

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



THÁI BẰNG GIANG

**ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ HỌC LÂM SÀNG NHIỄM NẤM
Ở TRẺ SƠ SINH VÀ HIỆU QUẢ ĐIỀU TRỊ DỰ PHÒNG
BẰNG FLUCONAZOLE TRÊN TRẺ ĐỂ NON**

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

HÀ NỘI - 2021

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



THÁI BẰNG GIANG

**ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ HỌC LÂM SÀNG NHIỄM NẤM
Ở TRẺ SƠ SINH VÀ HIỆU QUẢ ĐIỀU TRỊ DỰ PHÒNG
BẰNG FLUCONAZOLE TRÊN TRẺ ĐỂ NON**

Chuyên ngành: Nhi khoa

Mã số: 62720135

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

PGS.TS. KHU THỊ KHÁNH DUNG

HÀ NỘI - 2021

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Thái Bằng Giang, nghiên cứu sinh khóa 34 Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Nhi khoa, xin cam đoan:

Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Khu Thị Khánh Dung.

Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày 16 tháng 05 năm 2021

Người viết cam đoan

Thái Bằng Giang

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ALT	Alanine transaminase
AST	Aspartate transaminase
CDR	Candida drug resistance - Candida kháng thuốc
CRP	C - reactive protein - Protein phản ứng C
CVC	Central Veinous Catheter - Catheter tĩnh mạch trung tâm
CYP	Cytochrome P450
DNA	Deoxyribonucleic acid
ĐT	Điều trị
ĐMCB	Đông máu cơ bản
ELBW	Extra Low Birth Weight - Trẻ sơ sinh cực nhẹ cân
Ig	Immunoglobulin
KS	Kháng sinh
KSD	Kháng sinh đồ
MDR	Multidrug Resistance Pumps - Bơm đa kháng
MIC	Minimum inhibitory concentration - Nồng độ ức chế tối thiểu
NCPAP	Nasal Continous Positive Airway Pressure - Thở áp lực dương liên tục qua mũi
NICU	Neonatal Intensive Care Unit - Đơn vị hồi sức sơ sinh
NKQ	Nội khí quản
NTT	The Number Needed to Treat - Số bệnh nhân cần điều trị
PLT	Platelet - Tiểu cầu
RNA	Ribonucleic acid
ROP	Retinopathy of prematurity - Bệnh võng mạc ở trẻ đẻ non
TM	Tĩnh mạch
TNF	Tumor Necrosis Factor - Yếu tố hoại tử u
TV	Tử vong
VLBW	Very Low Birth Weight - Trẻ sơ sinh rất nhẹ cân

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1: TỔNG QUAN.....	3
1.1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC NẤM GÂY BỆNH Ở NGƯỜI	3
1.1.1. Hình dạng đại thể của nấm.....	3
1.1.2. Cấu tạo của tế bào nấm	4
1.1.3. Đặc điểm cấu trúc và sinh sản của nấm	8
1.1.4. Phân loại nấm, bệnh do nấm gây ra và cơ chế gây bệnh	12
1.2. DỊCH TỄ HỌC LÂM SÀNG NHIỄM NẤM Ở TRẺ SƠ SINH.....	16
1.2.1. Các nghiên cứu về nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh	16
1.2.2. Nhiễm trùng do nấm ở trẻ sơ sinh.....	20
1.3. CÁC THUỐC KHÁNG NẤM.....	33
1.3.1. Lịch sử phát triển	33
1.3.2. Tổng quan về dược lý học của thuốc kháng nấm	34
1.4. DỰ PHÒNG NẤM CHO TRẺ ĐẸ NON.....	41
1.4.1. Thuốc điều trị dự phòng.....	41
1.4.2. Một số nghiên cứu dự phòng nhiễm nấm cho trẻ đẻ non bằng fluconazole	43
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	46
2.1. ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU.....	46
2.2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	46
2.2.1. Mục tiêu 1	46
2.2.2. Mục tiêu 2	55
2.2.3. Xử lý và phân tích số liệu	61
2.2.4. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu	62
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	63
3.1. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU MỤC TIÊU 1	63
3.1.1. Các đặc điểm chung	63
3.1.2. Triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng	68
3.1.3. Thời gian điều trị thuốc kháng nấm	77
3.1.4. Phân bố các yếu tố nguy cơ.....	77
3.1.5. Tình trạng đáp ứng với thuốc chống nấm	79

3.1.6. Tình trạng sống chết.....	80
3.2. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU MỤC TIÊU 2	81
3.2.1. Đặc điểm chung.....	81
3.2.2. Chẩn đoán lúc vào viện.....	86
3.2.3. Phân bố các yếu tố nguy cơ.....	87
3.2.4. Kết quả dự phòng	89
Chương 4: BÀN LUẬN.....	93
4.1. ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ HỌC LÂM SÀNG NHIỄM NẤM Ở TRẺ SƠ SINH. 93	
4.1.1. Giới tính	93
4.1.2. Cân nặng lúc sinh	93
4.1.3. Tiền sử sản khoa.....	95
4.1.4. Tuổi thai và tuổi lúc nhập viện.....	96
4.1.5. Triệu chứng lâm sàng.....	97
4.1.6. Cận lâm sàng	99
4.1.7. Đặc điểm trẻ sơ sinh nhiễm nấm.....	101
4.1.8. Các yếu tố nguy cơ.....	115
4.2. ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ DỰ PHÒNG NẤM BẰNG FLUCONAZOLE TRÊN TRẺ DỄ NON.....	119
4.2.1. Đặc điểm chung của hai nhóm nghiên cứu	119
4.2.2. Các can thiệp trên hai nhóm nghiên cứu.....	120
4.2.3. Tình trạng nhiễm khuẩn phối hợp	121
4.2.4. Sử dụng kháng sinh	122
4.2.5. Kết quả dự phòng	123
4.2.6. Kết quả khác.....	130
KẾT LUẬN	131
KIẾN NGHỊ	133
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1.	Tiền sử sản khoa và dinh dưỡng của trẻ.....	65
Bảng 3.2.	Liên quan giữa tuổi thai và tuổi nhập viện.....	66
Bảng 3.3.	Lý do vào viện.....	67
Bảng 3.4.	Các can thiệp điều trị tại tuyến trước	67
Bảng 3.5.	Công thức máu	70
Bảng 3.6:	Số lượng tiểu cầu.....	71
Bảng 3.7:	Số bệnh nhân có tiểu cầu giảm.....	71
Bảng 3.8:	Đông máu	72
Bảng 3.9:	Khí máu và lactat máu.....	72
Bảng 3.10:	Một số chỉ số sinh hóa máu.....	73
Bảng 3.11.	Thời gian điều trị thuốc kháng nấm	77
Bảng 3.12.	Các can thiệp xâm lấn	77
Bảng 3.13.	Thời gian nằm viện.....	78
Bảng 3.14.	Thời gian điều trị kháng sinh	79
Bảng 3.15.	Đáp ứng với thuốc chống nấm	79
Bảng 3.16.	Kháng sinh đồ - MIC 1.....	80
Bảng 3.17.	Bệnh lý của mẹ.....	81
Bảng 3.18.	Sử dụng steroids	81
Bảng 3.19.	Hình thức chuyển dạ	82
Bảng 3.20.	Hình thức sinh	82
Bảng 3.21.	Hình thức và thời gian vỡ ối.....	83
Bảng 3.22.	Tình trạng nước ối.....	83
Bảng 3.23.	Tình trạng trẻ sau sinh.....	84
Bảng 3.24.	Phân bố giới tính	84
Bảng 3.25.	Cân nặng của hai nhóm nghiên cứu	85
Bảng 3.26.	Phân bố tuổi thai.....	85
Bảng 3.27.	Tình trạng dinh dưỡng.....	86
Bảng 3.28.	Chẩn đoán lúc vào viện	86

Bảng 3.29.	Các can thiệp ở hai nhóm nghiên cứu	87
Bảng 3.30.	Thời gian duy trì các can thiệp.....	87
Bảng 3.31.	Nhiễm vi khuẩn phối hợp ở hai nhóm nghiên cứu.....	88
Bảng 3.32.	Sử dụng kháng sinh	89
Bảng 3.33.	So sánh tỷ lệ nhiễm nấm giữa hai nhóm	89
Bảng 3.34.	Nguy cơ nhiễm nấm ở hai nhóm nghiên cứu	90
Bảng 3.35.	Kháng sinh đồ - MIC 2.....	92
Bảng 3.36.	Tỷ lệ tử vong ở hai nhóm nghiên cứu	92
Bảng 4.1.	So sánh tỷ lệ nhiễm nấm theo cân nặng	94
Bảng 4.2.	Các chủng nấm gây bệnh theo một số nghiên cứu.....	104
Bảng 4.3.	So sánh tỷ lệ nhiễm nấm với các nghiên cứu khác	123
Bảng 4.4.	Phân tích hồi quy Cox về tỷ số nhiễm nấm.....	130

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1.	Tỷ lệ nam/ nữ.....	63
Biểu đồ 3.2.	Cân nặng lúc sinh.....	64
Biểu đồ 3.3.	Tuổi thai.....	66
Biểu đồ 3.4.	Thân nhiệt của bệnh nhân nhiễm nấm.....	68
Biểu đồ 3.5.	Triệu chứng thần kinh.....	68
Biểu đồ 3.6.	Triệu chứng tuần hoàn.....	69
Biểu đồ 3.7.	Triệu chứng hô hấp.....	69
Biểu đồ 3.8.	Triệu chứng tiêu hóa.....	70
Biểu đồ 3.9.	Phân bố nhiễm nấm theo thời gian nằm viện.....	75
Biểu đồ 3.10.	Vị trí nhiễm nấm.....	76
Biểu đồ 3.11.	Chủng nấm gây bệnh.....	76
Biểu đồ 3.12.	Bệnh lý trẻ đang điều trị.....	78
Biểu đồ 3.13.	Kết quả điều trị.....	80
Biểu đồ 3.14.	Vị trí nhiễm nấm ở hai nhóm nghiên cứu.....	90
Biểu đồ 3.15.	Chủng loại nấm nhiễm ở 2 nhóm nghiên cứu.....	91
Biểu đồ 3.16.	Thời gian nhiễm nấm theo tuần nghiên cứu.....	91

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Cấu tạo tế bào nấm.....	4
Hình 1.2.	Cấu trúc thành tế bào nấm.....	5
Hình 1.3.	Vị trí của lomasome	6
Hình 1.4.	Cấu tạo sợi nấm.....	9
Hình 1.5.	Sinh sản vô tính và sinh sản hữu tính ở lớp <i>Ascomycetes</i>	10
Hình 1.6.	Phân loại nấm.....	12
Hình 1.7.	Phân loại vi nấm.....	13
Hình 1.8.	Đáp ứng miễn dịch chống lại nấm ở trẻ sơ sinh	20
Hình 1.9.	<i>Candida albicans</i>	25
Hình 1.10.	<i>Aspergillus fumigatus</i>	28
Hình 1.11.	<i>Cryptococcus neoformans</i>	29
Hình 1.12.	<i>Kodamaea Ohmeri</i>	30
Hình 1.13.	<i>Zygomycota</i>	31
Hình 1.14.	<i>Malassezia furfur</i>	32
Hình 1.15.	Lịch sử nghiên cứu bệnh nấm và phát triển các thuốc kháng nấm....	33
Hình 1.16.	Vị trí tác động của các thuốc kháng nấm.....	35
Hình 1.17.	Cơ chế tác động của thuốc kháng nấm nhóm Azole.....	37
Hình 1.18.	Cơ chế tác động của thuốc kháng nấm nhóm Polyene	38
Hình 1.19.	Cơ chế tác động của thuốc kháng nấm nhóm Echinocandin	39
Hình 1.20.	Phổ tác dụng của thuốc kháng nấm toàn thân.....	40
Hình 1.21.	Công thức hóa học của fluconazole	42
Hình 3.1.	Hình ảnh X quang phổi của bệnh nhân Nguyễn Gia K. nhiễm <i>Candida albicans</i> phổi	74
Hình 3.2.	Hình ảnh X quang phổi của bệnh nhân Nguyễn Đức Nhật M. nhiễm <i>Candida albicans</i> phổi	74

Hình 3.3.	Hình ảnh X quang phổi của bệnh nhân Nguyễn Thị A. nhiễm <i>Candida tropicalis</i> phổi	75
Hình 4.1.	Tỷ lệ nhiễm nấm ở nhóm trẻ cân nặng rất thấp	95
Hình 4.2.	Đáp ứng với thuốc điều trị nấm theo Montagna	109
Hình 4.3.	Tỷ lệ kháng thuốc theo A.Nazir và T. Masoodi.....	109
Hình 4.4.	Đáp ứng của <i>C. parapsilosis</i> với thuốc điều trị nấm theo Carmine Garzillo.....	111
Hình 4.5.	Đáp ứng của <i>C. pelliculosa</i> với thuốc điều trị nấm theo Carolina Maria da Silva	113

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm trùng do nấm là một trong những bệnh lý khá phổ biến trên thế giới, đặc biệt ở Việt Nam với đặc trưng khí hậu nhiệt đới gió mùa là điều kiện sống lý tưởng cho nấm. Nấm tồn tại ở khắp mọi nơi: trong môi trường đất, nước, không khí, trên động thực vật và cả trên cơ thể người. Khi gặp các điều kiện thuận lợi như thời tiết nóng ẩm, sức đề kháng cơ thể giảm... nấm sẽ phát triển và gây bệnh. Bệnh lý do nấm có thể gặp ở cả người lớn, trẻ em và cả trẻ sơ sinh [1], [2], [3], [4].

Nấm lây truyền chủ yếu qua da và niêm mạc. Ở trẻ sơ sinh, bệnh nấm có thể thứ phát do lây truyền mẹ sang con hoặc do nhiễm trùng bệnh viện.

Nhiễm trùng bệnh viện là vấn đề rất thường gặp ở trẻ sơ sinh và đây là nguyên nhân quan trọng hàng đầu làm gia tăng tỷ lệ tử vong, kéo dài thời gian và tăng chi phí điều trị [5]. Đặc biệt, trẻ đẻ non, cân nặng thấp tỷ lệ mắc nhiễm trùng bệnh viện càng cao.

Trẻ sơ sinh non tháng có nhiều nguy cơ mắc nhiễm trùng bệnh viện do nấm như hệ miễn dịch chưa hoàn chỉnh, tăng tính thấm của hàng rào da và niêm mạc, trẻ thường được điều trị kháng sinh phổ rộng kéo dài, đặt catheter nuôi dưỡng tĩnh mạch dài ngày, đo huyết áp động mạch xâm lấn, sử dụng corticosteroids sau sinh và các biện pháp hỗ trợ hô hấp như thở máy, thở NCPAP. Tác nhân gây bệnh chủ yếu là *Candida albicans* và *Candida parapsilosis*. Các nhiễm trùng do các loài nấm khác như *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Kodamea ohmeri* hay *Malassezia* hiếm gặp hơn. Tuy nhiên nhiễm trùng do nấm thường là diễn biến phức tạp với các biến chứng nặng nề và tỷ lệ tử vong cao [11], [12].

Hiện nay trên thế giới việc tiến hành điều trị dự phòng nhiễm nấm cho trẻ sơ sinh, đặc biệt là trẻ đẻ non nằm điều trị nội trú tại bệnh viện bằng các thuốc kháng nấm như fluconazole đã được tiến hành tại nhiều nơi. Nhiều nghiên cứu cho thấy kết quả rõ rệt trong việc làm giảm tỷ lệ nhiễm nấm ở trẻ.

Ở Việt Nam hiện nay chúng tôi chưa thấy nghiên cứu nào mô tả đặc điểm dịch tễ học lâm sàng của nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh, cũng như chưa có nghiên cứu nào tiến hành can thiệp điều trị dự phòng nhiễm nấm cho trẻ sơ sinh trong bệnh viện. Hiện tại cũng chưa có hướng dẫn cụ thể nào về việc điều trị dự phòng nhiễm nấm cho trẻ đẻ non tại Việt Nam.

Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: **“Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh và hiệu quả điều trị dự phòng bằng fluconazole trên trẻ đẻ non”** với hai mục tiêu sau:

- 1. Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh điều trị tại Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương.*
- 2. Đánh giá hiệu quả dự phòng nhiễm nấm của fluconazole trên trẻ đẻ non.*

Chương 1

TỔNG QUAN

1.1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC NẤM GÂY BỆNH Ở NGƯỜI

Nấm (Fungi hoặc Mycetes) là những sinh vật, cơ thể được cấu tạo bởi một hoặc nhiều tế bào. Khoảng 80.000 đến 120.000 loài nấm đã được mô tả cho đến nay, mặc dù tổng số loài ước tính khoảng 1,5 triệu [1], [2], [3].

Vi nấm (Microfungi) là tất cả các loài nấm không thể quan sát được bằng mắt thường. Để nghiên cứu vi nấm bắt buộc phải quan sát dưới kính hiển vi và phải nuôi cấy trong các điều kiện vô khuẩn như đối với vi khuẩn.

Căn cứ vào hình thái người ta chia vi nấm thành hai nhóm khác nhau: nhóm nấm men (Yeast) và nhóm nấm sợi (Filamentous fungi). Hai nhóm này khác nhau về hình thái chứ không phải là những phân loại riêng biệt. Nhiều nấm men cũng có dạng sợi và rất khó phân biệt với nấm sợi. Ngoài ra còn có dạng lưỡng hình (Dimorphic) có thể phát triển như nấm sợi (ở môi trường) hoặc nấm men (ở người).

Nấm không phải là sinh vật tự dưỡng vì tế bào nấm không có diệp lục nên không thể tự tổng hợp được cacbonhydrat và protein từ các chất đơn giản. Nấm là sinh vật dị dưỡng, nấm sống theo kiểu hoại sinh trên những cơ thể động vật hay thực vật đã chết hoặc sống theo kiểu ký sinh trên những phần cơ thể sống khác, một số loài nấm có thể sống theo cả hai cách trên.

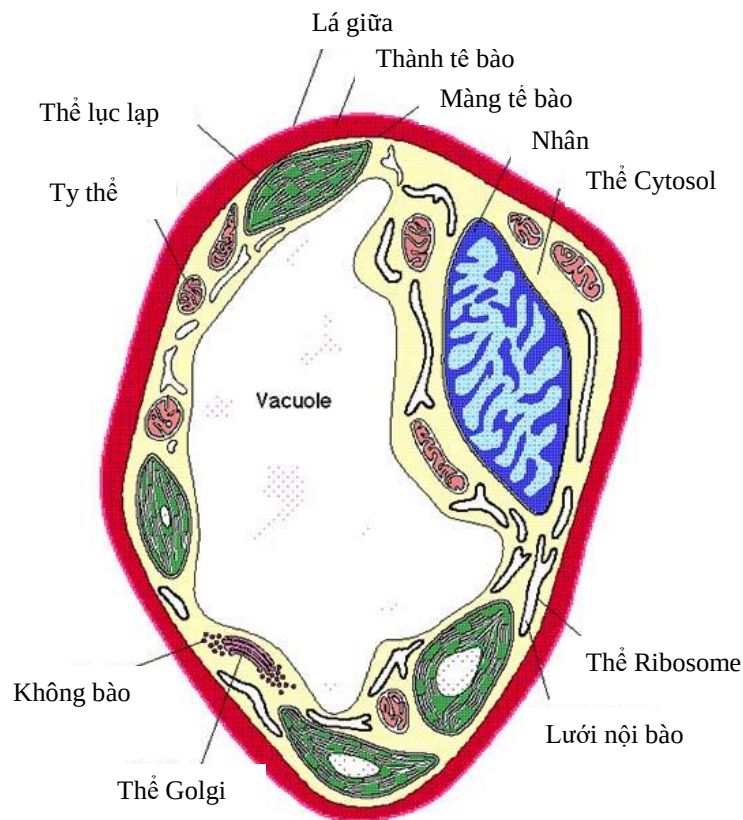
1.1.1. Hình dạng đại thể của nấm

Tế bào nấm phát triển rồi phân nhánh tạo nên sợi nấm, các sợi nấm tiếp tục phát triển phân nhánh tạo nên hệ sợi nấm. Trong sợi nấm có vách ngăn phân chia các tế bào nấm với nhau. Những hệ sợi nấm này tạo thành các khuẩn lạc mà mắt người bình thường có thể quan sát được.

Theo chức năng, đặc điểm của từng hệ sợi nấm mà người ta thường chia làm hai loại hệ sợi:

- Hệ sợi nấm cơ chất: phát triển ăn sâu vào cơ chất (môi trường), lấy thức ăn từ môi trường xung quanh để dinh dưỡng và phát triển.
- Hệ sợi nấm không khí: phát triển trên bề mặt môi trường và thường nhô lên trên. Hệ sợi nấm này gồm những sợi nấm không có cơ quan sinh sản và những loại sợi nấm “không khí”, những sợi nấm này mang những cơ quan sinh sản vô tính hay hữu tính.

1.1.2. Cấu tạo của tế bào nấm



Nguồn: Clinical Mycology^{2nd}

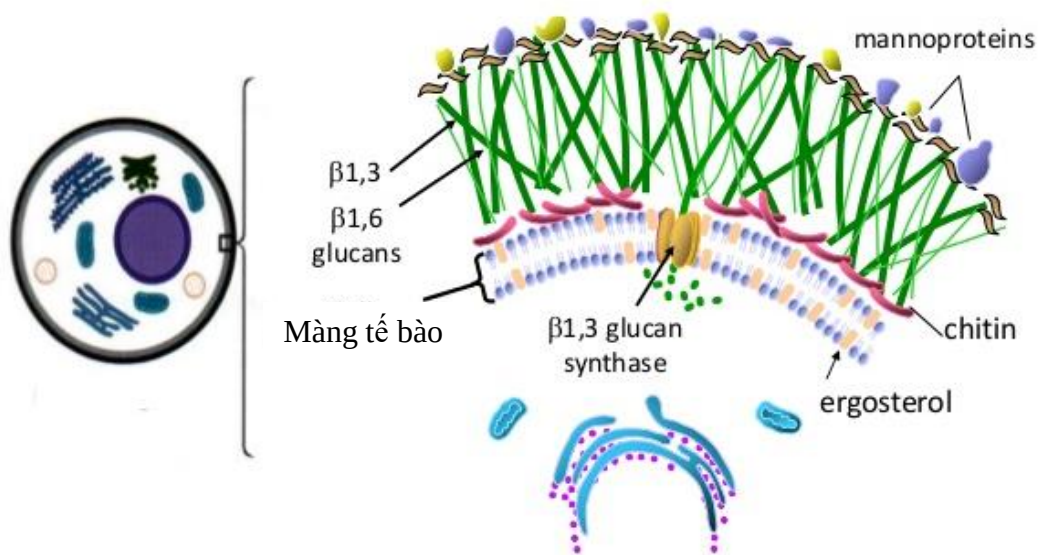
Hình 1.1. Cấu tạo tế bào nấm

1.1.2.1. Vở tế bào

Vỏ tế bào nấm là một màng được cấu tạo bởi polysaccarit hoặc mucopolysaccarit. Lớp vỏ này bảo vệ tế bào nấm, giữ độ ẩm thích hợp. Cấu tạo hóa học của vỏ tế bào giống như cấu tạo của thành tế bào và có một số thành phần khác như mannan (poly-D-mandoza), photphomannan hoặc heoxoza (D-glucoza) và pentoza (D-xiloza, D-arabinoza) [1].

1.1.2.2. Thành tế bào

Thành tế bào có nhiệm vụ giữ cho tế bào nấm có hình dạng nhất định. Thành tế bào được cấu tạo bởi hỗn hợp protit - polysaccarit. Trong hỗn hợp này thành phần polysaccarit thay đổi nhiều ít khác nhau đặc trưng cho từng nhóm nấm và dựa vào đó có thể phân loại các nhóm nấm. Phần polysaccarit có cấu trúc phức tạp và có vai trò quan trọng trong miễn dịch. Các thành phần cấu tạo chính của màng tế bào nấm bao gồm glucan, cellulose, chitine, chitosan, mannan, protein và lipid.



Atlas of fungal Infections, Richard Diamond Ed. 1999
Introduction to Medical Mycology. Merck and Co. 2001

Hình 1.2. Cấu trúc thành tế bào nấm

1.1.2.3. *Thể Lomasome*

Thể lomasome là một cơ quan chỉ có trong tế bào nấm, lomasome là một phần của tiền màng nguyên sinh chất (periplasma) nằm ở giữa thành tế bào và màng nguyên sinh chất. Lomasome được xây dựng bởi một hệ màng xoắn, có liên quan đến sự tạo thành tế bào của sợi nấm.

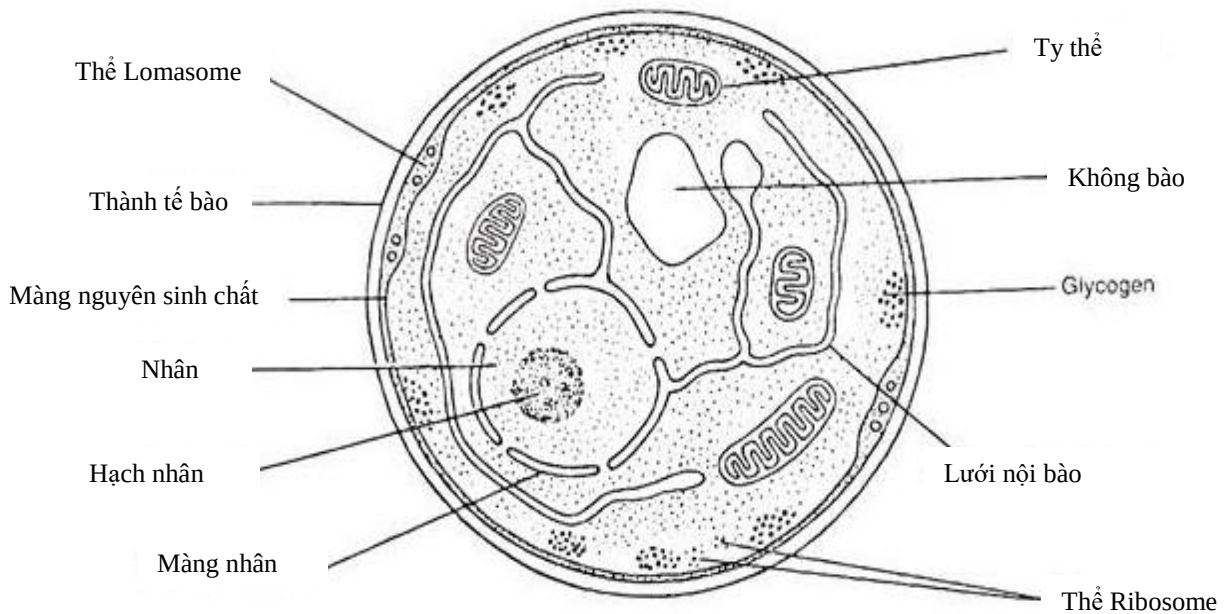


Fig. 4.3 : Diagrammatic representation of the ultrastructure of a typical fungus cell in cross-section

Nguồn: Slideshare.net

Hình 1.3. Vị trí của lomasome

1.1.2.4. *Màng nguyên sinh chất*

Màng nguyên sinh chất của tế bào nấm có hai lớp, cấu tạo bởi hỗn hợp protit và lipit là chủ yếu, ngoài ra còn có một phần polysaccarit. Màng nguyên sinh chất ngăn cách giữa thành tế bào và chất nguyên sinh. Trong tế bào nấm màng nguyên sinh chất thường tạo ra lưới nội nguyên sinh, màng nhân và màng của không bào [4].

1.1.2.5. Nguyên sinh chất (bào tương)

Nguyên sinh chất trong tế bào nấm là một chất lỏng, có các thành phần chủ yếu là protit, ribonucleoprotein, lipid, glucid và nước. Ở các tế bào nấm còn non bào tương tương đối thuần nhất, ở các tế bào nấm càng già càng có nhiều không bào dự trữ.

1.1.2.6. Ty thể

Được cấu tạo bởi hai lớp màng, cấu trúc của hai lớp màng này giống như cấu trúc màng nguyên sinh chất. Trên bề mặt màng ty thể có những hạt nhỏ hình cầu (oxysom), có chức năng sinh năng lượng (tổng hợp ATP) và giải phóng năng lượng.

1.1.2.7. Nhân tế bào

Bao bọc bên ngoài nhân tế bào nấm là màng nhân, bên trong chứa dịch nhân có chứa hạch nhân (nucleolus). Nhân tế bào nấm hình cầu hoặc hình bầu dục, đặc. Nấm men chỉ có một nhân, nấm sợi có nhiều nhân. Nhân của nấm thường nhỏ, khó thấy rõ dưới kính hiển vi quang học. Trong hạch nhân của tế bào nấm có DNA như ở vi khuẩn, được tổ chức thành nhiễm sắc thể điển hình và có quá trình phân bào nguyên nhiễm (mitosis). Số lượng nhiễm sắc thể trong tế bào khác nhau tùy thuộc vào từng loại nấm. Nhiễm sắc thể trong nhân thường không dễ nhuộm màu, số lượng tương đối nhỏ. Số lượng này là 6 ở các nấm *Magnaporthe grisea*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Trichoderma reesei*; là 7 ở các nấm *Histoplasma capsulatum*, *Neurospora crassa*, *Phenaeorchateae chrysosporium*, *Podospora anserina*, là 8 ở các nấm *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Acremonium chrysogenum*, *Beauveria basiana*, *Lentinus edodes*, là 10 ở nấm *Penicillium janthinellum*, là 11 ở nấm *Schizophyllum commune*, là 12 ở nấm *Curvularia lunata*, là 13 ở nấm *Agaricus bisporus*, là 15 ở nấm *Cyanidioschyzon merolae* và là 20 ở nấm *Ustilago maydis*...

1.1.2.8. Các thành phần khác

Trong tế bào nấm còn có các cơ quan giống như trong tế bào các sinh vật có nhân thực (Eukaryote) khác. Đó là mạng nội chất (endoplasmic reticulum), dịch bào hay không bào (vacuolus), ribosome, bào nang (vesicle), thể golgi sinh bào nang (Golgi body, Golgi apparatus, dictyosome), các giọt lipid (lipid droplet), các tinh thể (chrysal) và các vi thể đường kính 0,5 - 1,5 nm (microbody), các thể woronin đường kính 0,2 μ m, thể chitosome đường kính 40 - 70nm... Ngoài ra trong tế bào chất còn có các vi quản rỗng ruột, đường kính 25nm (microtubule), các vi sợi đường kính 5 - 8nm (microfilament), các thể màng biên (plasmalemmasome), plasmit chứa các chất như protit, lipid, glucid, enzyme, muối vô cơ, các chất điện phân và các chất hữu cơ hòa tan.

1.1.3. Đặc điểm cấu trúc và sinh sản của nấm

Nấm có hai bộ phận chính: bộ phận dinh dưỡng và bộ phận sinh sản.

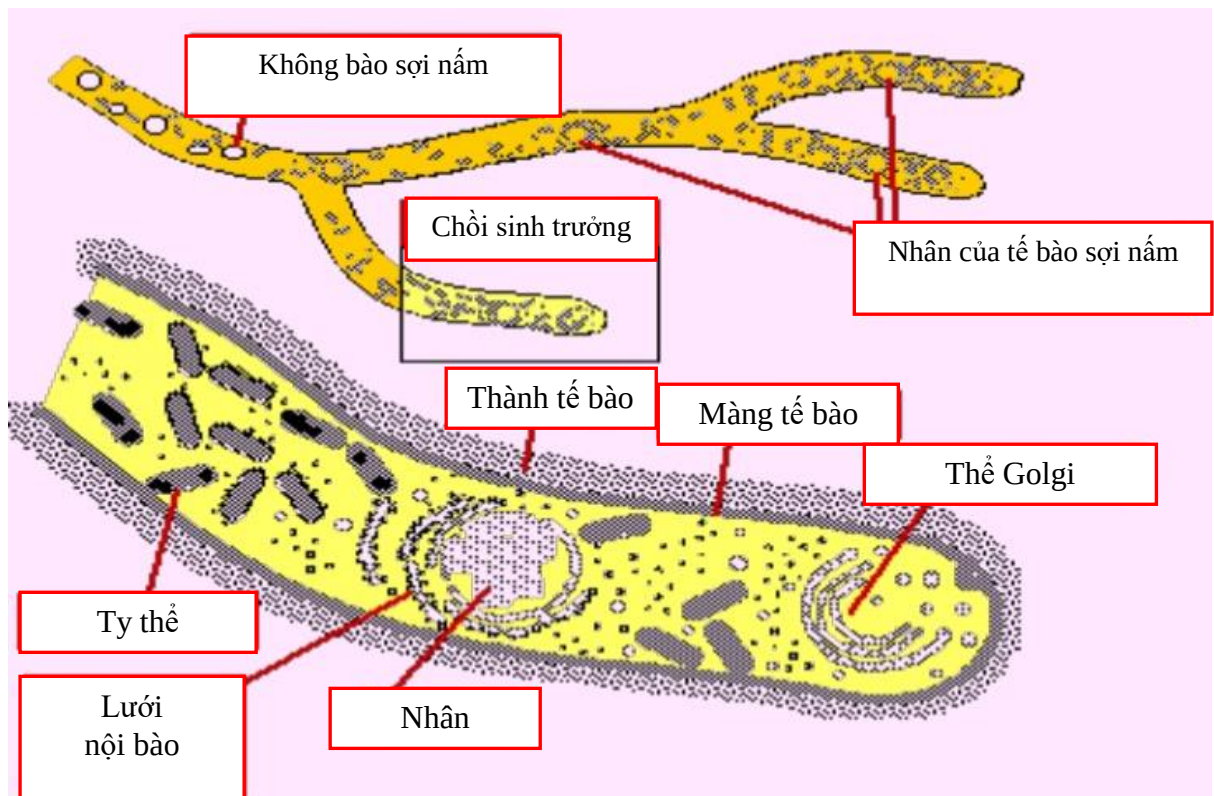
1.1.3.1. Bộ phận dinh dưỡng của nấm

Nấm gây bệnh thường có kích thước nhỏ, chỉ quan sát được dưới kính hiển vi nên thường gọi là vi nấm. Dựa vào hình thể, vi nấm được chia ra làm hai nhóm chính:

Nấm men: cấu tạo đơn bào, có hình tròn hoặc bầu dục, kích thước 3 - 15 μ m.

Nấm sợi: gồm những sợi tơ nấm có cấu tạo đa bào. Sợi nấm chia nhánh chằng chịt, ken chặt vào nhau tạo thành những khóm nấm. Nấm *Candida* khi ký sinh cũng tạo thành những sợi giả để xâm nhập sâu vào trong tổ chức.

Cấu tạo sợi nấm (hypha): có hai loại là sợi không vách ngăn có đường kính lớn (> 5 μ m) và sợi có vách ngăn có đường kính nhỏ (2 - 4 μ m), trong ống tế bào có nguyên sinh chất và nhân [4].



Nguồn: Slideshare.net

Hình 1.4. Cấu tạo sợi nấm

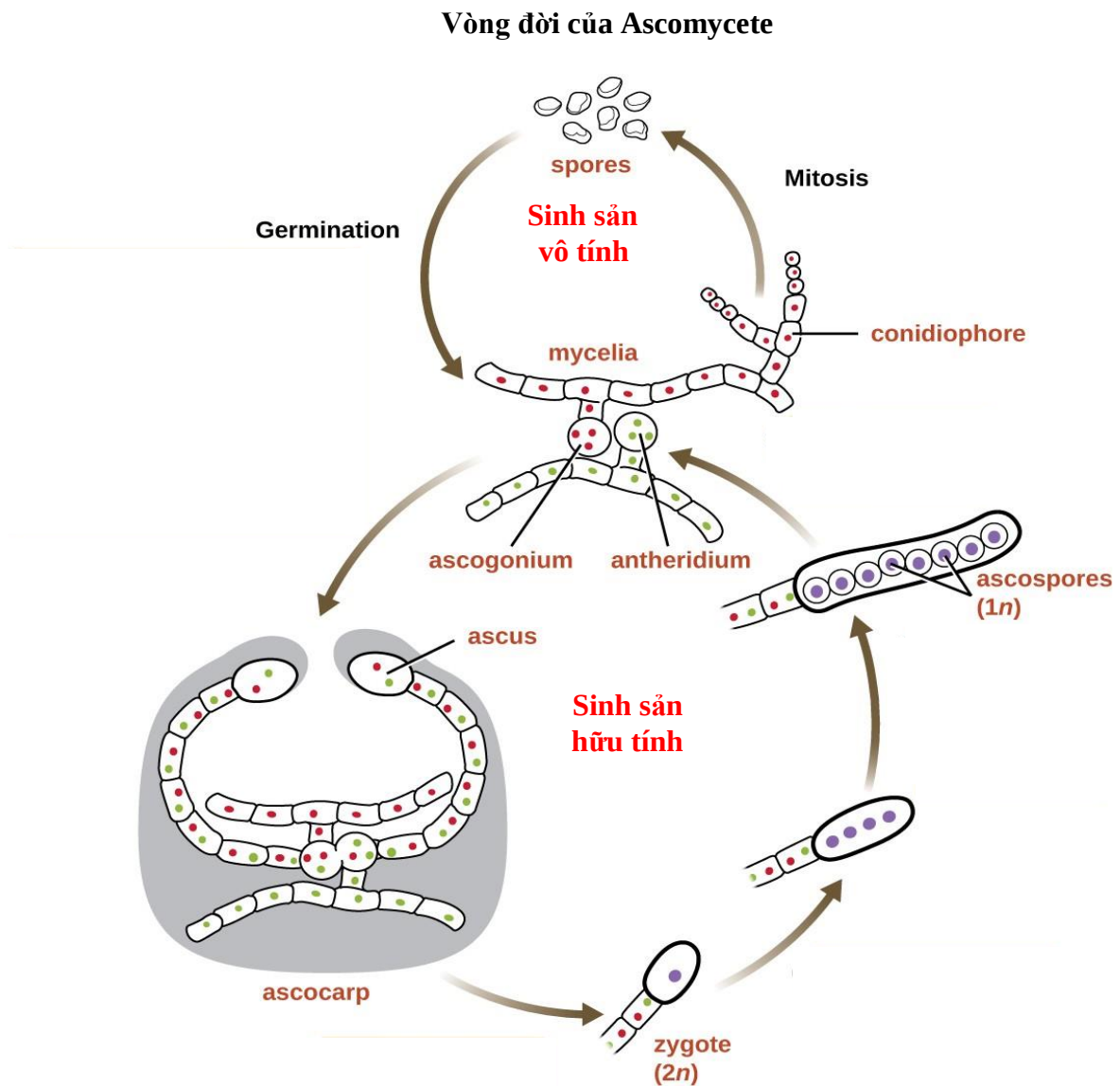
Đầu sợi nấm có hình viên trụ, phần đầu gọi là vùng kéo dài (extension zone). Lúc sợi nấm sinh trưởng mạnh mẽ đây là vùng thành tế bào phát triển nhanh chóng, vùng này có thể dài đến 30 μm . Dưới phần này thành tế bào dày lên và không sinh trưởng thêm được nữa. Màng nguyên sinh chất thường bám sát vào thành tế bào. Trên màng nguyên sinh chất có một số phần có kết cấu nếp gấp hay xoắn lại, người ta gọi là biên thể màng (plasmalemmasome) hay biên thể (lomasome). Nhiều khi chúng có tác dụng tiết xuất các chất nào đó.

1.1.3.2. Bộ phận sinh sản của nấm

Nấm sinh ra nhiều loại bào tử có hình thể và kích thước khác nhau. Người ta căn cứ vào hình thể, kích thước và cách sắp xếp bào tử của nấm để định loại nấm.

Lớp *Actinomycetes* không có bộ phận sinh sản, khi rơi vào vị trí mới, gặp điều kiện thuận lợi thì phát triển thành khóm nấm.

Các lớp nấm khác có những bộ phận sinh sản vô tính hoặc hữu tính tùy theo phương thức sinh sản.



Nguồn: Clinical Mycology^{2nd}

Hình 1.5. Sinh sản vô tính và sinh sản hữu tính ở lớp *Ascomycetes*

Phương thức sinh sản hữu tính: là sự phân chia có sự phối hợp nhân gồm các loại bào tử hữu tính như bào tử nang (ascospore), bào tử tiếp hợp (zygospore), bào tử noãn (oospore), bào tử đảm (basidiospore).

Phương thức sinh sản vô tính: là sự phân chia không có sự phối hợp nhân, đó là các loại bào tử vô tính, thường là do sợi nấm sinh ra, làm nhiệm vụ phát triển hoặc dự trữ hoặc làm cả hai nhiệm vụ trên.

Bào tử dự trữ thường có bào tương đặc và giàu chất dinh dưỡng. Bào tử dự trữ gồm: bào tử màng dày (chlamydoconidium), bào tử phấn (aleurioconidium), bào tử hình thoi (fusiform).

Bào tử phát triển có hai loại:

- Sinh ra từ thân nấm (thalic) gồm các bào tử mầm (blastoconidium), bào tử đốt (athroconidium), bào tử phấn (aleurioconidium) - đây là bào tử dự trữ nhưng đôi khi làm cả nhiệm vụ phát triển.
- Sinh từ thân nấm thành những tế bào riêng nhưng vẫn dính liền với thân nấm gọi là bào tử dính (conidium). Bào tử loại này khác nhau về kích thước, hình dạng và màu sắc, chúng có thể tạo thành khối hoặc chuỗi có hình chai, hình chổi hoặc hình hoa cúc.

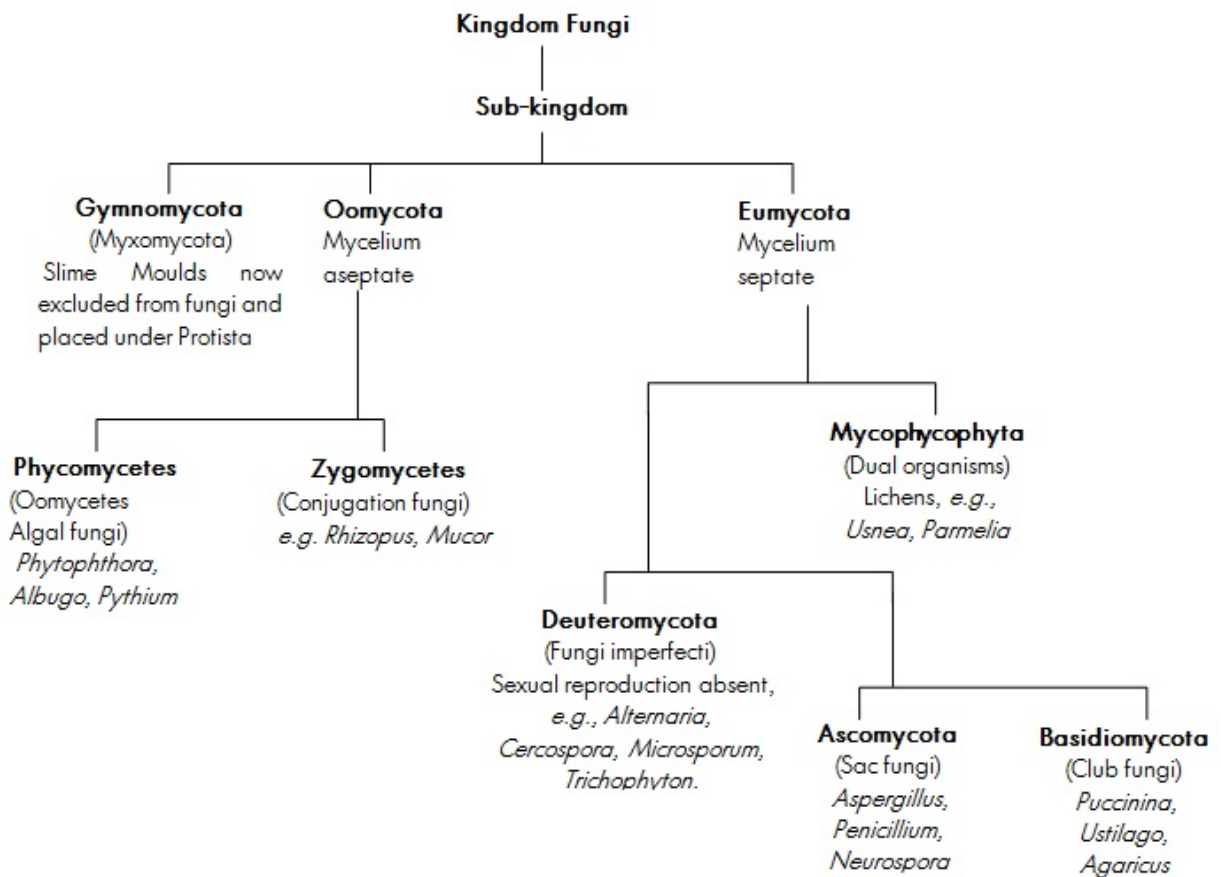
Nấm men sinh sản theo một quá trình gọi là nảy chồi. Một chồi nhỏ thường mọc ở phần cực của tế bào nấm, chồi này phình to ra và hình thành nên một tế bào con để rồi cuối cùng tách khỏi tế bào mẹ. Ở một vài loại nấm men các chồi này kéo dài ra, có loại tế bào dính vào nhau tạo thành chuỗi gọi là dạng giả sợi. *Candida* sinh sản theo phương thức vô tính, bào tử áo hay bào tử màng dày thường mọc ở đỉnh các giả sợi.

