

GIÁ TRỊ Mp1p NƯỚC TIỂU TRONG CHẨN ĐOÁN BỆNH DO NẤM *TALAROMYCES MARNEFFEI* Ở BỆNH NHÂN NHIỄM HIV/AIDS

Võ Triều Lý¹, Vương Minh Nhật¹, Vũ Thị Hiếu², Thùy Lê³

Mở đầu: Bệnh do nấm *Talaromyces marneffi* là một trong những nhiễm trùng cơ hội quan trọng và là nguyên nhân tử vong hàng đầu ở bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS tại Việt Nam. Nguyên nhân tử vong chủ yếu là do chẩn đoán trễ vì các triệu chứng lâm sàng trùng lặp với các nhiễm trùng cơ hội khác và kết quả phân lập vi nấm thường chậm trễ, có thể lên đến 14 ngày. Mp1p ELISA được phát triển nhằm mục đích chẩn đoán sớm bệnh do nấm *T. marneffi*. Bên cạnh phát hiện trong huyết thanh, Mp1p còn có thể được tìm thấy trong nước tiểu, điều này có thể giúp cải thiện việc chẩn đoán bệnh do nấm *T. marneffi* cũng như giảm nguy cơ lây nhiễm cho nhân viên y tế khi sử dụng bệnh phẩm này.

Mục tiêu: (1) Mô tả phân bố Mp1p nước tiểu ở bệnh nhân AIDS có TCD4+ < 100 tế bào/mm³; (2) Xác định ngưỡng cắt và giá trị chẩn đoán của xét nghiệm ELISA Mp1p nước tiểu ở bệnh nhân AIDS có TCD4+ < 100 tế bào/mm³; (3) Đánh giá sự tương hợp giữa Mp1p trong nước tiểu và huyết thanh ở bệnh nhân AIDS có TCD4+ < 100 tế bào/mm³.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu cắt ngang mô tả. Đối tượng là những bệnh nhân nhiễm HIV ≥ 18 tuổi có TCD4+ < 100 tế bào/mm³, điều trị nội trú tại Khoa Nhiễm E, Bệnh viện Bệnh nhiệt đới từ tháng 6/2017 đến 7/2019.

Kết quả: Có 533 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn được chọn vào nghiên cứu trong đó có 70 ca nhiễm nấm *T. marneffi*. Trung vị của Mp1p nước tiểu ở nhóm nhiễm nấm *T. marneffi* cao hơn nhóm nhiễm trùng cơ hội khác (NTCH) (3,15 (2,38 - 3,29) OD vs 0,02 (0,01 - 0,03) OD, p < 0,001), và cao hơn Mp1p huyết thanh ở nhóm nhiễm nấm *T. marneffi* (3,15 (2,38 - 3,29) vs OD 2,53 (0,76 - 3,01), p < 0,001). Ngưỡng cắt Mp1p nước tiểu là 0,60 OD với độ nhạy SEN = 90% và độ đặc hiệu SPE = 97,2%. Mp1p nước tiểu và huyết thanh có sự tương hợp mạnh với chỉ số k (kappa) = 0,870, p = 0,001.

Kết luận: Mp1p ELISA nước tiểu được xem là một xét nghiệm nhiều hứa hẹn trong chẩn đoán sớm bệnh do nấm *T. marneffi* ở bệnh nhân AIDS bên cạnh Mp1p ELISA huyết thanh.

Từ khóa: HIV/AIDS, TCD4+, *Talaromyces marneffi*, Mp1p nước tiểu, giá trị điểm cắt.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm nấm *Talaromyces marneffi* (*T. marneffi*) là một nhiễm trùng cơ hội thường gặp ở bệnh nhân HIV/AIDS tại các nước trong khu vực Đông Nam Á nói chung và tại Việt Nam nói riêng. Bệnh xuất hiện chủ yếu ở những bệnh nhân suy giảm miễn dịch nặng

với số lượng tế bào TCD4 < 100 tế bào/mm³. Tỷ lệ tử vong có thể lên tới 20% mà nguyên nhân chính là chẩn đoán chậm trễ⁵. Các triệu chứng lâm sàng thường gặp của nhiễm nấm *Talaromyces marneffi* bao gồm sốt kéo dài, gan lách, hạch to và đặc biệt là sẩn da⁵. Những triệu chứng này cũng dễ trùng lặp với các nhiễm trùng cơ hội khác như lao, *C. neoformans* hay *Histoplasma capsulatum*. Sẩn da có hoại tử trung tâm tuy đặc hiệu cho bệnh nhưng không phải lúc nào cũng xuất hiện và có thể bỏ sót.

