

Đánh giá kỹ thuật sinh ống mầm trong định danh nấm *Candida albicans* bằng các môi trường khác nhau

Ngô Thị Minh Châu^{1*}, Nguyễn Như Quỳnh², Nguyễn Thị Phương Thảo²

(1) Bộ môn Ký sinh trùng, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Sinh viên ngành Kỹ thuật Xét nghiệm Y học khóa 2018-2022, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Tổng quan: *C. albicans* là loài vi nấm gây bệnh phổ biến và thử nghiệm sinh ống mầm là một trong những kỹ thuật được áp dụng rộng rãi trong định danh loài vi nấm này. **Mục tiêu:** 1. Khảo sát thử nghiệm sinh ống mầm trong định danh nấm *Candida albicans* trên một số môi trường theo thời gian thử nghiệm khác nhau. 2. Đánh giá khả năng định danh *Candida albicans* bằng thử nghiệm sinh ống mầm của các môi trường kể trên. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu phòng thí nghiệm thực hiện trên 36 chủng *C. albicans* và 10 chủng nấm *C. tropicalis* được lưu trữ tại bộ môn Ký sinh trùng. Thử nghiệm sinh ống mầm được thực hiện trên các môi trường huyết thanh, 1% pepton, BHI lỏng, lòng trắng trứng, lòng đỏ trứng và huyết thanh nhau thai bò, kết quả của thử nghiệm được đánh giá sau 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ. **Kết quả:** *C. albicans* có tỷ lệ sinh ống mầm cao nhất sau 3 giờ nuôi cấy trên các môi trường. Tỷ lệ ống mầm dương tính của *C. albicans* trên các môi trường huyết thanh, 1% pepton, BHI lỏng, lòng trắng trứng, lòng đỏ trứng và huyết thanh nhau thai bò lần lượt là 91,67%, 58,33%, 25%, 33,33%, 91,67%, và 100%. Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính của thử nghiệm sinh ống mầm trên môi trường huyết thanh và lòng đỏ trứng lần lượt là 91,67%, 100%, 100%, 76,92%. **Kết luận:** Khả năng định danh *C. albicans* bằng thử nghiệm sinh ống mầm trên môi trường huyết thanh nhau thai bò, huyết thanh, lòng đỏ trứng có khả năng định danh lần lượt 100%, 91,67% và 91,67%. Có thể dùng lòng đỏ trứng để thay thế huyết thanh trong thử nghiệm sinh ống mầm để định danh *C. albicans* ở các phòng xét nghiệm cũng như các phòng thí nghiệm nghiên cứu, giảng dạy vì nấm vi đơn giản, chi phí thấp.

Từ Khóa: *Candida albicans*, thử nghiệm sinh ống mầm, huyết thanh nhau thai bò, lòng đỏ trứng.

Abstract

Evaluation of germ tube in *Candida albicans* identification by different media

Ngo Thi Minh Chau^{1*}, Nguyen Nhu Quynh², Nguyen Thi Phuong Thao²

(1) Department of Parasitology, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Student of Bachelor of Medical Laboratory, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: *Candida albicans* is a common pathogenic, and the germ tube test is one of the identification techniques for this fungal species. **Objectives:** 1. To experiment with the germ tube test of *C. albicans* in various media according to the different testing time. 2. To evaluate capacity of the germ tube test in *C. albicans* identification in various media. **Methods:** This study was carried out with 36 *C. albicans* isolates and 10 *C. tropicalis* isolates stored at the Department of Parasitology. Germ tube test was performed using various media, including human sera, 1% peptone medium, BHI broth, egg white, egg yolk, and fetal bovine serum. These experiments were checked after two hours, three hours, and four hours of incubation. **Results:** The highest rate of germ tube formation of *C. albicans* was recognized after 3 hours of incubation. The germ tube rates on human serum, 1% peptone medium, egg white, egg yolk, and fetal bovine serum were 91.67%; 58.33%; 25%; 33.33%; 91.67%; and 100%, respectively. The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of the germ tube test on serum and egg yolk medium were 91.67%, 100%, 100%, and 76.92%. **Conclusions.** The capacity to identify *C. albicans* of the germ tube test performed on fetal bovine serum, human serum and yolk egg could identify 100%, 91.67%, and 91.67%, respectively. It suggested that egg yolk could be used in diagnostic labs as well as mycology researches and training labs to perform germ tube test production to replace human serum since it is a simple and low cost procedure.

