

COMPARISON OF DIAGNOSTIC VALUE BETWEEN DIAGNOSTIC KITS OF HUMAN FASCIOLIASIS AT QUY NHON INSTITUTE OF MALARIOLOGY - PARASITOLOGY - ENTOMOLOGY IN 2024

Dao Trinh Khanh Ly*, Nguyen Duc Chinh, Nguyen Xuan Thien, Huynh Hong Quang, Ho Van Hoang

Institute of Malariology Parasitology and Entomology Quy Nhon - 611B Nguyen Thai Hoc, Quy Nhon City, Vietnam

Received: 06/02/2025

Revised: 25/02/2025; Accepted: 15/03/2025

ABSTRACT

Abstract: Human fascioliasis is currently a common parasitic disease in Vietnam, especially in the Central Highlands region, with its symptoms similar to many other digestive and hepatobiliary diseases, leading to misdiagnosis or late treatment. The gold standard for diagnosis is finding liver fluke eggs in the stool, but this is rarely observed. So in clinical practice, the diagnosis is mainly based on clinical symptoms, liver damage on imaging, and seropositivity tests to detect antibodies against *Fasciola* spp.

Objectives: This study compared the similarity or diagnostic value between commercial ELISA diagnostic reagents circulating in Vietnam.

Materials and methods: The ELISA test for each reagent set was tested on serum samples of healthy people and serum samples of fascioliasis patients that were diagnosed by clinical symptoms, liver damage on ultrasound, and positive Western blot test.

Results: The sensitivity of ELISA chemicals of Viet Sinh manufactured in Vietnam, Cortez manufactured in the US, DRG manufactured in Germany, and NewLife manufactured in the US were 91.18%, 91.18%, 100%, 91.18%, respectively; followed by specificity of 97.06%, 85.29%, 97.06%, 94.18% and accuracy of 94.12%, 88.23%, 98.53%, 92.65%, respectively. Compared with confirmed cases, the Kappa coefficient of the 4 test chemicals was 0.882; 0.765; 0.971; and 0.853, respectively. Comparing the agreement between the 4 test chemicals, DRG with Viet Sinh and New Life had the highest similarity coefficient (Kappa > 0.8).

Conclusion: Therefore, the four commercial chemicals tested in this study have good diagnostic value in the immunological diagnosis of human fascioliasis. This will help clinicians and laboratories easily select chemicals to diagnose fascioliasis, helping to diagnose and treat it effectively.

Keywords: Fascioliasis, ELISA, Western blot, diagnostic reagent for fascioliasis.

*Corresponding author

Email: khanhly75@yahoo.com **Phone:** (+84) 935208637 **Https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCĐ3.2127**

SO SÁNH GIÁ TRỊ CHẨN ĐOÁN GIỮA CÁC BỘ HÓA CHẤT XÉT NGHIỆM NHIỄM SÁN LÁ GAN LỚN TẠI VIỆN SỐT RÉT - KÝ SINH TRÙNG - CÔN TRÙNG QUY NHƠN NĂM 2024

Đào Trịnh Khánh Ly*, Nguyễn Đức Chính, Nguyễn Xuân Thiện, Huỳnh Hồng Quang, Hồ Văn Hoàng

Viện Sốt rét-Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn - 611B Nguyễn Thái Học, Tp. Quy Nhơn, Việt Nam

Ngày nhận bài: 06/02/2025

Chỉnh sửa ngày: 25/02/2025; Ngày duyệt đăng: 15/03/2025

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Bệnh sán lá gan lớn *Fasciola* spp. ở người hiện nay là một bệnh thường gặp ở Việt Nam, đặc biệt là khu vực miền Trung - Tây Nguyên. Bệnh có triệu chứng giống với nhiều bệnh lý tiêu hóa - gan mật khác nên dễ chẩn đoán nhầm và điều trị muộn. Tiêu chuẩn vàng chẩn đoán bệnh là tìm thấy trứng sán trong phân nhưng lại rất hiếm quan sát được. Trên thực tiễn, chẩn đoán bệnh chủ yếu dựa vào triệu chứng lâm sàng, tổn thương gan trên hình ảnh học và xét nghiệm phát hiện kháng thể kháng *Fasciola* spp. trong huyết thanh.

