

Nghiên cứu phân bố loài và kháng thuốc của nấm da dermatophytes phân lập tại thành phố Huế

Ngô Thị Minh Châu^{1*}, Nguyễn Thị Bạch Diệp^{2,5}, Tôn Nữ Phương Anh¹, Đỗ Thị Bích Thảo¹, Trần Thị Giang¹, Hà Thị Ngọc Thúy¹, Võ Minh Tiếp¹, Nguyễn Phước Vinh¹, Mai Bá Hoàng Anh³, Nguyễn Thị Trà My³, Nguyễn Đắc Hanh⁴, Nguyễn Thanh Huy⁴

¹Khoa Ký sinh trùng, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

²Học viên Cao học Khoa học Y Sinh khóa 2022 - 2024, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

³Phòng Khám Da liễu, Bệnh viện Trường Đại học Y-Dược Huế

⁴Bệnh viện Da liễu Huế

⁵Bộ môn Vi sinh - Ký sinh trùng, Đại học Y khoa Vinh

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Bệnh do nấm da dermatophytes là bệnh phổ biến, và tỷ lệ mắc bệnh cao được báo cáo ở các quốc gia có khí hậu nóng ẩm như Việt Nam. Kháng thuốc của nấm da dermatophytes đã được báo cáo nhiều nơi trên thế giới, đặc biệt vấn đề quan tâm hiện nay là kháng terbinafine của *Trichophyton indotinea*. **Mục tiêu:** Xác định loài vi nấm gây bệnh, đánh giá tình trạng kháng thuốc của các chủng nấm da phân lập tại Thành phố Huế năm 2023-2024. **Đối tượng và phương pháp:** Các chủng nấm da phân lập từ mẫu cấy (da, tóc, móng) của bệnh nhân. Định danh ban đầu dựa vào đặc điểm hình thái học kết hợp thử nghiệm urease. Sau đó, PCR-RFLP với enzyme MvaI được thực hiện để định danh với tất cả chủng phân lập, và giải trình tự gene ITS1-2 một số chủng đại diện để khẳng định kết quả định danh loài. Đánh giá độ nhạy cảm với thuốc kháng nấm của chủng phân lập bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. **Kết quả:** Có 8 loài vi nấm phân lập được với tỷ lệ: *T. rubrum* 56,2%, *T. interdigitale* 13,3%, *T. mentagrophytes* 10%, *T. indotinea* 4,8%, *T. tonsurans* 1,9%, *N. incurvata* 8,6%, *M. canis* 4,8% và *E. floccosum* 0,5%. 100% chủng vi nấm nhạy cảm với itraconazole, voriconazole, clotrimazole và miconazole. Tuy nhiên đề kháng fluconazole được ghi nhận tỷ lệ cao (75,2%). Kháng thuốc cũng được ghi nhận với ketoconazole (12,4%), griseofulvin (43,8%) và terbinafine (0,9%). *T. rubrum* có tỷ lệ đề kháng fluconazole là 61,9%, thấp hơn các loài *T. interdigitale*, *N. incurvata*, và *M. canis* (đều có tỷ lệ là 100%). Tỷ lệ đề kháng cao với griseofulvin được ghi nhận ở các loài *T. mentagrophytes* complex và *N. incurvata* (trên 50%). Đề kháng ketoconazole được ghi nhận cao nhất ở các loài *T. mentagrophytes* và *T. interdigitale*. Kháng terbinafine chỉ ghi nhận ở loài *T. indotinea* (20%). **Kết luận:** *Trichophyton* là giống vi nấm gây bệnh chủ yếu, trong đó *T. rubrum* là loài phổ biến nhất. Các loài nấm da dermatophytes phân lập được có tỷ lệ đề kháng cao với fluconazole và griseofulvin. Kháng thuốc cần lưu ý với các loài *T. mentagrophytes* complex.

Từ khóa: Nấm da dermatophytes, thử nghiệm đánh giá sự nhạy cảm thuốc kháng nấm, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton indotinea*, fluconazole.

Species identification distribution and antifungal resistance of dermatophytes isolates from Hue City

Ngô Thị Minh Châu^{1,*}, Nguyễn Thị Bạch Diệp^{2,5}, Tôn Nữ Phương Anh¹, Đỗ Thị Bích Thảo¹, Trần Thị Giang¹, Hà Thị Ngọc Thúy¹, Võ Minh Tiếp¹, Nguyễn Phước Vinh¹, Mai Bá Hoàng Anh³, Nguyễn Thị Trà My³, Nguyễn Đắc Hanh⁴, Nguyễn Thanh Huy⁴

¹Department of Parasitology, Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital

²Graduate students of Biomedical Sciences, course 2022-2024, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

³Dermatology Clinic, Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital

⁴Hue Dermatology Hospital

⁵Department of Microbiology - Parasitology, Vinh University of Medicine

Abstract

Backgrounds: Dermatophytosis are a common disease, with high prevalence reported in countries with hot and humid climates like Vietnam. Antifungal susceptibility in dermatophytes has been reported in many parts of the world, with the current concern being the terbinafine resistance in *Trichophyton indotinea*.

