

ĐỊNH DANH LOÀI MỘT SỐ CHỦNG NẤM MEN PHÂN LẬP TỪ BỆNH NHÂN BẰNG KỸ THUẬT KHỐI PHỔ MALDI - TOF (MALDI TOF MASS SPECTROMETRY) VÀ GIẢI TRÌNH TỰ GEN

Ngô Thị Minh Châu¹, Tôn Nữ Phương Anh¹, Đỗ Thị Bích Thảo¹
Silvana Sana², Antonella Santona², Piero Cappuccinelli²

(1) Trường Đại học Y Dược Huế

(2) Đại học Sassari, Cộng hòa Ý

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Nấm men là tác nhân gây bệnh quan trọng ở người, đặc biệt bệnh do *Candida spp.* là bệnh phổ biến. Nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành trên 121 chủng nấm men phân lập được từ 103 bệnh nhân thuộc Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế từ 1/2013 - 6/2014. **Mục tiêu:** Định danh loài một số chủng nấm men phân lập được từ các bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm nấm nông hoặc nấm sâu. **Phương pháp nghiên cứu:** Chúng tôi áp dụng kỹ thuật khối phổ MALDI - TOF (Maldi ToF Mass: Matrix-assisted laser desorption/ionization Mass Spectrometry), kết hợp với kỹ thuật PCR và giải trình tự gen để định danh loài vi nấm. **Kết quả:** Có 121 chủng nấm phân lập được, trong đó *C.albicans* 43,80%, *C.tropicalis* 17,36%, *C.parapsilosis* 11,75%, *C.glabrata* 7,44%, *C.orthopsilosis* 4,96%, *C.metapsilosis* 0,83%, *C.krusei* 3,31%, *C.norvegensis* 0,83%, *C.guilliermondii* 0,83%, *C.digboiensis* 2,48%, *C.famata* 1,65%, *C.blankii* 0,83%, *C.mesorugosa* 0,83%, *Geotrichum capitatum* 1,65%, *Trichosporon asahii* 1,65%. **Kết luận:** Trong nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ *C.albicans*, *C.non albicans* và các nấm men khác lần lượt là 43,80%, 47,9% và 3,3% (gồm *Geotrichum capitatum* và *Trichosporon asahii*). Trong đó một số loài *Candida non albicans* hiếm gặp như: *C. orthopsilosis*, *C.metapsilosis*, *C.norvegensis*, *C.digboiensis*, *C.blankii*, *C.mesorugosa*.

Từ khóa: nấm men, *Candida sp.*, kỹ thuật khối phổ MALDI - TOF.

Abstract

IDENTIFICATION OF YEASTS SPECIES COLLECTED FROM PATIENTS USING MALDI -TOF MASS SPECTROMETRY TECHNIQUE AND SEQUENCING

Ngô Thị Minh Châu¹, Tôn Nữ Phương Anh¹, Đỗ Thị Bích Thảo¹
Silvana Sana², Antonella Santona², Piero Cappuccinelli²

(1) Hue University of Medicine and Pharmacy

(2) University of Sassari, Italia

Background: Yeasts are important opportunistic pathogen in human, in which *Candida spp.* are the most common causative agents. This study was carried out on 121 yeast strains collected from 103 patients in Hue University Hospital and Hue Central Hospital from January 2013 to June 2014. **Objective:** To identify yeasts species from systemic mycoses and superficial mycoses. **Methods:** We applied MALDI - TOF Mass Spectrometry techniques, PCR and DNA sequencing to detect yeasts species. **Results:** There were 121 yeast strains collected, in which *C.albicans* 43.80%, *C.tropicalis* 17.36%, *C.parapsilosis* 11.75%, *C.glabrata* 7.44%, *C.orthopsilosis* 4.96%, *C.metapsilosis* 0.83%, *C.krusei* 3.31%, *C.norvegensis* 0.83%, *C.guilliermondii* 0.83%, *C.digboiensis* 2.48%, *C.famata* 1.65%, *C.blankii* 0.83%, *C.mesorugosa* 0.83%, *Geotrichum capitatum* 1.65%, *Trichosporon asahii* 1.65%. **Conclusions:** In our study, the prevalences of *C.abicans*, *C.non albicans* and other yeasts species were 43.80%, 47.90% and 3.30% respectively. We reported some rare species of *Candida non albicans*, including *C. orthopsilosis*, *C.metapsilosis*, *C.norvegensis*, *C.digboiensis*, *C.blankii*, and *C.mesorugosa*.