Chẩn đoán xác định nhiễm nấm *T. marneffi* chủ yếu 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, độ nhạy của việc nuôi cấy phụ thuộc nhiều vào chất lượng của phòng thí nghiệm. Một bất lợi lớn nữa là xét nghiệm này thường có kết quả chậm trễ. Giải quyết các bất lợi này, các tác giả đã nghiên cứu sử dụng kỹ thuật để phát hiện kháng nguyên Mp1p của nấm

⁽¹⁾ Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

⁽²⁾ Bệnh viện Phạm Ngọc Thạch

⁽³⁾ Trường Đại học Duke, Hoa Kỳ

Ngày nhận bài: 07/6/2023

Ngày phản biện xong: 12/6/2023

Ngày duyệt đăng: 20/6/2023

Người chịu trách nhiệm nội dung khoa học: Võ Triều Lý,
Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Điện thoại: 0907411200. **E-mail:** drtrieuly@gmail.com



T. marneffei. Đây là một mannoprotein của vách tế bào vi nấm, liên quan mật thiết đến độc lực và đã được ứng dụng để chẩn đoán nhiễm nấm *T. marneffei*². Kỹ thuật xét nghiệm miễn dịch liên kết enzym “kẹp chặt”, sandwich Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) sử dụng kháng thể đơn và đa dòng để phát hiện kháng nguyên Mp1p của *T. marneffei* đã được Wang và cộng sự nghiên cứu tại Trung Quốc vào năm 2011. Kết quả cho thấy xét nghiệm có giá trị chẩn đoán khá tốt với 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 là 0,208 OD⁶. Tại Việt Nam, tác giả Nguyễn Thị Mai Thu và cộng sự (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 quả vi sinh, so sánh với 517 ca chứng không nhiễm loại vi nấm này. Kết quả đạt được độ nhạy, độ đặc hiệu, độ chính xác lần lượt là 86%, 98% và 95% với điểm cắt là 0,5 OD. Qua đó cho thấy Mp1p trong huyết thanh là một xét nghiệm có giá trị cao trong chẩn đoán bệnh do nấm *T. marneffei*.

Mp1p là một protein có kích thước nhỏ gồm 411 amino acid, có trọng lượng phân tử ước đoán 43 kDa. Với trọng lượng phân tử nhỏ, Mp1p có thể qua được màng lọc cầu thận và được tìm thấy trong nước tiểu của bệnh nhân nhiễm nấm *T. marneffei*. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Mai Thu và cộng sự năm 2017 cũng cho thấy xét nghiệm Mp1p trong nước tiểu có độ nhạy cao hơn trong huyết thanh (86,2% với 82,9%) tuy sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,06$)¹. Tuy vậy, dữ liệu bệnh nhân đầu này cho thấy xét nghiệm Mp1p hứa hẹn là một xét nghiệm có giá trị để chẩn đoán sớm nhiễm nấm *T. marneffei*. Hơn thế, việc sử dụng nước tiểu làm bệnh phẩm xét nghiệm không chỉ đơn giản mà còn giảm thiểu được nguy cơ lây nhiễm cho nhân viên y tế so với bệnh phẩm huyết thanh. Vì vậy, nghiên cứu được tiến hành nhằm mục đích: (1) Mô tả phân bố Mp1p nước tiểu ở bệnh nhân AIDS có TCD4+ < 100 tế bào/mm³; (2) Xác định ngưỡng cắt và giá trị chẩn đoán của xét nghiệm ELISA Mp1p nước tiểu ở bệnh nhân AIDS có TCD4+ < 100 tế bào/mm³; (3) Đánh giá sự tương hợp giữa Mp1p trong nước tiểu và huyết thanh ở bệnh nhân AIDS có TCD4+ < 100 tế bào/mm³.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu: Bệnh nhân nhiễm HIV ≥ 18 tuổi có TCD4+ < 100 tế bào/mm³, điều trị nội trú tại Khoa Nhiễm E, Bệnh viện Bệnh nhiệt đới trong thời gian nghiên cứu, từ tháng 6/2017 - 7/2019.