Keywords: *Candida albicans*, germ tube, fetal bovine serum, yolk egg.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Candida là nấm men gây bệnh phổ biến với các thể bệnh da dạng có thể là bệnh nấm niêm mạc (viêm âm đạo, viêm niêm mạc miệng lưỡi), bệnh ở da và móng, đến các thể bệnh xâm lấn như viêm phổi, nhiễm trùng đường tiểu hoặc nhiễm trùng huyết do nấm. Vi nấm này được đánh giá là tác nhân gây nhiễm trùng huyết phổ biến trong nhóm 5 tác nhân vi sinh vật phổ biến nhất [1]. Ước tính tỷ lệ tử vong do nấm *Candida* xâm lấn là 40-55% [2]. Bên cạnh đó việc điều trị các nhiễm trùng do tác nhân vi nấm thường gặp nhiều khó khăn do thời gian kéo dài, chi phí lớn. Do đó, vấn đề định danh loài nhanh chóng là một vấn đề quan trọng trong việc xác định chính xác tác nhân gây bệnh, định hướng điều trị để có thể điều trị thành công, giảm thiểu chi phí và tác hại cho người bệnh. Trong các loài thuộc giống nấm này, *Candida albicans* (*C. albicans*) là loài gây bệnh phổ biến nhất với tỷ lệ phân lập từ 50-80% tùy theo nghiên cứu [2], [3]. Tuy nhiên, hiện nay ghi nhận sự tăng lên của các loài *C. non albicans* gây bệnh [4], [5]. Bên cạnh đó vấn đề kháng thuốc của *C. non albicans* cũng được đánh giá quan trọng ở Việt Nam [6]. Từ những vấn đề này cho thấy việc định danh loài nhanh chóng, các kỹ thuật đơn giản có thể áp dụng rộng rãi có ý nghĩa quan trọng, đặc biệt là ở các quốc gia đang phát triển.

Để định danh loài từ môi trường nuôi cấy có thể thực hiện một số kỹ thuật như test sinh ống mầm, thử nghiệm đồng hóa đường, cấy chuyển trên các môi trường sinh màu, kỹ thuật sinh học phân tử [7]. Trong đó thử nghiệm sinh ống mầm được đánh giá là thử nghiệm được áp dụng rộng rãi ở nhiều quốc gia khác nhau do thời gian thử nghiệm nhanh chóng, giá thành rẻ, dễ thực hiện, và có thể giúp phân biệt *C. albicans* và *C. dubliniensis* với các loài *Candida* spp. khác [8]. Thử nghiệm này thường thực hiện với huyết thanh, tuy nhiên một số môi trường khác cũng được đề cập đến như môi trường tim óc hăm, huyết thanh ngựa, pepton 1%, lòng trắng trứng, môi trường trypticase soy cũng được nghiên cứu do huyết thanh là môi trường có nguy cơ nhiễm các tác nhân lây truyền qua đường máu như HIV, HBV,... [7], [9].

Về thời gian thực hiện thử nghiệm, các mốc thời gian được đề cập từ 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ [10], [11]. Trong đó mốc thời gian 2 giờ thường được đánh giá là có ý nghĩa trong định danh [9], [10], [12]. Bên cạnh đó mốc 3 giờ cũng được đề cập đến và thông thường khuyến cáo không để quá 3 giờ vì sau 3 giờ một số loài *C. non albicans* khác cũng có khả năng sinh ống mầm [11]. Xuất phát từ thực tế là chưa nghiên cứu nào ở Việt Nam đánh giá khả năng sinh

ống mầm trên các môi trường khác nhau của các chủng *C. albicans* phân lập từ Việt Nam. Vì vậy thử nghiệm sinh ống mầm thực hiện trên các chủng *C. albicans* phân lập được từ Việt Nam và khảo sát giá trị định danh theo các mốc thời gian khác nhau, trên các môi trường khác nhau để có thể đề xuất quy trình xét nghiệm phù hợp có ý nghĩa thực tế. Từ các vấn đề đặt ra trên, chúng tôi đề xuất đề tài: “Đánh giá kỹ thuật sinh ống mầm trong định danh *Candida albicans* bằng các môi trường khác nhau” nhằm các mục tiêu sau:

1. Khảo sát thử nghiệm sinh ống mầm trong định danh nấm *Candida albicans* trên một số môi trường (huyết thanh, lòng đỏ trứng gà, lòng trắng trứng gà, huyết thanh nhau thai bò, tim óc hăm lỏng, pepton 1%) theo thời gian thử nghiệm khác nhau.

