%, 98,7%, 90,9% và 97,8% với tỉ lệ dự đoán đúng chung của mô hình là 97%. Từ đó cung cấp thêm cho người bác sĩ lâm sàng một công cụ hiệu quả trong chẩn đoán bệnh nhiễm *T.marneffeii*

Nếu so với mô hình 3 yếu tố trước đó, mô hình cho thấy sự gia tăng đáng kể độ nhạy (85,7% so với 68,6%). Qua đó, một lần nữa cho thấy xét nghiệm Mp1p sẽ giúp chẩn đoán tốt hơn những trường hợp nhiễm *T.marneffeii*, giúp tránh bỏ sót và điều trị trễ cho bệnh nhân.

Từ những đóng góp của 4 yếu tố này vào mô hình chẩn đoán, chúng tôi thiết lập thang điểm chẩn đoán bằng cách xem xét lần lượt các tác nhân đó theo thứ tự đóng góp của chúng đối vào mô hình chẩn đoán (Hình 3.3). Vì đóng góp của xét nghiệm Mp1p là quan trọng nhất nên điểm số cho những trường hợp dương tính là khá cao. Điều này góp phần rất lớn trong việc rút ngắn thời gian chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii*. Vì không phải sang thương da của nhiễm nấm *T.marneffeii* nào cũng là điển hình. Theo Vanittanakom N. và cs (1997), phần lớn là các nốt sẩn có hoại tử lõm ở trung tâm (85,6%), còn lại là các dát hoặc sẩn khác [111]; và các sang thương da đôi khi cần phân biệt với các trường hợp nhiễm nấm khác như *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*. Việc phân biệt trước đây, thường được thực

hiện bằng kỹ thuật soi nấm trực tiếp; tuy không quá phức tạp nhưng kỹ thuật này cũng cần được thực hiện đúng, đặc biệt là khi mật độ nấm trong sang thương thấp. Vì vậy việc phối hợp với các xét nghiệm Mp1p sẽ giúp tăng tỉ lệ phát hiện bệnh cũng như rút ngắn thời gian chẩn đoán, từ đó góp phần giảm tỉ lệ tử vong và biến chứng của bệnh.

Đối với những trường hợp có xét nghiệm Mp1p dương tính nhưng không có sang thương da, chúng ta có thể dựa vào các yếu tố khác như là nơi cư ngụ hoặc là tiêu cầu thấp. Như đã trình bày ở phần trên, những bệnh nhân nhiễm nấm *T.marneffe* nhưng không có sẩn da thường được chẩn đoán trễ, dẫn tới gia tăng tỉ lệ biến chứng và tử vong của bệnh. Với thang điểm được xây dựng, việc kết hợp xét nghiệm Mp1p với việc bệnh nhân sống tại khu vực ĐNB và TN hay tiêu cầu thấp, bác sĩ lâm sàng đã có thêm một công cụ hữu ích để chẩn đoán sớm nhiễm nấm *T.marneffe* trong các trường hợp bệnh nhân không có sẩn da hoặc sẩn da không điển hình.

Thang điểm chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe* đã cung cấp cho người bác sĩ lâm sàng một công cụ hiệu quả để chẩn đoán hoặc loại trừ nhiễm nấm *T.marneffe*. Tuy nhiên, vẫn cần thực hiện các nghiên cứu tiến cứu với cỡ mẫu lớn hơn nhằm đánh giá hiệu quả (validation) của thang điểm chẩn đoán ở các dân số khác nhau như bệnh nhân nhiễm HIV có mức độ TCD4<sup>+</sup> khác nhau, những bệnh nhân suy giảm miễn dịch do nguyên nhân khác hay bệnh nhân nhiễm HIV tại các khu vực khác trên thế giới.



## HẠN CHẾ

Do thiết kế nghiên cứu chỉ theo dõi dọc các trường hợp kháng nguyên Mp1p dương tính nên không đánh giá chính xác độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương và giá trị tiên đoán dương của xét nghiệm.

Tiêu chuẩn để chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* dựa trên bằng chứng vi sinh phân lập được tác nhân gây bệnh trên môi trường BACTEC. Đây không phải là môi trường chuyên dùng cho phân lập nấm nên có thể làm giảm độ nhạy của xét nghiệm Mp1p.

Nghiên cứu chỉ thực hiện trên bệnh nhân nhiễm HIV nội trú tại một trung tâm, không thể đại diện cho dân số nhiễm HIV của Việt Nam, nên giá trị ngoại suy về giá trị chẩn đoán của Mp1p cũng như mô hình thang điểm chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffeii* bị hạn chế.

Cỡ mẫu chỉ dừng lại ở 533 bệnh nhân, trong đó chỉ có 70 trường hợp nhiễm nấm *T.marneffeii*. Nếu có thể thực hiện với cỡ mẫu lớn hơn, kết quả thu được sẽ có giá trị (điểm cắt, giá trị chẩn đoán,...) cao hơn.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Qua nghiên cứu 533 trường hợp nhiễm HIV giai đoạn AIDS tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới, chúng tôi có những kết luận và kiến nghị như sau:

### KẾT LUẬN

1. Về đặc điểm phân bố nồng độ Mp1p và các yếu tố liên quan đến Mp1p.
  - Mp1p huyết thanh  $> 0,2$  OD có mật độ phân bố cao nhất ở khu vực Đông Nam Bộ và Tây Nguyên.
  - Trung vị Mp1p huyết thanh ở nhóm Tm cao hơn nhóm NTCH khác  $(2,53 (0,76 - 3,01) > 0,02 (0,01 - 0,05) \text{ OD}, p < 0,001)$ .
  - Trung vị Mp1p nước tiểu ở nhóm Tm cao hơn nhóm NTCH khác  $3,15 (2,38 - 3,29) > 0,02 (0,01 - 0,03) \text{ OD}, p < 0,001)$ .
  - Ở nhóm Tm, trung vị Mp1p huyết thanh thấp hơn Mp1p nước tiểu  $2,53 (0,76 - 3,01) < 3,15 (2,38 - 3,29) > 0,02 (0,01 - 0,03) \text{ OD}, p < 0,001)$ .
  - Xác lập mô hình liên quan nồng độ Mp1p
    - Mô hình liên quan Mp1p huyết thanh (OD) gồm 4 yếu tố sản da, nơi cư ngụ ĐNB và TN, tiểu cầu và TCD4<sup>+</sup>.
    - Mô hình liên quan Mp1p nước tiểu (OD) gồm 5 yếu tố sản da, gan lách to, nơi cư ngụ ĐNB và TN, tiểu cầu và TCD4<sup>+</sup>.
2. Xác định độ nhạy và độ đặc hiệu và giá trị dự báo nhiễm nấm *T.marneffeii* của xét nghiệm ELISA Mp1p huyết thanh và nước tiểu.
  - Với điểm cắt Mp1p huyết thanh =  $0,22 \text{ OD}$ , khả năng chẩn đoán *T.marneffeii* đạt độ nhạy 88,6%, độ đặc hiệu 97%,  $\text{AUC} = 0,93$  (KTC 95%: 0,88-0,98;  $p < 0,001$ ).
  - Với điểm cắt Mp1p nước tiểu =  $0,6 \text{ OD}$ , khả năng chẩn đoán *T.marneffeii* đạt độ nhạy 90%, độ đặc hiệu 97,2%,  $\text{AUC} = 0,92$  (KTC 95%: 0,87-0,98;  $p < 0,001$ ).

- 63,6% (14/22) trường hợp ELISA Mp1p  $\geq 0,2$  OD phát triển bệnh hoặc tử vong trong vòng 24 tuần theo dõi. Thời gian trung vị phát triển bệnh là 4 (2 - 12) tuần.
3. Về xây dựng mô hình chẩn đoán nhiễm nấm *T.marneffe*
- Mô hình chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffe* khi không thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p gồm 3 yếu tố bao gồm sẩn da, nơi cư ngụ ĐNB và TN, tiểu cầu với tỉ lệ dự đoán đúng nhiễm *T.marneffe* là 68,6%.
  - Mô hình chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffe* khi thực hiện xét nghiệm ELISA Mp1p gồm 4 yếu tố bao gồm ELISA Mp1p, sẩn da, nơi cư ngụ ĐNB và TN và tiểu cầu với tỉ lệ dự đoán đúng nhiễm *T.marneffe* là 85,7%.

**KIẾN NGHỊ**

1. Có thể sử dụng xét nghiệm ELISA Mp1p huyết thanh và nước tiểu vào tiêu chuẩn chẩn đoán và dự báo bệnh do nấm *T.marneffei* trên bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup>.
2. Phối hợp xét nghiệm ELISA Mp1p với sẩn da, nơi cư ngụ, tiểu cầu để xây dựng mô hình chẩn đoán bệnh do nấm *T.marneffei*.
3. Cần thực hiện các nghiên cứu đoàn hệ tiến cứu có theo dõi diễn biến nồng độ ELISA Mp1p để đánh giá tốt hơn giá trị chẩn đoán và tiên lượng của xét nghiệm này.

