

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN SÓT RÉT – KÝ SINH TRÙNG – CÔN TRÙNG TRUNG ƯƠNG

LÊ ĐỨC VINH

**NGHIÊN CỨU THỰC TRẠNG, MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN
ĐẾN NHIỄM GIUN LƯỖN *Strongyloides* spp và KẾT QUẢ ĐIỀU
TRỊ BẰNG IVERMECTIN TẠI HUYỆN ĐỨC HOÀ, TỈNH LONG
AN (2017 – 2018)**

Chuyên ngành: **Ký Sinh Trùng Y Học**

Mã số: **62.72.01.16**

Cán bộ hướng dẫn khoa học

PGS. TS TRẦN THỊ HỒNG

PGS. TS VŨ VĂN DU

Hà Nội, 2019

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan

Kết quả luận án này là công trình nghiên cứu của riêng tôi, tất cả các kết quả và số liệu trong luận án do chính bản thân thực hiện trong suốt thời gian nghiên cứu. Các số liệu trình bày trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nghiên cứu nào khác.

Tác giả luận án

Lê Đức Vinh

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc nhất và tri ân tới PGS. TS. Trần Thị Hồng, PGS.TS Vũ Văn Du là những người Thầy hướng dẫn khoa học, đã tận tình giúp đỡ, động viên và truyền đạt kiến thức cũng như những kinh nghiệm quý báu trong nghiên cứu khoa học để tôi có thể hoàn thành luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn đến Lãnh đạo Viện Sốt rét – KST – CT Trung ương, PGS.TS Cao Bá Lợi, phòng khoa học đào tạo, các thầy cô giáo và các khoa, phòng liên quan của Viện đã tạo mọi điều kiện tốt nhất và giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban giám đốc, các Anh chị em đồng nghiệp tại Trung tâm y tế huyện Đức Hòa, tỉnh Long An và Bộ môn Ký sinh y học Trường đại học y khoa Phạm Ngọc Thạch đã tạo điều kiện, giúp đỡ cho tôi trong quá trình thu thập dữ liệu, mẫu phân, máu, xét nghiệm và điều trị cho người dân tại huyện Đức Hòa.

Tôi xin chân thành cảm ơn Quý Thầy Cô là GS, PGS, TS trong các hội đồng khoa học chấm luận án đã đóng góp nhiều ý kiến quý báu để tôi có thêm kiến thức và hoàn thiện luận án đạt chất lượng tốt hơn.

Xin bày tỏ lòng cảm ơn sâu sắc tới những người thân trong gia đình, anh chị em, đồng nghiệp, những người đã luôn ủng hộ động viên tôi trong suốt quá trình học tập và giúp tôi vượt qua những khó khăn để hoàn thành luận án tốt nghiệp.

Hà nội tháng, năm

Tác giả luận án

Lê Đức Vinh

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tên tiếng Anh đầy đủ	Nghĩa/Tên tiếng Việt
AIDS	Acquired immunodeficiency syndrome	Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải
ALB	albendazol	Thuốc albendazol
AT		Ấu trùng
ATGL		ấu trùng giun lươn
BCAT		Bạch cầu ái toan
Bp	Base pair	Cặp base của chuỗi ADN
BYT		Bộ Y tế
CDC	Centers for Disease Control and Prevention	Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa bệnh tật.
<i>cox1</i>	Cytochrome c oxydase subunit 1	Một gen thuộc hệ gen ty thể
CS		Cộng sự
CT		Côn trùng
CT – scan	Computed Tomography - scan	Chụp cắt lớp điện toán
DNA	Deoxyribonucleic acid	Axít deoxyribonucleic
dNTP	Deoxynucleoside triphosphates	Đơn vị cấu tạo nên ADN
ĐHYK		Đại học y khoa
EDTA	Ethylene diamin tetraacetic acid	Một loại chất chống đông máu
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	Phản ứng miễn dịch gắn men
Genbank		Ngân hàng gen
GPIA	Gelatin particle indirect agglutination	Ngưng kết hạt gelatin gián tiếp
HIV	Human Immunodeficiency Virus	Virus gây suy giảm miễn dịch ở người
HTLV – 1	Human T-cell lymphotropic virus type 1	Virus hướng ung thư tế bào lympho T típ 1
HVS		Hợp vệ sinh
ITS	Internal Transcribed Spacer	Đoạn giao gen
IVM	ivermectin	Thuốc ivermectin

Chữ viết tắt	Tên tiếng Anh đầy đủ	Nghĩa/Tên tiếng Việt
KAP	Knowledge, Attitude and Practice	Kiến thức – thái độ – hành vi
KHV		Kính hiển vi
KST		Ký sinh trùng
KTC 95%		Khoảng tin cậy 95%
LAMP	Loop Mediated Isothermal Amplification	Kỹ thuật khuếch đại đẳng nhiệt ADN
LĐTBXH		Lao động thương binh và xã hội
LIPA	Luciferase immunoprecipitation assay	Phản ứng ngưng kết miễn dịch
LIPS	Luciferase immunoprecipitation system	Hệ thống ngưng kết miễn dịch
Multiplex PCR	Multiplex Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi polymerase đa môi
NCBI	National Center for Biotechnology Information	Trung tâm tin -sinh học Quốc gia.
nested – PCR	Nested Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi polymerase lồng
NTU	Novatech unit	Đơn vị tính của Novatech
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi polymerase
Realtime PCR (RT-PCR)	Realtime Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi polymerase thời gian thực
RFLP	Restriction fragment length polymorphism	Kỹ thuật xác định đa hình độ dài đoạn giới hạn
RNA	Ribonucleic acid	Axít ribonucleic
SHPT		Sinh học phân tử
TBZ	thiabendazol	Thuốc thiabendazol
THPT		Trung học phổ thông
Tp.HCM		Thành phố Hồ Chí Minh
WHO	World Health organization	Tổ chức Y tế Thế giới (TCYTTG)

MỤC LỤC

Danh mục các bảng	
Danh mục các hình	
ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
Chương 1 TỔNG QUAN	3
1.1. Lịch sử phát hiện giun lươn	3
1.2. Tác nhân gây bệnh	3
1.2.1 Hình thái học.....	4
1.2.2. Khả năng sống sót của ấu trùng giun lươn ngoài môi trường.....	7
1.3 Chu kỳ phát triển sinh học của giun lươn	7
1.3.1. Chu trình sinh học	7
1.3.2. Chu trình tự nhiễm (mạn tính)	9
1.4 Đặc điểm dịch tễ học.....	10
1.4.1. Tình hình nhiễm giun lươn trên thế giới.....	11
1.4.2. Tình hình nhiễm giun lươn tại Việt Nam	13
1.4.3 Các yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn	15
1.5. Bệnh học giun lươn	16
1.5.1 Bệnh giun lươn mạn tính, không biến chứng	17
1.5.2 Bệnh nặng, có biến chứng.....	19
1.5.3. Bệnh đa cơ quan ở cơ địa suy giảm miễn dịch	19
1.5.4 Hội chứng tăng nhiễm (hyperinfection syndrom)	20
1.5.5 Bệnh giun lươn lan tỏa	21
1.5.6 Biến chứng và tử vong do bệnh nhiễm giun lươn <i>S. stercoralis</i>	22
1.6. Chẩn đoán bệnh nhiễm giun lươn	23
1.6.1 Định nghĩa ca bệnh nhiễm giun lươn <i>S. stercoralis</i>	23
1.6.2 Chẩn đoán lâm sàng	24
1.6.3 Xét nghiệm chẩn đoán trực tiếp tìm KST	24
1.6.4. Phương pháp chẩn đoán miễn dịch học	27
1.6.5 Chẩn đoán sinh học phân tử	28
1.7. Điều trị và dự phòng	30
1.7.1 Các thuốc điều trị giun lươn.....	30
1.7.2 Điều trị ca bệnh	32
1.7.3 Phòng bệnh và giáo dục sức khỏe.....	33
Chương 2 ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	34

2.1 Mục tiêu 1: Xác định tình trạng và một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn <i>Strongyloides</i> spp ở người dân huyện Đức Hoà, tỉnh Long An năm 2017 - 2018.	
2.1.1 Đối tượng nghiên cứu	34
2.1.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu	34
2.1.3. Thiết kế nghiên cứu	36
2.1.4 Nội dung nghiên cứu.....	38
2.1.5 Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu	38
2.1.6 Các chỉ số đánh giá	41
2.1.7 Xử lý số liệu	43
2.2. Mục tiêu 2: Xác định loài giun lươn gây bệnh ở người bằng hình thái học và SHPT	
2.2.1 Đối tượng nghiên cứu	43
2.2.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu	44
2.2.3. Thiết kế nghiên cứu	44
2.2.4 Nội dung nghiên cứu	45
2.2.5 Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu	45
2.2.6 Các chỉ số đánh giá	51
2.2.7 Xử lý số liệu	52
2.3. Mục tiêu 3: Mô tả các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng và đánh giá kết quả điều trị ca bệnh do <i>Strongyloides</i> spp bằng Ivermectin liều duy nhất.	
2.3.1 Đối tượng nghiên cứu	52
2.3.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu	53
2.3.3. Thiết kế nghiên cứu	53
2.3.4 Nội dung nghiên cứu	54
2.3.5 Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu	54
2.3.6 Các chỉ số đánh giá	56
2.3.7 Xử lý số liệu	60
2.4 Sai số và biện pháp hạn chế sai số	60
2.5 Đạo đức trong nghiên cứu.....	60
Chương 3 KẾTQUẢ NGHIÊN CỨU	63
3.1 Xác định tỉ lệ nhiễm và một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn <i>Strongyloides</i> spp ở người dân huyện Đức Hoà, tỉnh Long An	
3.1.1 Đặc điểm đối tượng nghiên cứu.....	63
3.1.2 Thực trạng nhiễm giun lươn của toàn huyện Đức Hòa	67
3.1.3 Một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn	74
3.2 Xác định loài giun lươn <i>Strongyloides</i> gây bệnh	78

