

ĐÁNH GIÁ ĐỘ NHẠY, ĐỘ ĐẶC HIỆU VÀ TÍNH ỔN ĐỊNH CỦA BỘ KIT LAMP CHẨN ĐOÁN NHIỄM GIUN LƯƠN ĐƯỜNG RUỘT *Strongyloides stercoralis* Ở NGƯỜI

Trần Thị Kim Chi¹, Nguyễn Thị Hương Bình², Trần Xuân Mai², Đỗ Như Bình³

¹Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, ²Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương;

³Bệnh viện Quân y 103- Học viện Quân y

Tóm tắt

Bệnh giun lươn (*Strongyloidiasis*) là bệnh nhiễm ký sinh trùng đường ruột mạn tính ở người do giun *Strongyloides* spp. gây ra. Nhiễm giun lươn phân bố trên toàn thế giới, phổ biến nhất ở vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới và vùng ôn đới ẩm áp bao gồm Việt Nam. Bệnh giun lươn thường bị chẩn đoán sót vì người nhiễm có thể không có triệu chứng và các xét nghiệm chẩn đoán giun lươn thường dùng không đủ độ nhạy. Kỹ thuật LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) được kỳ vọng là phương pháp có độ nhạy, độ đặc hiệu cao và có thể áp dụng tại thực địa để chẩn đoán nhiễm giun lươn *Strongyloides stercoralis* ở người. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu và tính ổn định của một bộ kit LAMP chẩn đoán nhiễm giun lươn đường ruột *Strongyloides stercoralis*. Bộ kit có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, vẫn hoạt động ổn định sau 12 tháng bảo quản ở $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ và 6 tháng sau khi mở nắp.

Từ khóa: *Strongyloides stercoralis*, LAMP, độ nhạy, độ đặc hiệu, tính ổn định.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh giun lươn (*Strongyloidiasis*) là bệnh nhiễm ký sinh trùng đường ruột mạn tính ở người do giun *Strongyloides* spp. gây ra. Nhiễm giun lươn phân bố trên toàn thế giới với một gánh nặng toàn cầu về tỉ lệ lưu hành; tỉ lệ mắc bệnh phần lớn chưa được xác định [1]. Tỉ lệ nhiễm *Strongyloides* spp. toàn cầu chưa rõ, nhưng các chuyên gia ước tính rằng có từ 30 – 100 triệu người nhiễm [2]. Báo cáo tổng hợp tỉ lệ nhiễm giun lươn trên toàn thế giới vào năm 2013 cho thấy khu vực Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam là vùng dịch tễ lưu hành của bệnh [3]. Người bị nhiễm giun lươn biểu hiện từ không có triệu chứng hoặc có triệu chứng của bệnh dạ dày tá tràng không đặc hiệu [4]. Vì vậy vấn đề chẩn đoán chính xác ca bệnh gặp nhiều khó khăn và dễ bị bỏ sót [5], [6]. Vấn đề chẩn đoán hiện nay vẫn tồn tại nhiều thách thức [5]. Phương pháp xét nghiệm soi phân tìm ấu trùng giun lươn có độ nhạy rất thấp [7], [2]. Một phương pháp chẩn đoán khác cũng đang được sử dụng rộng rãi là huyết thanh chẩn đoán tìm kháng thể giun lươn có độ nhạy cao nhưng có độ đặc hiệu thấp [2]. Có một số phương pháp phát hiện giúp tăng khả năng phát hiện ấu trùng giun lươn trong phân như phương pháp Baeman, cây phân trên giấy lọc Harada- Mori. Nhược điểm của những phương pháp này là cần lượng phân nhiều, dụng cụ chuyên biệt, tốn nhân lực và thời gian nhiều [2], [4], [8] nên không được sử dụng thường quy.