1.1.4. Phân loại nấm, bệnh do nấm gây ra và cơ chế gây bệnh

1.1.4.1. Phân loại nấm

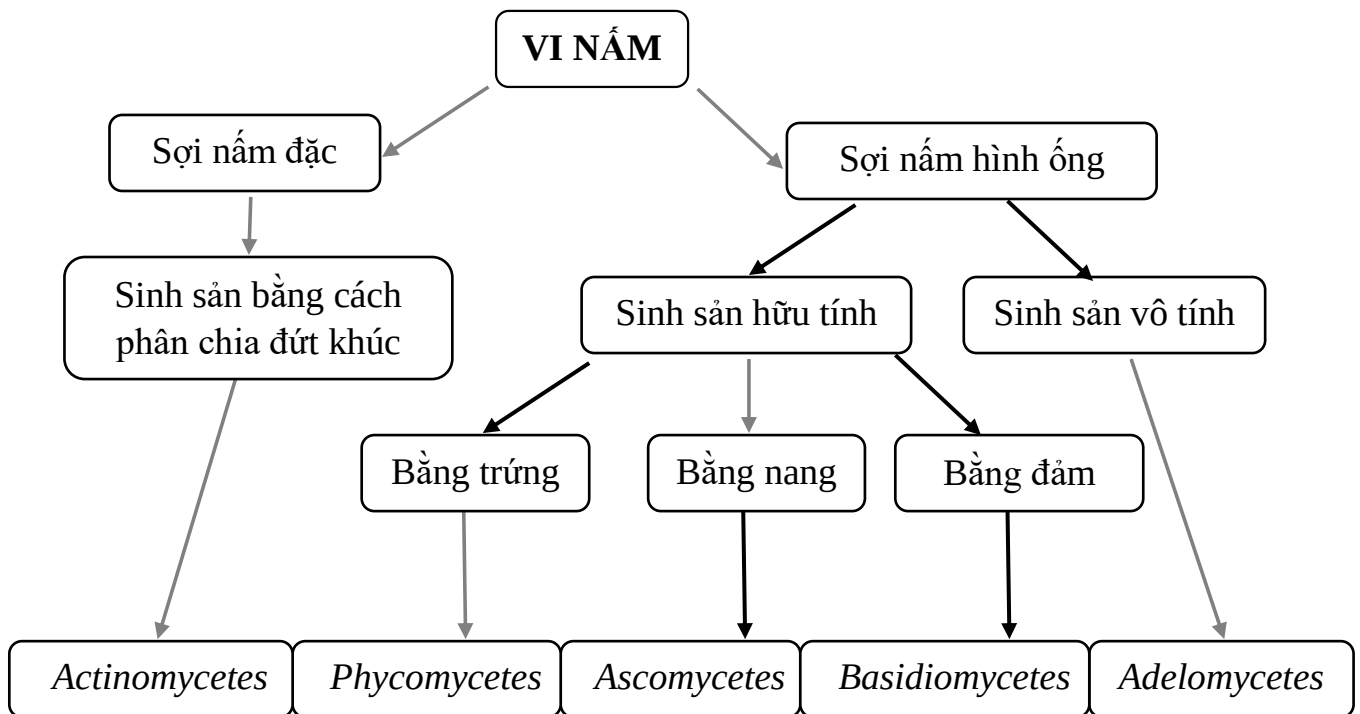
Có khoảng trên ba trăm loài vi nấm có thể gây bệnh ở người. Vi nấm gây bệnh được chia ra làm hai loại chính là nấm sợi (mould) và nấm men (yeast), cũng có một số loài nấm lưỡng hình (dimorphic) là nấm men khi gây bệnh ở người và nấm sợi trong môi trường nuôi cấy.

Phân loại giới nấm dựa vào cấu trúc, hóa sinh và sinh học phân tử. Nấm được chia thành lớp, bộ, họ, giống/ chi và loài [1].



Nguồn: toppr.com

Hình 1.6. Phân loại nấm



Hình 1.7. Phân loại vi nấm

Lớp *Basidiomycetes* không có loài nào ký sinh ở người

Lớp *Actinomycetes* gây bệnh ở chân, hàm, bẹn

Lớp *Phycomycetes* gây những bệnh hiểm gặp ở da và niêm mạc

Lớp *Ascomycetes* gây tổn thương ở da, tóc, móng, toàn thân. Trong lớp này có họ *Blastomyces*, *Histoplasma* thuộc bộ *Endomycetales* và giống *Aspergillus* trong họ *Aspergillaceae* thuộc bộ *Plectascales* có thể gây bệnh.

Lớp *Adelomycetes* mang tính chất của một loài nấm tạm thời, loài nào sau khi phát hiện được những hình thể sinh sản hữu tính sẽ được chuyển sang một trong các bộ trên.

Trong lớp này có họ *Candida* thuộc bộ *Blastosporae*. Nấm *Candida* có rất nhiều loài khác nhau đều có khả năng gây bệnh tương tự.

1.1.4.2. Phân loại bệnh do nấm gây ra

Nấm có thể gây ra 4 loại bệnh [5]:

- Dị ứng với nấm (Hypersensitivity): là phản ứng quá mẫn đối với nấm mốc và bào tử nấm.
- Nhiễm độc nấm (Mycotoxicosis): người hoặc động vật ăn phải thức ăn nhiễm nấm sinh ra các độc tố gây nhiễm độc.
- Ngộ độc nấm (Mycetismus): ngộ độc cấp do nấm, có thể dẫn tới tử vong.
- Nhiễm trùng do nấm (Infection): hầu hết các loại nấm gây ra nhiễm trùng do nấm không sinh độc tố nhưng chúng có khả năng gây ra các rối loạn sinh lý như làm tăng tỷ lệ chuyển hóa, biến đổi chuyển hóa và cấu trúc màng tế bào. Hầu hết nấm có thể chịu đựng được nhiệt độ khá cao và có thể tồn tại được dưới tác động của các chất oxy hóa khử, phân giải của đại thực bào, do đó nấm có thể chịu đựng được sức đề kháng của cơ thể vật chủ. Việc nhiễm trùng do nấm thường phụ thuộc vào số lượng bào tử nấm bị nhiễm và sức đề kháng của cơ thể vật chủ.

Trong thực tế lâm sàng thường phân loại bệnh nấm như sau:

- Bệnh nấm nông hoặc nấm da là các bệnh nấm ở lớp ngoài da, móng, tóc, hiếm khi lan vào tổ chức sâu hơn hoặc vào tạng
- Bệnh nấm dưới da: gây ra các bệnh khu trú ở vùng dưới da, thường liên quan đến chi dưới, ít khi lan rộng toàn thân.
- Bệnh nấm toàn thân hay bệnh nấm hệ thống: có thể gây bệnh ở các tạng sâu và có thể lan rộng. Mỗi một loại nấm có thích ứng với từng tạng, từng cơ quan.

- Bệnh nấm cơ hội: là các trường hợp nhiễm nấm trên cơ địa có suy giảm miễn dịch, ít liên quan đến độc tố.

Dựa vào vị trí gây bệnh, cũng có thể chia bệnh nấm làm hai loại:

- Nhiễm nấm sâu, nhiễm nấm xâm lấn: nấm xâm nhập vào các mô của cơ thể như các loại nấm nội tạng, nấm não, nhiễm nấm máu...
- Nhiễm nấm nông: gồm các loại nấm da và niêm mạc

1.1.4.3. Cơ chế gây bệnh của nấm

Hầu hết các loại nấm thường sống hoại sinh, tồn tại và phát triển trên thực vật hoặc trong đất, ít khi thích ứng trong cơ thể người. Do đó, người khỏe mạnh ít khi mắc bệnh nấm. Khi xâm nhập vào cơ thể, nấm gây ra một sự thách thức đối với hệ miễn dịch của cơ thể vật chủ.

Khi một bào tử nấm bị nhiễm vào cơ thể, ở trạng thái nghỉ không hoạt động, nhưng sau đó nó sẽ chuyển hóa trong cơ thể vật chủ, nảy mầm và lớn lên, sinh ra thể sợi để xâm nhập vào mô. Sợi nấm, bào tử, bào tử đính hoặc tế bào nấm men, mỗi loại có một đặc trưng kháng nguyên khác nhau [5].

- Sự đồng hóa nitrogen

Nitrogen là chất cần thiết cho hầu hết các quá trình sinh tổng hợp của nấm, và giống như carbon, phải được đồng hóa với số lượng lớn. Do đó, để nấm gây bệnh tồn tại, phát triển và tồn tại trong vật chủ nấm cần thiết cả hợp chất nitơ và carbon từ vật chủ. Nấm khai thác các loại nguồn nitơ khác nhau từ vật chủ. Trong trường hợp không có nguồn nitơ ưa thích, chẳng hạn như amoniac hoặc một số axit amin, các loại nấm này có thể sử dụng các hợp chất như protein hoặc polyamines. Do đó, nấm phá hủy các hợp chất protein của cơ thể vật chủ. Ví dụ, trong quá trình lây nhiễm, *Candida albicans* tiết ra nhiều loại men tiêu protein (secreted aspartic proteases - SAPS), đây là một trong những thuộc tính độc lực của loại nấm này.

- Sự đồng hóa carbon

Đồng hóa carbon là điều cần thiết cho việc sinh sôi của nấm, sự phát triển nhanh chóng của nấm trong vật chủ phụ thuộc vào sự hấp thu và chuyển hóa hiệu quả của các nguồn carbon có sẵn. Chúng có thể bao gồm các loại đường lên men (như glucose, fructose và galactose) và các nguồn carbon không thể phân hủy (như axit amin và axit hữu cơ).

- Sự đồng hóa các vi chất dinh dưỡng

Sự tồn tại và phát triển của nấm trong cơ thể vật chủ không chỉ phụ thuộc vào các chất dinh dưỡng chủ yếu như nitơ và carbon mà còn cần thiết các vi chất dinh dưỡng khác, đặc biệt là các yếu tố vi lượng. Trong số các kim loại quan trọng nhất là sắt, kẽm, mangan và đồng, tất cả đều cần thiết cho chức năng của nhiều protein và enzyme của nấm. Nấm cần các kim loại thiết yếu này để có thể xâm nhập vào các tế bào, các hóc tự nhiên của vật chủ. Nhiễm nấm làm rối loạn cân bằng nội môi của các yếu tố vi lượng trong cơ thể vật chủ của động vật có vú.

Như vậy, khi nấm xâm nhập vào cơ thể vật chủ, nấm sẽ đồng hóa các chất dinh dưỡng có sẵn trong vật chủ, để tiêu hóa những nguồn dinh dưỡng này, từ đó nấm nhân lên và phát triển trong cơ thể vật chủ. Những vị trí cung cấp nguồn dinh dưỡng này phức tạp và đa dạng, bao gồm cả bề mặt da, niêm mạc, hệ tiết niệu sinh dục, đường tiêu hóa, máu và các cơ quan nội tạng. Những hệ cơ quan này khác nhau về nồng độ carbon và nitơ cũng như hàm lượng vi chất dinh dưỡng [6], [7].

1.2. DỊCH TỄ HỌC LÂM SÀNG NHIỄM NẤM Ở TRẺ SƠ SINH

1.2.1. Các nghiên cứu về nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh

1.2.1.1. Trên thế giới

Trong những năm gần đây, có nhiều nghiên cứu về nhiễm trùng do nấm ở trẻ sơ sinh được thực hiện tại nhiều nước trên thế giới.

Ở trẻ đủ tháng, tỷ lệ nhiễm trùng do nấm thường không cao. Theo một nghiên cứu tại Mỹ của Rabalais thực hiện từ năm 1986 - 1993 trên 3033 trẻ sơ sinh > 2500gr vào điều trị tại đơn vị hồi sức tích cực sơ sinh (NICU) có 17 trường hợp nhiễm trùng do nấm, chiếm tỷ lệ 0,6%, trong đó 13 trẻ (chiếm tỷ lệ 76%) là nhiễm nấm bẩm sinh [8].

Ở trẻ đẻ non, tỷ lệ nhiễm trùng do nấm thường cao hơn, theo một nghiên cứu ở Israel của Makhoul trên 4445 trẻ sơ sinh trong 10 năm (1989-1998), tỷ lệ nhiễm trùng huyết do nấm ở trẻ sơ sinh non tháng dao động từ 3,8 - 12,9%. Tác nhân gây bệnh là *Candida albicans* chiếm tỷ lệ 42,8%, *Candida parapsilosis* chiếm 26,5% và *Candida tropicalis* 20,4% [9].

Nghiên cứu của FAY El-Marsy và cộng sự trong 5 năm (1994 - 1998) tại Anh trên tổng số 2983 trẻ sơ sinh nhập viện, tỷ lệ nhiễm nấm là 0,8% với 24 trẻ mắc bệnh. Trong đó có 18 trẻ nhiễm *Candida albicans*, 5 trẻ nhiễm *Candida parapsilosis* và 1 trẻ nhiễm *Candida krusei* [10].

Từ tháng 3/2007 đến tháng 8/2008, Montagna và cộng sự nghiên cứu trên 1597 trẻ sơ sinh nhập viện tại 6 trung tâm hồi sức sơ sinh miền nam Italia có 21 trẻ nhiễm nấm xâm lấn, chiếm tỷ lệ 1,3%. Trong đó với các trẻ có cân nặng $\leq 1000\text{gr}$, $\leq 1500\text{gr}$ và $\leq 2500\text{gr}$ tỷ lệ nhiễm nấm lần lượt là 4,7%, 4% và 0,2% [11].

Tại Canada, một nghiên cứu của Barton M và cộng sự trên các trung tâm NICU ở 9 thành phố từ năm 2001 - 2006 cho thấy tỷ lệ nhiễm *Candida* ở trẻ đẻ non < 750gr, < 1000gr, < 1500gr lần lượt là 4,2%, 2,2% và 1,5%. Cũng trong nghiên cứu này cho kết quả là nhiễm *Candida* ở hệ thần kinh trung ương chiếm 50%, nhiễm *Candida* bẩm sinh chiếm 31%. Tỷ lệ tử vong chung là 45%, trong đó nhiễm *Candida* ở hệ thần kinh trung ương có tỷ lệ tử vong lên đến 57%. Viêm ruột hoại tử được coi là yếu tố nguy cơ độc lập gây nhiễm nấm [12].

Theo một nghiên cứu tại Pháp của Brissaud O và cộng sự năm 2011, bằng chứng cho thấy tỷ lệ nhiễm *Candida* ở trẻ > 2500gr là 0,3%, trong khi đó tỷ lệ này ở trẻ < 1000gr là 20%. Có đến 50% trẻ nằm tại NICU nhiễm *Candida* sau 1 tuần nằm viện, *Candida albicans* là tác nhân chủ yếu. Tỷ lệ tử vong sơ sinh liên quan đến bệnh lý này là 20 - 50% [13].

Tại Anh, nhóm nghiên cứu của Oeser C tiến hành khảo sát trên 14 đơn vị điều trị sơ sinh từ 2004 - 2010 cho thấy tỷ lệ nhiễm trùng do nấm là 0,24%, Tỷ lệ nhiễm cao nhất ở những trẻ < 1000gr (1,88%). Tác nhân gây bệnh chính là *Candida albicans* (69%) và *Candida parapsilosis* (20%) [14].

Tại Trung quốc, Xia H và cộng sự thực hiện một nghiên cứu từ 2009 - 2011 trên trẻ đẻ non tại 11 đơn vị NICU cho thấy tỷ lệ nhiễm *Candida* là 0,74%. Ở trẻ cân nặng thấp, tỷ lệ nhiễm là 3,42%. Tỷ lệ tử vong chung là 19,3%. *Candida albicans* chiếm 57,4% và có 22,4% trẻ bị viêm màng não do nấm [15].

Từ tháng 10/ 2009 - 7/ 2011 tại Ấn độ, Femitha P và cộng sự nghiên cứu trên 27076 trẻ sơ sinh sống, kết quả có 36 bệnh nhân nhiễm trùng do nấm, với tỷ lệ là 1,3‰. Ba phần tư trong số đó là trẻ đẻ non với tuổi thai trung bình 32 tuần và cân nặng là $1622,7 \pm 577,2\text{gr}$. Trẻ sơ sinh rất nhẹ cân có nguy cơ nhiễm trùng do nấm cao hơn đáng kể so với trẻ lớn hơn (3,1% so với 0,43%, OR 7,41, 95% CI: 3,82 - 14,39, $p < 0,0001$). Phân tích các dữ liệu lâm sàng cho thấy shock (94,4%), xuất huyết (69,4%), viêm ruột hoại tử (30,6%) là các nguyên nhân tử vong phổ biến nhất. Tỷ lệ tử vong chung là 44,4%. Nghiên cứu này cũng cho thấy giảm tiểu cầu nặng ($< 50.000/\text{mm}^3$) là biểu hiện nhiều nhất (77,8%) trên kết quả xét nghiệm máu. Kết quả nuôi cấy cho kết quả *Candida glabrata* là tác nhân gây bệnh trong 16 trường hợp (44,4%), tiếp theo là *C. albicans* với 9 trường hợp (25%). Với những trường hợp không phải là *albicans* tỷ lệ tử vong cao hơn (55,5% so với 11,1%). Tất cả các chủng

nấm gây bệnh nuôi cấy được trong nghiên cứu này vẫn còn nhạy cảm với amphotericin B và fluconazole. Có 3 bệnh nhân có nhiễm trùng huyết do *Klebsiella pneumoniae* kèm theo [16].

Nghiên cứu trong 7 năm từ 2002 - 2008 tại bệnh viện Hospital das Clínicas (Brazil) có 36 trẻ sơ sinh nhiễm trùng do nấm *Candida parapsilosis*. Trong 36 bệnh nhân này, có 12 trẻ cân nặng lúc sinh < 1000gr, 28 trẻ có đặt catheter tĩnh mạch trung tâm tại thời điểm được chẩn đoán xác định nhiễm trùng do nấm, thời gian trung vị từ lúc chẩn đoán nhiễm nấm đến khi rút catheter là 3,5 ngày. Có 16 bệnh nhân (52%) đang điều trị cephalosporin thế hệ 3 và 15 bệnh nhân (48%) đang được điều trị carbapenems. Có 9 trẻ có nhiễm trùng huyết kèm theo, trong đó 5 trường hợp nhiễm *Coagulase-negative Staphylococci*, ba trường hợp nhiễm *Acinetobacter baumannii*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, một trường hợp nhiễm đồng thời *Streptococcus agalactiae* và *Staphylococcus aureus* [17].

Các nhiễm trùng do nấm khác như nhiễm *Aspergillus*, *Kodamaea Ohmeri*, *Zygomycota*, *Malassezia* hiếm gặp ở trẻ sơ sinh, tuy nhiên tiến triển thường rất nặng với tỷ lệ tử vong cao [18], [19], [20], [21].

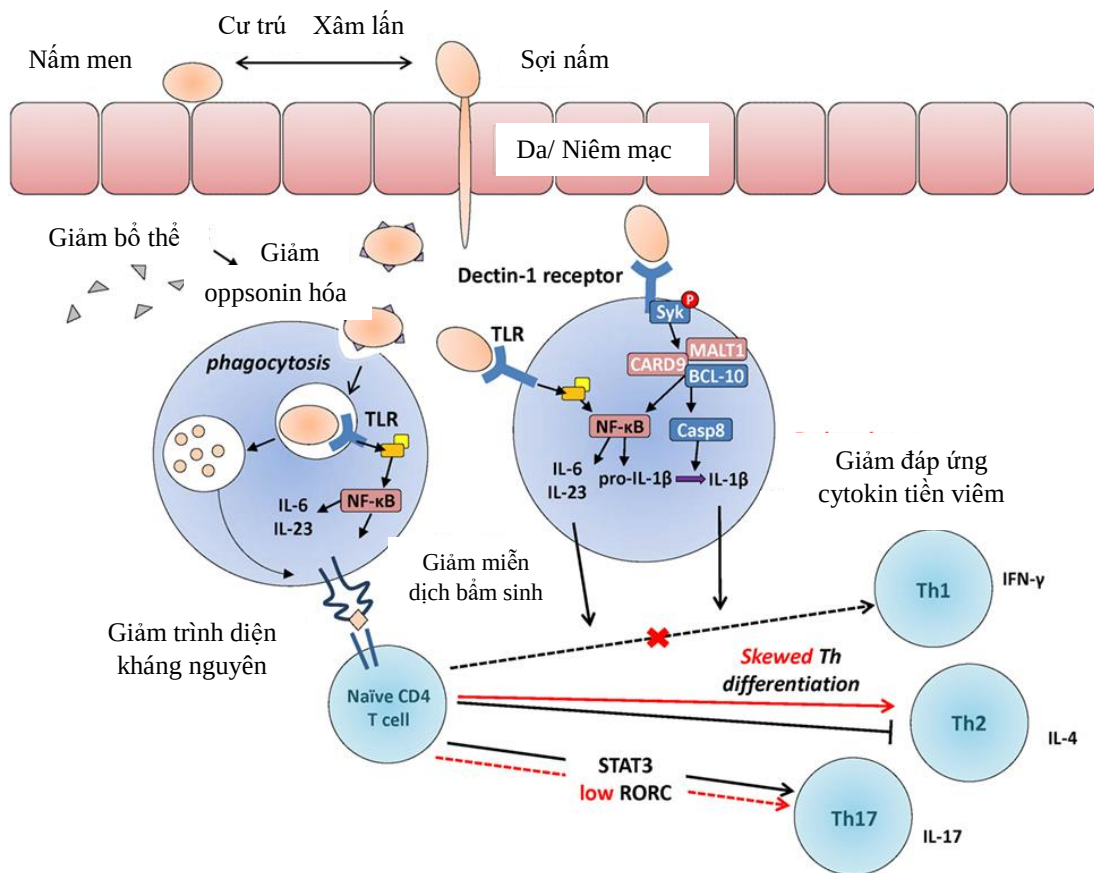
1.2.1.2. Tại Việt Nam

Một nghiên cứu tại Bệnh viện Nhi Đồng 2 từ 10/2004 - 12/2005 có 22 trẻ sơ sinh nhiễm nấm *Candida* máu. Tỷ lệ nhiễm trùng huyết do *Candida* ở trẻ sơ sinh nhập viện là 1,02%. Tỷ lệ nam:nữ là 1,75:1. Trẻ sơ sinh non tháng chiếm tỷ lệ 54,5%. Triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng thường gặp là giảm trương lực cơ, phản xạ yếu, sốt và giảm hoặc không tăng cân; tăng CRP và giảm tiểu cầu. *Candida albican* chiếm 50%. Tất cả các trẻ được điều trị với amphotericin B. Thời gian điều trị trung bình $23,11 \pm 4,17$ ngày. Tỷ lệ tử vong thô 27,2%. Tỷ lệ tử vong do nấm *Candida* 13,6%. Các yếu tố nguy cơ bao gồm sử dụng kháng sinh, nuôi ăn tĩnh mạch, thời gian nằm viện kéo dài và phẫu thuật [22].

1.2.2. Nhiễm trùng do nấm ở trẻ sơ sinh

1.2.2.1. Đặc điểm miễn dịch của trẻ sơ sinh

Sự thiếu hụt chức năng của bạch cầu hạt và các tế bào khác có liên quan đến đáp ứng với tình trạng nhiễm khuẩn đã được chứng minh ở cả trẻ đủ tháng và trẻ đẻ non. Trẻ đẻ non còn có nồng độ Immunoglobulin thấp. Cả trẻ đẻ non và trẻ đủ tháng đều có sự thiếu hụt về mặt số lượng và chất lượng bạch cầu.



Nguồn: frontiersin.org

Hình 1.8. Đáp ứng miễn dịch chống lại nấm ở trẻ sơ sinh

- **Bạch cầu đa nhân trung tính**

Sự thiếu hụt cả về số lượng và chất lượng của hệ thống thực bào khiến trẻ sơ sinh dễ bị tổn thương bởi nhiễm khuẩn. Khả năng hóa ứng động bạch cầu đa nhân trung tính ở cả trẻ đẻ non và đủ tháng đều kém. Bạch cầu đa nhân

trung tính ở trẻ sơ sinh thiếu khả năng bám dính, tập hợp và khả năng biến hình do đó làm chậm quá trình đáp ứng với nhiễm khuẩn. Khi được opsonin hóa đầy đủ khả năng thực bào và tiêu diệt của bạch cầu đa nhân trung tính ở trẻ sơ sinh và người lớn là tương đương nhau. Khả năng oxy hóa kém của bạch cầu đa nhân trung tính ở trẻ sơ sinh cũng là nguy cơ làm tăng tình trạng nhiễm khuẩn, đặc biệt ở trẻ đẻ non.

Sự giảm bạch cầu đa nhân trung tính ở trẻ đẻ non cũng là một yếu tố nguy cơ làm tăng tình trạng nhiễm khuẩn. Sự suy giảm về mặt số lượng đi kèm với sự suy giảm về mặt chất lượng, nguyên nhân là do nhiều tế bào chưa được biệt hóa hoàn toàn lưu hành trong máu. Dự trữ bạch cầu đa nhân trung tính ở trẻ sơ sinh chỉ bằng 20 - 30% so với người lớn. Tỷ lệ tử vong cao còn liên quan đến sự giảm bạch cầu đa nhân trung tính do nhiễm khuẩn và suy tủy xương.

- **Hệ thống monocyte và đại thực bào**

Hệ thống monocyte và đại thực bào bao gồm các tế bào monocyte lưu hành trong máu và các đại thực bào ở các mô, đặc biệt là gan, lách và phổi. Hoạt động của các đại thực bào bao gồm trình diện kháng nguyên, thực bào, điều hòa miễn dịch. Số lượng tế bào monocyte ở trẻ sơ sinh bình thường nhưng chức năng của đại thực bào trong hệ thống liên võng nội mô kém, đặc biệt là ở trẻ đẻ non. Khả năng hóa ứng động của monocyte ở trẻ đẻ non và trẻ đủ tháng đều kém do đó làm giảm đáp ứng viêm ở các mô. Về mặt chức năng, sự chưa trưởng thành thể hiện ở việc kém sản xuất các cytokine và các yếu tố hoá ứng động, gặp rõ rệt nhất ở trẻ đẻ non. Khả năng thực bào của các đại thực bào ở trẻ sơ sinh thường giảm trong 15 ngày đầu. Trẻ càng non khả năng thực bào của các đại thực bào càng thấp.

- **Tế bào diệt tự nhiên (Natural killer cells - NK)**

Là những tế bào thuộc phân nhóm của lymphocytes có khả năng tiêu diệt các tế bào nhiễm virus, các tế bào, Tuy nhiên khả năng gây độc tế bào của tế bào NK ở trẻ sơ sinh kém hơn người lớn.

- **Tế bào lympho T**

Khả năng sản xuất ra các lymphokine kém dẫn đến khả năng hoạt hoá các tế bào “diệt” tự nhiên, đại thực bào kém và tác động ngay trên các lympho bào T để lựa chọn các tế bào tại ổ nhiễm khuẩn và nhân lên sự đáp ứng miễn dịch, dẫn đến các tế bào lympho ở trẻ sơ sinh bị suy giảm chức năng, không có khả năng tập trung một cách có hiệu quả ở các ổ viêm. Khả năng sản xuất interleukine 2 kém dẫn đến việc giảm khả năng tăng sinh bạch cầu lympho.

- **Các Immunoglobulin**

IgG: được tổng hợp từ tuần thứ 12 của bào thai nhưng số lượng rất thấp. Các IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) có mặt trong bào thai phần lớn có nguồn gốc từ mẹ. IgG có vai trò chống lại một số vi khuẩn Gram (+), virus nhưng không chống được vi khuẩn Gram (-). Như vậy đứa trẻ nhờ IgG của mẹ chống lại được một số vi khuẩn mà người mẹ đã bị mắc.

Sự di chuyển qua rau thai các IgG của mẹ xảy ra rất sớm, từ tuần thứ 8, nhưng chủ yếu là trong 3 tháng cuối của thời kỳ bào thai. IgG từ mẹ truyền qua rau thai chỉ tăng mạnh từ tuần thứ 36 của thời kỳ mang thai.

Tính đặc thù của các IgG ở mạch máu rốn phụ thuộc vào sự tiếp xúc với kháng nguyên và đáp ứng miễn dịch của mẹ trước đó. Ở trẻ đẻ non, nồng độ IgG liên quan trực tiếp với tuổi thai, khi thai được 18 - 20 tuần, IgG nồng độ <100 mg/ dL và đạt 400 mg / dL ở 30 - 32 tuần tuổi thai. Các nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nồng độ kháng thể IgG đặc hiệu với Streptococcus nhóm B giữa máu con (rốn) và mẹ lần lượt là 1,0; 0,5 và 0,3 ở trẻ đủ tháng; 32 tuần và 28 tuần. Như vậy, trẻ đẻ càng non, càng thiếu hụt kháng thể IgG. Hơn nữa, nồng độ IgG nhận được từ mẹ giảm ngay sau sinh được gọi là sự giảm gammaglobulin sinh lý.

IgM: được tổng hợp từ tuần thứ 11 của bào thai, không qua rau thai nhưng liên kết với các nội độc tố của trực khuẩn gram (-) mạnh hơn nhiều so với IgG, nhờ đó trẻ có khả năng chống lại các vi khuẩn gram (-), virus. Khi IgM tăng trong máu là có biểu hiện nhiễm khuẩn. Chỉ có IgG và IgM là có khả năng liên kết và hoạt hoá bổ thể.

IgE: các IgE được phát hiện từ tuần thứ 11 của bào thai nhưng với nồng độ rất thấp, gần như không tìm thấy trong máu cuống rốn.

- **Bổ thể**

Hệ thống bổ thể bao gồm một chuỗi các protein hoạt động qua lại tạo nên các phản ứng dây chuyền đối với các protein quan trọng khác trong việc chống lại các tế bào vi khuẩn (yếu tố hóa ứng động và phân hủy tế bào, opsonin). Hiện tượng cơ bản trong phản ứng dây chuyền của bổ thể là sự chuyển từ phân tử C3 thành phân tử C3b hoạt tính. Hiện tượng này có thể tạo ra bằng con đường cổ điển hoặc con đường tắt. Dây chuyền bổ thể nhân lên sự trả lời miễn dịch chống lại nhiễm khuẩn: chỉ 1 phân tử IgG có thể tạo nên 10.000 phức hợp tấn công màng.

Sự tổng hợp bổ thể của bào thai xuất hiện từ tuần thứ 6 - 14 của thai kỳ nhưng tới lúc sinh cũng chỉ đạt 50 - 65% nồng độ trong huyết thanh người lớn. Nồng độ và hoạt tính của bổ thể ở trẻ đẻ non thấp hơn trẻ đủ tháng. Bổ thể không qua rau thai nên trẻ đẻ non nồng độ bổ thể càng thấp. Nồng độ bổ thể thấp hằng định ở bào thai nhỏ hơn 33 tuần, chỉ tăng dần lên sau giai đoạn này. Nồng độ bổ thể giảm và thiếu các enzym đảm bảo cho hoạt động của chúng. Nồng độ trong huyết thanh giảm kèm theo giảm chức năng.

- **Các Cytokin và các hóa chất trung gian**

Sự đáp ứng với nhiễm khuẩn và biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân liên quan đến sự cân bằng giữa các cytokin gây viêm và chống viêm. Những hóa

chất trung gian đã được nghiên cứu ở trẻ sơ sinh bao gồm yếu tố hoại tử mô (TNF), interleukin 1 (IL-1), IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, yếu tố hoạt hóa tiểu cầu và các leukotrien. Khả năng sản xuất các cytokin ở trẻ sơ sinh còn yếu do liên quan đến sự chưa trưởng thành của các đại thực bào [23].

1.3.2.2. Các yếu tố nguy cơ nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh

Nguy cơ nhiễm nấm xâm lấn cao ở trẻ sinh nhẹ cân (VLBW) <1500gr [24]. Trẻ sơ sinh bị suy giảm miễn dịch thường cần các biện pháp can thiệp như đặt catheter mạch trung tâm (CVC), đặt nội khí quản, sử dụng kháng sinh phổ rộng và nuôi dưỡng tĩnh mạch. Ngoài ra, trẻ còn có thể được điều trị steroids, các thuốc kháng acid dạ dày. Tất cả những yếu tố này làm cho trẻ có nguy cơ nhiễm nấm cao [25].

Hầu hết các trường hợp nhiễm trùng do nấm ở trẻ sơ sinh mà chủ yếu là sơ sinh non tháng đều do các loài *Candida*; một số rất ít được cho là do *Malassezia*, *Zygomycetes*, hoặc *Aspergillus* gây bệnh. *Candida albicans* và *Candida parapsilosis* chiếm 80 - 90% các tác nhân gây bệnh. Ở trẻ đẻ non hệ thống miễn dịch chưa trưởng thành, hàng rào bảo vệ da và niêm mạc chưa phát triển của đầy đủ nên *Candida* có thể dễ dàng xâm nhập vào máu. Vì vậy, việc điều trị nhiễm nấm xâm lấn thường rất khó ở trẻ non tháng.

Các yếu tố nguy cơ bao gồm:

- Đẻ non, cân nặng thấp < 1500gr
- Điều trị các nhóm kháng sinh phổ rộng kéo dài (Cephalosporin thế hệ 3, Carbapenem)
- Điều trị thuốc kháng H2, điều trị steroids sau sinh
- Đặt catheter trung tâm
- Đặt nội khí quản thở máy
- Trẻ đang mắc các bệnh lý đường tiêu hóa: viêm ruột hoại tử, ú mật, tổn thương ruột khu trú...

- Nuôi dưỡng tĩnh mạch ngoại biên
- Trẻ sau phẫu thuật

1.2.2.3. Một số bệnh nhiễm trùng do nấm ở trẻ sơ sinh

- **Nhiễm trùng do nấm *Candida***

Nấm *Candida* có kích thước nhỏ (4 - 6 μm), hình bầu dục, vỏ mỏng, sinh sản bằng nảy mầm hoặc phân hạch. *Candida* bao gồm hơn 200 loài, là một loại nấm men rất đa dạng, đều không có chu kỳ sinh sản (Berkhout, 1923). Chỉ có một vài loài gây bệnh ở người (Odds, 1988). Các loài *Candida* quan trọng về mặt y khoa bao gồm: *Candida albicans*, *Candida (Torulopsis) glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida kefyr*, *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae*, *C. stellatoidea* và *Candida dubliniensis*. Trong đó *Candida albicans* là hay gặp nhất, ngoài ra còn có thể gặp *Candida tropicalis*, *Candida krusei* và *Candida parapsilosis*...



Trên môi trường nuôi cấy



Trên kính hiển vi điện tử

Nguồn: MicrobeWiki

Hình 1.9. *Candida albicans*

Nhiễm trùng do nấm ở trẻ sơ sinh chủ yếu do *Candida albicans*, tuy nhiên *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Candida glabrata* và một vài chủng khác cũng thường gặp trong nhiễm trùng bệnh viện.

Candida thường gây bệnh ở da và niêm mạc miệng trẻ sơ sinh. Nhiễm trùng huyết do *Candida* thường gặp ở những trẻ sơ sinh non tháng điều trị tại NICU [26]. Hiếm gặp hơn, có thể có nấm da bẩm sinh do *Candida*, nguyên nhân bởi sự lây nhiễm từ trong tử cung ở thời kỳ bào thai.

Candida đứng hàng thứ ba trong số các tác nhân gây nhiễm trùng huyết ở trẻ đẻ non, đặc biệt ở những trẻ sơ sinh rất non < 1000gr, tỷ lệ nhiễm vào khoảng 2,4 - 20,4%.

Khoảng 10% trẻ đủ tháng có lây nhiễm *Candida* từ mẹ trong khi sinh, tỷ lệ này ở trẻ đẻ non thậm chí còn cao hơn. Với những trẻ phải nằm điều trị kéo dài đến 1 tháng tại NICU, tỷ lệ nhiễm *Candida* lên đến trên 50%. Việc sử dụng các thuốc chẹn H2, kháng sinh phổ rộng làm gia tăng sự phát triển của *Candida* [27].

Các yếu tố nguy cơ liên quan đến nhiễm *Candida* ở trẻ sơ sinh bao gồm đẻ non, cân nặng thấp, điều trị kháng sinh phổ rộng kéo dài, phẫu thuật ổ bụng, đặt catheter tĩnh mạch trung tâm.

Ở trẻ đẻ non, hệ miễn dịch bao gồm các đại thực bào, các cytokin, các kháng thể bị thiếu hụt, các lớp của da chưa phát triển hoàn chỉnh, trẻ lại thường có các can thiệp như đặt nội khí quản, đặt catheter tĩnh mạch trung tâm, dùng kháng sinh phổ rộng kéo dài tạo điều kiện cho *Candida* phát triển. Bên cạnh đó, trẻ đẻ non dễ bị viêm ruột hoại tử, bệnh lý này thường phải điều trị kháng sinh dài ngày, nuôi dưỡng tĩnh mạch và có thể phải phẫu thuật. Đó cũng là những yếu tố làm tăng nguy cơ nhiễm *Candida*.

Các biểu hiện lâm sàng của nhiễm *Candida* ở trẻ đẻ non thường không đặc hiệu, bao gồm thay đổi thân nhiệt, li bì, ngừng thở, suy hô hấp, chướng bụng, tăng hoặc hạ đường huyết. Các xét nghiệm huyết học thường nhạy nhưng không đặc hiệu: giảm tiểu cầu gặp ở khoảng 80% trẻ đẻ non nhiễm *Candida* nhưng cũng gặp ở xấp xỉ 75% trẻ đẻ non nhiễm trùng huyết Gram âm và khoảng 50% trẻ đẻ non nhiễm trùng huyết Gram dương.

Nhiễm *Candida* ở hệ thần kinh trung ương rất thường gặp với các biểu hiện viêm não màng não, gây ra các ổ áp xe, tuy nhiên sự thay đổi ở dịch não tủy thường không đặc hiệu [28]. Viêm nội nhãn do *Candida* ít gặp hơn nhưng thường làm nặng nề hơn bệnh võng mạc ở trẻ đẻ non (ROP). Nhiễm *Candida* ở thận cũng là một vấn đề thường gặp với các tổn thương ở cả nhu mô và ống thận. Các cơ quan khác cũng có thể bị tổn thương bởi *Candida* như tim, xương khớp, gan, lách...

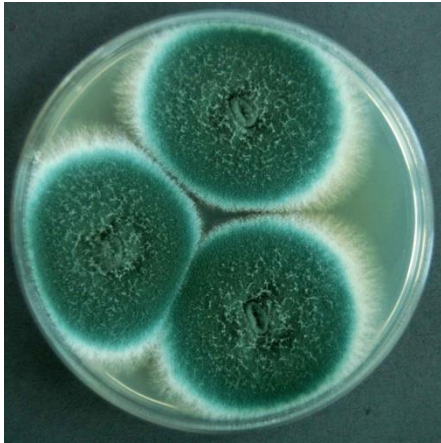
Thời gian điều trị nhiễm *Candida* được khuyến cáo là kéo dài 14 ngày kể từ lần cấy dương tính cuối cùng. Amphotericin B là thuốc thường được sử dụng tuy nhiên có thể gây nhiễm độc thận, hạ kali máu, hạ magiê máu. Fluconazole cũng là một thuốc rất thường được sử dụng để điều trị nhiễm *Candida*, đặc biệt là ở hệ tiết niệu. Tuy nhiên fluconazole không có tác dụng trên *Candida krusei* và trên một vài loại *Candida glabrata*.

- **Các nhiễm trùng do các loại nấm khác**

- Nhiễm trùng do nấm *Aspergillus*

Aspergillus là một trong những chủng nấm phổ biến nhất, có xấp xỉ 250 loài, trong đó gây bệnh phổ biến nhất là các loài *A. fumigatus*; *A. flavus*, *Aspergillus niger*, *A. nidulans*, và *Aspergillus ustus* [29].

Aspergillus thường xâm nhập theo đường hô hấp hoặc qua da và niêm mạc, bệnh có thể bắt đầu từ da sau đó tiến triển đến gây bệnh hệ thống hoặc ngược lại. Bệnh do nấm *Aspergillus* ít gặp ở trẻ sơ sinh, tuy nhiên bệnh có thể gây tổn thương ở nhiều cơ quan như da, niêm mạc, gan, thận, tuyến tụy, phổi và thậm chí gây áp xe não, nhìn chung tiên lượng thường rất nặng [2], [30].



Trên môi trường nuôi cấy



Trên kính hiển vi điện tử

Nguồn: Clinical Mycology 2nd

Hình 1.10. *Aspergillus fumigatus*

Voriconazole hiện nay được coi là loại thuốc được lựa chọn cho nhiễm *Aspergillus* xâm lấn vì có tác dụng tốt hơn so với amphotericin B [31].

Tuy nhiên amphotericin B deoxycholate và dẫn xuất lipid của nó là những lựa chọn thích hợp cho điều trị ban đầu những trường hợp nhiễm *Aspergillus* khi không thể dùng voriconazole [32], [33].

Caspofungin đã được khuyến cáo để điều trị nhiễm *Aspergillus* xâm lấn ở những bệnh nhân không thể dung nạp hoặc kháng các liệu pháp khác. Phương pháp phối hợp thuốc ban đầu thường không được chỉ định và nên dành cho những trường hợp thất bại trong điều trị [34].

- Nhiễm trùng do nấm *Cryptococcus*

Có khoảng 19 loài thuộc chi *Cryptococcus* đã được mô tả, nhưng chỉ có một vài loài gây bệnh ở người. Các mầm bệnh chủ yếu là *C. neoformans*, hai loài khác, *C. albidus* và *C. laurentii*, đã được báo cáo là hiếm khi gây ra bệnh ở người [35], [36].



Trên môi trường nuôi cấy



Trên kính hiển vi điện tử

Nguồn: MicrobeWiki

Hình 1.11. *Cryptococcus neoformans*

Cryptococcus neoformans là một nấm men có hình tròn hoặc hình bầu dục, có đường kính khoảng 4 - 6 μm trong mẫu bệnh phẩm, và có dạng nang với kích thước dao động từ 1 - 30 μm trong các mẫu phân lập từ thiên nhiên. Bốn chủng huyết thanh, A, B, C, và D của *C. neoformans* được nhận diện dựa trên các yếu tố quyết định kháng nguyên trên vỏ polysaccharide với serotype A phổ biến nhất. *Cryptococcus neoformans* được phân loại thành các loại gây bệnh: *C. neoformans* var. *neoformans* bao gồm các serotype A và D; và *C. neoformans* var. *gattii* bao gồm serotype B và C.

Ở trẻ sơ sinh, bên cạnh việc gây nên các tổn thương da *Cryptococcus neoformans* còn có thể gây viêm màng não [37], viêm phổi, nhiễm trùng huyết [38].

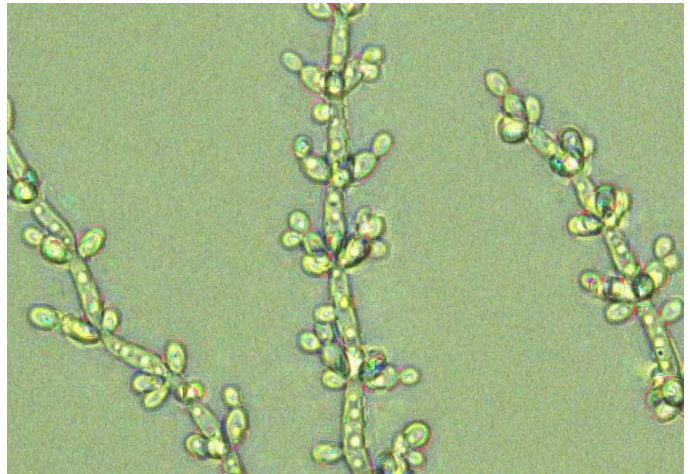
Fluconazole thường được sử dụng để điều trị nhiễm *Cryptococcus neoformans*. Tuy nhiên với những trường hợp nặng hoặc trên cơ địa suy giảm miễn dịch thường phối hợp amphotericin B với flucytosine, hoặc fluconazole với flucytosine. Thời gian điều trị từ 3 - 6 tháng, thậm chí có thể lên đến 12 tháng tùy từng trường hợp [39].

- Nhiễm trùng do nấm *Kodamaea Ohmeri*

Là một loại nấm hiếm gặp ở trẻ sơ sinh, thường liên quan đến các yếu tố nguy cơ như trẻ đẻ non, bệnh tim bẩm sinh, có thời gian điều trị kéo dài, có các can thiệp như sau phẫu thuật, đặt catheter, thở máy, sử dụng kháng sinh kéo dài [19].