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ  
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. **Võ Triều Lý**, Nguyễn Văn Vĩnh Châu, Cao Ngọc Nga, Nguyễn Thị Mai Thu, Nguyễn Tất Thành, Thùy Lê (2020), “Khảo sát tỷ lệ mang kháng nguyên nấm *Talaromyces marneffe* trong máu bằng xét nghiệm Mp1p ELISA ở bệnh nhân HIV/AIDS có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/mm<sup>3</sup>”, *Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh*, phụ bản tập 24, số 2, tr. 31 -35.
2. **Vo Trieu Ly**, Nguyen Tat Thanh, Nguyen Thi Mai Thu, Jasper Chan, Jeremy N Day, John Perfect, Cao Ngọc Nga, Nguyen Van Vinh Chau, Thuy Le (2020), “Occult *Talaromyces marneffe* Infection Unveiled By the Novel Mp1p Antigen Detection Assay”, *Open Forum Infectious Diseases*, ISSN 2328-8957, <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa502>.
3. **Võ Triều Lý**, Nguyễn Văn Vĩnh Châu, Cao Ngọc Nga, Nguyễn Thị Mai Thu, Nguyễn Tất Thành, Thùy Lê. Giá trị xét nghiệm Mp1p ELISA trong chẩn đoán sớm nhiễm nấm *Talaromyces marneffe* ở bệnh nhân HIV/AIDS, *Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh*, Phụ bản của Số 1, Tập 25, tr: 122 - 127.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### Tiếng Việt

1. Phạm Thị Vân Anh (2014), "Đặc điểm lâm sàng và kết quả điều trị ban đầu bệnh nhiễm nấm *Penicillium marneffeii* trên bệnh nhân nhiễm HIV tại Hải Phòng". *Hội nghị khoa học bệnh truyền nhiễm và HIV/AIDS toàn quốc*.
2. Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới (2017), *Báo cáo Tình hình bệnh nhân nội trú tại khoa nhiễm E, Bệnh viện Nhiệt đới*,
3. Bộ Y tế (2020), *Báo cáo tổng kết công tác Phòng, chống HIV/AIDS năm 2020*, Báo cáo số: 124/BC-BYT Hà Nội.
4. Bộ Y tế (2019), *Hướng dẫn điều trị và chăm sóc HIV/AIDS*, Quyết định số 5456/QĐ-BYT ngày 20/11/2019 của Bộ Y tế, Hà Nội.
5. Bộ Y tế (2017), *Báo cáo Công tác phòng, chống HIV/AIDS năm 2017 và nhiệm vụ trọng tâm năm 2018*, Báo cáo số: 1299/BC-BYT Hà Nội.
6. Bộ Y tế (2017), *Hướng dẫn điều trị và chăm sóc HIV/AIDS*, Quyết định số 5418/QĐ-BYT ngày 01/12/2017 của Bộ Y tế, Hà Nội.
7. Bộ Y tế (2015), *Hướng dẫn quản lý, điều trị và chăm sóc HIV/AIDS*, Quyết định số 3047/QĐ-BYT ngày 22 tháng 7 năm 2015 của Bộ trưởng Bộ Y tế, Hà Nội.
8. Bộ Y tế (2014), *Tình hình nhiễm HIV/AIDS và kết quả hoạt động phòng, chống HIV/AIDS 4 tháng đầu năm 2014*, Báo cáo số 430 /BC-BYT, Hà Nội.
9. Nguyễn Thị Liên Hà (2009), *Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và điều trị nhiễm nấm Penicillium marneffeii trên bệnh nhân HIV/AIDS tại Viện các Bệnh Truyền nhiễm và Nhiệt đới Quốc gia*, Luận văn tốt nghiệp bác sĩ nội trú, Trường Đại học Y Hà Nội, Hà nội.
10. Bùi Thị Bích Hạnh (2015), *Lượng giá test nhanh phát hiện kháng nguyên nấm CrAg LFA trong chẩn đoán viêm màng não nấm do Cryptococcus neoformans*

ở bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS, Luận văn Thạc sỹ y học, Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh.

11. Đinh Nguyễn Huy Mẫn (2001), *Tìm hiểu bệnh nấm Penicillium marneffeii qua 34 trường hợp tại Trung tâm Bệnh Nhiệt đới từ tháng 7 năm 1996 đến tháng 10 năm 2001*, Luận văn thạc sỹ y học, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh.
12. Hoàng Văn Minh, Lưu Ngọc Hoạt (2020), *Phương pháp chọn mẫu và tính toán cỡ mẫu trong nghiên cứu khoa học sức khỏe*, Hà Nội - Tháng 8 năm 2020, tr 1-85.
13. Cao Ngọc Nga, Nguyễn Lê Như Tùng, Phan Thị Hải Mến, Nguyễn Duy Phong (2011), "Nhiễm khuẩn huyết do vi nấm *P.marneffeii* ở bệnh nhân AIDS". *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 15, tr 15 - 20.
14. Phan Thanh Nhân (2015), *Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của nhiễm Pencillium marneffeii trên bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS tại khoa Truyền nhiễm Bệnh viện Bạch Mai*, Khóa luận tốt nghiệp Bác sĩ đa khoa, Trường Đại học Y Hà Nội, Hà Nội.
15. Nguyễn Thị Hồng Quế (2018), *Khảo sát các thể lâm sàng nhiễm nấm Cryptococcus neoformans phát hiện với test CrAg-LFA huyết thanh trên bệnh nhân AIDS có TCD4<sup>+</sup> < 100 tế bào/mm<sup>3</sup>*, Luận văn tốt nghiệp bác sĩ nội trú, Đại học Y dược TPHCM, Thành phố Hồ Chí Minh.
16. Nguyễn Lê Như Tùng (2010), "Đặc điểm nhiễm khuẩn huyết do nấm *Cryptococcus neoformans* ở bệnh nhân người lớn nhiễm HIV/AIDS điều trị tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới 2005 – 2006". *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, 14 (1), tr 435-439.
17. Nguyễn Lê Như Tùng, Cao Ngọc Nga (2007), "Đặc điểm dịch tễ, lâm sàng, cận lâm sàng nhiễm trùng huyết trên bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS tại Bệnh viện

Bệnh Nhiệt đới năm 2005". *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 11, tr 396 - 401.

18. Nguyễn Thị Mai Thu (2017), *Đánh giá hiệu quả trên lâm sàng kỹ thuật ELISA phát hiện kháng nguyên Mp1p chẩn đoán nhanh nhiễm nấm Talaromyces marneffeii*, Luận văn thạc sỹ, Đại học Khoa Học Tự Nhiên, Thành phố Hồ Chí Minh.
19. Nguyễn Quang Trung (2009), *Viêm màng não nấm Cryptococcus neoformans ở bệnh nhân AIDS tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới năm 2004 - 2005*, Luận văn Thạc sỹ y học, Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh.
20. Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh (2019), "Báo cáo tình hình HIV/AIDS năm 2019 của Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh". *Báo cáo hội nghị HIV thường niên*.

## **Tiếng Anh**

21. AIDSinfo (2018), "Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents ". *U.S. Department of Health and Human Services*, pp. 1-432.
22. Antinori S., Gianelli E., Bonaccorso C., et al. (2006), "Disseminated *Penicillium marneffeii* infection in an HIV-positive Italian patient and a review of cases reported outside endemic regions". *J Travel Med*, 13 (3), pp. 181-8.
23. Baca O. G., Roman M. J., Glew R. H., et al. (1993), "Acid phosphatase activity in *Coxiella burnetii*: a possible virulence factor". *Infect Immun*, 61 (10), pp. 4232-9.
24. Buchbinder S. P., Katz M. H., Hessol N. A., O'Malley P. M., Holmberg S. D. (1994), "Long-term HIV-1 infection without immunologic progression". *Aids*, 8 (8), pp. 1123-8.



25. Bulterys P. L., Le T., Quang V. M., Nelson K. E., Lloyd-Smith J. O. (2013), "Environmental predictors and incubation period of AIDS-associated *Penicillium marneffe* infection in Ho Chi Minh City, Vietnam". *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 56 (9), pp. 1273-1279.
26. Cao C., Liang L., Wang W., et al. (2011), "Common reservoirs for *Penicillium marneffe* infection in humans and rodents, China". *Emerg Infect Dis*, 17 (2), pp. 209-14.
27. Cao L., Chan K. M., Chen D., et al. (1999), "Detection of cell wall mannoprotein Mp1p in culture supernatants of *Penicillium marneffe* and in sera of penicilliosis patients". *J Clin Microbiol*, 37 (4), pp. 981-6.
28. Cao L., Chen D. L., Lee C., et al. (1998), "Detection of specific antibodies to an antigenic mannoprotein for diagnosis of *Penicillium marneffe* penicilliosis". *J Clin Microbiol*, 36 (10), pp. 3028-31.
29. Capponi M., Segretain G., Sureau P. (1956), "Penicillosis from *Rhizomys sinensis*". *Bull Soc Pathol Exot Filiales*, 49 (3), pp. 418-21.
30. Cogliati M., Roverselli A., Boelaert J. R., et al. (1997), "Development of an in vitro macrophage system to assess *Penicillium marneffe* growth and susceptibility to nitric oxide". *Infect Immun*, 65 (1), pp. 279-84.
31. Cooper C. R., Jr., McGinnis M. R. (1997), "Pathology of *Penicillium marneffe*. An emerging acquired immunodeficiency syndrome-related pathogen". *Arch Pathol Lab Med*, 121 (8), pp. 798-804.
32. Cristofaro P., Mileno M. D. (2006), "*Penicillium marneffe* infection in HIV-infected travelers". *AIDS Alert*, 21 (12), pp. 140-2.
33. Curran J. W., Morgan W. M., Hardy A. M., et al. (1985), "The epidemiology of AIDS: current status and future prospects". *Science*, 229 (4720), pp. 1352-7.