* Tác giả liên hệ: Ngô Thị Minh Châu, Email: ntmchau@huemed-uinv.edu.vn

Ngày nhận bài: 21/01/2025; Ngày đồng ý đăng: 20/06/2025; Ngày xuất bản: 25/09/2025

DOI: 10.34071/jmp.2025.5.6

Objectives: To identify the species of dermatophytes, and evaluate the antifungal susceptibility of the fungal isolates collected. **Material and method:** Isolates were obtained from cultured samples taken from patients, including skin, hair, and nail specimens. Identification began with morphological characteristics and urease testing, followed by PCR-RFLP using MvaI for species determination. To confirm species identification further, select isolates underwent ITS 1-2 sequencing. Antifungal susceptibility patterns were assessed using the agar diffusion method. **Results:** A total of eight dermatophyte species were isolated: *T. rubrum* (56.2%), *T. interdigitale* (13.3%), *T. mentagrophytes* (10%), *T. indotineae* (4.8%), *T. tonsurans* (1.9%), *N. incurvata* (8.6%), *M. canis* (4.8%), and *E. floccosum* (0.5%). Notably, all fungal isolates exhibited sensitivity to itraconazole, voriconazole, clotrimazole, and miconazole. However, fluconazole showed the highest resistance rate at 75.2%. The resistance rates were also concerning for ketoconazole at 12.4%, griseofulvin at 43.8%, and terbinafine at 0.9%. Specifically, fluconazole resistance in *T. rubrum* was recorded at 61.9%, notably lower than in *T. interdigitale*, *N. incurvata*, and *M. canis*, which all demonstrated 100% resistance. The high resistance rates to griseofulvin were observed in *T. mentagrophytes* complex and *N. incurvata* (reaching 50% or higher). The highest ketoconazole resistance was identified in isolates belonging to *T. mentagrophytes* and *T. interdigitale*, while terbinafine resistance was observed in *T. indotineae*. **Conclusions:** *Trichophyton* was the leading pathogen responsible for dermatophytosis, with *T. rubrum* as the most common species. Dermatophyte fungi isolated in the present study had high resistance rates to fluconazole and griseofulvin, and resistance to antifungal drugs should be considered in the *T. mentagrophytes* complex.

Key words: dermatophytes, antifungal susceptibility testing, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton indotineae*, fluconazole.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm da dermatophytes là những loài vi nấm ưa keratin, gây bệnh ở tổ chức da, lông, tóc, móng với ước tính khoảng 20% - 25% dân số mắc bệnh [1]. Theo hệ thống phân loại được cập nhật gần đây (2017), nhóm vi nấm này được chia thành 7 giống bao gồm *Trichophyton*, *Microsporum*, *Nannizzia*, *Arthroderma*, *Paraphyton*, *Epidermophyton*, *Lophophyton* [2]. Các loài dermatophytes gây bệnh phổ biến được báo cáo ở nhiều khu vực địa lý khác nhau là *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum canis*, *Nannizzia gypsea*,...[3, 4]. Các nghiên cứu chỉ ra rằng sự phân bố của các loài nấm da dermatophytes gây bệnh và tỷ lệ bệnh nấm da trong một khu vực địa lý phụ thuộc vào các yếu tố khí hậu, môi trường, kinh tế xã hội, du lịch hoặc nhập cư. Nghiên cứu về phân bố loài vi nấm không những chỉ có ý nghĩa trong việc cung cấp số liệu về dịch tễ ở mỗi khu vực địa lý mà còn có ý nghĩa hỗ trợ trong việc điều trị và tiên lượng điều trị do một số loài vi nấm được đánh giá có tỷ lệ đề kháng thuốc đáng lưu ý như *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. interdigitale* [5, 6]. Định danh loài nấm da dermatophytes thông thường dựa vào phương pháp hình thái học bằng cách nuôi cấy trên môi trường chuyên biệt kết hợp với các phản ứng sinh vật hóa học khác. Mặc dù phương pháp này được áp dụng phổ biến, đặc biệt là ở các nước phát triển, nhưng nhược điểm là có thể không định danh chính xác một số loài có đặc điểm hình thái gần tương tự nhau trong cùng một giống [7]. Trong khi đó các kỹ thuật sinh học phân tử như

PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphisms), nested PCR, giải trình tự gen có thể giúp định danh chính xác loài [8, 9].

Trong điều trị nấm da hiện nay chủ yếu là dùng các thuốc nhóm azole, terbinafine và griseofulvin với đường dùng tại chỗ, đường toàn thân hoặc kết hợp cả hai đường dùng này. Thông thường, bệnh do các tác nhân thuộc nhóm nấm da thường không cấp tính, đe dọa tính mạng bệnh nhân nhưng thời gian điều trị kéo dài, nên người bệnh có thể không tuân thủ điều trị dẫn đến kháng thuốc, tái phát cao và bệnh trở nên mãn tính [10]. Các nghiên cứu trên thế giới gần đây ghi nhận một tỷ lệ nhất định các chủng nấm da đề kháng với thuốc kháng nấm, đặc biệt là kháng terbinafine của *T. indotineae* [5]. Do đó, thử nghiệm đáng giá sự nhạy cảm với thuốc kháng nấm của vi nấm có ý nghĩa quan trọng trong lựa chọn thuốc điều trị và kiểm soát kháng thuốc [5].