Keywords: Yeast, *Candida spp.*, MALDI - TOF Mass Spectrometry.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm men gây bệnh phổ biến cho người gồm các giống *Candida*, *Cryptococcus*. Ngoài ra một số giống nấm men khác cũng có thể có vai trò gây bệnh ở người bao gồm *Rhodotorula*, *Malassezia*, *Trichosporon*... [15]. Trong các giống nấm men này thì giống *Candida* là giống gây bệnh phổ biến nhất [4,8,15]. Về mặt bệnh sinh, ở người khỏe mạnh một số loài *Candida spp.* có thể sống hoại sinh ở một số vị trí của cơ thể và trở thành tác nhân gây bệnh trong một số điều kiện thuận lợi nhất định [15]. Bệnh lý ở người do nấm *Candida spp.* rất đa dạng, bệnh có thể là các thể bệnh nấm nông như viêm âm đạo - âm hộ, viêm da, viêm quanh móng - viêm móng, viêm giác mạc, viêm ống tai... cho đến các thể bệnh nấm sâu xâm lấn như viêm phổi, viêm nội mạc cơ tim, nhiễm trùng huyết...[15]. *Candida spp.* là tác nhân gây nhiễm trùng huyết phổ biến, xếp thứ 4 trong 10 tác nhân vi sinh vật gây nhiễm trùng huyết phổ biến nhất ở bệnh nhân điều trị tại các đơn vị chăm sóc tích cực [4,8,12], và nhiễm *Candida spp.* xâm lấn ở các bệnh nhân với các bệnh lý nặng đã làm tăng tỷ lệ tử vong cũng như tăng chi phí điều trị [4,9]. Sự đa dạng trong bệnh nguyên của bệnh thuộc giống nấm *Candida* và sự khác nhau trong đáp ứng điều trị với thuốc kháng nấm đã làm cho việc điều trị bệnh, đặc biệt là trong những trường hợp bệnh nấm lan tỏa, nấm sâu trở thành khó điều trị thành công và khó tiên lượng, tỷ lệ tử vong cao [7,9,10,12]. Vì vậy nghiên cứu về bệnh nguyên thuộc giống *Candida* và mức độ nhạy với thuốc kháng nấm của các loài vi nấm thuộc giống này đang là vấn đề được sự quan tâm của nhiều nhà nghiên cứu ở nhiều quốc gia khác nhau.

Kỹ thuật phân lập định danh nấm men có thể là những kỹ thuật đơn giản như nuôi cấy trên môi trường Sabouraud và cấy chuyển trên các môi trường thích hợp như môi trường thạch bột ngô có Tween 80, môi trường Chromogenic agar, hoặc làm các thử nghiệm khác nhau như lên men đường, đồng hóa đường [15]. Tuy nhiên, hạn chế của các kỹ thuật truyền thống là mất nhiều thời gian, và trong một số trường hợp rất khó để phân biệt một số loài [13,16]. Sự chậm trễ trong chẩn đoán các tác nhân vi sinh vật có thể gây cản trở trong công tác điều trị và làm tăng chi phí điều trị [8]. Vì vậy hiện nay kỹ thuật mới được nhiều nghiên cứu trên thế giới đề cập đến là kỹ thuật khối phổ MALDI - TOF, ưu điểm của kỹ thuật này là độ phân giải, độ nhạy, độ chính xác và tự động ngày càng cao làm cho kỹ thuật khối phổ có tính ứng dụng cao trong nghiên cứu các tác nhân vi sinh vật gây bệnh ở người trong đó có nấm men. Kỹ thuật khối phổ MALDI - TOF có thể giúp định danh bệnh nguyên từ khuẩn lạc trong vài phút [13]. Vì vậy

chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với việc áp dụng kỹ thuật khối phổ MALDI - TOF, phối hợp với kỹ thuật PCR và giải trình tự gen nhằm mục tiêu: *định danh loài nấm men phân lập được từ bệnh nhân bị bệnh nấm nông và nấm sâu.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: 121 chủng nấm men được phân lập từ 103 bệnh nhân từ Bệnh viện Trung ương Huế và Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế trong thời gian từ 1/2013 - 6/2014.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Quy trình phân lập được tiến hành như sau: bệnh phẩm được nuôi cấy trên môi trường Sabouraud dextrose agar chloramphenicol (Biorad, France), 72 giờ sau được cấy chuyển sang môi trường Chromogenic agar (Biorad, France). Các thử nghiệm lần lượt được làm để định danh ban đầu bao gồm thử nghiệm sinh ống mầm và thử nghiệm sinh bào tử bao dày trên môi trường Corn Meal Agar. Các loài vi nấm phân lập được sau đó được cất giữ ở -20°C trong dung dịch glycerol 15%.

Kỹ thuật khối phổ MALDI - TOF được thực hiện tại Khoa Sinh học phân tử, đại học Sassari, Cộng hòa Ý với hệ thống máy khối phổ Bruker-Daltonics, Bremen, Germany. Các bước tiến hành như sau:

- Bệnh phẩm được nuôi cấy trên môi trường Sabouraud dextrose agar chloramphenicol (SC) và được phân tích bằng khối phổ trong vòng 48 -72g sau khi nuôi cấy.

- Lấy que cấy để một lượng nhỏ khúm nấm lên đĩa đọc khối phổ (MALDI AnchorChip slide).

- Vi nấm được xử lý bằng các hóa chất sau: Cố định với cồn Ethanol nguyên chất rồi phơi khô, cố định tiếp bằng acid Formicco 70%, phơi khô, phủ bằng a-cyano-4-hydroxy cinnamic acid (CHCA) matrix.

- Đĩa khối phổ được đưa vào máy đọc khối phổ và phân tích đối chiếu kết quả với ngân hàng dữ liệu để cho ra chẩn đoán giống và loài vi nấm phù hợp với hệ số phù hợp cao: các kết quả được lựa chọn có hệ số phù hợp ở mức A và B tức là có trị số giá trị là $\geq 1,8$.

Các chủng vi nấm có kết quả độ tin cậy thấp khi định danh bằng kỹ thuật khối phổ sẽ được áp dụng kỹ thuật PCR với cặp mồi ITS1 và ITS2 để khuếch đại vùng ITS (internal transcribed spacer) trong cấu trúc ADN của vi nấm. Sản phẩm ADN đã khuếch đại của vi nấm sau khi làm tinh sạch được gửi đi giải trình tự gene để xác định loài.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Có 103 bệnh nhân được chọn vào trong nghiên cứu trong thời gian từ 1/2013 - 6/2014. Trong đó có 81 bệnh nhân đến từ Bệnh viện Trường Đại học Y

Dược Huế gồm các Khoa: Khoa hồi sức tích cực (ICU Intensive Care Unit) 16 người (15,53%), Khoa Mắt 2 người (1,94%), Khoa Nội 19 người (18,45%), khoa Ngoại chấn thương 2 người (1,94%), Khoa Tai Mũi Họng 3 người (2,91%), Khoa Nhi 5 người (%), Khoa Ung bướu 13 người (12,62%), Phòng Khám Da liễu 11 người (10,68%) và phòng khám Phụ Khoa 10 người

(9,71%). Ngoài ra có 22 bệnh nhân đến từ Bệnh viện Trung ương Huế: Khoa Huyết học lâm sàng 14 người (13,59%), Khoa Nhi thận – Tiết niệu 8 người (7,77%).

Tuổi trung bình của đối tượng là 45 tuổi, tuổi nhỏ nhất là 21 ngày tuổi, tuổi lớn nhất là 89 tuổi. Trong kết quả có 41 bệnh nhân nam (39,81%) và 62 bệnh nhân nữ (60,19%).