Tiêu chuẩn chọn mẫu: Bệnh nhân ≥ 18 tuổi, được chẩn đoán nhiễm HIV, có số lượng TCD4+ < 100 tế bào/mm³ trong vòng 3 tháng, đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ: Bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm nấm *Talaromyces marneffei* hoặc viêm màng não nấm do *Cryptococcus neoformans* và được điều trị thuốc kháng nấm đường toàn thân, phụ nữ mang thai.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả.

Cỡ mẫu: Cho công thức xác định độ nhạy và độ đặc hiệu của chẩn đoán.

Với mục tiêu ước tính độ nhạy:

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

Với mục tiêu ước tính độ đặc hiệu:

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

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_{ss} : 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 0,99. Các thông số này cũng phù hợp với các giá trị tương ứng (lần lượt là 0,75 và 0,994) trong công bố của Wang Y.F và cộng sự (2011) khi chẩn đoán bệnh do nấm *T. marneffei*⁶. w : độ rộng của khoảng tin cậy 95%, chọn $w = 0,10$. p : tỷ lệ nhiễm nấm *Talaromyces marneffei* trong dân số HIV có TCD4+ < 100 tế bào/mm³, dự đoán $p = 0,1$. (Theo P.T.V.Anh và cộng sự (2014) từ 0,063 đến 0,13)⁶.

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: $n_{sp} = 1,96^2 \times 0,95 \times (1 - 0,95) / 0,1^2 / (1 - 0,1) = 20$. Vì $n_{se} > n_{sp}$ nên chọn cỡ mẫu chung là $n = 490$. Ước tính tỷ 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.

Kỹ thuật: TCD4+ thực hiện trên máy Flowcytometry FACS. Xét nghiệm Mp1p ELISA: theo kỹ thuật PAbs-MAb (kháng thể đa dòng - Polyclonal Antibody và kháng thể đơn dòng - Monoclonal Antibody), sau đó mẫu thử được đưa vào máy đọc ELISA (Bio - Tek, Winooski, VT, Hoa Kỳ) ở bước sóng 450 nm⁶.

Biến số: Bệnh do nấm *T. marneffeii* (Tm): Soi tươi thấy nấm hạt men nội và ngoại bào và cấy tìm nấm *T. marneffeii* trong các bệnh phẩm da, tủy xương, hạch hoặc cây máu và phân lập được nấm *T. marneffeii*.

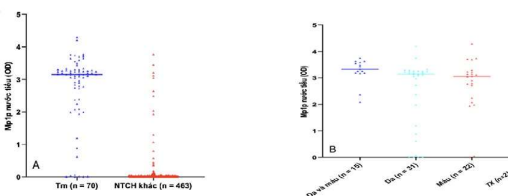
Phương pháp thống kê: Nhập và phân tích số liệu bằng phần mềm SPSS 20.0, $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa. Các biến số định tính được tính bằng tỷ lệ phần trăm. Biến số định lượng được biểu diễn bằng giá trị trung bình \pm SD hay trung vị (IQR). Sự khác biệt về tỷ lệ giữa hai nhóm được so sánh bằng phép kiểm X². Các giá trị liên tục có phân phối chuẩn được so sánh bằng phép kiểm T (2 nhóm) hay phép kiểm ANOVA (≥ 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 (≥ 3 nhóm). Điểm cắt (cut - off) xác định các giá trị độ nhạy, 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 góc tọa độ và điểm (1,1). Đánh giá khả năng chẩn đoán hay độ chính xác của Mp1p dựa vào diện tích dưới đường cong (AUC: Area Under Curve). Chỉ số kappa được sử dụng để đánh giá mức độ tương hợp giữa hai bệnh phẩm huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm nấm *T. marneffeii*.