34. Chaiwarith R., Fakthongyoo A., Praparattanapan J., et al. (2011), "Itraconazole vs fluconazole as a primary prophylaxis for fungal infections in HIV-infected patients in Thailand". *Curr HIV Res*, 9 (5), pp. 334-8.
35. Chaiwun B., Khunamornpong S., Sirivanichai C., et al. (2002), "Lymphadenopathy due to *Penicillium marneffe*i infection: diagnosis by fine needle aspiration cytology". *Mod Pathol*, 15 (9), pp. 939-43.
36. Chan J. F. W., Lau S. K. P., Yuen K.-Y., Woo P. C. Y. (2016), "Talaromyces (*Penicillium*) marneffe*i* infection in non-HIV-infected patients". *Emerging microbes & infections*, 5 (3), pp. e19-e19.
37. Chariyalertsak S., Supparatpinyo K., Sirisanthana T., Nelson K. E. (2002), "A controlled trial of itraconazole as primary prophylaxis for systemic fungal infections in patients with advanced human immunodeficiency virus infection in Thailand". *Clin Infect Dis*, 34 (2), pp. 277-84.
38. Chariyalertsak S., Sirisanthana T., Supparatpinyo K., Praparattanapan J., Nelson K. E. (1997), "Case-control study of risk factors for *Penicillium marneffe*i infection in human immunodeficiency virus-infected patients in northern Thailand". *Clin Infect Dis*, 24 (6), pp. 1080-6.
39. Chariyalertsak S., Vanittanakom P., Nelson K. E., Sirisanthana T., Vanittanakom N. (1996), "Rhizomys sumatrensis and Cannomys badius, new natural animal hosts of *Penicillium marneffe*i". *J Med Vet Mycol*, 34 (2), pp. 105-10.
40. Chariyalertsak S., Sirisanthana T., Supparatpinyo K., Nelson K. E. (1996), "Seasonal variation of disseminated *Penicillium marneffe*i infections in northern Thailand: a clue to the reservoir?". *J Infect Dis*, 173 (6), pp. 1490-3.
41. Chitasombat N. M., Supparatpinyo K. (2013), "*Penicillium marneffe*i Infection in Immunocompromised Host". *Current Fungal Infection Reports*, 7 (1), pp. 44-50.

42. Deesomchok A., Tanprawate S. (2006), "A 12-case series of *Penicillium marneffei* pneumonia". *J Med Assoc Thai*, 89 (4), pp. 441-7.
43. Deng Z., Ribas J. L., Gibson D. W., Connor D. H. (1988), "Infections caused by *Penicillium marneffei* in China and Southeast Asia: review of eighteen published cases and report of four more Chinese cases". *Rev Infect Dis*, 10 (3), pp. 640-52.
44. Deng Z. L., Connor D. H. (1985), "Progressive disseminated penicilliosis caused by *Penicillium marneffei*. Report of eight cases and differentiation of the causative organism from *Histoplasma capsulatum*". *Am J Clin Pathol*, 84 (3), pp. 323-7.
45. Desakorn V., Simpson A. J. H., Wuthiekanun V., et al. (2002), "Development and Evaluation of Rapid Urinary Antigen Detection Tests for Diagnosis of Penicilliosis Marneffei". *Journal of Clinical Microbiology*, 40 (9), pp. 3179-3183.
46. Desakorn V., Smith M. D., Walsh A. L., et al. (1999), "Diagnosis of *Penicillium marneffei* infection by quantitation of urinary antigen by using an enzyme immunoassay". *J Clin Microbiol*, 37 (1), pp. 117-21.
47. DiSalvo A. F., Fickling A. M., Ajello L. (1973), "Infection caused by *Penicillium marneffei*: description of first natural infection in man". *Am J Clin Pathol*, 60 (2), pp. 259-63.
48. Drouhet E. (1993), "Penicilliosis due to *Penicillium marneffei*: a new emerging systemic mycosis in AIDS patients travelling or living in Southeast Asia, Review of 44 cases reported in HIV infected patients during the last 5 years compared to 44 cases of non AIDS patients reported over 20 years". *J. Mycol. Méd. (Paris)*, 4, pp. 195-224.
49. Duong T. A. (1996), "Infection due to *Penicillium marneffei*, an emerging pathogen: review of 155 reported cases". *Clin Infect Dis*, 23 (1), pp. 125-30.

50. Gallo R. C., Montagnier L. (2003), "The discovery of HIV as the cause of AIDS". *N Engl J Med*, 349 (24), pp. 2283-5.
51. Ghosn J., Taiwo, B., Seedat, S., Autran, B., & Katlama, C. (2018), "HIV". *Lancet Infect Dis*, 392 (10148), pp. 685-697.
52. Hajian-Tilaki K. (2013), "Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation". *Caspian journal of internal medicine*, 4 (2), pp. 627-635.
53. Hamilton A. J., Jeavons L., Youngchim S., Vanittanakom N. (1999), "Recognition of fibronectin by *Penicillium marneffe*i conidia via a sialic acid-dependent process and its relationship to the interaction between conidia and laminin". *Infect Immun*, 67 (10), pp. 5200-5.
54. Hamilton A. J., Jeavons L., Youngchim S., Vanittanakom N., Hay R. J. (1998), "Sialic acid-dependent recognition of laminin by *Penicillium marneffe*i conidia". *Infect Immun*, 66 (12), pp. 6024-6.
55. Hayashida M. Z., Seque C. A., Pasin V. P., Enokihara M., Porro A. M. (2017), "Disseminated cryptococcosis with skin lesions: report of a case series". *An Bras Dermatol*, 92 (5 Suppl 1), pp. 69-72.
56. Hien H. T., Thanh T. T., Thu N. T., et al. (2016), "Development and evaluation of a real-time polymerase chain reaction assay for the rapid detection of *Talaromyces marneffe*i MP1 gene in human plasma". *Mycoses*, 59 (12), pp. 773-780.
57. Hien T. V., Loc P. P., Hoa N. T., et al. (2001), "First cases of disseminated penicilliosis marneffe*i* infection among patients with acquired immunodeficiency syndrome in Vietnam". *Clin Infect Dis*, 32 (4), pp. e78-80.
58. Huynh.T. X, Nguyen H. C., Dinh Nguyen H. M., et al. (2003), "*Penicillium marneffe*i infection and AIDS. A review of 12 cases reported in the Tropical Diseases Centre, Ho Chi Minh City (Vietnam)". *Sante*, 13 (3), pp. 149-53.

59. Jayanetra P., Nitiyanant P., Ajello L., et al. (1984), "Penicilliosis marneffei in Thailand: report of five human cases". *Am J Trop Med Hyg*, 33 (4), pp. 637-44.
60. Kantipong P., Panich V., Pongsurachet V., Watt G. (1998), "Hepatic penicilliosis in patients without skin lesions". *Clin Infect Dis*, 26 (5), pp. 1215-7.
61. Kovacs J. A., Masur H. (2000), "Prophylaxis against opportunistic infections in patients with human immunodeficiency virus infection". *N Engl J Med*, 342 (19), pp. 1416-29.
62. Kudeken N., Kawakami K., Saito A. (1998), "Different susceptibilities of yeasts and conidia of *Penicillium marneffei* to nitric oxide (NO)-mediated fungicidal activity of murine macrophages". *Clin Exp Immunol*, 112 (2), pp. 287-93.
63. Kudeken N., Kawakami K., Saito A. (1997), "CD4+ T cell-mediated fatal hyperinflammatory reactions in mice infected with *Penicillium marneffei*". *Clin Exp Immunol*, 107 (3), pp. 468-73.
64. Kudeken N., Kawakami K., Kusano N., Saito A. (1996), "Cell-mediated immunity in host resistance against infection caused by *Penicillium marneffei*". *J Med Vet Mycol*, 34 (6), pp. 371-8.
65. Kummasook A., Pongpom P., Vanittanakom N. (2007), "Cloning, characterization and differential expression of an hsp70 gene from the pathogenic dimorphic fungus, *Penicillium marneffei*". *DNA Seq*, 18 (5), pp. 385-94.
66. Larsson M., Nguyen L. H., Wertheim H. F., et al. (2012), "Clinical characteristics and outcome of *Penicillium marneffei* infection among HIV-infected patients in northern Vietnam". *AIDS Res Ther*, 9 (1), pp. 24.
67. Lau S. K. P., Tsang C. C., Woo P. C. Y. (2017), "*Talaromyces marneffei* Genomic, Transcriptomic, Proteomic and Metabolomic Studies Reveal

Mechanisms for Environmental Adaptations and Virulence". *Toxins (Basel)*, 9 (6).

