

NGHIÊN CỨU SO SÁNH 3 PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN *NEISSERIA MENINGITIDIS* GÂY BỆNH

ThS. NGUYỄN DUY HÀ, ThS. LÊ HẢI YẾN
ThS. PHẠM KIM NHUNG và CS
Viện Y học dự phòng Quân đội

Phản biện khoa học: TS. NGUYỄN CHÍNH PHONG
Trưởng Phòng Vệ sinh phòng dịch, Cục Quân y

TÓM TẮT: Nghiên cứu so sánh 3 phương pháp xét nghiệm phát hiện *N. meningitidis* gây bệnh (gồm nuôi cấy, Real-time và LAMP) trên 90 mẫu bệnh phẩm thu thập từ các vụ dịch năm 2018. **Kết quả:**

33/90 mẫu bệnh phẩm (36,67%) dương tính với *N. meningitidis* bởi ít nhất một phương pháp. Trong đó, phương pháp nuôi cấy dương tính 22/90 mẫu bệnh phẩm (22,44%), phương pháp Realtime PCR dương tính 32/90 mẫu bệnh phẩm (35,56%), phương pháp LAMP phát hiện 30/90 mẫu bệnh phẩm (33,33%). Có 22/90 mẫu bệnh phẩm (22,44%) dương tính và 57/90 mẫu bệnh phẩm (63,33%) âm tính với cả 3 phương pháp. Tỷ lệ đồng thuận của 3 phương pháp xét nghiệm là 87,78%, giữa phương pháp nuôi cấy và LAMP là 91,11%; giữa Realtime PCR và nuôi cấy là 88,89%; giữa Realtime PCR và LAMP là 95,56%. Hệ số Kappa giữa hai phương pháp nuôi cấy và LAMP là 0,78; giữa Realtime PCR và nuôi cấy là 0,74; giữa Realtime PCR và LAMP là 0,9. Phương pháp LAMP và Realtime PCR cho kết quả phát hiện số trường hợp dương tính đúng cao hơn so với phương pháp nuôi cấy (29 so với 22). Độ nhạy, độ đặc hiệu phân tích, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính lần lượt cho phương pháp nuôi cấy là 75,9%; 100%; 100%; 89,7%, phương pháp Realtime PCR là 100%; 95,1%; 90,6%; 100% và phương pháp LAMP là 100%; 98,4%; 96,7%; 100%. Phương pháp LAMP và Realtime PCR có độ nhạy phân tích cao hơn so với phương pháp nuôi cấy (100% so với 75,9%), nhưng phương pháp nuôi cấy có độ đặc hiệu phân tích cao hơn phương pháp LAMP và Realtime PCR từ 2-5%.

Từ khóa: *N. meningitidis*, nhiễm não mô cầu, LAMP.

ABSTRACT: Comparative study on the three methods of detection of *N. meningitidis* pathogen (included culture, Real-time and LAMP method) of 90 specimens collected from epidemics in 2018. **Result:**

There were 33/90 specimens (36.67%) positive with *N. meningitidis* by at least one method. In which, the culture method was positive in 22/90 samples (22.44%), the Real-time PCR method was positive in 32/90 samples (35.56%), the LAMP method detected 30/90 samples (33.33%). There were 22/90 samples (22.44%) positive and 57/90 samples (63.33%) negative for all three methods. The consensus rate of three testing methods was 87.78%, between the culture and LAMP methods was 91.11%; between Real-time PCR and culture methods was 88.89%; between Real-time PCR and LAMP methods was 95.56%. The Kappa coefficient between two methods of culture and LAMP was 0.78; between Real-time PCR and culture methods was 0.74; between Real-time PCR and LAMP methods was 0.9. The LAMP and Real-time PCR methods with results of correct positive cases higher than the culture method (29 compared to 22). The sensitivity, analytical specificity, positive predictive value, negative predictive value for culture method were 75.9% 100%; 100%; 89.7% respectively; the Real-time PCR method was 100%; 95.1%; 90.6%; 100% and the LAMP method was 100%; 98.4%; 96.7%; 100%. The LAMP and Real-time PCR methods had an analytical sensitivity higher than culture methods (100% compared to 75.9%), but the culture method had an analytical specificity higher than the LAMP and Real-time PCR methods from 2-5%.

Keywords: *N. meningitidis*, meningococcus infection, LAMP.