Mục tiêu: Nghiên cứu này được thực hiện để so sánh sự tương đồng hay giá trị chẩn đoán giữa hoá chất xét nghiệm chẩn đoán ELISA thương mại đang lưu hành tại Việt Nam.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Từng bộ hoá chất được thử nghiệm trên 34 mẫu huyết thanh của người khỏe mạnh và 34 mẫu huyết thanh của ca bệnh nhiễm sán lá gan lớn xác định bằng triệu chứng lâm sàng, tổn thương gan trên siêu âm, xét nghiệm Western blot tìm kháng thể kháng *Fasciola* spp.

Kết quả: Độ nhạy của hoá chất ELISA của công ty Việt Sinh do Việt Nam sản xuất, Cortez do Mỹ sản xuất, DRG do Đức sản xuất, NewLife của Mỹ sản xuất lần lượt là 91,18%, 91,18%, 100%, 91,18%; độ đặc hiệu lần lượt là 97,06%, 85,29%, 97,06%, 94,18% và độ chính xác lần lượt là 94,12%, 88,23%, 98,53%, 92,65%. So với các ca bệnh xác định, hệ số Kappa của 4 hoá chất xét nghiệm lần lượt là 0,882; 0,765; 0,971; 0,853.

Kết luận: So sánh sự đồng thuận giữa 4 loại hoá chất thử nghiệm thì DRG với Việt Sinh, New Life có hệ số tương đồng cao nhất (Kappa > 0,8). Do đó, 4 loại hoá chất thương mại thử nghiệm trong nghiên cứu đều có giá trị chẩn đoán tốt.

Từ khóa: Bệnh sán lá gan lớn, ELISA, Western blot.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh sán lá gan lớn (SLGL) do hai loài *Fasciola hepatica* và *Fasciola gigantica* gây nên, ước tính ít nhất 2,4 triệu người bị nhiễm bệnh tại hơn 70 quốc gia và vài triệu người có nguy cơ mắc bệnh. Tổng hợp y văn về tỉ lệ nhiễm SLGL trên người toàn cầu đến năm 2023 là 4,5%, thường gặp ở Nam Mỹ, châu Phi và châu Á [1]. Ở Việt Nam, từ đầu thế kỷ 21, bệnh SLGL đã tái xuất hiện và đã được các nhà KST học trong nước quan tâm, tự điều chế được bộ hoá chất chẩn đoán bệnh đồng thời vận động thuốc điều trị từ WHO tài trợ [2]. Hiện nay, bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm SLGL ngày càng nhiều và đến năm 2011 phát hiện hơn 20 nghìn bệnh nhân ở 52 tỉnh thành, đặc biệt là miền Trung - Tây Nguyên [3].

Bệnh SLGL được chẩn đoán xác định dựa trên biểu

hiện lâm sàng kết hợp trứng SLGL trong phân hoặc xét nghiệm (XN) miễn dịch dương tính. Việc XN phân tìm trứng SLGL thì bị hạn chế, nên XN huyết thanh (HT) miễn dịch đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán, kết hợp các gợi ý khác như có tổn thương gan trên siêu âm với hình ảnh hỗn hợp âm hay giảm âm, tăng bạch cầu ái toan (trung bình đến cao). Các XN HT miễn dịch thường dùng là ELISA hay Western blot với các kháng nguyên (KN) đa dạng như KN tiết thô, protease cysteine cathepsin, protein 27kDa hay Saposin [4]. Đồng thời, các hoá chất thương mại XN chẩn đoán bằng ELISA đa dạng nhiều nước sản xuất, với KN thu thập từ *F. hepatica* hay *F. gigantica*. Tại Việt Nam, loài SLGL gây bệnh chủ yếu là *F. gigantica* trong khi đa phần các bộ hoá chất thương mại có nguồn gốc từ *F. hepatica*.

*Tác giả liên hệ

Email: khanhly75@yahoo.com Điện thoại: (+84) 935208637 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCĐ3.2127>

Mặc dù đã có giả thuyết sự giống nhau về yếu tố KN, protein tiết của 2 loài *Fasciola* spp. nhưng việc tìm hiểu sự tương đồng hay giá trị chẩn đoán các bộ XN nhiễm SLGL ở người cũng là vấn đề cần thiết. Do đó, nghiên cứu (NC) này thực hiện để so sánh giá trị chẩn đoán 4 loại hóa chất thương mại XN ELISA chẩn đoán bệnh SLGL ở người lưu hành tại Việt Nam trên các ca bệnh xác định với 2 mục tiêu:

(1) Đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu, độ chính xác của các bộ hoá chất chẩn đoán nhiễm sán lá gan lớn tại Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn năm 2024.