Việt Nam là quốc gia thuộc vùng nhiệt đới có khí hậu nóng ẩm nên bệnh nấm da dermatophytes vẫn là bệnh phổ biến. Tuy nhiên chưa có nhiều công bố về ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong định danh loài vi nấm gây bệnh. Bên cạnh đó, một số nghiên cứu ban đầu về kháng thuốc của nấm dermatophytes ở Việt Nam cho thấy tỷ lệ đề kháng cao với fluconazole, và ghi nhận một tỷ lệ đề kháng nhất định với một số thuốc kháng nấm khác như griseofulvin [11, 12], cũng như báo cáo về kháng terbinafine [13]. Xuất phát từ những vấn đề thực tế trên, để góp phần nghiên cứu về định danh loài nấm da dermatophytes cũng như đánh giá về sự

nhạy cảm với thuốc kháng nấm của các chủng nấm da dermatophytes ở Thừa Thiên Huế, chúng tôi thực hiện đề tài **“Nghiên cứu phân bố loài nấm da dermatophytes và sự nhạy cảm với thuốc kháng nấm phân lập tại Thành phố Huế”** với 2 mục tiêu:

1. Định danh các loài nấm dermatophytes gây bệnh phân lập từ bệnh nhân tại Thành phố Huế bằng hình thái học, kỹ thuật PCR – RFLP và giải trình tự gen.

2. Xác định tỷ lệ kháng thuốc của nấm da dermatophytes với một số thuốc kháng nấm nhóm azole, griseofulvin, và terbinafine.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chủng nghiên cứu phân lập từ mẫu nuôi cấy bệnh phẩm da, tóc, móng của các bệnh nhân đến khám tại Phòng khám Da liễu Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế và Bệnh viện Da liễu Huế có thương tổn nghi ngờ nấm da dermatophytes được chỉ định xét nghiệm nấm trực tiếp có kết quả dương tính và kết quả nuôi cấy thấy nấm sợi sinh bào tử đỉnh nhỏ và bào tử đỉnh lớn của nấm da dermatophytes trong khoảng thời gian từ 1/2023 - 12/2024.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu: theo phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.2.2. Cỡ mẫu và chọn mẫu

Chọn mẫu thuận tiện, trong thời gian nghiên cứu có 210 chủng vi nấm được phân lập và thực hiện các thử nghiệm theo thiết kế nghiên cứu.

2.2.3. Nội dung nghiên cứu và kỹ thuật tiến hành

2.2.3.1. Định danh loài vi nấm

- Thu thập mẫu (da, tóc, móng), xét nghiệm nấm trực tiếp với dung dịch KOH 20%. Mẫu có kết quả xét nghiệm dương tính với hình ảnh nấm sợi có vách ngăn, có thể kèm theo bào tử đốt được nuôi cấy trên môi trường Sabouraud - chloramphenicol - cycloheximide (SCC, HiMedia, Ấn Độ) và ủ 28°C trong 2 - 4 tuần để định danh. Kết quả định danh bằng hình thái học dựa vào đặc điểm hình thái đại thể của khuẩn nấm và vi thể (sợi nấm, bào tử đỉnh nhỏ, bào tử đỉnh lớn). Bên cạnh đó chủng vi nấm cũng được cấy chuyển sang môi trường ure-indol lỏng (HiMedia, Ấn Độ), ủ 28°C trong 7 ngày để phân biệt một số loài có đặc điểm hình thái tương tự nhau nhưng kết quả urease khác nhau như *T. interdigitale* (urease dương tính) và *T. indotineae* (urease âm tính) [13, 14].

- Thực hiện tách DNA các chủng nấm da với bộ kit tách DNA MasterPure™ Yeast DNA

Purification Kit (Lucigen, USA) và phản ứng PCR khuếch đại đoạn gen ITS1-2 với cặp mồi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') để khuếch đại vùng rDNA ITS theo qui trình đã công bố trước [13].

- Kỹ thuật PCR-RFLP sử dụng enzyme cắt giới hạn MvaI (Thermo Fisher). Thể tích phản ứng là 15 µL, gồm các thành phần: dung dịch đệm FastDigest Green 10X (Thermo Fisher) là 1,5 µL, MvaI 0,75 µL, sản phẩm PCR 7,5 µL, nước cất 5,25 µL. Hỗn hợp phản ứng được trộn đều, ủ ở 37°C trong 15 phút. Điện di sản phẩm trên gel agarose TBE 1X 1,5%, 75 phút, điện thế 100 V, có kèm thang DNA 100bp chuẩn (Thermo Fisher). Đọc kết quả dưới máy đọc UV. Hình ảnh điện di được sử dụng để phân tích xác định loài nấm da dựa vào kích thước sản phẩm cắt giới hạn được so sánh với các dải cắt giới hạn của các chủng tham chiếu như đã mô tả trong các công bố trước đây [9, 12, 15].

- Một số chủng đại diện sau đó được giải trình tự để kiểm tra kết quả định danh dựa trên đặc điểm hình thái kết hợp với kết quả của PCR-RFLP. Sản phẩm khuếch đại đã được gửi đến Dịch vụ giải trình tự DNA 1st base ở Malaysia (<https://base-asia.com/services/sanger-sequencing-services/>). Trình tự ITS sau đó được phân tích bằng BLAST (tại <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>).

2.2.4.2. Thử nghiệm đánh giá sự nhạy cảm của vi nấm với một số thuốc kháng nấm

- Thử nghiệm được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch với các thuốc: clotrimazole 10 µg, ketoconazole 10 µg, fluconazole 25 µg, itraconazole 10 µg, voriconazole 1 µg, miconazole 10 µg, griseofulvin 10 µg, terbinafine 30 µg (Liofilchem, Cộng hòa Ý) trên các chủng nấm da phân lập theo quy trình được xây dựng dựa trên việc tham khảo công bố trước đây [12]. Kháng thuốc được diễn giải bao gồm kháng trung gian/trung gian phụ thuộc liều và đề kháng.