Với sự phát triển của sinh học phân tử, phương pháp LAMP được kì vọng là có thể là phương pháp chẩn đoán nhiễm *Strongyloides stercoralis* có độ nhạy, độ đặc hiệu cao và có thể áp dụng tại thực địa. Một bộ kit LAMP để chẩn đoán nhiễm *Strongyloides stercoralis* đã được chúng tôi nghiên cứu xây dựng quy trình chế tạo. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nghiên cứu đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu và tính ổn định của bộ kit LAMP này.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: Bộ kit LAMP do chúng tôi nghiên cứu chế tạo để chẩn đoán nhiễm *Strongyloides stercoralis*

- Mẫu nghiên cứu: Mẫu được thu thập tại phòng khám chuyên ngành của Viện Sốt rét Ký sinh trùng Côn trùng Trung ương, Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch và tỉnh Long An:

+ Xây dựng một bộ mẫu tại phòng thí nghiệm: có tỉ lệ dương tính *S. Stercoralis* là 25%, mục tiêu đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu mong đợi 95% với độ tin cậy trên 95%. Dùng công thức tính và tính được bộ mẫu cần có tối thiểu 73 mẫu âm tính thật và 25 mẫu dương tính thật. Trên thực tế, chúng tôi đã tiến hành đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của bộ kit LAMP trên bộ mẫu có 132 mẫu gồm: 100 mẫu phân không nhiễm GLĐR và 32 mẫu phân có nhiễm GLĐR (được xét nghiệm chẩn đoán xác định bằng soi phân và qPCR).

+ Mẫu sử dụng để đánh giá tính ổn định của bộ kit: 07 mẫu gồm: 03 mẫu chứng chuẩn dương (trong đó có 1 mẫu chuẩn dương có nồng độ xác định ở ngưỡng phát hiện của kỹ thuật LAMP), 02 mẫu dương tính thu thập từ người bệnh, 02 mẫu âm tính.

+ Để đánh giá bộ kit tại thực địa, chúng tôi tiến hành thu thập mẫu có chủ đích tại tỉnh Long An với số lượng là 300 mẫu.

+ So sánh bộ kit với bộ mồi khác có cùng mục đích tương tự: Sử dụng 50 mẫu gồm 25 mẫu dương tính và 25 mẫu âm tính đã được xác định bằng phương pháp realtime PCR.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thu thập mẫu phân và tách chiết ADN:

- Mẫu phân được thu thập và giữ ở điều kiện lạnh 4°C – 8°C cho đến khi chuyển về phòng thí nghiệm. Một phần phân được sử dụng để làm tiêu bản soi phát hiện AT trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu. Một phần mẫu phân được bảo quản trong ống 1,5ml có chứa cồn 70% và ở -35°C cho đến khi được tách chiết ADN. Tách chiết ADN từ mẫu phân bằng bộ kit thương mại QIAmp DNA stool Mini kit của hãng Qiagen.

Đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của bộ kit LAMP tại phòng thí nghiệm

Đánh giá độ nhạy độ đặc hiệu của bộ kit LAMP chẩn đoán GLĐR trên 132 mẫu thu nhận từ Đại học y khoa Phạm Ngọc Thạch và các mẫu thu thập tại thực địa tỉnh Long An năm 2018. Sử dụng phương pháp xét nghiệm qPCR làm phương pháp tham chiếu (chuẩn vàng). Phương pháp qPCR mà chúng tôi sử dụng dựa theo nghiên cứu của tác giả Yasmin Sultana đã được công bố và đánh giá độ đặc hiệu hơn 99% so với phương pháp cấy phân Harada - Mori [9].

Điều kiện bảo quản và tính ổn định của bộ kit

Bộ kit được đóng gói 50 phản ứng/kit và bảo quản trong nhiệt độ - 20°C ± 5°C. Tính ổn định của bộ kit được tiến hành qua 3 thử nghiệm:

- Thử nghiệm thứ nhất: Mỗi tháng tiến hành thử nghiệm lại bộ kit vào một ngày nhất định với các điều kiện đã được tối ưu. Sau khi mở nắp, bộ kit được bảo quản ở 2-8°C.