3.2.1 Khảo sát giun lươn <i>Strongyloides</i> gây bệnh bằng hình thái học.....	78
3.2.2 Kết quả realtime PCR định loài <i>Strongyloides</i> spp	83
3.2.3 Kết quả PCR lồng và giải trình tự gen	86
3.2.4 Cây phân hệ các loài giun lươn được xác định trong nghiên cứu	90
3.3 Mô tả các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng và đánh giá kết quả điều trị ca bệnh do <i>Strongyloides</i> spp với Ivermectin liều duy nhất.	
3.3.1 Các triệu chứng lâm sàng	92
3.3.2 Các kết quả cận lâm sàng.....	93
3.3.3 Hiệu quả điều trị của ivermectin liều duy nhất.....	94
Chương 4 BÀN LUẬN	97
4.1 Xác định tỉ lệ nhiễm và một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn <i>Strongyloides</i> spp ở người dân huyện Đức Hoà, tỉnh Long An năm 2017 - 2018	
4.1.1 Đặc điểm mẫu nghiên cứu	97
4.1.2 Thực trạng nhiễm giun lươn của toàn huyện Đức Hòa	99
4.1.3 Một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn	103
4.2 Xác định loài giun lươn <i>Strongyloides</i> gây bệnh	109
4.2.1 Khảo sát giun lươn <i>Strongyloides</i> gây bệnh bằng hình thái học.....	109
4.2.2 Kết quả realtime PCR định loài <i>Strongyloides</i> spp	114
4.2.3 Kết quả PCR lồng và giải trình tự gen	116
4.3 Mô tả các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng và đánh giá kết quả điều trị ca bệnh do <i>Strongyloides</i> spp với Ivermectin liều duy nhất.	
4.3.1 Các triệu chứng lâm sàng	119
4.3.2 Các kết quả cận lâm sàng.....	124
4.3.3 Hiệu quả điều trị của ivermectin liều duy nhất.....	128
4.3.4 Tác dụng không mong muốn của thuốc ivermectin	131
KẾT LUẬN	133
KIẾN NGHỊ	135
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN	136
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
Phụ lục 1: Kỹ thuật cấy phân và sinh học phân tử realtime PCR	i
Phụ lục 2: Bảng câu hỏi phỏng vấn.....	xiii
Phụ lục 3: Một số kết quả xét nghiệm về SHPT	xix
Phụ lục 4: Danh sách bệnh nhân nhiễm giun.....	xxi
Phụ lục 5: Một số hình ảnh khi thực hiện nghiên cứu	xxiii
Phụ lục 6: Bảng cam kết đồng thuận tham gia nghiên cứu.	xxv

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng số	Tên Bảng	Trang
Bảng 2.1	Các biến số sử dụng trong nghiên cứu cho mục tiêu 1.....	41
Bảng 2.2	Công thức phản ứng realtime PCR.....	48
Bảng 2.3	Công thức phản ứng PCR lồng 2 bước.....	50
Bảng 2.4	Các biến số đánh giá hình thái và SHPT	51
Bảng 2.5	Các biến số về lâm sàng, cận lâm sàng và điều trị	56
Bảng 2.6	Định nghĩa các chỉ số, biến số và phương pháp thu thập	57
Bảng 3.1	Phân bố giới tính và độ tuổi tại điểm nghiên cứu	64
Bảng 3.2	Phân bố trình độ học vấn và tình trạng kinh tế	65
Bảng 3.3	Phân bố nghề nghiệp và tình trạng sử dụng hồ xí	66
Bảng 3.4	Tỷ lệ nhiễm giun lươn ở từng xã/thị trấn (n = 1.190).....	67
Bảng 3.5	Phân bố giới tính ở bệnh nhân nhiễm giun lươn	68
Bảng 3.6	Phân bố nhóm tuổi ở bệnh nhân nhiễm giun lươn	69
Bảng 3.7	Phân bố trình độ học vấn ở bệnh nhân nhiễm giun lươn	70
Bảng 3.8	Phân bố tình trạng kinh tế ở bệnh nhân nhiễm giun lươn	71
Bảng 3.9	Phân bố nghề nghiệp ở bệnh nhân nhiễm giun lươn	72
Bảng 3.10	Phân bố tình trạng sử dụng hồ xí ở bệnh nhân nhiễm giun lươn ..	73
Bảng 3.11	Liên quan giữa nhiễm giun lươn với giới tính.....	74
Bảng 3.12	Liên quan giữa nhiễm giun lươn với nhóm tuổi	74
Bảng 3.13	Liên quan giữa nhiễm giun lươn với trình độ học vấn.....	75
Bảng 3.14	Liên quan giữa nhiễm giun lươn với tình trạng kinh tế.....	75
Bảng 3.15	Liên quan giữa nhiễm giun lươn với nghề nông	76
Bảng 3.16	Liên quan giữa nhiễm giun lươn với tình trạng sử dụng hồ xí.....	76
Bảng 3.17	Liên quan giữa nhiễm giun lươn với thói quen TXĐ trực tiếp	77
Bảng 3.18	Phân tích đa biến xác định các yếu tố liên quan	78
Bảng 3.19	Kết quả xét nghiệm phân lần 1 chẩn đoán giun lươn (n = 79).....	78
Bảng 3.20	Chỉ số hình thể ấu trùng giun lươn giai đoạn 1 (n = 79)	80
Bảng 3.21	Chỉ số hình thể ấu trùng giun lươn giai đoạn 2 (n = 79)	81
Bảng 3.22	Chỉ số hình thể giun lươn đực sống tự do (n = 5)	82

Bảng 3.23	Chỉ số hình thể giun lươn cái sống tự do (n = 3).....	83
Bảng 3.24	Thành phần loài giun lươn được xác định bằng realtime PCR	84
Bảng 3.25	Chu kỳ ngưỡng khi xác định bằng RT – PCR.....	84
Bảng 3.26	Kết quả so sánh trình tự của 14 mẫu nghiên cứu với NCBI	87
Bảng 3.27	Hệ số tương đồng về trình tự gen của 10 mẫu AT <i>S. stercoralis</i>	90
Bảng 3.28	Hệ số tương đồng về trình tự gen của 4 mẫu AT <i>S. ratti</i>	91
Bảng 3.29	Triệu chứng lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm giun lươn (n = 79)	92
Bảng 3.30	Các triệu chứng lâm sàng trong nhiễm giun lươn (n = 79)	92
Bảng 3.31	Tỷ lệ bệnh nhân có tăng bạch cầu ái toan.....	93
Bảng 3.32	Kết quả ELISA ở bệnh nhân nhiễm giun lươn (n = 79)	94
Bảng 3.33	Mức độ thay đổi triệu chứng lâm sàng sau điều trị 6 tuần	95
Bảng 3.34	Tỷ lệ sạch ấu trùng sau điều trị (n = 79)	95
Bảng 3.35	Hiệu quả điều trị của ivermectin (n = 57)	96
Bảng 3.36	Tỷ lệ các tác dụng không mong muốn khi uống thuốc (n = 79) ...	96

