

Tỷ lệ nhiễm lao tiềm ẩn tại Bệnh viện Phổi Đà Nẵng và sự hiểu biết mới về cơ chế miễn dịch

Latent tuberculosis infection rate at Da Nang Lung Hospital and new insights into immunological mechanisms

Đinh Phong Sơn^{a*}, Nguyễn Thị Thanh Yên^b, Trần Văn Tuấn^b, Ngô Thanh Sang^b,
Trần Châu Mỹ Thanh^c, Nguyễn Đình Minh Quân^a, Phạm Hạ Uyên^a
Đinh Phong Sơn^a, Nguyễn Thị Thanh Yên^b, Trần Văn Tuấn^b, Ngô Thanh Sang^b,
Trần Châu Mỹ Thanh^c, Nguyễn Đình Minh Quân^a, Phạm Hạ Uyên^a

^aTrung tâm Sinh học phân tử, Khối Y Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

^aCenter for Molecular Biology, Medicine & Pharmacy Division, Duy Tan University, Da Nang, 550000, Viet Nam

^bKhoa Xét nghiệm, Bệnh viện Phổi Đà Nẵng, Đà Nẵng, Việt Nam

^bDepartment of Laboratory, Da Nang Lung Hospital, Da Nang, 550000, Viet Nam

^cKhoa Y, Khối Y Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

^cFaculty of Medicine, Medicine & Pharmacy Division, Duy Tan University, Da Nang, 550000, Viet Nam

(Ngày nhận bài: 16/11/2024, ngày phản biện xong: 07/02/2025, ngày chấp nhận đăng: 12/03/2025)

Tóm tắt

Bệnh lao là mối quan tâm lớn về sức khỏe toàn cầu, với quá trình chuyển đổi từ lao tiềm ẩn sang lao hoạt động vẫn chưa được hiểu rõ. Do đó, việc cải thiện các chiến lược quản lý và phòng ngừa lâm sàng đối với bệnh lao là điều cần thiết. Nghiên cứu này sử dụng y học chính xác để phân tích các đặc điểm của bệnh lao tiềm ẩn ở Việt Nam, dựa trên phiếu điều tra nghiên cứu của 1.073 cá nhân tại Bệnh viện Phổi Đà Nẵng năm 2023. Dữ liệu giải trình tự thông lượng cao của gen từ những cá nhân ở các giai đoạn lao khác nhau được lấy từ NCBI. Phân tích biểu hiện khác biệt được thực hiện bằng gói phần mềm R limma, cùng với phân tích GO. Chẩn đoán lâm sàng tại Đà Nẵng năm 2023 xác định tỷ lệ phát hiện bệnh lao tiềm ẩn là 19,7%. Chúng tôi đã quan sát thấy mối liên quan đáng kể giữa bệnh lao tiềm ẩn và các yếu tố nguy cơ như tuổi tác và bệnh tiểu đường. Cuối cùng, chúng tôi đã sàng lọc các gen chính được dự đoán trong giai đoạn chuyển đổi từ bệnh lao tiềm ẩn sang bệnh lao hoạt động chủ yếu liên quan đến quá trình sinh hóa và miễn dịch tế bào. Kết quả nghiên cứu không những thúc đẩy sự hiểu biết về bệnh lao tiềm ẩn và xác định các gen là các dấu ấn sinh học tiềm năng để chẩn đoán, theo dõi và điều trị, mà còn mở ra hướng nghiên cứu mới cho những nhà khoa học trong tương lai khi tiếp cận với những căn bệnh phức tạp khác.

Từ khóa: Việt Nam; dấu ấn sinh học; bệnh lao tiềm ẩn; tin sinh học; sinh thiết lỏng.

Abstract

Tuberculosis (TB) is a major global health concern, with the transition from latent TB to active TB still not fully understood. Therefore, it is essential to improve clinical management and prevention strategies for TB. This study uses precision medicine to analyze the characteristics of latent TB (LTB) in Vietnam, based on the research surveys of 1,073 individuals at Da Nang Lung Hospital in 2023. High-throughput sequencing data of genes from individuals at different stages of TB were obtained from NCBI. Differential expression analysis was performed using the R limma package, along

*Tác giả liên hệ: Đinh Phong Sơn

Email: dinhphongsong@dtu.edu.vn

with GO analysis. Clinical diagnosis in Da Nang in 2023 identified the latent TB detection rate as 19.7%. We observed a significant correlation between LTB and risk factors such as age and diabetes. Finally, we screened key genes predicted to be involved in the transition from LTB to active TB, primarily related to biochemical processes and cellular immunity. The study results not only advance the understanding of LTB and identify genes as potential biomarkers for diagnosis, monitoring, and treatment but also open up new research directions for future scientists when approaching other complex diseases.

Keywords: Vietnam; biomarkers; latent tuberculosis; bioinformatics; liquid biopsy.

1. Tổng quan

Bệnh lao (Tuberculosis, TB) là bệnh nhiễm trùng, được xem là nguyên nhân chính gây tử vong trên thế giới [1]. Bệnh được xếp thứ 13 trong các tác nhân gây tử vong ở người và là tác nhân truyền nhiễm thứ 2 sau COVID-19, thậm chí còn cao hơn cả HIV/AIDS [2]. Việt Nam là một trong những quốc gia có tỷ lệ mắc TB cao và là một trong 30 quốc gia có tỷ lệ TB đa kháng thuốc cao nhất trên thế giới. Năm 2021, có hơn 172.000 bệnh nhân lao và 10.400 người tử vong do TB [2].

TB có thể tồn tại ở hai trạng thái lâm sàng: lao tiềm ẩn (Latent tuberculosis, LTB) và lao hoạt động (active tuberculosis, ATB) [3]. Khoảng một phần tư dân số toàn cầu được coi là bị nhiễm LTB, nhưng các xét nghiệm chẩn đoán hiện tại không có khả năng xác định liệu những người đó có duy trì trạng thái LTB suốt đời hay tiến triển thành ATB. Khoảng 5-10% cá nhân LTB sẽ trở thành bệnh nhân ATB trong vòng năm năm đầu tiên mắc TB nếu không được điều trị [4]. Nguy cơ LTB trở thành ATB phụ thuộc vào tình trạng hệ thống miễn dịch của cơ thể [5], [6]. Trên thực tế, điều trị LTB sớm có lợi cho cả cá nhân và cộng đồng. Việc xác định các phản ứng miễn dịch liên quan đến LTB là rất quan trọng để hiểu lý do phần lớn người nhiễm lao có thể kiểm soát bệnh và duy trì ở giai đoạn tiềm ẩn, trong khi những người khác phát triển thành ATB. Phân tích dữ liệu giải trình tự các dấu ấn phân tử của máu toàn phần trong TB đã cho thấy giá trị chẩn đoán tiềm năng trong việc phân biệt ATB với các trường hợp LTB hoặc với nhóm đối chứng bình thường. Tuy nhiên, việc hiểu rõ loại phản ứng miễn dịch nào liên quan đến việc kiểm

soát LTB, vẫn là một thách thức [7]. Một số nghiên cứu nêu bật vai trò của tế bào T trong quá trình miễn dịch của cơ thể với TB [8]. Đặc biệt, vai trò của tế bào T với TB đã được chứng minh là rất quan trọng để bảo vệ cơ thể trong tình trạng nhiễm trùng tự nhiên và tiêm chủng [7, 9-11].