Y đức: Nghiên cứu được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Bệnh viện Bệnh nhiệt đới thông qua theo Quyết định số 52/HĐĐĐ ngày 30/11/2018.

KẾT QUẢ

Trong thời gian nghiên cứu, chúng ta thu thập được 533 bệnh nhân thỏa mãn tiêu chuẩn tham gia nghiên cứu trong đó có 70 trường hợp nhiễm *T. marneffeii*. 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.

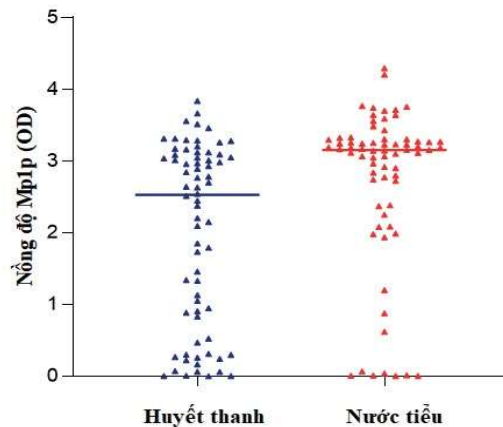
Đặc điểm phân bố nồng độ Mp1p nước tiểu



Biểu đồ 1. Phân bố nồng độ Mp1p nước tiểu

A. Phân bố giữa hai nhóm Tm và NTCH khác; B. Phân bố ở nhóm bệnh nhân Tm theo vị trí phân lập (n = 70)

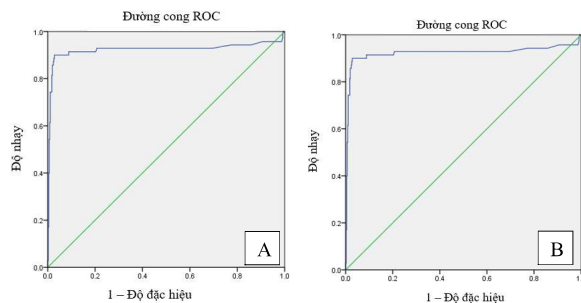
Nồng độ Mp1p nước tiểu ở nhóm nhiễm nấm *T. marneffeii* là 3,15 (2,38 - 3,29) OD cao hơn nhóm NTCH khác là 0,02 (0,01 - 0,03) OD, $p < 0,001$. Giá trị trung vị nồng độ Mp1p nước tiểu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở 3 nhóm ($p = 0,06$), trong đó trung vị ở nhóm “da và máu” là 3,33 (3,19 - 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 nhiễm nấm *T. marneffeii* được chẩn đoán dựa vào việc phân lập nấm *T. marneffeii* ở tủy xương (TX) có nồng độ Mp1p nước tiểu là 2,84 OD và 2,92 OD.



Biểu đồ 2. Phân bố Mp1p huyết thanh và nước tiểu ở nhóm bệnh nhân Tm (n = 70)

Nồng độ Mp1p nước tiểu là 3,15 (2,38 - 3,29) OD cao hơn có ý nghĩa thống kê hơn nồng độ Mp1p huyết thanh là 2,53 (0,76 - 3,01), $p < 0,001$.

Xác định điểm cắt và giá trị chẩn đoán nhiễm nấm *T. marneffeii* của Mp1p nước tiểu



Biểu đồ 3. Diện tích dưới đường cong của Mp1p huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán talaromycosis

(A). Mp1p huyết thanh; (B). Mp1p nước tiểu



Diện tích dưới đường cong AUC của xét nghiệm Mp1p huyết thanh là 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% và SPE = 97%. Diện tích dưới đường cong của xét nghiệm Mp1p nước tiểu 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).

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

Bảng 1. Mức độ tương hợp giữa Mp1p huyết thanh và nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm nấm *T. marneffei* (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%), Mp1p nước tiểu và huyết thanh có sự tương hợp mạnh với chỉ số k (kappa) = 0,870, $p = 0,001$.