2.3. Xử lý số liệu: số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0. Mô tả các biến định tính bằng số lượng và tỷ lệ %.

2.4. Đạo đức nghiên cứu: đề tài được sự chấp thuận y đức trong nghiên cứu khoa học y sinh của Hội đồng Y Đức, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế.

3. KẾT QUẢ

Trong thời gian nghiên cứu có 210 chủng vi nấm được phân lập từ các mẫu nuôi cấy da, tóc, móng của bệnh nhân có kết quả xét nghiệm nấm trực tiếp dương tính.

3.1. Phân bố các loài nấm da dermatophytes gây bệnh phân lập được

Bảng 1. Kết quả định danh loài bằng hình thái kết hợp thử nghiệm ureae

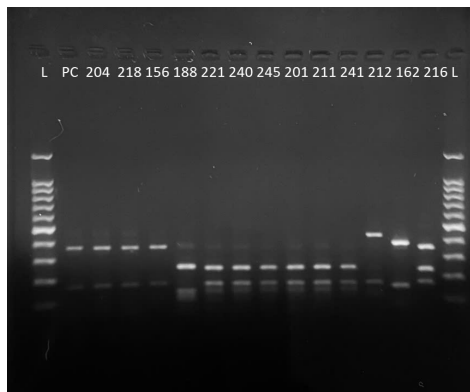
Loài vi nấm	Số lượng	Tỷ lệ %
<i>T. rubrum</i>	116	55,2
<i>T. interdigitale</i>	29	13,8
<i>T. mentagrophytes</i>	20	9,5
<i>T.indotineae</i>	10	4,8
<i>T. tonsurans</i>	6	2,8
<i>M. gypseum</i>	18	8,6
<i>M. canis</i>	10	4,8
<i>E. floccosum</i>	1	0,5
Tổng	210	100

Có 8 loài vi nấm được phân lập, trong đó *T. rubrum* có tỷ lệ cao nhất (52,6%) và *E. floccosum* thấp nhất (0,5%).

Bảng 2. Đối chiếu kết quả định danh hình thái kết hợp thử nghiệm urease và PCR-RFLP

Định danh loài bằng hình thái kết hợp urease test (số lượng)	Kích thước sản phẩm PCR – RFLP sau khi cắt bằng MvaI	Định danh loài bằng PCR – RFLP (số lượng)
<i>T. rubrum</i> (116)	368, 164	<i>T. rubrum</i> (116)
<i>T. tonsurans</i> (6)	251, 124	<i>T. tonsurans</i> (4)
	368, 164	<i>T. rubrum</i> (2)
<i>T. mentagrophytes</i> (20)		
<i>T. interdigitale</i> (29)	247, 159	<i>T. mentagrophytes complex</i> (59)
<i>T. indotineae</i> (10)		
<i>M. canis</i> (10)	441, 165	<i>M. canis</i> (10)
<i>M. gypseum</i> (18)	389, 147	<i>N. incurvata</i> (18)
<i>E. floccosum</i> (1)	361, 231, 169	<i>E. floccosum</i> (1)

Kết quả định danh bằng PCR-RFLP cho thấy 100% *T. rubrum*, *M. canis*, *E. floccosums* định danh bằng hình thái cho kết quả định danh trùng khớp với PCR-RFLP, với *T. tonsurans* tỷ lệ này là 66.7% (4/6 chủng), 2 chủng *T. tonsurans* (chủng 218 và 256) có kết quả PCR-RFLP là *T. rubrum*. Tất cả chủng *T. mentagrophytes*, *T. interdigitale*, *T. indotineae* được định danh là nhóm *T. mentagrophytes complex* do sản phẩm PCR-RFLP với các băng tương tự nhau. Trong khi đó *M. gypseum* cho sản phẩm định danh loài *N. incurvata*.



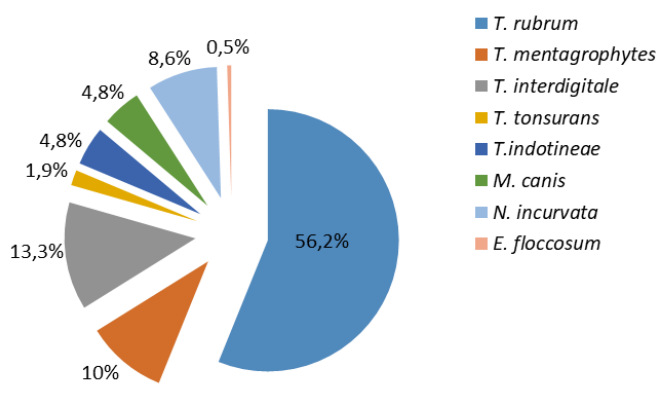
Hình 1. Kích thước các sản phẩm PCR - RFLP cắt bằng enzyme MvaI của một số chủng nấm da dermatophytes

