ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ BỘ SINH PHẨM AMPLISENS SHIG/EIEC-SALM-CAMP-F1 PHÁT HIỆN 3 TÁC NHÂN GÂY BỆNH TIÊU CHẢY BẰNG KỸ THUẬT REAL-TIME PCR

BÙI THỊ THANH NGA [(1)], PHẠM VIỆT HÙNG [(2)], LÊ THỊ LAN ANH [(1)],
PHẠM THỊ HÀ GIANG [(1)], BÙI THỊ LAN ANH [(1)]

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo báo cáo của nghiên cứu đa trung tâm các bệnh lý đường ruột toàn cầu (GEMS), tiêu chảy là một trong những bệnh có tỷ lệ mắc và tử vong cao nhất ở trẻ em dưới 5 tuổi trên toàn thế giới, đặc biệt là ở các nước đang phát triển như Châu Phi cận Sahara và ở Châu Á. Hàng năm, có trên 800 000 ca tử vong do tiêu chảy ở trẻ em trên toàn cầu (khoảng 11% trong số 7,6 triệu ca trẻ em tử vong toàn cầu hàng năm) [1]. Các nguyên nhân chính gây tiêu chảy cấp ở trẻ em là các vi sinh vật gây nhiễm trùng đường ruột, bao gồm các virus, vi khuẩn và vi sinh vật ký sinh khác [1]. Với sự phát triển của kinh tế xã hội, đời sống được nâng cao, các bệnh nhiễm trùng đường tiêu hóa đã giảm. Tuy nhiên, hiện nay vi khuẩn vẫn là nguyên nhân chủ yếu gây tiêu chảy cấp ở trẻ em. Ở các nước đang phát triển, tiêu chảy cấp do vi khuẩn vẫn là phổ biến (50-60% tổng số các ca bệnh), trong đó *Esherichia coli* chiếm 25%, *Campylobacter* chiếm 10-18%, *Salmonella* và *Shigella* là 5% [2]. Tỷ lệ mắc tiêu chảy do các vi khuẩn khác nhau tùy thuộc vào các khu vực địa lý khác nhau. Ở Tây Ban Nha, các vi khuẩn gây bệnh tiêu chảy chủ yếu ở trẻ em là *Campylobacter* (22,2%) và *Salmonella* (16,4%) [3]. Ở Ecuador, các chủng vi khuẩn *Shigella* và *Campylobacter* được xem là nguyên nhân chính gây bệnh tiêu chảy [4]. Thống kê tình hình tiêu chảy ở Việt Nam trong 10 năm từ 2002-2011 cho thấy có trên 9 triệu trường hợp mắc tiêu chảy và 115 trường hợp tử vong [5]. ở Việt Nam, ngoài nhóm rotavirus và enteroaggregative E. *coli* thì các chủng vi khuẩn bao gồm *Salmonella*, *Shigella, Campylobacter* cũng là nguyên nhân phổ biến gây bệnh tiêu chảy ở trẻ em [6]. Việc chẩn đoán chính xác và điều trị sớm tiêu chảy cấp do vi khuẩn sẽ làm giảm đáng kể tỷ lệ mắc và tử vong. Hiện nay, cùng với sự phát triển của khoa học công nghệ, có nhiều phương pháp chẩn đoán nguyên nhân tiêu chảy. Tuy nhiên, kỹ thuật sinh học phân tử vẫn là phương pháp tối ưu để chẩn đoán nguyên nhân tiêu chảy, rút ngắn thời gian xét nghiệm tạo điều kiện cho điều trị kịp thời.

Bộ sinh phẩm real-time PCR Amplisens shig/EIEC-salm-camp-F1 do Viện Dịch tễ TW Liên bang Nga sản xuất đạt chuẩn IVD cho phép phát hiện đồng thời 3 tác nhân vi khuẩn tiêu chảy gồm *Salmonella, Shigella và Campylobacter*, đã được sử dụng rộng rãi trong các phòng xét nghiệm cũng như các viện nghiên cứu ở Liên bang Nga và nhiều nước trong khối SNG với chi phí xét nghiệm thấp và hiệu quả chẩn đoán cao. Để đánh giá khả năng ứng dụng chẩn đoán các nguyên nhân vi khuẩn gây tiêu chảy của bộ sinh phẩm Amplisens shig/EIEC-salm-camp-F1 tại Việt Nam, chúng tôi tiến hành đánh giá hiệu quả chẩn đoán bộ sinh phẩm Amplisens shig/eiec-salm-camp-F1 phát hiện 3 tác nhân gây bệnh tiêu chảy bằng kỹ thuật real-time PCR trên bệnh nhân nhi bị tiêu chảy cấp tại Bệnh viện Nhi Trung ương.