Chịu trách nhiệm nội dung: ThS. Lê Hải Yến, Email: nanglin2010@yahoo.com

Ngày nhận bài: 04/3/2019; mời phản biện khoa học: 26/4/2019; chấp nhận đăng: 30/5/2019.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ.

Viêm màng não do não mô cầu (*Neisseria meningitidis*) là bệnh truyền nhiễm cấp tính, bệnh cảnh lâm sàng đa dạng, biểu hiện tại nhiều mô hoặc cơ quan (hô hấp, thần kinh, khớp, màng tim,

mắt, máu...). Trong đó, thường gặp và nguy hiểm hơn cả là thể nhiễm trùng máu và viêm màng não mủ. Bệnh cảnh viêm màng não do não mô cầu diễn biến rất nhanh, có thể gây tử vong trong 24 giờ nếu không được chẩn đoán, điều trị kịp thời. Bệnh lây qua đường hô hấp và có khả năng gây

thành dịch, trên đối tượng hay gặp là trẻ em dưới 5 tuổi và người trưởng thành từ 19-24 tuổi [1]. Một ca bệnh được chẩn đoán nhiễm não mô cầu dựa trên tổ hợp bằng chứng về lâm sàng và kết quả xét nghiệm, bao gồm sốt kèm theo hội chứng nhiễm trùng nhiễm độc nặng (mệt lả, ý thức lơ mơ, ngủ li bì...); kết quả xét nghiệm máu, dịch não tủy dương tính với *N. meningitidis*.

Phương pháp nuôi cấy được coi là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán nhiễm não mô cầu [2]. Song, việc phát hiện *N. meningitidis* bằng nuôi cấy gặp nhiều khó khăn, như môi trường nuôi cấy chuyên dụng, vi khuẩn dễ bị ảnh hưởng bởi quá trình làm lạnh và làm khô; người bệnh sử dụng kháng sinh trước đó; thời gian trả kết quả dài (khoảng 5-7 ngày)... Do đó, phương pháp này không đáp ứng được yêu cầu khẩn cấp trong phòng chống dịch. Phương pháp sinh học phân tử phát hiện não mô cầu bằng kỹ thuật realtime PCR và multiplex PCR khắc phục được hạn chế của phương pháp nuôi cấy (đặc biệt với các trường hợp đã dùng kháng sinh), thời gian trả kết quả nhanh (3-5 giờ), nhưng đòi hỏi phương tiện, trang thiết bị hiện đại, con người được đào tạo chuyên sâu về sinh học phân tử và chỉ có điều kiện áp dụng ở các cơ sở y tế tuyến trung ương, rất khó triển khai tại các tuyến quân y cơ sở. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) là kỹ thuật khuếch đại acid nucleic để phân biệt sự khác nhau của nucleotid mạch đơn. Đặc trưng của kỹ thuật LAMP là việc chỉ sử dụng một DNA polymerase có độ nhạy thấp để ức chế và một bộ 4 đoạn mỗi đoạn được thiết kế đặc biệt để nhận biết 6 trình tự khác nhau trên gen đích [3]. Đây là kỹ thuật đơn giản, yêu cầu trang thiết bị gọn nhẹ, có thể triển khai tại thực địa, giúp phát hiện nhanh, sớm tác nhân gây dịch do não mô cầu gây ra. Tại Việt Nam, chưa có nghiên cứu nào tiến hành so sánh đồng thời khả năng chẩn đoán và tính khả thi của 3 phương pháp xét nghiệm (nuôi cấy, realtime PCR và kỹ thuật LAMP) đối với nhiễm khuẩn do não mô cầu.

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm so sánh các phương pháp xét nghiệm (nuôi cấy, realtime PCR, LAMP) chẩn đoán *N. Meningitidis* gây bệnh. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp thông tin, tư vấn cho một tổ hợp xét nghiệm sử dụng trong chẩn đoán nhanh và chính xác nhiễm khuẩn não mô cầu tại Việt Nam.

2. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

90 mẫu bệnh phẩm thu thập trong các vụ dịch não mô cầu xảy ra trong quân đội năm 2018 (gồm 6 mẫu dịch não tủy của bệnh nhân và 84 mẫu

nhầy họng của người tiếp xúc gần bệnh nhân).