3.2. Nguồn gốc phân lập của các chủng vi nấm

Bảng 1. Nguồn gốc của các chủng vi nấm phân lập

Nguồn gốc phân lập	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Máu	1	0,97
Nước tiểu	16	15,53
Niêm mạc miệng	26	25,24
Dịch chọc rửa phế quản	7	6,80
Dịch dạ dày	1	0,97
Đàm	19	18,45
Phân	6	5,83
Chất tiết mũi	1	0,97
Tổ chức xoang	2	1,94
Dịch âm đạo	10	9,71
Bột móng	9	8,74
Mủ vết thương	2	1,94
Tổ chức loét giác mạc	2	1,94
Dịch màng bụng	1	0,97
Tổng cộng	103	100

Vị trí phân lập có tỷ lệ cao là niêm mạc miệng (25,24%), đàm (18,45%), nước tiểu (15,53%), tuy vậy chúng tôi cũng ghi nhận sự đa dạng trong phân bố về nguồn gốc của các chủng vi nấm phân lập được.

3.2. Số lượng chủng vi nấm phân lập

Từ 103 bệnh nhân nói trên chúng tôi phân lập được 121 chủng nấm men, trong đó có 87 bệnh nhân chỉ nhiễm duy nhất 1 chủng vi nấm từ 1 vị trí phân lập, 14 bệnh nhân nhiễm 2 chủng vi nấm khác nhau từ 1 vị trí phân lập và 2 bệnh nhân nhiễm 3 chủng nấm khác nhau từ 1 vị trí phân lập.

3.3. Kết quả định danh bằng kỹ thuật khối phổ MALDI – TOF

Bảng 2. Kết quả định danh bằng kỹ thuật khối phổ MALDI - TOF

Loài vi nấm		Số lượng	Tỷ lệ (%)
<i>C.albicans</i>		53	43,80
<i>C.non albicans</i>	<i>C.tropicalis</i>	21	17,36
	<i>C.parapsilosis</i>	11	9,09
	<i>C.glabrata</i>	9	7,44
	<i>C.orthopsilosis</i>	5	4,13
	<i>C.metapsilosis</i>	1	0,83
	<i>C.krusei</i>	4	3,31
	<i>C. norvegensis</i>	1	0,83
	<i>C.guilliermondii</i>	1	0,83
Loài nấm men khác	<i>Geotrichum capitatum</i>	2	1,65
	<i>Trichosporon asahii</i>	1	0,83
Không định danh được		12	9,92
Tổng		121	100

Trong giống *Candida* thì loài *C.albicans* vẫn là loài phổ biến (43,80%). Các loài *C. non albicans* phân lập được trong nghiên cứu là *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.orthopsilosis*, *C.metapsilosis*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.norvegensis*, *C.guilliermondii*. Ngoài ra chúng tôi ghi nhận các loại nấm men khác là *Geotrichum capitatum* (1,65%), *Trichosporon asahii* (0,83%) và có 9,92 % không định danh được với kỹ thuật khối phổ MALDI -TOF.

3.4. Kết quả giải trình trình tự gen của 12 chủng vi nấm không định danh được bằng kỹ thuật khối phổ MALDI - TOF.

- 3 chủng là *Candida parapsilosis*
- 3 chủng là *Candida digboiensis*
- 2 chủng là *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*)
- 1 chủng là *C. blankii*
- 1 chủng là *C.orthopsilosis*
- 1 chủng là *Candida mesorugosa*
- 1 chủng là *Trichosporon asahii*

3.5. Kết quả định danh loài dựa trên kết quả tổng hợp từ kỹ thuật khối phổ và giải trình tự gen.

Bảng 3. Kết quả định danh loài bằng kỹ thuật khối phổ và giải trình tự gen

Loài vi nấm		Số lượng	Tỷ lệ (%)
<i>C.albicans</i>		53	43,80
<i>C.non albicans</i>	<i>C.tropicalis</i>	21	17,36
	<i>C.parapsilosis</i>	14	11,75
	<i>C.glabrata</i>	9	7,44
	<i>C.orthopsilosis</i>	6	4,96
	<i>C.metapsilosis</i>	1	0,83
	<i>C.krusei</i>	4	3,31
	<i>C. norvegensis</i>	1	0,83
	<i>C.guilliermondii</i>	1	0,83
	<i>C. digboiensis</i>	3	2,48
	<i>C.famata</i>	2	1,65
	<i>C.blankii</i>	1	0,83
	<i>C.mesorugosa</i>	1	0,83
Loài nấm men khác	<i>Geotrichum capitatum</i>	2	1,65
	<i>Trichosporon asahii</i>	2	1,65
Tổng		121	100