68. Le T. (2015), "*Penicillium marneffei* Infection - a Putative Zoonosapronotic Disease in Regional Hotspots: Results of a Case Control study in Vietnam". *PhD thesis, Kellogg College*, pp. 82-112.
69. Lee N. (2008), "Penicilliosis: an AIDS-defining disease in Asia". *Hong Kong Med J*, 14 (2), pp. 88-9.
70. Lee P. P., Chan K. W., Lee T. L., et al. (2012), "Penicilliosis in children without HIV infection--are they immunodeficient?". *Clin Infect Dis*, 54 (2), pp. e8-e19.
71. Li P. C., Tsui M. C., Ma K. F. (1992), "*Penicillium marneffei*: indicator disease for AIDS in South East Asia". *Aids*, 6 (2), pp. 240-1.
72. Lim D., Lee Y. S., Chang A. R. (2006), "Rapid diagnosis of *Penicillium marneffei* infection by fine needle aspiration cytology". *J Clin Pathol*, 59(4), pp. 443-444.
73. Limper A. H., Adenis A., Le T., Harrison T. S. (2017), "Fungal infections in HIV/AIDS". *Lancet Infect Dis*, 17 (11), pp. e334-e343.
74. LoBuglio K. F., Taylor J. W. (1995), "Phylogeny and PCR identification of the human pathogenic fungus *Penicillium marneffei*". *J Clin Microbiol*, 33 (1), pp. 85-9.
75. Louthrenoo W., Thamprasert K., Sirisanthana T. (1994), "Osteoarticular penicilliosis marneffei. A report of eight cases and review of the literature". *Br J Rheumatol*, 33 (12), pp. 1145-50.
76. Lu S L. X., Calderone R, Zhang J, Ma J, Cai W, Xi L. (2016), "Whole blood Nested PCR and Real-time PCR amplification of *Talaromyces marneffei* specific DNA for diagnosis". *Med Mycol* ) 54(2), pp. 162-8.

77. Mann D., Sant'Anna F. M., Schmaltz C. A. S., et al. (2018), "Cutaneous tuberculosis and HIV infection at a referral centre in Rio de Janeiro, Brazil". *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 113 (9), pp. e180184.
78. McHugh M. L. (2012), "Interrater reliability: the kappa statistic". *Biochemia medica*, 22 (3), pp. 276-282.
79. Mo W., Deng Z., Li S. (2002), "Clinical blood routine and bone marrow smear manifestations of disseminated penicilliosis marneffeii". *Chin Med J (Engl)*, 115 (12), pp. 1892-4.
80. National C. f. A. D. a. P. P. a. C. (2014), *Viet Nam AIDS Response Progress Report*, Hà Nội.
81. Nongnuch Vanittanakom C. R. C., Jr., Matthew C. Fisher and Thira Sirisanthana (2006), "*Penicillium marneffeii* Infection and Recent Advances in the Epidemiology and Molecular Biology Aspects". *Clin Microbiol Rev.* 19(1): 95–110.
82. Panackal A. A., Hajjeh R. A., Cetron M. S., Warnock D. W. (2002), "Fungal infections among returning travelers". *Clin Infect Dis*, 35 (9), pp. 1088-95.
83. Panichakul T., Chawengkirttikul R., Chaiyaroj S. C., Sirisinha S. (2002), "Development of a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Penicillium marneffeii* infection". *Am J Trop Med Hyg*, 67 (4), pp. 443-7.
84. Pautler K. B., Padhye A. A., Ajello L. (1984), "Imported penicilliosis marneffeii in the United States: report of a second human infection". *Sabouraudia*, 22 (5), pp. 433-8.
85. Rathakarn Kawila. R. C. a. K. S. (2013), "Clinical and laboratory characteristics of penicilliosis marneffeii among patients with and without HIV infection in Northern Thailand: a retrospective study". *BMC Infectious Diseases*, 13, pp. 464.

86. Rongrungruang Y., Levitz S. M. (1999), "Interactions of *Penicillium marneffe* with human leukocytes in vitro". *Infect Immun*, 67 (9), pp. 4732-6.
87. Roussos C., Koutsoukou A. (2003), "Respiratory failure". *European Respiratory Journal*, 22 (47 suppl), pp. 3s.
88. Saikia L., Nath R., Hazarika D., Mahanta J. (2010), "Atypical cutaneous lesions of *Penicillium marneffe* infection as a manifestation of the immune reconstitution inflammatory syndrome after highly active antiretroviral therapy". *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 76 (1), pp. 45-8.
89. Saikia L., Nath R., Biswanath P., Hazarika D., Mahanta J. (2009), "*Penicillium marneffe* infection in HIV infected patients in Nagaland & immune reconstitution after treatment". *Indian J Med Res*, 129 (3), pp. 333-4.
90. Samson R Y. N., Houbraken J, et al. (2011), "Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*". *Stud. Mycol*, 70, pp. 159-183.
91. Samson R. A., Yilmaz N., Houbraken J., et al. (2011), "Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*". *Stud Mycol*, 70 (1), pp. 159-83.
92. Schneider M. F., Gange S. J., Williams C. M., et al. (2005), "Patterns of the hazard of death after AIDS through the evolution of antiretroviral therapy: 1984-2004". *Aids*, 19 (17), pp. 2009-18.
93. Segretain G. (1959), "*Penicillium marneffe* n.sp., agent of a mycosis of the reticuloendothelial system". *Mycopathol Mycol Appl*, 11, pp. 327-53.
94. Singh N., Perfect J. R. (2007), "Immune reconstitution syndrome associated with opportunistic mycoses". *Lancet Infect Dis*, 7 (6), pp. 395-401.
95. Sirisanthana T. (2001), "*Penicillium marneffe* Infection in Patients with AIDS". *Emerging Infectious Diseases*, vol 7, pp. 561.



96. Sirisanthana T., Supparatpinyo K. (1998), "Epidemiology and management of penicilliosis in human immunodeficiency virus-infected patients". *Int J Infect Dis*, 3 (1), pp. 48-53.
97. Sudjaritruk T., Sirisanthana T., Sirisanthana V. (2012), "Immune reconstitution inflammatory syndrome from *Penicillium marneffe* in an HIV-infected child: a case report and review of literature". *BMC Infect Dis*, 12, pp. 28.
98. Supparatpinyo K., Perriens J., Nelson K. E., Sirisanthana T. (1998), "A controlled trial of itraconazole to prevent relapse of *Penicillium marneffe* infection in patients infected with the human immunodeficiency virus". *N Engl J Med*, 339 (24), pp. 1739-43.
99. Supparatpinyo K., Khamwan C., Baosoung V., Nelson K. E., Sirisanthana T. (1994), "Disseminated *Penicillium marneffe* infection in southeast Asia". *Lancet*, 344 (8915), pp. 110-3.
100. Supparatpinyo K., Nelson K. E., Merz W. G., et al. (1993), "Response to antifungal therapy by human immunodeficiency virus-infected patients with disseminated *Penicillium marneffe* infections and in vitro susceptibilities of isolates from clinical specimens". *Antimicrob Agents Chemother*, 37 (11), pp. 2407-11.
101. Supparatpinyo K., Chiewchanvit S., Hirunsri P., et al. (1992), "*Penicillium marneffe* infection in patients infected with human immunodeficiency virus". *Clin Infect Dis*, 14 (4), pp. 871-4.
102. Tsunemi Y., Takahashi T., Tamaki T. (2003), "*Penicillium marneffe* infection diagnosed by polymerase chain reaction from the skin specimen". *J Am Acad Dermatol*, 49 (2), pp. 344-6.
103. Thanh N. T., Vinh L. D., Liem N. T., et al. (2016), "Clinical features of three patients with paradoxical immune reconstitution inflammatory syndrome

associated with *Talaromyces marneffe*i infection". *Medical mycology case reports*, 19, pp. 33-37.

104. Thirach S., Cooper C. R., Jr., Vanittanakom P., Vanittanakom N. (2007), "The copper, zinc superoxide dismutase gene of *Penicillium marneffe*i: cloning, characterization, and differential expression during phase transition and macrophage infection". *Med Mycol*, 45 (5), pp. 409-17.
105. Thu N. T. M., Chan J. F. W., Ly V. T., et al. (2020), "Superiority of a novel Mp1p antigen detection enzyme immunoassay compared to standard BACTEC blood culture in the diagnosis of talaromycosis". *Clinical Infectious Diseases*, 73 (2), pp. e330-336.
106. Thuy L., Kinh N. V., Cuc N. T. K., et al. (2017), "A Trial of Itraconazole or Amphotericin B for HIV-Associated Talaromycosis". *N Engl J Med*, 376 (24), pp. 2329-2340.
107. Thuy L., Chi N. H., Cuc N. T. K., et al. (2010), "AIDS-associated *Penicillium marneffe*i infection of the central nervous system". *Clin Infect Dis*, 51 (12), pp. 1458-62.
108. Thuy Le M. W., Nguyen Huu Chi, Vo Minh Quang,2 Nguyen Tran Chinh, Nguyen Phu Huong Lan, Pham Si Lam, Michael J. Kozal, Cecilia M. Shikuma, Jeremy N. Day and Jeremy Farrar (2011), "Epidemiology, Seasonality, and Predictors of Outcome of AIDS-Associated *Penicillium marneffe*i Infection in Ho Chi Minh City, Viet Nam". *Clin Infect Dis*, 52 (7), pp. 945-952.
109. V.T. Son. P. M. K., M. Strobel. (2014), "Penicilliosis and AIDS in Haiphong, Vietnam: Evolution and predictive factors of death". *Médecine et maladies infectieuses* 44 (2014) 495–501.
110. Vanittanakom N., Merz W. G., Sittisombut N., et al. (1998), "Specific identification of *Penicillium marneffe*i by a polymerase chain reaction/hybridization technique". *Med Mycol*, 36 (3), pp. 169-75.