2.2. Vật liệu sử dụng trong nghiên cứu:

- Chứng dương: 6 chủng chuẩn *N. meningitidis* nhóm A, B, C, X, Y, W 135 (ATCC® 13077 TM; ATCC® 13090 TM; ATCC® 1312TM; ATCC® 35559 TM ATCC® 35560 TM; ATCC® 35561 TM) lưu trữ tại Khoa Vi sinh vật, Viện Y học dự phòng Quân đội.

- Chứng âm: kiểm soát quy trình của các phương pháp dùng trong nghiên cứu.

2.3. Phương pháp nghiên cứu:

- Thiết kế nghiên cứu: thực nghiệm, mô tả và so sánh.

- Phương pháp dùng trong nghiên cứu:

+ Phương pháp nuôi cấy: phân lập trên môi trường thạch chocolate; sau đó, khẳng định vi khuẩn bằng phương pháp multiplex PCR.

Nuôi cấy phân lập *N. meningitidis* từ mẫu bệnh phẩm lâm sàng theo thường quy xét nghiệm phân lập và định danh vi khuẩn *N. meningitidis* của Phòng Xét nghiệm tối nguy hiểm, Viện Y học dự phòng Quân đội. Mẫu nhầy họng, dịch não tủy sau khi lấy được cấy vào môi trường chocolate có chứa kháng sinh VCN để ức chế các vi khuẩn khác phát triển. Các đĩa sau khi cấy được ủ trong khí trường có 5-10% CO₂, nhiệt độ 37°C, thời gian 24-48 giờ. Sau đó, tiến hành bắt khuẩn lạc. Đặc điểm khuẩn lạc của *N. meningitidis* dạng S, tròn, nhẵn, kích thước khoảng 0,5-1 mm, không màu hoặc màu xám nhạt [1].

Khẳng định vi khuẩn *N. meningitidis* bằng phương pháp multiplex PCR: DNA của vi khuẩn *N. meningitidis* được tách chiết từ khuẩn lạc điển hình trên môi trường chocolate bằng phương pháp nhiệt. Lấy 1-2 khuẩn lạc cho vào ống eppendorf chứa 2 ml nước muối sinh lý để sử dụng làm khuôn cho phản ứng PCR đa mồi theo quy trình khẳng định *N. meningitidis* gây bệnh tại Phòng Virut - sinh học phân tử, Viện Y học dự phòng Quân đội. Bốn cặp mồi được sử dụng là cặp mồi ctrA phát hiện loài, cặp mồi SacDa phát hiện nhóm A, cặp mồi Sia Db phát hiện nhóm B, cặp mồi Sia Dc phát hiện nhóm C. Chu trình nhiệt cho phản ứng PCR là: 95°C trong 5 phút, 35 chu kỳ lặp lại bao gồm biến tính ở 95°C trong 30 giây, bắt cặp 56°C trong 30 giây, kéo dài 72°C trong 1 phút. Sản phẩm PCR được phát hiện bằng điện di trên thạch Agarose 2%. Quy trình PCR đa mồi này được phòng xét nghiệm xác định độ nhạy là 50 vi khuẩn/1 phản ứng, độ đặc hiệu 100% trên chủng vi khuẩn [4].

+ Phương pháp Realtime PCR: thực hiện theo quy trình chẩn đoán nhiễm khuẩn não mô cầu từ

mẫu bệnh phẩm lâm sàng của Phòng Virut - sinh học phân tử, Viện Y học dự phòng Quân đội. Mẫu bệnh phẩm được tách chiết ADN bằng bộ kit QIAgen ADN mini kit (Đức). Hỗn hợp ADN sau khi tách chiết được sử dụng làm khuôn trong phản ứng realtime PCR để phát hiện *N. meningitidis* với cặp mồi ContrA, Probe ContrA. Điều kiện cho phản ứng là 50°C trong 2 phút, 95°C trong 15 phút; 45 chu kì lặp lại, gồm: 94°C trong 45 giây, 60°C trong 1 phút. Phản ứng dương tính khi có tín hiệu từ chu kì 20-30. Phương pháp này đã được xác định độ nhạy lâm sàng và độ đặc hiệu lâm sàng 98% và 100% so với phương pháp nuôi cấy.