Có 17/533 trường hợp không tương hợp giữa xét nghiệm Mp1p huyết thanh và nước tiểu. Trong 9 trường hợp có xét nghiệm Mp1p huyết thanh dương tính, Mp1p nước tiểu âm tính, 4 trường hợp được chẩn đoán talaromycosis (2 trường hợp chẩn đoán trong thời gian nằm viện, 2 trường hợp chẩn đoán sau đó 2 tuần). Trong 8 trường hợp có xét nghiệm Mp1p nước tiểu dương tính, Mp1p huyết thanh âm tính, 7 trường hợp được chẩn đoán.

Bảng 2. Giá trị chẩn đoán *T. marneffei* khi kết hợp Mp1p huyết thanh và nước tiểu (n = 533)

Đặc điểm		<i>T. marneffei</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. marneffei* 92,3% (65/70) nhưng làm giảm tương đối độ đặc hiệu 95,7% (443/463).

BÀN LUẬN

Đặc điểm phân bố nồng độ Mp1p

Biểu đồ 1A cho thấy nồng độ Mp1p nước tiểu ở nhóm Tm là 3,15 (2,38 - 3,29) OD cao hơn nhóm NTCH khác là 0,02 (0,01 - 0,03) OD, $p < 0,001$. Hiện nay trên thế giới cũng như tại Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu về nồng độ Mp1p nước tiểu để so sánh

với kết quả trong nghiên cứu này. Tuy nhiên với các kết quả cho thấy nồng độ Mp1p nước tiểu có nhiều hứa hẹn để chẩn đoán nhiễm nấm *T. marneffei*. Vì vậy cần có thêm nhiều nghiên cứu về phân bố nồng độ Mp1p nước tiểu ở bệnh nhân HIV/AIDS nhiễm nấm *T. marneffei* hay các nhiễm trùng cơ hội khác.

Biểu đồ 1B cho thấy giá trị trung vị nồng độ Mp1p nước tiểu tương đương nhau ở những trường hợp phân lập nấm *T. marneffeii* từ “da”, “máu” và “da và máu”. Qua đó cho phép giả thiết rằng hoặc kháng nguyên Mp1p được phóng thích nhanh chóng và ô ạt sau khi nấm *T. marneffeii* xâm nhập hoặc cần gia tăng số lượng ca bệnh *T. marneffeii* với các biểu hiện lâm sàng khác nhau mới có thể giải thích đầy đủ về sinh bệnh học của bệnh *T. marneffeii*. Ngoài ra, nồng độ kháng nguyên Mp1p không khác biệt giữa các nhóm vị trí phân lập *T. marneffeii* 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 bệnh nhân có kết quả cấy máu âm tính. 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 lần lượt của 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 bệnh viện chuyên khoa huyết học.

Nghiên cứu cũng ghi nhận các trường hợp nhiễm nấm *T. marneffeii* nhưng nồng độ Mp1p nước tiểu thấp. Một số giả thiết được đưa ra như sau: (1) bệnh nhân đã điều trị với thuốc kháng nấm trước đó, hoặc (2) bệnh nhân ở giai đoạn tiến triển bệnh khác nhau mà *T. marneffeii* không lưu hành trong máu, hoặc (3) 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 (4) 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 fluconazol và itraconazol trước khi lấy mẫu sẽ không được nhận diện chính xác. Về giả thiết (2) và (3), hiện nay có rất ít các nghiên cứu khảo sát sinh bệnh học của *T. marneffeii* cũng như tình trạng đáp ứng miễn dịch tạo kháng thể trung hòa của bệnh nhân đối với nấm *T. marneffeii*. Các nghiên cứu sử dụng kháng thể để chẩn đoán nhiễm nấm *T. marneffeii* còn hạn chế và cho thấy nhiễm *T. marneffeii* không tạo kháng thể lâu dài⁷. Về giả thiết 4, 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. marneffeii* 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 máu¹.