- Thử nghiệm thứ hai: 3 tháng tiến hành thử nghiệm lại bộ kit một lần với các điều kiện đã được tối ưu. Sau khi mở nắp và thực nghiệm, bộ kit được bảo quản ở điều kiện - 20°C ± 5°C.

- Thử nghiệm thứ ba: Sau 12 tháng bảo quản ở điều kiện - 20°C ± 5°C, tiến hành thực hiện thí nghiệm phản ứng LAMP với các điều kiện đã được tối ưu.

Đánh giá bộ kit tại thực địa

Tiến hành đánh giá bộ kit LAMP chẩn đoán GLĐR trên 300 mẫu thu thập tại 4 xã Lộc Giang, Tân Mỹ, Mỹ Hạnh Nam, Mỹ Hạnh Bắc, huyện Đức Hòa, tỉnh Long An. Kết quả được so sánh với soi phân và qPCR.

So sánh bộ kit với bộ mồi có cùng mục tiêu đã được công bố trên các tạp chí uy tín

Sử dụng bộ mồi của Perdro- Fernandez- Soto và cộng sự (2016) được công bố trên tạp chí Plos Neglected tropical diseases [10] để so sánh với bộ kit LAMP chẩn đoán GLĐR của chúng tôi để đánh giá sự tương đồng.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

- Độ nhạy, độ đặc hiệu của bộ kit tại phòng thí nghiệm

Xét nghiệm 132 mẫu phân bằng các phương pháp xét nghiệm phân, Realtime PCR, LAMP cho kết quả: với phương pháp xét nghiệm phân và Realtime PCR cho kết quả như nhau gồm 32 mẫu dương tính và 100 mẫu âm tính, còn bộ kit LAMP chẩn đoán GLĐR thì có kết quả là có 34 mẫu dương tính và 98 mẫu âm tính. Độ nhạy, độ đặc hiệu của bộ kit LAMP được tính ở bảng 1

Bảng 1. Kết quả độ nhạy, độ đặc hiệu của bộ kit LAMP chẩn đoán GLĐR

Kết quả kit LAMP	Mẫu phân xét nghiệm <i>S. stercoralis</i> đã được xác định bằng qPCR		Tổng
	Dương tính	Âm tính	
Dương tính	31	3	34
Âm tính	1	97	98
Tổng số	32	100	132
Độ nhạy Se: 96,88%(95% CI: 83,78% - 99,92%) Độ đặc hiệu Sp: 97,00% (95% CI: 91,48% - 99,38%)			

- Điều kiện bảo quản và độ ổn định của bộ kit LAMP chẩn đoán giun lươn đường ruột

Bộ kit đóng gói vào tháng 1/2019 và được bảo quản trong nhiệt độ $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Các mẫu sử dụng để đánh giá là 3 mẫu chuẩn dương ở nồng độ $10^{-6}\text{ng}/\mu\text{l}$, $10^{-7}\text{ng}/\mu\text{l}$ và $10^{-8}\text{ng}/\mu\text{l}$; 2 mẫu bệnh dương tính; 2 mẫu âm tính. Các thí nghiệm được tiến hành lặp lại mỗi tháng 1 lần, 3 tháng một lần và sau 11 tháng ở các điều kiện bảo quản $2-8^{\circ}\text{C}$ và $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ sau khi mở nắp bộ kit. Kết quả được trình bày ở bảng 2, 3,4 và hình 1

Bảng 2. Kết quả khảo sát độ ổn định của bộ Kit sau 6 tháng bảo quản

Nồng độ (ng/ μl)	Điều kiện bảo quản $2-8^{\circ}\text{C}$ sau mở nắp					
	1/2019	2/2019	3/2019	4/2019	5/2019	6/2019
10^{-6}	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
10^{-7}	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
10^{-8}	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Mẫu dương 1 ($5,1 \times 10^{-6}$)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Mẫu dương 2 ($4,2 \times 10^{-7}$)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Neg 1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Neg 2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Bảng 3. Kết quả khảo sát độ ổn định sau 4 lần làm tan và đông đá