+ Phương pháp LAMP: mẫu bệnh phẩm được tách chiết ADN bằng bộ kit QIAgen ADN mini kit (Đức). Hỗn hợp ADN sau khi tách chiết được sử dụng làm khuôn trong phản ứng LAMP để phát hiện *N. meningitidis* với cặp mồi FIP, BIP, F3, B3, LOOP F, LOOP B [5]. Điều kiện cho phản ứng 65°C trong 45 phút, đọc kết quả bằng mắt thường khi có sự chuyển màu của hỗn hợp phản ứng từ màu hồng sáng màu vàng. Phương pháp này đã được xác định độ nhạy lâm sàng và độ đặc hiệu lâm sàng 91,7% và 98,5% so với phương pháp realtime PCR [6].

- Tiêu chí đánh giá:

+ Tiêu chí đánh giá kết quả của các phương pháp: một kết quả được xác định dương tính đúng khi có ít nhất 2 phương pháp cùng cho kết quả dương tính; một kết quả được xác định là âm tính đúng khi có ít nhất 2 phương pháp cùng cho kết quả âm tính.

+ Tỷ lệ đồng thuận giữa các phương pháp được xác định là tỉ số phần trăm giữa số các kết quả giống nhau trên tổng số kết quả.

+ Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính và giá trị dự đoán âm tính của phương pháp được xác định lần lượt là tỉ số phần trăm giữa số kết quả dương tính đúng trên tổng số kết quả dương tính đúng và âm tính giả; tỉ số phần trăm giữa số kết quả âm tính đúng trên tổng số kết quả âm tính đúng và dương tính giả; tỉ số phần trăm giữa số kết quả dương tính đúng trên tổng số kết quả dương tính đúng và dương tính giả; tỉ số phần trăm giữa số kết quả âm tính đúng trên tổng số kết quả âm tính đúng và âm tính giả.

- Xử lý số liệu: bằng phương pháp thống kê y học thông thường.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.

3.1. Kết quả phân tích mẫu bệnh phẩm của ba phương pháp xét nghiệm:

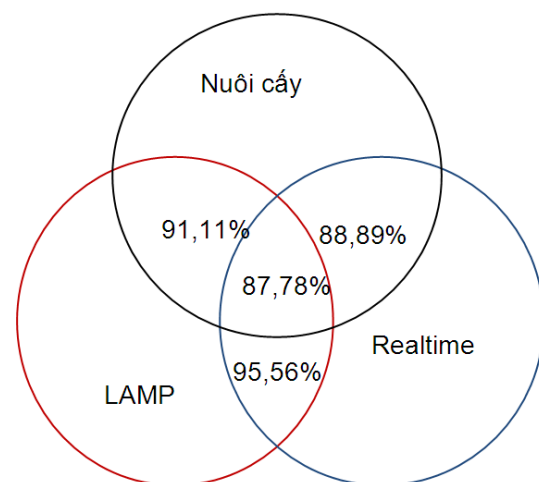
- Kết quả chẩn đoán *N. Meningitidis*:

Bảng 1. Kết quả chẩn đoán *N. meningitidis*.

Kết quả	Nuôi cấy	Realtime PCR	LAMP	Số mẫu
Chẩn đoán	+	+	+	22
	-	+	+	7
	+	+	-	0
	+	-	+	0
	+	-	-	0
	-	+	-	3
	-	-	+	1
	-	-	-	57
Tổng	22	32	30	90

Trong tổng số 90 mẫu bệnh phẩm, có 33/90 mẫu (36,67%) dương tính với *N. meningitidis* bởi ít nhất một phương pháp. 22/90 mẫu bệnh phẩm (22,44%) nuôi cấy dương tính với *N. Meningitidis*, 11 mẫu âm tính với nuôi cấy nhưng lại dương tính với ít nhất một trong hai phương pháp còn lại. 32/90 mẫu bệnh phẩm (35,56%) xét nghiệm Realtime PCR dương tính với *N. meningitidis*; 30/90 mẫu bệnh phẩm (33,33%) xét nghiệm bằng LAMP dương tính với *N. meningitidis*. 22/90 mẫu bệnh phẩm (22,44%) dương tính trên cả ba phương pháp, 57/90 mẫu bệnh phẩm (63,33%) âm tính với cả ba phương pháp.

- Tỷ lệ đồng thuận của 3 phương pháp xét nghiệm chẩn đoán nhiễm *N. meningitidis* :



Tỷ lệ đồng thuận giữa ba phương pháp xét nghiệm chẩn đoán nhiễm *N. meningitidis*.

