

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG KỸ THUẬT LAMP TRONG PHÁT HIỆN NHANH VI KHUẨN *NEISSERIA MENINGITIDIS* NHẮM ĐẾN GENE MỤC TIÊU *metA*

Lê Phương Uyên^{1*}, Lê Thanh Tân¹, Trần Quốc Việt¹
Nguyễn Minh Hải¹, Đỗ Hà Trang¹, Nguyễn Tiến Thành¹
Nguyễn Văn Phát¹, Trần Minh Tường¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật khuếch đại đẳng nhiệt vòng lặp (LAMP) phát hiện nhanh *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*) nhắm đến gene mục tiêu *metA*

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu tiến hành phản ứng LAMP trên *metA* Gblock và DNA toàn phần tách chiết từ *N. meningitidis*, với thành phần và điều kiện phản ứng tối ưu theo phương pháp tối ưu đơn biến. Bộ mỗi thiết kế riêng để phát hiện gene *metA* của *N. meningitidis* bằng phần mềm PrimerExplorer. Đánh giá độ đặc hiệu của mỗi bằng phân tích độ tương đồng với trình tự gene các phân týp khác nhau của *N. meningitidis* và vi khuẩn liên quan, kết hợp với PCR in-silico để kiểm tra khả năng xảy ra phản ứng chéo; đồng thời, so sánh với phương pháp PCR melting curve. Đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của phản ứng LAMP trên 50 mẫu lưu từ các đợt giám sát não mô cầu.

Kết quả: Bộ mỗi đã thiết kế và trình tự gene của các phân týp *N. meningitidis* phổ biến tại khu vực châu Á có độ sai khác nucleotide là 0%. Phân tích PCR in-silico cho thấy không có sự hình thành sản phẩm không đặc hiệu với các loài vi khuẩn khác. Tại điều kiện tối ưu, phản ứng LAMP có thể phát hiện *N. meningitidis* với giới hạn $2,5 \times 10^3$ fg/phản ứng khi ủ ở nhiệt độ 63°C trong 45 phút. Ngưỡng phát hiện tương đương với phương pháp PCR melting curve trong cùng nghiên cứu, với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 100% và 88%.

Kết luận: Nghiên cứu tối ưu thành công phản ứng LAMP phát hiện nhanh *N. meningitidis* nhắm đến mục tiêu gene *metA*. Kết quả cung cấp thêm một sự lựa chọn đơn giản và dễ tiếp cận cho xét nghiệm chẩn đoán *N. meningitidis*.

Từ khóa: LAMP, *Neisseria meningitidis*, *metA*.

ABSTRACT

Objectives: Optimizing LAMP reaction to detect the *metA* gene of *Neisseria meningitidis*.

Subjects and methods: LAMP reactions were conducted on the *metA* Gblock and total DNA extracted from *N. meningitidis*. Reaction components and conditions were determined using the univariate optimization method. The specific primer set for detecting the *metA* gene was designed using the PrimerExplorer software. Specificity of the primers were analyzed by aligning sequences to genomes of *N. meningitidis* serotypes and related bacterial species to calculate the mismatch percentage. Additionally, in-silico PCR was conducted to assess cross-reactivity and to compare with the PCR melting curve method. The specificity and sensitivity of LAMP reaction were evaluated using fifty archived samples from meningococcal surveillance programs.

Results: The primer similarity analysis result showed 0% mismatch with all prevalent *N. meningitidis* serotypes in Asia. In-silico PCR analysis confirmed no non-specific amplification with other related bacterial species. Under the optimized conditions of 63°C in 45 minutes, LAMP could detect *N. meningitidis* with detection limit of $2,5 \times 10^3$ fg per reaction. The achieved limit of detection was comparable to the PCR melting curve method in the same study. Specificity and sensitivity values were 88% and 100%, respectively.