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

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Nhóm bệnh: 96 mẫu phân được thu thập đúng quy trình từ bệnh nhân nhi bị tiêu chảy cấp (chưa điều trị) tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ ngày 1/8/2018 đến ngày 14/10/2018.

- Nhóm chứng: 30 mẫu phân người khoẻ mạnh, không có bệnh đường tiêu hóa, xét nghiệm âm tính với các chủng vi khuẩn *Salmonella, Shigella, Campylobacter* bằng kỹ thuật real-time PCR sử dụng bộ sinh phẩm Sacace Biotechnologies, Italy.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

- Bộ sinh phẩm Amplisens shig/EIEC-salm-camp-Fl (kit Amplisens) của hãng InterLabService, Liên bang Nga (bao gồm kit tách chiết DNA Ribo-prep, sinh phẩm real-time PCR).

- Bộ sinh phẩm Shigella/Salmonella/Campylobacter Real-TM (kit Sacace) của hãng Sacace Biotechnologies, Italy (bao gồm kit tách chiết DNA-Sorb-B).

- Chủng vi khuẩn chuẩn: *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028; *Shigella sonnei* ATCC 9290; *Campylobacter jejuni* ATCC 33291; E. *coli* ATCC 25922 của Biofilchem-Italy.

- Môi trường TSA (Tryptic Soy Agar - Merck).

- Môi trường TSA bổ sung 5% máu cừu.

- Môi trường TSB (Merck).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp tạo panel mẫu chuẩn

Các chủng chuẩn S. *Typhimurium* ATCC 14028, S. *sonnei* ATCC 9290 và E. *coli* ATCC 25922 được nuôi cấy trên môi trường TSA ở 37^{o}C/18 giờ. Chủng C. *jejuni* ATCC 33291 được nuôi cấy trên môi trường TSA có bổ sung 5% máu cừu ở 41^{o}C, điều kiện vi hiếu khí trong 48-72 giờ. Nuôi cấy 1 khuẩn lạc vi khuẩn vào bình tam giác chứa 20 ml môi trường (TSB), nuôi lắc qua đêm (18 giờ) ở 37^{o}C với *Shigella; Salmonella* và *E. coli* và nuôi tĩnh ở 41^{o}C đối với *Campylobacter*. Đo mật độ tế bào ở bước sóng 600 nm đến khi đạt đến giá trị OD = 0,4 ÷ 0,6. Tiến hành pha loãng dịch nuôi cấy theo cơ số 10 để có các nồng độ thích hợp. Hút 0,1 ml dung dịch đã pha loãng ở các nồng độ cấy trải trên môi trường tương ứng để xác định nồng độ vi khuẩn [7].

Trộn 1 ml huyền dịch vi khuẩn ở các nồng độ từ 10^0-10^8 CFU/ml với 100 mg mẫu chứng, sau đó tiến hành tách chiết DNA để làm khuôn cho phản ứng real-time PCR.

** Xác định các giá trị*

Giới hạn phát hiện của phản ứng real-time PCR đa mồi được xác định là nồng độ vi khuẩn thấp nhất cho kết quả real-time PCR dương tính, ổn định.

Độ nhạy của phản ứng real-time PCR là tỷ lệ các mẫu cho kết quả dương tính trên tổng số các mẫu dương tính thật.

Độ đặc hiệu của phản ứng real-time PCR được xác định là tỷ lệ các mẫu cho kết quả âm tính trên tổng số các mẫu âm tính thật.