(2) So sánh giá trị chẩn đoán giữa các bộ hóa chất chẩn đoán nhiễm sán lá gan lớn tại điểm nghiên cứu.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các bộ hóa chất thương mại XN ELISA, chẩn đoán nhiễm SLGL *Fasciola* spp. được Bộ Y tế cấp phép lưu hành tại Việt Nam gồm hóa chất công ty Việt Sinh do Việt Nam sản xuất, hóa chất hãng Cozter và hóa chất hãng New Life của Mỹ sản xuất, hóa chất DRG của Đức sản xuất.

Huyết thanh thu thập từ các ca bệnh xác định nhiễm SLGL.

2.2. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế bằng phương pháp mô tả thực nghiệm tại phòng thí nghiệm

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: từ tháng 8/2024 đến tháng 12/2024

- Địa điểm: Phòng Khám bệnh chuyên khoa, Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn.

2.4. Cỡ mẫu, chọn mẫu

Chọn các bệnh nhân nhiễm SLGL đến khám tại phòng Khám của Viện trong thời gian NC (ít nhất 30 bệnh nhân) đủ tiêu chuẩn chẩn đoán nhiễm SLGL.

Thử nghiệm với 4 bộ hóa chất chẩn đoán nhiễm SLGL (bằng kỹ thuật ELISA) của các nhà sản xuất khác nhau với HT từ các ca bệnh xác định nhiễm SLGL.

Lấy thêm số lượng tương ứng mẫu HT của người sức khỏe bình thường (không có triệu chứng liên quan bệnh KST và không có hình ảnh tổn thương gan dạng SLGL trên hình ảnh học).

2.5. Kỹ thuật, vật liệu sử dụng trong nghiên cứu

Kỹ thuật XN Western blot với bộ hóa chất thương mại hãng LDBIO diagnostics chẩn đoán *FASCIOLA* E/S Western Blot Igg.

Kỹ thuật miễn dịch hấp phụ liên kết enzyme (ELISA) gián tiếp phát hiện KT.

2.6. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu tập hợp được xử lý và thống kê bằng Excel, SPSS.

Các bộ hóa chất ELISA chẩn đoán nhiễm SLGL được đánh giá bằng độ nhạy, độ đặc hiệu, độ chính xác theo các công thức sau:

$$\text{Độ nhạy} = \frac{\text{Số dương tính thật}}{\text{Số dương tính thật} + \text{Số âm tính giả}} (\%)$$

$$\text{Độ đặc hiệu} = \frac{\text{Số âm tính thật}}{\text{Số âm tính thật} + \text{Số dương tính giả}} (\%)$$

$$\text{Độ chính xác} = \frac{\text{Số mẫu dương tính thật} + \text{Số mẫu âm tính thật}}{\text{Tổng số mẫu thực hiện}} (\%)$$

Sự đồng thuận giữa các hóa chất chẩn đoán được đánh giá bằng chỉ số Kappa (K), cụ thể: $0 < K < 0,2$: nhẹ (Poor agreement); $0,2 < K < 0,4$: được (Fair agreement); $0,4 < K < 0,6$: khá (Moderate agreement); $0,6 < K < 0,8$: tốt (Good agreement); $0,8 < K < 1$: rất tốt (Very good agreement).

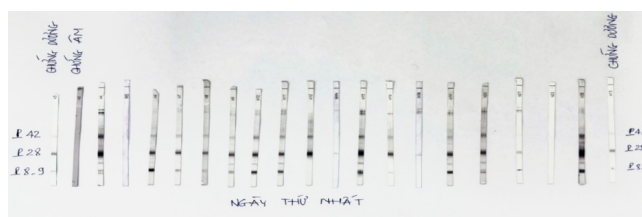
2.7. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thông qua bởi Hội đồng phê duyệt đề cương và Hội đồng Đạo đức Y sinh học của Viện Sốt rét - KST - CT Quy Nhơn.

3. KẾT QUẢ

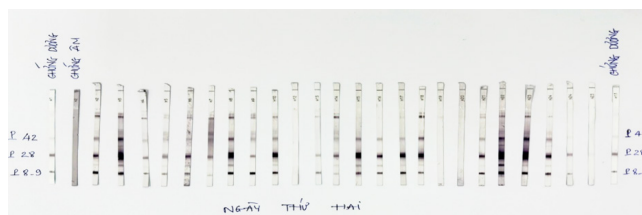
3.1. Độ nhạy, độ đặc hiệu, độ chính xác của các bộ hoá chất chẩn đoán nhiễm sán lá gan lớn

Với 42 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn lựa chọn đã ghi nhận được 34 trường hợp dương tính Western blot đạt tiêu chuẩn đưa vào NC.