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình số	Tên Hình	Trang
Hình 1.1	AT rabditiform (x 400).	6
Hình 1.2	AT filariform (x 400).	6
Hình 1.3	Giun cái sống tự do	6
Hình 1.4	Giun đực tự do.....	6
Hình 1.5	Giun cái sống ký sinh	6
Hình 1.6	Trứng giun lươn (x600)	6
Hình 1.7	Chu trình phát triển của <i>S. stercoralis</i>	9
Hình 1.8	Công thức hoá học của ivermectin	30
Hình 1.9	Công thức hoá học của albendazol	31
Hình 1.10	Công thức hoá học của thiabendazol	31
Hình 2.1	Bản đồ các điểm nghiên cứu tại Huyện Đức Hoà	35
Hình 2.2	Khóa định loại giun móc và giun lươn theo WHO 1991	41
Hình 2.3	Sơ đồ nghiên cứu	62
Hình 3.1	Phân bố mẫu tại các điểm nghiên cứu của huyện Đức Hoà.....	63
Hình 3.2	Tỉ lệ nhiễm giun lươn (n = 1.190).....	67
Hình 3.3	Giới thiệu các cấu trúc cơ bản khảo sát trong nghiên cứu.	79
Hình 3.4	Hình ảnh ấu trùng giun lươn giai đoạn 1 (từ nghiên cứu).	79
Hình 3.5	Hình ảnh ấu trùng giun lươn giai đoạn 2 (từ nghiên cứu).	80
Hình 3.6	Hình ảnh giun lươn đực sống tự do (từ nghiên cứu).....	81
Hình 3.7	Hình ảnh giun lươn cái sống tự do (từ nghiên cứu).....	82
Hình 3.8	Kết quả realtime PCR định loài <i>Strongyloides</i> spp.....	85
Hình 3.9	Kết quả điện di sản phẩm PCR lồng	86
Hình 3.10	Đoạn gen của <i>S. stercoralis</i> kích thước 956bp (mẫu số 7)	88
Hình 3.11	Đoạn gen của <i>S. ratti</i> kích thước 933bp (mẫu số 54)	89
Hình 3.12	Cây phát sinh loài xây dựng trên nhóm 10 AT <i>S. stercoralis</i>	90
Hình 3.13	Cây phát sinh loài xây dựng trên nhóm 4 AT <i>S. ratti</i>	91

ĐẶT VẤN ĐỀ

Giun lươn *Strongyloides* spp là một tác nhân truyền nhiễm và gây bệnh cảnh mạn tính. Tác nhân này được xem là một trong những mầm bệnh ký sinh trùng bị lãng quên, nhưng lại là vấn đề sức khoẻ cộng đồng quan trọng do tính chất đặc trưng về chu trình tự nhiễm và dẫn đến tăng nhiễm, gây tử vong trên một số bệnh nhân [54], [97], [8], [14].

Với số liệu thống kê chưa đầy đủ, trên thế giới hiện có khoảng từ 30 - 100 triệu người bị nhiễm mầm bệnh này. Nhiễm bệnh mắc phải thông qua đường tiếp xúc trực tiếp với nguồn đất ô nhiễm mầm bệnh như trồng trọt nông nghiệp, hoạt động vui chơi, ... [7], [54], [97].

Thông thường giun trưởng thành khu trú ở ruột, gây bệnh cảnh đau bụng, tiêu chảy kéo dài hoặc viêm đại tràng, Ngoài bệnh cảnh tại đường tiêu hoá, giai đoạn ấu trùng giun lươn khi xâm nhập vào cơ thể người có thể di chuyển nhiều cơ quan khác nhau, gây ra những bệnh cảnh lâm sàng rất đa dạng. Vấn đề chẩn đoán chính xác ca bệnh vì thế cũng gặp nhiều khó khăn [83].

Khi bệnh nhân không được can thiệp sớm, giun sẽ gây những tổn thương lâu dài ở ruột rất khó phục hồi, cũng như gây tổn thương ở nhiều cơ quan với các mức độ nặng khác nhau. Đặc biệt trong một số trường hợp có các yếu tố bệnh lý khác tác động, nhiễm giun lươn có thể dẫn tới tử vong [54].

Điều trị ca bệnh giun lươn khó khăn hơn các loài giun đường ruột khác, đặc biệt với hội chứng tăng nhiễm. Việc điều trị ca bệnh đến nay vẫn còn nhiều điểm chưa thống nhất về thời gian điều trị và lựa chọn thuốc.

Chẩn đoán xác định bệnh nhiễm giun lươn *Strongyloides* spp hiện nay có nhiều phát triển, không còn dựa chủ yếu vào kỹ thuật chẩn đoán trực tiếp kính hiển vi. Việc phối hợp với kỹ thuật huyết thanh học, thậm chí áp dụng kỹ thuật cao như sinh học phân tử trong chẩn đoán đã dẫn đến việc phát hiện ngày càng nhiều số lượng ca bệnh. Điều này đã gián tiếp chứng minh số lượng người dân

nhiễm bệnh tại cộng đồng, cũng như sự tồn tại mầm bệnh ở ngoại cảnh là không nhỏ [15], [97].

Mặc dù bệnh giun lươn được phát hiện lần đầu tiên tại miền Nam Việt Nam, nhưng không có nhiều nghiên cứu về tác nhân gây bệnh này trong thời gian gần đây. Những nghiên cứu về bệnh giun lươn thường được báo cáo ca bệnh đơn lẻ và loạt ca tại các cơ sở điều trị nhất định [22], [23], [26]. Với các khảo sát lớn tại cộng đồng, bệnh giun lươn thường được phát hiện bằng kỹ thuật không đặc hiệu vì tích hợp chung với các loài giun đường ruột khác. Vì thế, các ca bệnh do giun lươn thường bị bỏ sót.

Theo các kết quả nghiên cứu tại huyện Củ Chi, Tp. HCM trước đây, tỷ lệ nhiễm giun lươn tại cộng đồng khá cao, được xác định là vùng lưu hành của bệnh [27], [28]. Huyện Đức Hòa của tỉnh Long An, có địa giới tiếp giáp với huyện Củ Chi tp. HCM, cũng là vùng ranh giới giữa miền Đông và miền Tây Nam Bộ, chưa có một nghiên cứu nào về giun lươn. Vậy, với điều kiện môi trường tự nhiên thuận lợi cho mầm bệnh giun lươn phát triển tương tự huyện Củ Chi, thực trạng bệnh giun lươn và can thiệp điều trị cho bệnh nhân tại huyện Đức Hoà như thế nào?

Để giải đáp câu hỏi nghiên cứu trên, chúng tôi tiến hành đề tài “**Nghiên cứu thực trạng, một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn *Strongyloides* spp và kết quả điều trị bằng ivermectin tại huyện Đức Hoà, tỉnh Long An, năm 2017 – 2018**”. Với mục tiêu

1. Xác định tình trạng và một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn *Strongyloides* spp ở người dân huyện Đức Hoà, tỉnh Long An năm 2017 – 2018.
2. Xác định loài giun lươn *Strongyloides* spp gây bệnh bằng hình thái và sinh học phân tử tại điểm nghiên cứu.
3. Mô tả các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng và đánh giá kết quả điều trị ca bệnh do *Strongyloides* spp bằng ivermectin liều duy nhất.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Lịch sử phát hiện giun lươn

Tháng 7 năm 1876, Louis Normand (1834 – 1885) - nhà nghiên cứu của bệnh viện thủy quân St. Mandrier ở Toulon, tìm thấy ký sinh trùng trong mẫu phân của những bệnh nhân tiêu chảy người Pháp, có tiền sử đến miền Nam - Việt Nam. Tác giả Normand đã báo cáo khám phá này tại Vice – Admiral Jurien de la Gravière. Ông đặt tên cho tác nhân là *Anguillula stercoralis* và bệnh này được gọi là bệnh tiêu chảy Nam Kỳ [17], [54].

Tháng 10 năm 1876, Bavay và Gervais đã đệ trình lên Viện Hàn Lâm một báo cáo chi tiết hơn về loại giun này, ông đã phát hiện ra giun lươn có thể ở dạng ấu trùng và phát triển thành một dạng sống tự do nếu nuôi chúng vài ngày trong môi trường thích hợp [54].

Năm 1882, Grassi cho rằng giun lươn cái có khả năng trinh sản (giun cái tự sinh sản không cần giun đực). Giả thuyết này gây ra nhiều tranh cãi nhưng đến nay hiện tượng trinh sản đã được công nhận [54].

Loos (1905) đã chứng minh giun lươn xâm nhập cơ thể qua da và đã thử nghiệm thành công trên người tình nguyện nuốt ấu trùng, kết quả sau 64 ngày ấu trùng giun lươn đã xuất hiện trong phân. Và đến năm 1915, hội đồng danh mục tên khoa học thống nhất đặt tên cho mầm bệnh này là *Strongyloides stercoralis* [54].

Chu kỳ phát triển hoàn chỉnh của giun lươn được Perroncito phát hiện vào năm 1981. Leukart (1983) phát hiện giun lươn có 2 chu kỳ sống: đó là dạng sống tự do và dạng ký sinh. Nhưng cho đến hiện nay, vấn đề môi trường ảnh hưởng như thế nào đến 2 dạng sống nêu trên còn nhiều điểm chưa rõ [8], [15].

1.2. Tác nhân gây bệnh

Có khoảng 104 loài giun lươn, trong đó có 52 loài thường gặp (hầu hết các loại này đều có thể gây bệnh cho người) một số gây bệnh cho thú nuôi trong

nhà và các loại thú khác. Giun lươn gây bệnh cho người phổ biến là *Strongyloides stercoralis*, và ít hơn là *Strongyloides fuelleborni* [54].

Vật chủ chính của *S. stercoralis* là người, trong khi vật chủ chính của *S. fuelleborni* là khỉ. *S. fuelleborni* đã được tìm thấy rải rác ở các quốc gia Châu Phi và Papua New Guinea [15].