2.3.2. Phương pháp Real-time PCR

Tách chiết DNA bằng bộ kit tách chiết Ribo-prep tương ứng với bộ sinh phẩm AmpliSens và bộ kit tách chiết "DNA-Sorb-B" - bộ sinh phẩm Sacace. Thành phần của hai bộ sinh phẩm real-time PCR gồm: PCR-mix-1 Shigella spp./ Salmonella spp., PCR-mix-1 Campylobacter spp./ STI, PCR-mix-2-FRT, TaqF Polymerase, chứng dương *Shigella sonnei/Salmonella*, chứng dương *Campylobacter*/ STI, chứng âm, nội chứng và RNA-buffer. Nội chứng là một đoạn DNA của plasmid được sử dụng để kiểm soát sai sót do nhân viên thực hiện từ kỹ thuật tách chiết đến kỹ thuật PCR. Nếu kết quả PCR của nội chứng âm tính, thì phải tiến hành làm lại thí nghiệm mẫu đó. Các bước được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất và được thực hiện trên máy Rotogene Q (Qiagen, Đức).

Cả hai bộ sinh phẩm sử dụng các cặp mồi đặc hiệu: gen TtrB cho *Salmonella*, gen ipaH cho *Shigella* và 23S rRNA cho *Campylobacter*. Kết quả phản ứng khuếch đại DNA của *Shigella* và *Campylobacter* được phát hiện trong kênh phát huỳnh quang FAM/green, *Salmonella* và nội chứng phát hiện trong kênh phát huỳnh quang JOE/Yellow/HEX.

2.3.3. Phân tích kết quả

- Xác định giới hạn phát hiện:

Ba chủng vi khuẩn gồm S. *Typhimurium* ATCC 14028, S. *sonnei* ATCC 9290, và E. *coli* ATCC 25922 được nuôi cấy trong môi trường đặc hiệu, pha loãng để đạt nồng độ từ 10^0 đến 10^8 CFU/mL. Tiến hành phản ứng real-time PCR ở nồng độ pha loãng. Thí nghiệm được lặp lại 4 lần.

- Khảo sát độ đặc hiệu:

Nhóm chứng được trộn với dung dịch vi khuẩn E. coli ATCC 25922 ở nồng độ 10^8 CFU/mL.

- Phân tích độ chính xác: Khảo sát hệ số biến thiên liên phản ứng

- So sánh kết quả với bộ kit chuẩn: Tiến hành xét nghiệm 96 mẫu bệnh phẩm trên 02 bộ kit của Liên bang Nga và của Ý, đánh giá kết quả.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Xác định giới hạn phát hiện của bộ sinh phẩm trên panel mẫu chuẩn

Chúng tôi tiến hành phát hiện 03 chủng vi khuẩn *Campylobacter, Shigella* và *Salmonella* trên dãy nồng độ mẫu chuẩn từ 10^1 đến 10^8 CFU/mL.

Bảng 1. Giới hạn phát hiện của bộ kit Amplisens trên panel mẫu chuẩn

Vi khuẩn	Giá trị tham số Ct	Giá trị Ct trung bình trên các nồng độ vi khuẩn (CFU/mL)								Chứng âm
		10^8	10^7	10^6	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1	
Camp	Ct TB	15,37	18,34	22,21	26,11	29,11	33,82	36,6	-	-
	SD	0,24	0,38	0,38	0,39	0,47	0,76	1,49	-	-
	CV (%)	1,56	2,06	1,71	1,50	1,62	2,24	4,07	-	-
	Tỷ lệ phát hiện (%)	100	100	100	100	100	100	50	-	0
Shig	Ct TB	14,38	18,14	21,26	25,65	29,37	32,80	36,00	-	-
	SD	0,25	0,32	0,46	0,34	0,33	0,56	0,69	-	-
	CV (%)	1,76	1,77	2,17	1,33	1,12	1,70	1,91	-	-
	Tỷ lệ phát hiện (%)	100	100	100	100	100	100	100	-	0
Salm	Ct TB	15,32	18,42	21,97	26,25	30,01	34,04	-	-	-
	SD	0,2	0,37	0,39	0,29	0,45	0,57	-	-	-
	CV (%)	1,28	2,02	1,78	1,11	1,50	1,67	-	-	-
	Tỷ lệ phát hiện (%)	100	100	100	100	100	100	-	-	0