(Giếng 1: thang chuẩn DNA 100 bp, giếng 2 (PC): chủng chuẩn *T. rubrum* ATCC 28188, giếng 3 - 5: *T. rubrum* chủng 204, 218, 156, giếng 6: *T. tonsurans* chủng 188, giếng 7: *T. interdigitale* chủng 221, giếng 8: *T. mentagrophytes* chủng 240, giếng 9: *T. interdigitale* chủng 245, giếng 10 - 12: *T. indotineae* chủng 201, 211, 241, giếng 13: *M. canis* chủng 212, giếng 14: *N. incurvata* chủng 162, giếng 15: *Epidermophyton floccosum* chủng 216, giếng 16: thang chuẩn DNA 100 bp)

Bảng 3. Kết quả giải trình tự một số chủng đại diện và mã số công bố GenBank

Mã chủng vi nấm	Kỹ thuật định danh			Mã số GenBank
	Kết hợp hình thái và urease test	PCR – RFLP	Giải trình tự gen vùng ITS1-2	
227	<i>T. rubrum</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>T. rubrum</i>	PQ312615
218	<i>T. tonsurans</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>T. rubrum</i>	PQ312614
156	<i>T. tonsurans</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>T. rubrum</i>	PQ821339
240	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>T. mentagrophytes complex</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	PQ312611
221	<i>T. interdigitale</i>	<i>T. mentagrophytes complex</i>	<i>T. interdigitale</i>	PQ312616
245	<i>T. interdigitale</i>	<i>T. mentagrophytes complex</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	PQ312610
201	<i>T. indotineae</i>	<i>T. mentagrophytes complex</i>	<i>T. indotineae</i>	PQ312609
211	<i>T. indotineae</i>	<i>T. mentagrophytes complex</i>	<i>T. indotineae</i>	PQ312608
241	<i>T. indotineae</i>	<i>T. mentagrophytes complex</i>	<i>T. indotineae</i>	PQ312607
206	<i>M. canis</i>	<i>M. canis</i>	<i>M. canis</i>	PQ312612
216	<i>E. floccosum</i>	<i>E. floccosum</i>	<i>E. floccosum</i>	PQ312613
162	<i>M. gypseum</i>	<i>M. incurvata</i>	<i>N. incurvata</i>	PQ821340
188	<i>T. tonsurans</i>	<i>T. tonsurans</i>	<i>T. tonsurans</i>	PQ821341

Kết quả giải trình tự đại diện của các chủng *T. rubrum*, *M. canis*, *E. floccosum* từ kết quả định danh bằng 2 kỹ thuật định danh nói trên cho thấy kết quả trùng khớp trong định danh 3 loài này, trong khi đó kết quả định danh *T. tonsurans*, *N. incurvata* bằng PCR-RFLP cho kết quả trùng khớp với giải trình tự.



Biểu đồ 1. Kết quả định danh kết hợp kết quả định danh hình thái, thử nghiệm urease, PCR - RFLP và giải trình tự gen.

Có 8 loài vi nấm phân lập được với tỷ lệ: *T. rubrum* 56,2%, *T. interdigitale* 13,3%, *T. mentagrophytes* 10%, *T. indotineae* 4,8%, *T. tonsurans* 1,9%, *N. incurvata* 8,6%, *M. canis* 4,8% và *E. floccosum* 0,5%.

3.2. Tỷ lệ đề kháng thuốc của các chủng nấm da dermatophytes

Bảng 4. Tỷ lệ kháng thuốc chung của nấm da dermatophytes (n=210)

Thuốc	Kháng thuốc	
	Số lượng	%
Fluconazole	158	75,2
Ketoconazole	26	12,4
Griseofulvin	92	43,8
Terbinafine	2	0,9

100% chủng vi nấm nhạy cảm với itraconazole, voriconazole, clotrimazole và miconazole. Đề kháng fluconazole chiếm tỷ lệ cao nhất (75,2%), tiếp theo là griseofulvin (43,8%). Tỷ lệ đề kháng ketoconazole và terbinafine lần lượt là 12,4% và 0,9%.

Bảng 5. Kết quả kháng thuốc theo loài vi nấm

Loài (Số chủng)	Kháng thuốc			
	Fluconazole n (%)	Griseofulvin n (%)	Ketoconazole n (%)	Terbinafine n (%)
<i>T. rubrum</i> (118)	73 (61,9%)	25 (21,9%)	2 (1,7%)	0
<i>T. interdigitale</i> (28)	28 (100%)	18 (64,3%)	14 (50%)	0
<i>T. mentagrophytes</i> (21)	15 (71,4%)	21 (100%)	10 (47,6%)	0
<i>T.indotineae</i> (10)	10 (100%)	10 (100%)	0	2 (20%)
<i>T. tonsurans</i> (4)	3 (75%)	2 (50%)	0	0
<i>N. incurvata</i> (18)	18 (100%)	13 (72,2%)	0	0
<i>M. canis</i> (10)	10 (100%)	3 (30%)	0	0
<i>E. floccosum</i> (1)	1 (100%)	0	0	0
Tổng chung	158 (75,2%)	92 (43,8%)	26 (12,4%)	2 (0,9%)

T. rubrum có tỷ lệ đề kháng fluconazole là 61,9%, thấp hơn tỷ lệ đề kháng của các loài còn lại. Các loài *T. mentagrophytes* complex và *N. incurvata* có tỷ lệ kháng griseofulvin cao hơn các loài còn lại. Đề kháng ketoconazole được ghi nhận tỷ lệ cao ở các loài *T. mentagrophytes* và *T. interdigitale*. Kháng terbinafine chỉ ghi nhận ở loài *T. indotineae* (20%).

4. BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về định danh loài nấm da dermatophytes gây bệnh phân lập ở bệnh nhân tại thành phố Huế bằng phối hợp các kỹ thuật định danh trên cho thấy *T. rubrum* là loài gây bệnh phổ biến nhất (56,2%). Kết quả này tương tự ghi nhận của một số nghiên cứu khác tại Việt Nam như ở bệnh viện Da liễu Nghệ An của Đỗ Ngọc Ánh và cộng sự [16], bệnh viện Da liễu Thành phố Hồ Chí Minh của Châu Văn Trữ và cộng sự [17], Viện Sốt rét- Ký sinh trùng - Côn trùng thành phố Hồ Chí Minh của Lê Thành Đồng và cộng sự [18], cũng như báo cáo tổng quan về loài gây bệnh phổ biến tổng hợp từ nhiều nghiên cứu khác nhau trên thế giới [1]. Kết quả của chúng tôi cũng ghi nhận sự phổ biến của giống *Trichophyton* gây bệnh so với *Microsporum*, *Nannizzia* và *Epidermophyton*, trong đó *Epidermophyton* rất hiếm gặp (0,5%). Nghiên cứu của Lê Thành Đồng và cộng sự cũng cho thấy *Epidermophyton* là loài hiếm gặp khi phân lập ở Viện

Sốt rét- Ký sinh trùng- Côn trùng thành phố Hồ Chí Minh [18]; nghiên cứu của Đỗ Ngọc Ánh và cộng sự tại Bệnh viện Da liễu Nghệ An không phân lập được chủng nào của giống này trong giai đoạn 2015 - 2016 [16]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có ý nghĩa khi cung cấp số liệu dịch tễ về phân bố các loài vi nấm gây bệnh phổ biến ở Việt Nam, đặc biệt là sự tin cậy của kỹ thuật định danh bằng sinh học phân tử.

Đánh giá về các kỹ thuật định danh dermatophytes được áp dụng trong nghiên cứu này cho thấy kỹ thuật định danh bằng hình thái học cho kết quả chính xác tin cậy trong định danh đa số loài vi nấm. Đối chiếu kết quả định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử và kỹ thuật hình thái cho thấy trong 210 chủng phân lập chỉ ghi nhận 2 chủng *T. tonsurans* định danh hình thái có kết quả là *T. rubrum*, 1 chủng *T. interdigitale* định danh bằng hình thái có kết quả là *T. mentagrophytes*. Riêng đối với *N. incurvata* định danh bằng sinh học phân tử thì kết quả hình thái là *M. gypseum*, điều này được giải thích do *M. gypseum* trước đây hiện nay được

chia vào 2 giống là *Nannizzia* và *Microsporum* dựa vào định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử [2]. Đặc biệt trong nghiên cứu của chúng tôi sự kết hợp hình thái học và thử nghiệm urease giúp định danh chính xác *T. indotineae* trong phức hợp *T. mentagrophytes* complex. Nghiên cứu của Tang và cộng sự cũng cho thấy giá trị của thử nghiệm này trong định danh *T. indotineae* (kết quả âm tính) khác với *T. interdigitale* (kết quả dương tính) [14]. Tuy nhiên đây chỉ mới là ghi nhận trên số lượng ít chủng phân lập nên có thể chưa có tính khái quát, cần tiếp tục nghiên cứu thêm. Định danh *T. indotineae* chính xác hiện nay đòi hỏi phải giải trình tự gen [19], kết quả giải trình tự gen 3 chủng đại diện của chúng tôi cho kết quả tương đồng hoàn toàn trong định danh loài này so với đặc điểm hình thái kết hợp thử nghiệm urease. Trong khi đó kỹ thuật PCR-RFLP với Mval cho các bands cắt khác nhau giúp định danh chính xác *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *Epidermophyton floccosum*, *M. canis*, *N. incurvata*, tuy nhiên kỹ thuật này không phân biệt được các loài trong phức hợp *T. mentagrophytes* complex do bands tương tự nhau.

Về kháng thuốc của các chủng nấm da dermatophytes, nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận vi nấm kháng với fluconazole, griseofulvin, ketoconazole và terbinafine. Trong đó kháng fluconazole, một thuốc uống được dùng điều trị nấm da trong hướng dẫn điều trị của Bộ Y tế (2020), gặp với tỷ lệ rất cao, đặc biệt là các loài nhóm *T. mentagrophytes* complex, *M. canis*, *N. incurvata*. Kết quả này cũng được ghi nhận ở nghiên cứu của Chau Van Tro và cộng sự (2018) với tỉ lệ kháng fluconazole là 92,9% [17]. Kháng fluconazole là phổ biến ở các loài nấm da dermatophytes khác nhau được ghi nhận trong nghiên cứu của Carrillo-Munoz và cộng sự với tỷ lệ đề kháng theo loài vi nấm như sau: *T. rubrum* (43%), *T. mentagrophytes* (68%), *T. interdigitale* (46%), *M. canis* (75%), *N. gypseum* (100%), *T. tonsurans* (60%) [20]. Bên cạnh đó kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Chau Van Tro về tỉ lệ kháng griseofulvin và ketoconazole [17]. Kháng griseofulvin cũng được báo cáo trong nghiên cứu của Shalaby và cộng sự [21].