Kết quả cho thấy, tỷ lệ đồng thuận của ba phương pháp xét nghiệm là 87,78%; đồng thuận giữa hai phương pháp nuôi cấy và LAMP là 91,11%; đồng thuận giữa Realtime PCR và nuôi cấy là 88,89%; đồng thuận giữa Realtime PCR và LAMP là 95,56%. Hệ số Kappa giữa hai phương pháp nuôi cấy và LAMP là 0,78; giữa Realtime

PCR và nuôi cấy là 0,74; giữa Realtime PCR và LAMP là 0,9.

3.2. So sánh khả năng chẩn đoán và tính khả thi của ba phương pháp xét nghiệm:

Bảng 2. Kết quả chẩn đoán của 3 phương pháp xét nghiệm.

Kết quả	Nuôi cấy	Realtime PCR	LAMP
Dương tính đúng	22	29	29
Âm tính đúng	61	58	60
Dương tính giả	0	3	1
Âm tính giả	7	0	0
Độ nhạy	75,9%	100%	100%
Độ đặc hiệu	100%	95,1%	98,4%
Giá trị tiên đoán dương	100%	90,6%	96,7%
Giá trị tiên đoán âm	89,7%	100%	100%

Áp dụng tiêu chí đánh giá kết quả sử dụng trong nghiên cứu cho thấy, phương pháp LAMP và Realtime PCR cho kết quả phát hiện số trường hợp dương tính đúng cao hơn so với phương pháp nuôi cấy (29 so với 22). Độ nhạy, độ đặc hiệu phân tích, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính lần lượt cho phương pháp nuôi cấy là 75,9%, 100%, 100%, 89,7%; phương pháp Realtime PCR là 100%, 95,1%, 90,6%, 100% và phương pháp LAMP là 100%, 98,4%, 96,7%, 100%. Phương pháp LAMP và Realtime PCR có độ nhạy phân tích cao hơn so với phương pháp nuôi cấy (100% so với 75,9%), nhưng phương pháp nuôi cấy có độ đặc hiệu phân tích cao hơn phương pháp LAMP và Realtime PCR từ 2-5%.

Bảng 3. So sánh tính khả thi của 3 phương pháp xét nghiệm.

Tiêu chí so sánh	Nuôi cấy	Realtime PCR	LAMP
Thời gian	3-5 ngày	3-5 giờ	1-2 giờ
Thao tác	Phức tạp nhất	Phức tạp	Đơn giản
Yêu cầu thiết bị	Môi trường, tủ ấm	Máy Realtime	Máy ủ nhiệt
Áp dụng thực địa	Không khả thi	Không khả thi	Khả thi
Giá thành	500.000 đ	350.000 đ	200.000 đ

Dựa trên một số yếu tố về quá trình thực hiện của từng phương pháp xét nghiệm (thời gian, thao tác kỹ thuật, yêu cầu về mẫu và thiết bị, giá thành) cho thấy, phương pháp LAMP là sự lựa chọn tối ưu, chẩn đoán nhanh và chính xác nhiễm khuẩn não mô cầu tại các tuyến quân y đơn vị.

4. BÀN LUẬN.

Khi so sánh khả năng chẩn đoán của các phương pháp xét nghiệm chẩn đoán nhiễm khuẩn não mô cầu, có hai cách để đánh giá là: sử dụng một phương pháp chuẩn làm tiêu chí để so sánh các phương pháp còn lại; hoặc coi các phương pháp có giá trị như nhau và các kết quả được xác định là dương tính đúng khi có ít nhất 1/2 số phương pháp nghiên cứu cho kết quả dương tính. Nghiên cứu này sử dụng tiêu chí một kết quả được xác định là dương tính đúng khi có ít nhất 2 phương pháp cùng cho kết quả dương tính.