Ghi chú: *(-): kết quả âm tính; CV: hệ số biến thiên liên phản ứng; SD: độ lệch chuẩn; Ct TB: Giá trị trung bình của Ct. CFU/mL: Colony Forming Unit/mL (đơn vị hình thành khuẩn lạc/mL).*

Kết quả ở bảng 1 cho thấy ngưỡng nồng độ vi khuẩn từ 10^3 đến 10^8 CFU/mL cho phép phát hiện được 100% đồng thời 3 tác nhân vi khuẩn. Như vậy, giới hạn phát hiện của bộ kit Amplisens đối với cả ba tác nhân *Campylobacter, Shigella, Salmonella* là $\geq 10^3$ CFU/mL (bảng 1). Với nồng độ vi khuẩn trong các mẫu phân là 10^2 CFU/mL, tỷ lệ phát hiện *Shigella* là 100%, *Campylobacter* là 50% và không phát hiện được *Salmonella*. Tại Việt Nam, nghiên cứu xác định *Salmonella* bằng phương pháp PCR đa mồi của tác giả Nguyễn Vũ Trung [11] có độ nhạy là 10^6 CFU/mL, tại nồng độ 10^5 CFU/mL, tỷ lệ phát hiện là 50%. Như vậy có thể thấy ngưỡng phát hiện của bộ sinh phẩm cao hơn so với các phương pháp PCR đa mồi.

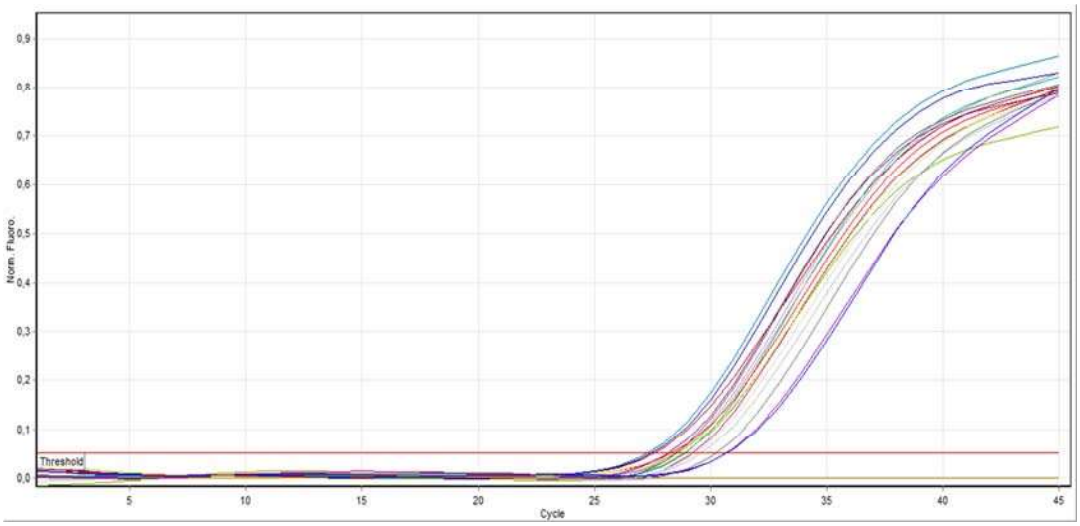
3.2. Độ chính xác

Độ chính xác được thể hiện qua hệ số biến thiên CV. Hệ số này phản ánh các sai lệch do lỗi thao tác, dụng cụ thí nghiệm, trang thiết bị... Thông thường hệ số biến thiên sẽ nhỏ hơn 10%. Hệ số biến thiên của bộ kit với 03 tác nhân đều nhỏ hơn 10% (bảng 1). Như vậy bộ kit Amplisens có độ chính xác đạt yêu cầu.

3.3. Độ đặc hiệu của bộ sinh phẩm

Độ đặc hiệu của kỹ thuật PCR còn được định nghĩa là khả năng nhân bản chọn lọc vật liệu di truyền của tác nhân đích và khả năng phát hiện chính xác trong trường hợp có các chất ức chế hiện diện trong mẫu.