Conclusion: The study successfully developed and evaluated the colorimetric LAMP assay for rapid detection of *N. meningitidis* targeting the *metA* gene. This provides an additional, simple, and accessible option for *N. meningitidis* diagnostic testing.

Keywords: LAMP, *Neisseria meningitidis*, *metA*.

Chịu trách nhiệm nội dung: Lê Phương Uyên, Email: lpuyen.vn@gmail.com

Ngày nhận bài: 10/02/2025; mời phản biện khoa học: 2/2025; chấp nhận đăng: 26/11/2025.

¹Viện Y học dự phòng Quân đội phía Nam.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm màng não do não mô cầu (*Neisseria meningitidis* - *N. meningitidis*) là bệnh nhiễm khuẩn cấp tính nguy hiểm, có tỉ lệ tử vong từ 10-15% và có thể lên đến 50% ở các trường hợp tiến triển nhiễm khuẩn huyết [1, 2]. Bệnh xuất hiện rải rác quanh năm, lây truyền qua đường hô hấp và có nguy cơ bùng phát thành dịch, gây mối đe dọa nghiêm trọng đến sức khỏe cộng đồng. Cho đến nay, nuôi cấy *N. meningitidis* từ dịch não tủy là tiêu chuẩn vàng để phát hiện mầm bệnh. Phương pháp này đòi hỏi thời gian thực hiện dài và dễ cho kết quả âm tính giả, nhất là khi bệnh nhân đã dùng kháng sinh [3, 4]. Khắc phục những hạn chế này, các kĩ thuật sinh học phân tử đã được áp dụng, nổi bật là kĩ thuật khuếch đại đẳng nhiệt vòng lặp (LAMP). Đây là phương pháp giúp rút ngắn thời gian chẩn đoán, nâng cao độ nhạy, thực hiện trong điều kiện tối giản và có thể đáp ứng trong các trường hợp khẩn cấp.

Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu ứng dụng phương pháp LAMP trong phát hiện *N. meningitidis* (viết tắt là "NM LAMP"). Năm 2020, một phân tích tổng hợp từ 14 nghiên cứu cho thấy, LAMP là phương pháp ít tốn kém, phù hợp để phát hiện nhanh vi khuẩn trong các mẫu lâm sàng và có độ chính xác cao, với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 94% và 100% [5]. Tại Việt Nam, một số nghiên cứu đã ứng dụng kĩ thuật LAMP để phát hiện *N. meningitidis*, như nghiên cứu của Nguyễn Duy Hà (2018), phản ứng LAMP cho kết quả nhanh chóng dựa trên sự thay đổi màu sắc phản ứng khi bổ sung chỉ thị màu [6]; Đào Thị Huyền (2024) nghiên cứu kết hợp LAMP với CRISPR/Cas để phát hiện nhanh *N. meningitidis* bằng que thử dòng chảy ngang, giúp tăng độ đặc hiệu của phản ứng mà vẫn bảo đảm

sự đơn giản của quy trình [7]. Mặc dù có nhiều tiềm năng, việc sử dụng gene *ctrA* làm mục tiêu trong hai nghiên cứu trên vẫn tiềm ẩn nguy cơ âm tính giả, do sự đa dạng di truyền lớn trên vùng gene này [8]. Do đó, nhiều nghiên cứu đã đề xuất về việc thay thế hoặc sử dụng kết hợp gene *ctrA* với các gene khác, trong đó, gene *metA* có tiềm năng cao [8].

Chúng tôi thực hiện đề tài này nhằm nghiên cứu phát triển và ứng dụng kỹ thuật LAMP trong phát hiện nhanh vi khuẩn *N. meningitidis* nhắm đến gene mục tiêu *metA* dựa trên sự thay đổi màu sắc của phản ứng từ hồng (tín hiệu âm) sang vàng (tín hiệu dương). Qua đó, cung cấp thêm sự lựa chọn đơn giản và dễ tiếp cận cho xét nghiệm chẩn đoán *N. meningitidis*.

2. VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Gblock và môi của *N. meningitidis* do nhóm nghiên cứu thiết kế, được tổng hợp bởi Phusa Genomics (Cần Thơ, Việt Nam). DNA toàn phần tách chiết từ vi khuẩn *N. meningitidis* và mẫu bệnh phẩm. Hóa chất WarmStart® Colorimetric LAMP 2X Master Mix (hỗn hợp enzyme LAMP) cung cấp bởi Công ty New England Biolabs (Hoa Kỳ), HOT FIREPol SolisGreen qPCR Mix cung cấp bởi Solis BioDye (Estonia), trehalose cung cấp bởi Sigma (Hoa Kỳ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế bộ môi cho phản ứng LAMP bằng phần mềm Primer Explorer V5. Quy trình sử dụng phần mềm và lựa chọn thông số cho môi thực hiện theo hướng dẫn (https://primerexplorer.jp/e/v5_manual/); trình tự môi và Gblock được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Trình tự gene *metA* và môi sử dụng trong nghiên cứu. Vị trí và hướng của các môi ngoài F3, B3, các môi trong FIP (F1c/F2), BIP (B1c/B2) và môi vòng Loop thể hiện trong các khung mũi tên.

Bảng 1. Tên và mã gene các vi khuẩn sử dụng trong nghiên cứu

Tên vi khuẩn	Mã gene
<i>Neisseria sp.</i>	NC_003116; NC_003112; NC_010120; NZ_CP021520; NZ_CP016650; Số thứ tự 657 (bộ dữ liệu PubMLTS); NZ_CP039886; GCF_013030075; GCF_963392925; GCF_900475315; NZ_CP020452; NZ_CP072524
<i>Klebsiella sp.</i>	GCF_000240185; GCF_900636985
<i>Streptococcus sp.</i>	GCF_900475975
<i>Bordetella parapertussis</i>	NZ_CP085971
<i>Citrobacter freundii</i>	GCF_904859905
<i>Enterobacter cloacae</i>	GCF_905331265
<i>Escherichia coli</i>	NC_000913
<i>Micrococcus luteus</i>	GCF_900475555
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	NC_000962
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NC_002516
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	GCF_900186865
<i>Staphylococcus sp.</i>	NC_007795; GCF_040739365; NZ_CP014022
<i>Sphingobacterium sp.</i>	GCF_016725645; GCF_901482695
<i>Bacteriodes fragilis</i>	NC_003228
<i>Candida albicans</i>	GCF_000182965
<i>Coxiella burnetii</i>	GCF_000007765
<i>Enterococcus faecalis</i>	GCF_000393015
<i>Haemophilus influenzae</i>	NZ_CP085952
<i>Moraxella catarrhalis</i>	GCF_002080125
<i>Proteus vulgaris</i>	GCF_025200655
<i>Serratia marcescens</i>	GCF_030291735

- Trình tự tham chiếu của các phân typ *N. meningitidis* phổ biến và các vi khuẩn liên quan được tải từ NCBI. Danh sách các vi khuẩn trình bày tại bảng 1. Mỗi sắp xếp giống hàng và so sánh với trình tự gene vi khuẩn để tính độ sai khác nucleotide bằng phần mềm Geneious Prime (<https://www.geneious.com/>). Tỷ lệ (%) sai khác nucleotide được tính bằng cách chia tổng số nucleotide sai khác với tổng nucleotide của mỗi và tính trung bình. Phản ứng PCR *in-silico* thực hiện bằng phần mềm FastPCR (<https://primer-digital.com/fastpcr.html>) để dự đoán các đặc điểm của sản phẩm tạo thành từ bộ mồi LAMP và trình tự mục tiêu; đồng thời, kiểm tra khả năng xảy ra phản ứng chéo của mồi với các trình tự gene của vi khuẩn khác.