4. BÀN LUẬN

Sự đa dạng của vi nấm phân lập được cho thấy sự phổ biến của bệnh lý do nấm men trên những bệnh nhân có yếu tố nguy cơ, bình thường nấm *Candida* có thể sống hoại sinh trên một số vị trí của cơ thể và trở thành tác nhân gây bệnh khi có yếu tố thuận lợi [8,15]. Các đối tượng trong nghiên cứu của chúng tôi đến từ nhiều khoa phòng khác nhau nhưng chiếm tỷ lệ cao là các bệnh nhân bệnh nặng tại các đơn vị như ICU, Khoa Nội, Khoa Ung bướu, Huyết học Lâm sàng, bệnh nhân điều trị với liệu pháp corticoides tại khoa Nhi Tiết niệu. Theo một bài báo tổng quan của Gary W. yếu tố vật chủ có vai trò quan trọng trong bệnh do vi nấm, các bệnh nhân bị bệnh nặng điều trị tại ICU, bệnh bỏng, phẫu thuật, chấn thương là các nhóm nguy cơ của bệnh nấm do giảm sức đề kháng, luôn dùng kháng sinh liều cao phổ rộng, rối loạn khuẩn chí tạo môi trường thuận

lợi cho nấm phát triển [3]. Vì vậy bệnh nấm sâu, đặc biệt bệnh do nấm *Candida spp.* đang được đánh giá là nhóm bệnh mới nổi trong các bệnh nhiễm trùng ở các đối tượng suy giảm miễn dịch bẩm sinh hoặc mắc phải. Nghiên cứu của chúng tôi cũng ghi nhận được một tỷ lệ nhất định nhiễm 2-3 loài vi nấm từ một vị trí phân lập.

Theo kết quả nghiên cứu của các tác giả ở nhiều quốc gia khác nhau về mặt bệnh nguyên thuộc giống *Candida*, có 5 loài gây bệnh phổ biến là *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis* và *C.krusei* [4,8,15]. Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Khắc Lực và cộng sự ở Học viện Quân y ghi nhận các loài *Candida spp.* phổ biến là *C.albicans* 65%, *C.glabrata* 6,67%, *C.tropicalis* 6,67%, *C.parapsilosis* 5%, *C.krusei* 3,33% [2]. Theo tác giả Giri S. về bệnh nguyên nấm *Candida* gây nhiễm trùng huyết thì hơn 90% thuộc các loài nói trên [4]. Nghiên