Trong số nhiều yếu tố liên quan đến LTB, tế bào đuôi gai (dendritic cell, DC) là một trong những thành phần quyết định của phản ứng miễn dịch bệnh lao [12]. Tuy nhiên, kiến thức hiện tại về vai trò của các thành phần đa dạng của DC ở người trong việc hình thành phản ứng tế bào T đặc hiệu trong giai đoạn tiềm ẩn còn hạn chế [13]. Khi so sánh sự biệt hóa của DC ở người ATB, LTB và người khỏe mạnh, các tác giả nhận thấy rằng DC của bệnh nhân LTB cao hơn đáng kể so với ATB, điều này cho thấy sự biệt hóa của DC bị suy yếu ở bệnh nhân ATB [13]. Ngoài ra, nghiên cứu cũng cho thấy sự kích hoạt chọn lọc của DC lưu hành ở bệnh nhân LTB. Bằng cách nghiên cứu cơ chế phân tử của những thay đổi trong quá trình biệt hóa, nhiều bằng chứng cho thấy các gen bị điều hòa giảm liên quan đến tín hiệu IFN- α/β (interferon- α/β), sự trưởng thành của DC, trình bày kháng nguyên cũng như sự biểu hiện tăng của DC tiếp xúc với Mtb (*Mycobacterium tuberculosis*). Điều này nhấn mạnh mối liên quan giữa thay đổi của DC ở bệnh nhân ATB và những thay đổi đáng chú ý trong các tín hiệu phân tử liên quan đến IFN- α truyền đạt trình bày kháng nguyên cũng như tạo ra phản ứng tế bào T đặc hiệu với kháng nguyên. Những dữ liệu này làm sáng tỏ vai trò không thể thiếu của IFN- α trong việc xác định sự cảm ứng miễn dịch đặc hiệu với Mtb, điều này rất cần thiết để kiểm soát nhiễm trùng Mtb [13]. Mặt khác, Mtb

cũng đã phát triển các cơ chế chuyên biệt để ký sinh vào các tế bào đại thực bào. Các cơ chế đó bao gồm việc tạo ra nhiều chất chống oxy hóa được điều chỉnh bởi yếu tố phiên mã SigH [14], sự can thiệp vào quá trình hợp nhất thực bào-lysosome và quá trình axit hóa [15, 16] và sản xuất IFN-gamma (IFN- γ) [17].

Theo hiểu biết của chúng tôi, không có xét nghiệm “tiêu chuẩn vàng” nào để chẩn đoán bệnh LTb. Hai xét nghiệm truyền thống được WHO khuyến nghị để chẩn đoán TB là xét nghiệm da Mantoux Tuberculin (xét nghiệm TST hoặc Mantoux) và xét nghiệm giải phóng gamma Interferon (Interferon Gamma Release Assay, IGRA) [18, 19]. Tuy nhiên, cả hai xét nghiệm, TST và IGRA, đều có hạn chế trong việc dự đoán khả năng những người mắc bệnh LTb trở thành bệnh nhân ATb. Ngoài ra, kết quả dương tính giả của TST có thể xảy ra do phản ứng miễn dịch chéo với kháng nguyên là *Mycobacteria* không điển hình (*Nontuberculous mycobacteria*) hoặc vắc-xin Bacille Calmette-Guerin (BCG), trừ khi người làm xét nghiệm đã tiêm vắc-xin BCG trong hơn 10 năm [20]. IGRA có độ đặc hiệu cao hơn và tỷ lệ dương tính giả thấp hơn TST nhưng không khuyến khích áp dụng ở các quốc gia có thu nhập thấp và trung bình do chi phí cao [21]. Gần đây, Xpert MTb/RIF và Xpert Ultra được đưa vào hướng dẫn của WHO như các xét nghiệm ban đầu để chẩn đoán TB [22]. Các xét nghiệm này cho phép các bác sĩ lâm sàng chẩn đoán nhanh sự tồn tại của Mtb trong đờm của bệnh nhân với chi phí thấp bằng cách sử dụng PCR thời gian thực và cũng phát hiện sự hiện diện của Mtb kháng rifampicin. Tuy nhiên, các xét nghiệm này không được thiết kế để dự đoán nguy cơ tiến triển từ LTb thành ATb [23]. Do đó, mục tiêu nghiên cứu này nhằm xác định tỷ lệ và một số yếu tố liên quan đến LTb tại Bệnh viện Phổi Đà Nẵng, và mô tả tình trạng thay đổi biểu hiện của các dấu ấn sinh học gen trong giai đoạn chuyển đổi từ LTb sang ATb. Trong nghiên cứu này,

trước tiên chúng tôi xác định tỷ lệ LTb của một cộng đồng địa phương tại Việt Nam, một quốc gia có gánh nặng bệnh lao cao, từ đó thiết kế một quần thể nghiên cứu phù hợp. Tiếp theo, các tập dữ liệu GSE thu thập được từ NCBI sẽ được phân tích để mô tả biểu hiện của các gen liên quan đến phản ứng miễn dịch của nhóm chứng khỏe mạnh (Healthy Control, HC), LTb và ATb. Kể từ đó, chúng tôi kỳ vọng kết quả nghiên cứu sẽ giúp hiểu rõ hơn về cơ chế phân tử đồng thời với những hiểu biết về biểu hiện trên lâm sàng ở bệnh nhân, điều không thể đạt được bằng các phương pháp xét nghiệm truyền thống.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu này sẽ được tiến hành theo 2 giai đoạn. Giai đoạn 1 là nghiên cứu cắt ngang nhằm xác định tỷ lệ mắc LTb tại Bệnh viện Phổi Đà Nẵng từ tháng 6/2023 đến tháng 6 năm 2024. Trong giai đoạn này, việc xác nhận ID của những người tham gia chương trình sàng lọc và lựa chọn những cá nhân đủ điều kiện tham gia nghiên cứu đã được tiến hành như các bước ban đầu. Hoàn thành bảng câu hỏi, xét nghiệm Mantoux và chẩn đoán lâm sàng đã được thực hiện tại Bệnh viện Phổi Đà Nẵng để loại trừ những cá nhân không đủ tiêu chuẩn. Dữ liệu đã được thu thập và phân tích sơ bộ. Đối với nghiên cứu này (theo quy định tại Quyết định 1313/QĐ-BYT ngày 24/3/2020 của Bộ Y tế (*Ban hành hướng dẫn phát hiện và điều trị lao tiềm ẩn*)) thì nhóm các cá nhân có các yếu tố nguy cơ cao bao gồm những người tiếp xúc với nguồn lây nhiễm (các thành viên gia đình sống cùng nhà với bệnh nhân ATb hoặc những người thuộc một trong các tình trạng sau: ngủ cùng nhà với bệnh nhân ATb ít nhất một đêm mỗi tuần trong ba tháng trước khi bệnh nhân được chẩn đoán mắc ATb, ở cùng nhà với những người mắc lao phổi ít nhất 1 giờ/ngày và liên tục 5 ngày/tuần trong 3 tháng trước khi chẩn đoán mắc lao phổi), người bị suy giảm miễn dịch do mắc các bệnh mạn tính (như