Nồng độ (ng/ μl)	Điều kiện bảo quản $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ sau khi mở nắp			
	2/2019	5/2019	8/2019	12/2019
10^{-6}	(+)	(+)	(+)	(+)
10^{-7}	(+)	(+)	(+)	(+)
10^{-8}	(+)	(+)	(+)	(-)
Mẫu dương 1	(+)	(+)	(+)	(-)
Mẫu dương 2	(+)	(+)	(+)	(-)
Neg 1	(-)	(-)	(-)	(-)
Neg 2	(-)	(-)	(-)	(-)

Bảng 4. Kết quả khảo sát độ ổn định của bộ Kit sau 12 tháng bảo quản.

Nồng độ (ng/μl)	Điều kiện bảo quản - 20°C ± 5°C	
	Lần 1	Lần 2
10 ⁻⁶	(+)	(+)
10 ⁻⁷	(+)	(+)
10 ⁻⁸	(+)	(+)
ADN mẫu 1	(+)	(+)
ADN mẫu 2	(+)	(+)
Neg1	(-)	(-)
Neg2	(-)	(-)



Hình 1. Kết quả khảo sát tính ổn định của bộ kit sau 12 tháng bảo quản

Kết quả cho thấy, bộ kit vẫn hoạt động ổn định sau 6 tháng mở nắp sử dụng và 1 năm kể từ ngày sản xuất khi chưa mở nắp, đồng thời không tiến hành làm tan và đá bộ kit LAMP quá 3 lần.

- Đánh giá bộ kit tại thực địa

300 mẫu phân thu được tại 4 xã ở huyện Đức Hòa, Long An được thực hiện theo 3 phương pháp soi phân trực tiếp tìm AT giun lươn, sử dụng bộ kit LAMP chẩn đoán GLDR và qPCR. Kết quả được trình bày ở bảng sau:

Bảng 5. Kết quả tầm soát giun lươn tại thực địa của 3 phương pháp

Phương pháp	Kết quả (+)		Kết quả (-)		Tổng số mẫu
	Số mẫu	Tỉ lệ	Số mẫu	Tỉ lệ	
Soi phân trực tiếp	0	0%	300	100%	300
qPCR	3	1%	297	99%	300
LAMP	3	1%	297	99%	300

Kết quả soi phân không tìm thấy ấu trùng giun lươn trong 300 mẫu. Kết quả LAMP và qPCR cho thấy có 3 mẫu trong 300 mẫu thực địa có kết quả dương tính với *S. stercoralis* và 3 mẫu này trùng khớp với nhau.

- So sánh bộ kit LAMP với bộ môi có cùng mục đích tương tự

Tiến hành thực nghiệm trên 50 mẫu: 25 mẫu dương tính, 25 mẫu âm tính đã được xác định bằng phương pháp realtime PCR. Hệ số Kappa giữa bộ kit LAMP và bộ môi Pedro được tính như bảng 6

Bảng 6. Hệ số KAPPA giữa bộ kit LAMP trong nghiên cứu và Bộ môi Pedro

	LAMP trong nghiên cứu			P _o	P _e	Chỉ số Kappa
	Dương	Âm	Tổng			
Bộ môi Pedro- Fernandez- Soto (2016)				0,96	0,53	0,92
Dương	18	0	18			
Âm	2	30	32			
Tổng	20	30	50			

Với $K = 0,92$ chúng tỏ khả năng phát hiện chẩn đoán của bộ kit LAMP trong nghiên cứu này phù hợp cao với bộ môi đã công bố của Perdro.