Áp dụng tiêu chí đánh giá này, chúng tôi xác định được phương pháp Realtime PCR có khả năng phát hiện cao nhất (32/33 mẫu), độ nhạy đạt 100%; phương pháp nuôi cấy có độ đặc hiệu cao nhưng độ nhạy lại thấp (75,9%), phát hiện được 22/33 mẫu dương tính; phương pháp LAMP có độ nhạy tương đương phương pháp Realtime PCR (100%). Tỷ lệ đồng thuận giữa ba phương pháp là 87,78%; phương pháp LAMP và Realtime PCR có tỷ lệ đồng thuận cao nhất 95,56%. Phương pháp nuôi cấy được coi là tiêu chuẩn vàng trong nghiên cứu so sánh đánh giá các phương pháp xét nghiệm mới chẩn đoán nhiễm khuẩn não mô cầu. Tuy nhiên, phương pháp nuôi cấy cần thực hiện tại các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng, với thời gian nuôi cấy lâu, môi trường nuôi cấy đặc hiệu, kết quả bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ và thói quen sử dụng kháng sinh. Điều này khiến cho giá thành xét nghiệm chẩn đoán *N. meningitidis* bằng phương pháp nuôi cấy cao (khoảng 500.000 đồng).

Dựa trên các kết quả về độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính, tỷ lệ đồng thuận giữa các phương pháp cùng ưu nhược điểm của mỗi phương pháp xét nghiệm trong nghiên cứu, chúng tôi gợi ý rằng, tổ hợp xét nghiệm LAMP và Realtime PCR có thể hỗ trợ cho nhau, phối hợp sử dụng chẩn đoán nhanh và chính xác nhiễm khuẩn não mô cầu tại các bệnh viện quân đội. Tuy nhiên, phương pháp Realtime PCR khó triển khai tại các tuyến quân y đơn vị; phương pháp LAMP được coi là hướng đi mới cho chẩn đoán nhanh nhiễm khuẩn não mô cầu và khả thi khi triển khai tại tuyến quân y đơn vị. Quy trình chẩn đoán nhanh theo phương pháp LAMP tại đơn vị gồm 2 bước: lấy mẫu xét nghiệm, tách chiết DNA và tiến hành chạy phản ứng LAMP. Tổng thời gian xét nghiệm cho kết quả từ 1-2 giờ. Hơn nữa, thao tác thực hiện và yêu cầu thiết bị của phương pháp này đơn giản, dễ thực hiện.

Kết quả nghiên cứu này cho thấy, 11 mẫu âm tính với nuôi cấy, nhưng 10/11 mẫu này dương tính với Realtime PCR và 8/11 mẫu dương tính

với LAMP. Có thể vi khuẩn đã chết trong quá trình lấy mẫu hay vận chuyển. Thêm vào đó, mẫu bệnh phẩm cần phải được tiến hành xét nghiệm trong vòng 2 giờ sau khi lấy mẫu, nếu bảo quản ở nhiệt độ 4°C hoặc nhiệt độ âm 20°C thì vi khuẩn sẽ chết, gây âm tính giả. 8 trường hợp dương tính với LAMP, nhưng âm tính với nuôi cấy, có thể do bệnh nhân đã được điều trị với kháng sinh, dẫn đến nồng độ vi khuẩn *N. meningitidis* trong mẫu thấp và không được phát hiện bằng nuôi cấy (nhưng phương pháp Nested PCR đã phát hiện được). 1 mẫu bệnh phẩm dương tính với LAMP, nhưng âm tính với Realtime PCR. Có thể do phản ứng Realtime PCR bị ức chế bởi các chất trong mẫu hoặc có hiện tượng đột biến xảy ra trên gen *CtrlA* của chủng vi khuẩn *N. meningitidis* phân lập được từ mẫu bệnh phẩm đó. Đột biến có thể ở vị trí bắt cặp với cặp mồi đã sử dụng trong quy trình Realtime PCR khiến cho quá trình khuếch đại gen không thành công. Nghiên cứu của chúng tôi có hạn chế là số lượng mẫu ít (90 mẫu). Tuy nhiên, trong số 90 mẫu trên, có 33 mẫu dương tính với ít nhất một phương pháp xét nghiệm, 22 mẫu dương tính với cả ba phương pháp xét nghiệm, chiếm tỉ lệ lần lượt là 36,67% và 24,44%. Số dĩ có tỉ lệ dương tính cao như vậy là do phần lớn các mẫu này đều được lấy từ bệnh nhân và những người tiếp xúc gần với bệnh nhân trong các vụ dịch do não mô cầu gây ra.