đái tháo đường, bệnh thận mạn tính). Tiêu chuẩn loại trừ là người nhiễm HIV, người đã hoặc đang mắc ATB, người có tiền sử dị ứng với xét nghiệm Mantoux, người không đồng ý tham gia nghiên cứu.

Giai đoạn 2 là nghiên cứu mở rộng bằng phương pháp tin sinh học nhằm hiểu hơn về cấp độ phân tử trong sự tiến triển của TB. Chúng tôi mong đợi có thể đưa ra được các dự đoán về các dấu ấn phân tử tiềm năng trong chẩn đoán LTB. Chúng tôi đã tiến hành phân tích dữ liệu về kết quả giải trình tự thông lượng cao từ các bộ số liệu thô được cung cấp bởi cơ sở dữ liệu Gene Expression Omnibus (GEO) thuộc Trung tâm Thông tin công nghệ sinh học của Thư viện Y khoa - Viện Y tế Quốc gia Hoa Kỳ bằng các kỹ thuật phân tích tin sinh học để xác định các gen có biểu hiện thay đổi khác biệt trong các tế bào miễn dịch của những cá nhân mắc LTB, để có cái nhìn mới về các thay đổi cơ chế phân tử ở bệnh nhân. Trong giai đoạn này, chúng tôi sẽ quan sát tình trạng thay đổi biểu hiện của các dấu ấn sinh học mRNA trên những cá nhân đã được chẩn đoán mắc LTB và bắt đầu phát triển các triệu chứng lâm sàng của ATB từ nguồn thông tin cơ sở dữ liệu giải trình tự gen do các nhà khoa học trên thế giới cung cấp. Hơn nữa, chúng tôi sẽ xác định các dấu ấn sinh học tiên lượng cho phép các bác sĩ lâm sàng dự đoán kết quả của các phương pháp điều trị lao, do đó cải thiện hiệu quả điều trị.

2.2. Phân tích tin sinh học về những thay đổi biểu hiện mRNA

Phân tích dữ liệu được thực hiện bằng phần mềm R phiên bản 4.1.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áo) (<http://www.R-project.org>), phần mềm Perl (<https://www.perl.org/>) và mã code phân tích. Giá trị ngưỡng $\text{LogFC} > 0,5$ và $p < 0,05$ đối với biểu hiện khác biệt của gen theo gói limma [26]. Dữ liệu để phân tích tin sinh học được lấy từ Trung tâm Thông tin công nghệ sinh học của

Thư viện Y khoa - Viện Y tế Quốc gia Hoa Kỳ (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Chúng tôi đã sử dụng từ khóa “Latent tuberculosis” để tìm kiếm các tập dữ liệu giải trình tự thông lượng cao có sẵn trên hệ thống. Tiêu chí để lựa chọn các tập dữ liệu là mRNA được phát hiện trong các tế bào miễn dịch, bao gồm tế bào DC, Bạch cầu mono (Monocytes) và tế bào đơn nhân máu ngoại vi (Peripheral blood mononuclear cell, PBMC). Mỗi tập dữ liệu GSE phải có hơn 3 mẫu máu từ nhóm HC, LTB và ATB.

2.3. Gene ontology (GO)

Chú thích chức năng gen GO hữu ích trong việc phân tích ý nghĩa chức năng của các gen biểu hiện khác biệt. Do đó, phân tích làm giàu GO có thể cung cấp thông tin về các con đường hoạt động có thể có của các gen mục tiêu liên quan đến tiến triển của TB. Gói “clusterProfiler” trong phần mềm R (Phiên bản 4.1.1) (<https://bioconductor.org/packages>) đã được sử dụng để phân tích GO [24]. Trong nghiên cứu này, ID của các gen liên quan đến LTB đã được chuyển đổi thành ID entrez để phân tích GO bằng phần mềm R và Perl để dự đoán một số khía cạnh như quá trình sinh học, thành phần tế bào, chức năng phân tử và suy ra vai trò chính của các gen đó trong sự xuất hiện và phát triển của LTB.

2.4. Tuyên bố đạo đức

Nghiên cứu đã được Hội đồng Đạo đức y sinh học của Bệnh viện Phổi Đà Nẵng chấp thuận (Số BVP-20231701). Các tập dữ liệu GSE thuộc về các tập dữ liệu công khai. Các nhà khoa học đóng góp vào cơ sở dữ liệu này đã nhận được sự chấp thuận về mặt đạo đức theo tuyên bố Helsinki.

2.5. Công cụ thu thập thông tin và phương pháp phân tích dữ liệu

Dữ liệu sơ bộ của chúng tôi đầu tiên được chọn từ thông tin được cung cấp trong bảng câu hỏi “Thu thập thông tin sàng lọc TB” và kết quả

chụp X-quang ngực, Mantoux TST [18, 19] và Gene Xpert [22]. Tiếp theo, dữ liệu được xác nhận ID, mã hóa và xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0. Tỷ lệ và mối quan hệ được tính toán và đánh giá bằng kiểm định Chi-square và hồi quy Logistic với $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa.