Hình 1. Kết quả xét nghiệm Western blot ngày đầu tiên

Ngày đầu tiên xét nghiệm 18 mẫu, có 4 mẫu âm tính và 14 mẫu dương tính được đưa vào nghiên cứu, ký hiệu M1 - M14.



Hình 2. Kết quả xét nghiệm Western blot ngày thứ hai

Có 4 mẫu âm tính và 20 mẫu dương tính đưa thêm vào nghiên cứu, ký hiệu M15 - M34.

Chọn thêm 34 mẫu HT người bình thường khỏe mạnh

và tiến hành thử nghiệm ELISA HT của 68 bệnh nhân (34 dương và 34 âm) với các hóa chất Việt Sinh, Cortez, DRG và New Life.

Bảng 1. Kết quả ELISA hóa chất Việt Sinh so với ca bệnh có Western blot dương tính

Kết quả xét nghiệm	Ca bệnh Western blot (+)		Tổng
	Có bệnh	Không bệnh	
ELISA hóa chất Việt Sinh			
Dương tính	31	1	32
Âm tính	3	33	36
Tổng	34	34	68

Độ nhạy = 91,18% Tỷ lệ dương tính giả = 2,94%
 Độ đặc hiệu = 97,06% Tỷ lệ âm tính giả = 8,82%
 Độ chính xác = 94,12% Giá trị dự đoán dương = 96,88%
 Hệ số Kappa = 0,882 Giá trị dự đoán âm = 91,67%

Với hoá chất Việt Sinh, với 34 ca bệnh Western Blot (+) thì có 3 mẫu âm tính giả nhưng với 34 mẫu âm thì chỉ có 1 mẫu dương tính giả nên độ nhạy 91,18%, độ đặc hiệu 97,06% và độ chính xác 94,12%.

Bảng 2. Kết quả ELISA hóa chất Cortez so với ca bệnh có Western blot dương tính

Kết quả xét nghiệm	Ca bệnh Western blot (+)		Tổng
	Có bệnh	Không bệnh	
Dương tính	31	5	36
Âm tính	3	29	32
Tổng	34	34	68

Độ nhạy = 91,18% Tỷ lệ dương tính giả = 14,71%
 Độ đặc hiệu = 85,29% Tỷ lệ âm tính giả = 8,82%
 Độ chính xác = 88,23% Giá trị dự đoán dương = 86,11%
 Hệ số Kappa = 0,765 Giá trị dự đoán âm = 90,63%

Với hoá chất Cortez, với 34 ca bệnh Western blot (+) thì có 3 mẫu âm tính giả nên độ nhạy 91,18%, với 34 mẫu

âm thì có 5 mẫu dương tính giả nên độ đặc hiệu 85,29% và độ chính xác 88,23%.

Bảng 3. Kết quả ELISA hóa chất New Life so với ca bệnh có Western blot dương tính

Kết quả xét nghiệm	Ca bệnh Western blot (+)		Tổng
	Có bệnh	Không bệnh	
Dương tính	31	2	33
Âm tính	3	32	35
34	34	68	

Độ nhạy = 91,18% Tỷ lệ dương tính giả = 5,82%
 Độ đặc hiệu = 94,18% Tỷ lệ âm tính giả = 8,82%
 Độ chính xác = 92,65% Giá trị dự đoán dương = 93,94%
 Hệ số Kappa = 0,853 Giá trị dự đoán âm = 91,43%

Với hóa chất New Life, trong 34 mẫu HT bệnh nhân Western blot (+) thì có 3 mẫu âm tính giả và trong 34 mẫu âm có 2 mẫu dương tính giả nên có độ nhạy 91,18%, độ đặc hiệu 94,18% và độ chính xác 92,65%.

Bảng 4. Kết quả ELISA hóa chất DRG so với ca bệnh có Western blot dương tính

Kết quả xét nghiệm	Ca bệnh Western blot (+)		Tổng
	Có bệnh	Không bệnh	
Dương tính	34	1	35
Âm tính	0	33	33
Tổng	34	34	68

Độ nhạy = 100% Tỷ lệ dương tính giả = 2,94%
 Độ đặc hiệu = 97,06% Tỷ lệ âm tính giả = 0%
 Độ chính xác = 98,53% Giá trị dự đoán dương = 97,14%
 Hệ số Kappa = 0,971 Giá trị dự đoán âm = 100%

Đối với hoá chất DRG của Đức chỉ có 1 ca dương tính giả chiếm 2,94%, không có ca nào âm tính giả nên độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 97,06% và độ chính xác 98,53%.