Vậy kết quả nghiên cứu của chúng tôi có ý nghĩa trong việc đưa ra bằng chứng cho việc cần xem xét hướng dẫn dùng thuốc uống gồm itraconazole hoặc terbinafine trong điều trị nấm da dermatophytes, và không nên dùng fluconazole vì khả năng thất bại điều trị cao. Điều này có ý nghĩa trong thực hành lâm sàng da liễu, giúp điều trị hiệu quả bệnh nấm da dermatophytes. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ kháng terbinafine của loài *T. indotineae* là 20%. Sự đề kháng terbinafine của loài này cũng đã được báo

cáo trong nghiên cứu của chúng tôi giai đoạn 2020 - 2021 [13]. Trên thế giới vấn đề kháng thuốc của nấm da đặc biệt được quan tâm với *T. rubrum* và *T. mentagrophytes* complex, và đề kháng terbinafine là vấn đề quan trọng vì đây là thuốc dùng điều trị nấm da dermatophytes dùng đường uống và đường tại chỗ. Gần đây tỷ lệ kháng terbinafine cao của *T. indotineae* liên quan đến đột biến gen squalene epoxidase (SQLE) được báo cáo nhiều ở Ấn Độ, và sau đó là báo cáo ở nhiều quốc gia khác nhau trên thế giới (Châu Âu, Châu Á) [22]. Kháng terbinafine gặp không những với *T. indotineae* mà còn gặp với các loài khác như *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. interdigitale* theo nghiên cứu của Kurup ở Ấn Độ [23]. Mặt khác, tính nhạy cảm tốt của nhóm *T. mentagrophytes* complex với itraconazole, voriconazole đã được báo cáo rộng rãi ở các khu vực khác nhau trên thế giới [22, 23], cũng được ghi nhận trong nghiên cứu chúng tôi, vì vậy chúng tôi đề xuất itraconazole nên là lựa chọn điều trị trong trường hợp nhiễm *T. indotineae*. Đồng thời kết quả này cũng góp phần cho thấy tính cần thiết của việc thực hiện các kỹ thuật nuôi cấy, định danh loài vi nấm gây bệnh để hỗ trợ tốt cho điều trị, đặc biệt là trong những trường hợp điều trị không thành công. Đây là một vấn đề cần được chú trọng hơn nữa trong thực hành vi nấm lâm sàng ở Việt Nam.

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu định danh loài, thử nghiệm kháng thuốc của các chủng nấm da dermatophytes phân lập tại thành phố Huế trong khoảng thời gian 2023-2024, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

5.1. Các loài nấm dermatophytes gây bệnh

Có 8 loài vi nấm phân lập được với tỷ lệ: *T. rubrum* 56,2%, *T. interdigitale* 13,3%, *T. mentagrophytes* 10%, *T. indotineae* 4,8%, *T. tonsurans* 1,9%, *N. incurvata* 8,6%, *M. canis* 4,8% và *E. floccosum* 0,5%