2. Đánh giá khả năng định danh *Candida albicans* bằng thử nghiệm sinh ống mầm của các môi trường kể trên.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang và nghiên cứu phòng thí nghiệm.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu: từ tháng 5 năm 2021 đến tháng 5 năm 2022 tại phòng thí nghiệm Bộ môn Ký sinh trùng.

2.3. Đối tượng nghiên cứu: 36 chủng nấm *C. albicans* và 10 chủng nấm *C. tropicalis* đã được phân lập, định danh bằng kỹ thuật khối phổ MALDI-TOF MAS từ bệnh nhân trước đó và được lưu giữ tại Bộ môn Ký sinh trùng.

Bên cạnh đó thử nghiệm được kiểm soát chất lượng bằng *C. albicans* ATCC 90028, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Nuôi cấy chủng vi nấm từ mẫu lưu trữ

- Mẫu vi nấm được lưu trữ trong môi trường có chứa 10% glycerol và 5% pepton ở -80°C, được cấy chuyển sang môi trường Sabouraud Dextrose agar, sau đó cấy chuyển sang môi trường *Candida* Chromogenic agar để đảm bảo là chủng vi nấm *Candida albicans*, *C. tropicalis* là thuần chủng.

- Cấy chuyển từ môi trường Chromogenic agar sang môi trường Sabouraud dextrose agar, ủ 37°C x 24 - 48 giờ để chuẩn bị cho thử nghiệm.

2.4.2. Chuẩn bị các môi trường thử nghiệm

+ Huyết thanh: thu thập từ các mẫu máu của những người đến khám sức khỏe tại phòng xét nghiệm Trung tâm, bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế, có kết quả HIV (-), ly tâm để tách huyết thanh và huyết thanh được bất hoạt bổ thể bằng cách ủ ở 56°C x 4 phút trước khi dùng.

+ Lòng trắng trứng gà, lòng đỏ trứng gà: được lấy từ trứng gà tươi được lau sạch bề mặt bằng cồn 70 độ nhiều lần, sau đó dùng dụng cụ vô khuẩn tách riêng lòng đỏ và lòng trắng cho vào ống falcon 15ml để lưu giữ 4 - 6 °C.

+ Môi trường thạch tim óc hàm lỏng (BHI: brain heart infusion, Merck): được chế, hấp tiệt khuẩn theo công thức của nhà sản xuất và cất giữ trong chai Duran, 4 - 6 °C.

+ Fetal bovine serum (FBS, Sigma- Aldrich): được bất hoạt bổ thể như huyết thanh trước khi dùng.

+ Môi trường 1% pepton (HiMedia, Ấn Độ).

2.4.3. Thực hiện thử nghiệm sinh ống mầm

- Chuẩn bị huyền dịch vi nấm với độ đục Mc.Faland 0,5: hòa 1 khúm nấm men vào 5 ml nước cất. So sánh độ đục với ống Mc. Farland 0,5 chuẩn.

- Trộn và ủ chủng vi nấm và môi trường thử

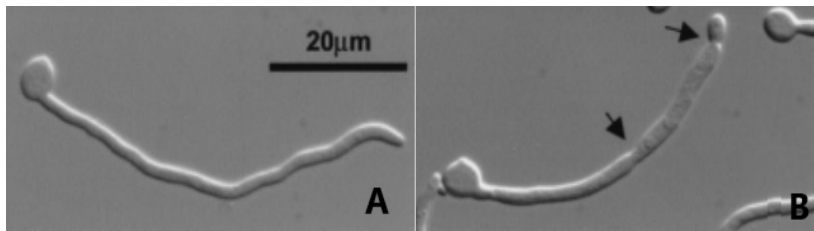
nghiệm với tỉ lệ 1:1.

- Các môi trường được thử nghiệm gồm: môi trường pepton 1%, môi trường BHI, lòng trắng trứng, lòng đỏ trứng, huyết thanh, FBS.

- Ủ hỗn hợp ở 37°C và đọc kết quả sau 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ.

- Đọc kết quả xác định tỉ lệ % ống mầm theo các mốc thời gian trên.