Trên môi trường nuôi cấy



Trên kính hiển vi điện tử

Nguồn: sciencedirect.com

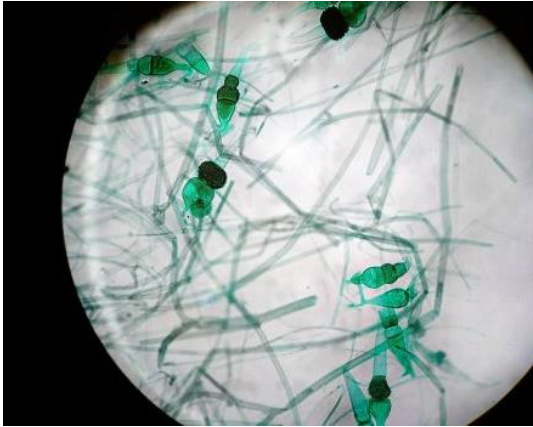
Hình 1.12. *Kodamaea Ohmeri*

Điều trị: *Kodamaea Ohmeri* hiện đã kháng lại fluconazole với tỷ lệ khá cao tuy nhiên vẫn còn nhạy cảm với amphotericin B và caspofungin [19], [40].

- Nhiễm trùng do nấm *Zygomycota*

Đây là một nhóm bệnh không hay gặp, nhưng thường gây tử vong, nấm bệnh do nấm của lớp *Zygomycetes*, chủ yếu thuộc chi *Rhizopus*.

Ở trẻ sơ sinh, trẻ đẻ non là đối tượng dễ mắc bệnh. Nhiễm *Zygomycota* ở trẻ sơ sinh chủ yếu là bệnh lý da và đường tiêu hóa [41].



Trên môi trường nuôi cấy



Trên kính hiển vi điện tử

Nguồn: tolweb.org

Hình 1.13. *Zygomycota*

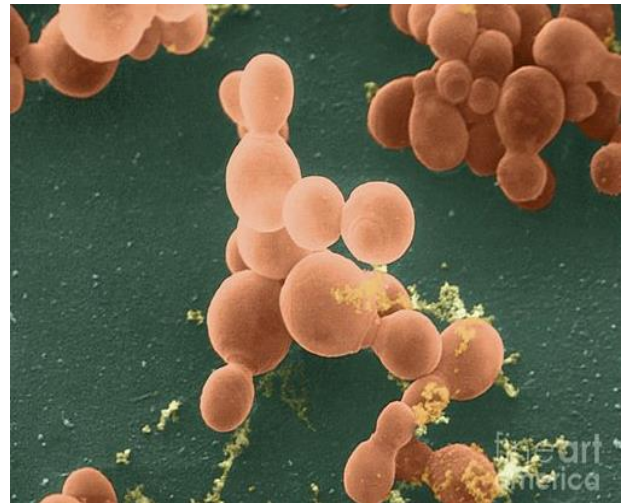
Việc điều trị nhiễm *Zygomycota* xâm lấn hiện nay vẫn còn gặp nhiều khó khăn. Flucytosine không có tác dụng, intraconazole có hoạt tính thấp. Vì vậy, amphotericin B (và các công thức lipid) là thuốc được lựa chọn để điều trị nhiễm *Zygomycota* cấp tính. Liều bắt đầu thường cao đến 1,5 mg / kg / ngày, khi bệnh nhân ổn định, có thể dùng liều thấp hơn (0,8 - 1 mg / kg / ngày). Thời gian điều trị tối ưu cần ít nhất là 8 - 10 tuần cho đến khi giải quyết được sốt, các triệu chứng, và bằng chứng nhiễm trùng.

- Nhiễm trùng do nấm *Malassezia*

Malassezia là một loại nấm men gây bệnh ở người và các động vật máu nóng. Hiện có 11 loài: *M. dermatis*, *M. furfur*, *M. globosa*, *M. japonica*, *M. nana*, *M. obtusa*, *M. pachydermatis*, *M. restricta*, *M. sloofiae*, *M. sympodialis*, và *M. yamatoensis*. Các loài gây bệnh chính là *M. globosa*, *M. sympodialis* và *M. furfur* [42], [43]. *M. pachydermatis* có liên quan đến động vật và da động vật có thể là nguyên nhân gây nên các đợt bùng phát nhiễm trùng bệnh viện ở các đơn vị hồi sức sơ sinh [44].



Trên môi trường nuôi cấy



Trên kính hiển vi điện tử

Nguồn: alamy.com

Hình 1.14. *Malassezia furfur*

Malassezia gây nên các tổn thương da vùng đầu, ngực và lưng. Nguy hiểm hơn, *Malassezia* có thể gây nhiễm nấm huyết ở những bệnh nhân đẻ non, có đặt catheter. Điều trị nhiễm nấm da thường dùng các thuốc bôi tại chỗ: selen sulfide, ketoconazole, miconazole, và propylen glycol. Trong những trường hợp nặng điều trị bằng ketoconazole, itraconazole [45]. Thời gian điều trị kéo dài trong nhiều tháng.

1.2.2.4. Chẩn đoán nhiễm nấm

- Trong việc chẩn đoán nhiễm nấm, tiêu chuẩn vàng là nuôi cấy dương tính.
- Các kháng nguyên nấm

Galactomannan: là một polysaccharide có ở thành tế bào nấm *Aspergillus*. Tuy nhiên tỷ lệ dương tính giả ở trẻ sơ sinh cao do phản ứng chéo với *Bifidobacterium*. Hiện tượng dương tính giả còn có thể xảy ra trên những bệnh nhân đang được điều trị Amoxicillin, Ticarcillin, Piperacillin.

Beta-D glucan và mannan: Mannan là một polysaccharide trọng lượng phân tử cao có ở thành tế bào nấm *Candida*. (1,3)- β -D Glucan là một cấu trúc quan trọng của thành tế bào nấm, cấu trúc này có trong máu của các bệnh nhân nhiễm *Candida* và *Aspergillus* và một vài loại nấm khác, ngoại trừ *Zygomycota* và *Cryptococcus*.

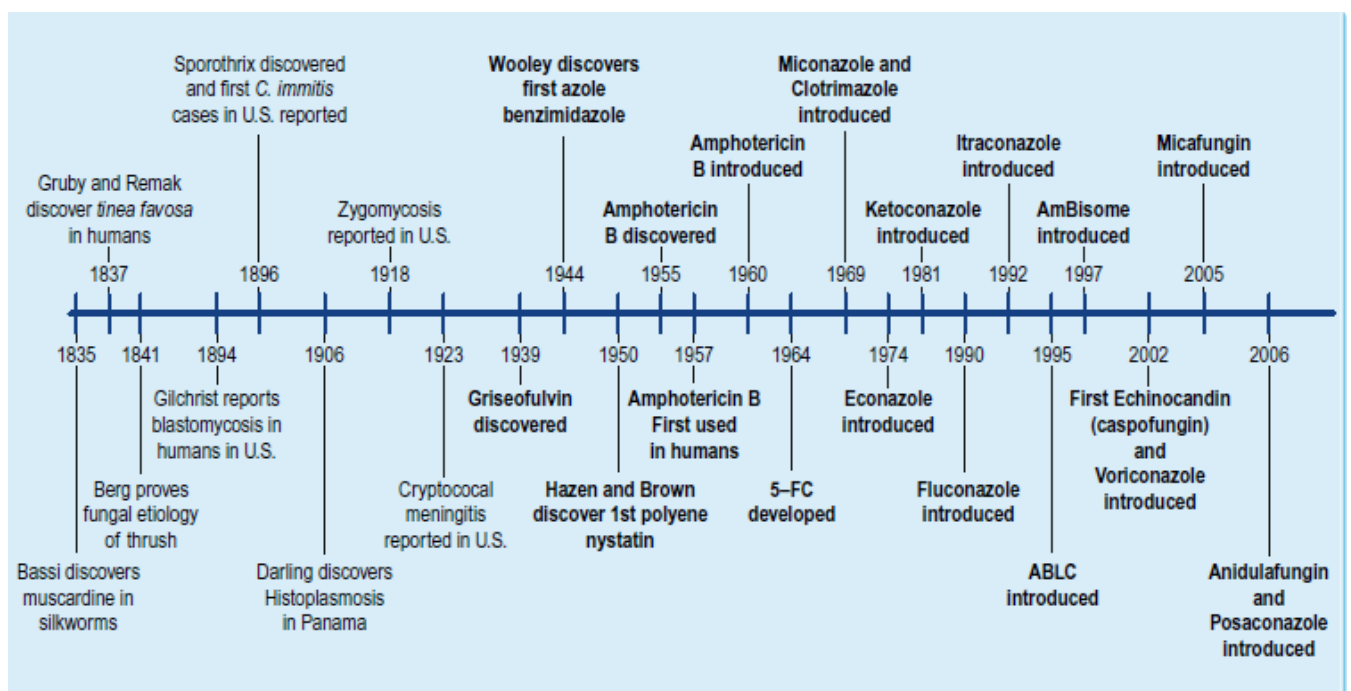
- PCR nấm

Độ nhạy và độ đặc hiệu ca, có thể rút ngắn thời gian chẩn đoán để kịp thời điều trị thuốc kháng nấm cho bệnh nhân. Hiện tại đang sử dụng kỹ thuật real time PCR đa môi, kỹ thuật này có thể định danh được 6 loại nấm: *C.albicans*, *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.krusei* và *Aspergillus fumigatus*.

1.3. CÁC THUỐC KHÁNG NẤM

1.3.1. Lịch sử phát triển

Kỷ nguyên thuốc kháng nấm được đánh dấu bằng sự ra đời của amphotericin B-deoxycholate năm 1958 (Squibb Laboratories) từ nấm *streptomyces*. Trong hơn 40 năm sau đó, amphotericin B là một thuốc tiêu chuẩn để điều trị những trường hợp nhiễm nấm nặng. Tuy nhiên amphotericin B có tác dụng độc trên thận và do đó người ta vẫn không ngừng nghiên cứu nhằm tìm ra những thuốc thay thế ít độc tính hơn.



Nguồn: Clinical Mycology^{2nd}

Hình 1.15. Lịch sử nghiên cứu bệnh nấm và phát triển các thuốc kháng nấm

Vào những năm 1990s, fluconazole được đưa vào sản xuất, không giống như các Imidazole kháng nấm trước đó (miconazole, ketoconazole), fluconazole có sinh khả dụng đường uống hoàn hảo, thuốc có khả năng phân bố rộng rãi vào nhiều loại mô, bao gồm cả dịch não tủy và thủy tinh dịch. Nguy cơ tương tác thuốc và độc tính thấp hơn nhiều các azole khác.

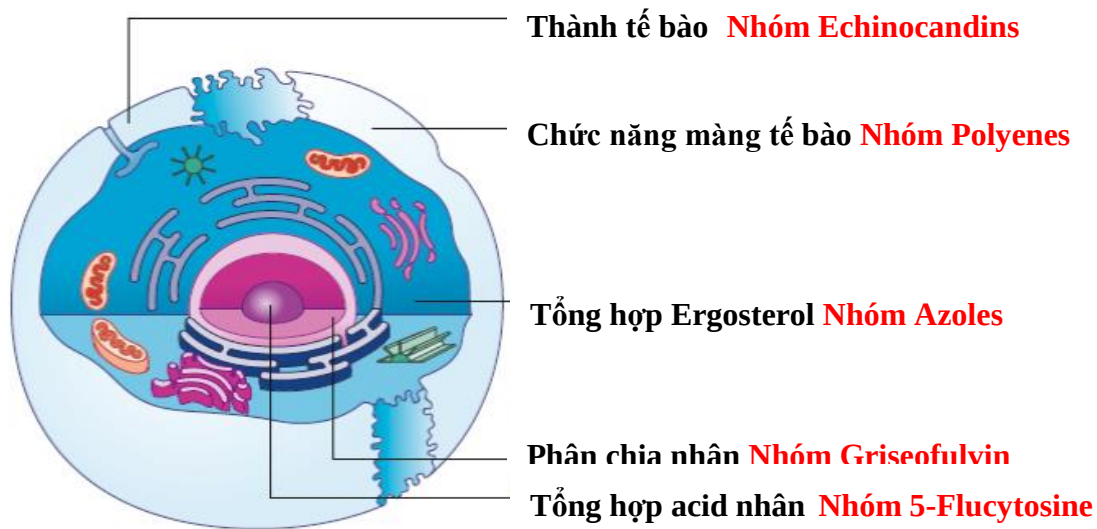
Việc tìm ra các triazole phổ rộng là voriconazole (2002) và posaconazole (2006) đã làm thay đổi phương cách điều trị những trường hợp nhiễm nấm nặng ở bệnh nhân suy giảm miễn dịch. Voriconazole đã được chứng minh là hiệu quả hơn amphotericin B trong điều trị nhiễm *Aspergillus*

Là một nhóm thuốc kháng nấm phổ rộng, tuy nhiên nhóm triazole thường có giá thành đắt và nguy cơ tương tác thuốc. Những triazole mới như isavuconazole có phổ tác dụng tương tự như voriconazole và posaconazole nhưng ít tương tác thuốc hơn.

Những thuốc kháng nấm mới nhất được phát hiện cuối thế kỷ 20 là các thuốc nhóm echinocandins. Các echinocandins bán tổng hợp là các lipopeptides có tác dụng ức chế tổng hợp β -1,3-d-glucan của tế bào nấm, dẫn đến hủy hoại thành tế bào nấm. Các tế bào giàu glucan không tìm thấy trong tế bào động vật có vú, do vậy mà các thuốc kháng nấm này được dự đoán là có hiệu quả và có rất ít độc tính trong cơ thể động vật có vú - một dự đoán đã được chứng minh là đúng trong các thử nghiệm lâm sàng của bệnh nhân bị nhiễm *Candida* và *Aspergillus* hệ thống.

1.3.2. Tổng quan về dược lý học của thuốc kháng nấm

Mặc dù có sự khác biệt về thành phần của màng và thành tế bào, chuyển hóa của tế bào nấm cũng tương tự như các tế bào động vật có vú. Các thuốc kháng nấm thường được phân nhóm dựa vào vị trí tác động của thuốc trên nấm gây bệnh.



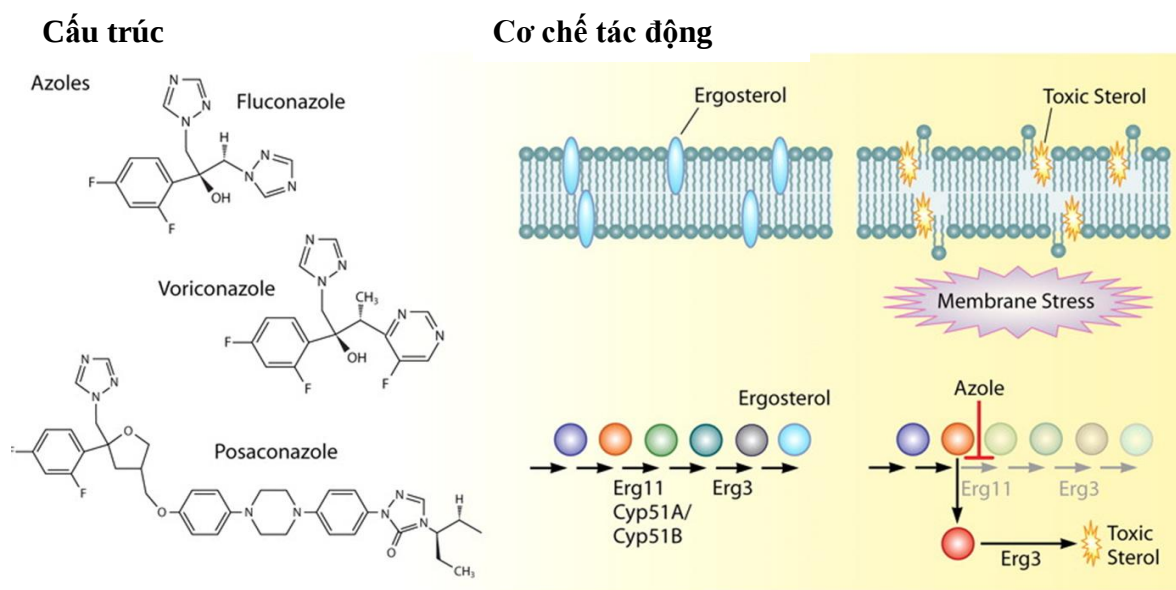
Nguồn: Clinical Mycology ⁴¹¹¹

Hình 1.16. Vị trí tác động của các thuốc kháng nấm

Các azole và polyene tấn công vào các ergosterol là sterol chủ yếu trên màng tế bào nấm (Hình 1.17). Bằng cách ức chế 14α -demethylase (lanosterol demethylase), một cytochrome P450 (CYP) phụ thuộc enzyme, các azole kháng nấm làm thoái hoá ergosterol trên màng tế bào, làm giảm sự lưu thông của màng, và dẫn đến sự tích tụ độc tố 14α -methylated sterols, kết quả là tế bào nấm ngừng phát triển và cuối cùng bị tiêu diệt. Tuy nhiên, sự ức chế này không chỉ đặc hiệu cho nấm mà còn ức chế cả enzyme CYP ở người. Đây là nguyên nhân gây ra sự tương tác dược động học của thuốc. Vị trí gắn của thuốc nhóm azole trên nấm là cấu trúc chứa heme trên enzyme 14α -demethylase enzyme. Sự khác biệt về cấu hình của cấu trúc gắn trên 14α -demethylase và cấu trúc azole quyết định ái lực gắn của từng thuốc và trong một vài loại nấm, điều này gây ra tình trạng kháng thuốc chéo trong các thuốc nhóm triazole [46]. Những dẫn xuất của ketoconazole (như itraconazole, posaconazole) có sự kéo dài của chuỗi ở đầu không phân cực thúc đẩy azole

gắn với apoprotein 14 α -demethylase, làm mở rộng phổ kháng nấm của thuốc. Voriconazole là một dẫn xuất của fluconazole, có chứa một nhóm α -o-methyl ức chế hoạt động nấm *Aspergillus* và các loại nấm sợi khác [47], [48]. Sự kháng lại nhóm triazole thường do đột biến ở vị trí gắn azole trên 14 α -demethylase và/hoặc sự bộc lộ quá mức bơm MDR1 bơm fluconazole ra ngoài hoặc bộc lộ các bơm CDR1 và CDR2 phụ thuộc ATP đưa toàn bộ triazole ra ngoài, gây ra tình trạng kháng thuốc chéo [49]. Sự kháng thuốc nội sinh của *C. krusei* là kết quả của sự giảm gắn fluconazole với enzyme 14 α -demethylase, nên những Triazole thế hệ mới được tăng cường khả năng gắn với enzyme này vẫn duy trì được hoạt tính kháng nấm với những loài đã kháng với fluconazole như *C. krusei* [50]. Tuy nhiên, sự kháng fluconazole ở *C. glabrata* lại thường do bộc lộ các bơm đẩy thuốc ra bên ngoài; vì vậy có sự kháng thuốc chéo ở tất cả các thuốc kháng nấm azole [51].

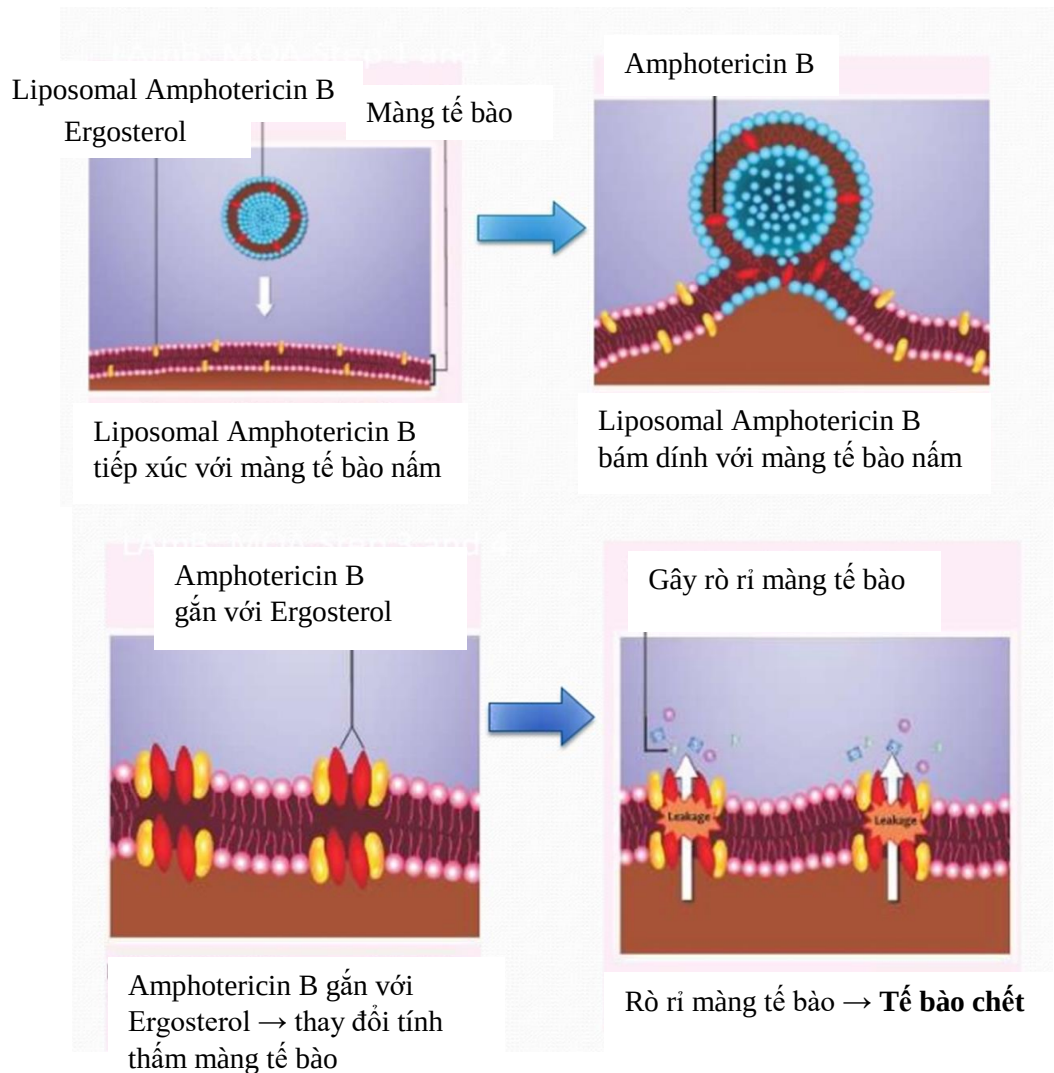
Tương tự như các thuốc kháng nấm azole, allylamine terbinafine ức chế sinh tổng hợp ergosterol thông qua việc ức chế squalene monooxygenase – là một enzyme chịu trách nhiệm trong việc chuyển squalen thành squalen epoxide – tiền thân của lanosterol trong con đường tổng hợp ergosterol. Mặc dù allylamine hầu như không có tác dụng tương tự trên enzyme CYP ở người như thuốc kháng nấm azole, nhưng những thuốc như rifampim gây chuyển hoá mạnh CYP ở động vật có vú sẽ làm tăng chuyển hoá terbinafine. Khi dùng thuốc đường uống, terbinafine tập trung ở da và giường móng và có nồng độ tương đối thấp trong máu. Do đó, nhóm thuốc kháng nấm này chỉ sử dụng giới hạn trong điều trị nấm móng và nấm da.



Nguồn: semanticscholar.org

Hình 1.17. Cơ chế tác động của thuốc kháng nấm nhóm Azole

Amphotericin B nhóm polyene là thuốc kháng nấm phổ rộng duy nhất tác động vào màng tế bào nấm (Hình 1.18). Amphotericin B gắn trực tiếp với ergosterol, tạo nên phức hợp xuyên qua màng tế bào, kết quả tạo nên các lỗ trên màng làm rò rỉ các thành phần bên trong tế bào ra ngoài. Amphotericin B có ái lực với màng tế bào nấm giàu ergosterol hơn màng tế bào giàu cholesterol, tuy nhiên sự đặc hiệu này có thể bị mất đi khi nồng độ thuốc tập trung cao ở một số cơ quan như thận, nơi thuốc gây phá hủy trực tiếp màng tế bào ống lượn xa [52]. Do vậy độc tố trên thận là tác dụng phụ giới hạn liều hay gặp của amphotericin B. Amphotericin B cũng kích thích giải phóng trực tiếp các cytokin tiền viêm thông qua các thực bào đơn nhân, gây sốt, rét run và gai rét trong khi truyền thuốc [53], [54]. Phản ứng này có thể giảm hơn khi sử dụng amphotericin B kết hợp với lipid. Tuy nhiên, đặc điểm lợi thế của amphotericin B lipid là giảm sự phân bố của amphotericin B đến thận nhưng không loại bỏ được độc tính trên thận [55].

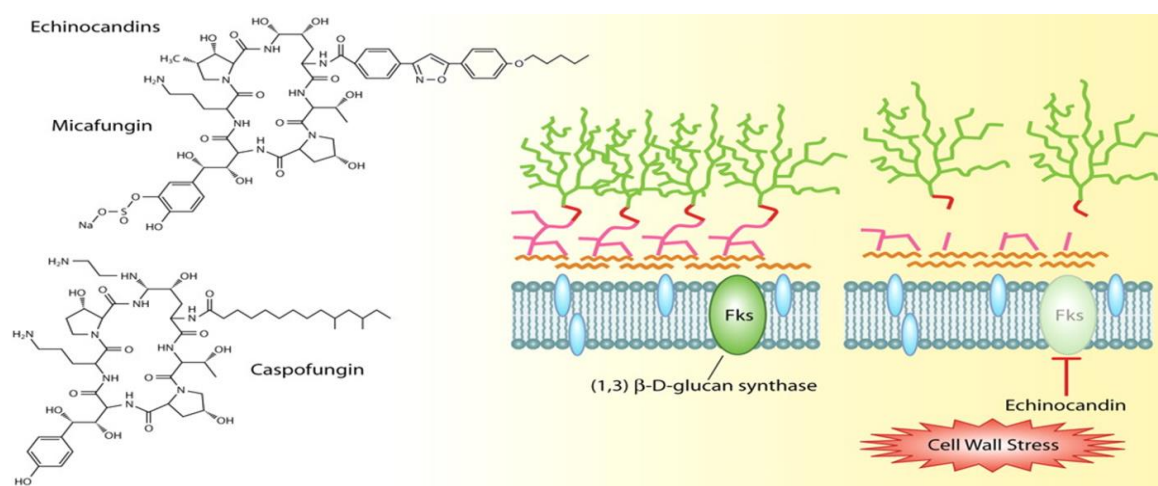


Nguồn: semanticscholar.org

Hình 1.18. Cơ chế tác động của thuốc kháng nấm nhóm Polyene

Hai chất cấu trúc lên amphotericin B là liposome và phức hợp lipid đang được sử dụng phổ biến hiện nay trong điều trị nhiễm nấm xâm lấn. Mặc dù hiếm gặp kháng amphotericin B trên lâm sàng, nhưng đã xác định được hai cơ chế kháng amphotericin bẩm sinh hay mắc phải: sự thay đổi sterol màng tế bào [56] và sự tổng hợp các chất trung hoà enzyme gây oxy hoá màng tế bào. Trong những thuốc kháng nấm được sử dụng trên lâm sàng hiện nay, nhóm echinocandin là những thuốc duy nhất tác động lên thành tế bào thông qua việc ức chế cạnh tranh sinh tổng hợp β -1,3-d-glucan polymers - thành phần liên kết chéo quan trọng của thành tế bào ở một số nấm gây bệnh (Hình 1.19).

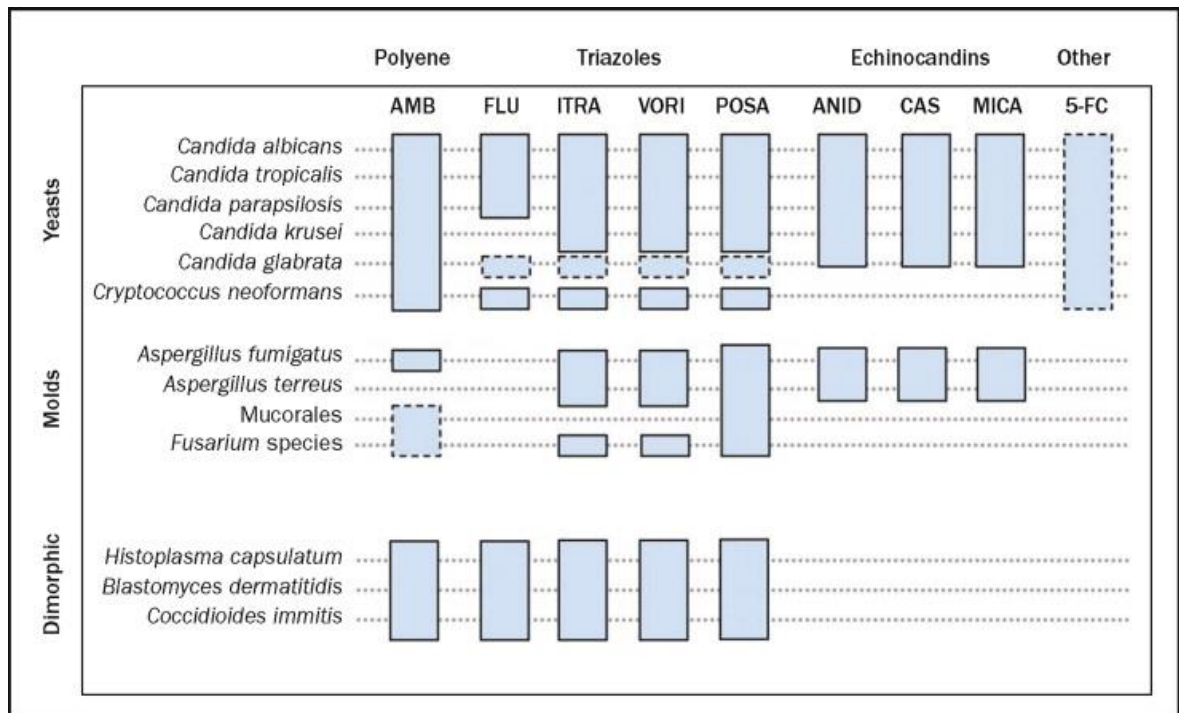
Echinocandins gắn với phức hợp enzyme β -1,3-d-glucan synthase ở những nấm nhạy cảm với thuốc, làm cho thành tế bào giảm glucan và gây ly giải thâm thấu, đặc biệt ở các tế bào phát triển nhanh [57]. Mức độ trùng hợp β -1,3-d-glucan trên thành tế bào nấm và sự bộc lộ enzyme tổng hợp glucan quyết định phổ tác dụng của nhóm thuốc kháng nấm này, được coi là có tác dụng kháng nấm *Candida* và *Aspergillus*. Mặc dù sự kháng echinocandin thật sự tương đối hiếm trên lâm sàng nhưng vẫn thấy có đột biến ở vùng “điểm nóng” của các dưới đơn vị xúc tác FKS1 và FKS2 tổng hợp glucan làm giảm tác dụng ức chế enzyme này của echinocandin, tăng nồng độ ức chế tối thiểu và làm tăng nguy cơ thất bại điều trị [58].



Nguồn: europepmc.com

Hình 1.19. Cơ chế tác động của thuốc kháng nấm nhóm Echinocandin

Hai nhóm thuốc kháng nấm là flucytosine và griseofunvin tác dụng chọn lọc lên các quá trình bên trong tế bào thông qua cơ chế tương tự như các chất hoá trị liệu ung thư và hầu như không hiệu quả khi sử dụng đơn trị liệu cho nấm toàn thân (Hình 1.20).



Nguồn: semanticscholar.org

Hình 1.20. Phổ tác dụng của thuốc kháng nấm toàn thân

(Ô nét liền chỉ tình trạng đáp ứng thuốc tốt, ô nét đứt chỉ tình trạng kháng thuốc. AMB = amphotericin; ANID = anidulafungin; CAS = caspofungin; 5 FC = flucytosine; FLU = fluconazole; ITRA = itraconazole; MICA = micafungin; POSA = posaconazole; VORI = voriconazole)

Flucytosine (5-FC) được hấp thụ chọn lọc bởi 2 enzym đặc hiệu của nấm là cystosine permease và cytosine deaminase, 5-FC được chuyển thành cytostatic 5-fluorouracil trong tế bào nấm, nơi mà thuốc ức chế tổng hợp thymidylate và làm sai lệch mã hoá RNA. Tuy nhiên, hệ vi khuẩn nội sinh trong ruột cơ thể người có thể chuyển 5-FC thành 5-fluorouracil, gây buồn nôn, nôn, tiêu chảy và ức chế tuỷ xương. Flucytosine cơ bản có hoạt tính kháng nấm men nhưng phải kết hợp với các thuốc khác để tránh tình trạng kháng thuốc khi có đột biến ở cytosine permease và cytosine deaminase làm giảm sự chuyển hoá thành dạng hoạt động của thuốc [59]. Griseofulvin là một

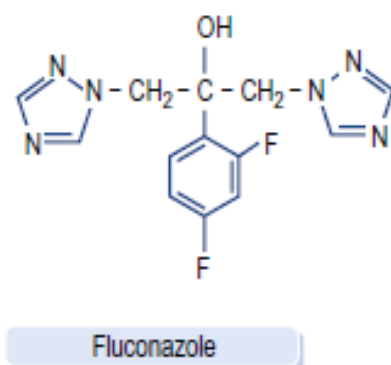
chất kháng nấm toàn thân gắn với tubulin, tham gia vào quá trình hình thành vi ống. Vì thuốc tập trung vào các tế bào keratine nên nó chỉ được sử dụng trong nhiễm nấm da không xâm nhập. Griseofulvin ức chế sự quá sản của nhiều loại tế bào ung thư trong ống nghiệm, do vậy đây được xem là chất tiềm năng để phối hợp điều trị ung thư vú.

1.4. DỰ PHÒNG NẤM CHO TRẺ ĐỂ NON

1.4.1. Thuốc điều trị dự phòng

Một số thuốc có thể dùng để điều trị dự phòng nấm cho trẻ sơ sinh non tháng như amphotericin B, nystatin, fluconazole, tuy nhiên fluconazole được Hội vi sinh lâm sàng và các bệnh nhiễm trùng châu Âu (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) và Hội các bệnh nhiễm trùng Hoa Kỳ (The Infectious Diseases Society of America) khuyến cáo sử dụng do tính an toàn và hiệu quả của thuốc.

Trong nhóm azole, fluconazole là thuốc duy nhất có trọng lượng phân tử thấp và độ hòa tan trong nước cao. Nó thể hiện khả dụng sinh học cao, khoảng 90%, và sự hấp thu của nó không bị ảnh hưởng bởi axit dạ dày hoặc trong thức ăn. Hiện tại, thuốc có các dạng uống (viên nén, bột pha hỗn dịch) và tiêm tĩnh mạch. Liều dùng khuyến cáo không bị ảnh hưởng bởi đường dùng thuốc. Do thời gian bán hủy tương đối dài và dược động học của thuốc, fluconazole được dùng với liều hàng ngày. Fluconazole xâm nhập có hiệu quả vào hầu hết các mô trên cơ thể người, kể cả hệ thần kinh trung ương. Nồng độ điều trị có thể đạt được trong dịch não tủy và nhãn cầu. Fluconazole đạt được nồng độ cao trong đường tiết niệu bởi vì nó chủ yếu được đào thải thận với khoảng 66% đến 76% fluconazole được bài tiết qua nước tiểu. Vì vậy, cần giảm liều điều trị trên những bệnh nhân suy thận [60]. Không giống như các triazole khác, fluconazole không được chuyển hóa nhiều trong gan vì vậy không cần thiết phải điều chỉnh liều cho những bệnh nhân bị suy gan.



Nguồn: Clinical Mycology^{2nd}

Hình 1.21. Công thức hóa học của fluconazole

Fluconazole có tác dụng trên nhiều loại *Candida spp* quan trọng, bao gồm *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lusitaniae*, và *C. dubliniensis* [61]. MICs cao hơn đôi với *Candida spp*, bao gồm *C. glabrata*, *C. guilliermondii* và *C. rugosa* [62]. Cần lưu ý, fluconazole không có tác dụng đối với *Candida krusei*. Fluconazole có tác dụng tốt đối với *Cryptococcus neoformans* [63], [64]. Fluconazole không có tác dụng đối với *Aspergillus spp*, *Fusarium spp*, *Scedosporium spp*, hoặc *Mucorales* [65], [66], [67].

Về tính an toàn của fluconazole đối với trẻ đẻ non, Kevin Turner và cộng sự trong một nghiên cứu công bố năm 2012 từ năm thử nghiệm đối chứng ngẫu nhiên, bao gồm 726 trẻ sinh non, đã đánh giá tác dụng của fluconazole trên đối với độc tính trên gan. Trong số các thử nghiệm này, chỉ có hai nghiên cứu chứng minh sự gia tăng đáng kể về AST và ALT, mặc dù không có nghiên cứu nào được coi là có ý nghĩa lâm sàng. Những kết quả này trở về bình thường sau khi ngừng fluconazole. Một nghiên cứu khác đã đánh giá độc tính gan của fluconazole khi được sử dụng trong điều trị dự phòng ở trẻ sơ sinh cực nhẹ cân (ELBW) và so sánh các xét nghiệm chức năng gan với các xét nghiệm trước đó. Kết quả là có tăng nguy cơ tăng bilirubin liên hợp (43% so với 9%, $p < 0,001$), trong khi điều trị. Các giá trị này cũng trở lại bình thường sau khi ngừng fluconazole.

Suy giảm chức năng phát triển thần kinh là kết quả lâu dài quan trọng đối với nhiều trẻ sinh non, và trong mọi trường hợp điều quan trọng là phải xác định liệu phương pháp điều trị có ảnh hưởng xấu đến phát triển thần kinh hay không. Tám mươi sáu trẻ ELBW được điều trị bằng giả dược hoặc fluconazole 3 mg/ kg với tần suất tăng dần (liều ban đầu cứ sau 72h, sau đó tiến triển thành liều hàng ngày) trong 6 tuần. Các bệnh nhân điều trị fluconazole được so sánh với những bệnh nhân dùng giả dược tiếp theo 8 đến 10 năm về sự khác biệt về khả năng thích ứng phát triển thần kinh, hành vi và chất lượng cuộc sống; và hai nhóm cho kết quả là mức độ phát triển tương đương nhau.

Trong năm giai đoạn nghiên cứu kiểm tra dược động học của fluconazole ở trẻ đẻ non, không có phản ứng bất lợi nào được báo cáo. Các tác dụng phụ của fluconazole ở trẻ đẻ non là nhẹ và tự giới hạn, tương tự như trẻ em và người lớn. Fluconazole dường như là an toàn để sử dụng cho trẻ sinh non.

Về vấn đề dự phòng fluconazole, ở trẻ sơ sinh non tháng, các loài *Candida* dễ dàng tiến triển thành bệnh xâm lấn. Trong phòng chăm sóc đặc biệt dành cho trẻ sơ sinh (NICU), có tới 60% trẻ sơ sinh rất nhẹ cân bị nhiễm khuẩn *Candida* trong tháng đầu đời. Điều trị dự phòng fluconazole cho bệnh nhân có nguy cơ cao có tác dụng ngăn ngừa nhiễm nấm toàn thân. Một phân tích tổng hợp dữ liệu trong bốn thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng cho thấy fluconazole an toàn và hiệu quả trong việc ngăn chặn nhiễm khuẩn *Candida* [OR 0,48 (95% CI: 0,31 - 0,73) ; số lượng cần điều trị (NNT): 11 (95% CI: 7, 33)] [68].

1.4.2. Một số nghiên cứu dự phòng nhiễm nấm cho trẻ đẻ non bằng fluconazole

Từ tháng 01/2002, tại đơn vị NICU của bệnh viện Woman's Hospital of Texas các trẻ sơ sinh < 1000gr được tiến hành điều trị dự phòng fluconazole,

kết quả là tỷ lệ nhiễm *Candida* giảm từ 7% xuống 2%, tỷ lệ tử vong liên quan đến nhiễm *Candida* giảm từ 12% xuống 0% [69].

Năm 2008, J-H Weitkamp và cộng sự nghiên cứu trên 86 trẻ sơ sinh < 1000gr, 42 trẻ được điều trị dự phòng bằng fluconazole và 44 trẻ không được điều trị dự phòng. Kết quả là không có trẻ nào trong nhóm có điều trị dự phòng bị nhiễm nấm, trái ngược với nhóm không được điều trị dự phòng có 9 trẻ bị nhiễm nấm hệ thống [70].

Tại Israel, từ năm 2007 - 2008 một nghiên cứu thuần tập của Asaph Rolnitsky thực hiện trên 130 trẻ được điều trị dự phòng bằng fluconazole so sánh với 319 trẻ là nhóm chứng. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm nấm ở nhóm trẻ có điều trị dự phòng bằng fluconazole thấp hơn hẳn nhóm chứng [71].

Tại Mỹ, David Kaufman và cộng sự thử nghiệm lâm sàng điều trị dự phòng bằng fluconazole trên 50 trẻ sơ sinh non tháng có cân nặng < 1000gr so sánh với 50 trẻ ở nhóm chứng. Kết quả sau 6 tuần nghiên cứu nhóm điều trị dự phòng bằng fluconazole không có trẻ nào bị nhiễm nấm trong khi ở nhóm chứng có tới 10 trẻ bị nhiễm nấm, chiếm tỷ lệ 20% với $p = 0,008$ [72].

Từ năm 2001 - 2004 tại Anh, Brian A McCrossan và cộng sự nghiên cứu trên 228 trẻ vào điều trị tại NICU, trong đó 121 trẻ vào viện trước 01/10/2003 không được điều trị dự phòng bằng fluconazole và 107 trẻ vào viện sau 01/10/2003 được điều trị dự phòng bằng fluconazole. Kết quả nghiên cứu cho thấy điều trị dự phòng bằng fluconazole làm giảm rõ rệt tỷ lệ nhiễm nấm hệ thống [73].

Từ 01/5/2004 đến 31/7/2005 tại Italia, Paolo Manzoni và cộng sự nghiên cứu trên 322 trẻ sơ sinh non tháng cân nặng <1500gr vào điều trị tại NICU cũng cho thấy hiệu quả của fluconazole trong việc làm giảm tỷ lệ nhiễm nấm [74].

Một nghiên cứu của Jessica E. Ericson năm 2016 cho thấy dự phòng fluconazole làm giảm tỷ lệ nhiễm *Candida* xâm lấn hoặc tử vong, nhiễm *Candida* xâm lấn và mắc *Candida* so với trẻ sơ sinh dùng giả dược: OR 0,48 (khoảng tin cậy 95% CI: 0.30 - 0.78), OR 0,20 (95% CI: 0.08 - 0.51), và OR 0,28 (95% CI: 0.18 - 0.41) tương ứng [75].

Một nghiên cứu thống kê phân tích tổng hợp khác của Leticia Paula Leonart và cộng sự từ mười một nghiên cứu được đưa vào phân tích, với liều fluconazole là 3mg/ kg, 4mg/ kg hoặc 6 mg/ kg. Tỷ lệ mắc *Candida* xâm lấn và tử vong liên quan đến *Candida* xâm lấn được coi là kết quả, liều 3 mg/kg và 6 mg/kg fluconazole cho hiệu quả vượt trội về mặt thống kê so với giả dược (OR, 5,48 [khoảng tin cậy 95% CI: 1,81 - 18.94] và 2,63 [1.18 - 7.02], 15,32 [1.54 - 54.31] và 9,14 [1.26 - 142.7] tương ứng), tuy nhiên dữ liệu cho 3 liều không có ý nghĩa thống kê khác nhau [76].

Harita Kirpal và cộng sự năm 2016 tại Ấn độ nghiên cứu trên 80 trẻ sơ sinh có cân nặng < 1500gr được chia thành hai nhóm. Nhóm dự phòng được sử dụng fluconazole với liều 6mg/ kg mỗi ngày. Kết quả tỷ lệ nhiễm nấm xâm lấn (IFI) thấp hơn đáng kể (21%) trong nhóm điều trị dự phòng fluconazole so với nhóm đối chứng (43,2%, 95% CI 0.09 - 0.37, $p < 0,05$). Giảm rủi ro tuyệt đối (ARR) là 22,2% và số cần điều trị (NNT) là 5. Tỷ lệ tử vong do nấm cũng thấp hơn ở nhóm fluconazole (2,6% so với 18,9%, 95% CI: 0.003 - 0.52, $p < 0,05$). Có thể kết luận là ở trẻ sơ sinh cực non điều trị tại NICU, sử dụng dự phòng fluconazole làm giảm tỷ lệ nhiễm nấm xâm lấn và giảm tỷ lệ tử vong do nấm [77].

Ở Việt Nam hiện nay chưa có nghiên cứu nào tiến hành dự phòng nhiễm nấm cho trẻ đẻ non bằng fluconazole.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được tiến hành tại Khoa Sơ sinh, Bệnh viện Nhi trung ương trong thời gian từ tháng 02 năm 2016 đến tháng 12 năm 2018.

2.2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Mục tiêu 1

Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh điều trị tại Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi Trung ương.