Hệ vi sinh vật đường ruột rất đa dạng, bao gồm: vi khuẩn, nấm, vi rút, kí sinh trùng. Các nhà nghiên cứu xác định có khoảng hơn 1000 loài vi khuẩn thường gặp trong hệ vi sinh đường ruột người, trong đó mỗi cá thể mang trung bình là 160 loại vi khuẩn [8, 9]. Do đó, để đánh giá chính xác độ đặc hiệu của bộ sinh phẩm, tiến hành trộn chủng vi khuẩn E. coli ATCC 25922 ở nồng độ 10^8 CFU/mL vào 30 mẫu phân người khoẻ mạnh (đã xét nghiệm âm tính với 3 tác nhân vi khuẩn trên bằng bộ kit Sacace). Hình ảnh trên kênh Yellow phát hiện nội chứng của 30 mẫu DNA tách từ 30 mẫu phân người khỏe mạnh trộn E. *coli* cho kết quả rõ nét, không có nhiễu chứng tỏ không có hiện tượng bắt cặp chéo của hệ thống mồi hay probe (hình 1).



Hình 1. Kênh Yellow phát hiện nội chứng

Tiến hành lặp lại 5 lần xét nghiệm real-time PCR với 30 mẫu DNA tách từ mẫu phân người khỏe mạnh, kết quả đều âm tính. Như vậy, có thể khẳng định độ đặc hiệu của bộ kit là 100% (bảng 2). Phương pháp đánh giá độ đặc hiệu này tương tự phương pháp đánh giá của tác giả Nguyễn Vũ Trung [11].

Bảng 2. Kết quả đánh giá độ đặc hiệu của bộ kit Amplisens trên chủng chuẩn E. *coli*

Chủng vi khuẩn	Số mẫu/lần	Số lần	Kết quả real-time PCR		Độ đặc hiệu
			Dương tính	Âm tính	
E. coli ATCC 25922 ở nồng độ 10^8 CFU/mL	30	5	0	150	100%

3.4. So sánh kết quả xét nghiệm giữa bộ kit Amplisen với bộ kit Sacace (chuẩn) trên các mẫu lâm sàng thu thập tại Việt Nam

Hiện nay, trên thị trường có rất nhiều bộ sinh phẩm được ứng dụng trong chẩn đoán các tác nhân gây bệnh tiêu chảy ở trẻ em cho phép phát hiện một hay nhiều tác nhân gây tiêu chảy. Trong đó có bộ sinh phẩm Shigella/Salmonella/Campylobacter Real-TM do hãng Sacace-Biotechnologies của Ý đã được thương mại, phân phối và áp dụng tại Việt Nam cũng như một số nước đang phát triển như Burkina Faso [10]. Bộ sinh phẩm của Liên bang Nga và của Ý có độ tương đồng cao từ bước tách chiết DNA cũng như thành phần và chu trình nhiệt của phản ứng Real-time PCR. Giá trị Ct của bộ kit Amplisens ≤ 38 (gồm Ct nội chứng và Ct của từng tác nhân gây bệnh), giá trị Ct của bộ kit Sacace ≤ 40. Vì vậy, để đánh giá hiệu quả xét nghiệm của bộ kit Amplisens trên 96 mẫu lâm sàng, chúng tôi tiến hành xét nghiệm đồng thời bằng 2 bộ kit Amplisens của Liên bang Nga và Sacace của Ý.

96 mẫu phân trẻ em đến khám bệnh do tiêu chảy thu thập tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ 1/8/2018 đến ngày 14/10/2018, đã được tiến hành thí nghiệm đồng thời trên hai bộ kit Amplisens và Sacace. Giá trị Ct nội chứng của 96 mẫu trên cả hai bộ kit nằm trong khoảng (28,53 ± 0,71) với bộ kit Amplisens và 28,20 ± 1,16 với bộ kit Sacace, như vậy quá trình tách DNA ổn định. Ngoài ra, giá trị SD (độ lệch chuẩn) của bộ kit Amplisens thấp hơn của bộ kit Sacace cho thấy có xu hướng ổn định hơn, biến thiên kỹ thuật nhỏ hơn.