111. Vanittanakom N., Sirisanthana T. (1997), "*Penicillium marneffe*i infection in patients infected with human immunodeficiency virus". *Curr Top Med Mycol*, 8 (1-2), pp. 35-42.
112. Vanittanakom N., Mekaprateep M., Sriburee P., Vanittanakom P., Khanjanasthiti P. (1995), "Efficiency of the flotation method in the isolation of *Penicillium marneffe*i from seeded soil". *J Med Vet Mycol*, 33 (4), pp. 271-3.
113. Visagie C. M., Houbraken J., Frisvad J. C., et al. (2014), "Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*". *Stud Mycol*, 78, pp. 343-71.
114. Viviani M. A., Tortorano A. M., Rizzardini G., et al. (1993), "Treatment and serological studies of an Italian case of penicilliosis marneffe*i* contracted in Thailand by a drug addict infected with the human immunodeficiency virus". *Eur J Epidemiol*, 9 (1), pp. 79-85.
115. Vu.H.V, Ngo A. T., Ngo V. H., et al. (2010), "Penicilliosis in Vietnam: a series of 94 patients". *Rev Med Interne*, 31 (12), pp. 812-8.
116. Wang Y. F., Xu H. F., Han Z. G., et al. (2015), "Serological surveillance for *Penicillium marneffe*i infection in HIV-infected patients during 2004-2011 in Guangzhou, China". *Clin Microbiol Infect*, 21 (5), pp. 484-9.
117. Wang Y. F., Cai J. P., Wang Y. D., et al. (2011), "Immunoassays based on *Penicillium marneffe*i Mp1p derived from *Pichia pastoris* expression system for diagnosis of penicilliosis". *PLoS One*, 6 (12), pp. e28796.
118. Wong K. H., Lee S. S. (1998), "Comparing the first and second hundred AIDS cases in Hong Kong". *Singapore Med J*, 39 (6), pp. 236-40.
119. Wong S. Y. N, Wong K. F (2011), "*Penicillium marneffe*i infection in AIDS. ". *Pathology Reasearch International*. , Volume (Article ID 764293.).
120. Wong S. S., Wong K. H., Hui W. T., et al. (2001), "Differences in clinical and laboratory diagnostic characteristics of penicilliosis marneffe*i* in human

immunodeficiency virus (HIV)- and non-HIV-infected patients". *Journal of clinical microbiology*, 39 (12), pp. 4535-4540.

121. Woo P. C., Lam C. W., Tam E. W., et al. (2012), "First discovery of two polyketide synthase genes for mitorubrinic acid and mitorubrinol yellow pigment biosynthesis and implications in virulence of *Penicillium marneffe*". *PLoS Negl Trop Dis*, 6 (10), pp. e1871.
122. Woo P. C., Lau S. K., Lau C. C., et al. (2005), "*Penicillium marneffe* fungaemia in an allogeneic bone marrow transplant recipient". *Bone Marrow Transplant*, 35 (8), pp. 831-3.
123. Woo P. C. Y., Lau S. K. P., Lau C. C. Y., et al. (2016), "Mp1p Is a Virulence Factor in *Talaromyces (Penicillium) marneffe*". *PLoS neglected tropical diseases*, 10 (8), pp. e0004907-e0004907.
124. World Health Organization (2011), "Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity".
125. World Health Organization (2004), "Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies". *The Lancet*, 363, pp. 157-163.
126. Wu T. C., Chan J. W., Ng C. K., et al. (2008), "Clinical presentations and outcomes of *Penicillium marneffe* infections: a series from 1994 to 2004". *Hong Kong Med J*, 14 (2), pp. 103-9.
127. Ye F., Luo Q., Zhou Y., et al. (2015), "Disseminated penicilliosis marneffe in immunocompetent patients: a report of two cases". *Indian J Med Microbiol*, 33 (1), pp. 161-5.
128. Youngchim S., Vanittanakom N., Hamilton A. J. (1999), "Analysis of the enzymatic activity of mycelial and yeast phases of *Penicillium marneffe*". *Med Mycol*, 37 (6), pp. 445-50.

129. Yuen K. Y., Wong S. S., Tsang D. N., Chau P. Y. (1994), "Serodiagnosis of *Penicillium marneffe* infection". *Lancet*, 344 (8920), pp. 444-5.
130. Zeng W., Qiu Y., Lu D., et al. (2015), "A Retrospective Analysis of 7 Human Immunodeficiency Virus-Negative Infants Infected by *Penicillium marneffe*". *Medicine (Baltimore)*, 94 (34), pp. e1439.
131. Alhajj M., Farhana A. (2021), "Enzyme Linked Immunosorbent Assay", Last Updated: 2021 Feb 6, In: *StatPearls [Internet]*, StatPearls Publishing, Treasure Island: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/>,

## Phụ lục 1

### PHIẾU THU THẬP SỐ LIỆU

Giá trị xét nghiệm Mp1p trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm  
*Talaromyces marneffe* ở bệnh nhân AIDS

<b>Hành chính</b>	<b>DEMO</b>
Mã số bệnh nhân [ ][ ]-[ ][ ][ ][ ]	Tên BN viết tắt [ ][ ][ ][ ][ ][ ]

\* Các câu hỏi không nhập vào cơ sở dữ liệu

Hành chính	
1. Số hồ sơ bệnh viện:	[ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]*
2. Ngày tham gia nghiên cứu:	[ ][ ]/[ ][ ]/[ ][ ]
3.	ngày tháng năm
4. Họ tên BN:	[ _____ ] *
5. Năm sinh:	[ ][ ][ ][ ]
6. Giới:	<input type="radio"/> Nam <input type="radio"/> Nữ
7. Địa chỉ: (nơi bn đang ở):	
a. Số nhà, tên đường:	[ _____ ]
b. Phường/xã:	[ _____ ]
c. Quận/huyện :	[ _____ ]
d. Tỉnh/ thành phố:	[ _____ ]
8. Số điện thoại liên lạc	[ _____ ]*
9. Bệnh nhân có đang theo dõi HIV ở PKNT nào không?	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
Nếu có, đến từ PKNT nào:	[ _____ ]

Ngày điền phiếu: \_\_\_\_\_

Người điền phiếu ( ký tên): \_\_\_\_\_

**Giá trị xét nghiệm Mp1p trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm  
*Talaromyces marneffe* ở bệnh nhân AIDS**

<b>Dịch tễ</b>	<b>EPI</b>
Mã số bệnh nhân [ ][ ]-[ ][ ][ ]	Tên BN viết tắt [ ][ ][ ][ ][ ]

<b>Dịch tễ</b>
<b>1. Bệnh nhân đã từng sống hay đi đến những vùng sau đây không (ở &gt;3 ngày):</b>
a. Đông Nam Bộ (Bình Dương, Bình Phước, Đồng Nai, Tây Ninh, Vũng Tàu, TPHCM): <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không   Ghi rõ tỉnh: [ _____ ]
b. Tây Nguyên (Đắk Lắk, Đắk Nông, Gia Lai, Kon Tum, Lâm Đồng) : <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không   Ghi rõ tỉnh: [ _____ ]
c. Nam Trung Bộ (Đà Nẵng, Quảng Nam, Quảng Ngãi, Bình Định, Phú Yên, Khánh Hòa, Ninh Thuận, Bình Thuận) <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không   Ghi rõ tỉnh: [ _____ ]
d. Các tỉnh miền núi phía Bắc (Hà Giang, Cao Bằng, Lào Cai, Bắc Cạn, Lạng Sơn, Tuyên Quang, Yên Bái, Điện Biên, Lai Châu, Sơn La) <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không   Ghi rõ tỉnh: [ _____ ]
<b>2. Bệnh nhân có làm việc, tiếp xúc với đất, cát:</b>
a. Nghề trồng trọt <span style="float: right;"><input type="radio"/> Có   <input type="radio"/> Không</span>
b. Chăn nuôi gia súc, gia cầm <span style="float: right;"><input type="radio"/> Có   <input type="radio"/> Không</span>
c. Nghề xây dựng <span style="float: right;"><input type="radio"/> Có   <input type="radio"/> Không</span>
d. Nghề liên quan đến rác: <span style="float: right;"><input type="radio"/> Có   <input type="radio"/> Không</span>
e. Khác <span style="float: right;">[ _____ ]</span>
<b>3. Bệnh nhân đã từng tiếp xúc hoặc ăn chuột tre (dúi) không?</b> <span style="float: right;"><input type="radio"/> Có   <input type="radio"/> Không</span>

**Giá trị xét nghiệm Mp1p trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm  
*Talaromyces marneffe* ở bệnh nhân AIDS**

<b>BỆNH SỬ</b>	<b>HIST</b>
Mã số bệnh nhân [ ]-[ ]-[ ]-[ ]	Tên BN viết tắt [ ]-[ ]-[ ]-[ ]

<b>TIỀN SỬ HIV</b>
1. Bệnh nhân có bao giờ tiêm chích ma túy không? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
2. Số TB CD4 mới nhất (<3 tháng) [ ]-[ ]-[ ] TB/ $\mu$ L, Ngày: [ ]/[ ]/[ ]-[ ]-[ ] tháng năm <input type="radio"/> Không có hoặc chưa làm XN CD4 trước đây
3. Đã điều trị ARV? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
a. Nếu có, số TB CD4 trước khi điều trị ARV: [ ]-[ ]-[ ] TB/ $\mu$ L <input type="radio"/> Không rõ
b. Ngày bắt đầu ARV [ ]/[ ]/[ ]-[ ]-[ ] tháng năm
4. Đã từng nhiễm TM trước đây không? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không <input type="radio"/> Không biết
a. Nếu có, mắc bệnh khi nào? [ ]/[ ]/[ ]-[ ]-[ ] tháng năm
b. Có được điều trị không? <input type="radio"/> Đang điều trị <input type="radio"/> Đã ngưng, ghi rõ [ ]/[ ]/[ ]-[ ]-[ ] tháng năm