2.2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Là những trẻ sơ sinh nhập viện tại Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương từ 01/02/2016 đến 28/02/2017 được chẩn đoán nhiễm trùng do nấm với các tiêu chuẩn sau đây:

- *Lâm sàng*
 - Bệnh cảnh nhiễm trùng: li bì, da tái, trương lực cơ giảm.
 - Triệu chứng hô hấp: thở nhanh, co rút lồng ngực, cơn ngừng thở, tím tái.
 - Triệu chứng tim mạch: nhịp tim tăng hoặc nhịp tim chậm, tình trạng shock.
 - Triệu chứng tiêu hóa: chướng bụng, nôn, tiêu chảy, phân có máu, gan lách to.
- *Cận lâm sàng:*
 - Nuôi cấy nấm dương tính trên một trong số các bệnh phẩm: máu, dịch phế quản, dịch não tủy, nước tiểu.

2.2.1.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Thiết kế nghiên cứu:* Là một nghiên cứu mô tả cắt ngang.
- *Phương pháp chọn mẫu thuận tiện:* Chọn tất cả các bệnh nhân sơ sinh vào điều trị tại Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương được chẩn đoán là nhiễm nấm trong 1 năm từ 01/02/2016 đến 28/02/2017.
- *Quy trình nghiên cứu:* Nghiên cứu hồ sơ bệnh án để thu thập thông tin, mỗi bệnh nhân có một hồ sơ bệnh án nghiên cứu riêng ghi đầy đủ các thông tin chung bao gồm phần hành chính, tiền sử sản khoa, bệnh sử, các triệu chứng bệnh lý lúc nhập viện, triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng khi trẻ bị nhiễm nấm, thời gian và kết quả điều trị, tỷ lệ kháng thuốc. Tất cả các biến số nghiên cứu đều được thể hiện trong công cụ thu thập số liệu (phần Phụ lục 2).

2.2.1.3. Các biến số nghiên cứu và phương pháp thu thập số liệu

- Địa chỉ: địa phương nơi gia đình trẻ sinh sống: theo hồ sơ bệnh án.
- Tuổi mẹ: là biến rời rạc, tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn.
- Giới tính: Là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm trẻ trai và trẻ gái.
- Cân nặng lúc sinh:
Là biến định danh, chia làm 4 nhóm: < 1000gr, 1000 - <1500gr, 1500gr - < 2500gr và ≥ 2500 gr. Tính tỷ lệ phần trăm trẻ phân bố theo các nhóm cân nặng.
- Chuyển dạ: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ chuyển dạ tự nhiên, tỷ lệ phần trăm bà mẹ chuyển dạ có can thiệp.
- Số lượng nước ối:
Là biến định danh, chia làm 3 nhóm: bình thường, đa ối và thiếu ối, tính tỷ lệ phần trăm.
- Tính chất nước ối: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ có nước ối trong, tỷ lệ phần trăm bà mẹ có nước ối bẩn.

- Hình thức sinh: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ đẻ thường, tỷ lệ phần trăm bà mẹ mổ đẻ.
- Tình trạng trẻ lúc sinh ra: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm trẻ khóc ngay sau đẻ, tỷ lệ phần trăm trẻ ngạt sau đẻ.
- Tình trạng dinh dưỡng của trẻ: là biến định danh, phân làm 3 nhóm, bú mẹ, nuôi dưỡng TM một phần và nuôi dưỡng TM hoàn toàn, tính tỷ lệ phần trăm.
- Tuổi thai (là thời gian thai nhi ở trong tử cung):
Là biến rời rạc, đơn vị tính là tuần, được chia làm 4 nhóm: < 28 tuần, 28 - 32 tuần, 33 - 36 tuần và ≥ 37 tuần. Tính tuổi thai trung bình và độ lệch chuẩn, tuổi thai nhỏ nhất, tuổi thai lớn nhất, tỷ lệ phần trăm trẻ phân bố theo các nhóm.
- Tuổi lúc trẻ nhập viện: là biến rời rạc, đơn vị tính là ngày, tính tuổi lúc nhập viện trung bình và độ lệch chuẩn, tuổi lúc nhập viện thấp nhất, tuổi lúc nhập viện cao nhất.
- Lý do vào viện: là biến định danh.
- Thời gian điều trị thở máy và thở NCPAP tại tuyến trước: là biến liên tục, đơn vị tính là ngày, tính thời gian trung bình, độ lệch chuẩn.
- Các biến nghiên cứu lâm sàng:
 - Thân nhiệt: là biến định danh, chia làm 3 nhóm: sốt khi thân nhiệt trẻ $> 38^{\circ}\text{C}$, hạ thân nhiệt khi thân nhiệt trẻ $< 36^{\circ}\text{C}$ và thân nhiệt trong giới hạn bình thường. Tính tỷ lệ phần trăm trẻ theo từng nhóm.
 - Triệu chứng thần kinh: là các biến nhị phân, li bì, kích thích, tăng trương lực cơ, giảm trương lực cơ, đánh giá phản xạ sơ sinh và các triệu chứng khác như co giật, thóp phồng, tính tỷ lệ phần trăm.

- Triệu chứng tuần hoàn: là các biến nhị phân, tình trạng shock, giảm tưới máu da (Refill > 3 giây), nhịp tim nhanh (> 180 chu kỳ/ phút), nhịp tim chậm (< 100 chu kỳ/ phút), tính tỷ lệ phần trăm.
- Triệu chứng hô hấp: là các biến nhị phân, thở nhanh (> 60 lần/ phút), thở rên, rút lõm lồng ngực, cơn ngừng thở (> 15 giây), tình trạng tím, giảm oxy máu (dựa vào SpO2 < 90%, hoặc PaO2 < 60mmHg và/ hoặc PaCO2 > 50mmHg), rale ở phổi, tính tỷ lệ phần trăm.
- Triệu chứng tiêu hóa: là biến nhị phân, bú kém, bỏ bú, nôn trớ, nôn ra dịch vàng bản, tiêu chảy, tiêu chảy phân có máu, gan to lách to, tính tỷ lệ phần trăm.
- Các biến nghiên cứu cận lâm sàng và quy trình lấy mẫu bệnh phẩm:

Là các biến liên tục, thực hiện vào các thời điểm: khi bệnh nhân nhập viện, khi bệnh nhân bị nhiễm nấm, sau điều trị 3 ngày, sau điều trị 1 tuần và sau điều trị 2 tuần. Tính các giá trị trung bình theo thời điểm nghiên cứu.

- Xét nghiệm công thức máu: máu được lấy vào ống nghiệm có chứa chất chống đông EDTA, xét nghiệm bằng mẫu máu toàn phần và thực hiện bằng máy xét nghiệm huyết học tự động tại Khoa Huyết học Bệnh viện Nhi trung ương.
- Xét nghiệm sinh hóa: máu tĩnh mạch được lấy vào ống nghiệm có chứa chất chống đông, quay ly tâm lấy phần huyết tương, xét nghiệm được tiến hành trên máy xét nghiệm sinh hóa tại Khoa Hóa sinh Bệnh viện Nhi trung ương.
- Xét nghiệm CRP: định lượng CRP huyết thanh: theo phương pháp miễn dịch đo độ đục, khi cho thuốc thử chứa kháng thể CRP vào mẫu máu của bệnh nhân có chứa CRP sẽ xảy ra phản ứng kết hợp kháng nguyên kháng thể làm đục dung dịch thử, độ đục thay đổi theo nồng độ CRP có trong huyết thanh, kết quả CRP tính bằng đơn vị mg/L.

- Xét nghiệm đông máu: máu được chống đông bằng Natricitrat 3,8%, ức chế ion Calcium, sau đó cho thừa 1 lượng hóa chất hoạt hóa yếu tố đông máu tạo cục đông, dùng phương thức phát hiện ánh sáng tán xạ để đo thời gian đông máu huyết tương.
- Xét nghiệm vi sinh

Các kỹ thuật lấy bệnh phẩm:

Kỹ thuật lấy máu:

Chọn tĩnh mạch, buộc garô.

Sát trùng da bằng cách xoay tròn bông sát trùng từ tâm ra ngoài. Sử dụng cồn 70% và iodine 2% (1 phút) hoặc providone iodine (2 phút).

Để khô 1 - 2 phút.

Lấy máu bằng bơm tiêm vô trùng.

Bơm nhẹ máu chảy dọc theo thành bình cấy máu.

Không lắc mạnh, tránh vỡ hồng cầu.

Tháo garô, sát trùng da lại.

Kỹ thuật lấy dịch phế quản:

Bệnh nhân được đặt nội khí quản.

Lấy dịch phế quản qua sonde vô trùng đặt qua ống nội khí quản, cho dịch vào ống nuôi cấy vô trùng.

Kỹ thuật lấy dịch não tủy:

Bệnh nhân được làm thủ thuật chọc dò tủy sống tại vị trí L4 - L5.

Lấy dịch não tủy qua kim vô trùng chọc dò tủy sống, cho dịch vào ống nuôi cấy vô trùng.

Kỹ thuật lấy nước tiểu nuôi cấy:

Bệnh nhân được đặt sonde bàng quang.

Sát trùng đầu sonde bằng cồn 90⁰, sau đó hút nước tiểu bằng bơm tiêm vô khuẩn.

Nuôi cấy, phân lập và xác định vi nấm gây bệnh:

Xét nghiệm nuôi cấy, định danh vi nấm gây bệnh và xác định nồng độ ức chế tối thiểu của thuốc kháng nấm được tiến hành tại Khoa Vi sinh, Bệnh viện Nhi trung ương theo quy trình chuẩn.

Kiểm tra giấy chỉ định xét nghiệm với mẫu bệnh phẩm xem có phù hợp: tên bệnh nhân, tuổi bệnh nhân, khoa, mã số.

Vào sổ theo từng chỉ định yêu cầu có thể cấy mủ hoặc cấy dịch, cấy phân, cấy dịch hô hấp, cấy nước tiểu, cấy máu tên, tuổi, mã số bệnh nhân, khoa, giờ cấy, nhân viên cấy.

Ghi số thứ tự và chữ in hoa theo qui định của từng loại bệnh phẩm lên giấy chỉ định xét nghiệm.

- Vào sổ nhận mẫu và trả kết quả mã: SG.VK.NM.01 mã số, giờ cấy, người giao, người nhận bệnh phẩm, số thứ tự và chữ in hoa theo qui định của từng loại bệnh phẩm vào cột tương ứng.

Đề môi trường thạch Sabouraud vào tủ ấm khoảng 15 phút trước khi dùng. Ghi số thứ tự bệnh phẩm và chữ in hoa theo qui định của từng loại bệnh phẩm lên các đĩa thạch.

Dùng pipette hút nhỏ 1 đến 2 giọt bệnh phẩm vào các đĩa thạch → thực hiện rìa cấy 4 vùng theo hướng dẫn kỹ thuật cấy phân vùng D.VSYH.VK.05.

Bệnh phẩm nước tiểu: cấy đếm theo quy trình cấy nước tiểu.

Bệnh phẩm được lấy bằng que tăm bông lăn đầu tăm bông vào 1 góc các đĩa thạch → thực hiện rìa cấy 4 vùng theo hướng dẫn kỹ thuật cấy phân vùng HD.VSYH.VK.05.

Ủ đĩa thạch đã cấy vào tủ ấm 30⁰C

Nhuộm Gram bệnh phẩm theo “Hướng dẫn nhuộm Gram HD.VSYH.VK.01”. Soi vật kính 100X có dầu Cedar để đánh giá sơ bộ.

Sau 18 - 24 giờ lấy đĩa đã nuôi cấy ra quan sát khuẩn lạc:

Khuẩn lạc nấm men: Khuẩn lạc *Candida* có dạng tròn, nhẵn màu kem thường mọc nhanh sau 24 giờ.

Khuẩn lạc *Cryptococcus* tròn nhẵn màu be (khô hơn so với nấm *Candida*) mọc chậm thường sau 48 giờ.

Khuẩn lạc nấm mốc *Aspergillus*: khuẩn lạc mọc nhanh, kiểu da lộn cho đến có dạng phủ đầy lông tơ, sinh sắc tố màu khác nhau.

Làm tiêu bản soi tươi bằng nước muối sinh lý 0,9% để xác định nấm men hay nấm sợi theo qui trình vi nấm soi tươi QTKT.VSYH.TH.17.

Nếu là nấm men tiến hành chạy card YST và card AST YS08 theo hướng dẫn chạy card Vitek 2 HD.VSYH.VK.09

Nếu là nấm sợi thì định danh tới chỉ qua hình ảnh soi tươi không làm kháng sinh đồ.

Nếu không có vi nấm mọc cho lại vào tủ ấm 30°C theo dõi tiếp.

Theo dõi đĩa đã nuôi cấy hàng ngày: Nếu có vi khuẩn mọc tiến hành làm như bước 5, nếu không có vi nấm mọc trả kết quả sơ bộ âm tính sau 4 ngày. Sau 7 ngày hủy mẫu nuôi cấy.

Định danh vi nấm gây bệnh dựa vào phương pháp đo màu để nhận biết các tính chất sinh vật hóa học của vi nấm thông qua sự đổi màu các giếng môi trường có sẵn trong card.

Xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC của thuốc kháng nấm (cho các loại nấm men) bằng máy Vitek 2.

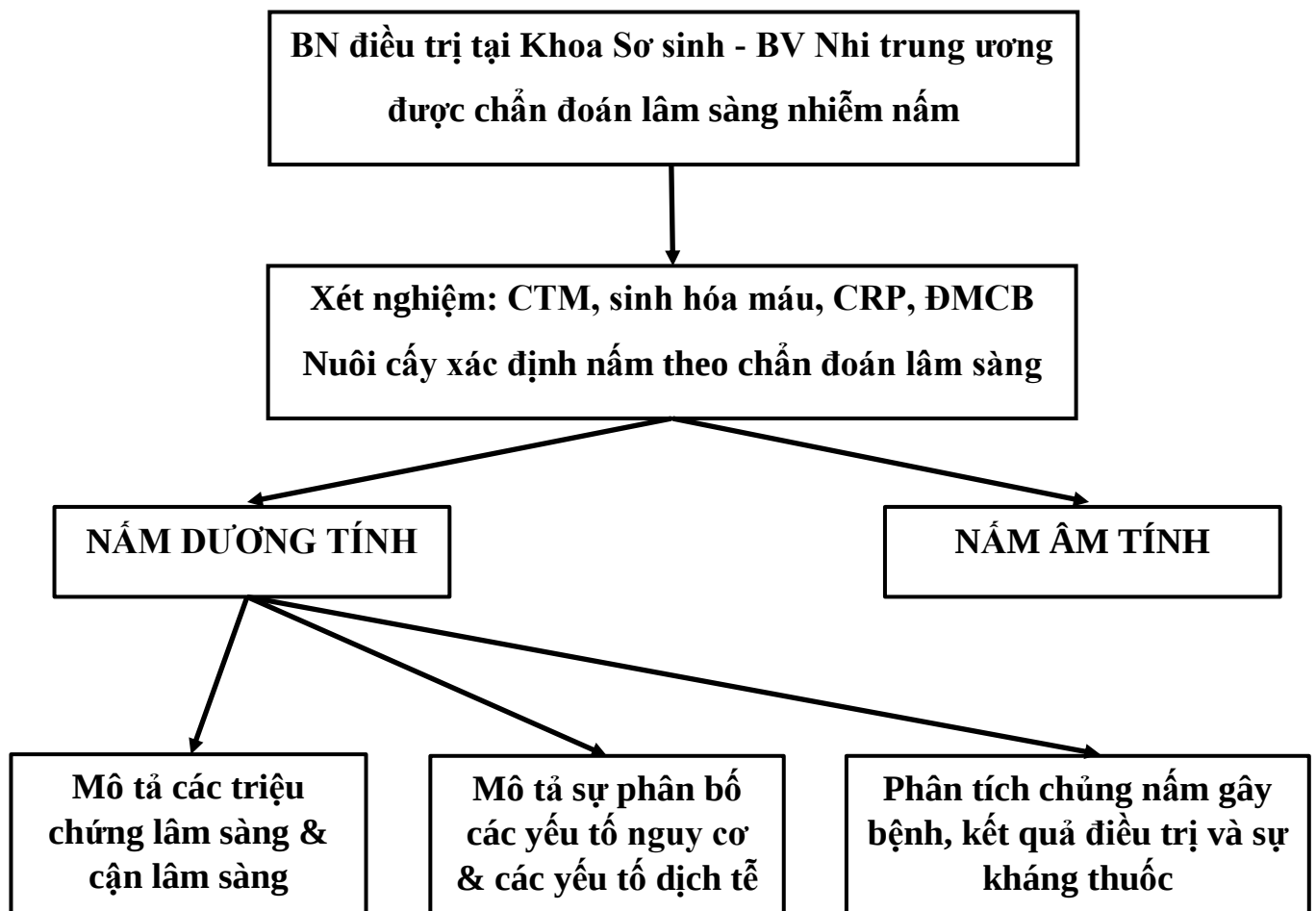
Với mẫu nuôi cấy thuần, máy Vitek cho ra kết quả định danh 1 loài nấm: trả kết quả định danh đến loài và kháng sinh đồ theo hướng dẫn trả kết quả định danh và kháng sinh đồ HD.VSYH.VK.16, qui trình báo cáo kết quả QTQL.VSYH.HC.05, qui trình công bố kết quả QTQL.VSYH.HC.40.

Với mẫu định danh cho kết quả > 2 chủng nấm: trả kết quả đến chi và kháng sinh đồ theo hướng dẫn trả kết quả định danh và kháng sinh đồ HD.VSYH.VK.16, qui trình báo cáo kết quả QTQL.VSYH.HC.05, qui trình công bố kết quả QTQL.VSYH.HC.40.

- Đánh giá hình ảnh X quang.
- Thời điểm trẻ nhiễm nấm: là biến định danh, chia làm 4 nhóm: < 1 tuần, 1 - < 2 tuần, 2 - < 3 tuần, ≥ 3 tuần, tính tỷ lệ phần trăm.
- Vị trí nhiễm nấm: là các biến định danh, nhiễm nấm máu, nhiễm nấm phổi, nhiễm nấm đường tiêu hóa, nhiễm nấm đường tiết niệu, viêm màng não do nấm, tính tỷ lệ phần trăm.
- Chủng nấm gây bệnh: là các biến định danh, tính số trẻ bị nhiễm từng loại nấm, tính tỷ lệ phần trăm.
- Thời gian điều trị thuốc chống nấm: là các biến rời rạc, đơn vị tính là ngày, tính thời gian điều trị trung bình và độ lệch chuẩn.
- Đáp ứng với thuốc chống nấm: là các biến nhị phân trẻ có đáp ứng hay không có đáp ứng với thuốc chống nấm. Giá trị MIC của từng loại thuốc chống nấm với từng loại nấm là các biến liên tục.
- Các can thiệp xâm lấn: là các biến rời rạc, đơn vị tính là ngày, đặt NKQ thở máy, thở NCPAP, đặt catheter rôn, đặt catheter động mạch quay đo huyết áp động mạch liên tục, đặt long-line, tính tỷ lệ phần trăm, thời gian can thiệp trung bình và độ lệch chuẩn.
- Các bệnh lý phối hợp ở trẻ: là các biến nhị phân: vàng da, nhiễm trùng huyết, viêm phổi, viêm ruột hoại tử, viêm màng não mủ, trẻ sau phẫu thuật, tính tỷ lệ phần trăm.

- Thời gian điều trị kháng sinh: là các biến rời rạc, đơn vị tính là ngày, tính số ngày điều trị kháng sinh trung bình và độ lệch chuẩn, thời gian điều trị kháng sinh ngắn nhất, thời gian điều trị kháng sinh dài nhất.
- Tổng số ngày nằm viện của trẻ: là các biến rời rạc, đơn vị tính là ngày, tính số ngày nằm viện trung bình và độ lệch chuẩn, thời gian nằm viện ngắn nhất, thời gian nằm viện dài nhất.
- Kết quả điều trị: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm trẻ ra viện và tỷ lệ phần trăm trẻ tử vong.

SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU MỤC TIÊU 1



2.2.2. Mục tiêu 2

Đánh giá hiệu quả dự phòng nhiễm nấm của fluconazole trên trẻ đẻ non.

2.2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

Là những trẻ sơ sinh nhập viện tại Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương dưới 7 ngày tuổi, cân nặng < 1500gr, có từ 2 yếu tố nguy cơ nhiễm trùng do nấm trở lên.

Các yếu tố nguy cơ dẫn đến nhiễm trùng do nấm bao gồm [23]:

- Đặt nội khí quản thở máy
- Đặt catheter động mạch
- Đặt catheter rốn
- Đặt catheter tĩnh mạch trung tâm
- Đặt long line
- Đặt kim luồn

2.2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu:

Là một nghiên cứu can thiệp lâm sàng có đối chứng.

- Phương pháp chọn mẫu:

Từ những trẻ sơ sinh nhập viện tại Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương dưới 7 ngày tuổi, cân nặng < 1500gr, vào thời điểm trẻ bắt đầu có từ 2 yếu tố nguy cơ nhiễm trùng do nấm trở lên, tiến hành chia ngẫu nhiên thành hai nhóm để thực hiện nghiên cứu.

Cỡ mẫu:

Chúng tôi sử dụng công thức tính cỡ mẫu sau:

$$n = \frac{\left(z_{\alpha/2} \sqrt{2\bar{p}(1-\bar{p})} + z_{\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)} \right)^2}{\Delta^2}$$

Trong đó:

$$\bar{p} = (p_1 + p_2)/2 \text{ và } \Delta = p_1 - p_2$$

$z_{\alpha/2}$ là trị số z của phân phối chuẩn cho xác suất $\alpha/2$, chọn $\alpha = 0,05$, $z_{\alpha/2} = 1,96$.

z_{β} là trị số z của phân phối chuẩn cho xác suất β , chọn $\beta = 0,20$, $z_{\beta} = 0,842$.

Harita Kirpal và cộng sự năm 2016 tại Ấn độ [77] nghiên cứu trên 80 trẻ sơ sinh có cân nặng < 1500gr được chia ngẫu nhiên thành 2 nhóm, nhóm dự phòng được sử dụng fluconazole với liều 6mg/ kg mỗi ngày. Kết quả là tỷ lệ nhiễm nấm ở nhóm chứng là 43,2% chúng tôi xác định đây là tỷ lệ p_1 và tỷ lệ nhiễm nấm ở nhóm dự phòng fluconazole là 21% chúng tôi xác định đây là tỷ lệ p_2 .

Áp dụng công thức trên chúng tôi tính được cỡ mẫu là 53 bệnh nhân nhóm dự phòng và 53 bệnh nhân nhóm chứng.

Cách chọn mẫu:

Từ các trẻ đẻ non dưới 1 tuần tuổi, cân nặng < 1500gr nhập viện vào Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương, có từ 2 yếu tố nguy cơ gây nhiễm trùng do nấm trở lên.

Tất cả những trẻ này được làm các xét nghiệm và cấy xác định không bị nhiễm nấm (phương pháp như mô tả ở mục tiêu 1).

Chúng tôi tiến hành bốc thăm để lựa chọn ngẫu nhiên bệnh nhân vào hai nhóm.

+ Nhóm đối chứng: gồm n1 các trẻ đẻ non dưới 1 tuần tuổi, cân nặng < 1500gr, tiếp tục điều trị theo các chẩn đoán lâm sàng mà không tiến hành điều trị dự phòng bằng Fluconazole

+ Nhóm can thiệp gồm n2 (n2 = n1) các trẻ đẻ non dưới 1 tuần tuổi, cân nặng < 1500gr, bên cạnh việc điều trị theo các chẩn đoán lâm sàng thì được điều trị dự phòng bằng fluconazole với liều 6mg/kg/48 giờ. Chúng tôi lựa chọn fluconazole theo khuyến cáo của ESCMID năm 2012 [78] và IDSA năm 2016 [79].

- Quy trình nghiên cứu:

Tiến hành điều trị dự phòng fluconazole cho nhóm dự phòng với liều 6mg/kg/48 giờ, tiêm tĩnh mạch chậm trong 30 phút vào 9h00 sáng. Nhóm chứng tiếp tục điều trị theo phác đồ điều trị. Thời gian điều trị dự phòng là 4 tuần.

Theo dõi quá trình điều trị cả nhóm chứng và nhóm dự phòng. Tiến hành nuôi cấy xác định nấm mỗi tuần theo định hướng chẩn đoán lâm sàng.

Nghiên cứu hồ sơ bệnh án để thu thập thông tin, mỗi bệnh nhân trong nhóm điều trị dự phòng và nhóm đối chứng đều có một hồ sơ bệnh án nghiên cứu riêng ghi đầy đủ các thông tin chung bao gồm phần hành chính, tiền sử sản khoa, bệnh sử, các triệu chứng bệnh lý lúc nhập viện, thời gian điều trị dự phòng (với nhóm điều trị fluconazole). Tất cả các biến số nghiên cứu đều được thể hiện trong công cụ thu thập số liệu (phần Phụ lục 3).

2.2.2.3. Các biến số nghiên cứu và phương pháp thu thập số liệu

- Bệnh lý của mẹ: là biến định danh, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ mắc từng bệnh lý.
- Sử dụng steroids trước sinh: là biến định danh, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ được tiêm steroids.
- Hình thức chuyển dạ: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ chuyển dạ tự nhiên, tỷ lệ phần trăm bà mẹ chuyển dạ cần can thiệp.
- Hình thức sinh: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ đẻ thường, tỷ lệ phần trăm bà mẹ mổ đẻ.
- Hình thức vỡ ối: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ vỡ ối tự nhiên, tỷ lệ phần trăm bà mẹ vỡ ối có can thiệp.
- Thời gian vỡ ối: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ vỡ ối dưới 6 giờ, tỷ lệ phần trăm bà mẹ vỡ ối trên 6 giờ.
- Số lượng nước ối: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ có số lượng nước ối bình thường, tỷ lệ phần trăm bà mẹ đa ối.
- Tính chất nước ối: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm bà mẹ có nước ối trong, tỷ lệ phần trăm bà mẹ có nước ối bẩn.
- Tình trạng trẻ ngay sau sinh: là biến nhị phân, có suy hô hấp hay không có suy hô hấp.
- Giới tính: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm trẻ trai, tỷ lệ phần trăm trẻ gái.
- Cân nặng: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm trẻ có cân nặng <1000gr, tỷ lệ phần trăm trẻ có cân nặng từ 1000gr đến dưới 1500gr.
- Tuổi thai: là biến định danh, tính tỷ lệ phần trăm trẻ phân bố theo từng nhóm tuổi thai: < 28 tuần, 28 - 30 tuần, > 30 tuần.
- Tình trạng dinh dưỡng của thai: là biến nhị phân, trẻ có suy dinh dưỡng bào thai và không có suy dinh dưỡng bào thai, tính tỷ lệ phần trăm.

- Chẩn đoán lúc vào viện: là các biến nhị phân, vàng da, nhiễm trùng huyết, viêm phổi, viêm ruột hoại tử, viêm màng não mủ, suy hô hấp... tính tỷ lệ phần trăm.
- Các can thiệp xâm lấn: là các biến nhị phân, đặt NKQ thở máy, thở NCPAP, đặt catheter rốn, đặt catheter động mạch quay đo huyết áp động mạch liên tục, đặt long-line, tính tỷ lệ phần trăm.
- Thời gian duy trì các can thiệp: là các biến rời rạc, đơn vị tính là ngày, tính giá trị trung vị và IQR.
- Tình trạng nhiễm vi khuẩn phổi hợp: là các biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm.
- Tình trạng nhiễm nấm: là các biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm trẻ nhiễm nấm.
- Vị trí nhiễm nấm, chủng loại nấm và thời gian nhiễm nấm: là các biến định danh, tính số trẻ nhiễm nấm theo từng vị trí, chủng loại nấm và số trẻ nhiễm nấm theo từng tuần.
- Đáp ứng với thuốc điều trị nấm, tính giá trị MIC: là các biến liên tục, tính các giá trị MIC theo từng loại nấm.
- Kết quả điều trị: là biến nhị phân, tính tỷ lệ phần trăm trẻ ra viện và tỷ lệ phần trăm trẻ tử vong, trẻ tử vong phân làm 2 nhóm: tử vong trong giai đoạn dự phòng (trong 4 tuần dự phòng fluconazole) và tử vong sau khi việc điều trị dự phòng đã kết thúc.
- Đánh giá tiền sử sản khoa của hai nhóm nghiên cứu
- Khám lâm sàng trẻ sơ sinh đẻ non ở hai nhóm nghiên cứu

Thăm khám lâm sàng và chẩn đoán tuổi thai của sơ sinh non tháng theo thang điểm Ballard (phần Phụ lục 1).

Xét nghiệm cận lâm sàng:

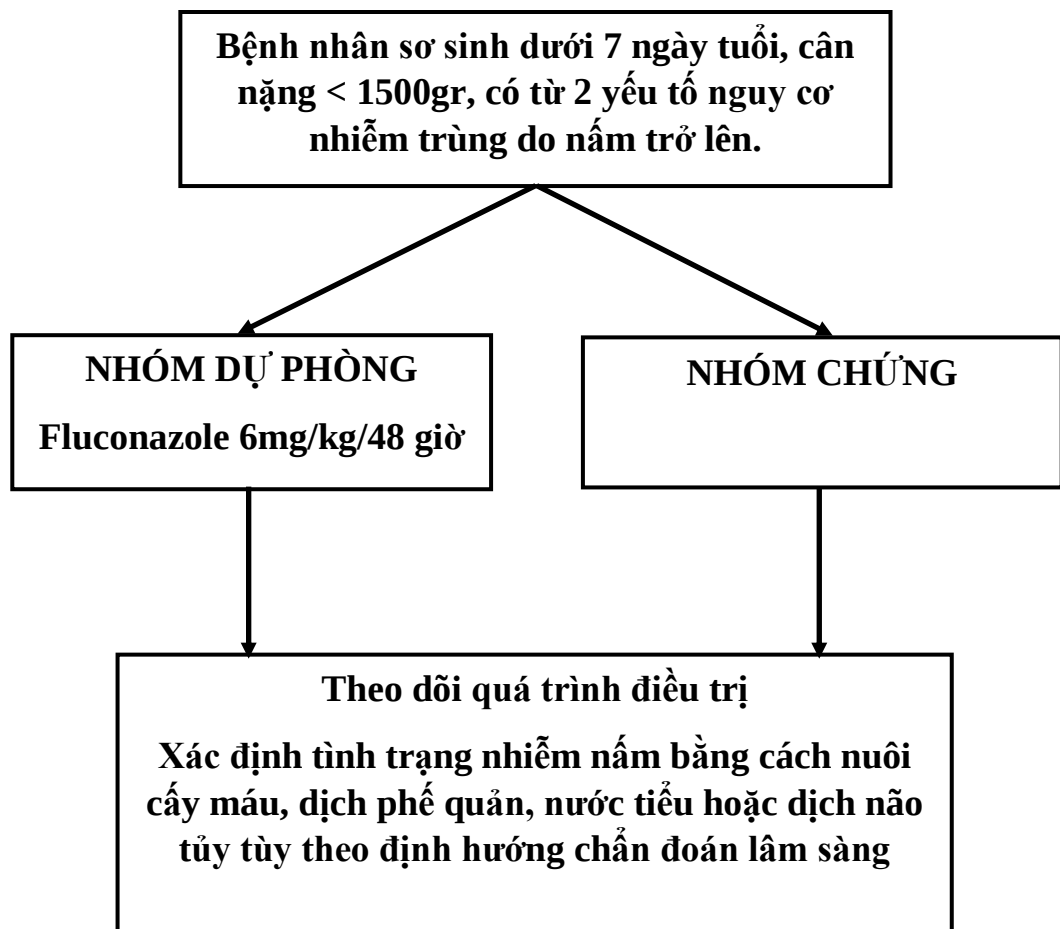
Được thực hiện ngay khi bắt đầu và mỗi tuần sau khi bệnh nhân được lựa chọn vào nghiên cứu.

Các xét nghiệm bao gồm: Công thức máu, đông máu cơ bản, sinh hóa máu, CRP.

Nuôi cấy máu, dịch phế quản, nước tiểu hoặc dịch não tủy khi có định hướng trên lâm sàng xác định vị trí nhiễm nấm.

- Đánh giá tỷ lệ nhiễm nấm giữa hai nhóm nghiên cứu
- Mô tả vị trí nhiễm nấm, thời gian nhiễm nấm và chủng loại nấm nhiễm
- Đánh giá kết quả điều trị và sự kháng thuốc

SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU MỤC TIÊU 2



2.2.3. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng toán thống kê y học, sử dụng phần mềm STATA 9.0. Các phương pháp thống kê được sử dụng bao gồm thống kê mô tả và thống kê phân tích, so sánh tương quan.

Các biến rời rạc sẽ được trình bày theo tỷ lệ phần trăm, các biến liên tục sẽ được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD), tỷ lệ nhiễm nấm sẽ được ước lượng với khoảng tin cậy 95% (95% CI).

Tỷ lệ nhiễm nấm, tỷ lệ nhiễm nấm theo vị trí, liên quan đến các yếu tố như cân nặng, tình trạng can thiệp xâm lấn, thời gian nằm viện, sử dụng kháng sinh phổ rộng kéo dài.

Tỷ lệ loại nấm phân lập, tỷ lệ kháng thuốc chống nấm.

Thống kê mô tả bao gồm tính toán các tần số, tỷ lệ của các biến định tính và tính số trung bình và trung vị của các biến số định lượng. Trắc nghiệm chi bình phương được sử dụng để so sánh các tỷ lệ. Trắc nghiệm T-student, Mann Whitney và Anova được sử dụng để so sánh các số trung bình, hoặc trung vị.

Yếu tố nguy cơ được phân tích bằng phương pháp hồi quy logistic. Các yếu tố nguy cơ có ý nghĩa trong phân tích hồi quy logistic sẽ có hệ số hồi quy β tương ứng. Khi lấy hệ số này nhân với 10 ta có chỉ số nguy cơ của từng biến số độc lập. Từng bệnh nhân sẽ có chỉ số nguy cơ bằng tổng các chỉ số nguy cơ của từng biến độc lập theo công thức $\sum 10 \times \beta \times \chi$ (β là hệ số tương quan hồi quy của từng biến độc lập, χ là giá trị của biến: Có giá trị là 1 khi xuất hiện biến đó và giá trị là 0 khi không có biến xuất hiện).

Tỷ suất chênh OR được tính toán để tìm hiểu tương quan giữa các biến số kết quả là biến định lượng với các biến số về đặc điểm của bệnh nhân. Mức ý nghĩa $\alpha=0,05$ và khoảng tin cậy 95% được sử dụng.

2.2.4. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

- Phân nghiên cứu mô tả: không ảnh hưởng đến quá trình điều trị của bệnh nhân, không làm bệnh nhân nặng lên, không gây tử vong cho bệnh nhân.
- Phần can thiệp thử nghiệm lâm sàng: các bệnh nhân ở nhóm chứng vẫn được tiếp tục điều trị theo một phác đồ chung đã được khuyến cáo và thực tế trên thế giới cũng đã tiến hành những nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng tương tự. Bên cạnh đó tại Việt Nam hiện nay chưa có hướng dẫn cụ thể nào về việc điều trị dự phòng nhiễm nấm cho trẻ đẻ non nằm điều trị trong bệnh viện.
- Về kinh tế: kinh phí điều trị dự phòng của bệnh nhân do Bảo hiểm y tế thanh toán, nghiên cứu không gây tổn kém thêm cho gia đình bệnh nhân.
- Nghiên cứu đã được Hội đồng xét duyệt đề cương của trường Đại học Y Hà Nội thông qua và Hội đồng đạo đức của Bệnh viện Nhi trung ương chấp thuận theo giấy chứng nhận số 747/ BVNTW-VNCSKTE.

Chương 3

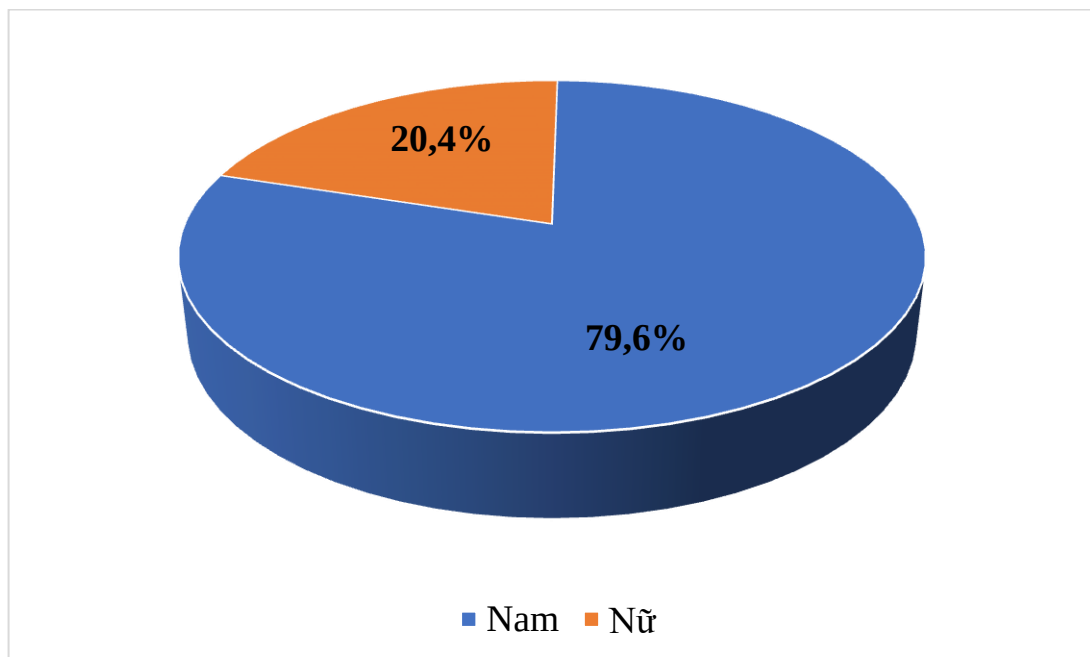
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU MỤC TIÊU 1

Từ tháng 02/2016 đến tháng 02/2017 có 49 trẻ sơ sinh được xác định nhiễm nấm trên tổng số 4264 trẻ sơ sinh nhập viện điều trị tại Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương trong thời gian nghiên cứu.

3.1.1. Các đặc điểm chung

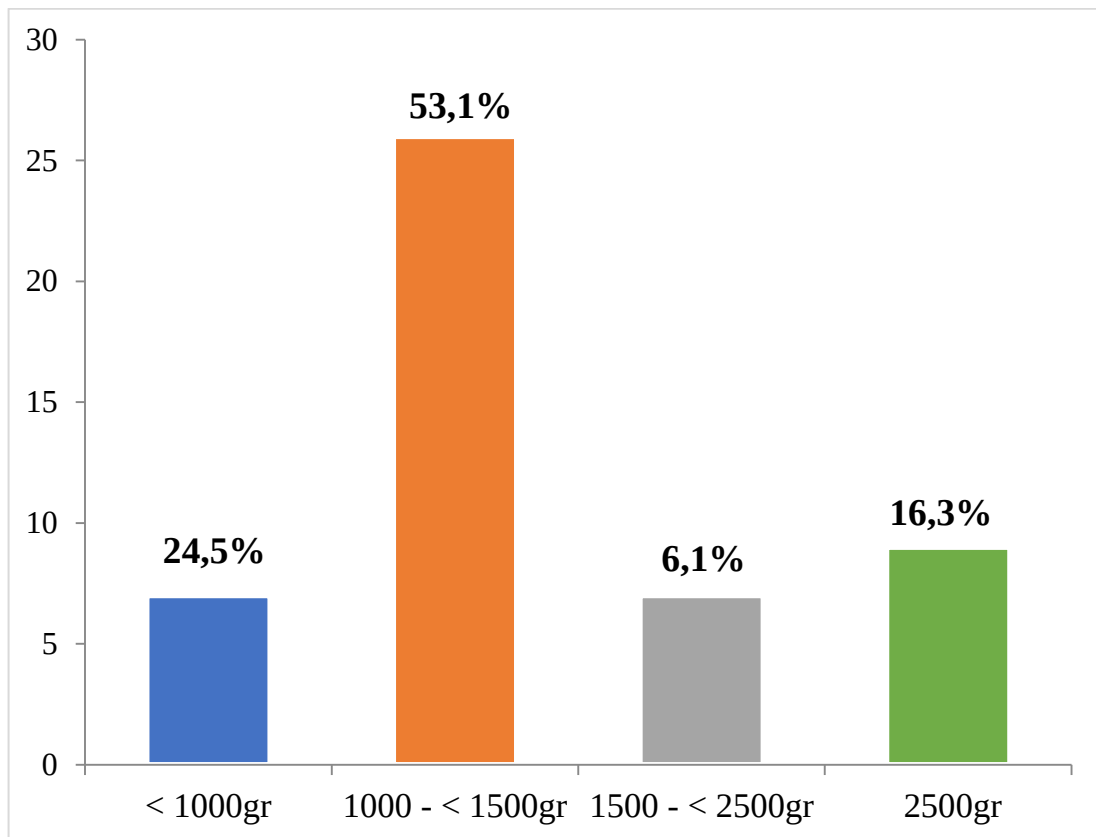
3.1.1.1. Giới tính



Biểu đồ 3.1: Tỷ lệ nam/ nữ

Nhận xét: Trong tổng số 49 trẻ sơ sinh nhiễm nấm có 39 trẻ nam chiếm tỷ lệ 79,6%, và 10 trẻ nữ chiếm tỷ lệ 20,4%. Tuy nhiên kết quả này không có nghĩa là tỷ lệ nhiễm nấm ở trẻ nam nhiều hơn trẻ nữ.

3.1.1.2. Cân nặng lúc sinh



Biểu đồ 3.2. Cân nặng lúc sinh

Nhận xét: Có 26 trẻ có cân nặng lúc sinh từ 1000 - < 1500 nhiễm nấm, chiếm tỷ lệ 53,1%. Tỷ lệ suy dinh dưỡng bào thai: 3/49 trẻ (6,1%).

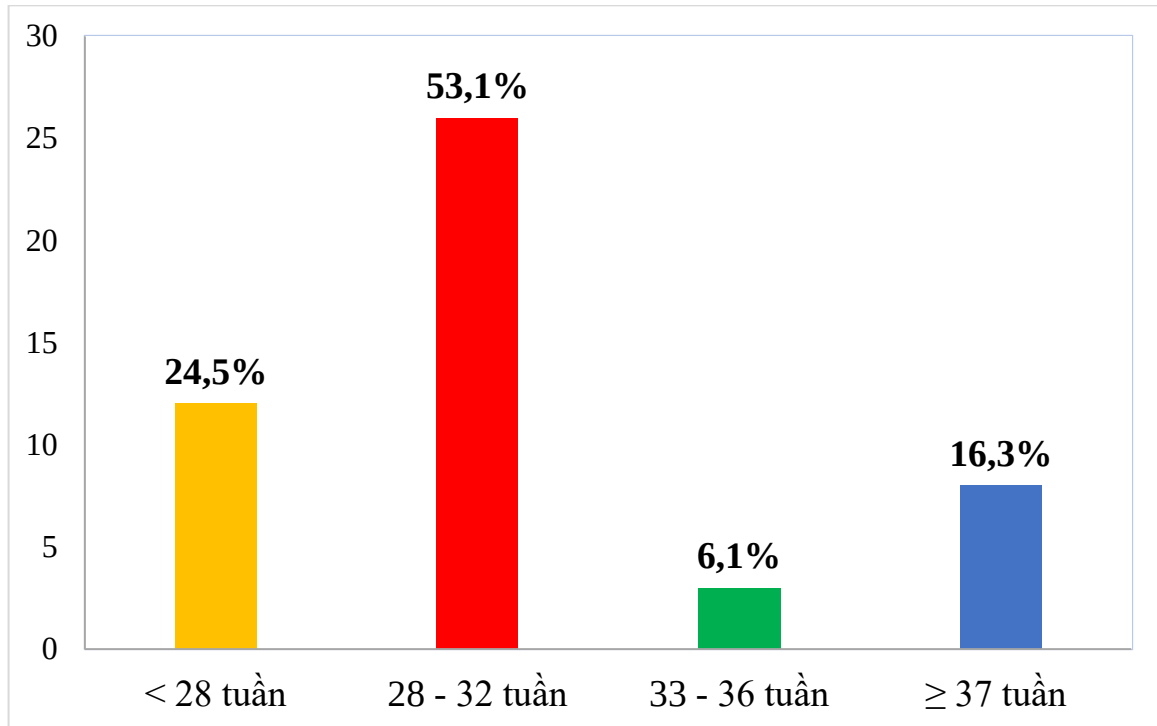
3.1.1.3. Tiền sử sản khoa và dinh dưỡng của trẻ sau sinh

Bảng 3.1. Tiền sử sản khoa và dinh dưỡng của trẻ

Tiền sử sản khoa	n	%
Số lượng nước ối		
Bình thường	43	87,8
Đa ối	1	2,0
Thiếu ối	5	10,2
Tính chất nước ối		
Nước ối trong	48	98,0
Nước ối bẩn	1	2,0
Hình thức sinh		
Đẻ thường	48	98,0
Mổ đẻ	1	2,0
Tình trạng trẻ lúc sinh ra		
Không SHH sau đẻ	45	91,8
Có SHH sau đẻ	4	8,2
Tình trạng dinh dưỡng sau khi sinh		
Bú mẹ	1	2,0
Nuôi dưỡng TM một phần	12	24,5
Nuôi dưỡng TM hoàn toàn	36	73,5

Nhận xét: Hầu hết các trẻ trong nhóm trẻ bị nhiễm nấm có tiền sử sản khoa bình thường. Các trẻ nhiễm nấm có tỷ lệ phải nuôi dưỡng qua đường tĩnh mạch cao với 24,5% trẻ được nuôi dưỡng tĩnh mạch một phần và 73,5% trẻ được nuôi dưỡng tĩnh mạch hoàn toàn.