4. BÀN LUẬN

Độ nhạy, độ đặc hiệu của bộ kit tại phòng thí nghiệm

Chúng tôi chọn phương pháp qPCR làm phương pháp tham chiếu do đây là hai phương pháp SHPT có độ nhạy tương đương trên các nền mẫu khác nhau. Phương pháp qPCR này khuếch đại cũng dựa vào đoạn gen 18S rRNA, đã được xác định là có độ đặc hiệu cao hơn 99% khi so sánh với phương pháp cấy phân Harada – Mori, có độ nhạy 100% đối với những trường hợp nhiễm trung bình và nhiễm nặng [9]. Qua bảng 1 cho thấy, độ nhạy, độ đặc hiệu của bộ kit LAMP lần lượt là 96,88% (95% CI: 83,78% - 99,92%) và 97,00% (95% CI: 91,48% - 99,38%). Nghiên cứu của tác giả Matthew và cộng sự năm 2019 cũng so sánh giữa LAMP và qPCR khi áp dụng vào chẩn đoán nhiễm GLĐR trên 396 mẫu phân tại Bangladesh và Australia. Trong nghiên cứu này, các tác giả cũng sử dụng phương pháp real-time PCR làm phương pháp tham chiếu thì độ nhạy của LAMP là 77,3% (95% CI: 64,5 - 86,6) và độ đặc hiệu là 100% (95% CI: 98,9 - 100), hệ số Kappa của kỹ thuật LAMP và real-time PCR tính được là 0,79, cho thấy độ tương đồng của 2 kỹ thuật này trong chẩn đoán giun lươn gần như phù hợp khá [11]. So sánh kết quả nghiên cứu của tác giả Matthew R, Watts và cộng sự với kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi thì thấy gần tương đồng. Tuy kết quả nghiên cứu của tác giả Matthew và cộng sự có độ nhạy thấp hơn nhưng lại có độ đặc hiệu cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi. Điểm khác giữa hai nghiên cứu là trong nghiên cứu của tác giả Matthew R, Watts và cộng sự, các tác giả sử dụng đoạn gen đích trong kỹ thuật LAMP là gen 28S rRNA, khác với gen đích 18S rRNA trong nghiên cứu của chúng tôi. Như vậy, khi lấy phương pháp qPCR làm tham chiếu thì kết quả cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu của bộ kit LAMP chẩn đoán GLĐR trong nghiên cứu của chúng tôi cao và hoàn toàn đáp ứng yêu cầu đối với một bộ kit xét nghiệm chẩn đoán.

Điều kiện bảo quản và độ ổn định của bộ kit LAMP chẩn đoán giun lươn đường ruột

Từ 3 thử nghiệm cho thấy nếu được bảo quản ở điều kiện $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ thì bộ kit vẫn hoạt động ổn định sau thời gian 1 năm, còn nếu đã tan đá và bảo quản ở nhiệt độ $2-8^{\circ}\text{C}$ thì bộ kit vẫn hoạt động ổn định sau 6 tháng, thời gian lâu hơn thì không được khảo sát. Từ kết quả nghiên cứu về độ ổn định của bộ kit LAMP theo các điều kiện bảo quản này cho thấy nếu bộ kit được áp dụng thực địa thì hoàn toàn khả thi. Tại các cơ sở y tế lớn, nơi có điều kiện bảo quản với tủ lạnh âm sâu ($-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) thì bộ kit có hạn sử dụng lên đến 1 năm. Ngược lại, tại những cơ sở y tế địa phương, không có điều kiện bảo quản với tủ lạnh âm sâu thì sau khi rã đông, bộ kit được bảo quản ở ngăn mát của tủ lạnh thông thường với nhiệt độ $2-8^{\circ}\text{C}$ thì bộ kit vẫn có hạn sử dụng là 6 tháng. Ngoài ra, kết quả cũng cho thấy không tiến hành làm tan và đông đá lại bộ kit quá 3 lần. Như vậy, khi có nhu cầu di chuyển xa thì bộ kit vẫn hoạt động tốt sau đó (dù sau đó được bảo quản ở điều kiện $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ hoặc $2-8^{\circ}\text{C}$) nhưng cần tránh trường hợp tan đá rồi đông đá lại nhiều lần sẽ làm bộ kit không còn cho kết quả chính xác