Ngày điền phiếu: \_\_\_\_\_

Người điền phiếu (ký tên): \_\_\_\_\_



Giá trị xét nghiệm Mp1p trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm  
*Talaromyces marneffeii* ở bệnh nhân AIDS

<b>Khám Bệnh Ban đầu</b>	<b>EXAM</b>
Mã số bệnh nhân [ ]-[ ]-[ ]	Tên BN viết tắt [ ]-[ ]-[ ]

Khám lâm sàng ban đầu	
1. Ngày thứ mấy của bệnh:	[ ]-[ ]-[ ] ngày
2. Sốt:	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
3. Suy kiệt/chán ăn/sụt cân	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
4. Hạch	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
5. Buồn nôn/nôn/đau bụng/chướng bụng	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
6. Tiêu chảy	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
7. Gan, lách to	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
8. Ho	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
9. Khó thở/cần oxy	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
Nếu có, nhịp thở cao nhất: [ ] l/p	
10. Triệu chứng khác: [ ] [ ]	
11. Các bệnh khác: <input type="checkbox"/> TB: <input type="radio"/> Đang nghi ngờ <input type="radio"/> Đã chẩn đoán <input type="checkbox"/> Cryptococcus <input type="checkbox"/> Bệnh do virus Herpes (CMV, HSV, VZV) <input type="checkbox"/> Toxoplasma <input type="checkbox"/> PCP <input type="checkbox"/> Nấm miệng- Nấm thực quản <input type="checkbox"/> Tiêu chảy nhiễm trùng, ghi rõ tác nhân: [ ] <input type="checkbox"/> Khác, ghi rõ [ ]	

Ngày điền phiếu: \_\_\_\_\_

Người điền phiếu ( ký tên): \_\_\_\_\_

**Giá trị xét nghiệm Mp1p trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm  
*Talaromyces marneffe* ở bệnh nhân AIDS**

<b>Xét nghiệm Ban đầu</b>	<b>LAB</b>
Mã số bệnh nhân [ ]-[ ]-[ ]-[ ]	Tên BN viết tắt [ ]-[ ]-[ ]-[ ]

<b>Xét nghiệm trước khi vào NC</b>			
1. Bạch cầu	[ ]-[ ]-[ ] <input type="radio"/> K/ $\mu$ L <input type="radio"/> $\times 10^9/L$	2. Lymphocytes	[ ]-[ ]-[ ] K/uL
3. Haemoglobin	[ ]-[ ]-[ ]-[ ] <input type="radio"/> g/dL <input type="radio"/> g/L	4. Tiểu cầu	[ ]-[ ]-[ ] <input type="radio"/> K/ $\mu$ L <input type="radio"/> $\times 10^9/L$
5. AST	[ ]-[ ]-[ ]-[ ] U/L	6. ALT	[ ]-[ ]-[ ] U/L
7. Creatinin	[ ]-[ ]-[ ]-[ ] ( $\mu$ mol/L)	8. CD4	[ ]-[ ]-[ ] TB/ $\mu$ L
9. Kháng nguyên Tm	Máu: <input type="radio"/> Âm tính <input type="radio"/> Dương tính [ ]-[ ]-[ ]-[ ] pg/ml  Nước tiểu: <input type="radio"/> Âm tính <input type="radio"/> Dương tính [ ]-[ ]-[ ]-[ ] pg/ml	10. Soi da dương tính với Tm	<input type="radio"/> Không có sang thương da <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
11. Cây da dương tính với Tm	<input type="radio"/> Không có sang thương da <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	12. Cây máu	<input type="radio"/> Âm tính <input type="radio"/> Dương tính: a. <input type="radio"/> Tm b. <input type="radio"/> Khác, ghi rõ: [ ]-[ ]-[ ]-[ ]
13. Cây dịch cơ thể, ghi rõ: [ ]-[ ]-[ ]-[ ]	<input type="radio"/> Âm tính <input type="radio"/> Dương tính: a. <input type="radio"/> Tm b. <input type="radio"/> Khác, ghi rõ: [ ]-[ ]-[ ]-[ ]	14. Siêu âm	<input type="checkbox"/> Hạch ổ bụng <input type="checkbox"/> Gan to <input type="checkbox"/> Lách to <input type="checkbox"/> Bàng bụng/ cổ trướng
15. X-quang	<input type="radio"/> Bình thường <input type="radio"/> Bất thường, ghi rõ: [ ]-[ ]-[ ]-[ ]	16. BK đàm	<input type="radio"/> Âm tính <input type="radio"/> Dương tính
17. Xét nghiệm khác	[ ]-[ ]-[ ]-[ ]		

(8) Kết quả CD4 có thể lấy trong vòng 3 tháng trước khi tham gia nghiên cứu

18. Có chẩn đoán xác định nhiễm nấm Tm  Có  Không

Ngày điền phiếu: \_\_\_\_\_

Người điền phiếu (ký tên): \_\_\_\_\_

<b>Điều trị</b>	<b>TREAT</b>
Mã số bệnh nhân [ ][ ]-[ ][ ][ ][ ]	Tên BN viết tắt [ ][ ][ ][ ][ ][ ]

**Giá trị xét nghiệm Mp1p trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm**

1. Kháng nấm đang dùng	<input type="radio"/> Amphotericin B <input type="radio"/> Itraconazole <input type="radio"/> Thuốc kháng nấm khác: [ _____ ]
2. Thuốc kháng lao	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Nếu có, đang điều trị với <input type="radio"/> Rifampicin <input type="radio"/> Không Rifampicin
3. Thuốc kháng sinh, ghi rõ:	[ _____ ]
4. Thuốc khác, ghi rõ:	[ _____ ]

***Talaromyces marneffi* ở bệnh nhân AIDS**

Ngày điền phiếu: \_\_\_\_\_

Người điền phiếu ( ký tên): \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Giá trị xét nghiệm Mp1p trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm  
*Talaromyces marneffei* ở bệnh nhân AIDS**

<b>Tái Khám</b>							<b>FU</b>
Mã số bệnh nhân [ ]-[ ]-[ ]-[ ]						Tên BN viết tắt [ ]-[ ]-[ ]-[ ]	
	<b>Tuần 2</b>	<b>Tuần 4</b>	<b>Tuần 8</b>	<b>Tuần 12</b>	<b>Tuần 16</b>	<b>Tuần 20</b>	<b>Tuần 24</b>
1. Ngày (ngng/tt/nn)	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
2. BN có đến tái khám không?	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
3. Nhiệt độ (°C)	[ ]-[ ]	[ ]-[ ]	[ ]-[ ]	[ ]-[ ]	[ ]-[ ]	[ ]-[ ]	[ ]-[ ]
4. Sẩn da mới	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
5. Hạch mới	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
6. Điều trị ARV	<input type="radio"/> Tiếp tục <input type="radio"/> Bắt đầu: ___/___/___ <input type="radio"/> Ngưng điều trị: ___/___/___ Lý do: _____ _____ _____ Tuân thủ điều trị: [ ]-[ ]-[ ] %	<input type="radio"/> Tiếp tục <input type="radio"/> Bắt đầu: ___/___/___ <input type="radio"/> Ngưng điều trị: ___/___/___ Lý do: _____ _____ _____ Tuân thủ điều trị: [ ]-[ ]-[ ] %	<input type="radio"/> Tiếp tục <input type="radio"/> Bắt đầu: ___/___/___ <input type="radio"/> Ngưng điều trị: ___/___/___ Lý do: _____ _____ _____ Tuân thủ điều trị: [ ]-[ ]-[ ] %	<input type="radio"/> Tiếp tục <input type="radio"/> Bắt đầu: ___/___/___ <input type="radio"/> Ngưng điều trị: ___/___/___ Lý do: _____ _____ _____ Tuân thủ điều trị: [ ]-[ ]-[ ] %	<input type="radio"/> Tiếp tục <input type="radio"/> Bắt đầu: ___/___/___ <input type="radio"/> Ngưng điều trị: ___/___/___ Lý do: _____ _____ _____ Tuân thủ điều trị: [ ]-[ ]-[ ] %	<input type="radio"/> Tiếp tục <input type="radio"/> Bắt đầu: ___/___/___ <input type="radio"/> Ngưng điều trị: ___/___/___ Lý do: _____ _____ _____ Tuân thủ điều trị: [ ]-[ ]-[ ] %	<input type="radio"/> Tiếp tục <input type="radio"/> Bắt đầu: ___/___/___ <input type="radio"/> Ngưng điều trị: ___/___/___ Lý do: _____ _____ _____ Tuân thủ điều trị: [ ]-[ ]-[ ] %

**Giá trị xét nghiệm Mp1p trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm  
*Talaromyces marneffei* ở bệnh nhân AIDS**

<b>Tái Khám</b>	<b>FU</b>
Mã số bệnh nhân [ ][ ]-[ ][ ][ ]	Tên BN viết tắt [ ][ ][ ][ ][ ]