3.2. So sánh giá trị chẩn đoán giữa các bộ hóa chất chẩn đoán nhiễm sán lá gan lớn

Bảng 5. Sự tương đồng giữa các hóa chất ELISA chẩn đoán mắc sán lá gan lớn

Kết quả xét nghiệm	Tổng	Hóa chất Việt Sinh		Hóa chất Cortez		Hóa chất DRG		Hóa chất NewLife	
		Dương	Âm	Dương	Âm	Dương	Âm	Dương	Âm
Hóa chất Việt Sinh	Dương	32		28	4	31	1	28	4
	Âm	36		8	28	4	32	5	31
Hóa chất Cortez	Dương	36	0,648			32	4	31	5
	Âm	32				3	29	2	30
Hóa chất DRG	Dương	35	0,853	0,794				32	3
	Âm	33							1
Hóa chất New Life	Dương	33	0,735	0,794	0,882				
	Âm	35							

Hệ số Kappa

- Hóa chất của công ty Việt Sinh có độ tương đồng cao với hoá chất DRG 0,853 và tương đồng khá với Cortez và New Life với hệ số Kappa 0,648 và 0,735

- Hoá chất của hãng Cortez có độ tương đồng khá với cả 3 loại hoá chất còn lại

- Hoá chất của hãng DRG có sự tương đồng rất cao với hoá chất của Việt Sinh và New Life với Kappa 0,794; 0,853 và 0,882

- Hóa chất của hãng NewLife có sự tương đồng cao với hóa chất DRG (0,882) và tương đồng khá đối với hóa chất Việt Sinh và Cortez với hệ số Kappa 0,735; 0,794.

4. BÀN LUẬN

4.1. Độ nhạy, độ đặc hiệu, độ chính xác của các bộ hoá chất chẩn đoán nhiễm sán lá gan lớn

Nhóm NC thu thập được 42 BN nghi ngờ nhiễm SLGL với các tiêu chuẩn gồm triệu chứng lâm sàng liên quan đến nhiễm SLGL kèm tổn thương gan dạng SLGL trên siêu âm, được XN chẩn đoán miễn dịch bằng kỹ thuật Western blot tìm KT IgG đặc hiệu với SLGL và kết quả ghi nhận được 34 trường hợp dương tính Western blot thỏa tiêu chuẩn đưa vào NC (80,95%).

Hóa chất ELISA do công ty Việt Sinh của Việt Nam công bố độ nhạy 95,54% và độ đặc hiệu 93,75% khi OD mẫu thử/ngưỡng cut-off ≥ 1 (ngưỡng cut-off là trung bình cộng của chúng âm x 2 và chúng âm làm cùng thời điểm với mẫu thử). Khi thử nghiệm với 34 mẫu HT ca bệnh xác định dương tính Western blot và 34 mẫu HT người khỏe mạnh, hóa chất Việt Sinh có độ nhạy 91,18%; độ đặc hiệu 97,06%; độ chính xác 94,12% và hệ số Kappa là 0,882. Bộ sinh phẩm của Việt Sinh trong NC có độ đặc hiệu cao hay dương tính giả thấp hơn so với công bố của nhà sản xuất vì ca bệnh xác định làm tiêu chuẩn vàng được thu tuyển đầy đủ tiêu chuẩn hơn (có tổn thương trên siêu âm, có triệu chứng) nên các KT miễn dịch của các ca bệnh này đã tạo ra đầy đủ. XN Western blot sử dụng KN từ *Fasciola hepatica* trong khi Việt Sinh sử dụng KN tiết thô của *Fasciola gigantica* nên tỉ lệ âm tính giả cũng chiếm đáng kể (8,82%), tuy nhiên không có sự khác biệt lớn về mặt sinh MD của KN tiết thô giữa 2 loài nên độ chính xác của Việt Sinh vẫn đạt kết quả tốt, và hệ số Kappa so với ca bệnh Western blot dương vẫn đạt kết quả rất tốt.