- Thực hiện phản ứng NM LAMP và tối ưu đơn biến theo mô tả từ công bố trước đó [9, 10]. Tổng thể tích phản ứng là 15 μ L, bao gồm các thành phần được liệt kê tại bảng 2.

Ủ toàn bộ phản ứng bằng máy ủ nhiệt khô (BioSan Thermo-shaker TS-100C) từ 55-65°C trong 15-75 phút. Chỉ tiêu đánh giá là sự thay đổi

màu sắc của hỗn hợp phản ứng từ hồng (tín hiệu âm) sang vàng (tín hiệu dương).

Bảng 2. Các thành phần của phản ứng LAMP

Tên hóa chất		Thể tích/Nồng độ
Hỗn hợp enzyme LAMP		7,5 μL
Mạch khuôn DNA		1 μL
Trehalose		0-0,6 M
Hỗn hợp mồi		1X-4X
Thành phần của hỗn hợp mồi 1X	FIP/BIP	0,8 μM
	F3/B3	0,1 μM
	Loop	0,2 μM

- Pha loãng DNA toàn phần tách chiết từ *N. meningitidis* (cung cấp bởi Viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh) theo tuần tự từ nồng độ 2,5 x 10⁶ fg/ μ L về nồng độ 2,5 fg/ μ L nhằm xác định ngưỡng phát hiện của phản ứng LAMP. Để so sánh hiệu quả LAMP với phương pháp khác, chúng tôi thực hiện song song phản ứng PCR melting curve với cùng các nồng độ DNA [11].

- Xác định độ đặc hiệu (Sp) và độ nhạy (Se) trên DNA toàn phần của 25 mẫu lưu dương tính và 25 mẫu lưu âm tính từ đợt giám sát não mô cầu năm 2024, do Viện Y học dự phòng Quân đội phía Nam cung cấp.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đánh giá độ đặc hiệu của mỗi dùng trong phản ứng NM LAMP

Bảng 3. Tỷ lệ sai khác nucleotide (%) giữa trình tự môi và bộ gene của các vi khuẩn

Nhóm vi khuẩn	Tỷ lệ sai khác nucleotide (%)
<i>N. meningitidis</i>	0
Các loài <i>Neisseria</i> khác	28,1 ± 1,5
Các vi khuẩn khác chi <i>Neisseria</i>	27,4 ± 0,6

Bộ môi hoàn toàn tương đồng với trình tự gene của tất cả các phân týp *N. meningitidis* độc lực cao thử nghiệm (0% sai khác), khẳng định khả năng phát hiện rộng rãi các phân týp. Ngược lại, có sự khác biệt lớn về nucleotide (trung bình 27,4%) giữa trình tự bộ môi và trình tự gene của các loài vi khuẩn khác, bao gồm cả các loài cùng chi *Neisseria* (khác biệt trung bình đạt 28,1%).

Phân tích PCR *in-silico* cho thấy, khi thiết lập độ sai khác tại đầu 3' ở mức 0 và 1 nucleotide, không xảy ra sự bắt cặp không đặc hiệu cũng như

không có sản phẩm khuếch đại không đặc hiệu nào được tạo thành. Với mức thiết lập sai khác 2 và 3 nucleotide, mặc dù, vẫn có sự bắt cặp không đặc hiệu nhưng không có sản phẩm khuếch đại tạo thành ở các trường hợp này. Ở mức sai khác 4 nucleotide, chỉ *Staphylococcus capitis* (*S. capitis*) tạo sản phẩm khuếch đại với mỗi F3 và BIP của NM LAMP.