Đánh giá bộ kit tại thực địa

Bảng 5 cho biết kết quả xét nghiệm chẩn đoán nhiễm GLĐR bằng ba phương pháp soi phân trực tiếp, sử dụng bộ kit LAMP đang nghiên cứu và phương pháp qPCR. Kết quả cho thấy, với phương pháp soi phân trực tiếp thì không phát hiện trường hợp nhiễm GLĐR nào (0%) và phương pháp qPCR và LAMP cùng cho kết quả phù hợp 100% với nhau với 3 trường hợp dương tính, chiếm tỉ lệ 1%. Xét về tỉ lệ nhiễm giun lươn trong 300 mẫu thực địa của chúng tôi thì tỉ lệ này thấp hơn nhiều so với kết quả nghiên cứu tại 5 xã và thị trấn của huyện Đức Hòa của tác giả Lê Đức Vinh năm 2017 - 2018 [25] là 6,64%. Tác giả Lê Đức Vinh sử dụng cỡ mẫu lớn hơn rất nhiều so với nghiên cứu chúng tôi (79 mẫu dương tính trong 1190

mẫu) và sử dụng đồng thời hai kỹ thuật xét nghiệm phân để chẩn đoán nhiễm giun lươn là soi phân và cấy phân Harada Mori cải tiến ở địa điểm nghiên cứu khác. Trong khi đó, một đặc điểm đáng lưu ý là ở những người nhiễm giun lươn mạn tính, số lượng AT có trong phân rất ít và xuất hiện từng đợt, không liên tục, nếu chỉ dùng kỹ thuật soi phân thì có độ nhạy rất thấp, chỉ khoảng 30% [12]. Vì vậy tỉ lệ nhiễm giun lươn trong 2 nghiên cứu là khác nhau.

So sánh bộ kit với bộ môi có cùng mục đích

Do chưa có bộ kit LAMP chẩn đoán GLĐR được thương mại hóa trên thị trường. Vì vậy, chúng tôi tiến hành so sánh bộ kit LAMP trong nghiên cứu của chúng tôi với kết quả ứng dụng bộ môi LAMP chẩn đoán GLĐR của tác giả Perdro- Fernandez- Soto và cộng sự được công bố trên tạp chí Plos Neglected tropical diseases năm 2016 trong chẩn đoán giun lươn thông qua tiến hành thực nghiệm trên 50 mẫu: 25 mẫu dương tính, 25 mẫu âm tính. Kết quả dương tính, âm tính của 50 mẫu này đã được xác định bằng phương pháp real - time PCR. Kết quả cho thấy hệ số Kappa khi so sánh giữa 2 bộ kit là 0,92 chứng tỏ bộ kit LAMP của chúng tôi phù hợp cao với bộ môi đã công bố của Perdro. Điều này chứng tỏ bộ kit của chúng tôi đáp ứng tiêu chuẩn và độ tin cậy để phục vụ nhu cầu sử dụng cho các nghiên cứu đánh giá hoặc áp dụng kỹ thuật LAMP vào chẩn đoán nhiễm GLĐR.