Một số loài khác như: *S. procyonic* (vật chủ là gấu trúc), *S. myopotami* và *S. ratti* (vật chủ là chuột và loài gặm nhấm) được xem là các bệnh ký sinh trùng lây từ động vật sang người [8], [60], [58].

Phân loại khoa học của giun lươn *S. stercoralis*

Giới (Kingdom):	<i>Animalia</i>
Ngành (Phylum):	<i>Nematoda</i>
Lớp (Class):	<i>Secernentea</i>
Bộ (Order):	<i>Rhabditida</i>
Họ (Familia):	<i>Strongyloididae</i>
Giống (Genus):	<i>Strongyloides</i>
Loài (Species):	<i>S. stercoralis</i>

Giun lươn trưởng thành có giai đoạn ký sinh trong cơ thể người và có giai đoạn tự do sống không ký sinh ở ngoại cảnh. Hình thể giun do vậy cũng khác nhau tùy theo giai đoạn ký sinh hay không ký sinh.

1.2.1 Hình thái học

1.2.1.1 Giun lươn ký sinh

Giun cái có hình ống, rất nhỏ, chiều dài 2 – 2,8 mm, chiều ngang khoảng 37 – 40 μm , trong suốt. Miệng có 2 môi, thực quản hình ống dài khoảng $\frac{1}{4}$ chiều dài toàn thân. Các con giun đang mang trứng chứa khoảng 10 - 20 trứng nằm đơn độc bên trong tử cung. Lỗ sinh dục mở ra tương ứng với gai nhọn ở vị trí $\frac{1}{3}$ sau của cơ thể [13], [54], [111], [64].

Người ta chưa tìm thấy giun đực ký sinh [54]. Một số tác giả cho rằng có giun đực ký sinh nhưng dễ dàng chết nhanh sau giao hợp, nên khó phát hiện trong phân bệnh nhân [17].

1.2.1.2 Giun lươn sống tự do

Giun cái dài khoảng 1 – 1,5 mm, chiều ngang 50 – 80 μm , thực quản có dạng phình. Tử cung chứa khoảng 40 trứng đang phát triển nằm trong theo một hàng dài. Lỗ sinh dục mở ra gần điểm giữa cơ thể gần phía mặt bụng (hình 1.3).

Giun đực có chiều dài ngắn hơn giun cái, khoảng 0,7 mm x 0,04 mm, thực quản mỏng nhỏ. Đuôi cong có 2 gai sinh dục bố trí tương xứng, nhọn, sắc cạnh và cong xuống cố định ở mặt bụng, tạo cho thân giun có hình chữ J (hình 1.4) [54], [64], [111].

1.2.1.3 Trứng giun lươn

Trứng do giun lươn cái ký sinh đẻ có hình bầu dục, kích thước khoảng 54 x 32 μm , vỏ mỏng, trong suốt, giống như trứng giun móc nhưng có sẩn ấu trùng bên trong.

Trứng do giun lươn cái sống tự do đẻ có kích thước lớn hơn so với trứng do giun sống ký sinh : 70 x 45 μm [54], [64], [111].

1.2.1.4 Ấu trùng (AT)

Ấu trùng giai đoạn 1 (*rhabditiform* - ấu trùng có thực quản phình): nở từ trứng, có kích thước khoảng 200 – 250 x 16 – 20 μm , xoang miệng ngắn, đuôi nhọn, thực quản có eo thắt nên có dạng phình. (hình 1.1)

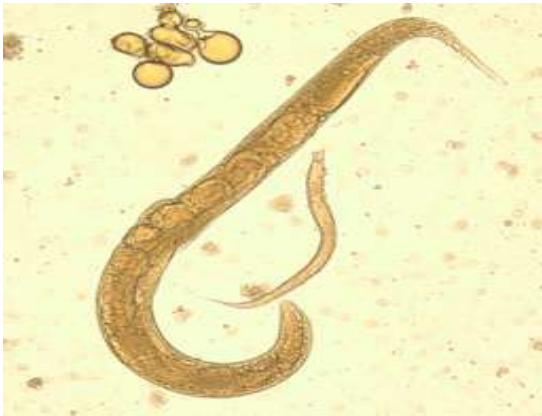
Ấu trùng giai đoạn 2 (*filariform* - ấu trùng có thực quản hình ống): phát triển từ ấu trùng giai đoạn 1. Kích thước thay đổi từ 400 – 700 μm , thực quản có dạng hình ống dài từ 1/3 - 1/2 chiều dài toàn thân. Đuôi tù hoặc có hình chẻ 2 ở tận cùng như đuôi chim én hoặc hình chữ V (hình 1.2) [54], [64], [111].



Hình 1.1. AT rabbitiform (x 400)
 Nguồn: CDC



Hình 1.2 AT filariform (x 400)
 Nguồn: CDC



Hình 1.3 Giun cái sống tự do (x100)
 Nguồn: CDC



Hình 1.4 Giun đực tự do (x100)
 Nguồn: CDC



Hình 1.5 Giun cái sống ký sinh (x100)
 Nguồn: <http://ruby.fgcu.edu>



Hình 1.6 Trứng giun lươn (x600)
 Nguồn: CDC

Hình thể các giai đoạn phát triển của *Strongyloides* spp.

1.2.2. Khả năng sống sót của ấu trùng giun lươn ngoài môi trường

Điều kiện tối ưu cho ấu trùng giai đoạn nhiễm (infective filariform larvae) là độ ẩm cao và nhiệt độ 20 - 25⁰C, song chúng có thể sống sót hơn 3 tuần. Ấu trùng rất dễ bị phá hủy bởi nhiệt độ lạnh, ánh sáng trực tiếp chiếu vào và môi trường rất khô [54].

Ấu trùng giai đoạn lây nhiễm có khả năng đề kháng tốt hơn với điều kiện hanh khô hơn là ấu trùng rhabditiform, nhưng ở nhiệt độ thấp thì cả hai đều không phát triển được. Một số tác giả báo cáo rằng ở điều kiện 0⁰C thì ấu trùng có thể sống đến 16 ngày; môi trường đất hanh khô thì ấu trùng chết đi nhanh chóng nếu nhiệt độ hơn 46⁰C, ấu trùng giai đoạn nhiễm có thể bơi và sống sót tốt trong nước lũ lụt, trong dịch dạ dày, ấu trùng có thể chết sau 5-7 giờ. Thở trưởng thành sống tự do có thể di chuyển theo chiều đứng, xuống dưới lớp cát sâu đến 30cm nhưng ấu trùng không thể di chuyển theo hướng lên [54].

1.3 Chu kỳ phát triển sinh học của giun lươn

1.3.1. Chu trình sinh học

Trên thực tế có hai giai đoạn của chu kỳ sinh học bệnh giun lươn: một là chu kỳ ký sinh (trực tiếp hay homogonic), một chu kỳ khác là sống tự do (gián tiếp) [8], [17], [49].

Chu kỳ trực tiếp diễn ra dưới điều kiện vùng ôn đới và chu kỳ gián tiếp diễn ra ở vùng nhiệt đới do đáp ứng thích nghi điều kiện sống của mầm bệnh trong môi trường ngoại cảnh.

Giun trưởng thành sống trong niêm mạc ruột non, phần trên của ruột non (hông tràng) là nơi ưa thích nhất của chúng. Giun cái đẻ trứng trong niêm mạc ruột, trứng phát triển và tiếp tục nở thành AT giai đoạn 1 trong vài giờ sau đó tại ngay bề mặt niêm mạc ruột. AT giai đoạn 1 sẽ di chuyển đến thành ruột non rồi thải ra phân.

Ngoài môi trường, AT rất linh hoạt, dinh dưỡng bằng cách ăn các mảnh vụn tế bào chết xung quanh rồi phát triển hơn trong phân và trong đất.

Ở ngoại cảnh, dưới điều kiện tối ưu: khí hậu ẩm và ẩm với đầy đủ chất dinh dưỡng, chu kỳ phát triển tự do diễn ra, ấu trùng lột xác một lần nữa thành AT giai đoạn 2 và phát triển thành giun trưởng thành sống tự do trong 36 giờ. Những giun trưởng thành sống tự do giao phối và con cái đẻ trứng. Trứng phát triển thành AT và lột xác dần đến giai đoạn lây nhiễm và gây xâm nhập gây bệnh cho người [15].

Trong một số điều kiện thuận lợi của môi trường, chu kỳ ký sinh (trực tiếp) xảy ra, AT giai đoạn 1 lột xác 2 lần để tạo ra giai đoạn lây nhiễm trong vòng vài ngày; ấu trùng giai đoạn nhiễm sống trên bề mặt của lớp đất, trên các thực vật và tồn tại khoảng vài ngày. Khi tiếp xúc với da người, AT xâm nhập gây ra viêm da ở vị trí xâm nhập. Tiếp đến, AT xâm nhập vào mạch máu nhỏ hoặc hệ mạch lympho, đi đến cơ quan tim rồi đến phổi. Sau khi xuyên qua phế nang, AT di chuyển đến đường dẫn khí, ngược lên hầu họng rồi xuống thực quản và đến ruột non. Quá trình lột xác có thể diễn ra trong suốt quá trình di chuyển đến hệ hô hấp và/ hoặc khi chúng đến ruột non và trưởng thành ở đó.