Biểu đồ 2 cho thấy ở nhóm bệnh nhân nhiễm nấm *T. marneffeii*, nồng độ Mp1p nước tiểu cao hơn nồng độ Mp1p huyết thanh, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Điều này cho thấy Mp1p tập trung nhiều trong nước tiểu cũng như có giá trị chẩn đoán *T. marneffeii* tốt hơn Mp1p huyết thanh.

Xác định ngưỡng cắt và giá trị chẩn đoán nhiễm nấm *T. marneffeii* của Mp1p nước tiểu

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. marneffeii* 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 còn ít xét nghiệm trên thế giới và tại Việt Nam công bố về ngưỡng cắt cũng như giá trị chẩn đoán của xét nghiệm Mp1p 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. marneffeii*. Trong nghiên cứu chúng tôi tìm được ngưỡng cắt Mp1p trong nước tiểu là 0,6 OD. Tuy nhiên, 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. marneffeii* nằm trong khoảng giá trị này. Điều này có thể là do số ca bệnh do nấm *T. marneffeii* trong nghiên cứu không đủ lớn và đây cũng là nghiên cứu đầu tiên về ngưỡng cắt nồng độ Mp1p nước tiểu trong chẩn đoán nhiễm nấm *T. marneffeii*. Vì vậy, cần thực hiện thêm các nghiên cứu để xác định giá trị ngưỡng cắt thật sự của xét nghiệm này.

Nghiên cứu cho thấy Mp1p nước tiểu có độ nhạy cao hơn Mp1p huyết thanh (90% vs 86%). Theo Nguyễn Thị Mai Thu và cộng sự 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 ($p = 0,06$)¹. 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



đề 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 trong thực hành lâm sàng nhằm chẩn đoán sớm *T. marneffeii*.

Đánh giá sự tương hợp của xét nghiệm Mp1p huyết thanh và nước tiểu

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 1). Kết quả này phù hợp với đặc điểm sinh bệnh học của nấm *T. marneffeii*. Đây là vi nấm xâm lấn nội bào, lan tỏa vào hệ võng nội mô và gây bệnh đồng thời sẽ phóng thích kháng nguyên tiết Mp1p vào máu và nước tiểu^{3,4,5}. Về thực hành lâm sàng, chỉ số tương hợp cao giữa hai bệnh phẩm huyết thanh và nước tiểu cho thấy xét nghiệm Mp1p nước tiểu có thể dùng để thay thế Mp1p huyết thanh trong chẩn đoán nhiễm *T. marneffeii* đặc biệt là ở những tuyến y tế cơ sở và giảm nguy cơ phơi nhiễm cho nhân viên y tế khi tiếp cận bệnh phẩm này.

Nghiên cứu cũng ghi nhận có 17 bệnh nhân không tương hợp trong chẩn đoán bệnh do nấm *T. marneffeii*. 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 hợp 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 thứ 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*.

Mặt khác, kết quả từ Bảng 2 cho thấy khi kết hợp Mp1p huyết thanh và nước tiểu là tăng độ nhạy chẩn đoán nhiễm nấm *T. marneffeii* (92,3% (65/70) so với 88,6% (62/70) (huyết thanh) và 90% (63/70) (nước tiểu)). Nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Mai Thu và cộng sự năm 2017 cũng cho thấy khi kết hợp cả hai 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 $p < 0,021$). Từ đó cho thấy, khi kết hợp cả hai 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 nhưng không phân lập được tác nhân gây bệnh trong các bệnh phẩm nuôi cấy thường quy như máu hoặc sang thương da.

KẾT LUẬN

Mp1p ELISA nước tiểu có giá trị chẩn đoán cao giúp nhận diện sớm nhiễm nấm trên bệnh nhân AIDS. Mp1p huyết thanh và nước tiểu có độ tương hợp cao, có thể xem xét phối hợp nhằm nâng cao khả năng chẩn đoán sớm nhiễm nấm *T. marneffeii* trong thực hành lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Mai Thu, "Đánh giá hiệu quả trên lâm sàng kỹ thuật ELISA phát hiện kháng nguyên Mp1p chẩn đoán nhanh nhiễm nấm *Talaromyces marneffeii*", Trường Đại học Khoa học tự nhiên, 2017.
2. Cao L., Chan K. M., Chen D., Vanittanakom N., Lee C., et al., "Detection of cell wall mannoprotein Mp1p in culture supernatants of *Penicillium marneffeii* and in sera of penicilliosis patients". J Clin Microbiol, 1999, 37 (4), pp. 981-6.
3. Cao L., Chen D. L., Lee C., Chan C. M., Chan K. M., et al., "Detection of specific antibodies to an antigenic mannoprotein for diagnosis of *Penicillium marneffeii* penicilliosis". J Clin Microbiol, 1998, 36 (10), pp. 3028-31.