5.KẾT LUẬN

Bộ kit LAMP chẩn đoán giun lươn đường ruột trong nghiên cứu của chúng tôi có độ nhạy 96,88% (CI 95%: 83,78% đến 99,92%), độ đặc hiệu là 97,00% (CI 95%: 91,48%-99,38%). Bộ kit hoạt động ổn định sau 12 tháng bảo quản ở $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ và 6 tháng sau khi mở nắp. Khi đánh giá bộ kit tại thực địa (300 mẫu) thì có kết quả tương đồng 100% với qPCR. Bộ kit và bộ môi có cùng mục đích (bộ môi Perdro- Fernandez- Soto và cs) có sự phù hợp cao với hệ số tương đồng $K = 0,92$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1.Alejandro J. Krolewiecki Patrick Lammie, et al (2013), A Public Health Response against *Strongyloides stercoralis* : Time to Look at Soil-Transmitted, *PLOS Neglected Tropical Diseases*, Volume 7 (5), e2165.
- 2.Centers for Disease Control and Prevention. (2018, December 31). Retrieved from CDC Web site: <https://www.cdc.gov/parasites/strongyloides/epi.html>
- 3.Schoar F., T. U. (2013, volume7). *Strongyloides stercoralis*: global distribution and risk factors. *PLOS Neglected Tropical Disease*, e2288.
- 4.Trần Xuân Mai, Trần Thị Kim Dung, Lê Thị Xuân, Phan Anh Tuấn (2015), *Ký sinh trùng y học*; Nhà xuất bản y học; TP. Hồ Chí Minh.
- 5.Alejandro Krolewiecki, T. B. (2019). Strongyloidiasis: a neglected Tropical Disease. *Infect Dis Clin North Am.*, 33(1): 135–151.
- 6.Nutman, T. B. (2017). Human infection with *Strongyloides stercoralis* and other related *Strongyloides* species. *Parasitology*, 144(3), pp. 263-273.
- 7.Ana Requena-Méndez, et al (2013), The Laboratory Diagnosis and Follow Up of Strongyloidiasis: A Systematic Review, *PLOS Neglected Tropical Diseases*, Volume 7(1), e2002.
- 8.Lê Thị Xuân (2008) *Ký sinh trùng thực hành*; NXB giáo dục; TP. Hồ Chí Minh.
- 9.Yasmin Sultana, N. J. (2013). Real-Time Polymerase Chain Reaction for Detection of *Strongyloides stercoralis* in Stool. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1048–1051.
- 10.Pedro Fernández-Soto, A. S.-H.-A. (2016). Strong-LAMP: A LAMP Assay for *Strongyloides* spp. Detection in Stool and Urine Samples. Towards the Diagnosis of Human Strongyloidiasis Starting from a Rodent Model. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(7):

e0004836.

11. Matthew R. Watts, R. K. (2019). Comparison of Loop-Mediated Isothermal Amplification and Real-Time PCR Assays for Detection of *Strongyloides* Larvae in Different Specimen Matrices. *Journal of Clinical Microbiology*, Volume 57 Issue 4 e01173-18.

12. Robert M. Nishikawa, P. L. (2013). Estimating Sensitivity and Specificity for Technology Assessment Based on Observer Studies. *Academic radiology*, 825-830.

Abstract

EVALUATION OF SENSITIVITY, SPECIFICITY AND STABILITY OF THE *Strongyloides stercoralis* DIAGNOSTIC LAMP KIT

Tran Thi Kim Chi¹, Nguyen Thị Hương Bình², Tran Xuan Mai², Do Nhu Binh³

¹*HCM City University of Medicine and Pharmacy;*

²*National Institute of Malariaology, Parasitology and Entomology;*

³*Military Hospital 103 - Vietnam Military Medical University*

Strongyloidiasis is a chronic human parasitic disease caused by the nematode called Strongyloides spp. Strongyloides is known to exist on all continents but it is most common in the tropics, subtropics, and in warm temperate regions, including Vietnam. Strongyloidiasis is frequently underdiagnosed since many infections remain asymptomatic and conventional diagnostic tests are not sufficiently sensitive. The LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) technique is expected to be a highly sensitive and specific method that can be applied in the field to diagnose Strongyloides stercoralis infection in humans. In this study, we evaluated the sensitivity, specificity and stability of a LAMP kit for diagnosis of Strongyloides stercoralis infection. The kit had the high sensitivity and specificity. It was stable after 12 months of storage at $-200^{\circ}\text{C} \pm 50^{\circ}\text{C}$ and 6 months after opening.

Keywords: *Strongyloides stercoralis*, LAMP, sensitivity, specificity, stability

Cán bộ phản biện

PGS.TS. Cao Bá Lợi

Ngày nhận bài: 18/02/2021

Ngày gửi phản biện: 22/02/2021

Ngày đăng bài: 05/03/2021