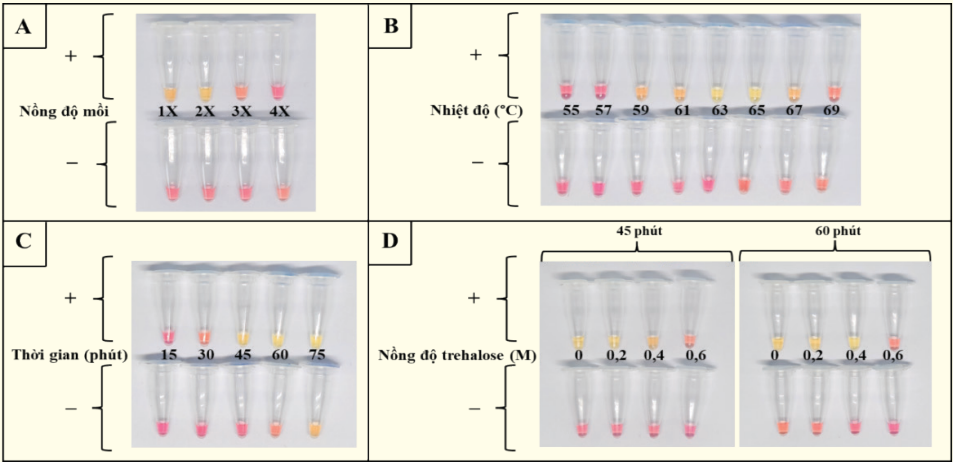
Bảng 4. Kết quả thực hiện phản ứng PCR *in-silico* với bộ môi NM LAMP

Số sai khác nucleotide tại đầu 3'		0	1	2	3	4
Khả năng gắn kết của môi	<i>N. meningitidis</i>	+	+	+	+	+
	Các loài <i>Neisseria</i> khác	-	-	+	+	+
	Các chủng vi sinh vật khác	-	-	+	+	+
Khả năng hình thành sản phẩm PCR	<i>N. meningitidis</i>	+	+	+	+	+
	Các loài <i>Neisseria</i> khác	-	-	-	-	-
	Các chủng vi sinh vật khác	-	-	-	-	+

Chú thích: (+) có khả năng xảy ra, (-) không có khả năng xảy ra, (*) *Staphylococcus capitis*

3.2. Tối ưu hóa phản ứng NM LAMP

- Các điều kiện phản ứng khác nhau của NM LAMP:



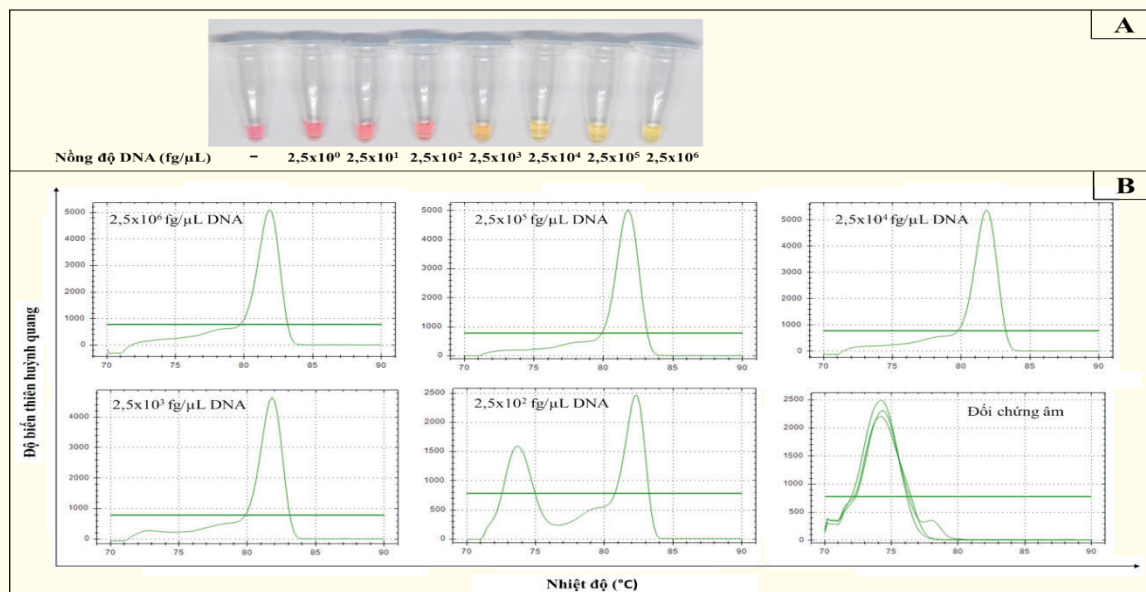
Hình 2. Các điều kiện phản ứng khác nhau của NM LAMP (sử dụng 1 ng *metA* Gblock trong mỗi phản ứng: (+) có chứa Gblock, (-) không chứa Gblock).