Hóa chất do hãng Cortez của Mỹ công bố độ nhạy, độ đặc hiệu đều là 100% khi OD $\geq 0,1$ là dương tính. Trong NC này, bộ sinh phẩm của Cortez có độ đặc hiệu thấp (85,29%), tỉ lệ dương tính giả cao (14,71%). Mặc dù KN đều có nguồn gốc từ *Fasciola hepatica* nhưng Cortez dùng KN tái tổ hợp cathepsin còn Western blot dùng KN tiết nên có độ đặc hiệu thấp. Ngoài ra, tỉ lệ dương tính giả cao của Cortez có thể do bộ chẩn đoán này lấy giá trị ngưỡng dương hơi thấp và trong thực hiện kỹ thuật không có ngưỡng để so sánh. NC của tác giả Diễm Na (2019) so sánh hóa chất Cortez với ca bệnh SLGL xác định sử dụng tiêu chí miễn dịch dựa trên hóa chất Việt Sinh thì ngưỡng của hoá chất Cortez phải là 0,63 mới phù hợp tránh dương tính giả [6].

Đối với hoá chất ELISA do hãng New Life của Mỹ sản xuất, công bố độ nhạy và độ đặc hiệu 100% khi OD bằng 0,1 là dương tính. Kết quả NC ghi nhận khi thử nghiệm với 34 mẫu HT ca bệnh kỹ thuật Western blot dương tính cũng tương tự như hoá chất của công ty Việt Sinh và Cortez với 3 mẫu âm tính giả nên độ nhạy giống nhau là 91,18% nhưng với 34 mẫu huyết thanh người không bệnh thì 2 mẫu dương tính giả nên độ đặc hiệu có 94,18%, do đó độ chính xác của hoá chất này là 92,65% với hệ số Kappa 0,853.

Khi thử nghiệm với hóa chất DRG trên 34 mẫu dương tính đặc hiệu với *Fasciola* spp. bằng kỹ thuật Western blot thì không có mẫu nào âm tính giả nên độ nhạy là 100% và 34 mẫu huyết thanh âm tính thì chỉ có 1 mẫu dương tính giả nên độ đặc hiệu 97,06% và độ chính xác 98,53% với hệ số Kappa 0,971. Thực tế, hoá chất ELISA do hãng DRG của Đức sản xuất, nhà sản xuất công bố độ nhạy và độ đặc hiệu 100% khi OD mẫu thử nghiệm $> 1,1 \times CO$ (CO mẫu chứng ngưỡng của nhà sản xuất mỗi lần thực hiện xét nghiệm phải làm ít nhất 2 mẫu CO) nên độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác cao hơn cả. Đồng thời, kháng nguyên của DRG là kháng nguyên lấy từ sán lá gan lớn trưởng thành nên có đầy đủ các kháng nguyên sinh miễn dịch.

Trong NC này, ca bệnh được chẩn đoán xác định bằng kỹ thuật Western blot nhằm tăng sự đặc hiệu cao hơn trước khi thử nghiệm kỹ thuật ELISA với mẫu HT ca bệnh. Kết quả cho thấy cả 4 loại hóa chất của 4 hãng khác nhau đều cho kết quả tương đồng rất tốt so với Western blot với hệ số Kappa là 0,971; 0,882; 0,853 chỉ có hóa chất Cortez thấp nhất cũng có $k = 0,765$ là mức tốt. Do đó, 4 loại hóa chất thử nghiệm trong NC này có giá trị chẩn đoán tốt trong chẩn đoán miễn dịch học bệnh SLGL ở người hiện nay.