- Tiêu chuẩn dương tính: có ống mầm trên lam khảo sát và phải khảo sát tối thiểu 10 vi trường/lam theo nhóm tác giả Sachin Chandrakant Deorukhkar, và âm tính: khảo sát 10 vi trường và không tìm thấy ống mầm [12]. Lưu ý cần phân biệt giữa ống mầm và sợi giả. Ống mầm là phần nảy chồi và kéo dài của bào tử nấm nhưng không có vách ngăn giữa hai phần này, trong khi đó nếu có vách ngăn thì đây là hình thái của sợi giả (Hình 1) [13].



Hình 1. (A). Ống mầm, (B). Sợi giả

- Giá trị định danh của 6 loại môi trường lỏng nói trên trong định danh loài vi nấm được so sánh bằng cách tính: độ nhạy (số chủng dương tính thật/số chủng dương tính thật + số chủng âm tính giả); độ đặc hiệu (số chủng âm tính thật/số chủng âm tính thật + số chủng dương tính giả); giá trị dự báo dương tính (số chủng dương tính thật/số chủng dương tính thật + dương tính giả); giá trị dự báo âm tính (số chủng âm tính thật/số chủng âm tính thật + số chủng âm tính giả).

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý và phân tích số liệu theo thống kê y học, số liệu nhập và phân tích trên phần mềm SPSS 20.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của các chủng vi nấm *Candida albicans*

Trong quá trình nghiên cứu, có 36 chủng nấm *Candida albicans*, 10 chủng *C. tropicalis* đã được định danh và lưu trữ tại Bộ môn Ký sinh trùng, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế được tiến hành nuôi cấy và làm thử nghiệm sinh ống mầm trên các môi trường khác nhau.

Bảng 1. Nguồn gốc của chủng nghiên cứu

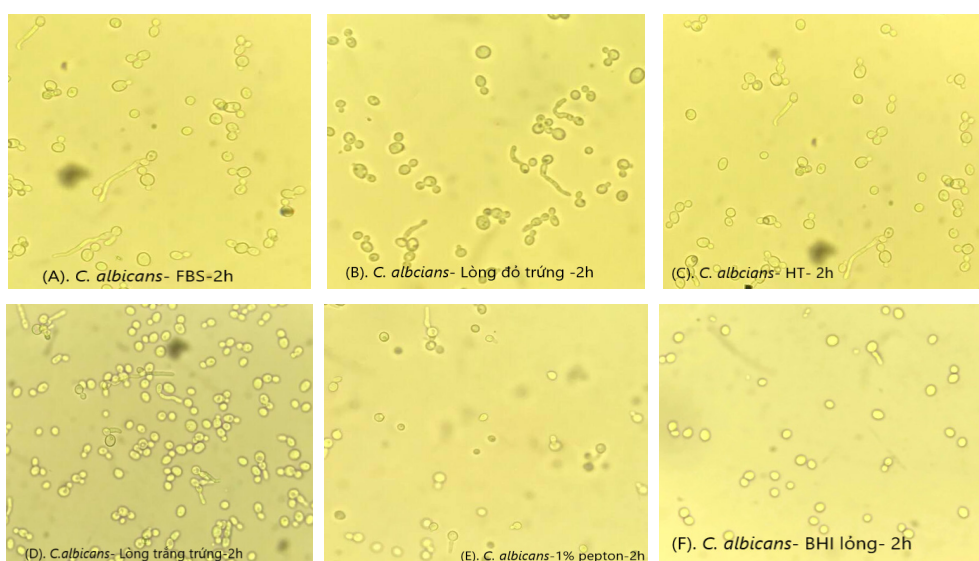
Bệnh phẩm	<i>C. albicans</i>		<i>C. tropicalis</i>	
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
Đàm	3	8,33	3	30
Dịch âm đạo	4	11,11	2	20
Dịch dạ dày	6	16,67		
Dịch màng bụng	1	2,78		
Dịch phế quản	2	5,56	1	10
Miệng	5	13,89	1	10
Móng	3	8,33		
Nước tiểu	4	11,11	3	30
Phân	4	11,11		
Sinh thiết dạ dày	1	2,78		
Vết thương	3	8,33		
Tổng	36	100	10	100

Nhận xét: Các chủng vi nấm được chọn vào nghiên cứu có nguồn gốc bệnh phẩm đa dạng. Trong đó dịch âm đạo, dịch dạ dày, dịch phế quản, miệng, phân, nước tiểu là những bệnh phẩm có chủng vi nấm *C. albicans* phân lập với tỷ lệ cao.

Bảng 2. Kết quả thử nghiệm sinh ống mầm của *Candida albicans* và *C. tropicalis* trên các môi trường sau 2 giờ nuôi cấy.