Tại đường tiêu hoá, giun cái đào hầm trong niêm mạc và đẻ trứng sau thời gian 17 ngày kể từ khi ấu trùng tiếp xúc và xuyên da. Lượng trứng đẻ ra không vượt quá 50 trứng mỗi ngày. Nhiều tác giả ủng hộ lý thuyết không có giun đực sống ký sinh và giun cái có khả năng sinh sản đơn tính (hiện tượng trinh sản) [84].

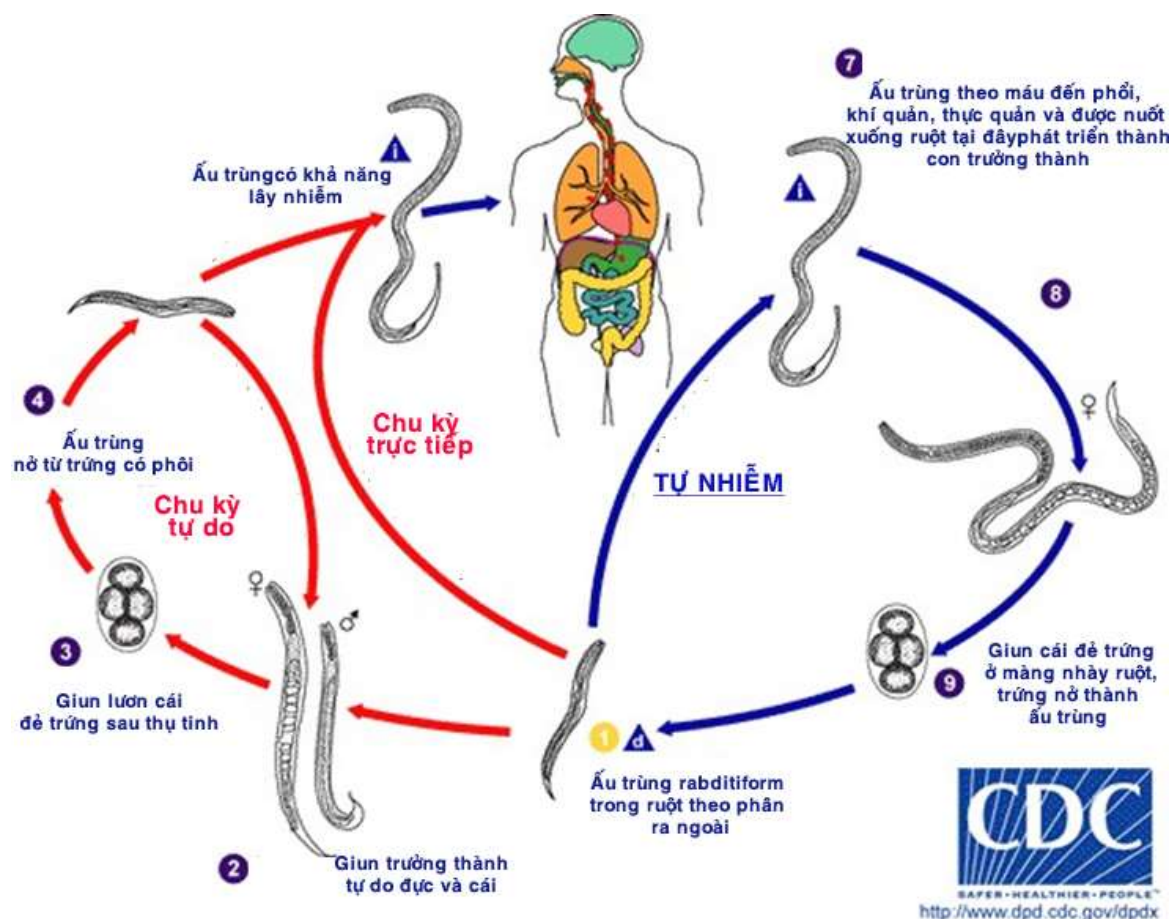
Tuổi thọ của loài giun *S. stercoralis* này có thể kéo dài khoảng 5 năm.

Người là vật chủ quan trọng của giun lươn, nhiễm bệnh do quá trình tiếp xúc bề mặt da và tiêu hóa với thực phẩm hoặc nước uống có nhiễm mầm bệnh.

Khi người mắc bệnh, giun trưởng thành bám vào màng nhày và đào hầm ký sinh trong ruột non, ở đây chúng đẻ trứng. Một số trứng nở trong lớp thượng bì; một số khác vào các khe của tuyến Lieberkuhn và nở ở đây. Trứng nở cho ra AT giai đoạn 1 thải ra trong phân. Nếu vì một lý do gì đó mà giai đoạn này ở lâu trong ruột, một số phát triển thành AT giai đoạn 2. Những AT giai đoạn

2 sớm phát triển này bị còi cọc so với ấu trùng giai đoạn 2 sống tự do tương ứng. Chính sự phát triển các giai đoạn AT gây nhiễm này bên trong lòng ruột có thể đưa đến chu trình tự nhiễm trong khi bình thường thì AT giai đoạn một ra ngoài cảnh và chịu sự phát triển dài hơn (chu kỳ tự do).

Những AT này đi ngay vào chu trình trực tiếp hay một cách luân phiên nhau, một thể hệ sống tự do có thể sát nhập vào chu trình gián tiếp. Trong cả hai trường hợp, AT giai đoạn 1 sống tự do ăn vi khuẩn trong đất bản. Sau giai đoạn tăng trưởng, AT giai đoạn 1 trong chu trình trực tiếp chuyển sang giai đoạn nghỉ ăn lột xác thành AT lây nhiễm [54], [15], [84].



Hình 1.7 Chu trình phát triển của *S. stercoralis*

(Nguồn: CDC có Việt hoá)

1.3.2. Chu trình tự nhiễm (mạn tính)

Hiện tượng tự nhiễm chỉ xảy ra với loài *S. stercoralis* là một nguyên nhân gây bệnh nghiêm trọng cho con người so với các tác nhân khác trong nhóm

giun đường ruột gây bệnh. Quá trình tự nhiễm xảy ra khi tất cả hoặc một số AT giai đoạn 1 cư trú trong thành ruột lột xác nhanh thành AT giai đoạn nhiễm, thiết lập một giai đoạn phát triển ký sinh bên trong vật chủ và hiện tượng này có thể duy trì suốt đời của vật chủ. AT giai đoạn nhiễm xâm nhập vào niêm mạc ruột non gây hiện tượng tái nhiễm từ bên trong, hay có thể xâm nhập tại da xung quanh hậu môn gây hiện tượng tái nhiễm từ bên ngoài [15], [49], [7].

Sau khi đi vào hệ tuần hoàn, AT sẽ đến phổi và lặp lại chu kỳ di chuyển vào ruột, nơi chúng phát triển thành con cái có khả năng gây bệnh. Hiện tượng tự nhiễm xảy ra thường xuyên này lý giải cho diễn tiến mạn tính của bệnh ở người di cư đến những vùng lưu hành của giun lươn, cũng như giải thích diễn tiến tồn tại lâu dài trong cơ thể vật chủ dù có thể không nhiễm thêm cá thể ấu trùng giun mới. Hiện tượng này cũng thường xảy ra ở đối tượng có khiếm khuyết về tình trạng miễn dịch qua trung gian tế bào.

Quá trình tự nhiễm đưa đến 2 hình thái quan trọng nhất của bệnh giun lươn đó là hội chứng tăng nhiễm và bệnh giun lươn lan toả [62], [97], [84].

1.4 Đặc điểm dịch tễ học

Sự phân bố toàn cầu của giun lươn *Strongyloides* spp khác nhau rất lớn. Tỷ lệ nhiễm thường dưới 1% ở vùng khí hậu ôn đới (ngoại trừ vài vùng trọng điểm lưu hành bệnh), nhưng có thể trên 25% ở nhiều nơi thuộc vùng khí hậu nhiệt đới. Nhìn chung tỷ lệ nhiễm thấp hơn so với giun móc, có lẽ vì ấu trùng của giun lươn *Strongyloides* tùy thuộc nhiều vào điều kiện sinh thái và chỉ sống khoảng 2 tuần ở ngoại cảnh.

Stuerchler (1981) chia tỷ lệ nhiễm thành 3 nhóm:

- Rải rác: dưới 1%
- Lưu hành: 1 – 5 %
- Lưu hành nặng: trên 5%

Gần đây, khoảng cách giữa các phân vùng lưu hành được điều chỉnh ở từng mức 10%. Tuy nhiên, rất nhiều quốc gia trên thế giới không có dữ liệu

nghiên cứu nên các bản đồ phân bố đang tải không thể hiện được giá trị như các loài giun khác [97], [8], [77].