3. Kết quả

3.1. Tỷ lệ LTB trong các nhóm mục tiêu

TST bao gồm các kháng nguyên được nhận biết bởi một nhóm lớn các tế bào lympho T lưu hành. Khuyến cáo chung của Tổ chức Y tế Thế

giới (World Health Organization, WHO) là TST tiếp tục được sử dụng trong các bối cảnh TB lưu hành cao như một công cụ chẩn đoán để xác định LTB. Phân tích dữ liệu về tình trạng hiện tại của LTB và các yếu tố nguy cơ trên 1.073 người mắc bệnh mãn tính và một nhóm tiếp xúc hộ gia đình với bệnh nhân lao tại thành phố Đà Nẵng năm 2023 cho thấy 1.073 đối tượng đã được thực hiện TST (100 IU/mL) với 211 xét nghiệm dương tính (kích thước ngưỡng đường kính nốt sần > 5 mm) trong vòng 48-72 giờ (19,7%) (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả TST

TST	Số mẫu	Tỷ lệ %
Dương tính	211	19,7
Âm tính	862	80,3
Tổng số	1073	100

3.2. Các yếu tố liên quan đến tỷ lệ mắc LTB

Trong số các yếu tố nguy cơ được đề cập trong Bảng 2 và 3, độ tuổi trên độ tuổi lao động (trên 55 tuổi đối với nữ và trên 60 tuổi đối với nam) và tình trạng mắc bệnh đái tháo đường là các yếu tố liên quan chặt chẽ với sự xuất hiện của LTB với ý nghĩa thống kê (lần lượt là $p =$

0,014 và $p = 0,001$). Không có mối liên quan có ý nghĩa giữa tỷ lệ mắc LTB với các yếu tố khác, bao gồm những người tiếp xúc gần trong gia đình, những người mắc các bệnh mãn tính khác, có ảnh hưởng hoặc không ảnh hưởng đến hệ thống miễn dịch, những người có các triệu chứng lâm sàng liên quan đến bệnh lao như ho trên 2 tuần, v.v... ($p > 0,05$) (Bảng 2 và 3).

Bảng 2. Một số đặc điểm về giới tính và nhóm tuổi liên quan đến tỷ lệ mắc LTB.

Thông số		Xét nghiệm Mantoux (n = 1.073)		OR (95% CI)	p
		Dương tính (n,%)	Âm tính (n,%)		
Tuổi	Độ tuổi lao động (từ 15-55 tuổi đối với nữ và từ 15-60 tuổi đối với nam)	65 (6,1%)	196 (18,3%)	1,513 (1,085- 2,110)	0,014
	Quá độ tuổi lao động (trên 55 tuổi đối với nữ và trên 60 tuổi đối với nam)	146 (13,6%)	666 (62,1%)		
Giới tính	Nam	93 (8,7%)	338 (31,5%)	0,122 (0,901- 1,656)	0,196
	Nữ	118 (11,0%)	524 (48,8%)		

Bảng 3. Một số yếu tố nguy cơ liên quan đến tỷ lệ mắc LTĐ

Thông số		Xét nghiệm Mantoux (n = 1.073)		OR (95% CI)	P
		Dương tính (n,%)	Âm tính (n,%)		
Tiếp xúc với người mắc ATĐ	Có	53 (4,9%)	189 (17,6%)	1,194 (0,841-1,696)	0,320
	Không	158 (14,7%)	673 (62,7%)		
Mắc bệnh về đường hô hấp (ngoài bệnh lao) như hen suyễn, COPĐ	Có	13 (1,2%)	55 (5,1%)	0,963 (0,516-1,798)	0,907
	Không	198 (18,5%)	807 (75,2%)		
Tiền sử bệnh đái tháo đường	Có	87 (8,1%)	464 (43,2%)	0,602 (0,444-0,816)	0,001
	Không	124 (11,6%)	398 (37,1%)		
Tiền sử bệnh viêm xương khớp mãn tính	Có	62 (5,8%)	224 (20,9%)	1,185 (0,849-1,654)	0,317
	Không	149 (13,9%)	638 (59,5%)		
Tiền sử bệnh liên quan đến huyết áp	Có	94 (8,8%)	407 (37,9%)	0,898 (0,664-1,216)	0,487
	Không	117 (10,9%)	455 (42,4%)		
Tiền sử bệnh tim mạch	Có	13 (1,2%)	64 (6,0%)	0,819 (0,442-1,516)	0,524
	Không	198 (18,5%)	798 (74,4%)		
Tiền sử bệnh mãn tính khác ảnh hưởng đến hệ thống miễn dịch	Có	9 (0,8%)	40 (3,7%)	0,916 (0,437-1,918)	0,815
	Không	202 (18,8%)	822 (76,6%)		
Ho kéo dài hơn 2 tuần	Có	30 (2,8%)	95 (8,9%)	1,338 (0,861-2,080)	0,196
	Không	181 (16,9%)	767 (71,5%)		
Sụt cân, chán ăn, mệt mỏi	Có	1 (0,1%)	7 (0,7%)	0,582 (0,071-4,4753)	0,613
	Không	210 (19,6%)	855 (79,7%)		
Sốt nhẹ vào buổi chiều	Có	1 (0,1%)	0 (0,0%)	-	-
	Không	210 (19,6%)	862 (80,3%)		
Đổ mồ hôi đêm	Có	0 (0,0%)	2 (0,2%)	-	-
	Không	211 (19,7%)	860 (80,1%)		
Đau ngực, đôi khi khó thở	Có	23 (2,1%)	107 (10,0%)	0,863 (0,535-1,392)	0,546
	Không	188 (17,5%)	755 (70,4%)		
Kết quả chụp X-quang phổi cho thấy các tổn thương không nghi ngờ là bệnh lao	Tổn thương phổi	6 (0,6%)	16 (1,5%)	1	0,141
	Bình thường	203 (18,9%)	839 (78,2%)	1,554 (0,600-4,020)	0,364
	Bệnh tim to	4 (0,4%)	5 (0,5%)	0,093 (2,357)	0,358

3.3. Sàng lọc và lựa chọn các tập dữ liệu để phân tích

Công cụ tìm kiếm của chúng tôi đã xác nhận rằng tính đến năm 2023, có 622 tập dữ liệu có sẵn trên trang web NCBI. Đối với bước tiếp theo, chúng tôi đã xác định các tập dữ liệu liên quan đến mRNA lưu hành của các tế bào miễn dịch

được phân lập từ các mẫu sinh thiết không xâm lấn, bao gồm tế bào T CD4⁺ (CD4), tế bào T CD8⁺ (CD8), tế bào DC, tế bào Mono và tế bào PBMC. Các tế bào đó là thành phần chính của phản ứng miễn dịch chống lại sự xâm nhập của vi khuẩn [25]. Các dữ liệu khác về lncRNA, circRNA, SNP, tế bào nuôi cấy, các tập dữ liệu

mẫu đơn đã bị loại trừ. Từ kết quả, trong số 622 tập dữ liệu có 8 tập dữ liệu của các mẫu CD4, CD8, DC, Mono và PBMC được chọn, bao gồm GSE84445, GSE99373, GSE161829, GSE99374, GSE132932, GSE84344, GSE54992, GSE62525. Tổng số có 111 mẫu HC, 135 mẫu LTB và 92 mẫu ATB chứa dữ liệu phân tích giải trình tự mRNA thông lượng cao. Các tập dữ liệu đó cung cấp cái nhìn toàn diện về các hồ sơ biểu hiện mRNA liên quan đến TB được báo cáo trong cơ sở dữ liệu GEO.