Kết quả real-time PCR trên 96 mẫu lâm sàng ở cả hai bộ kit Amplisens và Sacase đều phát hiện được 17 mẫu dương tính với *Campylobacter* chiếm tỷ lệ cao nhất đạt 17,71%, 11 mẫu dương tính với *Salmonella* và 7 mẫu dương tính với *Shigella* chiếm tỷ lệ lần lượt là 11,46% và 7,29%. Trong đó có một mẫu đồng nhiễm *Campylobacter* và *Salmonella*, chiếm tỷ lệ 1,04% và không có mẫu nào cho thấy đồng nhiễm cả 3 tác nhân *Campylobacter, Salmonella* và *Shigella* (bảng 3).

Bảng 3. So sánh kết quả xét nghiệm bằng 2 bộ kit Amplisens và Sacace

Loại vi khuẩn phát hiện	Tỷ lệ số ca phát hiện n = 96			Giá trị Ct trung bình	
	Kit Sacace	Kit Amplisens	Độ tương đồng	Kit Sacace	Kit Amplisens
Campylobacter	17 (17,7%)	17(17,7%)	100%	24,62 ± 5,07	27,12 ± 4,55
Shigella	7 (7,3%)	7 (7,3%)	100%	23,82 ± 5,90	26,3 ± 6,25
Salmonella	11 (11,5%)	11 (11,5%)	100%	26,93 ± 6,98	27,43± 6,18
Đồng nhiễm Campylobacter, Salmonella	1 (1,1%)	1 (1,1%)	100%	23,11 33,55	23,55 34,14

So sánh tỷ lệ phát hiện 03 tác nhân gây bệnh trên các mẫu lâm sàng, độ tương đồng giữa bộ kit Amplisens và bộ kit Sacace là 100%. Kết quả cho thấy có thể ứng dụng bộ kit Amplisens trong xét nghiệm tương tự với bộ kit Sacace đã được thương mại hóa. Giá trị Ct cho thấy bộ kit Amplisens có giá trị phát hiện trung bình cao hơn bộ kit Sacace, điều này cần nghiên cứu làm rõ thêm. Tuy nhiên, về phương diện phát hiện định tính, bộ kit Amplisens đạt giá trị tương đương. Như mô tả phần trên, với nồng độ vi khuẩn $\leq 10^2$ CFU/mL, bộ kit phát hiện không ổn định, do vậy tỷ lệ phát hiện các vi khuẩn gây bệnh không loại trừ trường hợp nồng độ vi khuẩn quá thấp.

Ngoài ra, giá thành 01 xét nghiệm của bộ kit Amplisens rẻ hơn so với bộ kit Sacace nên hoàn toàn có thể áp dụng bộ kit của Liên bang Nga tại Việt Nam trong chẩn đoán phát hiện 03 tác nhân *Campylobacter, Shigella, Salmonella*.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy bộ sinh phẩm Amplisens shig/EIEC-salm-camp-Fl có giới hạn phát hiện $\geq 10^3$ CFU/mL độ đặc hiệu là 100%, độ chính xác và độ tin cậy cao đối với chẩn đoán 3 vi khuẩn gây tiêu chảy cấp là *Campylobacter, Shigella, Salmonella*. Kết quả này tương đồng với kết quả xét nghiệm của bộ kit Sacace (bộ kit chuẩn) đã được thương mại tại Việt Nam, nhưng có xu hướng ổn định hơn, giúp giảm giá thành, rút ngắn thời gian xét nghiệm. Vì vậy bộ sinh phẩm này có thể sử dụng trong xét nghiệm chẩn đoán sớm 03 vi khuẩn gây bệnh tiêu chảy cấp gồm *Campylobacter, Shigella, Salmonella* ở Việt Nam.

Lời cảm ơn: *Nhóm thực hiện đề tài xin gửi lời cảm ơn tới Bệnh viện Nhi Trung ương đã hỗ trợ đề tài trong quá trình nghiên cứu.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lanata C.F., Fischer-Walker C.L., Olascoaga A.C., Torres C.X., Aryee M.J., Black R.E., *Child health epidemiology reference group of the world health O, Unicef et al. Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review*, Puplic library of science, 2013, **8**(9):e72788.

2. Elliott E.J., *Acute Gastroenteritis in children,* British Medical Journal, 2007, **334**:35-40.

3. Sanchez-Capilla A.D., Sorlozano-Puerto A., Rodriguez-Granger J., Martinez-Brocal A., Navarro-Mari J.M., Gutierrez-Fernandez J., *Infectious etiology of diarrheas studied in a third-level hospital during a five-year period,* Revista Española de Enfermedades Digestivas (The Spanish jounal of Gastroenterology), 2015, **107**(2):89-97.