Môi trường	Kết quả sinh ống mầm dương tính	
	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>
	n	%
1% pepton	16	44,44
BHI	8	22
Lòng trắng trứng	11	30,56
Lòng đỏ trứng	32	88,89
Huyết thanh	30	83,88
FBS	36	100

Nhận xét: 100% chủng *Candida albicans* có kết quả dương tính với thử nghiệm sinh ống mầm trên môi trường FBS, tỷ lệ này với các môi trường lòng đỏ trứng, huyết thanh là 88,89% và 83,88%. Môi trường BHI có kết quả thấp nhất 22%. Trong khi đó không có chủng *C. tropicalis* nào sinh ống mầm trên các môi trường thử nghiệm và ghi nhận một số chủng vi nấm này sinh sợi giả (Hình 2 và 3).



Hình 2. Kết quả thử nghiệm sinh ống mầm dương tính trên các môi trường: (A). FBS (B). Lòng đỏ trứng (C). Huyết thanh (D). Lòng trắng trứng (E).1% pepton (F). BHI lỏng.



Hình 3. Kết quả thử nghiệm sinh ống mầm âm tính của *C. tropicalis* trên môi trường FBS, huyết thanh sau 2 giờ nuôi cấy.

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm sinh ống mầm của *Candida albicans* và *C. tropicalis* trên các môi trường sau 3 giờ nuôi cấy.

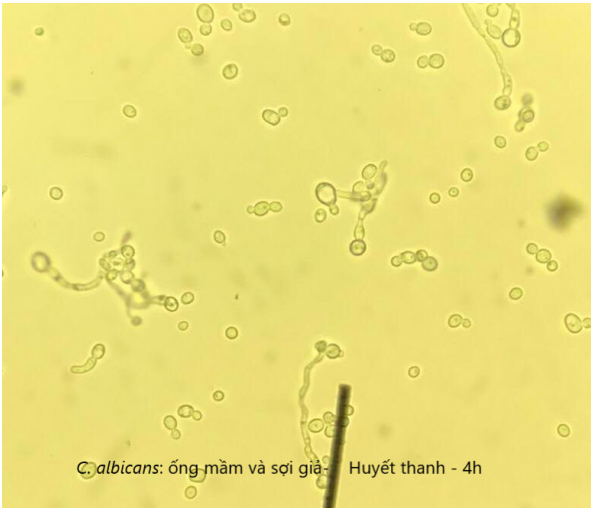
Môi trường	Kết quả sinh ống mầm dương tính	
	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>
	N	%
1% pepton	21	58,33
BHI	9	25
Lòng trắng trứng	12	33,33
Lòng đỏ trứng	33	91,67
Huyết thanh	33	91,67
FBS	36	100

Nhận xét: Sau 3 giờ nuôi cấy, *Candida albicans* mọc tốt nhất trên môi trường FBS (100%), khả năng sinh ống mầm trên môi trường lòng đỏ trứng và huyết thanh là như nhau (91,67%), và thấp nhất là môi trường BHI (25%). Không có chủng *C. tropicalis* nào sinh ống mầm trên các môi trường thử nghiệm và ghi nhận một số chủng vi nấm này sinh sợi giả.

Bảng 4. Tỷ lệ sinh ống mầm dương tính của *Candida albicans* và *C. tropicalis* trên các môi trường sau 4 giờ nuôi cấy.

Môi trường	Kết quả sinh ống mầm dương tính	
	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>
	N	%
1% pepton	18	50
BHI	6	16,67
Lòng trắng trứng	10	27,78
Lòng đỏ trứng	30	83,33
Huyết thanh	29	80,56
FBS	36	100

Nhận xét: Sau 4 giờ nuôi cấy, tỷ lệ sinh ống mầm trên các môi trường giảm so với mốc 3 giờ trừ môi trường FBS, do một số chủng phát triển thành sợi giả. Không có chủng *C. tropicalis* nào sinh ống mầm trên các môi trường thử nghiệm và ghi nhận nhiều chủng vi nấm này sinh sợi giả.