3.4. Dự đoán các dấu ấn phân tử tiềm năng trong quá trình tiến triển của bệnh lao tiềm ẩn

Theo phân tích dữ liệu của chúng tôi về kết quả giải trình tự thông lượng cao, biểu hiện khác biệt của gen ở bệnh nhân lao đã được thể hiện (Bảng 4). Thông qua phân tích tin sinh học, chúng tôi phân loại các kết quả thu được trong từng tập dữ liệu để tìm kiếm các dấu hiệu phân tử tiềm năng. So sánh tổng số gen được điều chỉnh tăng và giảm giữa các trạng thái HC, LTB và ATB; biểu hiện gen khác biệt của 5 loại tế bào miễn dịch giữa các trạng thái LTB và ATB so với HC với $|\log FC| > 0,5$.

Bảng 4. Kết quả phân tích biểu hiện khác biệt của các gen từ các tập dữ liệu

Thông tin			Biểu hiện gen với giá trị cắt LogFC > 0,5	
			Biểu hiện tăng	Biểu hiện giảm
HC và LTB	CD4	GSE84445	1370	103
		GSE99373	282	1474
		GSE161829	309	448
	CD8	GSE84445	172	579
		GSE99374	543	165
		GSE132932	132	191
	DC	GSE84344	367	359
	Mono	GSE54992	310	454
HC và ATB	PBMC	GSE62525	1760	2337
	DC	GSE84344	330	512
	Mono	GSE54992	2868	2732
	PBMC	GSE62525	2130	3144
LTB và ATB	DC	GSE84344	94	123
	Mono	GSE54992	2933	2577
	PBMC	GSE62525	2155	1809

Kết quả Bảng 4 cho thấy rằng, trong tập dữ liệu GSE84344 của tế bào DC ở nhóm ATB có 94 gen biểu hiện tăng so với nhóm LTB và 330 gen biểu hiện tăng so với nhóm HC, cũng như có 123 gen biểu hiện giảm so với nhóm LTB và 512 gen biểu hiện giảm so với nhóm HC. Tương tự, các tập dữ liệu GSE54992 của tế bào Mono và bộ dữ liệu GSE62525 của tế bào PBMC cũng cho thấy sự thay đổi liên tục sự biểu hiện của các dấu ấn phân tử ở từng giai đoạn tiến triển khác nhau của bệnh lý. Điều này gợi ý sự cần thiết tiếp tục có nghiên cứu sâu và rộng hơn để xác định

các gen có vai trò đích thực giúp dự báo nguy cơ chuyển sang ATB từ LTB.

3.5. Phân tích chức năng sinh học tế bào của các gen khác biệt

Chúng tôi đưa ra giả thuyết rằng các gen tiềm năng được dự đoán có vai trò nhất định trong quá trình tiến triển của TB ở người. Do đó, một so sánh về biểu hiện gen bị thay đổi giữa từng giai đoạn của TB đã được thực hiện và một số gen biểu hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê được tìm thấy bằng công cụ Venny 2.1. Chúng tôi tìm

kiểm các dấu ấn phân tử xuất hiện đồng thời trong nhiều tập dữ liệu khác nhau, để cải thiện độ tin cậy của kết quả ở từng giai đoạn tiến triển của bệnh. Một số gen tiềm năng với diện tích dưới đường cong (Area under the curve, AUC) như *PLEKHG1* (AUC 100%), *CLPB* (AUC 86,5%), *TLR3* (AUC 92%) và *DOK4* (AUC 94,4%) ở các giai đoạn khác nhau của quá trình tiến triển bệnh lý.

Để hiểu rõ hơn về chức năng và mối quan hệ giữa các gen này, làm giàu GO là công cụ chính của chúng tôi. Kết quả phân tích GO bao gồm 323 thuật ngữ chức năng liên quan đến quá trình sinh học (Biological Process, BP), thành phần tế bào (Cellular Component, CC) và chức năng phân tử (Molecular Function, MP). Đối với kết quả xử lý GO-BP, kết quả cho thấy 299 thuật ngữ GO. Trong số đó, 10 thuật ngữ GO hàng đầu là GO_1903131 - biệt hóa tế bào đơn nhân, GO_0031349 - điều hòa tích cực phản ứng phòng vệ, GO_0050729 - điều hòa tích cực phản ứng viêm, GO_0030098 - biệt hóa tế bào lympho, GO_0050867 - điều hòa tích cực hoạt hóa tế bào, GO_0002253 - kích hoạt phản ứng miễn dịch, GO_0050727 - điều hòa phản ứng viêm, GO_0002696 - điều hòa tích cực hoạt hóa bạch cầu, GO_0042113 - kích hoạt tế bào B, GO_0001819 - điều hòa tích cực sản xuất cytokine.

Đối với kết quả GO-CC, kết quả hiển thị 21 thuật ngữ GO với 10 thuật ngữ hàng đầu bao gồm: GO_0060205 - khoang túi tế bào chất, GO_0031983 - khoang túi, GO_0034774 - khoang hạt tiết, GO_0042581 - hạt đặc hiệu, GO_0035580 - khoang hạt đặc hiệu, GO_0005766 - lysosome chính, GO_0042582 - hạt azurophil, GO_1904724 - khoang hạt bậc ba, GO_0070820 - hạt bậc ba, GO_0101002 - hạt giàu ficolin-1. Về chức năng phân tử, kết quả phân tích GO-MP cho thấy 3 thuật ngữ GO bao gồm: GO_0004869 - hoạt động ức chế endopeptidase loại cysteine, GO_0048029 - liên

kết monosaccharide, GO_0038187 - hoạt động thụ thể nhận dạng mẫu. Theo phân tích GO của chúng tôi, đã có phản ứng của các tế bào miễn dịch đối với nhiễm trùng Mtb ở cấp độ phân tử, với các biểu hiện đa dạng. Hệ thống miễn dịch có hiệu quả trong việc ức chế tác nhân gây bệnh nhưng không thể loại bỏ nó. Từ đó, Mtb sẽ phát triển bằng cách hạn chế các gen liên quan đến phản ứng miễn dịch của cơ thể. Việc tìm ra các gen này bằng phân tích GO sẽ cải thiện sự hiểu biết về chức năng các gen mục tiêu của Mtb làm suy yếu phản ứng miễn dịch của con người.