4. Vasco G., Trueba G., Atherton R., Calvopina M., Cevallos W., Andrade T., Eguiguren M., Eisenberg J.N., *Identifying etiological agents causing diarrhea in low income Ecuadorian communities,* The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2014, **91**(3):9-563.

5. Nguyễn Thanh Thảo, Lê Thị Tài, Nguyễn Văn Hiến, Lê Thị Hoàn, Nguyễn Hoàng Long, Lê Thị Thanh Xuân, *Tình hình bệnh tiêu chảy tại Việt Nam giai đoạn 2002-2011*, Tạp chí Y học dự phòng, 2014, Tập XXIV, **7**(156):92-96.

6. Trung Vu Nguyen, Phung Le Van, Chinh Le Huy, Khanh Nguyen Gia, Andrej Weintraub, *Etiology and epidemiology of diarrhea in children in Hanoi, Vietnam,* International Journal of Infectious Diseases, 2006, **10**:298-308.

7. Barletta F., Mercado E.H., Lluque A., Ruiz J., Cleary T.G., Ochoa T.J., *Multiplex Real-Time PCR for Detection of Campylobacter, Salmonella, and Shigella*, Journal of Clinical Microbiology, 2013, **51**(9):2822-2829.

8. Ursell L.K., Metcalf J.L., Parfrey L.W. et al., *Defining the human microbiome,* Nutrition reviews, 2012, **70**(1):38-44.

9. Lloyd-Price J., Abu-Ali G., Huttenhower C., *The healthy human microbiome,* Genome medicine, 2016, **8**(1):51.

10. Fereshteh Jafari, Leila Shokrzadeh, Mohammad Hamidian, Siavash Salmanzadeh-Ahrabi, Mohammad Reza Zali, *Acute diarrhea due to Enteropathogenic bacteria in patients at hospitals in Tehran*, Japanese journal of infectious diseases, Infect. Dis., 2008, **61**:269-273.

11. Nguyễn Vũ Trung, *Độ nhạy và độ đặc hiệu của PCR đa mồi xác định trực tiếp Salmonella từ bệnh phẩm phân*, Y học thực hành, số 1/2009.

SUMMARY

ASSESSING THE DIAGNOSTIC EFFICACY OF AMPLISENS SHIG / EIEC-SALM-CAMP-F1 KIT IN DETECTION OF THREE BACTERIA CAUSEING INFECTIOUS DIARRHEA BY REAL-TIME PCR TECHNIQUE

Assessing diagnostic efficacy of shig/eiec-salm-camp-f1 (Amplisens) Kit in direction of three bacteria causing cute diarrhea (Campylobacter, Salmonella and Shigella). 96 feces specimens were collected from non-treated pediatric patients with acute diarrhea and 30 controls were collected from normal persons without gastrointestinal disease. The sensitivity and specificity of Amplisen Shig/EIEC-salm-camp-F1 kit (Interlab Servive Company, Russian Federation) were evaluated by using real-time PCR technique. The results showed that Amplisens kit had the high specificity (100%) and high sensitivity (100%). The detection limit was at least 10^3 CFU/mL. These results were similar to the those of the Sacace kit (standard kit) that has been commercialized in Vietnam. The results also showed that 17.71%, 11.46%, and 7.29 % of the specimens were positive for Campylobacter, Salmonella and Shigella, respectively, in which 1 sample was detected the co-infection of Campylobacter and Salmonella (1.04%). Therefore, the Amplisens kit can be valuable in early diagnosis of acute infectious diarrhea caused by three bacteria including Campylobacter, Shigella, Salmonella in Vietnam.

Keywords: Diarrhea, Salmonella, Shigella, Campylobacter, tiêu chảy.

Nhận bài ngày 21 tháng 01 năm 2019
Phản biện xong ngày 16 tháng 4 năm 2019
Hoàn thiện ngày 20 tháng 5 năm 2019

(1) Viện Y sinh nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga
(2) Bệnh viện Nhi Trung ương