5.2. Tỷ lệ đề kháng thuốc của nấm da dermatophytes

100% chủng vi nấm nhạy cảm với itraconazole, voriconazole, clotrimazole và miconazole. Đề kháng fluconazole chiếm tỷ lệ cao nhất (75,2%), và tỷ lệ đề kháng ketoconazole, griseofulvin và terbinafine lần lượt là 12,4%, 43,8% và 0,9%. *T. rubrum* có tỷ lệ đề kháng fluconazole là 61,9%, thấp hơn các loài còn lại. Đề kháng cao với thuốc này được ghi nhận ở *T. interdigitale* (100%), *N. incurvata* (100%) và *M. canis* (100%). Các loài *T. mentagrophytes* complex và *N. incurvata* có tỷ lệ kháng griseofulvin từ 50% trở lên, cao hơn các loài còn lại. Đề kháng ketoconazole được ghi nhận cao nhất ở các loài *T. mentagrophytes* và *T. interdigitale*. Kháng terbinafine chỉ ghi nhận ở loài *T. indotineae* (20%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Petrucelli MF, Abreu MH, Cantelli BAM, Segura GG, Nishimura FG, Bitencourt TA, Marins M. Epidemiology and Diagnostic Perspectives of Dermatophytoses. 2020;6(4).
2. de Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, Kupsch C, Stielow JB, Freeke J, Göker M, Rezaei-Matehkolaei A, Mirhendi H, Gräser Y. Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. *Mycopathologia*. 2017;182(1-2):5-31.
3. Panasiti V, Devirgiliis V, Borroni R, Mancini M, Curzio M, Rossi M, Bottoni U, Calvieri S. Epidemiology of dermatophytic infections in Rome, Italy: a retrospective study from 2002 to 2004. *Medical mycology*. 2007;45(1):pp. 57-60.
4. Wang X, Ding C, Xu Y, Yu H, Zhang S, Yang C. Analysis on the pathogenic fungi in patients with superficial mycosis in the Northeastern China during 10 years. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2020;20(6):pp. 281-9.
5. Dogra S, Shaw D, Rudramurthy SM. Antifungal drug susceptibility testing of dermatophytes: Laboratory findings to clinical implications. *Dermatol Online J* 2019;10(3):225-33.
6. Manzano-Gayosso P, Mendez-Tovar LJ, Hernandez-Hernandez F, Lopez-Martinez R. Antifungal resistance: an emerging problem in Mexico. *Gaceta medica de Mexico*. 2008;144(1):pp. 23-6.
7. Tartor YH, El Damaty HM, Mahmmoud YS. Diagnostic performance of molecular and conventional methods for identification of dermatophyte species from clinically infected Arabian horses in Egypt. *Veterinary dermatology*. 2016;27(5):pp. 401-10.
8. Gräser Y, Scott J, Summerbell R. The new species concept in dermatophytes—a polyphasic approach. *Mycopathologia*. 2008;166:pp. 239-56.
9. Didehdar M, Shokohi T, Khansarinejad B, Sefidgar SAA, Abastabar M, Haghani I, Amirrajab N, Mondanizadeh M. Characterization of clinically important dermatophytes in North of Iran using PCR-RFLP on ITS region. *Journal de mycologie medicale*. 2016;26(4):pp. 345-50.
10. Khurana A, Sardana K, Chowdhary A. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. *Fungal Genetics and Biology*. 2019;132:pp.103-12.
11. Van TC, Ngoc KHT, Van TN, Hau KT, Gandolfi M, Satolli F, Feliciani C, Tirant M, Vojvodic A, Lotti T. Antifungal susceptibility of dermatophytes isolated from cutaneous fungal infections: The Vietnamese experience. *Open access Macedonian journal of medical sciences*. 2019;7(2):pp. 247-9.
12. Ngo TMC, Ton Nu PA, Le CC, Vo MT, Ha TNT, Do TBT, Nguyen PV, Tran Thi G, Santana A. *Nannizzia incurvata* in Hue city - Viet Nam: Molecular identification and antifungal susceptibility testing. *J Med Mycol*. 2022;32(3):101291.
13. Ngo TMC, Santana A, Ton Nu PA, Cao LC, Tran Thi G, Do TBT, Ha TNT, Vo Minh T, Nguyen PV, Ton That DD, Nguyen Thi Tra M, Bui Van D. Detection of terbinafine-resistant *Trichophyton indotineae* isolates within the *Trichophyton mentagrophytes* species complex isolated from patients in Hue City, Vietnam: A comprehensive analysis. *Medical mycology*. 2024;62(8).
14. Tang C, Kong X, Ahmed SA, Thakur R, Chowdhary A, Nenoff P, Uhrlass S, Verma SB, Meis JF, Kandemir H. Taxonomy of the *Trichophyton mentagrophytes*/T. interdigitale species complex harboring the highly virulent, multiresistant genotype T. indotineae. *Mycopathologia*. 2021;186:pp. 315-26.
15. Rezaei-Matehkolaei A, Makimura K, Shidfar M, Zaini F, Eshraghian M, Jalalizand N, Nouripour-Sisakht S, Hosseini L, Mirhendi H. Use of single-enzyme PCR-restriction digestion barcode targeting the internal transcribed spacers (ITS rDNA) to identify dermatophyte species. *Iranian journal of public health*. 2012;41(3):pp. 82-94.
16. Do NA, Nguyen TD, Nguyen KL, Le TA. Distribution of Species of Dermatophyte Among Patients at a Dermatology Centre of Nghean Province, Vietnam, 2015-2016. *Mycopathologia*. 2017;182(11-12):1061-7.
17. Chau Van T, Ho Thi Ngoc K, Nguyen Van T, Tran Khang H, Marco G, Satolli F, Feliciani C, Tirant M, Vojvodic A, Lotti T. Antifungal Susceptibility of Dermatophytes Isolated From Cutaneous Fungal Infections: The Vietnamese Experience. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(2):247-9.
18. Đồng LT, Thắng ND, Dương Công Thịnh, Linh ĐTP, Xuyên TT, Hoàng Anh LĐV, . Tỷ lệ nhiễm, thành phần loài nấm da và một số yếu tố liên quan ở người bệnh đến khám tại Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Thành phố Hồ Chí Minh, năm 2017 Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng. 2020;116(2):71-6.
19. Uhrlass S, Verma SB, Gräser Y, Rezaei-Matehkolaei A, Hatami M, Schaller M, Nenoff P. *Trichophyton indotineae*-An Emerging Pathogen Causing Recalcitrant Dermatophytoses in India and Worldwide-A Multidimensional Perspective. *J Fungi*. 2022;8(7):757.
20. Carrillo-Muñoz AJ, Cárdenes CD, Carrillo-Orive B, Rodríguez V, Del Valle O, Casals JB, Ezkurra PA, Quindós G. In vitro antifungal activity of voriconazole against dermatophytes and superficial isolates of *Scopulariopsis brevicaulis*. *Revista iberoamericana de micologia*. 2005;22(2):110-3.
21. Shalaby MFM, El-Din AN, El-Hamd MA. Isolation, Identification, and In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of Dermatophytes from Clinical Samples at Sohag University Hospital in Egypt. *Electronic physician*. 2016;8(6):2557-67.
22. Chowdhary A, Singh A, Kaur A, Khurana A. The emergence and worldwide spread of the species *Trichophyton indotineae* causing difficult-to-treat dermatophytosis: A new challenge in the management of dermatophytosis. *PLoS Pathog*. 2022;18(9):e1010795.
23. Kurup AS, Parambath FC, Khader A, Raji T, Jose BP. Identification and in vitro antifungal susceptibility of dermatophyte species isolated from lesions of cutaneous dermatophytosis: A cross-sectional study. *Journal of Skin and Sexually Transmitted Diseases*.4:63-7.