4. Thảo luận

Với sự phát triển tiên tiến của các công nghệ giải trình tự thông lượng cao, giải trình tự thế hệ tiếp theo đang dần được áp dụng trong khoa học sự sống. Nó không chỉ thúc đẩy tiến trình nghiên cứu một cách hiệu quả mà còn bắt đầu cải thiện chất lượng thực hành lâm sàng. Phân tích dữ liệu giải trình tự thông lượng cao về gen ở các giai đoạn tiến triển TB khác nhau chứng minh tiềm năng của nó trong việc xác định các gen biểu hiện khác biệt trong các mẫu bệnh nhân, trong việc phát hiện các dấu ấn sinh học liên quan đến bệnh và trong việc dự đoán các mục tiêu phân tử để phát triển các liệu pháp chính xác [26]. Trong nghiên cứu này, phương pháp tin sinh học đã được sử dụng để dự đoán các dấu ấn phân tử tiềm năng cho nghiên cứu từ các tập dữ liệu GSE của tế bào miễn dịch liên quan đến sự tiến triển của ATB. Với kết quả đạt được, chúng tôi hướng đến mục tiêu phát triển phương pháp xét nghiệm chẩn đoán LTb và làm rõ một số chức năng của gen chính trong tế bào miễn dịch ở các giai đoạn phát triển khác nhau của TB thông qua sự có mặt của các dấu ấn sinh học phân tử. Ngay cả khi có sự không đồng nhất của nhóm đối chứng và việc chưa lựa chọn chuẩn hóa cho LTb và ATb, dữ liệu thu thập được của chúng tôi sẽ hữu ích để gợi ý về các dự đoán dấu ấn phân tử gen trong các thử nghiệm theo nhóm trong tương lai sau khi đã có những số liệu cụ thể về các nhóm đối

tượng được xác định các giai đoạn phát triển khác nhau của TB.

Trong khi hầu hết những người tiếp xúc với *Mtb* có thể kiểm soát được tình trạng nhiễm trùng và vẫn ở dạng LTb, vẫn có hơn 10 triệu trường hợp ATb được báo cáo hàng năm trên toàn thế giới [27]. Tại Việt Nam, theo điều tra dân số năm 2019, dân số Đà Nẵng là khoảng 1.134.310 người [28]. Sàng lọc sơ bộ của chúng tôi cho thấy tỷ lệ nhiễm LTb là 19,7% và khoảng 5-10% số người bị nhiễm lao có thể tiến triển thành ATb. Do đó, số ca LTb ước tính hàng năm là 11.172 - 22.346 và khoảng 559-2.235 trường hợp có khả năng trở thành bệnh nhân ATb. Trên thực tế, số bệnh nhân lao các loại được phát hiện vào năm 2022 là 1.550 trường hợp, thấp hơn nhiều so với dự đoán. Điều này ngụ ý rằng việc xác định các dấu ấn sinh học cụ thể và các yếu tố nguy cơ liên quan đến tiến triển của TB là điều cần thiết để cải thiện tỷ lệ phát hiện LTb trong cộng đồng cũng như kiểm soát căn bệnh truyền nhiễm này. Một trong những khuyến nghị của chúng tôi là duy trì chính sách sàng lọc LTb ở những nhóm người mắc bệnh mạn tính và những người tiếp xúc trong gia đình với bệnh nhân lao. Về các yếu tố nguy cơ, độ tuổi của bệnh nhân được coi là một trong những yếu tố nguy cơ cao của tỷ lệ mắc TB. Trong một nghiên cứu về 1.523 trường hợp có tiếp xúc gần với bệnh nhân ATb của Krishnamoorthy và cộng sự ở Nam Ấn Độ, các tác giả đã xác nhận rằng hai nhóm tuổi quan trọng liên quan đến tỷ lệ mắc LTb là nhóm 19-64 tuổi và 65 tuổi trở lên [29]. Số liệu thống kê toàn cầu và dữ liệu được báo cáo về tỷ lệ mắc TB theo độ tuổi và giới tính năm 2020 cho thấy tỷ lệ mắc ATb cao nằm ở nhóm tuổi từ 15 trở lên [2]. Nghiên cứu của chúng tôi ở Bảng 2 cho thấy nhóm quá tuổi lao động (trên 60 tuổi) có tỷ lệ mắc LTb (13,6%) cao hơn nhóm trong độ tuổi lao động, chỉ 6,1%, $p < 0,05$. Ngược lại, ở Bảng 3, kết quả lại cho thấy ở người có tiền sử đái tháo đường có tỷ lệ mắc LTb (8,1%), thấp hơn nhóm không có tiền sử bị đái tháo đường (11,6%),

$p < 0,001$). Điều này, có thể những bệnh nhân có tiền sử đái tháo đường đã tập trung điều trị ổn định đường huyết và duy trì các chế độ sinh hoạt tốt theo hướng dẫn của bác sĩ điều trị và tỷ lệ mắc LTb hiện tại còn phụ thuộc vào các yếu tố khác như độ tuổi, nghề nghiệp, môi trường tiếp xúc và các yếu tố nguy cơ khác nhau. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây được Liu Q. và cộng sự xem xét [30]. Trong báo cáo của WHO năm 2022, bệnh đái tháo đường cũng được coi là một trong những yếu tố nguy cơ chính của nhiễm trùng lao trong số bốn yếu tố khác, bao gồm suy dinh dưỡng, nhiễm HIV, nghiện rượu và thuốc lá [21].

Ngoài việc xác định các yếu tố nguy cơ cao, việc phát hiện các dấu ấn sinh học mới của chẩn đoán và tiên lượng LTb đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát TB. Giao tiếp tế bào-tế bào trong một nhóm tế bào miễn dịch là một phần quan trọng của phản ứng miễn dịch. Đó có thể là tiếp xúc trực tiếp thông qua thụ thể phổi từ hoặc gián tiếp thông qua quá trình tiết các phân tử truyền tin như cytokine [31]. Trong một bối cảnh cụ thể, tương tác trực tiếp giữa các tế bào trình diện kháng nguyên (antigen presenting cell, APC) và tế bào T là một bước quan trọng để nhận diện tế bào T và kích hoạt phản ứng miễn dịch [12]. Hiện nay, máu là mẫu sinh thiết lỏng không xâm lấn tối thiểu dễ tiếp cận nhất ở những người có ý nghĩa phân tích vì chứa mức tế bào miễn dịch cao, tức là tế bào miễn dịch lưu thông. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng các tế bào miễn dịch lưu thông chứa thông tin quan trọng có thể được sử dụng để chẩn đoán, tiên lượng và hiểu cơ chế của một bệnh hoặc rối loạn liên quan đến miễn dịch [8, 24, 32]. Đáng chú ý, các tế bào miễn dịch có nhiều trong máu ngoại vi đóng vai trò quan trọng trong cả miễn dịch bẩm sinh và thích ứng [33]. Trong số đó, các tế bào PBMC có khả năng biệt hóa thành các APC chuyên biệt cao như đại thực bào hoặc DC [34]. Các nghiên cứu trước đây cũng nhấn mạnh rằng PBMC có thể hoạt động như APC và do đó góp phần vào phản ứng miễn dịch

thích ứng [33]. Các tế bào đơn nhân và tế bào có nguồn gốc từ đơn nhân, bao gồm đại thực bào và DC, biểu hiện một loạt các trạng thái kiểu hình được điều chỉnh bởi môi trường vi mô xung quanh chúng. Các tế bào này cung cấp các tín hiệu từ tín hiệu ức chế miễn dịch đến tín hiệu kích thích miễn dịch cho tế bào T, kiểm soát hoạt động và chức năng của chúng [35].