Hình 4. Kết quả sau 4 giờ: *C. albicans*: Ống mầm và sợi giả

Bảng 5. Độ nhạy và độ đặc hiệu của các môi trường trong định danh *C. albicans* sau 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ

Thời gian thử nghiệm	Môi trường	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Giá trị dự báo dương tính	Giá trị dự báo âm tính
2 giờ	Lòng đỏ trứng	88,89%	100%	100%	71,43%
	Huyết thanh	83,88%	100%	100%	62,5%
	FBS	100%	100%	100%	100%
	Lòng trắng trứng	30,56%	100%	100%	28,57%
	BHI lỏng	22%	100%	100%	26,32%
	1% pepton	44,44%	100%	100%	33,33%
3 giờ	Lòng đỏ trứng	91,67%	100%	100%	76,92%
	Huyết thanh	91,67%	100%	100%	76,92%
	FBS	100%	100%	100%	100%
	Lòng trắng trứng	33,33%	100%	100%	29,41%
	BHI lỏng	25%	100%	100%	27,03%
	1% pepton	58,33%	100%	100%	40%
4 giờ	Lòng đỏ trứng	83,33%	100%	100%	62,5%
	Huyết thanh	80,56%	100%	100%	58,82%
	FBS	100%	100%	100%	100%
	Lòng trắng trứng	27,78%	100%	100%	27,78%
	BHI lỏng	16,67%	100%	100%	25%
	1% pepton	50%	100%	100%	35,71%

Nhận xét: Thử nghiệm sinh ống mầm có độ đặc hiệu 100% trong định danh *C. albicans*. Trong đó thử nghiệm có kết quả độ nhạy cao nhất là sau 3 giờ nuôi cấy trên môi trường FBS. Lòng đỏ trứng có độ nhạy tương đương huyết thanh với độ nhạy 91,67%. Lưu ý rằng với môi trường lòng đỏ trứng, để đọc kết quả dễ dàng và chính xác cần đọc ở vùng rìa của lam.

4. BÀN LUẬN

Ngày nay việc xác định nhanh các loài nấm *Candida* phân lập ở phòng xét nghiệm trở nên quan trọng vì tỷ lệ nhiễm nấm *Candida* tiếp tục tăng tương ứng với số lượng bệnh nhân có nguy cơ ngày càng tăng. Mặc dù có nhiều phương pháp hình thái học, sinh hóa và phân tử khác nhau để xác định *C. albicans*, nhưng xét nghiệm ống mầm là một xét nghiệm đơn giản, nhanh chóng, hiệu quả, kinh tế và có độ tin cậy cao đã được sử dụng [8]. Kỹ thuật sinh ống mầm thực hiện trong môi trường huyết thanh là lựa chọn phổ biến vì đơn giản, có độ nhạy cao với khả năng định danh khoảng 83,5% - 90% *C. albicans* [12], [14]. Tuy nhiên vấn đề cần lưu ý là nguy cơ nhiễm các bệnh lây truyền qua đường máu như viêm gan virus, HIV,...cho người làm kỹ thuật do dùng huyết thanh khi thao tác [7]. Vấn đề tìm kiếm môi trường rẻ tiền, thuận tiện, an toàn để có thể áp dụng rộng rãi trong thử nghiệm sinh ống mầm đã được đề cập trong một số nghiên cứu [7], [9], [10], [14], [15]. Nghiên cứu của nhóm tác giả Shaikh

đã đánh giá khả năng sinh ống mầm của *C. albicans* phân lập từ mẫu bệnh phẩm khác nhau với các môi trường bao gồm: 1% BHI, 1% pepton, 0,5% glucose và glycine, 0,5% glucose và histidine, 0,5% glucose và so với môi trường là huyết thanh. Kết quả cho thấy huyết thanh là môi trường tốt nhất và có khả năng định danh 98% chủng vi nấm [7]. Nghiên cứu của tác giả Deorukhkar về khả năng sinh ống mầm của *C. albicans* trên một số môi trường gồm huyết thanh, huyết tương, trypticase soy broth, lòng trắng trứng, peptone lỏng và huyết thanh ngựa, kết quả ghi nhận môi trường trypticase soy broth là môi trường tốt nhất để định danh vi nấm với khả năng định danh 98%, trong khi đó tỷ lệ này với huyết thanh là 94% [9]. Tỷ lệ sinh ống mầm của *C. albicans* với môi trường huyết thanh bị ảnh hưởng bởi các yếu tố bảo quản, cụ thể huyết thanh trong 15 ngày làm giảm khả năng sinh ống mầm 50% [9]; hoặc một số yếu tố khác như nhiệt độ ủ, độ đậm của huyền dịch vi nấm, huyết thanh bị nhiễm vi khuẩn hay không, pH môi trường và các thành phần của môi