3.1.1.4. Tuổi thai và tuổi lúc nhập viện



Biểu đồ 3.3. Tuổi thai

Nhận xét: Nhóm trẻ có tuổi thai từ 28 - 32 tuần chiếm tỷ lệ cao nhất (53,1%) trong tổng số các trẻ sơ sinh nhiễm nấm.

Bảng 3.2. Liên quan giữa tuổi thai và tuổi nhập viện

Đặc điểm	Số trẻ	Mean $\pm$ SD	Min	Max
Tuổi lúc nhập viện (ngày)	49	13,2 $\pm$ 11,2	1	42
Tuổi thai (tuần)	49	30,5 $\pm$ 4,2	25	40

Nhận xét: Hầu hết trẻ nhiễm nấm từ tuần thứ 2 sau khi sinh và đa số là trẻ sinh non.

3.1.1.5. Lý do vào viện

Bảng 3.3. Lý do vào viện

Lý do vào viện	n	%
Suy hô hấp	44	89,8
Các bệnh lý khác	5	10,2
Tổng số	49	100,0

Nhận xét: Trẻ vào viện vì suy hô hấp là nguyên nhân chính. Các bệnh lý khác bao gồm: nhiễm khuẩn huyết, tắc mật, tăng sản thượng thận bẩm sinh, viêm ruột hoại tử.

3.1.1.6. Điều trị tại tuyến trước

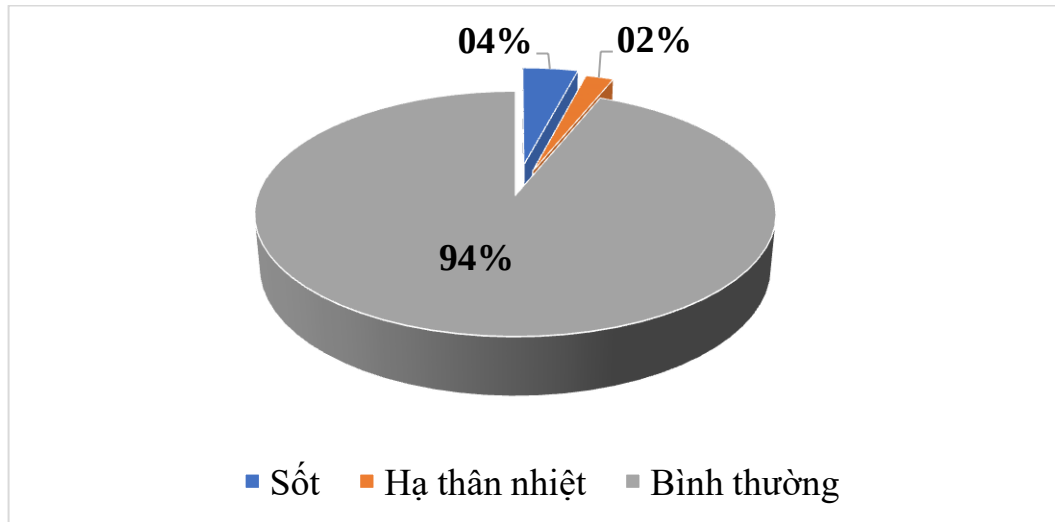
Bảng 3.4. Các can thiệp điều trị tại tuyến trước

Cách thức điều trị	n (%)	Thời gian trung bình
Thở NCPAP	08 (19,5)	6,9 ± 5,5 ngày
Thở máy	33 (80,5)	13,4 ± 8,1 ngày
Tổng số bệnh nhân	41 (100)	11,9 ± 8,7 ngày

Nhận xét: Có 41/49 bệnh nhân đã được điều trị ở tuyến dưới trước khi chuyển đến Bệnh viện Nhi trung ương với thời gian trung bình là 11,9 ± 8,7 ngày.

3.1.2. Triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng

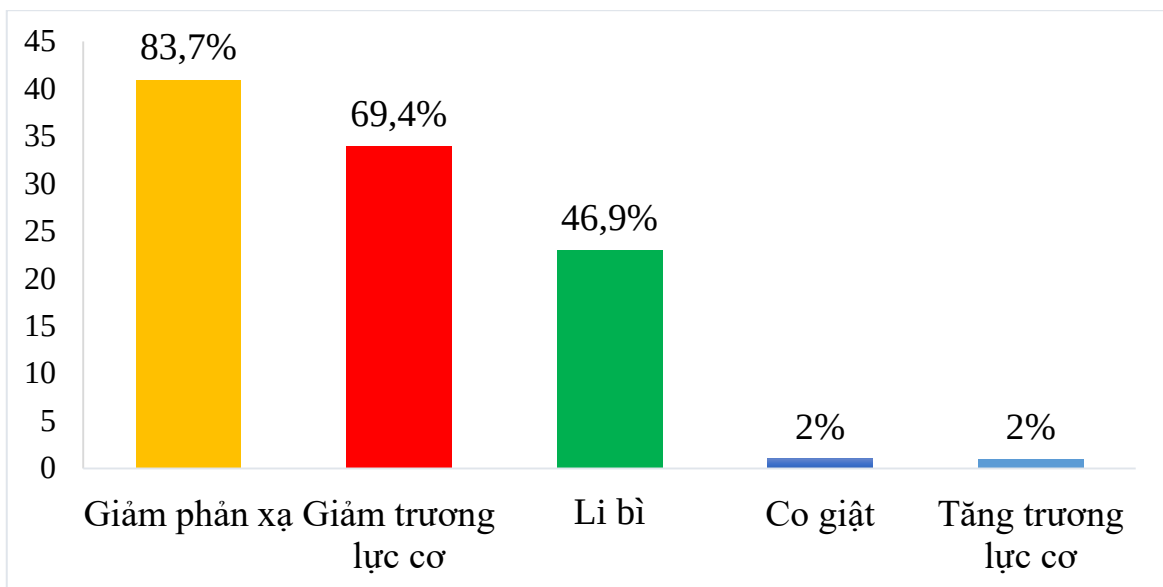
3.1.2.1. Thân nhiệt



Biểu đồ 3.4. Thân nhiệt của bệnh nhân nhiễm nấm

Nhận xét: Hầu hết bệnh nhân không sốt khi nhiễm nấm.

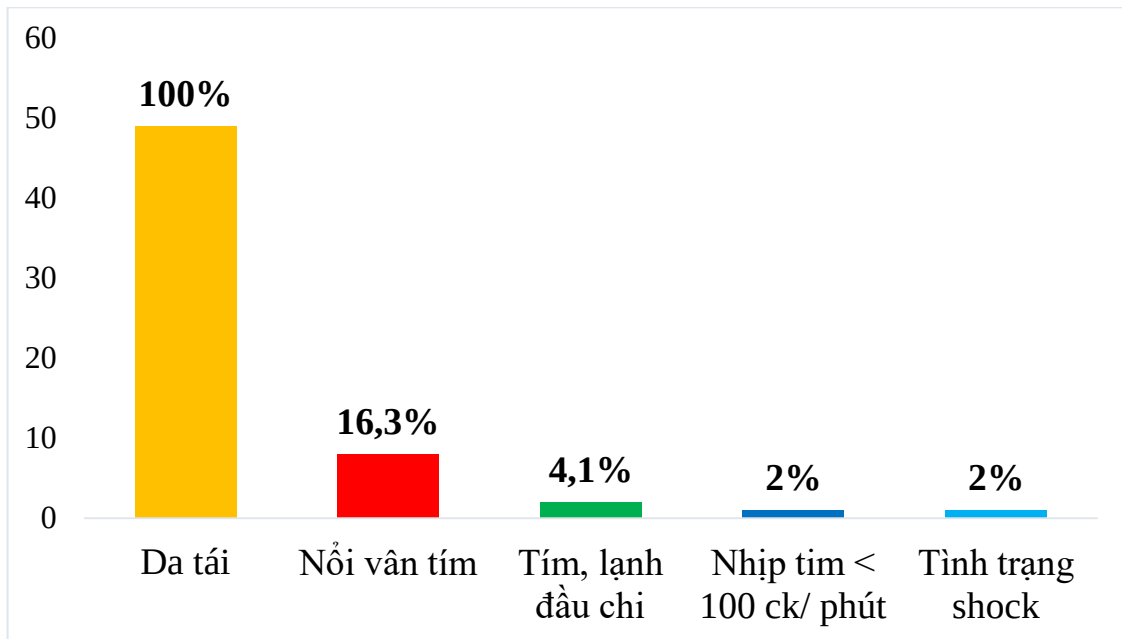
3.1.2.2. Triệu chứng thần kinh



Biểu đồ 3.5. Triệu chứng thần kinh

Nhận xét: Các triệu chứng thần kinh chủ yếu là giảm phản xạ, giảm trương lực cơ và li bì.

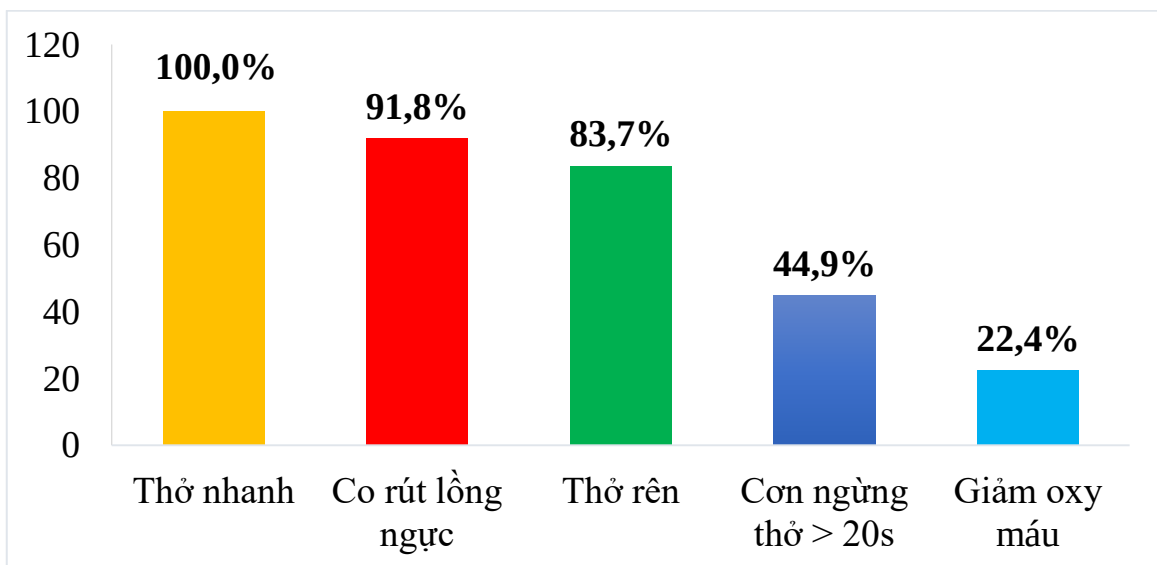
3.1.2.3. Triệu chứng tuần hoàn



Biểu đồ 3.6. Triệu chứng tuần hoàn

Nhận xét: Triệu chứng tuần hoàn chủ yếu là biểu hiện da tái, ít có các biểu hiện nặng như shock.

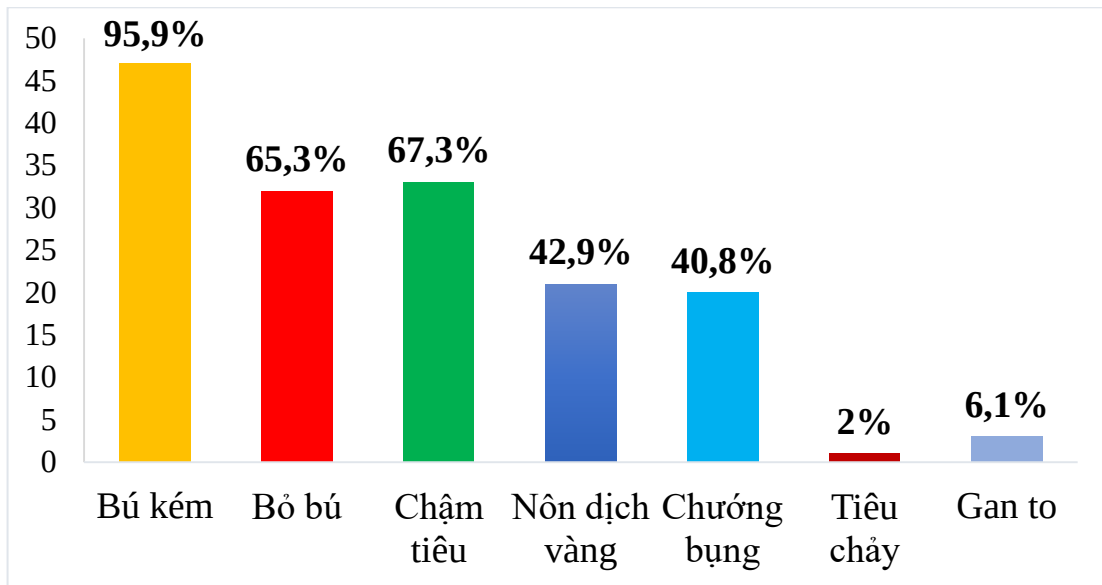
3.1.2.4. Triệu chứng hô hấp



Biểu đồ 3.7. Triệu chứng hô hấp

Nhận xét: Các triệu chứng hô hấp nổi bật là thở nhanh, thở rên, co rút lồng ngực.

3.1.2.5. Triệu chứng tiêu hóa



Biểu đồ 3.8. Triệu chứng tiêu hóa

Nhận xét: Các triệu chứng tiêu hóa chủ yếu là bú kém, bỏ bú và chậm tiêu.

3.1.2.6. Công thức máu

Bảng 3.5. Công thức máu

Thông số	Vào viện	Nhiễm nầm	Sau điều trị 3 ngày	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần
HC ($\times 10^{12}/L$)	3,9	3,6	3,6	3,7	3,9
Hb (g/L)	127,8	109,8	104,7	111,4	118,5
HCT (%)	39,3	32,4	32,1	33,4	49,5
BC ($\times 10^9/L$)	15,9	13,4	12,8	13,7	12,4
% Neutrophil	56,9	54,3	48,7	48,6	49,1
% Lymphocyte	26,0	27,1	31,0	31,5	31,7
% Monocyte	11,0	12,1	11,7	11,7	10,8
% Eosinophile	1,7	2,4	3,6	4,2	4,8
% Basophile	0,9	0,8	0,9	0,6	0,6
TC ($\times 10^9/L$)	165,5	122	138,9	188	192

Nhận xét: Số lượng hồng cầu, bạch cầu, tỷ lệ bạch cầu đa nhân trung tính không có thay đổi nào đáng kể khi trẻ bị nhiễm nầm.

Bảng 3.6: Số lượng tiểu cầu

Thông số	Số trẻ (n)	SL tiểu cầu trung bình (x 10 ⁹ /L)	Độ lệch chuẩn	SL tiểu cầu tối thiểu (x 10 ⁹ /L)	SL tiểu cầu tối đa (x 10 ⁹ /L)
Vào viện	49	165,5	114,4	2,8	412
Lúc cấy nấm dương tính	49	122,0	120,5	2,8	572
Sau điều trị 3 ngày	43	138,9	121,8	6	535
Sau 1 tuần	39	188,0	134,0	9	601
Sau 2 tuần	30	192,0	140,5	2,2	625

Nhận xét: Số lượng tiểu cầu có xu hướng giảm khi trẻ bị nhiễm nấm.

Bảng 3.7: Số bệnh nhân có tiểu cầu giảm

Tiểu cầu	Lúc nhiễm		Sau ĐT 3 ngày		Sau ĐT 1 tuần	
	n	%	n	%	n	%
< 50.000	15	30,6	12	27,9	7	17,9
50.000 - 100.000	11	22,4	9	20,9	3	7,7
> 100.000 - 150.000	9	18,4	7	16,3	7	17,9
> 150.000	14	28,6	15	34,9	22	56,5
Tổng số	49	100	43	100	39	100

Nhận xét: Có 30,6% trẻ có tiểu cầu giảm < 50.000/ mm³ khi bị nhiễm nấm. Trong quá trình điều trị thuốc chống nấm số lượng tiểu cầu tăng dần.

3.1.2.7. Đông máu**Bảng 3.8: Đông máu**

Thông số	Vào viện	Nhiễm nấm	Sau điều trị 3 ngày	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần
PT (%)	60,7	64,9	75,5	74,8	71,5
PT (giây)	18,4	17,1	14,7	14	13,9
PT (inr)	1,6	1,5	1,3	1,3	1,3
APTTa	44,1	39,6	38,6	41	48,8
APTT b/c	1,3	1,3	1,2	1,3	1,6
Fibrinogen	3	3	3,5	2,2	2,8

Nhận xét: Không có rối loạn đông máu ở thời điểm trẻ bị nhiễm nấm.

3.1.2.8. Khí máu và lactat máu**Bảng 3.9: Khí máu và lactat máu**

Thông số	Vào viện	Nhiễm nấm	Sau điều trị 3 ngày	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần
pH	7,4	7,4	7,3	7,4	7,4
PaCO ₂	43,9	45,2	48,4	43,8	41,4
PaO ₂	111,5	98,2	74,1	111,7	99,6
HCO ₃ ⁻	24,5	25,7	25,4	26,4	25,4
BE	- 0,4	1	0,3	2,7	1,7
Lactat	3,4	2,7	2,9	1,9	1,2

Nhận xét: Ở thời điểm trẻ bị nhiễm nấm khí máu và lactat máu không có sự thay đổi nào đáng kể.

3.1.2.9. Sinh hóa máu

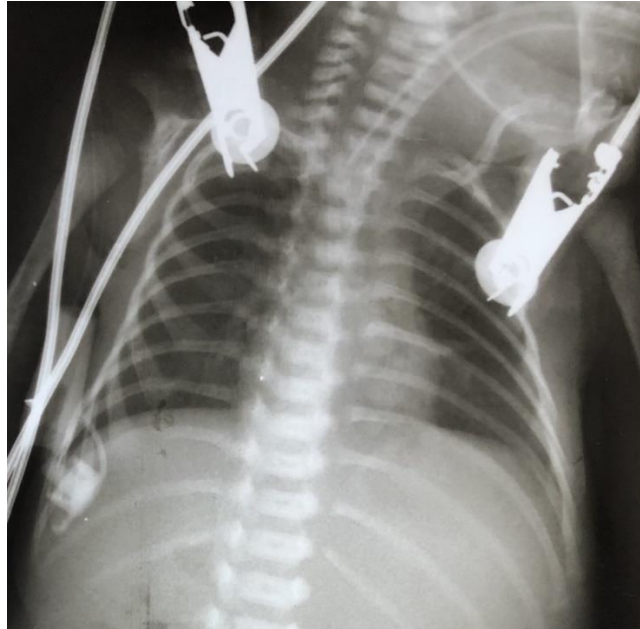
Bảng 3.10: Một số chỉ số sinh hóa máu

Thông số	Vào viện	Nhiễm nấm	Sau điều trị 3 ngày	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần
CRP (mg/L)	17,2	30,7	30,9	17,8	13,2
Glucose (g/L)	5,6	5,1	4,5	4,1	4
Ure (mmol/L)	6,8	5	3,6	3,8	3,7
Creatinin (mmol/L)	73	55,5	50,3	50,7	50
Protein (g/L)	44,9	45,4	44	45,6	45
Albumin (g/L)	30,1	28,9	28,1	29,6	28,7
SGOT (IU/L)	129,3	98,1	60,3	53,4	88,3
SGPT (IU/L)	33,6	32,2	18,9	22,3	25,5
Natri (mmol/L)	134,2	132,1	133,2	134,1	133
Kali (mmol/L)	4,2	3,8	5,4	4,1	4
Clo (mmol/L)	95,7	94,6	99,9	103,4	100,2
Magie (mmol/L)	0,9	0,8	0,7	0,5	0,8
Canxi ion (mmol/L)	1,3	1,4	1,4	1,5	1,4

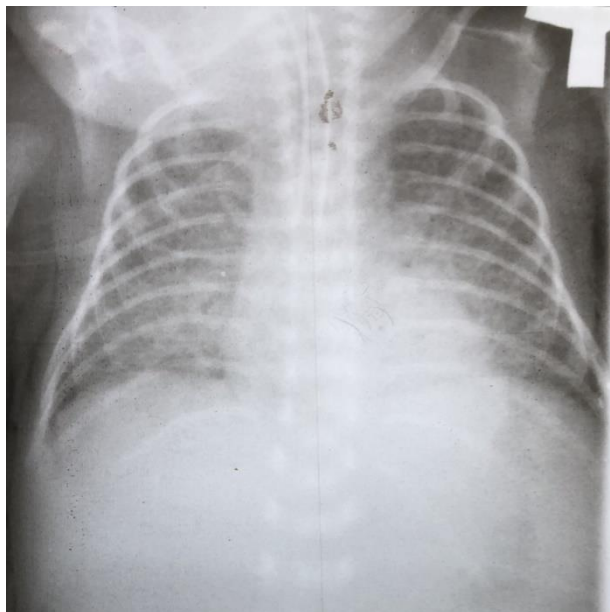
Nhận xét: Các trẻ bị nhiễm nấm đều có CRP tăng.

3.1.2.10. Hình ảnh X quang

Chúng tôi có 03 bệnh nhân nhiễm nấm phổi trong tổng số 49 trẻ nhiễm nấm



Hình 3.1. Hình ảnh X quang phổi của bệnh nhân Nguyễn Gia K. nhiễm *Candida albicans* phổi



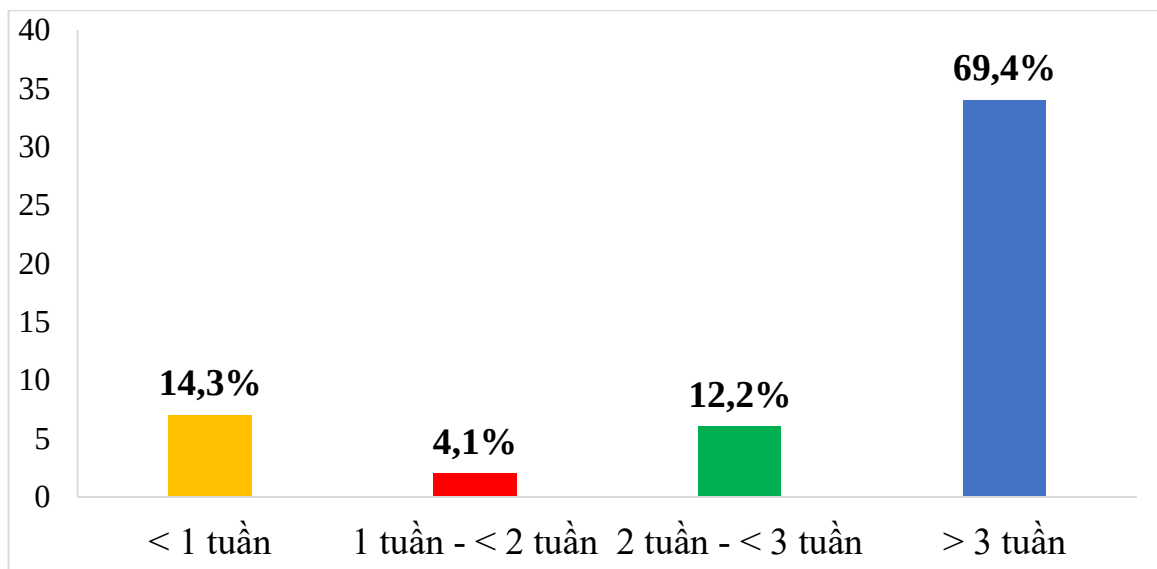
Hình 3.2. Hình ảnh X quang phổi của bệnh nhân Nguyễn Đức Nhật M. nhiễm *Candida albicans* phổi



Hình 3.3. Hình ảnh X quang phổi của bệnh nhân Nguyễn Thị A. nhiễm *Candida tropicalis* phổi

Nhận xét: Hình ảnh tổn thương trên X quang không đặc hiệu.

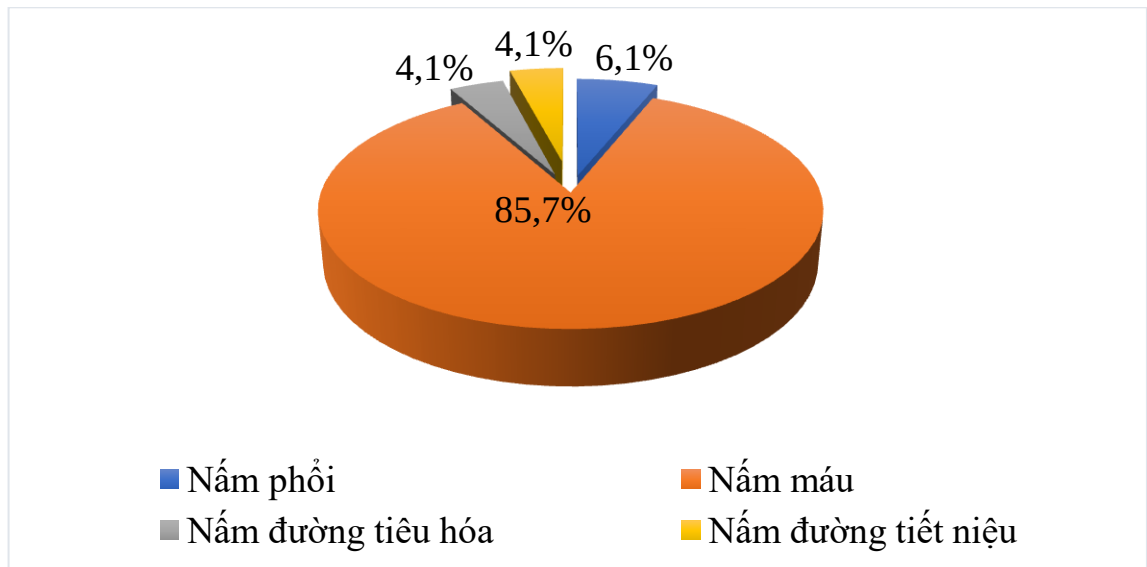
3.1.2.11. Thời điểm trẻ được phát hiện nhiễm nấm



Biểu đồ 3.9. Phân bố nhiễm nấm theo thời gian nằm viện

Nhận xét: Trong tổng số 49 bệnh nhân nhiễm nấm, có 34 trẻ mắc bệnh sau khi nằm viện trên 3 tuần, với tỷ lệ 69,4%.

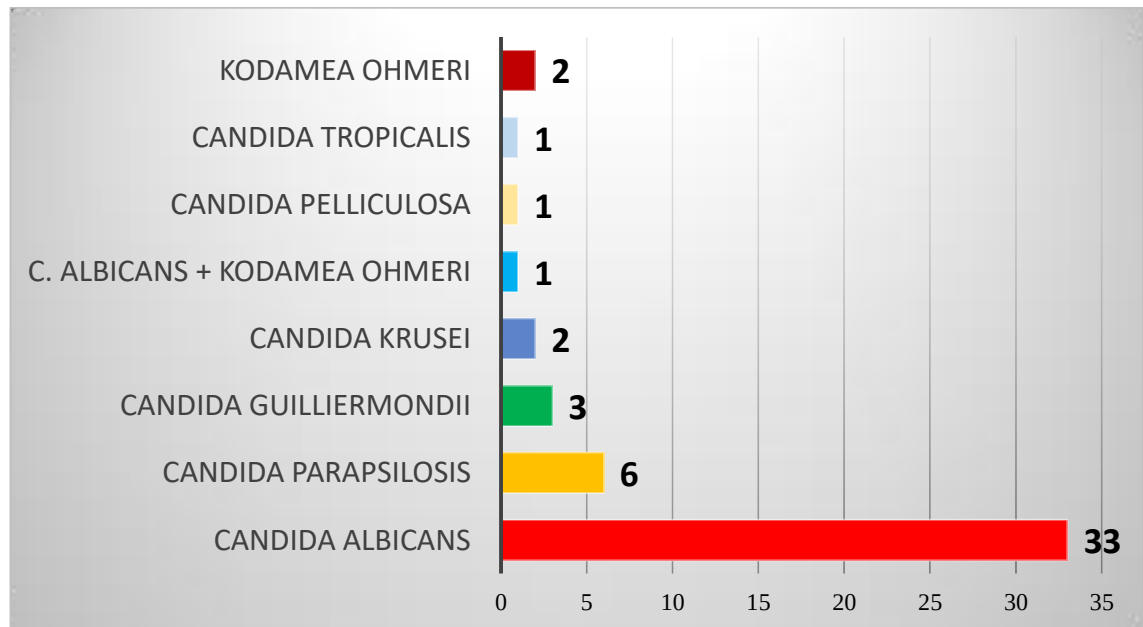
3.1.2.12. Vị trí nhiễm nấm



Biểu đồ 3.10. Vị trí nhiễm nấm

Nhận xét: Vị trí nhiễm nấm chủ yếu là nhiễm nấm máu với tỷ lệ 85,7%.

3.1.2.13. Chủng nấm gây bệnh



Biểu đồ 3.11. Chủng nấm gây bệnh

Nhận xét: Nấm gây bệnh chủ yếu là *Candida albicans* với tỷ lệ 67,3%. *Candida parapsilosis* đứng hàng thứ hai với tỷ lệ 12,2%.

3.1.3. Thời gian điều trị thuốc kháng nấm

Bảng 3.11. Thời gian điều trị thuốc kháng nấm

Thuốc kháng nấm	Số trẻ (n)	Thời gian điều trị (ngày)
Fluconazole	20	$14,2 \pm 6,3$
Amphotericin B	28	$17,3 \pm 5,7$
Caspofungin	01	14

Nhận xét: Thời gian điều trị trung bình của Fluconazole là $14,2 \pm 6,3$ ngày và Amphotericin B là $17,3 \pm 5,7$ ngày.

3.1.4. Phân bố các yếu tố nguy cơ

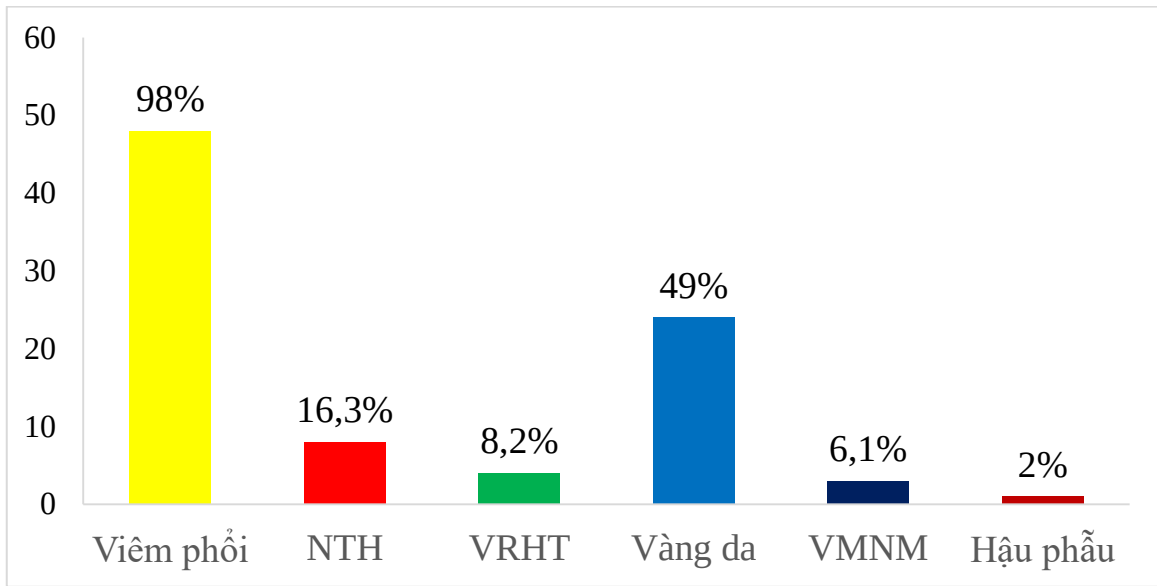
3.1.4.1. Các can thiệp xâm lấn

Bảng 3.12. Các can thiệp xâm lấn

Các can thiệp (n=49)	Số trẻ (n)	Tỷ lệ %	Thời gian trung bình (ngày)
Thở máy	48	98,0	$19,5 \pm 11$
Thở NCPAP	38	77,6	$8,1 \pm 3,2$
Đặt catheter rốn	39	79,6	$5,9 \pm 1,1$
Đặt catheter động mạch quay	39	79,6	$9,2 \pm 5,8$
Long-line	37	75,5	$19 \pm 7,9$

Nhận xét: Hầu hết các trẻ đều có các can thiệp xâm lấn với thời gian kéo dài. Trong đó tỷ lệ trẻ phải thở máy rất cao, lên đến 98%.

3.1.4.2. Bệnh lý trẻ đang điều trị khi phát hiện nhiễm nấm



Biểu đồ 3.12. Bệnh lý trẻ đang điều trị

Nhận xét: Bệnh lý mà trẻ đang điều trị khi phát hiện nhiễm nấm chủ yếu là viêm phổi và vàng da

3.1.4.3. Thời gian nằm viện

Bảng 3.13. Thời gian nằm viện

Kết quả điều trị	Số trẻ (n)	Số ngày nằm viện trung bình (Mean ± SD)	Số ngày nằm viện ngắn nhất	Số ngày nằm viện dài nhất
Ra viện	28	50,3 ± 17,7	16	95
Tử vong	21	45,3 ± 35,9	01	128
Chung	49	48,2 ± 26,8	01	128

Nhận xét: Các trẻ sơ sinh nhiễm nấm đều có thời gian nằm điều trị trung bình kéo dài. Trong nhóm ra viện có bệnh nhân có thời gian nằm viện tới 95 ngày. Đặc biệt, trong nhóm tử vong có bệnh nhân nằm viện rất lâu, tới 128 ngày.

3.1.4.4. Thời gian điều trị kháng sinh

Bảng 3.14. Thời gian điều trị kháng sinh

Kháng sinh	Số trẻ (n)	Số ngày trung bình (Mean $\pm$ SD)	Thời gian ngắn nhất	Thời gian dài nhất
Cephalosporin thế hệ 3	28	12,1 $\pm$ 5,9	6	26
Carbapenem	41	17,2 $\pm$ 6,2	5	31
Quinolone	13	14,5 $\pm$ 9	1	30
Metronidazole	17	12,4 $\pm$ 3,5	7	18
Vancomycin	9	11,6 $\pm$ 5,3	5	18
Colistin	14	15,3 $\pm$ 7,9	1	30
Kháng sinh khác	24	8,2 $\pm$ 4,3	5	23

Nhận xét: Hầu hết các trẻ đều được sử dụng kháng sinh phổ rộng kéo dài do các bệnh lý nhiễm khuẩn phối hợp.

3.1.5. Tình trạng đáp ứng với thuốc chống nấm

Bảng 3.15. Đáp ứng với thuốc chống nấm

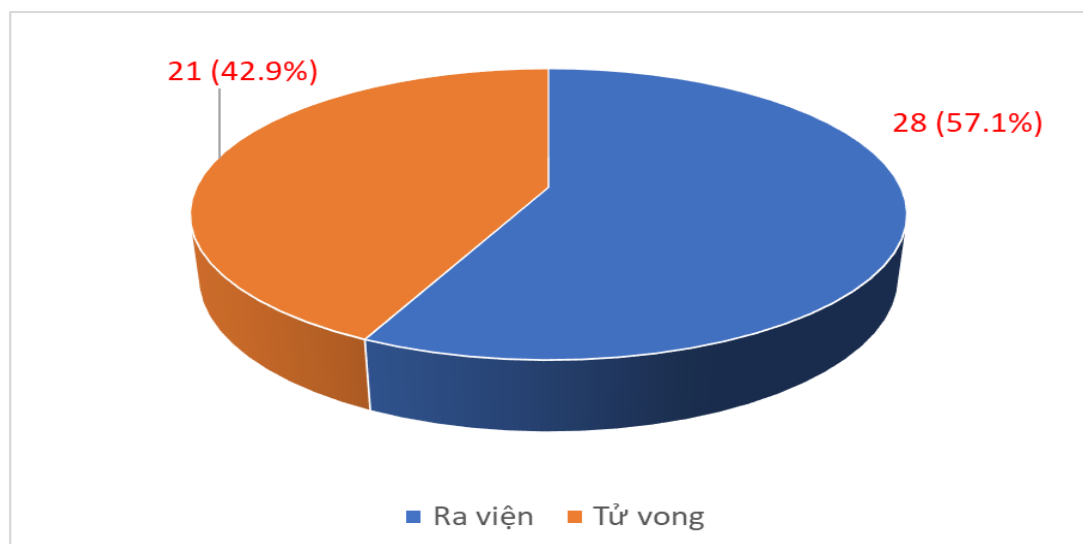
Chủng nấm nhiễm (số KSD)	Số bệnh nhân nhạy cảm với thuốc chống nấm				
	Flu	Vori	Caspo	Mica	Ampho
<i>C. albicans</i> (22)	20	22	22	22	21
<i>C. parapsillosis</i> (5)	3	5	5	5	5
<i>C. tropicalis</i> (1)	0	1	1	1	1
<i>C. pelliculosa</i> (1)	1	1	1	1	1
<i>C. guilliermondii</i> (3)	0	3	3	3	3
<i>C. krusei</i> (2)	0	2	2	2	0

Bảng 3.16. Kháng sinh đồ - MIC 1

Thuốc kháng nấm	MIC (µg/mL)					
	<i>C. Albicans</i> (22)	<i>C. parapsilosis</i> (5)	<i>C. guilliermondii</i> (3)	<i>C. krusei</i> (2)	<i>C. pelliculosa</i> (1)	<i>C. tropicalis</i> (1)
Amphotericin B	0.5 → 8	≤ 0.5 → 1	0.5 → 1	2	0.5	≤ 0.25
Micafungin	≤ 0.06	≤ 0.5 → 1	0.5	0.12	≤ 0.06	≤ 0.06
Caspofungin	≤ 0.25	≤ 0.5 → 1	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25
Voriconazole	≤ 0.12 → 1	≤ 0.12	0.25	≤ 0.12	≤ 0.12	≤ 0.5
Fluconazole	≤ 0.1 → 4	≤ 1 → 4	4 → 8	8	≤ 1	32

Nhận xét: Chứng nấm hay gặp nhất *Candida albicans* còn nhạy cảm tốt với các loại thuốc điều trị nấm, *Candida guilliermondii* kháng hoàn toàn với fluconazole, *Candida krusei* kháng cả amphotericin B và fluconazole.

3.1.6. Tình trạng sống chết

**Biểu đồ 3.13. Kết quả điều trị**

Nhận xét: Tỷ lệ tử vong rất cao (42,9%).

3.2. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU MỤC TIÊU 2

Từ tháng 8 năm 2017 đến tháng 12 năm 2018 chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên 56 bệnh nhân ở nhóm dự phòng và 58 bệnh nhân ở nhóm chứng.

3.2.1. Đặc điểm chung

3.2.1.1. Bệnh lý của mẹ ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.17. Bệnh lý của mẹ

Bệnh lý của mẹ	Nhóm dự phòng		Nhóm chứng		p
	n	%	n	%	
Đái tháo đường	1	1,8	0	0,0	> 0,05
Mẹ nhiễm nấm âm đạo	1	1,8	0	0,0	
Mẹ nhiễm khuẩn sinh dục	0	0,0	1	1,7	
Bình thường	54	96,4	57	98,3	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về bệnh lý của mẹ giữa hai nhóm nghiên cứu. Hầu hết các bà mẹ có tình trạng sức khỏe tốt trong quá trình mang thai.

3.2.1.2. Sử dụng steroids trước sinh ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.18. Sử dụng steroids

Sử dụng steroids	Nhóm dự phòng		Nhóm chứng		p
	n	%	n	%	
1 mũi	4	7,1	8	13,8	> 0,05
2 mũi	2	3,6	5	8,6	
Không tiêm	50	89,3	45	77,6	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về so sánh việc tiêm steroids trước sinh giữa hai nhóm nghiên cứu. Tỷ lệ bà mẹ được tiêm steroids còn thấp, với 7,1% ở nhóm dự phòng và 13,8% ở nhóm chứng.

3.2.1.3. Hình thức chuyển dạ ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.19. Hình thức chuyển dạ

Chuyển dạ	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Tự nhiên	49	87,5	51	87,9	> 0,05
Can thiệp	7	12,5	7	12,1	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về hình thức chuyển dạ giữa hai nhóm nghiên cứu.

3.2.1.4. Hình thức sinh ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.20. Hình thức sinh

Hình thức sinh	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Sinh thường	47	83,9	51	87,9	> 0,05
Mổ đẻ	9	16,1	7	12,1	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về hình thức đẻ giữa hai nhóm nghiên cứu. Hầu hết các trẻ được sinh thường.

3.2.1.5. Hình thức và thời gian vỡ ối ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.21. Hình thức và thời gian vỡ ối

Vỡ ối	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Tự nhiên	49	87,5	55	94,8	> 0,05
Can thiệp	7	12,5	3	5,2	
Dưới 6 giờ	50	89,3	49	84,5	
Trên 6 giờ	6	10,7	9	15,5	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về hình thức và thời gian vỡ ối giữa hai nhóm nghiên cứu.

3.2.1.6. Số lượng và tính chất nước ối

Bảng 3.22. Tình trạng nước ối

Tình trạng nước ối	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Bình thường	53	94,6	58	100,0	> 0,05
Đa ối	3	5,4	0	0,0	
Trong	52	92,9	55	94,8	> 0,05
Bẩn	4	7,1	3	5,2	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về số lượng nước ối giữa hai nhóm nghiên cứu. Phần lớn số lượng nước ối bình thường. Không có sự khác biệt về tính chất nước ối giữa hai nhóm nghiên cứu. Hầu hết tính chất nước ối bình thường.

3.2.1.7. Tình trạng trẻ sau sinh ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.23. Tình trạng trẻ sau sinh

Tình trạng sau sinh	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Không SHH	18	32,1	24	41,4	> 0,05
Có SHH	38	67,9	34	58,6	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tình trạng sau sinh giữa hai nhóm nghiên cứu.

3.2.1.8. Phân bố giới tính của hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.24. Phân bố giới tính

Giới tính	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Nam	37	66,1	32	55,2	> 0,05
Nữ	19	33,9	26	44,8	
Tổng số	56	100,0	58	100,0	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tỷ lệ nam/nữ giữa hai nhóm nghiên cứu.

3.2.1.9. Phân bố cân nặng của hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.25. Cân nặng của hai nhóm nghiên cứu

Cân nặng	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
< 1000gr	14	25,0	23	39,7	> 0,05
1000gr - < 1500gr	42	75,0	35	60,3	
Tổng số	56	100,0	58	100,0	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về cân nặng giữa hai nhóm nghiên cứu.

3.2.1.10. Phân bố tuổi thai của hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.26. Phân bố tuổi thai

Tuổi thai	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
< 28 tuần	19	34%	14	24%	> 0,05
28 - 30 tuần	33	59%	36	62%	
> 30 tuần	4	7%	8	14%	
Tổng số	56	100,0	58	100,0	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tuổi thai giữa hai nhóm nghiên cứu.

3.2.1.11. Tình trạng dinh dưỡng của thai ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.27. Tình trạng dinh dưỡng

Dinh dưỡng bào thai	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Suy dinh dưỡng	3	5,4	3	5,2	> 0,05
Không suy dinh dưỡng	53	94,6	55	94,8	
Tổng số	56	100,0	58	100,0	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tình trạng dinh dưỡng bào thai giữa hai nhóm nghiên cứu.

3.2.2. Chẩn đoán lúc vào viện

Bảng 3.28. Chẩn đoán lúc vào viện

Chẩn đoán	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Bệnh màng trong	43	76,8	46	79,3	> 0,05
Viêm phổi	0	0,0	1	1,7	-
Nhiễm trùng huyết	1	1,8	0	0,0	-
Nhiễm trùng sơ sinh	0	0,0	0	0,0	-
Viêm ruột hoại tử	0	0,0	0	0,0	-
Vàng da	1	1,8	0	0,0	-
Viêm màng não mủ	0	0,0	0	0,0	-
Suy hô hấp	35	62,5	36	62,1	> 0,05

Nhận xét: Không có sự khác biệt về chẩn đoán lúc vào viện giữa hai nhóm nghiên cứu. Trẻ vào viện chủ yếu với các lý do suy hô hấp, bệnh màng trong.