4. Cooper C. R., Jr., McGinnis M. R., "Pathology of *Penicillium marneffei*. An emerging acquired immunodeficiency syndrome-related pathogen". *Arch Pathol Lab Med*, 1997, 121 (8), pp. 798-804.
5. Nongnuch Vanittanakom Chester R. Cooper, Jr., Matthew C. Fisher and Thira Sirisanthana, "Penicillium marneffei Infection and Recent Advances in the Epidemiology and Molecular Biology Aspects". *Clin Microbiol Rev*. 19(1): 95-110., 2006.
6. Wang Y. F., Cai J. P., Wang Y. D., Dong H., Hao W., et al., "Immunoassays based on *Penicillium marneffei* Mp1p derived from *Pichia pastoris* expression system for diagnosis of penicilliosis". *PLoS One*, 2011, 6 (12), pp. e28796.
7. Wong S. S., Wong K. H., Hui W. T., Lee S. S., Lo J. Y., et al., "Differences in clinical and laboratory diagnostic characteristics of penicilliosis marneffei in human immunodeficiency virus (HIV)- and non-HIV-infected patients". *Journal of clinical microbiology*, 2001, 39 (12), pp. 4535-4540.

DIAGNOSTIC VALUE OF URINE Mp1p FOR TALAROMYCOSIS IN HIV/AIDS PATIENTS

Background: Talaromycosis is one of the most common opportunistic infections and a leading cause of death in HIV/AIDS patients in Vietnam. The main cause of this high mortality rate is relevant to late diagnosis due to the overlapping symptoms with other opportunistic infections as well as the delayed culture results, up to 14 days. Mp1p ELISA has been developed for early diagnosis talaromycosis. In addition to Mp1p serum detection, this antigen is also detected in urine, which can be useful to talaromycosis diagnosis, as well as reduction of the risk of occupational exposure of medical staffs.

Objectives: (1) To describe the distribution of urine Mp1p in HIV/AIDS patients with TCD4 count < 100 cells/mm³; (2) To determine cut-off value of urine Mp1p for Talaromycosis diagnosis in HIV/AIDS patients with TCD4 count < 100 cells/mm³; (3) To evaluate the agreement between urine and serum Mp1p in HIV/AIDS patients with TCD4 count < 100 cells/mm³.

Subjects and method: A descriptive cross-sectional study. HIV-infected patients aged ≥ 18 years with TCD4+ < 100 cells/mm³ who were admitted to Ward E, Hospital for Tropical Diseases, from June 2017 to July 2019.

Results: There were 533 patients meeting the inclusion criteria; 70/533 was talaromycosis. The median of urine Mp1p in talaromycosis group was higher than the median of urine Mp1p in other opportunistic infections (3.15 (2.38 - 3.29) OD vs 0.02 (0.01 - 0.03) OD, $p < 0,001$) and higher than serum Mp1p in talaromycosis group (3.15 (2.38 - 3.29) vs OD 2.53 (0.76 - 3.01), $p < 0.001$). The cut-off value of urine Mp1p was 0.60 OD, with SEN = 88.6% and SPE = 97%, respectively. Urine and serum Mp1p had a strong agreement with the kappa index (k-index) = 0.870, $p = 0.001$.

Conclusions: In addition to serum Mp1p ELISA, urine Mp1p ELISA is considered as a promising test for the early diagnosis of talaromycosis in AIDS patients.

Key words: HIV/AIDS, TCD4+, *Talamomyces marneffei*, urine Mp1p, cut-off value.