1.4.1. Tình hình nhiễm giun lươn trên thế giới

Giun lươn là một bệnh truyền nhiễm đang nổi lên trên toàn cầu nhưng được đánh giá thấp ở nhiều quốc gia. Bệnh được xếp vào nhóm các bệnh truyền nhiễm bị lãng quên. Tỷ lệ mắc bệnh giun lươn trong cộng đồng ngày một gia tăng, đặc biệt là ở phía Nam, phía Đông và Trung Âu, các đảo vùng Caribe, Đông Nam Á, Mỹ Latinh và cận Sahara Châu Phi, tỷ lệ mắc giun lươn cao, có nơi lên đến 50% ở những vùng đất ẩm ướt và những vùng xử lý chất thải của con người không đúng cách. Đặc biệt là vùng Tây Phi, vùng Caribe, Đông Nam Á, các khu vực nhiệt đới của Braxin, Campuchia và Tây Ban Nha [30, 38, 51, 76]. Khu vực Đông Nam Á có tỷ lệ bệnh lưu hành cao nhất và bệnh giun lươn cũng rất phổ biến ở một số cộng đồng thổ dân Úc [110], [112], [106].

Tại khu vực Châu Phi, các nghiên cứu gần đây chỉ ra tỷ lệ nhiễm bệnh dao động từ 7,14% ở Nigeria cho đến 17,4% tại Ruwanda [30], [106]. Ngay tại chính một quốc gia như Ethiopia, tỷ lệ nhiễm cũng dao động từ 12,3% đến 20,7% tùy vùng khác nhau [34], [56]. Điểm giống nhau chung tại các quốc gia này chính là tỷ lệ nhiễm bệnh gia tăng liên tục là do vệ sinh cá nhân kém, cung cấp nước không đủ, các biện pháp vệ sinh không đạt yêu cầu, và thiếu kiến thức về bệnh ở nhóm có nguy cơ cao [97].

Khu vực Trung và Nam Mỹ cũng có những nghiên cứu và phát hiện tỷ lệ nhiễm bệnh cao từ 8,6% tại Venezuela cho đến 11,3% tại Braxin [86], [71]. Ngay cả báo cáo đang tải trong năm 2018, tác giả Lauren Gétaz trong nghiên cứu của mình tại Bolivia tìm thấy kết quả nhiễm giun lươn còn cao hơn khu vực châu Phi là 23% [51]. Một cuộc điều tra khác về huyết thanh và phân đã được tiến hành trong một cộng đồng ở khu vực Amazon Peru cho thấy tỷ lệ nhiễm *S. stercoralis* là 8,7%. Điểm khác biệt giữa các nghiên cứu tại khu vực Trung Nam Mỹ và Châu Phi là các phương pháp xét nghiệm được áp dụng để

chẩn đoán có khả năng phát hiện cao hơn, có nghiên cứu còn phối hợp nhiều phương pháp tập trung, nuôi cấy, và cả huyết thanh chẩn đoán.

Khu vực Đông Nam Á vẫn đang là vùng lưu hành nặng mầm bệnh giun lươn. Và vì lẽ đó, có khá nhiều nghiên cứu về tác nhân này tập trung tại Campuchia, Thái Lan và Lào trong khoảng thời gian gần đây. Những nghiên cứu tuy được tiến hành tại các vùng trọng điểm và với các đối tượng ưu tiên như trẻ đi học, cũng đã chỉ ra khu vực này là vùng lưu hành của bệnh và nhiều vùng đạt mức lưu hành nặng [74], [87]. Tác giả Senephansiri trong năm 2016 đã phát hiện tỷ lệ nhiễm bệnh nặng nhất là 44,2% tại một vùng nông thôn của Huyện Kenethao, tỉnh Xayaburi, Lào. Tình trạng nhiễm có liên quan đến người làm nghề nông nghiệp và đi chân đất. Điều này phù hợp với cách thức lây nhiễm của mầm bệnh giun lươn [98], [69], [104].

Ở các khu vực không lưu hành bệnh trên thế giới, những người bị nhiễm là những tù nhân trong cuộc chiến tranh thế chiến thứ II và những người di cư từ các nước lưu hành bệnh [76], [97].

Một sự liên quan chặt chẽ được xác định giữa những người nhiễm giun lươn và các bệnh suy giảm miễn dịch xảy ra đồng thời như virus gây ung thư bạch cầu cấp dòng lympho T tuýp 1 (human T cell lymphotropic virus-1 - HTLV-1), nhiễm virus suy giảm miễn dịch ở người (HIV), và các khối u ác tính huyết học [97], [67], [43], [78].

Nhiều báo cáo dạng ca bệnh, xuất hiện ở nhiều vùng khác nhau trên thế giới kể cả những khu vực không lưu hành bệnh đã được đăng tải. Hầu hết các nghiên cứu những ca bệnh này có liên quan đến bệnh nhân bị ức chế miễn dịch, những người đang điều trị corticosteroid, người được ghép tạng và bệnh nhân với bệnh lý huyết học ác tính, các bệnh suy nhược khác. Nội soi và kỹ thuật chẩn đoán hiện đại hơn đang được thực hiện rộng rãi để chẩn đoán nhiễm giun lươn trong nhiều trường hợp có biểu hiện lâm sàng biến chứng. Xét nghiệm huyết thanh và các phương pháp chẩn đoán phân tử như phương pháp PCR

đang dần trở nên phổ biến và được sử dụng song song với các phương pháp xét nghiệm chẩn đoán thông thường [79]. Một nghiên cứu phân tích toàn diện về các báo cáo ca bệnh ở các khu vực khác nhau từ vùng lưu hành đến vùng không lưu hành bệnh đã được thực hiện, làm nổi bật tầm quan trọng của việc thực hiện các phương pháp chẩn đoán thích hợp nhất khi xác định tỷ lệ mắc bệnh này trên qui mô toàn cầu [55].

Mặc dù bệnh giun lươn không phổ biến ở Mỹ, nhưng ổ bệnh vẫn xảy ra và tập trung tại các vùng nông thôn của các bang Đông Nam và khu vực Appalachian (đặc biệt là ở miền Đông Tennessee, Kentucky và Tây Virginia) và Puerto Rico. Tỷ lệ mắc bệnh cao hơn được nhìn thấy ở những bệnh nhân trong các cơ quan chăm sóc dài hạn (cơ sở sức khỏe tâm thần và nhà tù), ở những người nhập cư và người tị nạn từ các nước nhiệt đới và cận nhiệt đới, những cựu chiến binh của Thế Chiến thứ II và chiến tranh Việt Nam [55], [44]. Trong số những người nhập cư vào Mỹ thì tỷ lệ cao nhất là 38% đã được báo cáo ở những người nhập cư từ Đông Nam Á vào thủ đô Washington DC.

Một nghiên cứu của nhóm tác giả người Canada cho thấy tỷ lệ lây nhiễm trong dân số di cư Việt Nam là 11,8% và tỷ lệ hiện mắc cao hơn ở những người nhập cư Campuchia 76,6%. Những người tị nạn Sudan và Somali Bantu được chứng minh tỷ lệ huyết thanh dương tính lần lượt là 46% và 23% [97], [55].

1.4.2. Tình hình nhiễm giun lươn tại Việt Nam

Dù lịch sử phát hiện giun lươn lần đầu trên thế giới là tại miền Nam Việt Nam, nhưng đến nay tỷ lệ nhiễm giun lươn chưa có thống kê số liệu một cách đầy đủ. Song các nghiên cứu tại các địa điểm riêng lẻ cũng đã chỉ ra tỷ lệ nhiễm khoảng 1-12%, được xếp vào vùng lưu hành của giun lươn [16], [28].

Theo điều tra của Galliard năm 1940, ở miền Bắc có tỷ lệ nhiễm giun lươn từ 0,2 – 2,5% dân số. Trong những năm gần đây theo điều tra cơ bản cho thấy tỷ lệ nhiễm dưới 1% [7]. Tuy nhiên, các nghiên cứu sử dụng kỹ thuật miễn dịch chẩn đoán ELISA cho thấy tỷ lệ nhiễm ở mức cao hơn 7,6 – 10,9% [1],

[2]. Điều này góp phần ghi nhận sự tồn tại của mầm bệnh ở ngoại cảnh là không nhỏ.

Tập trung nhiều ở các tỉnh phía Nam Việt Nam, các tỉnh như Long An, Bình Dương, Tây Ninh, Đồng Nai... và cả Thành phố Hồ Chí Minh (huyện Củ Chi, Thủ Đức, Hóc Môn) và một số tỉnh trong khu vực miền Trung - Tây Nguyên, số bệnh nhân nhiễm giun lươn được phát hiện, chẩn đoán và điều trị trong những năm gần đây tương đối nhiều. Một trong những lý do chính là việc áp dụng các kỹ thuật chẩn đoán hiện đại trong điều trị bệnh, cùng với việc áp dụng kỹ thuật chẩn đoán chuyên biệt đối với các nghiên cứu về giun lươn như nuôi cấy phân và SHPT [13], [20].