3.2.3. Phân bố các yếu tố nguy cơ

3.2.3.1. Các can thiệp ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.29. Các can thiệp ở hai nhóm nghiên cứu

Các can thiệp	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Đặt NKQ thở máy	56	100,0	58	100,0	> 0,05
Đặt kim luồn	56	100,0	58	100,0	> 0,05
Đặt catheter động mạch	42	75,0	32	55,2	> 0,05
Đặt catheter rốn	45	80,4	41	70,7	> 0,05
Đặt catheter TM cảnh	0	0,0	1	1,7	> 0,05
Đặt long-line	30	53,6	38	65,5	> 0,05
Phẫu thuật	0	0,0	1	1,7	> 0,05

Bảng 3.30. Thời gian duy trì các can thiệp

Các yếu tố nguy cơ	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p-value
	Median	IQR	Median	IQR	
Lưu nội khí quản (ngày)	10	6-22	10	5-19	> 0,05
Lưu kim luồn (ngày)	26	10-42	33	15-47	> 0,05
Lưu catheter động mạch (ngày)	5	0-8	4	0-8	> 0,05
Lưu catheter rốn (ngày)	7	2-8	4	0-7	> 0,05
Lưu long-line (ngày)	20	13-22	20	12-22	> 0,05

Nhận xét: Không có sự khác biệt về các can thiệp giữa hai nhóm nghiên cứu.

3.2.3.2. Tình trạng nhiễm vi khuẩn phối hợp

Bảng 3.31. Nhiễm vi khuẩn phối hợp ở hai nhóm nghiên cứu

Vi khuẩn phối hợp	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	12,5	6	10,3	> 0,05
<i>E. Coli</i>	6	10,7	7	12,1	> 0,05
<i>Acinetorbaacter baumannii</i>	8	14,3	9	15,5	> 0,05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	5,4	2	3,4	> 0,05
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	5,4	3	5,2	> 0,05
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	0	4	6,9	> 0,05
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	0	0	3	5,2	> 0,05
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1,8	0	0	> 0,05
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0	2	3,4	> 0,05
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	1	1,7	> 0,05
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	3,6	0	0	> 0,05
<i>Ralstonia manitolitica</i>	1	1,8	0	0	> 0,05
Số trẻ nhiễm	31	55,4	25	43,1	> 0,05
Nhiễm 2 loại vi khuẩn	6	19,4	6	24	> 0,05
Nhiễm 3 loại vi khuẩn	0	0	3	12	> 0,05

Nhận xét: Tình trạng nhiễm vi khuẩn phối hợp là tương đương ở hai nhóm nghiên cứu.

3.2.3.3. Sử dụng kháng sinh ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.32. Sử dụng kháng sinh

Kháng sinh	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Ampicillin	50	89,3	50	86,2	> 0,05
Aminoglycoside	49	87,5	48	82,8	> 0,05
Cephalosporin thế hệ 3	36	64,3	38	65,5	> 0,05
Vancomycin	35	62,5	39	67,2	> 0,05
Carbapenem	27	48,2	23	39,7	> 0,05
Quinolone	4	7,1	7	12,1	> 0,05
Metronidazole	13	23,2	10	17,2	> 0,05
Colistin	6	10,7	8	13,8	> 0,05

Nhận xét: Không có sự khác biệt về sử dụng kháng sinh giữa hai nhóm nghiên cứu. Tỷ lệ trẻ phải sử dụng kháng sinh phổ rộng còn cao.

3.2.4. Kết quả dự phòng

3.2.4.1. Tỷ lệ nhiễm nấm ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.33. So sánh tỷ lệ nhiễm nấm giữa hai nhóm

Nhiễm nấm	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Nhiễm	3	5,4	14	24,1	< 0,05
Không nhiễm	53	94,6	44	75,9	

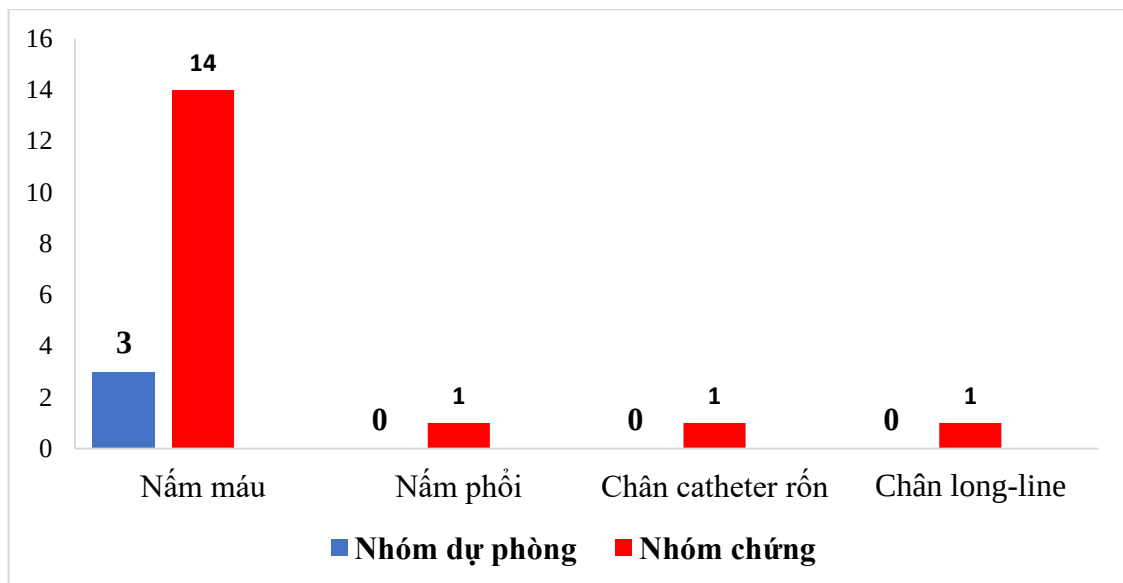
Nhận xét: Tỷ lệ trẻ bị nhiễm nấm ở nhóm chứng là 24,1%, cao hơn nhóm dự phòng 5,4%, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.34. Nguy cơ nhiễm nấm ở hai nhóm nghiên cứu

Nhiễm nấm	Nhóm chứng (N=58)		Nhóm dự phòng (N=56)		OR 95%CI
	n	%	n	%	
Có	14	24,1	3	5,4	5.6 1,51-20,82 p = 0,0098
Không	44	75,9	53	94,6	

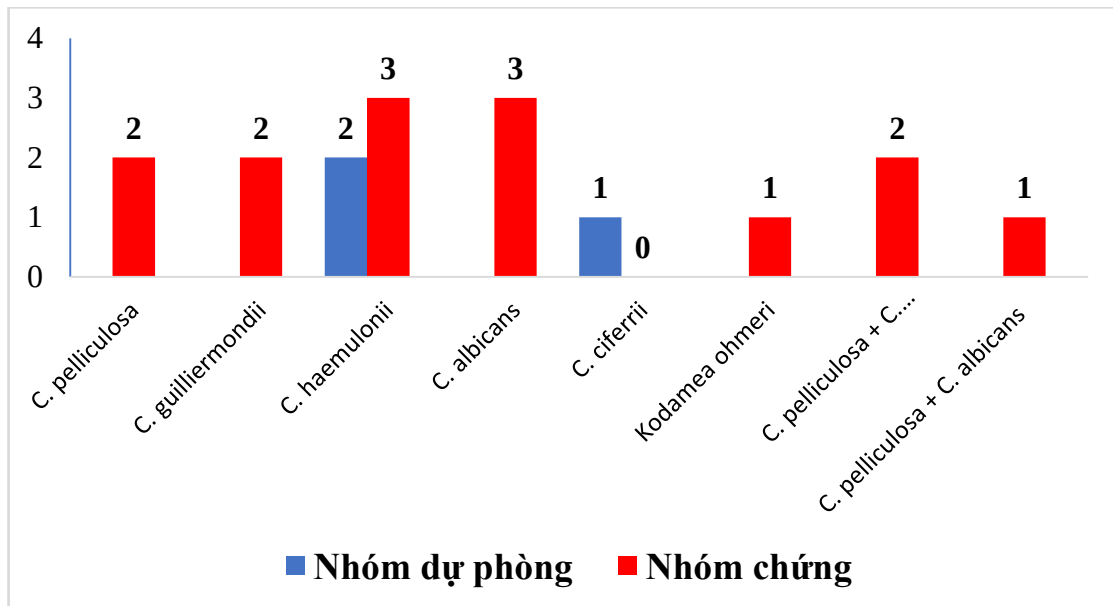
Nhận xét: Nguy cơ nhiễm nấm của nhóm chứng cao gấp 5,6 lần so với nhóm dự phòng với 95% CI là 1,51 - 20,82

3.2.4.2. Vị trí nhiễm nấm ở hai nhóm nghiên cứu

**Biểu đồ 3.14. Vị trí nhiễm nấm ở hai nhóm nghiên cứu**

Nhận xét: Cũng tương tự như kết quả nghiên cứu ở giai đoạn 1, vị trí nhiễm nấm chủ yếu là nhiễm nấm máu. Không có trường hợp nào nhiễm nấm ở các vị trí khác của nhóm dự phòng.

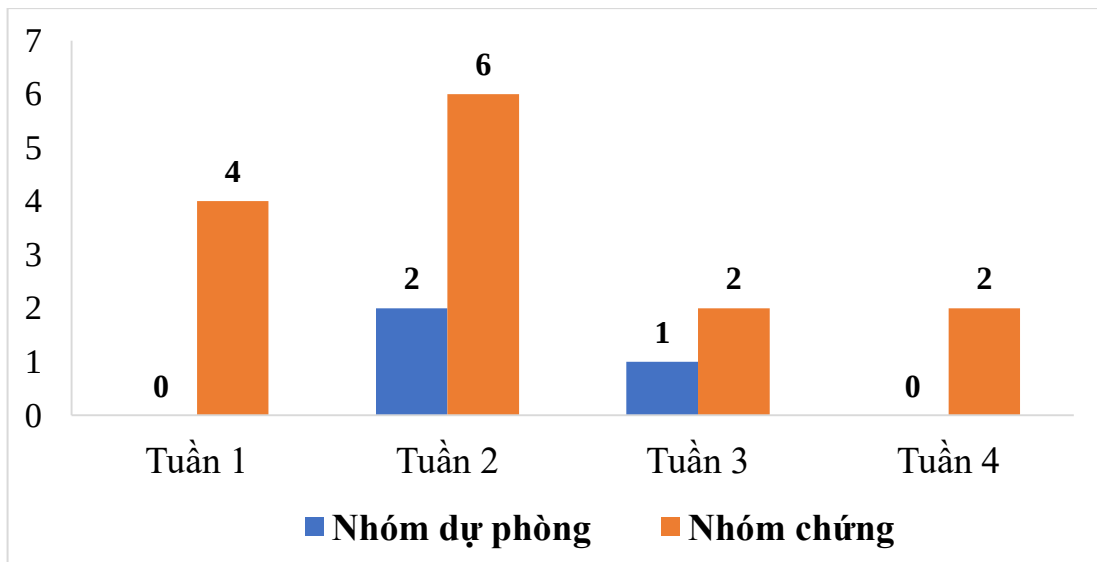
3.2.4.3. Chứng loại nấm nhiễm ở hai nhóm nghiên cứu



Biểu đồ 3.15. Chứng loại nấm nhiễm ở 2 nhóm nghiên cứu

Nhận xét: Các chủng nấm nhiễm nhiều nhất là *Candida haemulonii* (7 bệnh nhân), *Candida pelliculosa* (5 bệnh nhân) và có những bệnh nhân nhiễm hai loại nấm cùng lúc. Ở nhóm dự phòng không nhiễm *Candida albicans*.

3.2.4.4. Thời gian nhiễm nấm ở hai nhóm nghiên cứu



Biểu đồ 3.16. Thời gian nhiễm nấm theo tuần nghiên cứu

Nhận xét: Tình trạng nhiễm nấm thường xảy ra vào tuần thứ 2 đến tuần thứ 3 ở nhóm dự phòng và xảy ra từ 1 đến tuần thứ 2 ở nhóm chứng.

3.2.4.5. Đáp ứng với thuốc điều trị nấm

Bảng 3.35. Kháng sinh đồ - MIC 2

Thuốc kháng nấm	MIC ($\mu\text{g/mL}$)				
	<i>C. Albicans</i> (3)	<i>C. haemulonii</i> (7)	<i>C. guilliermondii</i> (2)	<i>C. pelliculosa</i> (5)	<i>C. ciferrii</i> (1)
Amphotericin B	0,5 $\rightarrow$ 1	8 $\rightarrow$ 16	0,5	$\leq$ 0,25	$\leq$ 0,25
Micafungin	0,12 $\rightarrow$ 0,5	0,12 $\rightarrow$ 0,5	0,5	$\leq$ 0,06 $\rightarrow$ 0,12	
Caspofungin	$\leq$ 0,25	$\leq$ 0,25 $\rightarrow$ 0,5	0,5	$\leq$ 0,25	
Voriconazole	$\leq$ 0,12	$\leq$ 0,12 $\rightarrow$ 1	$\leq$ 0,12 $\rightarrow$ 0,5	$\leq$ 0,12 $\rightarrow$ 0,5	$\leq$ 0,12
Fluconazole	$\leq$ 1	8 $\rightarrow$ 16	2 $\rightarrow$ 32	2 $\rightarrow$ 8	2

Nhận xét: *Candida albicans* còn nhạy cảm với nhiều loại thuốc điều trị nấm. Tình trạng kháng thuốc đã xảy ra ở nhiều chủng *Candida* khác, đặc biệt *Candida haemulonii* kháng hoàn toàn với amphotericin B và fluconazole.

3.2.4.6. Tỷ lệ tử vong của hai nhóm nghiên cứu

Bảng 3.36. Tỷ lệ tử vong ở hai nhóm nghiên cứu

Tình trạng sống chết	Nhóm dự phòng N = 56		Nhóm chứng N = 58		p
	n	%	n	%	
Sống	38	67,8	28	48,3	< 0,05
TV trong giai đoạn dự phòng	14	25	18	31	> 0,05
TV sau giai đoạn dự phòng	4	7,2	12	20,7	< 0,05

Nhận xét: Tỷ lệ trẻ sống trong nhóm dự phòng cao hơn trong nhóm chứng và tỷ lệ tử vong sau giai đoạn dự phòng ở nhóm dự phòng thấp ở hơn nhóm chứng, kết quả có ý nghĩa thống kê. Mặc dù tỷ lệ tử vong trong giai đoạn dự phòng ở nhóm dự phòng (25%) thấp hơn ở nhóm chứng (31%) nhưng kết quả này không có ý nghĩa thống kê.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ HỌC LÂM SÀNG NHIỄM NẤM Ở TRẺ SƠ SINH

4.1.1. Giới tính

Biểu đồ 3.1 cho thấy sự chênh lệch khá lớn về tỷ lệ nam/ nữ trong nghiên cứu của chúng tôi, với tỷ lệ trẻ trai là 79,6% trong khi tỷ lệ trẻ gái chỉ là 20,4%.

Tỷ lệ trẻ trai theo nghiên cứu tại Italia của Montagna là 57,1% [11] và nghiên cứu tại Hy Lạp của Evangelia Farmaki và cộng sự [80] tỷ lệ trẻ trai là 53,5%, thấp hơn so với nghiên cứu của chúng tôi.

Tại một đất nước có thể nói là có nhiều điểm tương đồng về văn hóa đối với nước ta là Trung Quốc, với nghiên cứu của Hongping Xia, tỷ lệ trẻ trai là 60,1% [15].

Cho dù tỷ lệ trẻ trai nhập viện trong giai đoạn nghiên cứu là 67,9%, cao hơn trẻ gái, thì 79,6% trẻ trai nhiễm nấm vẫn là một tỷ lệ rất cao, chúng tôi nhận thấy cần có những nghiên cứu thêm về vấn đề này.

4.1.2. Cân nặng lúc sinh

Trong tổng số 49 bệnh nhân nhiễm nấm của chúng tôi, nhóm trẻ có cân nặng từ 1000gr - < 1500gr có tỷ lệ nhiễm nấm cao nhất với 26 bệnh nhân (53,1% - Biểu đồ 3.2).

Tuy nhiên khi so sánh trên tổng số bệnh nhân nhập viện, xem xét kết quả ở bảng 4.1 chúng tôi nhận thấy nhóm trẻ có cân nặng 1000gr - < 1500gr có nguy cơ nhiễm nấm cao gấp 18,76 lần nhóm có cân nặng ≥ 2500 gr.

Bảng 4.1. So sánh tỷ lệ nhiễm nấm theo cân nặng

Cân nặng (gr)	Trẻ nhiễm nấm	Trẻ không nhiễm nấm	OR	95%CI
< 1000gr	6	120	13,97	(4,89 - 39,80)
1000gr - < 1500gr	28	417	18,76	(8,79 - 40,04)
1500gr - < 2500gr	6	1163	1,44	(0,51 - 4,05)
≥ 2500gr	9	2515	1	
Tổng số	49	4225		

Khi so sánh với các nghiên cứu của các tác giả khác, chúng tôi nhận thấy cũng có những kết quả tương tự về mối liên quan giữa cân nặng và nguy cơ nhiễm nấm. Nghiên cứu của Michelle Barton tại Canada từ 2001 - 2006, tỷ lệ nhiễm nấm là 1,5% đối với trẻ < 1500gr (CI 95%: 0.09 - 3.26), 2,2% với trẻ < 1000gr (CI 95%: 1.02 - 3.39) và 4,2% với trẻ < 750gr (CI 95%: 1.23 - 7.66) [12]. Tại Trung Quốc, theo nghiên cứu của Hongping Xia và cộng sự trên 30045 bệnh nhân từ 11 đơn vị NICU công bố năm 2014 tỷ lệ nhiễm nấm ở nhóm trẻ có cân nặng 1500gr - < 2500gr là 0,46%, trong khi tỷ lệ này ở nhóm trẻ có cân nặng < 1500gr là 3,42% [15]. Tại Italia, nghiên cứu của Montagna và cộng sự từ năm 2007 - 2008 cho thấy của trẻ có cân nặng ≤ 1000gr, ≤ 1500gr và ≤ 2500gr lần lượt là 4,7%, 4% và 0,2% [11].

Trẻ có cân nặng càng thấp, nguy cơ nhiễm nấm càng rõ ràng hơn, hình 4.1 cho thấy tỷ lệ nhiễm nấm ở các nhóm trẻ có cân nặng rất thấp trong nghiên cứu của Clerihew L từ năm 2003 - 2004 trên tổng số 9425 trẻ đẻ non cân nặng < 1500gr [81].

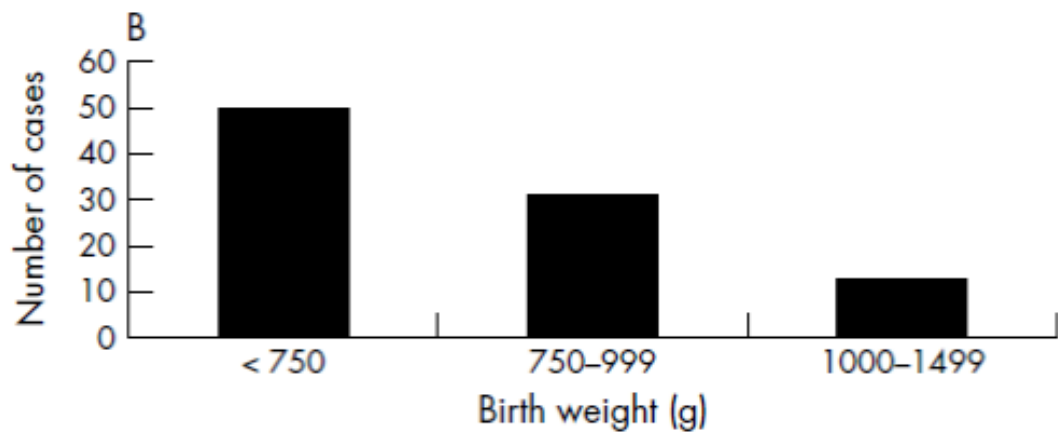


Figure 1 Gestational age (A) and birth weight (B) distribution of very low birthweight infants with invasive fungal infection.

Hình 4.1. Tỷ lệ nhiễm nấm ở nhóm trẻ cân nặng rất thấp

4.1.3. Tiền sử sản khoa

Trong tổng số 49 bệnh nhân nhiễm nấm của chúng tôi hầu như có tiền sử sản khoa bình thường (bảng 3.1). Tỷ lệ mổ đẻ là 2%.

Ở những nghiên cứu khác: Femitha P tại Ấn Độ nhận thấy trên 36 trẻ sơ sinh nhiễm nấm khi khai thác tiền sử sản khoa có 13,9% bà mẹ có đái tháo đường thai kỳ, 33,3% bà mẹ có tăng huyết áp, 16,7% bà mẹ có nhiễm nấm đường sinh dục và 55,6% có tình trạng ối vỡ sớm > 18 giờ [16]. Nghiên cứu của Jinjian Fu và cộng sự từ 2012 - 2015 tại Trung Quốc tỷ lệ bà mẹ có bệnh nền đối với nhóm trẻ nhiễm *Candida albicans* là 40% và nhóm trẻ nhiễm *non-Candida albicans* là 46,2%, thời gian vỡ ối ở hai nhóm từ 16,4 - 26,6 giờ, tuy nhiên các kết quả này đều không có ý nghĩa thống kê [82]. Trong nghiên cứu của Farmaki tại Hy Lạp, tỷ lệ trẻ sơ sinh nhiễm nấm có ối vỡ sớm là 18,2%, cũng không có ý nghĩa thống kê [80].

Như vậy có thể thấy tình trạng nhiễm nấm ở trẻ có vẻ như không có liên quan đến tiền sử sản khoa. Tuy nhiên chúng tôi nhận thấy trong điều kiện

thực tế Việt Nam, việc theo dõi trong quá trình mang thai của các bà mẹ còn chưa được tốt, đặc biệt ở các vùng nông thôn. Việc khai thác tiền sử cuộc đẻ của chúng tôi cũng gặp nhiều khó khăn như: giấy chuyển viện nội dung không đầy đủ, bà mẹ không nắm được tình trạng chuyển dạ của mình... do vậy thông tin về nội dung này còn thiếu.

4.1.4. Tuổi thai và tuổi lúc nhập viện

Biểu đồ 3.3 cho thấy trong số 49 bệnh nhân nhiễm nấm có 26 trẻ tuổi thai từ 28 - 32 tuần, chiếm tỷ lệ 53,1%.

Tuổi thai trung bình trong nhóm 49 trẻ nhiễm nấm ở nghiên cứu của chúng tôi là $30,5 \pm 4,2$ tuần và tuổi trung bình lúc nhập viện là $13,2 \pm 11,2$ ngày.

Nghiên cứu của Dolores Rodriguez và cộng sự tại Tây Ban Nha từ năm 2002 - 2003 cho thấy tuổi thai trung bình của nhóm trẻ nhiễm nấm là 27,5 tuần (range 24 - 40,5), kết quả này thấp hơn nghiên cứu của chúng tôi [83]. Ở nghiên cứu khác, tuổi thai trung bình của nhóm trẻ nhiễm nấm của Jinjian Fu tại Trung Quốc là 29,6 tuần (range 27,6 - 31,6) [82]. Tại Ấn Độ, nghiên cứu của Femitha P có kết quả tuổi thai trung bình của nhóm trẻ nhiễm nấm là 32 tuần (range 26 - 40) [16].

Có thể thấy là tuổi thai trung bình của các bệnh nhân sơ sinh nhiễm nấm khác nhau tùy từng nghiên cứu. Phải chăng ở những quốc gia phát triển hệ thống chăm sóc sơ sinh phát triển hơn nên tỷ lệ trẻ sơ sinh điều trị tại NICU có tuổi thai non tháng hơn. Những nghiên cứu này thường không cho dữ liệu về tuổi lúc nhập viện của trẻ, có thể vì trẻ chuyển thẳng từ nơi sinh đến NICU. Trong nghiên cứu của chúng tôi, Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương là tuyến cuối cùng về sơ sinh ở cả miền bắc và miền trung Việt Nam, tiếp nhận bệnh nhân từ các Khoa Sơ sinh của các bệnh viện tuyến tỉnh, vì vậy tuổi trung bình của trẻ lúc nhập viện là $13,2 \pm 11,2$ ngày là hoàn toàn

có thể giải thích được. Bên cạnh đó, việc có thời gian điều trị kéo dài ở tuyến trước như vậy cũng có thể là yếu tố nguy cơ làm tăng tỷ lệ nhiễm nấm nói riêng và nhiễm trùng bệnh viện nói chung.

4.1.5. Triệu chứng lâm sàng

Các biểu hiện lâm sàng của nhiễm nấm xâm lấn ở trẻ sơ sinh tùy thuộc và chủng loại nấm gây bệnh. Với nấm *Candida*, các dấu hiệu lâm sàng có thể gặp là thay đổi thân nhiệt, li bì, ngừng thở, hạ huyết áp, suy hô hấp, chướng bụng [84]. Với nấm *Cryptococcus neoformans* và *Cryptococcus gattii*, có thể có các biểu hiện lâm sàng như viêm màng não, viêm phổi, các biểu hiện nhiễm trùng ở da, xương và có thể biểu hiện bệnh cảnh như nhiễm trùng huyết [84]. Một báo cáo lâm sàng tại Ấn Độ năm 2009 về trường hợp trẻ sơ sinh nhiễm *Kodamaea ohmeri* với các triệu chứng thiếu oxy, hạ thân nhiệt, hạ huyết áp, da xanh tái và suy hô hấp [86].

4.1.5.1. Thân nhiệt

Trong số 49 bệnh nhân nhiễm nấm, hầu hết bệnh nhân có thân nhiệt bình thường, chỉ 4,1% bệnh nhân có sốt và 2% bệnh nhân có tình trạng hạ thân nhiệt (biểu đồ 3.4). Đối với các bác sĩ lâm sàng, sốt là dấu hiệu có giá trị gợi ý biểu hiện nhiễm trùng, tuy nhiên với bệnh cảnh nhiễm nấm đường như bệnh nhân không sốt.

4.1.5.2. Các triệu chứng toàn thân và thần kinh

Biểu đồ 3.5 cho thấy các biểu hiện chủ yếu là trẻ giảm phản xạ sơ sinh (83,7%), và giảm trương lực cơ (69,4%) và li bì (46,9%).

Nhìn chung các biểu hiện này tương tự như các triệu chứng của nhiễm khuẩn sơ sinh muộn (LOS - Late-Onset Infections), rất khó phân biệt giữa nhiễm khuẩn và nhiễm nấm. Đây thực sự là một thách thức cho các bác sĩ lâm sàng trong việc chẩn đoán nhiễm nấm.

4.1.5.3. Triệu chứng tuần hoàn

Tất cả các bệnh nhân (100%) đều có biểu hiện da tái, được trình bày ở biểu đồ 3.7. Đây cũng là triệu chứng tương tự như khi bệnh nhân có nhiễm khuẩn nặng. Có 16,3% bệnh nhân biểu hiện nổi vân tím, thể hiện một tình trạng giảm tưới máu ngoại biên và là dấu hiệu cảnh báo của shock.

4.1.5.4. Triệu chứng hô hấp

Biểu đồ 3.7 cho thấy trên 80% bệnh nhân có các biểu hiện rõ ràng về hô hấp như thở nhanh, thở rên và co rút lồng ngực. Bên cạnh đó 44,9% trẻ có cơn ngừng thở kéo dài > 20 giây. Nghiên cứu của A. Spiliopoulou và cộng sự tại Hy Lạp năm 2012 trên 40 trẻ sơ sinh nhiễm nấm, tỷ lệ trẻ có biểu hiện hô hấp từ 47,5% - 61,5% [87], ít hơn hẳn so với nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên nghiên cứu này tiến hành trên các bệnh nhân nhiễm nấm máu, trong khi đó nghiên cứu của chúng tôi bệnh nhân có cả nhiễm nấm phổi mặc dù tỷ lệ không cao (biểu đồ 3.11). Bên cạnh đó, hầu hết bệnh nhân nằm điều trị tại NICU trong nghiên cứu của chúng tôi đều có bệnh lý viêm phổi phổi hợp, do vậy các triệu chứng về hô hấp chiếm vai trò chủ đạo (biểu đồ 3.13).

4.1.5.5. Triệu chứng tiêu hóa

Các biểu hiện ở đường tiêu hóa trên 49 bệnh nhân nhiễm nấm trong nghiên cứu của chúng tôi chủ yếu là các triệu chứng bú kém, bỏ bú, nôn trớ, nôn dịch vàng, chướng bụng. Các dấu hiệu này cũng tương tự như các triệu chứng của nhiễm khuẩn sơ sinh.

Như vậy, có thể thấy nếu chỉ dựa vào các triệu chứng lâm sàng rất khó để chẩn đoán tình trạng nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh vì các dấu hiệu tương tự như các bệnh lý nhiễm khuẩn khác. Việc chẩn đoán cần phải phối hợp thêm các dữ liệu từ các yếu tố nguy cơ, các xét nghiệm cận lâm sàng, vi sinh.

4.1.6. Cận lâm sàng

Đánh giá các thông số công thức máu, sinh hóa máu, khí máu, đông máu trên 49 bệnh nhân nhiễm nấm tại các thời điểm khi trẻ nhập viện, khi trẻ bị nhiễm nấm, sau khi điều trị 3 ngày, 1 tuần, 2 tuần chúng tôi nhận thấy biểu hiện chủ yếu là tình trạng giảm tiểu cầu (PLT) và tăng CRP (bảng 3.6 và bảng 3.10) với tiểu cầu trung bình khi nhiễm nấm là $122 \times 10^9 /L$ và CRP trung bình là 30,7mg/L. Bảng 3.7 của chúng tôi cho thấy vào thời điểm trẻ bị nhiễm nấm 30,6% trẻ có tiểu cầu giảm $< 50.000/ mm^3$. Trong quá trình điều trị thuốc chống nấm số lượng tiểu cầu có xu hướng tăng dần.

Nghiên cứu của Oeser tại Anh cho thấy đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng trong tuần trước khi nuôi cấy dương tính là không đặc hiệu. Có 27% (23/84) trẻ có tình trạng giảm tiểu cầu nặng ($< 50 \times 10^9/L$) tương đồng với kết quả của chúng tôi, 26% (22/ 84) trẻ có biểu hiện giảm bạch cầu ($< 2.5 \times 10^9/L$) và 62% (51/84) trẻ có tăng CRP. Trong giai đoạn chính của bệnh, triệu chứng cận lâm sàng trở nên rõ ràng hơn với 86% (72/84) trẻ có tăng CRP $> 10 \text{ mg/L}$ (trung bình 57 mg/L; range 20 - 282 mg/L, IQR 29 - 113 mg/L) và 87% (73/84) trẻ có biểu hiện giảm tiểu cầu $< 150 \times 10^9/L$; 58% trẻ có giảm tiểu cầu nặng $< 50 \times 10^9/L$ [14].

Nghiên cứu của Torres Claveras và cộng sự tại Tây Ban Nha năm 2007 trên 1757 trẻ sơ sinh nhiễm khuẩn sơ sinh muộn, so sánh về mức độ giảm tiểu cầu giữa tình trạng nhiễm trùng huyết do vi khuẩn Gram âm, vi khuẩn Gram dương và *Candida* cho thấy khi trẻ nhiễm nấm *Candida*, tiểu cầu giảm nặng hơn so với nhiễm trùng huyết do vi khuẩn (100% vs 5.9%) ($p < 0.001$). Chỉ có hai bệnh nhân nhiễm trùng huyết do vi khuẩn gây giảm tiểu cầu và cả hai trường hợp đều do vi khuẩn Gram âm gây ra [88].

Tại Trung Quốc, nghiên cứu của Zhang Xin và cộng sự cũng cho thấy số lượng tiểu cầu là $61 \times 10^9 /L$ trong nhóm nhiễm nấm, trong khi số lượng

tiểu cầu là 178×10^9 /L trong nhóm nhiễm vi khuẩn. Có sự khác biệt thống kê giữa nhóm nhiễm nấm và nhóm nhiễm vi khuẩn ($p = 0,004$). Tỷ lệ giảm tiểu cầu là 80,0% ở nhóm nhiễm nấm, trong khi đó là 29,4% ở nhóm nhiễm vi khuẩn. Tỷ lệ này cao hơn nhiều ở nhóm nhiễm nấm so với nhóm nhiễm vi khuẩn ($P = 0,001$). Đặc biệt tỷ lệ giảm tiểu cầu ở những bệnh nhân đặt catheter trung tâm là 86,7% trong nhóm nhiễm nấm, trong khi đó là 55,7% trong nhóm nhiễm vi khuẩn. Tỷ lệ này cao hơn nhiều khi so sánh nhóm nhiễm nấm với nhóm nhiễm vi khuẩn ($P = 0,037$) [89].

Nghiên cứu của Yu-Chen Yang và Jian Mao cũng tại Trung Quốc trên 5354 bệnh nhân sơ sinh đẻ non năm 2017, với nhóm nghiên cứu là 72 trẻ nhiễm nấm và nhóm chứng là 74 bệnh nhân nhiễm vi khuẩn. So với nhóm chứng, số lượng bạch cầu (WBC) và PLT trong nhóm nhiễm nấm giảm ở giai đoạn nhiễm trùng sớm và cấp tính ($p < 0,01$), trong khi mức CRP tăng ($p < 0,01$). Số lượng PLT trong nhóm nhiễm vi khuẩn giảm trong giai đoạn đầu và cấp tính của nhiễm trùng ($p < 0,01$) và mức CRP tăng ($p < 0,05$). Hơn nữa, sự giảm số lượng PLT ở nhóm nhiễm nấm có ý nghĩa hơn so với nhóm nhiễm vi khuẩn ($p < 0,01$) và mức CRP tăng nhiều hơn ở nhóm nhiễm nấm ở giai đoạn đầu của nhiễm trùng ($p < 0,01$); tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về số lượng PLT và mức CRP giữa các nhóm nhiễm nấm và vi khuẩn trong giai đoạn nhiễm trùng cấp tính ($p > 0,05$). Phân tích đường cong ROC của số lượng WBC và PLT và mức CRP trong chẩn đoán sớm nhiễm nấm cho thấy khu vực dưới đường cong số lượng PLT là 0,912 (CI 95%: 0.863 - 0.961), do đó cho thấy độ chính xác cao với điểm cut-off PLT là $157,0 \times 10^9$ /L. Độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 77,8% và 94,6%. Nghiên cứu này kết luận rằng đánh giá mức độ giảm PLT là một yếu tố dự báo thuận tiện, kinh tế và hiệu quả đối với nhiễm nấm xâm lấn ở trẻ đẻ non và có tiềm năng trong chẩn đoán sớm nhiễm nấm [90]. Tuy nhiên chúng tôi cũng nhận thấy rằng trong các bệnh lý nhiễm khuẩn ở trẻ sơ sinh cũng có tình trạng giảm tiểu cầu, vì vậy

đây có lẽ là kết quả có giá trị ghi nhận, cảnh báo cho các bác sĩ lâm sàng trong quá trình theo dõi và điều trị cho bệnh nhân sơ sinh.

Chúng tôi nhận thấy rằng, CRP tăng không có ý nghĩa nhiều trong việc chẩn đoán nhiễm trùng do nấm ở trẻ sơ sinh, CRP có thể tăng trong các nhiễm trùng do vi khuẩn, hoặc không do nhiễm trùng như trong các bệnh lý chảy máu trong não thất, thiếu oxy não, hội chứng hít phân su, cơn thở nhanh thoáng qua... [91]. Trong khi đó, giảm tiểu cầu có thể được coi là dấu hiệu giúp các bác sĩ lâm sàng hướng tới chẩn đoán nhiễm nấm.

4.1.7. Đặc điểm trẻ sơ sinh nhiễm nấm

4.1.7.1. Thời điểm trẻ bị nhiễm nấm

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 69,4% trẻ nhiễm nấm sau khi nằm điều trị 3 tuần tại bệnh viện, 14,3% trẻ nhiễm nấm trong vòng 1 tuần đầu sau khi nhập viện.

Nghiên cứu của Dolors Rodriguez tại Tây Ban Nha, thời gian trung bình lúc trẻ nhiễm nấm là 16 ngày (range 9 - 116 ngày) [106]. Tại Ấn Độ, nghiên cứu của Femitha P cho thấy thời điểm nhiễm nấm là $8,3 \pm 5,8$ ngày [16].

Nghiên cứu tại Anh của FAY El-Marsy năm 2002 cho thấy thời điểm trung bình lúc trẻ nhiễm nấm là 16,5 ngày (range 10 - 33 ngày) [10]. Cũng tại Anh, nghiên cứu của Oeser C và cộng sự từ 2004 - 2010, thời điểm nhiễm nấm trung bình là 13 ngày (range 2 - 84 ngày, IQR 8 - 20 ngày), trong đó có 18 trường hợp (21%) nhiễm trong vòng 1 tuần đầu sau sinh (EOS) [14].

Tại Mỹ năm 2013, nghiên cứu của Jan Hau Lee và cộng sự trên 530.162 trẻ sơ sinh nhập viện, thời điểm trung bình nhiễm nấm của trẻ là 30 ngày (range 1 - 90 ngày) [92]. Cũng tại Mỹ, nghiên cứu của Lisa Saiman và cộng sự năm 2000 cho thấy thời điểm nhiễm nấm trung bình là 22,9 ngày

(range 6 - 65 ngày), có 54,3% trẻ nhiễm nấm trong tuần thứ 2 và thứ 3 sau sinh của trẻ [93].

Trong tổng số 49 bệnh nhân nhiễm nấm của chúng tôi, biểu đồ 3.9 cho thấy sau tuần đầu tiên, thời gian nằm viện càng lâu, tỷ lệ trẻ nhiễm nấm càng tăng, 4,1% khi trẻ nằm viện từ 1 tuần - < 2 tuần, 12,2% khi trẻ nằm viện từ 2 tuần - < 3 tuần và 69,4% khi trẻ nằm điều trị từ 3 tuần trở lên. Như vậy, thời gian nằm viện có thể là yếu tố nguy cơ gây nhiễm nấm, chúng tôi sẽ xin bàn về vấn đề này ở phần sau. Có thể nhận thấy thời điểm trẻ nhiễm nấm của chúng tôi khác với các nghiên cứu khác ở một số điểm, tỷ lệ trẻ nhiễm nấm trong tuần đầu sau khi nhập viện của chúng tôi là 14,3%, điều này là do Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương nhận bệnh nhân từ các bệnh viện tuyến tỉnh khác, do đó có những bệnh nhân đã có thời gian điều trị kéo dài và nhiễm nấm từ bệnh viện tuyến trước, bên cạnh đó trẻ hoàn toàn có thể nhiễm nấm ngay trong tuần đầu chính tại Khoa Sơ sinh. Cả hai yếu tố này phối hợp làm cho tỷ lệ trẻ nhiễm nấm trong tuần đầu cao. Từ tuần thứ 2 trở đi, tỷ lệ nhiễm nấm tăng lên theo thời gian. Như vậy, phối hợp với nguy cơ nhiễm nấm ở trẻ cân nặng thấp (bảng 4.2), thời gian trẻ nằm viện và một số dấu hiệu lâm sàng và cận lâm sàng có thể đặt vấn đề dự phòng nấm cho trẻ.

4.1.7.2. Vị trí nhiễm nấm

Biểu đồ 3.10 cho thấy trong tổng số 49 bệnh nhân nhiễm nấm ở nghiên cứu của chúng tôi, nhiễm trùng huyết do nấm chiếm tỷ lệ cao nhất với 85,7%.

Đối chiếu với các nghiên cứu khác, tại Anh, kết quả nghiên cứu của FAY El-Marsy cho thấy 100% bệnh nhân nhiễm nấm đều là nhiễm nấm huyết, bên cạnh đó 16,7% trẻ có nuôi cấy dịch não tủy dương tính với nấm kèm theo [10].

Nghiên cứu của Clerihew L từ năm 2003 - 2004 tại Anh, tỷ lệ nhiễm trùng huyết do nấm là 71,3%. Nghiên cứu này cũng cho thấy có đến 45% trẻ

có nhiễm nấm cùng lúc ở nhiều cơ quan như não - màng não, hệ tiết niệu, kết mạc mắt... [81].

Nghiên cứu của Montagna và cộng sự tại Italia cho thấy tỷ lệ nhiễm trùng huyết do nấm là 95,2%. Tỷ lệ trẻ nhiễm nấm cùng lúc từ hai cơ quan trở lên là 47,6% và 100% bệnh nhân đều được đặt catheter tĩnh mạch trung tâm trên 4 ngày [11].

Tại Mỹ, kết quả nghiên cứu của Jan Hau Lee năm 2013 cho thấy tỷ lệ nhiễm trùng huyết do nấm rất cao, lên đến 97,9%, có 0,18% trẻ viêm màng não do nấm và 5,8% trẻ nhiễm nấm đường tiết niệu [91]. Cũng tại Mỹ, năm 2014 nghiên cứu của Jonathan R. Swanson và cộng sự trên 1890 trẻ sơ sinh, kết quả có 78 trẻ nhiễm nấm (4,1%), trong đó 74,4% trẻ nhiễm trùng huyết do nấm [94].

Chúng tôi nhận thấy, với một trẻ sơ sinh nằm điều trị tại NICU, có rất nhiều thủ thuật xâm lấn được thực hiện như: đặt catheter động mạch, catheter tĩnh mạch trung tâm, catheter rốn, long-line... đây chính là các yếu tố có thể khiến cho nhiễm trùng huyết do nấm chiếm tỷ lệ cao trong nghiên cứu của chúng tôi cũng như các nghiên cứu khác trên thế giới.

4.1.7.3. Chứng nấm gây bệnh

Trong nghiên cứu của chúng tôi, *Candida albicans* là chủng nấm gây bệnh chủ yếu, chiếm tỷ lệ 67,3%. Thứ hai là *Candida parapsilosis* với 12,2%. Bên cạnh đó một số chủng nấm khác ít gặp hơn là *Candida guilliermondii*, *Candida pelliculosa*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* và *Kodamaea ohmeri*. Có 1 bệnh nhân nhiễm hai loại nấm đồng thời là *C. albicans* và *K. ohmeri*.

Tương tự như nghiên cứu của chúng tôi, *Candida albicans* và *Candida parapsilosis* là hai tác nhân gây bệnh chủ yếu theo nhiều nghiên cứu khác trên thế giới (bảng 4.2).

Bảng 4.2. Các chủng nấm gây bệnh theo một số nghiên cứu

Chủng nấm	Tỷ lệ %						
	Clerihew¹ 2004[81]	Manzoni² 2006[95]	Barton³ 2014[12]	Montagna⁴ 2010[11]	Oeser⁵ 2014[14]	Swanson⁶ 2014[94]	Chúng tôi⁷
<i>C. albicans</i>	53	83,6	53	35	69	59	69,4
<i>C. parapsilosis</i>	24	15,9	29	60	17	29	12,2
<i>C. guilliermondii</i>		1	2		1,2		6,1
<i>C. krusei</i>		4					4,1
<i>C. pelliculosa</i>							2
<i>C. tropicalis</i>		1,5	8		1,2	1	2
<i>C. glabrata</i>	3,2	8	2	5	1,2	3	
<i>C. lusitanaei</i>	1,1	1				2	
<i>C. migosa</i>	1,1						
<i>C. lambia</i>						2	
<i>K. ohmeri</i>							6,1
<i>Aspergillus</i>	1,1	1					
<i>Malassezia</i>	2,1				1,2		

Chú thích:

1. Nghiên cứu của Clerihew tại Anh từ năm 2003 - 2004 theo chương trình British Paediatric Surveillance Unit
2. Nghiên cứu năm 2006 của Paolo Manzoni tại Department of Neonatology and the NICU at Sant'Anna Hospital in Torino, Italy
3. Nghiên cứu của Michelle Barton tại 13 đơn vị NICU Canada năm 2006
4. Nghiên cứu đa trung tâm của Montagna tại Italia năm 2010
5. Nghiên cứu của Oeser C tại Anh năm 2010 (UK neonatal infection surveillance network)
6. Nghiên cứu đa trung tâm của Jonathan Swannson tại Mỹ và Canada năm 2014
7. Nghiên cứu của chúng tôi tại Bệnh viện Nhi trung ương năm 2017

Trong hầu hết các nghiên cứu này, *Candida albicans* là tác nhân gây bệnh chủ yếu, *Candida parapsilosis* đứng hàng thứ hai. Chỉ có nghiên cứu của Montagna tại Italia tác nhân gây bệnh chính là *Candida parapsilosis* [11]. Theo nghiên cứu này tỷ lệ nhiễm *C. parapsilosis* cao có thể liên quan với khả năng hình thành màng sinh học trên catheter và nhiễm bẩn các dung dịch chứa glucose (ví dụ dung dịch dinh dưỡng qua đường tĩnh mạch). Tuy nhiên, việc lây truyền *C. parapsilosis* có thể từ tay của nhân viên y tế sang trẻ sơ sinh được cho là trong các thủ thuật đặt catheter tĩnh mạch trung tâm, vì *C. parapsilosis* thường trú trên da người (lây truyền ngang).