Phân tích sự làm giàu GO rất thuận tiện cho các nhà nghiên cứu đang điều tra cơ chế phân tử cơ bản của LTB. Bằng nghiên cứu này, chúng tôi làm sáng tỏ một phần tầm quan trọng của chúng trong phản ứng miễn dịch, đặc biệt là các con đường hoạt động của chúng và cung cấp sự hiểu biết tốt hơn về các cơ chế phân tử cũng như việc sử dụng các dấu ấn sinh học này như các công cụ chẩn đoán tiềm năng cho TB. Về vấn đề đó, vai trò chức năng của các gen biểu hiện khác biệt được mô tả có thể được làm rõ. Phân tích của chúng tôi dự đoán rằng các gen liên quan đến con đường truyền tín hiệu thụ thể tế bào B là các gen có khả năng quan trọng của LTB. Dự đoán này là hợp lý vì các nghiên cứu trước đây đã đề cập đến hiện tượng này. Theo Stewart và cộng sự, phản ứng miễn dịch đối với nhiễm trùng Mtb trước đây được coi là tế bào T và đại thực bào là các thành phần chính, vì vai trò của chúng trong quá trình hình thành hạt đã được mô tả rõ ràng. Tuy nhiên, những phát hiện mới nhấn mạnh sự tham gia tích cực của các tế bào B trong giai đoạn cấp tính bằng cách tăng thực bào, giải phóng cytokine và kháng thể [36]. Đáng chú ý là tình trạng nhiễm trùng Mtb trong hệ thống miễn dịch phụ thuộc vào thời gian và vai trò của tế bào B cũng thay đổi theo thời gian dẫn đến sự thay đổi trong điều hòa miễn dịch và hình thái mô học của u hạt lao [4]. Musvosvi và cộng sự phát hiện ra rằng các thụ thể tế bào lympho liên quan đến quá trình kiểm soát và tiến triển của bệnh sau khi nhiễm Mtb. Do đó, nghiên cứu của chúng tôi có thể góp phần hiểu rõ hơn về các cơ chế phân tử ảnh hưởng đến quá trình tiến triển từ LTB sang ATB, đưa ra hướng đi mới cho công tác phòng

ngừa trong việc quản lý và chăm sóc bệnh nhân lao.

Một số nhược điểm của nghiên cứu này có thể cần được xem xét. Đầu tiên, về đối tượng nghiên cứu giai đoạn 1 chưa thu thập được trên cộng đồng để có kết quả chính xác nhất về tỷ lệ mắc LTB của thành phố Đà Nẵng năm 2023. Thứ hai, một số gen tiềm năng đã xác định được với các biểu hiện khác biệt đã không xuất hiện trong kết quả dự đoán. Điều này có thể là do hạn chế của các tập dữ liệu GSE. Thứ ba, trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ nghiên cứu các biểu hiện khác biệt mRNA trong các mẫu máu. Do đó, sự hạn chế về tính đa dạng mẫu trong nghiên cứu có thể ảnh hưởng đến khả năng thuyết phục của kết quả về sự phát hiện các dấu ấn sinh học tiềm ẩn. Các nghiên cứu sâu hơn có thể yêu cầu các mẫu mô phổi để lập hồ sơ bằng cách sử dụng phân tích giải trình tự thông lượng cao. Bằng cách kết hợp các kết quả của chúng tôi trong giai đoạn này với kết quả nghiên cứu gen biểu hiện khác biệt trong mô phổi, chúng tôi sẽ có thể xác nhận các dấu ấn sinh học tiềm năng có thể phản ánh quá trình tiến triển nội bào của TB và có tiềm năng cho chẩn đoán trong tương lai [37]. Nghiên cứu này có thể được sử dụng như một nền tảng để so sánh giữa các trạng thái bệnh khác nhau và cung cấp cơ sở các dấu ấn sinh học có thể phân biệt chính xác giữa trạng thái tiềm ẩn và trạng thái hoạt động. Thiết kế các nghiên cứu theo nhóm dựa trên các mẫu vật không xâm lấn như máu sẽ là công việc trong tương lai cho những dự đoán này. Việc điều trị LTB với phát đồ ngắn hạn và sử dụng ít loại thuốc hơn so với điều trị lao mang lại lợi ích về sức khỏe và giảm gánh nặng chi phí cho người bệnh và cho xã hội.

5. Kết luận

Chúng tôi cung cấp tỷ lệ phát hiện LTB tại Bệnh viện Phổi Đà Nẵng năm 2023 là 19,7% và có liên quan đến nhóm quá độ tuổi lao động. Một số dấu hiệu phân tử tiềm năng như PLEKHG1, CLPB, TLR3 và DOK4, có thể hữu ích cho việc

chẩn đoán và tìm ra mục tiêu điều trị dự phòng cho LTb. Tuy nhiên, nghiên cứu cũng cần thêm các giai đoạn tiếp theo để xác nhận độ nhạy của các dấu hiệu sinh học đó trong việc xác định các giai đoạn TB khác nhau cũng như nguy cơ LTb tiến triển thành ATb.