5. KẾT LUẬN.

Nghiên cứu so sánh ba phương pháp chẩn đoán nhiễm khuẩn *N. meningitidis* trên 90 mẫu bệnh phẩm thu thập tại các vụ dịch xảy ra trong quân đội năm 2018 (gồm 6 mẫu dịch não tủy của bệnh nhân, 84 mẫu nhầy họng của người tiếp xúc gần với bệnh nhân), kết luận:

- 22/90 mẫu bệnh phẩm (24,44%) cho kết quả dương tính với *N. meningitidis* trên cả ba phương pháp; 33/90 mẫu bệnh phẩm (36,67%) dương tính với *N. meningitidis* bởi ít nhất một phương pháp. 22/90 mẫu bệnh phẩm (24,44%) nuôi cấy dương tính với *N. Meningitidis*; 32/90 mẫu bệnh phẩm (35,56%) xét nghiệm Realtime PCR dương tính với *N. meningitidis*; 30/90 mẫu bệnh phẩm (33,33%) xét nghiệm bằng phương pháp LAMP dương tính với *N. meningitidis*.

- Tỉ lệ đồng thuận của ba phương pháp xét nghiệm là 87,78%; đồng thuận giữa hai phương pháp nuôi cấy và LAMP là 91,11%, Realtime PCR và nuôi cấy là 88,89%; đồng thuận giữa hai phương pháp Realtime PCR và LAMP là 95,56%. Hệ số Kappa giữa hai phương pháp nuôi cấy và LAMP là 0,78; giữa hai phương pháp Realtime PCR và nuôi cấy là 0,74; giữa hai phương pháp Realtime PCR và LAMP là 0,9.

- Phương pháp LAMP và Realtime PCR cho kết quả phát hiện số trường hợp dương tính đúng cao hơn so với phương pháp nuôi cấy (29 so với 22 trường hợp). Độ nhạy, độ đặc hiệu phân tích, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính lần lượt cho phương pháp nuôi cấy là 75,9%, 100%, 100%, 89,7%; phương pháp Realtime PCR là 100%, 95,1%, 90,6%, 100% và phương pháp LAMP là 100%, 98,4%, 96,7%, 100%. Phương pháp LAMP và Realtime PCR có độ nhạy phân tích cao hơn so với phương pháp nuôi cấy (100% so với 75,9%), nhưng phương pháp nuôi cấy có độ đặc hiệu phân tích cao hơn phương pháp LAMP và Realtime PCR từ 2-5%.

Từ kết quả nghiên cứu này, dựa trên các yếu tố thời gian, thao tác kỹ thuật, yêu cầu về mẫu và thiết bị, giá thành kỹ thuật của từng phương pháp xét nghiệm, chúng tôi thấy rằng phương pháp LAMP là sự lựa chọn tối ưu, chẩn đoán nhanh và chính xác nhiễm khuẩn não mô cầu tại các tuyến quân y đơn vị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Nguyễn Thái Sơn (2011), *Vi sinh vật y học (Học viện Quân y)*, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, tr. 214-217.
2. Nguyễn Ngọc Bảo, Phạm Thị Kim Nhung, Nguyễn Phương Liên, Đoàn Trọng Tuyên (2010) "Ứng dụng kỹ thuật PCR và multiplex PCR phát hiện *Neisseria meningitidis* trong các mẫu bệnh phẩm lâm sàng", *Tạp chí Y dược lâm sàng 108*, tr. 35-38.
3. Nguyễn Duy Hà, Lê Hải Yến, Trịnh Sao Mai (2019), "Ứng dụng kỹ thuật LAMP chẩn đoán nhanh *Neisseria meningitidis* gây viêm màng não tại tuyến đơn vị", *Tạp chí Y học quân sự*, 334, tr. 38-41.
4. Xavier Nassif, Jean-Luc Beretti et al (April 1994), *Role of pilin and PilC in adhesion of Neisseria meningitidis to human epithelial and endothelial cells*. Vol. 91, pp. 3769-3773.
5. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N and Hase T (2000), *Loop-mediated isothermal amplification of DNA*, *Nucleic Acids. Res*, 28 (12), pp. 7.
6. James P Mc Kenna (2011), *Development and clinical validation of a loop-mediated isothermal amplification method for the rapid detection of Neisseria meningitidis*, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 69, pp. 137-144.
7. Hisatoshi Kaneko (2007), "Tolerance of loop-mediated isothermal amplification to a culture medium and biological substances", *J. Biochem. Biophys. Methods*, 70, pp. 499-501. □