cứu của Li F. và cộng sự tại Trung Quốc từ 2006 -2011 ghi nhận trong tổng số 91 chủng vi nấm phân lập từ máu và dịch tiết của cơ thể tỷ lệ nhiễm nấm *Candida spp.* lần lượt là: *C. albicans* với tỷ lệ 41,29% ở bệnh phẩm máu và 59,06% trong các dịch tiết của cơ thể, tỷ lệ này là 18,06% và 25,72% với *C.tropicalis*, *C. parapsilosis* là 17,42% và 5,43%, *C.glabrata* là 11,61% và 3,99%, một số loài *Candida spp.* khác là 11,61% và 5,80% [10]. Yashavanth R. và cộng sự nghiên cứu về nhiễm nấm *Candida spp.* đường tiết niệu ghi nhận *C. albicans* 30,3%, *C.glabrata* 9,09%, *C.tropicalis* 45,45% và *C.krusei* 15,15% [9]. Ngoài ra một số loài vi nấm thuộc giống này cũng được ghi nhận là bệnh nguyên như *C.kefur*, *C.guilliermondii*, *C.lustitaniae*, *C.stellatoidea*, *C.dublinsiensis* [4]. Kết quả định danh loài thuộc giống *Candida* trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy *C.albicans* chiếm tỷ lệ 43,80% cao hơn so những loài khác, điều này phù hợp với ý vẫn là *C.albicans* là loài gặp phổ biến nhất [3,15]. Tuy nhiên chúng tôi cũng ghi nhận tỷ lệ nhiễm nhóm *C.non albicans* là 43,82%, tương đương tỷ lệ *C.albicans* (43,80%), điều này phù hợp với ghi nhận của những nghiên cứu gần đây là có sự trội lên của nhóm *Candida non albicans*. Nghiên cứu của Hall G. và cộng sự tại Mỹ 2003 về nhiễm trùng huyết do *Candida spp.* ghi nhận 57% thuộc nhóm *C.non albicans* [6]. Trong nhóm *C.non albicans*, chúng tôi ghi nhận các loài có tỷ lệ cao là *C.tropicalis* 17,36%, tiếp đến là *C.parapsilosis* 9,09%, *C.glabrata* 7,44%. Đánh giá về sự phổ biến của *C.tropicalis*, nhiều khảo sát cho kết quả đây là loài được ghi nhận với tần xuất xếp thứ 2 - 3 trong nhóm *C.non albicans* [11]. *C. glabrata* thường được ghi nhận có tần xuất phổ biến thứ hai sau *C.albicans* trong giống *Candida sp* nói chung [14], tuy vậy kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận sự trội hơn về tỷ lệ của *C.tropicalis* và *C.parapsilosis*, có thể đây là một điểm khác biệt về phân bố loài của giống *Candida* ở người Việt Nam.

Ngoài *C.parapsilosis*, định danh dựa vào kỹ thuật khối phổ có thể phân biệt các thành viên khác có cấu trúc genom tương tự loài này là *C.orthosilosis* và *C.metapsilosis*, đây chính là điểm mạnh của kỹ thuật khối phổ so với các kỹ thuật định danh cổ điển khác như dựa vào hình thái học hoặc dựa vào các phản ứng lên men đường hoặc đồng hóa đường [15]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng ghi nhận có các loài nấm *Candida non albicans* như *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.norvegensis* đây là những loài vi nấm có xu hướng đề kháng thuốc đã được các nghiên cứu trong nước và trên thế giới đề cập đến [1,5,7].

Trong kết quả của chúng tôi có 9,92% nấm men không định danh được với kỹ thuật khối phổ MALDI - TOF. Điều này cũng tương tự với ghi nhận của một số tác giả khác trên thế giới, vấn đề này được giải thích là do thiếu cơ sở dữ liệu và đã được đề cập tới trong một số nghiên cứu của các tác giả khác nhau [13,16]. Với các chủng không xác định này, kết quả giải trình tự xác định các loài nấm men là *C.parapsilosis*, *C.orthosilosis*, *C. digboiensis*, *C.blankii*, *C.famata*, *C.mesorugosa*, *Trichosporon asahii*. Trong đó một số loài nấm rất hiếm gặp ở người và có thể là lần đầu tiên được công bố phân lập từ người Việt Nam như *C.digboiensis*, *C.blankii*, *C. mesorugosa*.

5. KẾT LUẬN

Đề tài của chúng tôi áp dụng kỹ thuật khối phổ MALDI - TOF và giải trình tự gen để xác định loài của 121 chủng nấm men phân lập từ 103 bệnh nhân thuộc Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế, kết quả như sau: *C.albicans* 4,80%, *C.tropicalis* 17,36%, *C.parapsilosis* 11,75%, *C.glabrata* 7,44%, *C.orthosilosis* 4,96%, *C.metapsilosis* 0,83%, *C.krusei* 3,31%, *C.norvegensis* 0,83%, *C.guilliermondii* 0,83%, *C.digboiensis* 2,48%, *C.famata* 1,65%, *C.blankii* 0,83%, *C.mesorugosa* 0,83%, *Geotrichum capitatum* 1,65%, *Trichosporon asahii* 1,65%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phan Tuấn Anh, Cù Thị Kim Loan (2010), Xác định tỷ lệ và đặc điểm dịch tễ học viêm âm đạo tái phát do nấm, *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, 14(1), trang 194 -199.
2. Nguyễn Khắc Lực, Đỗ Ngọc Anh (2013), Xác định loài một số nấm men phân lập từ người bằng kỹ thuật PCR-RFLP, *Tạp chí Phòng chống Bệnh Sốt rét và các bệnh Ký sinh trùng*, chuyên đề hội nghị Khoa học – Đào tạo chuyên ngành Kỹ sinh toàn quốc lần thứ 41, trang 93-100.
3. Gary W. Procop, Glenn D. Roberts (2004), Emerging fungal diseases: the importance of the host, *Clin Lab Med*, 24, 691 - 719.
4. Giri S, Kindo AJ, A review of *Candida* species