Sau quá trình khảo sát, xác định điều kiện tối ưu của phản ứng (nồng độ môi 2X, nhiệt độ 63°C và thời gian ủ 45 phút), một hiện tượng đáng chú ý là sự thay đổi nhẹ màu sắc ở mẫu chứng âm sau 60 phút ủ (hình 2C), nguyên nhân có thể do phản ứng phụ hoặc các tương tác không đặc hiệu gây ra khi kéo dài thời gian phản ứng. Nhằm ổn định phản ứng và tránh tín hiệu dương tính giả, nồng độ trehalose 0,4M xác định là tối ưu để bổ sung vào hỗn hợp phản ứng (hình 2D).

3.3. Xác định ngưỡng phát hiện của phản ứng NM LAMP

Ngưỡng phát hiện của phương pháp NM LAMP và PCR melting curve: hình 3A cho thấy ngưỡng phát hiện của phản ứng NM LAMP là 2,5 x 10³ fg/μL, tương đương với 10³ bản sao/μL; hình 3B cho thấy, đối với

phản ứng PCR melting curve, đỉnh nhiệt độ đặc hiệu rõ nét ở nồng độ DNA trên 10^3 bản sao/ μ L. Ở nồng độ thấp hơn, có sự xuất hiện đỉnh phụ trùng với đối chứng âm khiến kết quả thường được kết luận là không xác định. Như vậy, ngưỡng phát hiện của PCR melting curve ở trong nghiên cứu này là 10^3 bản sao/ μ L.



Hình 3. Ngưỡng phát hiện của phương pháp NM LAMP (A) và PCR melting curve (B).

3.4. Xác định độ nhạy và độ đặc hiệu của phản ứng NM LAMP

Bảng 5. Phân tích hiệu suất và các giá trị dự đoán của phản ứng NM LAMP

Kết quả	Mẫu (+) thật sự	Mẫu (-) thật sự	Giá trị dự đoán
LAMP (+)	25	3	PPV = 89%
LAMP (-)	0	22	NPV = 100%
	Se = 100%	Sp = 88%	

Xét nghiệm trên 50 mẫu lưu cho thấy không mẫu dương tính nào bị bỏ sót, với độ nhạy (Se) đạt 100%. Có 3/28 mẫu dương tính theo quy trình NM LAMP cho kết quả âm tính theo quy trình xét nghiệm của Viện Y học dự phòng Quân đội phía Nam, với độ đặc hiệu (Sp) đạt 88%. Giá trị dự đoán dương tính (PPV) và âm tính (NPV) của phương pháp lần lượt đạt 89% và 100%.

4. BÀN LUẬN

Phân tích trình tự và mô phỏng phản ứng *in-silico* thấy bộ mồi NM LAMP có độ đặc hiệu cao đối với *N. meningitidis*, với khả năng nhận diện đồng thời các phân tử phổ biến mà không có nguy cơ bắt cặp với các vi sinh vật ngoài nhóm. Việc không ghi nhận sản phẩm khuếch đại khi có sai khác ở đầu 3' cho thấy phản ứng yêu cầu sự tương thích tuyệt đối giữa mồi và trình tự đích, một đặc điểm quan trọng bảo đảm độ đặc hiệu trong thực tế. Mặc dù, một sản phẩm không đặc hiệu dự đoán tại mức