Nghiên cứu của FAY El-Marsy từ năm 1994 - 1998 tại Anh cho thấy *Candida albicans* cũng là tác nhân gây bệnh chủ yếu, chiếm tỷ lệ 75%, *Candida parapsilosis* đứng hàng thứ hai với tỷ lệ 21% [10].

Nghiên cứu tại Italia của Paolo Manzoni và cộng sự từ năm 1998 - 2005, *Candida albicans* chiếm tỷ lệ lên đến 83,6%. Trong tổng số 201 bệnh nhân nhiễm nấm, có 30 trẻ (15%) nhiễm nấm đồng thời từ hai cơ quan trở lên [95].

Candida parapsilosis cũng là một chủng nấm hay gặp ở trẻ sơ sinh. Nghiên cứu của Carmine Garzillo và cộng sự tại Italia từ 2009 - 2012 có 17 bệnh nhân sơ sinh nhiễm *C. parapsilosis*, tuổi thai trung bình là 26 tuần (IQR 24 - 32), thời gian nằm điều trị tại NICU trung bình là 48 ngày (IQR 26 - 86). Trong đó, 94,11% bệnh nhân có đặt catheter rốn, 88,23% bệnh nhân có đặt catheter tĩnh mạch trung tâm. Tỷ lệ tử vong lên đến 58% [96]. Nghiên cứu của Clerihew từ 2003 - 2004 trên tổng số 94 trẻ sơ sinh nhiễm nấm cho thấy *C. parapsilosis* chiếm tỷ lệ 24%. *Candida parapsilosis* có tỷ lệ cao hơn khi phân lập từ nuôi cấy máu ngoại vi và có tỷ lệ thấp hơn khi phân lập từ nuôi cấy nước tiểu hoặc nuôi cấy đầu catheter tĩnh mạch trung tâm so với *C. albicans*. Không có sự khác biệt đáng kể về tần suất tổn thương cơ quan nội tạng. Tuy nhiên, có ít trẻ sơ sinh bị nhiễm *C. parapsilosis* được chẩn đoán nhiễm trùng

sâu (nhiễm trùng thận, viêm màng não, viêm phúc mạc, viêm tủy xương, viêm nội tâm mạc, viêm nội nhãn, áp xe não, áp xe gan) so với trẻ bị nhiễm *C. albicans* [97].

Trong tổng số 49 bệnh nhân nhiễm nấm, chúng tôi có 3 bệnh nhân nhiễm *Candida guilliermondii*, chiếm tỷ lệ 6,1%. Đây là một tỉ lệ cao khi so sánh với các nghiên cứu khác (bảng 4.3). Tại Italia, nghiên cứu của Giuseppina Caggiano và cộng sự từ 2007 - 2015 tỷ lệ trẻ sơ sinh nhiễm *C. guilliermondii* khi điều trị tại NICU là 2,4% [98]. Nghiên cứu của Asifa Nazir và Talat Masoodi tại miền bắc Ấn Độ năm 2016 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân sơ sinh nhiễm trùng huyết do *C. guilliermondii* là 2,8% [99]. Cũng tại Ấn Độ, nghiên cứu của Sriparna Basu và cộng sự trên tổng số 3128 trẻ vào điều trị tại NICU từ năm 2010 - 2015, tỷ lệ trẻ sơ sinh nhiễm *C. guilliermondii* là 2,4% [100].

Candida tropicalis chiếm tỷ lệ 2% trong nghiên cứu của chúng tôi. Tỷ lệ này thấp hơn so với nghiên cứu của Barton tại Canada từ 2001 - 2006 [12]. Nghiên cứu của Asifa Nazir và Talat Masoodi tại Ấn Độ tỷ lệ trẻ nhiễm *C. tropicalis* là 13,8% [99]. Nghiên cứu của Emmanuel Roilides và cộng sự tại Mỹ năm 2003 cho thấy trong tổng số 17 bệnh nhân sơ sinh nhiễm *Candida tropicalis* chỉ có 2 trẻ (12%) mắc bệnh sớm, các trẻ còn lại đều có thời gian nằm viện > 7 ngày [101]. Điều này cho phép nghĩ đến nhiễm *C. tropicalis* là nhiễm trùng bệnh viện. Sự lây nhiễm *Candida tropicalis* có liên quan đến vệ sinh bàn tay của nhân viên y tế và *C. tropicalis* có độc lực mạnh hơn *Candida albicans* do đó tiến triển nhanh đến giai đoạn nhiễm nấm xâm lấn.

Cũng chiếm tỷ lệ 2% trong tổng số 49 bệnh nhân nhiễm nấm của chúng tôi là *Candida pelliculosa*. Không có nhiều các nghiên cứu khác mô tả về tình trạng nhiễm loại nấm này ở trẻ sơ sinh. Năm 2012 tại Brazil, Carolina Maria da Silva và cộng sự báo cáo về 5 trường hợp trẻ sơ sinh nhiễm *Candida pelliculosa*, kết quả cho thấy bệnh chủ yếu trên những trẻ đẻ non, trẻ có cân

nặng thấp (4/5 trẻ có cân nặng < 1700gr) [102], có thời gian nằm viện kéo dài, tương tự như nghiên cứu của Chakrabarti tại Ấn Độ [103]. Sự lan truyền trong bệnh viện của *C. pelliculosa* cho thấy rằng đường lây truyền có thể đến từ bàn tay của nhân viên y tế, không khí môi trường bệnh viện (trụ nấm phân tán) và các thủ thuật xâm lấn như nuôi dưỡng đường tĩnh mạch.

Được mô tả là một chủng nấm kháng lại Fluconazole, *Candida krusei* chiếm tỷ lệ 4,1% trong nghiên cứu của chúng tôi. Tại Ấn Độ, trong nghiên cứu của Sriparna Basu và cộng sự, tỷ lệ nhiễm *C. krusei* là 4,8% [100]. Nghiên cứu tại Italia của Paolo Manzoni trên 201 bệnh nhân nhiễm nấm, tỷ lệ trẻ nhiễm *C. krusei* là 4% [95]. Báo cáo của Selma Amaral-Lopesa và Andressa Moura năm 2012 tại Brazil về 3 trường hợp trẻ sơ sinh nhiễm *Candida krusei* cho thấy cả 3 trường hợp đều kháng fluconazole và chỉ đáp ứng điều trị với amphotericin B [104].

Trong nghiên cứu này, ngoài các chủng *Candida* chiếm ưu thế, chúng tôi còn có 3 trẻ nhiễm *Kodamaea ohmeri*, chiếm tỷ lệ 6,1%. Không có nhiều các nghiên cứu về nhiễm *K. ohmeri* trên trẻ sơ sinh. Một báo cáo của S. J. Taj-Aldeen về một trẻ đẻ non 25 tuần, cân nặng 680gr nhiễm *Kodamaea ohmeri* tại Qatar năm 2004 cho thấy tình trạng kháng thuốc đối với cả fluconazole và amphotericin B, bệnh nhân sau đó đáp ứng điều trị với liposomal amphotericin B [19]. Tại Ấn Độ, báo cáo case bệnh của Poojary và Sapre năm 2009 về một trẻ sơ sinh 28 tuần, cân nặng 1300gr, trẻ tử vong mặc dù đã được điều trị phối hợp amphotericin B và fluconazole [105]. Năm 2011 cũng tại Ấn Độ, báo cáo của Ponnusamy S Sundaram và cộng sự mô tả về một trường hợp sơ sinh nhiễm *K. ohmeri* ở van ba lá, bệnh nhân tử vong mặc dù được điều trị bằng amphotericin B [106].

4.1.7.4. Điều trị

- Thời gian điều trị

Trong số 49 bệnh nhân nhiễm nấm, chúng tôi có 20 trẻ được điều trị bằng fluconazole (12mg/kg/24h) với thời gian điều trị trung bình là $14,2 \pm 6,3$ ngày, 28 trẻ được điều trị bằng amphotericin B (1mg/kg/24h) với thời gian điều trị trung bình là $17,3 \pm 5,7$ ngày và 1 trẻ điều trị bằng caspofungin trong 14 ngày.

Nghiên cứu của Montagna và cộng sự tại Italia, bệnh nhân nhiễm nấm được điều trị với thời gian trung bình là 17 ngày (range 7-38 ngày) [11]. Tại Anh, trong nghiên cứu của Oeser C với hầu hết các trẻ có cân nặng < 1500gr cho thấy thời gian điều trị trung bình là 25 ngày (range 9 - 137 ngày, IQR 17–45 ngày) [14].

- Đáp ứng của *Candida albicans* với các thuốc điều trị nấm

Chúng tôi có 22 kháng sinh đồ của *Candida albicans*, kết quả cho thấy *C. albicans* nhạy cảm hoàn toàn (100%) với voriconazole, caspofungin và micafungin. *Candida albicans* nhạy cảm với fluconazole và amphotericin B với tỷ lệ lần lượt là 90,9% và 95,4% (bảng 3.14). Tỷ lệ kháng với fluconazole và amphotericin B là 9,1% và 4,6%.

Nghiên cứu của Montagna và cộng sự tại Italia năm 2007 - 2008, *Candida albicans* nhạy cảm tốt với fluconazole với MIC₉₀ trung bình là 0,25 µg/mL (range 0.125 - 0.25) và amphotericin B với MIC₉₀ trung bình là 0,5 µg/mL (range 0.125 - 0.5) [11]. Nghiên cứu này cũng cho thấy *Candida albicans* nhạy cảm tốt với voriconazole, tuy nhiên lại có tình trạng đáp ứng không tốt với caspofungin MIC₉₀ trung bình là 1 µg/mL (range 0.06 - 1) (hình 4.2).

Tab. IV. *In vitro* antifungal susceptibilities ($\mu\text{g/ml}$) of 21 *Candida* spp Isolates (CLSI test).

Drugs	<i>C. albicans</i> (n = 7)		<i>C. parapsilosis</i> (n = 13)		<i>C. glabrata</i> (n = 1)
	MIC ₉₀	Range	MIC ₉₀	Range	MIC
Anidulafungin	0.25	0.016-0.25	2	1-2	0.125
Caspofungin	1	0.06-1	2	2	2
Posaconazole	0.06	0.008-0.06	0.125	0.016-0.25	1
Voriconazole	0.008	0.008-0.016	0.03	0.008-0.03	1
Itraconazole	0.25	0.016-0.5	1	0.06-1	4
Fluconazole	0.25	0.125-0.25	2	0.25-8	16
Amphotericin B	0.5	0.125-0.5	1	0.06-1	1

Hình 4.2. Đáp ứng với thuốc điều trị nấm theo Montagna

Một nghiên cứu khác của Sriparna Basu tại Ấn Độ tỷ lệ nhạy cảm của *Candida albicans* với voriconazole và caspofungin là 100%, trong khi tỷ lệ nhạy cảm với amphotericin B, fluconazole và itraconazole lần lượt là 86.6%, 68,3% và 67,1% [100].

Cũng tại Ấn Độ, nghiên cứu của Asifa Nazir và Talat Masoodi trong năm 2016 cho thấy *Candida albicans* đã kháng lại các thuốc điều trị nấm thông thường với tỷ lệ cao như fluconazole (42%), amphotericin B (14%) và flucytosine (28%) [99]. Tuy nhiên cũng theo nghiên cứu này, *Candida albicans* vẫn nhạy cảm hoàn toàn (100%) với voriconazole và caspofungin (hình 4.3).

Nazir and Masoodi: Spectrum of neonatal candidiasis in Kashmir

Table 4: Antifungal susceptibility profile of Candidal isolates

<i>Candida species</i>	Resistance (%) to antifungals tested				
	Fluconazole, n (%)	Flucytosine, n (%)	Amphotericin B, n (%)	Voriconazole, n (%)	Caspofungin, n (%)
<i>Candida tropicalis</i>	16 (49)	14 (42)	10 (10)	0	0
<i>Candida albicans</i>	5 (42)	4 (28)	2 (14)	0	0
<i>Issatchenkia orientalis</i>	6 (50)	4 (35)	2 (16)	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1 (12)	1 (12)	1 (12)	0	0
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	1 (14)	1 (14)	0	0	0

Hình 4.3. Tỷ lệ kháng thuốc theo A.Nazir và T. Masoodi

Nghiên cứu tại Iran của P. Kooshki và cộng sự năm 2018 trên 19 trẻ sơ sinh nhiễm trùng huyết do *Candida albicans*, tỷ lệ kháng với itraconazole, amphotericin B và caspofungin lần lượt là 10,5%, 36,8% và 21%, cũng theo nghiên cứu này tỷ lệ nhạy cảm của *Candida albicans* với fluconazole và voriconazole là 100% [107].

Tại Đài Loan, năm 2018 nghiên cứu của Jen-Fu Hsu và cộng sự trên 113 trẻ sơ sinh nhiễm *Candida*, có 48 trẻ nhiễm *Candida albicans*, kết quả kháng sinh đồ cho thấy tỷ lệ nhạy cảm với caspofungin, micafungin và amphotericin B là 100%, tỷ lệ nhạy cảm với fluconazole và voriconazole là 97,9% [108].

Một nghiên cứu đa trung tâm của Kaitlin Benedict tiến hành tại Mỹ trong 7 năm công bố năm 2018 cho thấy trên tổng số 90 trẻ sơ sinh có 61 trẻ (68%) nhiễm *Candida albicans*, trong đó tỷ lệ *C. albicans* kháng fluconazole chỉ 1,6%. Trong nghiên cứu này tất cả (100%) trẻ sơ sinh nhiễm *Candida albicans* đều nhạy cảm với thuốc điều trị nấm nhóm echinocandins [109].

Như vậy, có thể thấy nhóm tác nhân gây bệnh chủ yếu ở trẻ sơ sinh trong nghiên cứu của chúng tôi là *Candida albicans* nhạy cảm hoàn toàn với các loại thuốc điều trị nấm như voriconazole, caspofungin và micafungin. Với các loại thuốc điều trị nấm thông thường khác như fluconazole và amphotericin B, *C. albicans* trong nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ kháng thuốc thấp hơn nhiều nghiên cứu khác.

- Đáp ứng của *Candida parapsilosis* với các thuốc điều trị nấm

Trong số 5 bệnh nhân nhiễm *Candida parapsilosis* ở nghiên cứu của chúng tôi, có 3 trẻ (60%) nhạy cảm với fluconazole. Tất cả đều nhạy cảm với amphotericin B, voriconazole, caspofungin và micafungin.

Theo nghiên cứu của Montagna (hình 4.2) *Candida parapsilosis* nhạy cảm với voriconazole và posaconazole với MIC₉₀ là 0,03 µg/mL và 0,125 µg/mL. Với các nhóm thuốc điều trị nấm còn lại như caspofungin, fluconazole và amphotericin B, *Candida parapsilosis* đáp ứng không tốt.

Hình 4.3 cho thấy trong nghiên cứu của Asifa Nazir và Talat Masoodi tại Ấn Độ, tỷ lệ nhạy cảm của *Candida parapsilosis* với voriconazole và caspofungin cũng là 100%, với các thuốc còn lại như fluconazole, amphotericin B và flucytosine tỷ lệ nhạy cảm là 88%.

Với 3 bệnh nhân nhiễm *Candida parapsilosis* trong nghiên cứu tại Iran của P. Kooshki, tỷ lệ nhạy cảm với amphotericin B, fluconazole, voriconazole, itraconazole và caspofungin đều là 100% [107].

Nghiên cứu tại Italia của Carmine Garzillo và cộng sự công bố năm 2017 trên 17 bệnh nhân sơ sinh nhiễm *Candida parapsilosis*, Tất cả các chủng *C. parapsilosis* đều nhạy cảm với anidulafungin, micafungin, caspofungin, 5-fluorocytosine, amphotericin B, posaconazole và voriconazole.

Table 2 Antimycotic susceptibility profiles of *C. parapsilosis* isolates

Antifungal Agents	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	MIC range (µg/mL)
Anidulafungin	1	2	0.5–2
Micafungin	2	2	1–2
Caspofungin	0.5	1	0.25–2
5-fluorocytosine	0.25	0.5	0.12–0.5
Posaconazole	0.06	0.125	0.03–0,125
Voriconazole	0.03	0.5	0.008–1
Itraconazole	0.12	0.25	0.06–0,25
Fluconazole	1	64	0.5–128
Amphotericin B	0.5	1	0.5–1

MIC minimal inhibitory concentration

Hình 4.4. Đáp ứng của *C. parapsilosis* với thuốc điều trị nấm

theo Carmine Garzillo

Tình trạng *Candida parapsilosis* kháng fluconazole được phát hiện ở hai bệnh nhân (11,8%) với MIC là 128 µg/mL và 64 µg/mL (Hình 4.4). Cả hai trẻ kháng fluconazole đều có cân nặng lúc sinh ≤ 1500 gr [110].

Tại Ấn Độ, nghiên cứu của Sriparna Basu trên 10 trẻ sơ sinh nhiễm trùng huyết do *Candida parapsilosis*, kết quả tỷ lệ nhạy cảm với voriconazole và caspofungin là 100%, tỷ lệ nhạy cảm với amphotericin B là 80%, fluconazole và itraconazole đều là 60% [100].

Có thể thấy là, tương tự như những nghiên cứu khác, trẻ sơ sinh nhiễm nấm *Candida parapsilosis* trong nghiên cứu của chúng tôi có tình trạng kháng fluconazole với tỷ lệ 40%. Tuy nhiên với các loại thuốc điều trị nấm khác *C. parapsilosis* còn đáp ứng tốt.

- Đáp ứng của *Candida guilliermondii* với các thuốc điều trị nấm

Trong tổng số 49 bệnh nhân nhiễm nấm, chúng tôi có 3 trẻ nhiễm *Candida guilliermondii*, nhạy cảm 100% với amphotericin B, caspofungin, micafungin và voriconazole. Các bệnh nhân này kháng hoàn toàn với fluconazole.

Tại Ấn Độ nghiên cứu của Sriparna Basu cho thấy tỷ lệ nhạy cảm của *Candida guilliermondii* với voriconazole, caspofungin, amphotericin B, fluconazole và itraconazole đều là 100% [100].

Nghiên cứu của Asifa Nazir và Talat Masoodi cũng tại Ấn độ năm 2016, *Candida guilliermondii* cũng nhạy cảm với voriconazole, caspofungin và amphotericin B. *C. guilliermondii* trong nghiên cứu này kháng lại fluconazole và flucytosine [99].

Số lượng bệnh nhân trong các nghiên cứu này đều thấp, do vậy khó có thể đánh giá mức độ kháng fluconazole của *Candida guilliermondii*. Tuy nhiên, lựa chọn đầu tay cho việc điều trị bệnh nhân sơ sinh nhiễm loại nấm này theo chúng tôi nên là amphotericin B.

- Đáp ứng của các loại nấm khác với các thuốc điều trị nấm

Chúng tôi có 2 bệnh nhân nhiễm *Candida krusei* trong nghiên cứu, cả hai bệnh nhân này đều kháng fluconazole và amphotericin B, 2 trẻ này nhạy cảm tốt với voriconazole, caspofungin và micafungin.

Candida krusei theo nghiên cứu của Sriparna Basu tại Ấn Độ tỷ lệ nhạy cảm voriconazole và caspofungin là 100% và tỷ lệ nhạy cảm với amphotericin B, fluconazole và itraconazole vẫn đều là 75% [100].

Nghiên cứu của Selma Amaral-Lopesa và Andressa Moura năm 2012 tại Brazil về 3 trường hợp trẻ sơ sinh nhiễm *Candida krusei* cho thấy cả 3 trường hợp đều kháng fluconazole và chỉ đáp ứng điều trị với amphotericin B [104].

Với *Candida pelliculosa* và *Candida tropicalis*, nghiên cứu của chúng tôi mỗi loại có 1 bệnh nhân. *Candida pelliculosa* nhạy cảm với cả 5 loại thuốc điều trị nấm trong kháng sinh đồ là fluconazole, amphotericin B, voriconazole, caspofungin và micafungin. *Candida tropicalis* kháng với fluconazole và nhạy cảm với 4 thuốc còn lại.

Nghiên cứu của Carolina Maria da Silva và cộng sự năm 2013 tại Brazil trên 5 trường hợp sơ sinh nhiễm *Candida pelliculosa* cho thấy *C. pelliculosa* nhạy cảm tốt với fluconazole, amphotericin B và nhóm Anidulafungin. Cũng theo nghiên cứu này *Candida pelliculosa* kháng với voriconazole (hình 4.5).

Case/isolate	Minimal inhibitory concentration (µg/mL)			
	Amphotericin B	Fluconazole	Voriconazole	Anidulafungin
Case 1/6345	0.12 (S)	4 (S)	4 (R)	0.06 (S)
Case 2/6283	0.03 (S)	4 (S)	4 (R)	0.12 (S)
Case 3/6281	0.03 (S)	4 (S)	4 (R)	0.01 (S)
Case 4/6280	0.03 (S)	4 (S)	4 (R)	0.01 (S)
Case 5/6279	0.03 (S)	4 (S)	4 (R)	0.03 (S)

Hình 4.5. Đáp ứng của *C. pelliculosa* với thuốc điều trị nấm theo Carolina Maria da Silva

Bên cạnh các loại nấm thuộc chủng *Candida*, trong nghiên cứu của chúng tôi có 3 bệnh nhân nhiễm *Kodamaea ohmeri*, chúng tôi không có kháng sinh đồ cho những trường hợp này.

4.1.7.5. Tỷ lệ tử vong

Trong tổng số 49 bệnh nhân nhiễm nấm trong nghiên cứu của chúng tôi, có 21 trẻ tử vong, chiếm tỷ lệ 42,9%, đây là tỷ lệ tử vong thô (biểu đồ 3.13).

Nghiên cứu của Michelle Barton tại Canada năm 2014 trên 49 bệnh nhân sơ sinh đẻ non nhiễm nấm, có 22 bệnh nhân tử vong, với tỷ lệ 45% [12].

Tại Trung Quốc, nghiên cứu của Hongping Xia năm 2014 trên 223 trẻ sơ sinh nhiễm nấm cho thấy tỷ lệ tử vong là 19,3% [15].

Cũng tại Trung Quốc, năm 2018 nghiên cứu của Jinjian Fu và cộng sự trên 28 trẻ sơ sinh nhiễm trùng huyết do nấm, tỷ lệ tử vong là 14,3% [111].

Nghiên cứu của Oeser C tại Anh từ 2004 - 2010 trên tổng số 84 trẻ sơ sinh nhiễm nấm, tỷ lệ tử vong chung là 31% (26 bệnh nhân), trong đó có 18 bệnh nhân tử vong được cho là có liên quan với nhiễm trùng huyết do nấm, chiếm tỷ lệ 21% [14].

Tại Đài Loan, nghiên cứu năm 2018 của Jen-Fu Hsu và cộng sự trên 113 trẻ sơ sinh nhiễm nấm, có 32 trẻ tử vong được cho là có liên quan đến nhiễm *Candida* xâm lấn, chiếm tỷ lệ 28,3% [108].

Nghiên cứu của Femitha P và cộng sự tại Ấn Độ năm 2013 trên 36 trẻ sơ sinh nhiễm nấm, có 16 bệnh nhân (4 trẻ đủ tháng và 12 trẻ non tháng) tử vong, chiếm tỷ lệ 44,4% [16].

Cũng tại Ấn Độ nghiên cứu của Sriparna Basu cho thấy có 17 trẻ sơ sinh tử vong trên tổng số 114 trẻ sơ sinh nhiễm nấm, chiếm tỷ lệ 14,3% [100].

Chúng tôi nhận thấy, tỷ lệ tử vong do nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh rất khác nhau, tùy theo từng nghiên cứu, thay đổi trên từng đối tượng sơ sinh, ở trẻ non tháng thường tỷ lệ tử vong cao hơn. Tuy nhiên vấn đề ở đây là trẻ sơ sinh thường nhiễm nấm khi nằm điều trị dài ngày trong bệnh viện, trẻ lại thường có các bệnh lý phối hợp kèm theo, đặc biệt là các tình trạng nhiễm khuẩn phối hợp. Cũng như nghiên cứu của chúng tôi, các nghiên cứu khác trên thế giới chỉ xác định tỷ lệ tử vong thô hoặc có liên quan đến nhiễm nấm chứ không thể xác định chính xác tỷ lệ tử vong thực sự do nấm.

4.1.8. Các yếu tố nguy cơ

4.1.8.1. Cân nặng

Như đã phân tích ở mục 4.1.3, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy cân nặng thấp là yếu tố nguy cơ gây nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh. Cụ thể, nhóm trẻ có cân nặng 1000gr - < 1500gr có nguy cơ nhiễm nấm cao gấp 18,76 lần nhóm có cân nặng ≥ 2500 gr.

4.1.8.2. Các can thiệp xâm lấn

- Đặt nội khí quản thở máy

Tỷ lệ bệnh nhân phải đặt nội khí quản trong số các bệnh nhân nhiễm nấm của chúng tôi rất cao, lên đến 98% với thời gian trung bình là $19,5 \pm 11$ ngày.

Nghiên cứu của FAY El-Marsy tại Anh năm 2002 tỷ lệ thở máy trên 24 bệnh nhân nhiễm nấm là 100% với thời gian từ 10 - 27 ngày, $p = 0,35$ [11]. Nghiên cứu của Paolo Manzoni tại Italia năm 2006, tỷ lệ thở máy ở trẻ sơ sinh nhiễm nấm là 88% [94], cũng tại Italia năm 2010 nghiên cứu của Montagna và cộng sự cho thấy tỷ lệ trẻ sơ sinh nhiễm nấm phải thở máy là 61,9% [11] và theo nghiên cứu của Giuseppina Caggiano năm 2017 tỷ lệ này là 78,6%, $p = 0,107$ [98].

Ejaz Ahmed Khan và cộng sự trong một nghiên cứu năm 2015 tại Pakistan cho thấy trên 49 bệnh nhân sơ sinh nhiễm nấm tỷ lệ trẻ phải thở máy là 83,7% với thời gian trung bình là 121 ± 269 giờ [112].

Tại Trung Quốc năm 2018 nghiên cứu của Jinjian Fu và cộng sự trên 28 trẻ sơ sinh nhiễm trùng huyết do nấm, tỷ lệ trẻ phải thở máy là 85,7%, $p = 0,04$ [111]. Theo Jinjian Fu, thở máy và đặt nội khí quản đường như là các yếu tố thúc đẩy quá trình nhiễm nấm của trẻ sơ sinh tại NICU. Nghiên cứu của Elizabeth Caparó Ingrama tại Panama năm 2019 trên 134 bệnh nhân sơ sinh nhiễm nấm tỷ lệ trẻ thở máy là 95,5% [113].

Tất cả các nghiên cứu trên đều cho thấy tỷ lệ trẻ sơ sinh nhiễm nấm phải can thiệp đặt nội khí quản thở máy rất cao, tuy nhiên đều không xác định đó là yếu tố nguy cơ, chính bởi vì các bệnh nhân sơ sinh nhiễm nấm thường là trẻ non tháng, có nhiều bệnh lý phối hợp nên tỷ lệ thở máy cao hơn các nhóm khác.

- Đặt catheter tĩnh mạch

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trên 49 bệnh nhân sơ sinh nhiễm nấm có 39 trẻ được đặt catheter rốn, chiếm tỷ lệ 79,6% với thời gian lưu catheter trung bình là $5,9 \pm 1,1$ ngày, có 37 trẻ được đặt long-line, chiếm tỷ lệ 75,5% với thời gian lưu trung bình là $19 \pm 7,9$ ngày.

Theo tác giả FAY El-Marsy nghiên cứu tại Anh, tỷ lệ trẻ đặt catheter tĩnh mạch trung tâm là 63% với 67% trẻ có thời gian lưu catheter > 7 ngày [11]. Nghiên cứu này đánh giá chảy máu phổi và chậm phát triển trong tử cung (IUGR) là các nguy cơ mới của nhiễm nấm.

Nghiên cứu của Montagna tại Italia năm 2010 trên 21 bệnh nhân nhiễm nấm, tỷ lệ trẻ được đặt catheter tĩnh mạch trung tâm là 100%, catheter tĩnh mạch trung tâm đã được rút bỏ trong 20 bệnh nhân (95,2%): 7 bệnh nhân (35%) tại thời điểm lấy mẫu máu và 13 bệnh nhân (65%) lúc $5,1 \pm 4,9$ ngày

(range 1-20 ngày) sau khi khởi phát nhiễm nấm. Trong 19 (95%) trường hợp được nuôi cấy đầu ống thông có 17 trường hợp (89,5%) dương tính với cùng một loại nấm được tìm thấy trong nuôi cấy máu [11]. Theo nghiên cứu này, đặt CVC là yếu tố nguy cơ gây nhiễm nấm.

Cũng tại Italia, theo nghiên cứu của Paolo Manzoni năm 2006 tỷ lệ trẻ nhiễm nấm được đặt catheter rốn là 97%, tỷ lệ đặt CVC là 75% [95].

Nghiên cứu của Elizabeth Caparó Ingrama tại Panama cho thấy tỷ lệ trẻ nhiễm nấm được đặt catheter rốn là 75,4%, theo tác giả này đặt catheter tĩnh mạch rốn là yếu tố nguy cơ gây nhiễm nấm (OR = 9.04, 95% CI: 1,55-52,5) [113].

4.1.8.3. Thời gian nằm viện

Thời gian nằm viện trung bình của các bệnh nhân nhiễm nấm trong nghiên cứu của chúng tôi là $48,2 \pm 26,8$ ngày.

Tại Italia, theo nghiên cứu của Paolo Manzoni năm 2006 thời gian nằm viện trung bình của trẻ sơ sinh nhiễm nấm là 38 ± 28 ngày [95], theo nghiên cứu của Montagna năm 2010 thời gian trung bình nằm điều trị của trẻ sơ sinh nhiễm nấm là $39,7 \pm 40,6$ ngày (range 5 - 150 ngày). Thời gian nằm viện > 7 ngày được xác định là yếu tố nguy cơ gây nhiễm nấm [11].

Nghiên cứu của Elizabeth Caparó Ingrama năm 2019, tỷ lệ trẻ sơ sinh nằm viện > 7 ngày là 97,8%. Phân tích đa biến xác định là bệnh nhân nằm viện lâu hơn bảy ngày có nguy cơ nhiễm nấm (OR = 17,0, 95% CI: 2,36-122,4) [113].

4.1.8.4. Sử dụng kháng sinh phổ rộng kéo dài

Hầu hết các bệnh nhân nhiễm nấm trong nghiên cứu của chúng tôi đều phải điều trị kháng sinh phổ rộng kéo dài (bảng 3.14). Có tới 41 trẻ (83,7%) điều trị kháng sinh nhóm Carbapenem với thời gian trung bình là $17,2 \pm 6,2$ ngày.

Theo nghiên cứu của Asifa Nazir và Talat Masoodi tại Ấn độ năm 2016, tỷ lệ trẻ sơ sinh nhiễm nấm có thời gian điều trị kháng sinh đường tĩnh mạch kéo dài là 72,5% [98]. Nghiên cứu của Ejaz Ahmed Khan và cộng sự tại Pakistan năm 2015 tỷ lệ trẻ sơ sinh nhiễm nấm sử dụng kháng sinh là 92% [112].

Nghiên cứu của Paolo Manzoni tại Italia năm 2006 thời gian điều trị kháng sinh trung bình của bệnh nhân sơ sinh nhiễm nấm là 13 ± 11 ngày.

Tại Panama năm 2019, theo nghiên cứu của Elizabeth Caparó Ingrama và cộng sự, tỷ lệ trẻ sơ sinh nhiễm nấm điều trị kháng sinh Meropenem là 79,9% [113]. Tại Trung Quốc năm 2018, nghiên cứu của Jinjian Fu và cộng sự trên 28 trẻ sơ sinh nhiễm trùng huyết do nấm tỷ lệ trẻ điều trị kháng sinh nhóm Carbapenem là 92,9% [111]. Tỷ lệ thậm chí còn cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi.

Tại Anh, theo tác giả FAY El-Marsy nghiên cứu trên 24 trẻ sơ sinh nhiễm nấm thời gian sử dụng kháng sinh trung bình là 13 ngày (range 8 - 26 ngày) [10]. Một nghiên cứu của Giuseppina Caggiano năm 2017 tại Italia cũng cho thấy tỷ lệ trẻ sơ sinh nhiễm nấm có sử dụng kháng sinh phổ rộng kéo dài ở mức cao, dao động từ 85,7 - 92,3% [98].

Như vậy, cũng tương tự như các nghiên cứu khác trên thế giới, chúng tôi nhận thấy nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng về các yếu tố nguy cơ gây nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh bao gồm: cân nặng thấp, các can thiệp xâm lấn như đặt nội khí quản thở máy, đặt catheter tĩnh mạch, thời gian nằm viện và thời gian sử dụng kháng sinh phổ rộng kéo dài. Một số yếu tố nguy cơ được mô tả ở những nghiên cứu khác như điều trị corticoid sau sinh, trẻ bị viêm ruột hoại tử, trẻ sau phẫu thuật, trẻ bị chảy máu phổi, trẻ chậm phát triển trong tử cung... chúng tôi không có dữ liệu trong nghiên cứu này.

4.2. ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ DỰ PHÒNG NẤM BẰNG FLUCONAZOLE TRÊN TRẺ ĐỂ NON

Từ tháng 8 năm 2017 đến tháng 12 năm 2018 chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên 56 bệnh nhân ở nhóm dự phòng và 58 bệnh nhân ở nhóm chứng với đối tượng lựa chọn là các trẻ có cân nặng < 1500gr.

4.2.1. Đặc điểm chung của hai nhóm nghiên cứu

4.2.1.1. Cân nặng, tuổi thai và giới tính

Chúng tôi nhận thấy các yếu tố giới tính, tuổi thai và cân nặng không có sự khác biệt giữa hai nhóm nghiên cứu. Tuy nhiên tỷ lệ nam/nữ trong cả nhóm dự phòng và nhóm chứng đều có sự chênh lệch, tỷ lệ trẻ nam là 66,1% ở nhóm dự phòng và 55,2% ở nhóm chứng (bảng 3.24).

Nghiên cứu của Daniel K. Benjamin Jr và cộng sự tại Italia năm 2014 cũng có sự chênh lệch về tỷ lệ nam nữ ở các nhóm nghiên cứu với tỷ lệ trẻ nam là 79% ở nhóm dự phòng và 75% ở nhóm chứng [114].

Có những nghiên cứu khác tỷ lệ nam nữ khá tương đương như nghiên cứu của David Kaufman tại Mỹ [72], hay nghiên cứu của Paolo Manzoni tại Italia, tỷ lệ nam nữ ở nhóm dự phòng fluconazole là 57/55 và ở nhóm placebo là 55/51 [74].

4.2.1.2. Tiền sử sản khoa

Chúng tôi nhận thấy không có khác biệt về tiền sử sản khoa ở cả hai nhóm dự phòng và nhóm chứng. Hầu hết các trẻ ở hai nhóm nghiên cứu đều được sinh thường, với tỷ lệ 83,9% ở nhóm dự phòng và 87,9% ở nhóm chứng (bảng 3.20). Đây là một tỷ lệ rất cao khi so với một nghiên cứu đa trung tâm của Jessica E. Ericson tại Mỹ năm 2016, tỷ lệ trẻ mổ đẻ ở nhóm dự phòng là 64% và ở nhóm chứng là 70% mặc dù đối tượng nghiên cứu chủ yếu là các trẻ có cân nặng < 1000gr [75]. Nghiên cứu của David Kaufman cũng cho thấy tỷ

lệ trẻ được mổ đẻ khá cao với 58% ở nhóm dự phòng và 56% ở nhóm chứng [72]. Tương tự như vậy, tại Mỹ theo nghiên cứu của Daniel K. Benjamin Jr, tỷ lệ trẻ sinh mổ ở nhóm dự phòng là 67% và ở nhóm chứng là 78% [114], ở một nghiên cứu khác của Paolo Manzoni tại Italia là 35% và 40% [74].

Bên cạnh đó, các trẻ trong hai nhóm nghiên cứu của chúng tôi chủ yếu có thời gian vỡ ối < 6 giờ với số lượng và tính chất nước ối bình thường.

Tỷ lệ bà mẹ được sử dụng steroids trước sinh ở cả hai nhóm nghiên cứu của chúng tôi đều thấp, với 10,7% ở nhóm dự phòng và 22,4% ở nhóm chứng (bảng 3.18). Việc sử dụng steroids trước sinh đã được chứng minh giúp ích cho sự trưởng thành phổi của trẻ, hạn chế tỷ lệ suy hô hấp sau sinh ở trẻ đẻ non. Theo nghiên cứu của Paolo Manzoni tại Italia, tỷ lệ bà mẹ sử dụng steroids trước sinh là 72% ở nhóm dự phòng và 70% ở nhóm chứng [74]. Nghiên cứu của Daniel K. Benjamin Jr tại Mỹ cho thấy tỷ lệ bà mẹ sử dụng steroids trước sinh ở nhóm dự phòng là 75%, ở nhóm chứng là 87% [114]. Mới đây, một nghiên cứu đa trung tâm của Juyoung Lee và cộng sự tại Hàn Quốc năm 2016 cho thấy tỷ lệ bà mẹ được sử dụng steroids trước sinh ở nhóm dự phòng và nhóm chứng lần lượt là 87% và 72% [115]. Để việc tiêm steroids trước sinh cho các bà mẹ được tiến hành một cách phổ biến hơn cần nhiều giải pháp đồng bộ như tuân thủ việc theo dõi, khám thai định kỳ, phổ biến kiến thức cho các bà mẹ, tập huấn cho các nữ hộ sinh ở các tuyến y tế cơ sở, phòng khám sản khoa... rất cần được chú trọng tại Việt Nam trong thời gian tới.

4.2.2. Các can thiệp trên hai nhóm nghiên cứu

Trong nghiên cứu của chúng tôi không có sự khác biệt về các can thiệp xâm lấn được sử dụng ở cả hai nhóm nghiên cứu.

Bên cạnh đó, có thể nhận thấy tỷ lệ trẻ phải đặt nội khí quản rất cao (100%) ở cả nhóm dự phòng và nhóm chứng do nghiên cứu tiến hành trên đối tượng là các trẻ có cân nặng < 1500gr (bảng 3.29). Nghiên cứu của David Kaufman tại Mỹ, tỷ lệ trẻ đặt nội khí quản ở cả hai nhóm cũng là 100% [72], theo nghiên cứu của Daniel K. Benjamin Jr tỷ lệ đặt nội khí quản ở nhóm chứng là 80%, nhóm dự phòng là 76% [114]. Một nghiên cứu khác của Jessica E. Ericson tại Mỹ cũng cho thấy trẻ phải thở máy với tỷ lệ cao, 84% ở nhóm dự phòng và 82% ở nhóm chứng [75]. Thời gian thở máy trung bình ở nhóm dự phòng trong nghiên cứu của chúng tôi là $18 \pm 3,12$ ngày, ở nhóm chứng là $12,9 \pm 1,5$ ngày. Kết quả này cao hơn nghiên cứu của Paolo Manzoni với thời gian thở máy trung bình ở nhóm dự phòng là $11,9 \pm 10,0$ ngày và ở nhóm chứng là $12,2 \pm 11,0$ ngày [74]. Mới đây, một nghiên cứu tại Brazil của J. Silva-Rios và cộng sự năm 2019 thời gian thở máy trung bình ở hai giai đoạn nghiên cứu dự phòng trên các trẻ sơ sinh có cân nặng < 1500gr là 10,48 ngày và 9,18 ngày [116].

Trong nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ trẻ được đặt catheter rốn ở nhóm dự phòng là 80,4% và ở nhóm chứng là 70,7%. Thời gian lưu catheter rốn là $7,1 \pm 0,4$ ngày ở nhóm dự phòng và $7,5 \pm 0,4$ ngày ở nhóm chứng (bảng 3.30). Nghiên cứu của Paolo Manzoni thời gian lưu catheter rốn ở cả hai nhóm nghiên cứu là $6,0 \pm 3,0$ ngày. Theo nghiên cứu của David Kaufman, tỷ lệ đặt catheter rốn ở nhóm dự phòng và nhóm chứng lần lượt là 98% và 100% [72].

Tỷ lệ trẻ được đặt catheter động mạch (ĐM) trong nghiên cứu của chúng tôi là 75% ở nhóm dự phòng và 55,2% ở nhóm chứng. Tỷ lệ này cũng tương tự như trong nghiên cứu của David Kaufman, ở nhóm dự phòng là 50% và ở nhóm chứng là 60%.

4.2.3. Tình trạng nhiễm khuẩn phổi hợp

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ trẻ có các nhiễm khuẩn phổi hợp chiếm tỷ lệ 55,4% ở nhóm dự phòng và 43,1% ở nhóm chứng. Vi khuẩn thường gặp là các chủng Gram (-) như *Klebsiella pneumoniae*, *E. Coli* và

Acinetobacter baumannii (bảng 3.31). Trong đó, ở nhóm dự phòng có 19,4% trẻ nhiễm hai loại vi khuẩn cùng lúc, ở nhóm chứng là 24%. Đặc biệt, ở nhóm chứng còn có những trẻ nhiễm 3 loại vi khuẩn với tỷ lệ 12% (bảng 3.31).

Không có nhiều nghiên cứu khác mô tả tình trạng nhiễm khuẩn phổi hợp trên các trẻ sơ sinh trong các nghiên cứu dự phòng nấm bằng fluconazole. Nghiên cứu của Paolo Manzoni ở Italia tỷ lệ nhiễm khuẩn Gram (-) ở nhóm dự phòng là 17%, ở nhóm chứng là 22%. Như vậy, vấn đề nhiễm khuẩn bệnh viện ở trẻ sơ sinh hiện vẫn còn là một thách thức, cần những giải pháp kiểm soát tốt hơn trong thời gian tới.

4.2.4. Sử dụng kháng sinh

Bảng 3.32 cho thấy tình trạng sử dụng kháng sinh là tương đương giữa hai nhóm dự phòng và nhóm chứng trong nghiên cứu của chúng tôi. Tỷ lệ sử dụng các kháng sinh phổ rộng như Cephalosporin thế hệ 3 (64,3% ở nhóm dự phòng, 65,5% ở nhóm chứng), nhóm Carbapenem (48,2% ở nhóm dự phòng, 39,7% ở nhóm chứng), Vancomycin (62,5% ở nhóm dự phòng, 67,2% ở nhóm chứng) còn cao. Điều này có thể được lý giải vì Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương là tuyến cuối, thường xuyên tiếp nhận các bệnh nhân nặng vào điều trị.

Việc sử dụng kháng sinh trong quá trình điều trị dự phòng nấm cho trẻ sơ sinh cũng được mô tả ở nhiều nghiên cứu khác. Theo nghiên cứu của David Kaufman tỷ lệ sử dụng Cephalosporin thế hệ 3 ở nhóm dự phòng là 74%, ở nhóm chứng là 68%, Vancomycin 62% ở nhóm dự phòng, 72% ở nhóm chứng [72]. Nghiên cứu của J-H Weitkamp và cộng sự tỷ lệ trẻ được điều trị Cephalosporin thế hệ 3 ở nhóm dự phòng là 8%, ở nhóm chứng là 14,5%, Vancomycin ở nhóm dự phòng là 71,4%, ở nhóm chứng là 72,7% [70].

4.2.5. Kết quả dự phòng

4.2.5.1. Tỷ lệ nhiễm nấm ở hai nhóm nghiên cứu

So sánh kết quả giữa hai nhóm nghiên cứu chúng tôi có kết quả tỷ lệ nhiễm nấm của nhóm chứng là 24,1% cao hơn nhóm dự phòng là 5,4%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (bảng 3.33). Nguy cơ nhiễm nấm của nhóm chứng cao gấp 5,6 lần so với nhóm dự phòng với 95% CI là 1,51 - 20,82.(bảng 3.34).

Bảng 4.3. So sánh tỷ lệ nhiễm nấm với các nghiên cứu khác

Tác giả		Cân nặng	n	Nhiễm nấm	p
Kaufman ¹ 2000[72]	Nhóm chứng	< 1000gr	50	20%	0,008
	Nhóm dự phòng		50	0%	
Manzoni ² 2005[74]	Nhóm chứng	< 1500gr	112	29,2%	< 0,001
	Nhóm dự phòng		106	9,8%	
Weitkamp ³ 2008[70]	Nhóm chứng	< 1000gr	44	20%	0,004
	Nhóm dự phòng		42	0%	
Rolnitsky ⁴ 2012[71]	Nhóm chứng	$\leq 1000\text{gr}$	319	5,96%	0,016
	Nhóm dự phòng		130	0,77%	
Kirpal ⁵ 2016[77]	Nhóm chứng	< 1500gr	37	43,2%	0,04
	Nhóm dự phòng		38	21%	
Chúng tôi 2018	Nhóm chứng	< 1500gr	58	24,1%	0,0098
	Nhóm dự phòng		56	5,4%	

Chú thích:

1. Nghiên cứu của David Kaufman và cộng sự tại University of Virginia - Mỹ
2. Nghiên cứu đa trung tâm của Paolo Manzoni và cộng sự trên 8 đơn vị NICU tại Italia
3. Nghiên cứu của J-H Weitkamp và cộng sự tại Mỹ
4. Nghiên cứu của Asaph Rolnitsky và cộng sự tại Israel
5. Nghiên cứu của Harita Kirpal và cộng sự tại Ấn Độ

Nhìn chung, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy hiệu quả của việc sử dụng fluconazole điều trị dự phòng làm giảm tỷ lệ nhiễm nấm ở trẻ < 1500gr, tương đồng với nhiều nghiên cứu khác trên thế giới (bảng 4.3).