causing blood stream infection., *Indian J Med Microbiol.*, 30(3):270-8.

5. Güzel AB, Aydın M, Meral M, Kalkancı A, Ilkit M (2013), Clinical Characteristics of Turkish Women with *Candida krusei* Vaginitis and Antifungal Susceptibility of the *C. krusei* Isolates, *Infect Dis Obstet Gynecol.*, doi: 10.1155/2013/698736.

6. Hall G, Hall L, Joyce M, Lodge B, Procop G, et al. Multicenter evaluation of *Candida albicans* PNA FISH probe in blood cultures that contained yeast. *Presented at the ASM General Meeting*; May 18, 2003.

7. Jacinta Santhanam, Nazmiah Yahaya, Muhammad

Nazri Aziz, Species distribution and antifungal susceptibility patterns of *Candida* species : is low susceptibility to itraconazole a trend in Malaysia ?, *Med J Malaysia*, 68 (4), p.343 -347.

8. Julie Delaloye, Thierry calandra (2014) , Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient, *Virulence*, 5 (1), 154–162

9. Juyal D, Sharma M, Pal S, Rathaur VK, Sharma N (2013), Emergence of non-albicans *Candida* species in neonatal candidemia, *N Am J Med Sci*, 5(9), p.541-545.

10. Li F, Wu L, Cao B, Zhang Y, Li X, Liu Y (2013), Surveillance of the prevalence, antibiotic susceptibility, and genotypic characterization of invasive candidiasis in a teaching hospital in China between 2006 to 2011, *BMC Infect Dis.*, 3(1), p.353 - 356.

11. Melyssa Negri, , Sónia Silva, Diogo Breda, Mariana Henriques, Joana Azeredo, Rosário Oliveira (2012), *Candida tropicalis* biofilms: Effect on urinary epithelial cells, *Microbial Pathogenesis*, 53, 95-99

12. Playford EG, Marriott D, Nguyen Q, Chen S, Ellis D, Slavin M, Sorrell TC (2008), Candidemia in nonneutropenic

critically ill patients: risk factors for non-albicans *Candida* spp. *Crit Care Med* , 36, p.2034-2039

13. Giovanna Pulcrano , Dora Vita Iula, Antonio Vollaro, Alessandra Tucci, Monica Cerullo, Matilde Esposito, Fabio Rossano, Maria Rosaria Catania (2013), Rapid and reliable MALDI-TOF mass spectrometry identification of *Candida* non-albicans isolates from bloodstream infections, *Journal of Microbiological Methods*, 94, p. 262–266

14. Rupinder Kaur, Renee Domergue, Margaret L Zupancic and Brendan P Cormack (2005), A yeast by any other name: *Candida glabrata* and its interaction with the host, *Current Opinion in Microbiology*, 8, p.378–384

15. William E.Dismukes et al (2003), Clinical mycology, *Oxford University press*

16. Görkem Yaman, Işın Akyar, Simge Can (2012), Evaluation of the MALDI TOF-MS method for identification of *Candida* strains isolated from blood cultures, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 73, p. 65–67

17. Yashavanth R. et al (2013), Candiduria: prevalence and trends in antifungal susceptibility in a tertiary care hospital of mangalore, *J Clin Diagn Res.*, 7(11), p.2459-2461.