**\*Danh sách mã số các bệnh liên quan đến HIV/AIDS: 1. *Talaromyces marneffei*, 2. Lao phổi (Pulmonary TB), 3. Lao ngoài phổi**

	Tuần 2	Tuần 4	Tuần 8	Tuần 12	Tuần 16	Tuần 20	Tuần 24	
7. Tm và những bệnh khác liên quan đến HIV/AIDS	a. <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Nếu có, ghi rõ: Ngày: __/__/__	a. <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Nếu có, ghi rõ: Ngày: __/__/__	a. <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Nếu có, ghi rõ: Ngày: __/__/__	a. <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Nếu có, ghi rõ: Ngày: __/__/__	a. <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Nếu có, ghi rõ: Ngày: __/__/__	a. <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Nếu có, ghi rõ: Ngày: __/__/__	a. <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Nếu có, ghi rõ: Ngày: __/__/__	
	Chẩn đoán, ghi mã số [ ][ ][ ]* Nếu chọn #15, ghi rõ: [ ][ ][ ]	Chẩn đoán, ghi mã số [ ][ ][ ]* Nếu chọn #15, ghi rõ: [ ][ ][ ]	Chẩn đoán, ghi mã số [ ][ ][ ]* Nếu chọn #15, ghi rõ: [ ][ ][ ]	Chẩn đoán, ghi mã số [ ][ ][ ]* Nếu chọn #15, ghi rõ: [ ][ ][ ]	Chẩn đoán, ghi mã số [ ][ ][ ]* Nếu chọn #15, ghi rõ: [ ][ ][ ]	Chẩn đoán, ghi mã số [ ][ ][ ]* Nếu chọn #15, ghi rõ: [ ][ ][ ]	Chẩn đoán, ghi mã số [ ][ ][ ]* Nếu chọn #15, ghi rõ: [ ][ ][ ]	Chẩn đoán, ghi mã số [ ][ ][ ]* Nếu chọn #15, ghi rõ: [ ][ ][ ]
	b. Có phải nhập viện lại không? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Ngày nhập viện: __/__/__	b. Có phải nhập viện lại không? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Ngày nhập viện: __/__/__	b. Có phải nhập viện lại không? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Ngày nhập viện: __/__/__	b. Có phải nhập viện lại không? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Ngày nhập viện: __/__/__	b. Có phải nhập viện lại không? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Ngày nhập viện: __/__/__	b. Có phải nhập viện lại không? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Ngày nhập viện: __/__/__	b. Có phải nhập viện lại không? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Ngày nhập viện: __/__/__	b. Có phải nhập viện lại không? <input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không Ngày nhập viện: __/__/__
	c. Thuốc điều trị: [ ][ ][ ]	c. Thuốc điều trị: [ ][ ][ ]	c. Thuốc điều trị: [ ][ ][ ]	c. Thuốc điều trị: [ ][ ][ ]	c. Thuốc điều trị: [ ][ ][ ]	c. Thuốc điều trị: [ ][ ][ ]	c. Thuốc điều trị: [ ][ ][ ]	c. Thuốc điều trị: [ ][ ][ ]
Người điền phiếu								

(Extra Pulmonary TB), 4. Hội chứng suy mòn (Wasting Syndrome), 5. Viêm phổi (Pneumonia), 6. PCP, 7. VMN C.neoformans (Cryptococcal meningitis), 8. Toxoplasmosis, 9. PML, 10. Nhiễm trùng tiêu hóa (Gastrointestinal infections), 11. Viêm gan (Hepatitis), 12. Nhiễm trùng huyết (Sepsis), 13. Herpes Virus (CMV, HSV, VZV), 14. Nấm miệng/thực quản (Oral/esophageal candidiasis), 15. Khác (Others)



**Giá trị xét nghiệm Mp1p trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm  
*Talaromyces marneffei* ở bệnh nhân AIDS**

<b>Kết quả</b>	<b>OC</b>
Mã số bệnh nhân [ ][ ]-[ ][ ][ ][ ]	Tên BN viết tắt [ ][ ][ ][ ][ ][ ]

**Kết quả trong 24 tuần theo dõi:**

1. Ngày theo dõi cuối cùng	[ ][ ]/[ ][ ]/[ ][ ] Ngày tháng năm
2. Mất theo dõi	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
3. Nguyên nhân mất theo dõi	<input type="radio"/> Không liên lạc được với BN <input type="radio"/> BN không muốn tham gia NC nữa <input type="radio"/> BN chuyển phòng khám ngoại trú khác <input type="radio"/> Khác, ghi rõ [ _____ ]
4. Có bị bệnh Tm không	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
5. Tử vong	<input type="radio"/> Có <input type="radio"/> Không
6. Ngày tử vong	[ ][ ]/[ ][ ]/[ ][ ] Ngày tháng năm
7. Nguyên nhân tử vong	[ _____ ]

Ngày điền phiếu: \_\_\_\_\_

Người điền phiếu ( ký tên): \_\_\_\_\_

## Phụ lục 2

**PHIẾU CUNG CẤP THÔNG TIN VÀ CHẤP THUẬN**  
**THAM GIA NGHIÊN CỨU**  
**“GIÁ TRỊ XÉT NGHIỆM Mp1p TRONG CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI NHIỄM**  
**NẤM *T.marneffei* Ở BỆNH NHÂN AIDS”**

### 1. Giới thiệu về nghiên cứu:

“Giá trị xét nghiệm Mp1p trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm nấm *Talaromyces marneffei* ở bệnh nhân AIDS”

- Họ và tên chủ nhiệm đề tài: Võ Triều Lý
- Đơn vị: Bộ môn Truyền Nhiễm ĐH Y Dược TP.HCM
- Điện thoại: 0907411200
- Đơn vị chủ trì: ĐH Y Dược TP.HCM

Anh/ chị đã được chẩn đoán nhiễm vi rút HIV và có số lượng TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/ $\mu$ L, chúng tôi muốn mời anh/ chị và các bệnh nhân khác mắc bệnh này đề cùng tham gia một nghiên cứu. Việc tham gia nghiên cứu này là hoàn toàn tự nguyện. Không ai có thể ép buộc hoặc dụ dỗ các anh/ chị tham gia vào nghiên cứu. Xin anh/ chị vui lòng đọc kỹ thông tin dưới đây. Nếu anh/ chị không đọc được, sẽ có người khác đọc cho anh/ chị. Xin hãy cân nhắc thật kỹ trước khi quyết định tham gia, và hãy hỏi người có trách nhiệm lấy chấp thuận tham gia nghiên cứu này bất kỳ câu hỏi nào mà các anh/ chị thắc mắc. Nếu anh/ chị đồng ý tham gia nghiên cứu thì anh/ chị sẽ được yêu cầu ký tên hoặc làm dấu vào trang kế tiếp.

### 2. Mục đích của nghiên cứu:

Anh/chị được mời tham gia nghiên cứu “Khảo sát giá trị xét nghiệm Mp1p trong quản lý bệnh do nấm *Talaromyces marneffei* trên bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS có TCD4<sup>+</sup> <100 tế bào/ $\mu$ L”. Hiện nay, nhiễm HIV/AIDS trở thành đại dịch toàn cầu nguy hiểm với tỉ lệ mắc mới và tử vong ngày một gia tăng. Một trong những nguyên nhân quan trọng gây tử vong trên người nhiễm HIV/AIDS, đặc biệt ở khu vực Đông Nam Á, là bệnh nhiễm trùng cơ hội do nấm *Talaromyces marneffei*. Nhiễm trùng cơ hội này hiện nay vẫn còn là một thách thức đối với nhà lâm sàng vì các biểu hiện không đặc hiệu, chẩn đoán thường chậm trễ do cần thời gian để phân lập tác nhân gây bệnh trên các bệnh phẩm như máu, hạch, tủy xương. Vì vậy, nhiều xét nghiệm chẩn đoán nhanh



dựa vào kháng thể hoặc kháng nguyên nấm ngày càng được quan tâm. Theo Wang và cs (2011) xét nghiệm kháng nguyên Mp1p huyết thanh là một trong những phương pháp giúp chẩn đoán sớm nhiễm nấm *Talaromyces marneffeii* với giá trị chẩn đoán cao, từ đó giúp chẩn đoán, điều trị kịp thời và quản lý bệnh do nấm *Talaromyces marneffeii* hiệu quả hơn.

Hiện nay vẫn chưa có công trình nghiên cứu nào về giá trị kháng nguyên Mp1p huyết thanh trong quản lý bệnh do nấm *Talaromyces marneffeii* trên bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS tại Việt Nam. Vì vậy nghiên cứu của tôi sẽ có ý nghĩa ứng dụng trong chẩn đoán sớm và điều trị kịp thời bệnh do nấm *Talaromyces marneffeii*, góp phần làm giảm tỉ lệ tử vong do tác nhân này gây ra.

Đề tài đã được thông qua Hội Đồng Y Đức của Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới TP.HCM và đã được thực hiện tại khoa Nhiễm E - Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới TP.HCM, là cơ sở điều trị chuyên môn tin cậy, bảo đảm chất lượng và bảo vệ cho sự an toàn của người bệnh.

### **3. Giới thiệu về người nghiên cứu:**

Khoa Nhiễm E - Bệnh viện bệnh Nhiệt Đới TP.HCM và đơn vị nghiên cứu lâm sàng đại học Oxford (OUCRU) phối hợp thực hiện nghiên cứu này.