sai khác 4 nucleotide. Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng sai khác từ 4 nucleotide liên tiếp tại đầu 3' có thể gây ức chế hoàn toàn phản ứng khuếch đại, do đó, khả năng hình thành sản phẩm giữa bộ mồi NM LAMP với *S. capitis* trong điều kiện thực tế là không khả thi [12]. Hơn nữa, trong trường hợp duy nhất có phản ứng, cấu trúc phản ứng LAMP không được hoàn chỉnh do mồi B3 không bắt cặp ngay cả khi độ sai khác cho phép lên đến 5 nucleotide (sai khác giữa mục tiêu và mồi đạt 25%), do đó, không thể hình thành cấu trúc DNA vòng cần thiết cho cơ chế khuếch đại của LAMP, khẳng định nguy cơ tạo sản phẩm không đặc hiệu trong thực tế là không đáng kể [13].

Trong quá trình tối ưu hóa phản ứng, việc xác định thành phần và điều kiện phản ứng cho phép phân biệt rõ ràng giữa mẫu âm và mẫu dương là yếu tố then chốt bảo đảm tính khả thi khi ứng dụng thực địa. Trong nghiên cứu này, đoạn *metA* Gblock sử dụng làm khuôn mẫu thực hiện phản ứng LAMP với sự hiện diện của chất chỉ thị pH phenol red, là thành phần của WarmStart® Colorimetric LAMP 2X Master Mix. Theo đó, sự giảm pH do quá trình khuếch đại diễn ra làm thay đổi màu sắc của hỗn hợp phản ứng từ màu hồng (ban đầu) sang màu vàng. Trong quá trình tối ưu hóa điều kiện phản ứng, hiện tượng đổi màu nhẹ ở mẫu chứng âm sau thời gian ủ kéo dài cho thấy nguy cơ xảy ra tín hiệu dương tính giả - một thách thức phổ biến trong các phản ứng LAMP. Việc bổ sung trehalose ở nồng độ 0,4M đã chứng

minh hiệu quả trong việc ổn định enzyme và tăng độ nhớt của hỗn hợp, giúp giảm thiểu các tương tác không đặc hiệu và duy trì tính ổn định của chứng âm trong ít nhất 60 phút phản ứng. Đây là một cải tiến quan trọng giúp tăng độ tin cậy của phản ứng, đặc biệt trong các tình huống ứng dụng ngoài phòng thí nghiệm, nơi không thể kiểm soát hoàn toàn thời gian đọc kết quả hoặc điều kiện ủ.

Tại điều kiện tối ưu đã xác định, ngưỡng phát hiện đạt được của NM LAMP trong nghiên cứu này tương đương với kỹ thuật PCR melting curve và đạt 10^3 bản sao/ μ L. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu trước đó tại Việt Nam vào năm 2018 khi ứng dụng phản ứng màu LAMP để phát hiện gene mục tiêu *ctrA* của *N. meningitidis*. Tuy nhiên, một điểm nổi bật là tổng thể tích của một phản ứng trong nghiên cứu trước đó là 50 μ L, trong khi ở nghiên cứu này chỉ sử dụng 15 μ L, giảm 70% thể tích so với trước đây [6]. Điều này cho thấy sự thành công trong quá trình tối ưu phản ứng, giúp tiết kiệm lượng hóa chất mà không làm giảm độ nhạy, từ đó, giảm chi phí cho quy trình xét nghiệm.