4.2. So sánh giá trị chẩn đoán giữa các bộ hóa chất chẩn đoán nhiễm sán lá gan lớn

Trong 34 mẫu HT ca bệnh, hoá chất Việt Sinh có 3 mẫu âm tính giả ở mẫu: M5, M24 và M27; hoá chất New Life có 3 mẫu âm tính giả ở mẫu: M4, M24 và M30; hoá chất Cortez có 3 mẫu âm tính giả ở mẫu: M4, M14 và M30; hoá chất DRG không có mẫu nào âm tính giả. Với 34 mẫu HT người khỏe mạnh trong NC này hoá chất Việt Sinh có 1 mẫu dương tính giả ở mẫu: M44; hoá chất Cortez có 5 mẫu dương tính giả ở mẫu: M42, M47, M51, M52 và M68; hoá chất New Life có 2 mẫu dương tính giả ở mẫu: M42 và M58; hoá chất DRG có 1 mẫu dương tính giả ở mẫu: M42. Như kết quả ở trên cho thấy, hóa chất Việt Sinh và NewLife có cùng mẫu âm tính giả số M24, hóa chất Cortez và New Life có 2 mẫu âm tính giả cùng nhau là M4 và M30. Và 3 loại hóa chất DRG, Cortez và New Life có cùng mẫu âm tính giả số M42. Sự giống nhau giữa hóa chất Cortez và New Life có thể lý giải là do cả hai đều sản xuất ở một quốc gia, sử dụng chung một nguồn KN tái tổ hợp cathepsin của *F. hepatica*. Hóa chất của Việt Sinh dùng KN tiết của *F. gigantica* đã loại bỏ các tạp chất còn các hóa chất của 3 hãng còn lại dùng KN của *F. hepatica* nên các hóa chất này có sự sai khác trên cùng các mẫu giống nhau. Chỉ số Kappa được sử dụng để đánh giá tỉ lệ đồng thuận giữa 2 phương pháp đo lường, 2 kỹ thuật y học được áp dụng trong chẩn đoán lâm bệnh hoặc giữa 2 chuyên viên đọc kết quả khi chẩn đoán 1 bệnh sau khi đã loại bỏ vai trò

của yếu tố ngẫu nhiên. Theo kết quả bảng 5 cho thấy hóa chất của công ty Việt Sinh có độ tương đồng cao với hoá chất DRG 0,853 và tương đồng khá với Cortez và New Life với hệ số Kappa 0,648 và 0,735. Hoá chất của hãng Cortez có độ tương đồng khá với cả 3 loại hoá chất còn lại với hệ số Kappa: 0,648 và 0,794. Hóa chất của hãng NewLife có sự tương đồng cao với hóa chất DRG (0,882) và tương đồng khá đối với hóa chất Việt Sinh và Cortez với hệ số Kappa 0,735; 0,794. Và hoá chất của hãng DRG có sự tương đồng rất cao với hoá chất của Việt Sinh và New Life với Kappa 0,794; 0,853 và 0,882. Tất cả 4 loại hóa chất thử nghiệm đều có độ tương đồng từ khá đến tốt với nhau.

Sự tương đồng về giá trị chẩn đoán giữa các hóa chất XN ELISA ở NC này tương đương với các NC khác. NC của Diễm Na và cs chọn ca bệnh xác định dựa trên triệu chứng lâm sàng và XN ELISA hóa chất Việt Sinh dương tính, dùng tiêu chuẩn này để đã so sánh bộ hóa chất Cortez với các hệ thống ELISA nội bộ (in-house), bao gồm ELISA bắt giữ cystatin (cystatin-capture ELISA) với KN tiết thô và ELISA gián tiếp sử dụng peptide tổng hợp Ac-TPTCHWECQVGYNKTYDEE-NHMe được thiết kế từ phân tử F. gigantica cathepsin B (FgCB5). Kết quả cho thấy ELISA bắt giữ cystatin có sự đồng thuận tuyệt vời với hóa chất Cortez (Kappa = 1) trong khi ELISA sử dụng đoạn peptide tổng hợp của FgCB5 dù có độ nhạy và độ đặc hiệu gần 80% nhưng lại cho thấy sự đồng thuận thấp với ELISA bắt giữ cystatin hoặc ELISA gián tiếp hóa chất Cortez [6]. Hai bộ hóa chất Cortez và New Life đều sử dụng KN cathepsin, là KN được sử dụng rộng rãi cho việc phát triển các xét nghiệm HT học để chẩn đoán SLGL ở người. Cả hai bản sao tự nhiên và tái tổ hợp của cathepsin đều mang lại hiệu quả chấp nhận được trong các XN chẩn đoán. Hai epitop tế bào B tổng hợp của Fasciola gigantica cathepsin L1 đã được sử dụng trong một peptide để chẩn đoán bệnh SLGL ở người dựa trên ELISA với độ nhạy 100% và độ đặc hiệu 97,3% [4]. Bên cạnh các KN trên, 27 kDa ghi nhận là đáp ứng với tất cả HT bệnh nhân nhưng không phản ứng với HT người khỏe mạnh [8]. Tại Việt Nam, một NC sử dụng KN 27 kDa tinh chế từ KN tiết của SLGL bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, được sử dụng trong ELISA để chẩn đoán trên các đối tượng bệnh nhân mắc bệnh SLGL, bệnh nhân mắc các bệnh KST khác, ung thư đường mật và đi kiểm tra tầm soát bệnh, kết quả độ nhạy cao 100% và độ đặc hiệu 97,6% [9]. KN 27 kDa của Fasciola hepatica được đánh giá trong ELISA và phương pháp Western blot để chẩn đoán bệnh nhân SLGL ở Iran với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 91,6%; 100% đối với phương pháp Western blot là 100%; 93,6% đối với ELISA [10]. KN 27k kDa từ F. gigantica với kỹ thuật ELISA ghi nhận XN có độ nhạy, độ đặc hiệu và hiệu quả cao (>93%) và mối tương quan đáng kể ($r = 0,715$, $P < 0,0001$) giữa mức KN và số lượng trứng KST đã được hiển thị [11].