Tài liệu tham khảo

- [1] Bloom, B.R. (2023). "A half-century of research on tuberculosis: Successes and challenges". *J Exp Med* (9), e20230859.
- [2] World Health Organization. (2021). *Global tuberculosis report*. Truy cập 14/10/2021, từ <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>.
- [3] Gong, W., Wu, X. (2021). "Differential Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection and Active Tuberculosis: A Key to a Successful Tuberculosis Control Strategy". *Front Microbiol* (12), 745592.
- [4] Loxton, A.G. (2019). "Bcells and their regulatory functions during Tuberculosis: Latency and active disease". *Molecular immunology* (111), 145-151.
- [5] Esmail, H., Lai, R.P., Lesosky, M., Wilkinson, K.A., Graham, C.M., Horswell, S., Coussens, A.K., Barry, C.E. (2018). "Complement pathway gene activation and rising circulating immune complexes characterize early disease in HIV-associated tuberculosis". *Proc Natl Acad Sci U S A* (5), E964-E973.
- [6] Kasambira, T.S., Shah, M., Adrian, P.V., Holshouser, M., Madhi, S.A. (2011). "QuantiFERON-TB Gold In-Tube for the detection of Mycobacterium tuberculosis infection in children with household tuberculosis contact". *Int J Tuberc Lung Dis* (5), 628-634.
- [7] Burel, J.G., Arlehamn, C.S., Khan, N., Seumois, G., Greenbaum, J.A. (2018). "Transcriptomic Analysis of CD4(+) T Cells Reveals Novel Immune Signatures of Latent Tuberculosis". *Journal of immunology* (9), 3283-3290.
- [8] Flynn, J.L., Chan, J. (2001). "Immunology of tuberculosis". *Annu Rev Immunol* (19), 93-129.
- [9] Qiu, Z., Zhang, M., Zhu, Y., Zheng, F., Lu, P., Liu, H. (2012). "Multifunctional CD4 T cell responses in patients with active tuberculosis". *Sci Rep* (2), 216.
- [10] Fletcher, H.A., Snowden, M.A., Landry, B., Rida, W., Satti, I. (2016). "T-cell activation is an immune correlate of risk in BCG vaccinated infants". *Nat Commun* 7, 11290.
- [11] Burel, J.G., Pomaznoy, M., Arlehamn, C.S., Weiskopf, D. (2019). "Circulating T cell-monocyte complexes are markers of immune perturbations". *Elife* 8, e46045.
- [12] Cooper, A.M. (2009). "Cell-mediated immune responses in tuberculosis". *Annu Rev Immunol* 27, 393-422.
- [13] Parlato, S., Chiacchio, T., Salerno, D., Petrone, L., Castiello, L., Romagnoli, G. (2018). "Impaired IFN-alpha-mediated signal in dendritic cells differentiates active from latent tuberculosis". *PLoS One* (1), e0189477.
- [14] Mehra, S., Kaushal, D. (2009). "Functional genomics reveals extended roles of the Mycobacterium tuberculosis stress response factor sigmaH". *J Bacteriol* (12), 3965-3980.
- [15] Vandal, O.H., Pierini, L.M., Schnappinger, D., Nathan, C.F. (2008). "A membrane protein preserves intrabacterial pH in intraphagosomal Mycobacterium tuberculosis". *Nat Med* (8), 849-854.
- [16] MacMicking, J.D., Taylor, G.A., McKinney, J.D. (2003). "Immune control of tuberculosis by IFN-gamma-inducible LRG-47". *Science* (5645), 654-659.
- [17] Pennini, M.E., Pai, R.K., Schultz, D.C., Boom, W.H. (2006). "Mycobacterium tuberculosis 19-kDa lipoprotein inhibits IFN-gamma-induced chromatin remodeling of MHC2TA by TLR2 and MAPK signaling". *J Immunol* (7), 4323-4330.
- [18] World Health Organization. (2018). *Latent Tuberculosis Infection, Updated and consolidated guideline for programmatic management*. Truy cập 15/02/2018, từ <https://www.who.int/publications/i/item/9789241550239>.
- [19] World Health Organization. (2024). *WHO operational handbook on tuberculosis, Module 1: Prevention- Tuberculosis preventive treatment*. Truy cập 09/09/2024, từ <https://www.who.int/publications/i/item/9789240097773>.
- [20] Báez-Saldaña, R., García-García, L., Ferreyra-Reryes, L., Cruz-Hervet, P. (2020). "Accuracy of the tuberculin skin test for diagnosis of latent tuberculosis in population with high coverage of Bacillus Calmette-Guérin vaccination". *Revista Medica del Hospital General de Mexico* (3), 248-254.
- [21] Nasreen, S., Shokoohi, M., Malvankar-Mehta, MS. (2016). "Prevalence of Latent Tuberculosis among Health Care Workers in High Burden Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis". *PLoS One* (10), e0164034.
- [22] World Health Organization. (2024). *WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: diagnosis-rapid diagnostics for tuberculosis detection*. Truy cập 20/03/2024, từ <https://www.who.int/publications/i/item/9789240089488>.

- [23] Shapiro, A.E., Ross, J.M., Yao, M., Schiller, I. (2021). "Xpert MTB/RIF and Xpert Ultra assays for screening for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults, irrespective of signs or symptoms". *Cochrane Database Syst Rev* (3), CD013694.
- [24] Bongen, E., Vallania, F., Utz, P.J., Khatri, P. (2018). "KLRD1-expressing natural killer cells predict influenza susceptibility". *Genome Med* (1), 45.
- [25] Guan, Y., Li, M., Qiu, Z., Xu, J., Zhang, Y. (2022). "Comprehensive analysis of DOK family genes expression, immune characteristics, and drug sensitivity in human tumors". *J Adv Res* 36, 73-87.
- [26] Morganti, S., Tarantino, P., Ferraro, E., D'Amico, P., Viale, G., Trapani, D. (2019). "Complexity of genome sequencing and reporting: Next generation sequencing (NGS) technologies and implementation of precision medicine in real life". *Crit Rev Oncol Hematol* 133, 171-182.
- [27] Gough, M., Singh, D.K., Singh, B., Kaushal, D., Mehra, S. (2022). "System-wide identification of myeloid markers of TB disease and HIV-induced reactivation in the macaque model of Mtb infection and Mtb/SIV co-infection". *Front Immunol* 13, 777733.
- [28] General Statistics Office. (2020). *Completed Results of the 2019 Vietnam Population and Housing Census*. Truy cập 17/10/2020, từ <https://www.gso.gov.vn/en/data-and-statistics/2020/11/completed-results-of-the-2019-viet-nam-population-and-housing-census/>.
- [29] Krishnamoorthy, Y., Ezhumalai, K., Murali, S., Rajaa, S., Jose, M., Sathishkumar, A. (2021). "Prevalence and risk factors associated with latent tuberculosis infection among household contacts of smear positive pulmonary tuberculosis patients in South India". *Trop Med Int Health* (12), 1645-1651.
- [30] Liu, Q., Yan, W., Liu, R., Bo, E., Liu, J., Liu, M. (2022). "The Association Between Diabetes Mellitus and the Risk of Latent Tuberculosis Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis". *Front Med (Lausanne)* 9, 899821.
- [31] Daneshpour, H., Youk, H. (2019). "Modeling cell-cell communication for immune systems across space and time". *Curr Opin Syst Biol* 18, 44-52.
- [32] Roy Chowdhury, R., Vallania, F., Yang, Q., Lopez Angel, C.J. (2018). "A multi-cohort study of the immune factors associated with M. tuberculosis infection outcomes". *Nature* (7720), 644-648.
- [33] Jakubzick, C.V., Randolph, G.J., Henson, P.M. (2017). "Monocyte differentiation and antigen-presenting functions". *Nat Rev Immunol* (6), 349-362.
- [34] Sprangers, S., Vries, T.J., Everts, V. (2016). "Monocyte Heterogeneity: Consequences for Monocyte-Derived Immune Cells". *J Immunol Res* 2016, 1475435.
- [35] Ginhoux, F., Schultze, J.L., Murray, P.J., Ochando, J. (2016). "New insights into the multidimensional concept of macrophage ontogeny, activation and function". *Nat Immunol* (1), 34-40.
- [36] Stewart, P., Patel, S., Comer, A., Muneer, S., Nawaz, U. (2023). "Role of B Cells in Mycobacterium Tuberculosis Infection". *Vaccines (Basel)* (5), 955.
- [37] Yang, Q., Chen, Q., Zhang, M., Cai, Y., Yang, F., Zhang, J. (2020). "Identification of eight-protein biosignature for diagnosis of tuberculosis". *Thorax* (7), 576-583.