Hầu hết các nghiên cứu dịch tễ học để đánh giá tỷ lệ nhiễm trong cộng đồng được thực hiện bằng cách kiểm tra trực tiếp mẫu phân bằng kính hiển vi để tìm ấu trùng hoặc bằng một trong những phương pháp tập trung hoặc nuôi cấy. Việc phát hiện các ca dương tính đã gia tăng trong nhiều nghiên cứu, sau khi triển khai xét nghiệm huyết thanh hoặc bằng cách sử dụng phương pháp phân tử ở những bệnh nhân suy giảm miễn dịch hoặc các nhóm quần thể có nguy cơ cao.

Gần đây, một phương pháp realtime PCR với tiểu đơn vị ribosome RNA (rRNA) đã được phát triển để phát hiện ADN của giun lươn trong mẫu phân, bao gồm kiểm soát bên trong để phát hiện sự ức chế quá trình khuếch đại. Phương pháp chẩn đoán mới như xét nghiệm hệ thống ngưng kết miễn dịch (immunoprecipitation luciferase) dựa trên kháng nguyên tái tổ hợp với độ nhạy đạt 100%, đây có thể là một lựa chọn đầy hứa hẹn so với các phương pháp chẩn đoán thông thường ít nhạy trong việc phát hiện giun lươn. Những phương pháp mới này có thể hy vọng nâng cao khả năng chẩn đoán nhiễm *S. stercoralis* trong tương lai, cũng như đáp ứng sự kỳ vọng về ứng dụng tầm soát trên phương diện lớn người dân tại cộng đồng [11], [58], [83].

1.4.3 Các yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn

1.4.3.1 Giới tính

Mọi người đều có thể cảm thụ nhiễm giun lươn không phân biệt giới tính. Tuy nhiên những nghiên cứu gần đây ghi nhận nhiễm giun lươn thường gặp ở nam giới nhiều hơn so với nữ. Tại Thái Lan, các nghiên cứu chỉ ra nam giới có nguy cơ nhiễm giun lươn cao hơn nữ từ 1,7 – 4 lần [68], [69], [74]. Các nghiên cứu tại Việt Nam cũng cho kết quả tương tự [28], [27] Một nghiên cứu tại Nhật Bản thống kê trong 24 năm ở các đối tượng ung thư cũng tìm thấy nam giới nhiễm giun lươn nhiều hơn nữ [105].

1.4.3.2 Độ tuổi

Bệnh giun lươn ở người có thể gặp ở nhiều lứa tuổi khác nhau. Nghiên cứu tại Campuchia đã tìm thấy thấp nhất là 1 tuổi đã mắc bệnh [69]. Những nghiên cứu xác định ca bệnh bằng kỹ thuật xét nghiệm phân đã tìm thấy nhiễm giun lươn gia tăng theo nhóm tuổi. Những người trung niên thường nhiễm nhiều hơn trẻ [68], [69], [106]. Nguyên nhân được giải thích do thời gian lao động có tiếp xúc mầm bệnh càng lâu dài thì nguy cơ nhiễm bệnh càng cao, bên cạnh đó theo quá trình tích tuổi, những người lớn tuổi thường kèm theo hiện tượng suy giảm miễn dịch, và giun lươn dễ dàng gây bệnh hơn [58], [67], [97].

1.4.3.3 Trình độ học vấn và tình trạng kinh tế

Trình độ học vấn và tình trạng kinh tế có liên quan nhất định với nhiễm giun lươn. Trình độ học vấn thấp dưới cấp tiểu học và cấp cơ sở thường có liên quan đến tình trạng kinh tế nghèo và liên quan đến nhiễm giun lươn. Điều này thể hiện trong nhiều nghiên cứu, đặc biệt tại Châu Phi và Đông Nam Á [30, 36]. Ở những quốc gia nghèo hoặc có nền kinh tế đang phát triển, các hoạt động kinh tế thường gắn liền với môi trường ô nhiễm và qua đó tình trạng mắc bệnh thường nặng nề hơn [54], [97].

Tuy nhiên, bệnh giun lươn có một đặc điểm khác với các bệnh giun đường ruột khác ở tính gây bệnh đặc biệt. Nhiều quốc gia giàu có đã báo cáo các ca

bệnh nhiễm giun lươn ở các đối tượng ghép tạng, ghép thận, hoặc các bệnh lý mạn tính khác, ... [114], [97].

1.4.3.4 Nghề nghiệp và hành vi tiếp xúc đất

Vì cách lây nhiễm từ môi trường vào người tương tự như giun móc nên từ lâu các yếu tố nguy cơ của 2 loài giun này được xem là giống nhau. Thế nhưng với những điều tra mang tính cộng đồng đều phát hiện tỷ lệ nhiễm giun lươn thường thấp hơn giun móc và nhưng yếu tố nguy cơ của nhiễm giun móc không liên quan có ý nghĩa đối với giun lươn [13], [16], [28].

Những nghiên cứu gần đây tại Myanmar, Campuchia và Châu Phi tìm thấy nghề nông nghiệp thường dễ bị nhiễm giun lươn hơn so với các nghề khác. Bên cạnh đó, các hành vi tiếp xúc đất trực tiếp trong sinh hoạt, đặc biệt là hành vi đi chân đất có liên quan chặt chẽ đến bệnh giun lươn [36], [30], [68], [106].

1.4.3.5 Tình trạng sử dụng hố xí

Người bệnh nhiễm giun lươn sẽ thải mầm bệnh ra môi trường. Những nơi sử dụng hố xí không hợp vệ sinh sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho AT giai đoạn lây nhiễm phát tán ra ngoại cảnh, và khi có điều kiện thuận lợi sẽ lây nhiễm lại cho người. Vì lý do đó, nhiều nghiên cứu về giun lươn đã khảo sát sự liên quan giữa 2 yếu tố này. Tuy nhiên không phải nghiên cứu nào cũng tìm thấy mối liên quan. Các dạng hố xí không hợp vệ sinh được liệt kê là hố đào, hố nổi, hố chìm không đủ độ sâu, hoặc cách không đủ xa với hiên nhà, ... một dạng sử dụng hố không hợp vệ sinh cũng được khảo sát đó là hành vi đi đại tiện bừa bãi hoặc đi đại tiện ngoài đồng [36], [65], [98], [106].

1.5. Bệnh học giun lươn

Bệnh do giun lươn có thời gian ủ bệnh khoảng 1 tháng, đa số các trường hợp nhiễm ở vùng dịch tễ thường không có triệu chứng hoặc triệu chứng mơ hồ. Khi giun lươn phát triển mạnh, số lượng AT tăng lên nhiều, lúc đó triệu chứng bệnh mới xuất hiện rõ [18].

Khi AT giun lươn xâm nhập cơ thể người, tại các chỗ xâm nhập thường gây ra phản ứng dị ứng tại chỗ, xuất huyết kèm theo ngứa dữ dội, phù nề và tình trạng tắc nghẽn. AT di chuyển thông qua hệ bạch huyết, tĩnh mạch nhỏ đến tuần hoàn phổi và gây xuất huyết ở các mao mạch phổi, hoặc AT đi vào phế nang, gây phản ứng viêm liên quan đến thâm nhiễm bạch cầu ái toan. Theo con đường phát triển như thế, AT sau đó di chuyển đến hệ tiêu hoá và trưởng thành. Tại đây, AT và giun trưởng thành xâm nhập vào biểu mô, gây chết tế bào, có thể dẫn đến tiêu chảy, hội chứng kém hấp thu, nhiễm trùng huyết thứ phát [13]. Khi AT có điều kiện di chuyển khắp cơ thể, tổn thương xảy ra ở nhiều cơ quan khác nhau và có thể gây tử vong trên bệnh nhân [14], [54], [15].

Bệnh do giun lươn được chia hai dạng

1.5.1 Bệnh giun lươn mạn tính, không biến chứng

gặp ở người bình thường, không có suy giảm miễn dịch.

Đa số bệnh nhân không hoặc ít triệu chứng, hoặc các biểu hiện triệu chứng có thể gặp bao gồm:

1.5.1.1 Biểu hiện ở da

- *Đường ấu trùng di chuyển dưới da*: thường là ngang thắt lưng và quanh hậu môn, có dạng ngoằn ngoèo do ấu trùng di chuyển.

- *Bầm máu da*: xuất hiện rải rác ở các chi, thân mình, kích thước khoảng 3 – 4 cm.

- *Mề đay không đặc hiệu*.

Tác nhân giun lươn vốn có khả năng xâm nhập qua da tương tự như giun móc. Trong nghiên cứu của mình, tác giả H.H. Quang và CS (2013) xác định được tỷ lệ AT di chuyển dưới da là 4,35%, tỷ lệ này không cao và trái ngược với triệu chứng mề đay chiếm tỷ lệ rất cao (91,3%). Đường AT di chuyển dưới da thể hiện sự xâm nhập nông của AT, tỷ lệ này thấp cho thấy AT sau khi xâm nhập sẽ có xu hướng đi sâu hơn vào lớp mô dưới da và đến các cơ quan, qua

đó thể hiện phản ứng toàn thân là dạng mê đay không đặc hiệu. Đối chiếu với chu kỳ phát triển của giun lươn cho thấy điều này phù hợp [20], [23], [58].