5. KẾT LUẬN

Cả 4 loại hóa chất ELISA thử nghiệm trong NC này có giá trị chẩn đoán tốt trong chẩn đoán miễn dịch học bệnh SLGL ở người hiện nay và sự tương đồng khá đến tốt giữa các bộ hóa chất XN chẩn đoán này trong chẩn đoán bệnh SLGL Fasciola spp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Mas-Coma S, Valero MA, Bargues MD. Human and Animal Fascioliasis: Origins and Worldwide Evolving Scenario. Clin Microbiol Rev. Dec 21 2022;35(4):e0008819. doi:10.1128/cmr.00088-19
- [2] Tran Vinh Hien, Tran Thi Kim Dung, Nguyen Huu Chi, Phan Huu Danh, Pham Thi Hanh. Fascioliasis in Vietnam. Proceedings of the 3rd seminar on food-borne parasitic zoonoses: Food- and water- borne parasitic zoonoses in the 21st century. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. Volume 32- Supplement 2, 2001.
- [3] Đào Trịnh Khánh Ly. Tình hình bệnh nhân nhiễm giun sán được khám phát hiện tại Phòng khám Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn. Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng. 2017;96:105-111.
- [4] Sarkari B, Khabisi SA. Immunodiagnosis of Human Fascioliasis: An Update of Concepts and Performances of the Serological Assays. J Clin Diagn Res. 2017;11(6):OE05-OE10. doi:10.7860/JCDR/2017/26066.10086
- [5] Jonathan J. Deeks, Patrick M. Bossuyt, Mariska M. Loefflang, Yemisi Takwoingi. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Diagnostic Test Accuracy. The Cochrane Collaboration and John Wiley & Sons Ltd, 2023, UK, page 46.
- [6] Na T. D. Tran, Phuong Anh Ton Nu, Kittit Intuyod, Ly T. K. Dao, Porntip Pinlaor, Yukifumi Nawa, Kiattawee Choowongkamon, Amornrat Geadkaew-Krenc, Nanthawat Kosa, Rudi Grams, and Somchai Pinlaor (2019). Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay kit and in-house Fasciola gigantica cysteine proteinases-based enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of human fascioliasis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 100, 591–598. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0833>
- [7] Roxana del Carmen Medina-Rojas, Higinio Alberto Zuñiga-Sanchez, Isabel Eveling Castillo-Coaquira, Wilson Gregorio Sucari-Turpo, Zeida Patricia Hoces-La-Rosa, Ymelda Sarayasi-Alencastre. Western Blot for the diagnosis of the acute and chronic phase of animal and human fasciolosis, using different antigens of Fasciola hepatica. Journal of Survey in Fisheries Sciences. 2023;10(3S):1362-1373.
- [8] Intapan PM, Maleewong W, Wongkham C, Tomanakarn K, Ieamviteevanich K, Pipitgool V, et al. Excretory-secretory antigenic components of adult Fasciola gigantica recognized by infected human sera. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1998;29(3):579-83
- [9] Nguyen TG, Le TH, De NV, et al. Assessment of a 27-kDa antigen in enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of fasciolosis in Vietnamese patients. Trop Med Int Health.

- 2010;15(4):462-467. doi:10.1111/j.1365-3156.2010.02468.x
- [10] Shafiei R, Sarkari B, Sadjjadi SM. Performance of a 27 kDa *Fasciola hepatica* Antigen in the Diagnosis of Human Fascioliasis. *J Lab Physicians*. 2015 Jan-Jun;7(1):17-20. doi: 10.4103/0974-2727.154781. PMID: 25949054; PMCID: PMC4411804.
- [11] Attallah AM, Bughdadi FA, El-Shazly AM, Ismail H. Immunodetection of *Fasciola gigantica* circulating antigen in sera of infected individuals for laboratory diagnosis of human fascioliasis. *Clin Vaccine Immunol*. 2013;20(10):1569-1577. doi:10.1128/CVI.00305-1320.