Việc áp dụng NM LAMP trên 50 mẫu lưu từ các đợt giám sát não mô cầu cho kết quả khả quan, với độ nhạy đạt tuyệt đối và độ đặc hiệu ở mức chấp nhận được. Tỷ lệ dương tính giả tuy còn tồn tại, nhưng nằm trong giới hạn đã được ghi nhận ở nghiên cứu tương tự [10]. Trong bối cảnh ứng dụng cho giám sát chủ động và phát hiện sớm mầm bệnh tại các khu vực có nguy cơ cao, như môi trường quân đội, giá trị của một kỹ thuật xét nghiệm có độ nhạy cao là rất rõ ràng, ngay cả khi đi kèm một tỷ lệ nhỏ kết quả dương tính giả. Thực tế này ủng hộ việc sử dụng NM LAMP như một công cụ sàng lọc hiệu quả, giúp phát hiện sớm, khoanh vùng và triển khai các biện pháp kiểm soát dịch kịp thời.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu ứng dụng thành công kỹ thuật LAMP cho xét nghiệm phát hiện *N. meningitidis* nhắm tới gene mục tiêu *metA*. Tại điều kiện tối ưu, phản ứng NM LAMP cho kết quả trong vòng 45 phút với ngưỡng phát hiện là 10^3 bản sao/phản ứng, đồng thời giảm 70% thể tích phản ứng so với nghiên cứu trước đó. Độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 100% và 88%, khẳng định tiềm năng của LAMP trở thành một sự lựa chọn đơn giản và dễ tiếp cận cho xét nghiệm phát hiện *N. meningitidis*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Johri S, S Gorthi, A Anand (2005), "Meningococcal meningitis", *Medical Journal Armed Forces India*, 2005. 61(4): p. 369-374.

2. WHO (2003), *Meningococcal meningitis*, WEEKLY EPIDEMIOLOGICAL RECORD, 2003 (03).
3. Vuong J, et al. (2016), "Development of real-time PCR methods for the detection of bacterial meningitis pathogens without DNA extraction", *PLoS One*, 2016, 11 (2): p. e0147765.
4. Brouwer M.C, A.R Tunkel, D van de Beek (2010), "Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis", *Clinical microbiology reviews*, 2010, 23 (3): p. 467-492.
5. Fan S.J, et al. (2020), "A pooled analysis of the LAMP assay for the detection of *Neisseria meningitidis*", *BMC infectious diseases*, 2020, 20 (1): p. 1-10.
6. Nguyen Duy Ha, T.S.M, Vu Van Nghiep (2018), "Application of LAMP Technique for Rapid Detection of *Neisseria meningitidis* Causing Meningitis, 2018", *Military Institute of Preventive Medicine*, Vietnam.
7. Huyen D.T, et al. (2024), "An isothermal CRISPR-based lateral flow assay for detection of *Neisseria meningitidis*", *Annals of Clinical Microbiology Antimicrobials*, 2024, 23 (1): p. 1-8.
8. Sirluck-Schroeder I, et al. (2022), "Limitation of *ctrA* as a TARGET for *Neisseria meningitidis* identification and potential alternative targets", *Journal of Clinical Microbiology*, 2022, 60 (6): p. e00152-22.
9. Tran D.H, et al. (2021), "Direct colorimetric LAMP assay for rapid detection of African swine fever virus: A validation study during an outbreak in Vietnam", *Transboundary Emerging Infectious Diseases*, 2021, 68 (4): p. 2595-2602.
10. Lee D, et al. (2015), "Clinical evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid detection of *Neisseria meningitidis* in cerebrospinal fluid", *PloS one*, 2015, 10 (4): p. e0122922.
11. Nguyen N.A.T, et al. (2022), "Semi-nested RT-PCR enables sensitive and high-throughput detection of SARS-CoV-2 based on melting analysis", *Clinica Chimica Acta*, 2022, 531: p. 309-317.
12. Huang K, et al. (2024), "Exploring the impact of primer-template mismatches on PCR performance of DNA polymerases varying in proof-reading activity", *Genes*, 2024. 15 (2): p. 215.
13. Tran D.H, et al. (2020), "A comparative study of isothermal nucleic acid amplification methods for SARS-CoV-2 detection at point of care", *BioRxiv*, 2020: p. 2020. 05. 24.113423. □