trường nếu là môi trường khác huyết thanh [8].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá sự hình thành ống mầm của *C. albicans* bằng cách sử dụng các môi trường khác nhau. Điều này có ý nghĩa giúp tìm ra môi trường có khả năng định danh *C. albicans* thay thế cho môi trường huyết thanh thường được sử dụng. Nghiên cứu chúng tôi cho thấy huyết thanh nhau thai bò được là môi trường tốt nhất so với các môi trường khác với kết quả định danh chính xác 100% chủng vi nấm với thời gian ủ từ 2 giờ - 4 giờ. Tuy nhiên, với hai loại môi trường định danh khác là huyết thanh và lòng đỏ trứng cũng cho kết quả định danh chính xác khoảng 91% chủng *C. albicans* và thời gian nuôi cấy 3 giờ có kết quả tốt nhất. Vì vậy kết quả chúng tôi cho thấy FBS có khả năng sinh ống mầm tốt nhất (100%) từ thời gian ủ 2 giờ nên đây là môi trường lý tưởng để thử nghiệm sinh ống mầm, và do tính ổn định môi trường này giải thích tỷ lệ ống mầm dương tính cao hơn môi trường huyết thanh. Tuy nhiên do giá thành của FBS rất đắt nên khó có thể sử dụng môi trường này rộng rãi ở các cơ sở y tế. Trong khi đó, nghiên cứu hiện tại của chúng tôi khi so sánh độ nhạy, độ đặc hiệu trong định danh *C. albicans* của môi trường huyết thanh và lòng đỏ trứng cho thấy lòng đỏ trứng là môi trường có tiềm năng trong thay thế huyết thanh để thực hiện thử nghiệm sinh ống mầm. Môi trường lòng đỏ trứng độ nhạy là 91,67% và độ đặc hiệu này là 100%, đồng thời là môi trường rẻ tiền, sẵn có, kết quả thử nghiệm trong thời gian ngắn nên có thể sử dụng để thay thế huyết thanh trong thử nghiệm sinh ống mầm. Kết quả này tương đồng kết quả đánh giá về độ nhạy và độ đặc hiệu của thử nghiệm này trong định danh *C. albicans* đã được công bố bởi Sheppard và cộng sự về việc so sánh giá trị định danh của test sinh ống mầm và các phương pháp định danh khác. Nhóm nghiên cứu này cho thấy test sinh ống mầm có độ nhạy 87,1% và độ đặc hiệu 100% trong định danh *C. albicans* [16].

Về thời gian của thử nghiệm, kết quả chúng tôi cho thấy kết quả tốt nhất là sau 3 giờ ủ. Kết quả ủ 4 giờ khó đọc hơn do cần phải phân biệt ống mầm và sợi giả, mà nhiều chủng *C. albicans* sinh sợi giả sau 4 giờ. Bên cạnh đó mặc dù kết quả của chúng tôi không

ghi nhận có ống mầm với các chủng *C. tropicalis* thử nghiệm nhưng một số nghiên cứu khác cũng khuyến cáo không nên thực hiện thử nghiệm quá 3 giờ ủ vì một số loài *C. non albicans* khác như *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* cũng sinh ống mầm hoặc sợi [11], [14].

Tóm lại, từ kết quả nghiên cứu chúng tôi cho thấy thử nghiệm sinh ống mầm với môi trường FBS có độ nhạy và độ đặc hiệu là 100% trong định danh *C. albicans*. Bên cạnh đó cũng ghi nhận độ nhạy và độ đặc hiệu cao của môi trường huyết thanh và lòng đỏ trứng trong định danh loài vi nấm này. Do đó chúng tôi đề xuất dùng môi trường lòng đỏ trứng để thay thế môi trường huyết thanh nếu không có khả năng thực hiện thử nghiệm với FBS.

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu về giá trị định danh *C. albicans* bằng thử nghiệm sinh ống mầm thực hiện trên của một số môi trường bao gồm huyết thanh, 1% pepton, BHI lỏng, lòng trắng trứng, lòng đỏ trứng và huyết thanh nhau thai bò, với thử nghiệm được đánh giá sau 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ. Kết quả cho thấy *C. albicans* có tỷ lệ sinh ống mầm cao nhất sau 3 giờ nuôi cấy trên các môi trường. Với mốc thời gian 3 giờ, tỷ lệ ống mầm dương tính của *C. albicans* trên các môi trường huyết thanh, 1% pepton, BHI lỏng, lòng trắng trứng, lòng đỏ trứng và huyết thanh nhau thai bò lần lượt là 91,67%, 58,33%, 25%, 33,33%, 91,67%, và 100%.

Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính của thử nghiệm sinh ống mầm trên môi trường FBS đều là 100% từ 2 giờ trở lên, trong khi đó các tỷ lệ này trên môi trường huyết thanh và lòng đỏ trứng sau 3 giờ nuôi cấy lần lượt là 91,67%, 100%, 100%, 76,92%. Do đó chúng tôi đề xuất có thể dùng FBS là môi trường lựa chọn ưu tiên để thực hiện thử nghiệm, và trong trường hợp không có FBS có thể lòng đỏ trứng để thay thế huyết thanh trong thử nghiệm sinh ống mầm định danh *C. albicans*. Kỹ thuật sinh ống mầm sử dụng lòng đỏ trứng có thể là một lựa chọn tốt trong các phòng xét nghiệm vì đơn giản, chi phí thấp, và cũng phù hợp cho các phòng nghiên cứu, giảng dạy kỹ năng thực hành về bệnh do vi nấm..

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yapar N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. Therapeutics and clinical risk management. 2014;10:95-105.
2. Logan C, Martin-Loeches I, Bicanic T. Invasive

candidiasis in critical care: challenges and future directions. 2020;46(11):2001-14.

3. Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, Ostrosky-Zeichner L, Kullberg BJ. Invasive candidiasis. Nature

Reviews Disease Primers. 2018;4(1):18026.

4. Guinea J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. *Clinical microbiology and infection* : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2014;20 Suppl 6:5-10.

5. Ngô Thị Minh Châu, Tôn Nữ Phương Anh, Đỗ Thị Bích Thảo và cộng sự. Định danh loài một số chủng nấm men phân lập từ bệnh nhân bằng kỹ thuật khối phổ MALDI ToF (MALDI TOF MAS SPECTROMETRY) và giải trình tự gen. Báo cáo Khoa học toàn văn Hội nghị KST toàn quốc lần thứ 42, Nhà Xuất bản Khoa học tự nhiên và công nghệ 2015:72-8.

6. Ngô Thị Minh Châu, Tôn Nữ Phương Anh, Đỗ Thị Bích Thảo và cộng sự. Ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử định danh loài một số chủng nấm men và xác định tỷ lệ đề kháng với thuốc kháng nấm bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. *Y học thực hành*. 2016;1005:484-9.

7. Shaikh N, Mundhada S, Jahagirdar V, Ingole K. Evaluation of germ tube test in various media. *International Journal of Applied Research* 2019;5(2):114-7.

8. Neppelenbroek KH, Seó RS, Urban VM, Silva S, Dovigo LN, Jorge JH, et al. Identification of *Candida* species in the clinical laboratory: a review of conventional, commercial, and molecular techniques. *Oral Dis*. 2014;20(4):329-44.

9. Deorukhkar S, Saini S, Jadhav P. Evaluation of different media for germ tube production of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *International Journal*

of Biomedical and Advance Research. 2012;3.

10. Hilmioglu S, Ilkit M, Badak Z. Comparison of 12 liquid media for germ tube production of *Candida albicans* and *C. tropicalis*. *Mycoses*. 2007;50(4):282-5.

11. Jean-Philippe Bouchara, Marc Pihet, L. de Gentile, Bernard Cimon, Chabasse D. Les levures et levures. 2010:82-3.

12. Deorukhkar SC, Roushani S. Identification of *Candida* Species: Conventional Methods in the Era of Molecular Diagnosis. *Annals of Microbiology and Immunology*. 2018;1(1):1-6.

13. Sudbery PE. The germ tubes of *Candida albicans* hyphae and pseudohyphae show different patterns of septin ring localization. *Molecular microbiology*. 2001;41(1):19-31.

14. Moya-Salazar J, Rojas R. Comparative study for identification of *Candida albicans* with germ tube test in human serum and plasma. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2018;3(3):1-4.

15. Matore T, Nziramasanga P, Gwanzura L, Robertson V. Experimental Germ Tube Induction in *Candida albicans*: An Evaluation of the Effect of Sodium Bicarbonate on Morphogenesis and Comparison with Pooled Human Serum. *BioMed Research International*. 2017;2017:1976273.

16. Sheppard DC, Locas M-C, Restieri C, Laverdiere M. Utility of the Germ Tube Test for Direct Identification of *Candida albicans* from Positive Blood Culture Bottles. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008;46(10):3508-9.