Hiệu quả điều trị dự phòng bằng fluconazole cũng đã được cho thấy trong nghiên cứu của Healy CM và cộng sự năm 2001, kết quả là tỷ lệ nhiễm *Candida* giảm từ 7% xuống 2%, tỷ lệ tử vong liên quan đến nhiễm *Candida* giảm từ 12% xuống 0% [69].

Theo nghiên cứu của Jessica E. Ericson tại Mỹ năm 2016 cho thấy điều trị dự phòng bằng fluconazole làm giảm tỷ lệ mắc *Candida* xâm lấn hoặc tử vong và nhiễm *Candida* xâm lấn so với nhóm trẻ dùng giả dược với OR 0,48 (95% CI: 0,3 - 0,78) và OR 0,20 (95% CI: 0,08 - 0,51). Tỷ lệ mắc các tác dụng phụ trên lâm sàng và cận lâm sàng là tương tự đối với nhóm trẻ sơ sinh dùng fluconazole và nhóm dùng giả dược. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ các chủng được thử nghiệm có khả năng kháng fluconazole giữa các nhóm fluconazole và giả dược [75].

Nghiên cứu tổng hợp của Martina Luparia và cộng sự tại Italia năm 2019 thấy tỷ lệ mắc bệnh nấm đã giảm đáng kể sau khi điều trị dự phòng (từ 43,4% xuống 16,5%) cũng giảm như tỷ lệ nhiễm nấm toàn thân (từ 16% xuống 3,7%), nghiên cứu này cũng nhận định fluconazole dự phòng có hiệu quả trong việc làm giảm tình trạng nhiễm *Candida* và nhiễm nấm hệ thống ở trẻ sơ sinh non tháng tại NICU và không gây ra sự thay đổi hoặc chuyển sang kháng fluconazole của các chủng *Candida spp* trong thời gian giám sát 16 năm [117].

Một nghiên cứu khác năm 2019 tại Brazil của J. Silva-Rios và cộng sự khi điều trị dự phòng fluconazole cho trẻ sơ sinh cân nặng < 1500gr cho thấy tỷ lệ mới mắc của *Candida* xâm lấn là 5,25% và giảm từ 7,1% xuống 3,72% khi điều trị dự phòng ($p = 0,04$). Trong một phân tích đa biến, các yếu tố quan

trọng liên quan đến sự phát triển của nấm *Candida* là cân nặng khi sinh dưới 1.000gr, thời gian nằm viện kéo dài, có liên quan với phẫu thuật trước đó, thở máy kéo dài, điều trị kháng sinh. Nghiên cứu này cũng đánh giá việc dự phòng fluconazole làm cho tỷ lệ nhiễm nấm *Candida* xâm lấn thấp hơn và các biện pháp phòng ngừa xem xét các yếu tố nguy cơ là bắt buộc để giảm tỷ lệ mắc bệnh [116].

Một nhóm tác giả Trung Quốc, Datian Che và cộng sự phân tích năm thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có đối chứng liên quan đến 1006 trẻ sơ sinh non tháng < 1500gr. So với không điều trị dự phòng, các rủi ro tương đối kết hợp của nhiễm nấm xâm lấn với thời gian điều trị dự phòng là 28 và 42 ngày của fluconazole là 0,80 (95% CI: 0.48 - 1.35, $p = 0,4048$) và 0,30 (95% CI: 0.15 - 0.58, $p = 0,0004$). Liều fluconazole không có tác động đáng kể đến nguy cơ của nhiễm nấm xâm lấn. Nguy cơ của tỷ lệ tử vong không có sự khác biệt đáng kể giữa nhóm điều trị dự phòng fluconazole và nhóm không điều trị dự phòng (RR 0,82, 95% CI: 0.60 – 1.12, $p = 0,2093$). Báo cáo này kết luận: điều trị dự phòng bằng fluconazole trong 42 ngày được phát hiện là vượt trội so với không điều trị dự phòng vì đây là chiến lược ngăn ngừa nhiễm nấm xâm lấn ở trẻ non tháng ở trẻ sơ sinh ngoại trừ về tỷ lệ tử vong. Phác đồ dùng thuốc fluconazole dự phòng có thể không có tác động đến kết quả; tuy nhiên, do những hạn chế của dữ liệu có sẵn, cần nghiên cứu thêm [118].

Một số nghiên cứu khác lại cho kết quả khác biệt. Tại Mỹ, theo nghiên cứu của Daniel K. Benjamin Jr năm 2014 nghiên cứu trên đối tượng trẻ sơ sinh có cân nặng < 750gr với 188 bệnh nhân được điều trị dự phòng fluconazole và 173 bệnh nhân placebo, kết quả cho thấy sau khi điều trị dự phòng 42 ngày so với nhóm placebo không làm giảm được tỷ lệ tử vong hoặc nhiễm nấm *Candida* xâm lấn. Những phát hiện này không ủng hộ cho việc sử dụng phổ biến fluconazole ở trẻ sơ sinh cực kỳ nhẹ cân [114]. Có thể vì đây là các trẻ cực kỳ nhẹ cân với cân nặng < 750gr nên trẻ có rất nhiều các yếu tố nguy cơ khác liên quan đến tỷ lệ tử vong và nhiễm nấm.

Theo một nghiên cứu khác của Juyoung Lee tại Hàn Quốc năm 2016 thì điều trị dự phòng fluconazole không có giá trị làm giảm tỷ lệ nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh cực non (4.4% so với 5.5%, $p = 0.80$) [115]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu tại Hàn Quốc này các trẻ đẻ non cân nặng dưới 1000gr được đưa vào nghiên cứu, trong khi nghiên cứu của chúng tôi lựa chọn các trẻ đẻ non có yếu tố nguy cơ, thực tế là 100% các trẻ trong nghiên cứu đều được đặt nội khí quản thở máy và đặt kim luồn, tỷ lệ đặt catheter rốn và đặt long-line ở hai nhóm cũng khá cao (bảng 4.6). Điều này có thể khiến cho nguy cơ nhiễm nấm ở cả hai nhóm nghiên cứu của chúng tôi tăng lên và từ đó làm tăng vai trò dự phòng của fluconazole.

4.2.5.2. Vị trí nhiễm nấm, thời gian nhiễm nấm và loại nấm gây bệnh

Vị trí nhiễm nấm của các bệnh nhân ở hai nhóm nghiên cứu của chúng tôi chủ yếu là nhiễm nấm máu (85%), tương tự như kết quả nghiên cứu ở giai đoạn 1 (85,7%). Các vị trí khác bao gồm nhiễm nấm ở phổi, chân catheter rốn và chân long-line cùng với tỷ lệ 5% (biểu đồ 3.15).

Thời gian nhiễm nấm ở nhóm dự phòng và nhóm chứng chủ yếu xảy ra vào tuần thứ 2 - 3, với 100% ở nhóm dự phòng và 57,1% ở nhóm chứng (biểu đồ 3.17). Đây cũng chính là thời điểm trẻ dễ dàng mắc các nhiễm khuẩn bệnh viện

Tổng hợp trong cả hai nhóm nghiên cứu của chúng tôi, loại nấm nhiễm nhiều nhất là *Candida haemulonii* (35%), kế đến là *Candida pelliculosa* (25%), *Candida albicans* (20%). *Candida guilliermonii* chiếm tỷ lệ 10%, *Candida ciferrii* và *Kodamaea ohmeri* cùng tỷ lệ 5% (biểu đồ 3.16).

Riêng ở nhóm dự phòng chúng tôi nhận thấy không có bệnh nhân nào nhiễm *Candida albicans*, chỉ có 2 bệnh nhân (66,7%) nhiễm *Candida haemulonii* và 1 bệnh nhân (33,7%) nhiễm *Candida ciferrii*.

Kết quả này có thể nói là khác với nghiên cứu ở giai đoạn 1, đặc biệt là sự xuất hiện của *Candida haemulonii* và sự gia tăng của tỷ lệ *Candida*

pelliculosa khi mà ở giai đoạn 1 không có bệnh nhân nào nhiễm *C. haemulonii* và chỉ có 1 bệnh nhân nhiễm *C. pelliculosa* còn giai đoạn 2 chỉ riêng trong các nhóm nghiên cứu đã có 7 bệnh nhân nhiễm *C. haemulonii* và 5 bệnh nhân nhiễm *C. pelliculosa*.

Trong quá trình điều trị dự phòng fluconazole, chủng loại nấm nhiễm ở các nghiên cứu rất khác nhau. Nghiên cứu dự phòng của Paolo Manzoni tại Italia, loại nấm thường gặp là *Candida albicans* với tỷ lệ 76,2% [74], tương tự như nghiên cứu của J-H Weitkamp [70]. Ở nghiên cứu của David Kaufman loại nấm chủ yếu là *Candida parapsilosis* với tỷ lệ 83,3% ở nhóm dự phòng và 44,6% ở nhóm chứng [72]. Theo nghiên cứu của Rolnitsky ở Israel, loại nấm nhiễm chủ yếu cũng là *Candida parapsilosis* với tỷ lệ 50% [71].

Như vậy, trong cùng một địa điểm nghiên cứu nhưng vào những thời điểm khác nhau, cụ thể ở đây là trong giai đoạn 2016 - 2017 và 2017 - 2018, tỷ lệ mắc của các loại nấm đã có sự khác nhau. Chúng tôi nhận thấy cần phải đánh giá một cách hệ thống và cụ thể hơn về tình trạng nhiễm nấm ở sơ sinh.

4.2.5.3. *Đáp ứng với thuốc điều trị nấm*

Bảng 3.35 cho thấy tình trạng đáp ứng với các thuốc điều trị nấm của các loại nấm trong nghiên cứu giai đoạn 2 của chúng tôi.

Tương tự như nghiên cứu ở giai đoạn 1, *Candida albicans* tiếp tục nhạy cảm với hầu hết các loại thuốc điều trị nấm với $MIC \leq 0.12 \rightarrow 1 \mu\text{g/mL}$.

Không giống như nghiên cứu giai đoạn 1, chúng tôi có 7 bệnh nhân nhiễm *Candida haemulonii* ở nghiên cứu giai đoạn 2, trong kết quả của chúng tôi chủng này kháng hoàn toàn với fluconazole và amphotericin B (cùng với $MIC 8 \rightarrow 16 \mu\text{g/mL}$).

Từ năm 2007, một nghiên cứu tại Kuwait của Zia U. Khan và cộng sự trên 4 bệnh nhân nhiễm *Candida haemulonii*, kết quả đều kháng với amphotericin B, itraconazole và fluconazole [119]. Một báo cáo của Carolina

M. Silva và cộng sự tại Brazil năm 2015 mô tả một trường hợp trẻ sơ sinh 26 tuần, cân nặng 660gr nhiễm *Candida haemulonii* tại NICU, cũng kháng fluconazole và amphotericin B cùng với MIC 8 µg/mL, tương tự như nghiên cứu của chúng tôi [120].

Tuy nhiên, một báo cáo khác tại Trung Quốc của Fang-Qin Xia năm 2018 trên 2 trường hợp bệnh nhân sơ sinh nhiễm *Candida haemulonii* liên quan đến catheter cho kết quả ngược lại, trường hợp thứ nhất là một trẻ cân nặng 1520gr nhạy cảm với amphotericin B, ketoconazole, fluconazole, itraconazole, clotrimazole, nystatin và trường hợp thứ hai là trẻ có cân nặng 2650gr kháng clotrimazole và nystatin nhưng nhạy cảm với amphotericin B, ketoconazole, fluconazole và itraconazole. Cả hai bệnh nhân này đều được điều trị thành công bằng fluconazole [121].

Ở giai đoạn 1 của nghiên cứu, từ tháng 02/2016 đến tháng 02/2017 trong tất cả 49 bệnh nhân sơ sinh nhiễm nấm, chúng tôi chỉ có 1 bệnh nhân nhiễm *Candida pelliculosa*, nhạy cảm với cả 5 loại thuốc điều trị nấm trong kháng sinh đồ là amphotericin B, micafungin, caspofungin, voriconazole và fluconazole (bảng 3.15). Ở giai đoạn 2, chỉ riêng trong 114 bệnh nhân ở hai nhóm nghiên cứu, chúng tôi đã có 5 bệnh nhân nhiễm *Candida pelliculosa* (biểu đồ 3.16) và chủng nấm này đã kháng lại fluconazole với MIC 2 → 8 µg/mL.

Chúng tôi có 2 bệnh nhân ở nhóm chứng nhiễm *Candida guilliermondii* kháng fluconazole với MIC 2 → 32 µg/mL tương tự như kết quả kháng sinh đồ của nghiên cứu giai đoạn 1.

Có thể nhận thấy, đáp ứng với thuốc điều trị nấm khác nhau tùy theo từng nghiên cứu. Tuy nhiên, chúng tôi thấy rằng với chủng nấm gây bệnh phổ biến ở trẻ sơ sinh là *Candida albicans* thì amphotericin B và fluconazole vẫn có hiệu quả tốt, tỷ lệ kháng thuốc còn thấp. Các chủng nấm khác như *Candida haemulonii*, *Candida pelliculosa* hay *Candida guilliermondii* có tình trạng

khác với amphotericin B và fluconazole. Điều này rất quan trọng trong việc định hướng điều trị, lựa chọn thuốc điều trị nấm thích hợp cho bệnh nhân của các bác sĩ lâm sàng.

4.2.5.4. Tỷ lệ tử vong

Tỷ lệ trẻ sống ở nhóm dự phòng (67,8%) lớn hơn so với nhóm chứng (48,3%), khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0175$. Tỷ lệ tử vong ở trong giai đoạn dự phòng ở nhóm dự phòng là 25% và ở nhóm chứng là 31%, khác biệt này không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,2380$ (bảng 3.36).

Nghiên cứu của Daniel K. Benjamin Jr tại Mỹ, tỷ lệ tử vong ở nhóm dự phòng là 17,6% và ở nhóm chứng là 18,5% gần như không có sự khác biệt [114]. Theo nghiên cứu của David Kaufman cũng không có sự khác biệt đáng kể về tỷ lệ tử vong giữa hai nhóm (4 trẻ trong nhóm dự phòng fluconazole tử vong so với 10 trẻ ở nhóm chứng, $p = 0,22$) [72]. J-H Weitkamp tại Mỹ với nghiên cứu trên 42 bệnh nhân ở nhóm dự phòng và 44 bệnh nhân ở nhóm chứng cho thấy tỷ lệ tử vong ở nhóm dự phòng là 26,2% và ở nhóm chứng là 20,5% khác biệt này không có ý nghĩa thống kê [70]. Tỷ lệ tử vong cũng không có sự khác biệt trong nghiên cứu của Jessica E. Ericson với 11% ở nhóm dự phòng fluconazole và 14% ở nhóm chứng với OR 0,68 (95% CI: 0.40 - 1.13), $p = 0,14$ [75]. Một nghiên cứu tại Ấn Độ của Harita Kirpal có số lượng bệnh nhân ít hơn nghiên cứu của chúng tôi, với 38 bệnh nhân ở nhóm dự phòng và 37 bệnh nhân ở nhóm chứng cho thấy tỷ lệ tử vong do nấm ở nhóm dự phòng fluconazole thấp hơn ở nhóm chứng (2,6% so với 18,9%) với 95% CI: 0.003 - 0.52; $p = 0,02$. Tuy nhiên khi so sánh tỷ lệ tử vong chung giữa hai nhóm, mặc dù có xu hướng thấp hơn ở nhóm dự phòng fluconazole (18,4% so với 32,4%) nhưng kết quả này không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ [77].

4.2.6. Kết quả khác

Bảng 4.4. Phân tích hồi quy Cox về tỷ số nhiễm nấm

Biến số		Hazzard Ratio	95% Khoảng tin cậy	
			Giới hạn dưới	Giới hạn trên
Nhóm	Nhóm chứng			
	Nhóm dự phòng	0.03	0.00	0.31
Giới	Nam			
	Nữ	0.30	0.07	1.35
Tuổi thai	< 28 tuần			
	28-30 tuần	2.44	0.53	11.20
	≥ 31 tuần	0.96	0.08	11.63
Lưu nội khí quản	<10 ngày			
	10-19 ngày	0.22	0.02	2.13
	≥ 20 ngày	0.70	0.13	3.73
Lưu kim luân	< 28 ngày			
	28-41 ngày	1.65	0.18	14.75
	≥ 42 ngày	0.22	0.02	2.46
Lưu catheter động mạch	< 5 ngày			
	5 -7 ngày	6.04	0.89	41.22
	≥ 8 ngày	17.24	1.89	156.93
Lưu catheter rốn	< 6 ngày	1.00		
	6 -7 ngày	1.03	0.22	4.76
	≥ 8 ngày	0.80	0.14	4.39
Thời gian vỡ ối trước khi sinh	<60 phút	1.00		
	60 - < 120 phút	2.33	0.20	26.57
	≥ 120 phút	0.34	0.04	2.76

Kết quả này cho thấy nguy cơ nhiễm nấm ở nhóm dự phòng chỉ bằng 3% so với nhóm chứng và những trẻ có thời gian lưu catheter động mạch dài từ 8 ngày trở lên có nguy cơ nhiễm nấm cao hơn nhóm còn lại 17,24 lần.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu từ tháng 02/2016 đến tháng 02/2017 trên 4264 trẻ sơ sinh nhập viện điều trị tại Khoa Sơ sinh, Bệnh viện Nhi trung ương (giai đoạn 1) và nghiên cứu trên 56 bệnh nhân ở nhóm dự phòng và 58 bệnh nhân ở nhóm chứng với đối tượng lựa chọn là các trẻ có cân nặng < 1500gr từ tháng 8 năm 2017 đến tháng 12 năm 2018 (giai đoạn 2) chúng tôi rút ra các kết luận sau đây:

1. ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ HỌC LÂM SÀNG NHIỄM NẤM Ở TRẺ SƠ SINH ĐIỀU TRỊ TẠI KHOA SƠ SINH BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG

Tỷ lệ nhiễm nấm cao ở nhóm trẻ có cân nặng < 1500gr

Triệu chứng lâm sàng không đặc hiệu. Trẻ có thể có các biểu hiện sau: li bì, giảm phản xạ, giảm trương lực cơ, da xanh tái, bú kém, chậm tiêu. Trẻ thường không sốt.

Triệu chứng cận lâm sàng chủ yếu là biểu hiện giảm tiểu cầu. Triệu chứng X quang nghèo nàn.

Trẻ thường bị nhiễm nấm sau 3 tuần điều trị trong bệnh viện. Vị trí nhiễm nấm chủ yếu là nấm máu.

Candida albicans là chủng nấm gây bệnh chủ yếu. Có thể có các chủng loại nấm gây bệnh khác tùy theo thời gian.

Candida albicans vẫn còn nhạy cảm với hầu hết các loại thuốc điều trị nấm, tỷ lệ kháng của *Candida albicans* với fluconazole và amphotericin B là rất thấp.

Candida parapsilosis kháng fluconazole với tỷ lệ khá cao (40%) và vẫn nhạy cảm tốt với các nhóm thuốc điều trị nấm khác.

Candida haemulonii kháng hoàn toàn với fluconazole và amphotericin B.

Candida pelliculosa kháng hầu hết với fluconazole và vẫn nhạy cảm với các thuốc điều trị nấm còn lại.

Candida guilliermondii kháng hoàn toàn với fluconazole.

Candida tropicalis và *Candida krusei* đều kháng với fluconazole.

Tuy nhiên, do số lượng bệnh nhân ít, chúng tôi thấy cần có những thống kê với số lượng bệnh nhân lớn hơn để có thể đánh giá tốt tình trạng đáp ứng với thuốc kháng nấm của các chủng nấm gây bệnh.

Tỷ lệ tử vong rất cao, ở giai đoạn 1 của nghiên cứu tỷ lệ tử vong là 42,9%, ở giai đoạn 2 của nghiên cứu tỷ lệ tử vong ở nhóm điều trị dự phòng fluconazole thấp hơn nhóm chứng.

2. ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ DỰ PHÒNG NẤM CỦA FLUCONAZOLE TRÊN TRẺ ĐỂ NON

Điều trị dự phòng nhiễm nấm bằng fluconazole có hiệu quả tốt đối với trẻ sơ sinh có cân nặng < 1500gr.

KIẾN NGHỊ

1. Triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng của nhiễm nấm ở trẻ sơ sinh rất khó phân biệt với các nhiễm khuẩn khác, do đó cần làm các xét nghiệm vi sinh sớm như cấy máu, cấy dịch phế quản để kịp thời chẩn đoán xác định nhiễm trùng do nấm.
2. Khuyến cáo điều trị dự phòng bằng fluconazole với liều 6mg/kg/48h cho các trẻ sơ sinh cân nặng < 1500gr có các can thiệp xâm lấn để làm giảm nguy cơ nhiễm nấm. Thời gian bắt đầu điều trị dự phòng khi trẻ nằm điều trị 2 tuần trong bệnh viện.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Thái Bằng Giang, Khu Thị Khánh Dung (2018). “Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng nhiễm trùng do nấm ở trẻ sơ sinh điều trị tại Khoa Sơ sinh Bệnh viện Nhi trung ương từ tháng 02/2016 - 02/2017”. *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, Phụ bản tập 22, số 4 năm 2018, trang 77-85.
2. Thái Bằng Giang, Khu Thị Khánh Dung (2020). “Đánh giá hiệu quả điều trị dự phòng nấm bằng fluconazole trên trẻ đẻ non”. *Tạp chí Y học thực hành* (1126), số 2/2020, trang 72-75.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn da liễu (2004). Vị trí, cấu tạo, hình dạng của nấm, Bệnh nấm y học, *Học viện quân y, NXB quân đội nhân dân*, 17-21.
2. Hawksworth DL (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research* 105, 1422–1432.
3. Kirk PM, Cannon PF, David JC & Stalpers JA (2001). Ainsworth & Bisby's *Dictionary of the Fungi*, 9th Edition.
4. Jim Deacon (2006). *Fungal Biology 4th edition*, Blackwell Publishing Ltd; 1-15.
5. Dismukes, William E, Pappas, Peter G. Sobel, Jack D. *Clinical Mycology*. Published by Oxford University Press, Inc. 23-30.
6. Nguyễn Thị Minh Tâm, Phạm Hoàng Thế, Phạm Trí Tuệ và cộng sự (2001). *Nấm ký sinh, Sách giáo khoa Ký sinh trùng Y học*, Bộ môn ký sinh trùng Y học, Trường Đại học Y Hà Nội, NXB Y học, 317 - 342
7. Phạm Trí Tuệ (2001). *Đặc điểm sinh học và tác hại của nấm ký sinh, Ký sinh trùng Y học*, Nhà xuất bản y học, Hà Nội.
8. Rabalais G.P et al (1996). Invasive candidiasis in infants weighing more than 2500 grams at birth admitted to a neonatal intensive care unit. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 15(4): p. 348-352.
9. Makhoul I.R, et al (2001). Review of 49 neonates with acquired fungal sepsis: Further characterization. *Pediatrics*, 107(1): p. 61-66.
10. El-Masry FAY, Neal TJ, Subhedar NV (2002). Risk factors for invasive fungal infection in neonates. *Acta Pædiatr*; 91: 198–202. Stockholm. ISSN 0803-5253
11. Montagna MT, Lovero G, De Giglio O, Iatta R, Caggiano G, Montagna O, Laforgia N; AURORA Project Group (2010). Invasive fungal infections in neonatal intensive care units of Southern Italy: a multicentre regional active surveillance (AURORA project). *J Prev Med Hyg*. 51(3):125-30.

12. Barton M, et al (2014). Invasive candidiasis in low birth weight preterm infants: risk factors, clinical course and outcome in a prospective multicenter study of cases and their matched controls. *Bmc Infectious Diseases*. 14: p. 10.
13. Brissaud O, O. Tandonnet, and J. Guichoux (2011). Invasive candidiasis in neonatal intensive care units. *Arch Pediatr*.
14. Oeser C et al (2014). Neonatal invasive fungal infection in England 2004-2010. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(9): p. 936-941.
15. Xia H.P et al (2014). Invasive Candidiasis In Preterm Neonates In China A Retrospective Study From 11 Nicus During 2009-2011. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 33(1): p. 106-109.
16. Femitha P, Rojo Joy, Adhisivam B, Vishnu Bhat B, Prasad K, Bahubali D Gane,Rakesh Singh (2013). Candidemia in neonatal ICU- experience from a tertiary care hospital. *Curr Pediatr Res*; 17 (1): 44-48.
17. Lourdes das Neves Miranda et al (2012). Candida parapsilosis candidaemia in a neonatal unit over 7 years: a case series study. *BMJ Open*; 0:e000992
18. Andreas H. Groll, Gudrun Jaeger et al (1998). Invasive Pulmonary Aspergillosis in a Critically Ill Neonate: Case Report and Review of Invasive Aspergillosis During the First 3 Months of Life. *Clinical Infectious Diseases*; 27:437-52
19. S. J. Taj-Aldeen, S. H. Doiphode, X. Y. Han (2006). Kodamaea (Pichia) ohmeri fungaemia in a premature neonate. *Journal of Medical Microbiology* 55, 237-239
20. E. Roilides, T. E. Zaoutis và T. J. Walsh (2009). Invasive zygomycosis in neonates and children. *Clin Microbiol Infect*. 15 (Suppl. 5): 50-54
21. NouraAl-Sweih, SuhailAhmad, LeenaJoseph, SeemaKhan, ZiauddinKhan (2014). Malassezia pachydermatis fungemia in a preterm neonate resistant to fluconazole and flucytosine. *Medical Mycology CaseReports* 59-11

22. Dương Tấn Hải, Nguyễn Thị Thanh Lan, Huỳnh Thị Duy Hương (2007). Đặc điểm nhiễm nấm Candida huyết ở trẻ sơ sinh tại Bệnh viện Nhi đồng 2 từ tháng 10/2004 đến tháng 12/ 2005. *Tạp chí y học Thành phố Hồ Chí Minh*, tập 11, số 1.
23. Nelson textbook of Pediatrics, 20th Edition, 2015; 910-911
24. David Kaufman, Karen D. Fairchild (2004). Clinical Microbiology of Bacterial and Fungal Sepsis in Very-Low-Birth-Weight Infants. *Clin Microbiol Rev.* 2004 Jul; 17(3): 638–680.
25. Chitnis AS; Magill SS; Edwards JR; Chiller TM; Fridkin SK; Lessa FC (2012). Trends in Candida central line-associated bloodstream infections among NICUs, 1999-2009. *Pediatrics.* 2012; 130(1):e46-52
26. Friedman S, Richardson SE, Jacobs SE, et al (2000). Systemic Candida infection in extremely low birth weight infants: short term morbidity and long term neurodevelopmental outcome. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19:499–504.
27. Cotten CM, McDonald S, Stoll B, et al (2006). The association of third-generation cephalosporin use and invasive candidiasis in extremely low birth-weight infants. *Pediatrics* 2006; 118: 717–722.
28. Fernandez M, Moylett EH, Noyola DE, Baker CJ (2000). Candidal meningitis in neonates: a 10-year review. *Clin Infect Dis.* 2000; 31:458–463.
29. Peter G. Pappas, Carol A. Kauffman, et al (2016). Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases.* 11-14
30. C Scazzocchio (2009). Fungi Aspergillus: A Multifaceted Genus. *Encyclopedia of Microbiology* 2009; 401-421
31. Herbrecht R; Denning DW; Patterson TF et al (2002). Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med.* 2002; 347(6):408-15

32. Maertens J; Raad I; Petrikos G et al (2004). Efficacy and safety of caspofungin for treatment of invasive aspergillosis in patients refractory to or intolerant of conventional antifungal therapy. *Clin Infect Dis*. 2004; 39(11):1563-71.
33. Kontoyiannis DP et al (2003). Efficacy and toxicity of caspofungin in combination with liposomal amphotericin B as primary or salvage treatment of invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies. *Cancer*. 2003; 98(2):292-9
34. Bedin Denardi L et al (2018). Evaluation of the efficacy of a posaconazole and anidulafungin combination in a murine model of pulmonary aspergillosis due to infection with *Aspergillus fumigatus*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018; 90(1):40-43
35. Gluck J L, Myers J P, Pass L M (1987). Cryptococemia due to *Cryptococcus albidus*. *South Med J* 80, 1987:511–513
36. Johnson L B, Bradley S F, Kauffman C A (1998). Fungaemia due to *Cryptococcus laurentii* and a review of non-neoformans cryptococcaemia. *Mycoses* 41: 277–280, 1998
37. Deepti Rawat, M. D. Mathur, Ravinder Kaur & Nalini Mittal (2002) Cryptococcal Meningitis in a Neonate, *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 34:7, 542-543
38. Nakwan N, Ngermcham S, Srisuparp P, Lapphra K, Chokephaibulkit K (2008). *Cryptococcus neoformans* septicemia in an immunocompetent neonate: first case report in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2008 Jul;39(4):697-700
39. Perfect JR1, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, Harrison TS, Larsen RA, Lortholary O, Nguyen MH, Pappas PG, Powderly WG, Singh N, Sobel JD, Sorrell TC. Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2010 Feb 1; 50(3): 291–322.

40. Rosalba Vivas et al (2016). Fungemia due to *Kodamaea ohmeri* in a young infant and review of the literature. *Med Mycol Case Rep.* 2016 Sep; 13: 5–8
41. Woodward A, McTigue C, Hogg G, Watkins A, Tan H (1992). Mucormycosis of the neonatal gut: a ‘new’ disease or a variant of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 1992; 27: 737–740.
42. Aspiroz C, Ara M, Varea M, et al (2002). Isolation of *Malassezia globosa* and *M. sympodialis* from patients with pityriasis versicolor in Spain. *Mycopathologia* 154:111-117, 2002
43. Gupta K, Kohli Y, Summerbell RC, Faergemann J (2001). Quantitative culture of *Malassezia* species from different body sites of individuals with or without dermatoses. *Med Mycol* 39:243-251, 2001
44. Chrysanthou E, Broberger U, Petrini B (2001). *Malassezia pachydermatis* fungaemia in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr* 90:323-327, 2001
45. Schmidt A, Rühl-Hörster B (1996). In vitro susceptibility of *Malassezia furfur* against azole compounds. *Mycoses* 39:309-319, 1996
46. Odds FC, Brown AJP, Gow NAR. Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends Microbiol* 2003;11(6):272-279
47. Mann PA, Parmegiani RM, Wei SQ, et al (2003). Mutations in *Aspergillus fumigatus* resulting in reduced susceptibility to posaconazole appear to be restricted to a single amino acid in the cytochrome p450 14 alpha-demethylase. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(2):577-581
48. Mellado E, Garcia-Effron G, Alcazar-Fuoli L, et al (2004). Substitutions at methionine 220 in the 14alpha-sterol demethylase (Cyp51A) of *Aspergillus fumigatus* are responsible for resistance in vitro to azole antifungal drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(7):2747-2750.

49. Kontoyiannis DP, Lewis RE (2002). Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. *Lancet*. 2002;359(9312):1135-1144.
50. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, et al (2005). *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol*. 2008;46(2):515-521.
51. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, et al (2009). Variation in susceptibility of bloodstream isolates of *Candida Glabrata* to fluconazole according to patient age and geographic location in the United States in 2001 to 2007. *J Clin Microbiol* . 2009;47(10):3185-3190.
52. Vogelsinger H, Weiler S, Djanani A, et al (2006). Amphotericin B tissue distribution in autopsy material after treatment with liposomal amphotericin B and amphotericin B colloidal dispersion. *J Antimicrob Chemother* 2006;57(6):1153–60.
53. Bekersky I, Fielding RM, Dressler DE, et al (2002). Pharmacokinetics, excretion, and mass balance of liposomal amphotericin B (AmBisome) and amphotericin B deoxycholate in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(3):828–33.
54. Ostrosky-Zeichner L, Marr KA, Rex JH, et al (2003). Amphotericin B: time for a new “gold standard”. *Clin Infect Dis* 2003;37(3):415–25.
55. Hamill RJ (2013). Amphotericin B formulations: a comparative review of efficacy and toxicity. *Drugs* 2013;73(9):919–34.
56. Bates DW, Su L, Yu DT, et al (2001). Mortality and costs of acute renal failure associated with amphotericin B therapy. *Clin Infect Dis* 2001;32(5):686–93.
57. Linder N, Klinger G, Shalit I, et al (2003). Treatment of Candidaemia in premature infants: comparison of three amphotericin B preparations. *J Antimicrob Chemother* 2003;52(4):663–7.

58. Wheat LJ, Freifeld AG, Kleiman MB, et al (2007). Clinical practice guidelines for the management of patients with histoplasmosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2007;45(7):807–25.
59. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, et al (2010). Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2010;50(3):291–322.
60. Cousin L, Berre ML, Launay-Vacher V, et al (2003). Dosing guidelines for fluconazole in patients with renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(11):2227–31.
61. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, et al (2004). In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4,169 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004;48(3): 201–5.
62. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, et al (2003). In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and four licensed systemic antifungal agents against *Candida* species infrequently isolated from blood. *J Clin Microbiol* 2003;41(1):78–83.
63. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, et al (2005). Global trends in the antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans* (1990 to 2004). *J Clin Microbiol* 2005;43(5): 2163–7.
64. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, et al (2001). In vitro activities of posaconazole (Sch 56592) compared with those of itraconazole and fluconazole against 3,685 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(10):2862–4.

65. Sabatelli F, Patel R, Mann PA, et al (2006). In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(6):2009–15.
66. Almyroudis NG, Sutton DA, Fothergill AW, et al (2007). In vitro susceptibilities of 217 clinical isolates of zygomycetes to conventional and new antifungal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(7):2587–90.
67. Gonzalez GM, Fothergill AW, Sutton DA, et al (2005). In vitro activities of new and established triazoles against opportunistic filamentous and dimorphic fungi. *Med Mycol* 2005;43(3):281–4.
68. Kevin Turner, MD, Paolo Manzoni, MD, et al (2012). Fluconazole pharmacokinetics and safety in premature infants. *Curr Med Chem* . 2012; 19(27): 4617–4620
69. Healy CM, Baker CJ, Zaccaria E, et al (2005). Impact of fluconazole prophylaxis on incidence and outcome of invasive candidiasis in a neonatal intensive care unit. *J Pediatr*. 2005;147:166–171.
70. Weitkamp, J.H et al (2008), Fluconazole prophylaxis for prevention of invasive fungal infections in targeted highest risk preterm infants limits drug exposure. *Journal of Perinatology*, 2008. 28(6): p. 405-411.
71. Rolnitsky, A et al (2012). Targeted fluconazole prophylaxis for high-risk very low birth weight infants. *European Journal of Pediatrics*, 2012. 171(10): p. 1481-1487.
72. Kaufman, D et al (2001). Fluconazole prophylaxis against fungal colonization and infection in preterm infants. *New England Journal of Medicine*, 2001. 345(23): p. 1660-1666.
73. McCrossan B.A, et al (2007). Selective fluconazole prophylaxis invasive fungal infection in high-risk babies to reduce. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 2007. 92(6): p. 454-458.

74. Paolo Manzoni M.D, et al (2007). A Multicenter, Randomized Trial of Prophylactic Fluconazole in Preterm Neonates. *N Engl J Med* 2007; 356:2483-2495.
75. Jessica E. Ericson, et al (2016). Fluconazole Prophylaxis for the Prevention of Candidiasis in Premature Infants: A Meta-analysis Using Patient-level Data. *Clin Infect Dis*. 2016 Sep 1;63(5):604-10.
76. Leonart LP, et al (2017). Fluconazole Doses Used for Prophylaxis of Invasive Fungal Infection in Neonatal Intensive Care Units: A Network Meta-Analysis. *J Pediatr*. 2017 Jun;185:129-135.
77. Kirpal H, Gathwala G, et al (2016). Prophylactic fluconazole in very low birth weight infants admitted to neonatal intensive care unit: randomized controlled trial. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;29(4):624-8
78. W. W. Hope et al (2012). ESCMID* guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: prevention and management of invasive infections in neonates and children caused by Candida spp. *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 18 Supplement 7, December 2012.
79. Peter G. Pappas et al (2016). Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. February 2016.
80. Farmaki E, Evdoridou J, Pouliou T, et al (2007). Fungal colonization in the neonatal intensive care unit: risk factors, drug susceptibility, and association with invasive fungal infections. *Am J Perinatol* 24:127, 2007.
81. Clerihew L, Lamagni TL, Brocklehurst P, McGuire W (2006). Invasive fungal infection in very low birthweight infants: national prospective surveillance study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2006 May;91(3):F188-92

82. Jinjian Fu et al (2017). Epidemiology of *Candida albicans* and non-*C.albicans* of neonatal candidemia at a tertiary care hospital in western China. *BMC Infect Dis.* 2017 May 6;17(1):329
83. Dolors Rodriguez et al (2006). Candidemia in Neonatal Intensive Care Units. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 25(3):224-9.
84. Jessica E. Ericson, Daniel K. Benjamin Jr. (2020) Fungal Infections - *Candida*. *Nelson's Textbook of Pediatrics* - 21st edition, 6601-6607.
85. David L. Goldman (2020) Fungal Infections - *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. *Nelson's Textbook of Pediatrics* - 21st edition, 6616 - 6625.
86. Poojary A, Sapre G (2009). *Kodamaea ohmeri* infection in a neonate. *Indian Pediatr.* 46(7):629-31.
87. Spiliopoulou A et al (2012). Neonatal intensive care unit candidemia: epidemiology, risk factors, outcome, and critical review of published case series. *Mycopathologia.* 173(4):219-28.
88. Torres Claveras S, Dupla Arenaz M et al (2007). Nosocomial *Candida* infections and thrombocytopenia in very low birth weight newborns. *An Pediatr (Barc).* 67(6):544-7.
89. ZHANG Xin, RU Xi-fang et al (2017). Clinical characteristics of neonatal fungal sepsis in neonatal intensive care unit. *Journal of Peking University(Health Sciences)*, Vol. 49, Issue (5): 789-793.
90. Yu-Chen Yang & Jian Mao (2017). Value of platelet count in the early diagnosis of nosocomial invasive fungal infections in premature infants. *Platelets* 29(4):1- 6.
91. Nora Hofer, Eva Zacharias, Wilhelm Müller, Bernhard Resch (2012). An Update on the Use of C-Reactive Protein in Early-Onset Neonatal Sepsis: Current Insights and New Tasks. *Neonatology* 2012;102:25–36.

92. Jan Hau Lee et al (2013). Risk Factors for Invasive Candidiasis in Infants >1500 g Birth Weight. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Mar; 32(3): 222–226.
93. Saiman L, Ludington E et al (2000). Risk factors for candidemia in Neonatal Intensive Care Unit patients. *Pediatr Infect Dis J*. 2000 Apr;19(4):319-24.
94. Swanson JR, Gurka MJ, Kaufman DA (2014). Risk Factors for Invasive Fungal Infection in Premature Infants: Enhancing a Targeted Prevention Approach. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2014 Mar;3(1):49-56.
95. Manzoni P et al (2006). Risk factors for progression to invasive fungal infection in preterm neonates with fungal colonization. *Pediatrics*. 2006 Dec;118(6):2359-64.
96. Garzillo C, Bagattini M et al (2012). Risk factors for Candida parapsilosis bloodstream infection in a neonatal intensive care unit: a case-control study. *Ital J Pediatr*. 2017 Jan 19;43(1):10.
97. L Clerihew, T L Lamagni, P Brocklehurst, and W McGuire (2007). Candida parapsilosis infection in very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2007 Mar; 92(2): F127–F129.
98. Giuseppina Caggiano et al (2017). Candidemia in the Neonatal Intensive Care Unit: A Retrospective, Observational Survey and Analysis of Literature Data. *Biomed Res Int*. 2017; 2017: 7901763.
99. Asifa Nazir and Talat Masoodi (2018). Spectrum of candidal species isolated from neonates admitted in an Intensive Care Unit of teaching hospital of Kashmir, North India. *J Lab Physicians*. 2018 Jul-Sep; 10(3): 255–259.
100. Sriparna Basu et al (2017). Candida Blood Stream Infection in Neonates: Experience from A Tertiary Care Teaching Hospital of Central India. *Indian Pediatr*. 2017 Jul 15;54(7):556-559.

101. Emmanuel Roilides et al (2003). *Candida tropicalis* in a Neonatal Intensive Care Unit: Epidemiologic and Molecular Analysis of an Outbreak of Infection with an Uncommon Neonatal Pathogen. *J Clin Microbiol.* 2003 Feb; 41(2): 735–741.
102. Carolina Maria da Silva et al (2012). Fungemia by *Candida pelliculosa* (*Pichia anomala*) in a Neonatal Intensive Care Unit: A Possible Clonal Origin. *Mycopathologia* (2013) 175:175–179.
103. Chakrabarti A et al (2001). Outbreak of *Pichia anomala* infection in the pediatric service of a tertiary-care center in Northern India. *J Clin Microbiol.* 2001;9:1702–6.
104. Selma Amaral-Lopesa and Andressa Moura (2012). Neonatal fungal sepsis by *Candida krusei*: A report of three cases and a literature review. *Med Mycol Case Rep.* 2012; 1(1): 24–26.
105. Poojary A, Sapre G (2009). *Kodamaea ohmeri* infection in a neonate. *Indian Pediatr.* 2009 Jul;46(7):629-31.
106. Ponnusamy S Sundaram et al (2011). *Kodamaea ohmeri* tricuspid valve endocarditis with right ventricular inflow obstruction in a neonate with structurally normal heart. *Ann Pediatr Cardiol.* 2011 Jan-Jun; 4(1): 77–80.
107. Kooshki P, Rezaei-Matehkolaei A, Mahmoudabadi AZ (2018). The patterns of colonization and antifungal susceptibility of *Candida*, isolated from preterm neonates in Khorramabad, South West of Iran. *J Mycol Med.* 2018 Jun;28(2):340-344.
108. Jen-Fu Hsu et al (2018). Comparison of the incidence, clinical features and outcomes of invasive candidiasis in children and neonates. *BMC Infect Dis.* 2018 Apr 24;18(1):194
109. Kaitlin Benedict et al (2018). Neonatal and Pediatric Candidemia: Results From Population-Based Active Laboratory Surveillance in Four US Locations, 2009–2015. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2018 Aug 17;7(3):e78-e85.

110. Carmine Garzillo et al (2017). Risk factors for *Candida parapsilosis* bloodstream infection in a neonatal intensive care unit: a case-control study. *Italian Journal of Pediatrics* (2017) 43:10.
111. Jinjian Fu et al (2018). Persistent candidemia in very low birth weight neonates: risk factors and clinical significance. *BMC Infectious Diseases* (2018) 18:558.
112. Ejaz Ahmed Khan et al (2015). Clinical spectrum, management and outcome of neonatal candidiasis. *J Pak Med Assoc.* 2015 Nov;65(11):1206-9.
113. Elizabeth Caparó Ingrama et al (2019). Risk factors and lethality associated with Neonatal Candidemia in a neonatal unit. *Rev Chil Pediatr.* 2019 Apr;90(2):186-193.
114. Benjamin DK Jr et al (2014). Effect of fluconazole prophylaxis on candidiasis and mortality in premature infants: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2014 May 7;311(17):1742-9.
115. Juyoung Lee et al (2016). Efficacy and safety of fluconazole prophylaxis in extremely low birth weight infants: multicenter pre-post cohort study. *BMC Pediatrics* (2016) 16:67 Page 2 of 9.
116. Silva-Rios J, Camargos P, Correa L, Romanelli R (2019). Prophylactic regimens with fluconazole for candidiasis in neonates under 1.500g: A retrospective chart review of two cohorts. *J Neonatal Perinatal Med.* 2019;12(1):29-36.
117. Martina Luparia et al (2019). Fungal Ecology in a Tertiary Neonatal Intensive Care Unit after 16 Years of Routine Fluconazole Prophylaxis: No Emergence of Native Fluconazole-Resistant Strains. *Am J Perinatol* 2019;36(suppl S2):S126–S133.

118. Datian Che et al (2016). Duration and intensity of fluconazole for prophylaxis in preterm neonates: a metaanalysis of randomized controlled trials. *BMC Infectious Diseases* (2016) 16:312.
119. Zia U. Khan et al (2007). Outbreak of Fungemia among Neonates Caused by *Candida haemulonii* Resistant to Amphotericin B, Itraconazole, and Fluconazole. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, June 2007, p. 2025–2027.
120. Carolina M. Silva et al (2015). Neonatal Candidemia Caused by *Candida haemulonii*: Case Report and Review of Literature. *Mycopathologia*. 2015 Aug;180(1-2):69-73.
121. Xia FQ, Ye CY et al (2018). Successful fluconazole treatment of catheter-related candidemia caused by *Candida haemulonii*: report of 2 neonatal cases. *Arch Argent Pediatr*. 2018 Oct 1;116(5):e663-e666.