Nghiên cứu này được thực hiện bởi nghiên cứu viên chính ThS.BS.Võ Triều Lý, công tác tại khoa nhiễm E, Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới Tp.HCM.

### **4. Quy trình thực hiện nghiên cứu:**

Nếu anh/chị đủ tiêu chuẩn vào nghiên cứu, bạn sẽ được giải thích ý nghĩa của nghiên cứu và được trả lời các thắc mắc bởi nghiên cứu viên. Anh/chị sẽ được mời tham gia và ký vào bản đồng thuận tham gia nghiên cứu.

Nghiên cứu lấy 5mL máu và 10mL nước tiểu để thực hiện xét nghiệm tìm kháng nguyên Mp1p của *Talaromyces marneffeii* đồng thời ghi lại diễn tiến bệnh, một số xét nghiệm từ hồ sơ bệnh án trong quá trình điều trị tại bệnh viện. Kết quả xét nghiệm tìm kháng nguyên Mp1p sẽ được thông báo cho bác sĩ điều trị và các anh/chị để hỗ trợ cho chẩn đoán và điều trị bệnh.

## **5. Những rủi ro có thể xảy ra khi tiến hành nghiên cứu này?**

Nghiên cứu lấy 5mL máu và 10mL nước tiểu để thực hiện xét nghiệm tìm kháng nguyên Mp1p của *Talaromyces marneffe* nên không ảnh hưởng đáng kể đến sức khỏe của người tham gia nghiên cứu.

## **6. Lợi ích khi tham gia nghiên cứu:**

Việc bạn tham gia vào nghiên cứu sẽ giúp xác định giá trị ngưỡng của kháng nguyên Mp1p của *Talaromyces marneffe*. Kết quả của nghiên cứu sẽ giúp ích cho việc theo dõi và điều trị của bạn và có thể ứng dụng cho việc theo dõi điều trị bệnh nhân nhiễm nấm *Talaromyces marneffe* khác.

## **7. Trả công cho đối tượng tham gia nghiên cứu:**

Các chi phí trong nghiên cứu nằm ngoài điều trị chuẩn và chi phí đi lại trong quá trình tái khám theo yêu cầu của nghiên cứu sẽ được nghiên cứu chi trả.

Cụ thể chi phí đi lại trong quá trình tái khám theo yêu cầu của nghiên cứu sẽ được nghiên cứu hỗ trợ cho các anh/chị theo địa chỉ cư ngụ như sau:

- Thành phố Hồ Chí Minh: 100.000 VNĐ
- Các tỉnh miền Đông Nam Bộ và Tây Nam Bộ: 150.000 VNĐ
- Các tỉnh Tây Nguyên, miền Trung: 200.000 VNĐ
- Các tỉnh miền Bắc: 250.000 VNĐ

## **8. Về vấn đề bảo mật của đối tượng nghiên cứu**

Nghiên cứu của chúng tôi sẽ thu thập các thông tin sức khỏe của bạn. Những thông tin này sẽ được giữ tại nơi an toàn và bảo mật.

Hồ sơ bệnh án của các anh/ chị sẽ do các nhân viên trong nghiên cứu kiểm tra, bao gồm nghiên cứu viên, kiểm soát viên nghiên cứu, hội đồng y đức. Tất cả các hồ sơ nghiên cứu đều được dán mã số nghiên cứu. Tên của các anh/chị sẽ không được dùng dưới bất kỳ hình thức nào trong các báo cáo kết quả nghiên cứu cũng như các công bố khoa học liên quan.

## **9. Nghĩa vụ của người tham gia nghiên cứu:**

Trả lời trung thực khi được phỏng vấn. Trong khi phỏng vấn, nếu anh/chị cảm thấy có những câu hỏi không muốn trả lời hoặc khó trả lời, vui lòng thông báo cho nghiên cứu viên được biết, không nên trả lời thiếu chính xác.

#### **10. Sự tự nguyện tham gia và rút lui khỏi nghiên cứu:**

Anh/ chị có toàn quyền tự do rút ra khỏi nghiên cứu mà không bị phạt hoặc mất đi các lợi ích mà các anh/chị được hưởng. Các anh/ chị vẫn được thăm khám và chữa bệnh theo đúng qui trình thường qui tại bệnh viện. Hội đồng y đức có quyền dừng nghiên cứu bất cứ lúc nào khi có bất kỳ lý do chính đáng nào.

#### **11. Phương thức liên hệ với người tổ chức nghiên cứu**

Nếu anh/ chị có bất kỳ thắc mắc gì về nghiên cứu, các anh/ chị có thể hỏi nghiên cứu viên **VÕ TRIỀU LÝ**, ĐT:0907411200, ĐC: 656/74/62, Đường Quang Trung, Phường 11, Quận Gò Vấp hoặc chuyển thắc mắc về hội đồng y đức Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới Tp.Hồ Chí Minh.

#### **12. Cam kết của nhà nghiên cứu với đối tượng tham gia nghiên cứu**

Khi hoàn thành thu thập số liệu chúng tôi sẽ tiến hành phân tích kết quả và viết báo cáo. Nếu anh/chị muốn có bản sao kết quả nghiên cứu, hãy thông báo với nhóm nghiên cứu. Chúng tôi đảm bảo anh/ chị sẽ nhận được tài liệu anh/ chị yêu cầu.

Một lần nữa, nhóm nghiên cứu khẳng định rằng, các bài báo cáo cũng như các xuất bản có liên quan sẽ không ghi họ tên người tham gia nghiên cứu.

Xin chân thành cảm ơn các anh/ chị đã tham gia và nghiên cứu của chúng tôi.

Tp.HCM, ngày      tháng      năm

Chủ nhiệm đề tài

Võ Triều Lý

**Phụ lục 4**

**ĐẶC ĐIỂM CỦA CÁC TRƯỜNG HỢP KHÔNG TƯƠNG HỢP Mp1p HUYẾT THANH VÀ NƯỚC TIỂU**

**ĐẶC ĐIỂM CÁC TRƯỜNG HỢP Mp1p HT (+) và Mp1p NT (-)**

STT	ID	Giới	Tuổi	Tm T0	Mp1p HT	Mp1p NT	CTM		AST	TCD4 <sup>+</sup>	NTCH nằm viện	Phát triển Tm sau xuất viện
							BC- Lym - Hb - TIỂU CẦU					
1	268	Nam	31	x	0,312	0,039	1,4 - 0,37 - 8,3 - 143		55	22	Tm	
2	017	Nam	45	x	1,73	0,01	3,3 - 0,22 - 8,8 - 130		166	1	Tm	
3	142	Nữ	33	-	0,386	0,423	2,6 - 0,29 - 7,4 - 121		84	2	Lao	Tm da/2w
4	293	Nam	34	-	0,374	0,39	7,4 - 0,32 - 17,4 - 46		239	4	Nấm miệng	Tm da/4w
5	524	Nam	25	-	0,28	0,14	4,4 - 0,68 - 7,6 - 317		19	44	Nấm miệng, suy kiệt	-
6	439	Nam	41	-	0,22	0,09	4,4 - 0,41 - 11,4 - 145		48	23	TCNT	-
7	495	Nam	27	-	0,32	0,054	9,6 - 0,67 - 11,6 - 319		27	2	Toxoplasmosis	-
8	485	Nam	34	-	1,07	0,048	7,9 - 0,50 - 11,2 - 165		36	12	Viêm phổi kẽ	-
9	260	Nam	30	-	0,224	0,021	3,9 - 0,33 - 11,5 - 141		63	37	Viêm phổi kẽ	-

**ĐẶC ĐIỂM CÁC TRƯỜNG HỢP Mp1p HT (-) và Mp1p NT (+)**

STT	ID	Giới	Tuổi	Tm T0	Mp1p HT	Mp1p NT	CTM		AST	TCD4 <sup>+</sup>	NTCH nằm viện	Phát triển Tm sau xuất viện
							BC- Lym - Hb - TIỂU CẦU					
1	427	Nam	33	x	0,02	3,33	0,4 - 0,08 - 7,4 - 96		88	1	Tm	
2	027	Nam	24	x	0,06	1,2	4,6 - 0,39 - 8,0 - 215		54	39	Tm, Lao ruột	
3	360	Nữ	35	x	0,167	0,618	1,0 - 0,14 - 7,2 - 274		116	55	Tm	
4	035	Nam	40	-	0,11	3,12	5,1 - 0,87 - 7,6 - 181		212	27	TDMP do lao	Tm da/w12
5	279	Nam	52	-	0,06	3,05	4,4 - 0,55 - 8,9 - 146		54	28	Nấm miệng	Tm máu/4w
6	028	Nam	59	-	0,078	1,069	3,2 - 0,87 - 8,2 - 54		95	22	Viêm phổi kẽ	Tm da/4w
7	067	Nam	34	-	0,074	0,8	2,8 - 0,43 - 11,1 - 57		22	34	TCNT, Viêm phổi kẽ	Tm da/w16
8	361	Nữ	32	-	0,12	3,19	4,7 - 0,43 - 12,4 - 224		25	24	TCNT	-



**Phụ lục 5: Danh sách bệnh nhân tham gia nghiên cứu**

**Phụ lục 6: Quyết định chấp thuận của hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học**

**Phụ lục 7: Quyết định phê duyệt đề tài cấp cơ sở**