Tuy nhiên, sự hiện diện của các triệu chứng có điểm khác nhau tùy theo các đối tượng trong từng nghiên cứu khác nhau. Với triệu chứng mày đay, tác giả Nguyễn Ngọc Sơn và CS (2014) chỉ tìm thấy 10,2%, một điểm lý giải cho tỷ lệ thấp này là quần thể nghiên cứu của tác giả là bệnh nhân điều trị nội trú bệnh viện, trong khi tác giả H.H Quang lại nghiên cứu ở một quần thể rộng hơn đó là bệnh nhân đến khám có điều trị cả nội và ngoại trú. Tóm lại, dù tỷ lệ hiện diện của các triệu chứng có thể thay đổi, nhưng các triệu chứng bệnh học trên đã được chứng minh bởi thông số thực tế [20], [23], [8].

1.5.1.2 Biểu hiện ở đường tiêu hóa

Những biểu hiện tiêu hóa đa dạng thường gặp ở bệnh giun lươn mạn tính.

- *Đau bụng*: có thể xảy ra ở bất cứ phần nào của bụng, nhưng phổ biến nhất là ở vùng thượng vị và hạ sườn phải [54], [15], [49], [23].

- *Tiêu chảy*: cơn tiêu chảy thường tái phát ồ ạt, sau đó giảm bớt tự nhiên sau vài tuần. Thường bệnh nhân đi cầu phân sệt. Kèm sốt từng cơn, rồi tự hết, mỗi ngày một vài lần, vài ngày sau bị một đợt tương tự tái đi tái lại.

- *Sụt cân*: giảm cân nhẹ, thứ cấp do ăn mất ngon, nôn và tiêu chảy.

- *Ngứa hậu môn*: tương tự như bệnh giun kim do sự xâm nhập vào da quanh hậu môn của ấu trùng giai đoạn 2.

Nguyễn Ngọc Sơn và CS (2014) đã tìm thấy 71,4% bệnh nhân nhiễm giun lươn đường tiêu hoá có triệu chứng đau bụng, tổn thương tìm thấy ở dạ dày và tá tràng. Tác giả Trần Phú Mạnh Siêu cũng đã ghi nhận 18/22 (81,82%) trường hợp bệnh tìm thấy ấu trùng giun lươn tại dạ dày có triệu chứng đau thượng vị. Điều này cho thấy triệu chứng chính của nhiễm giun lươn đường tiêu hoá là đau bụng, phù hợp với y văn về bệnh học của giun lươn [23], [21].

Huỳnh Hồng Quang và CS (2013) cũng tìm thấy 95,65% bệnh nhân nhiễm giun lươn chưa có biến chứng có triệu chứng đau bụng, bên cạnh đó tác giả

cũng tìm thấy triệu chứng tiêu chảy phân lỏng là 82,61%, Như vậy, các triệu chứng chính của nhiễm giun lươn tại đường tiêu hoá phù hợp với y văn nêu trên [20], [13].

1.5.1.3 Biểu hiện khác

Bệnh nhân ho, viêm phổi. X Quang phổi có vùng thâm nhiễm, viêm đa khớp, đau cơ. Có trường hợp tìm thấy ấu trùng giai đoạn 1 trong nước tiểu.

Ngoài ra cơ thể có biểu hiện suy mòn; thường các triệu chứng không đơn lẻ, và kèm theo sốt, ói, nhức đầu, [15].

1.5.2 Bệnh nặng, có biến chứng

Dạng bệnh này thường gặp ở cá thể suy giảm miễn dịch. Bệnh diễn tiến mạn tính, hay tái phát ở những người có sử dụng những loại thuốc như: kháng acid, corticosteroids, ức chế miễn dịch, cimetidine. Thể bệnh nặng hay đi kèm với những bệnh khác như: nhiễm khuẩn kèm theo, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, suy thận mạn, bệnh ác tính, tiểu đường, nghiện rượu, suy dinh dưỡng [54], [13], [62].

Tùy theo vị trí ký sinh của AT trong cơ thể, bệnh nhân sẽ có những biểu hiện lâm sàng khác nhau ở những cơ quan tương ứng. Do vậy, mức độ nặng tùy thuộc vào mật độ nhiễm và cơ quan bị ký sinh, có kèm nhiễm khuẩn phụ hay không.

Các triệu chứng nhiễm giun lươn nặng bao gồm:

Trên cơ quan tiêu hóa: ATGL gây viêm ruột, liệt ruột, tắc ruột, xuất huyết tiêu hóa hoặc thủng ruột, dẫn đến viêm phúc mạc [54], [15], [115].

Trên cơ quan hô hấp: ATGL gây viêm phổi mô kẽ, xuất huyết nhu mô, chấm xuất huyết tại các phế nang, suy hô hấp [54], [15], [45].

Trên hệ thần kinh: đây là một trong những tổn thương nặng nề, nguy hiểm nhất và gây tử vong của bệnh nhân nhiễm ATGL. Các bệnh cảnh có thể gặp là viêm màng não, viêm não, áp xe não, động kinh, rối loạn tri giác, ... [13], [54], [22].

Cơ quan khác: ATGL gây phì đại hạch, viêm nội tâm mạc, viêm tụy, suy gan, suy thận, đau khớp, viêm khớp, đau cơ, phù toàn thân, ... [54].

1.5.3 Bệnh đa cơ quan ở cơ địa suy giảm miễn dịch

Bệnh giun lươn được xem là một bệnh tăng nặng khi người bệnh có tổn thương hệ thống miễn dịch. Nhiều nghiên cứu đã theo dõi ở người bệnh có suy giảm miễn dịch, đặc biệt phát hiện được những biến chứng dữ dội của bệnh nhiễm này.

Dạng bệnh đa cơ quan thường hay gặp ở những người có tình trạng miễn dịch cơ thể suy yếu như: đái tháo đường, suy dinh dưỡng, nghiện rượu, dùng các loại thuốc ức chế miễn dịch như corticosteroides, thuốc điều trị ung thư, thuốc chống thải ghép, bệnh nhân bị ung thư, nhiễm HIV/AIDS, suy gan, suy thận... Ở nhóm này tình trạng nhiễm giun diễn tiến nặng, gây bệnh cảnh phức tạp, nguy hiểm, nếu không được chẩn đoán và điều trị kịp thời có thể dẫn đến tử vong [54].

Tác giả Trần Thị Huệ Vân và CS (2017) đã báo cáo trường hợp bệnh giun lươn nặng trên bệnh nhân Cushing do thuốc, tác giả Trần Thị Khánh Tường (2007) cũng báo cáo 1 trường hợp bệnh nhân đang sử dụng corticoid. Ngoài ra tại Việt Nam còn có các báo cáo rải rác ca bệnh giun lươn nặng trên cơ địa hội chứng thận hư và bệnh nhân bị đái tháo đường [21], [26], [24]. Phù hợp với y văn trong nước, nhiều năm gần đây, trên thế giới cũng có những báo cáo về ca bệnh nhiễm giun lươn nặng trên các đối tượng có vấn đề về miễn dịch, thậm chí có những ca bệnh giun lươn ở mức độ nặng nhất, đó là thể bệnh giun lươn lan tỏa [102], [99], [35].

1.5.4 Hội chứng tăng nhiễm (hyperinfection syndrom) – yếu tố nguy cơ bệnh nặng:

Hội chứng tăng nhiễm biểu hiện bằng một hiện tượng trong đó gia tăng nhanh số lượng giun sán dẫn đến gánh nặng qua mức mà không lây lan AT bên

ngoài. Mầm bệnh được phát hiện bên ngoài ruột, đặc biệt là ở phổi, và phát hiện ATGL trong phân và đờm là dấu hiệu để chẩn đoán tăng nhiễm [15], [8].

Trong hội chứng tăng nhiễm, hàng loạt AT khi đi qua mao mạch đến các phế nang của phổi gây sung huyết phổi. Một số lượng lớn ấu trùng cũng đi xuyên qua các cơ quan khác mà không hề liên quan đến chu kỳ sinh phát triển bình thường của chúng như đường tiết niệu, hệ thần kinh trung ương, gan. Nói chung, hội chứng tăng nhiễm nảy sinh từ sự nhân lên nhanh chóng của ấu trùng lây nhiễm, và di chuyển trong cơ thể vật chủ suy giảm miễn dịch, điều này thường gặp nhưng không luôn luôn đúng vì một số tác giả báo cáo hội chứng tăng nhiễm ở cơ thể có miễn dịch bình thường [15], [54].

Vì mức độ nguy hại của hội chứng tăng nhiễm, nhiều quốc gia đã nghiên cứu báo cáo dạng ca bệnh, phần lớn đều có liên quan đến bệnh lý nền, ít nhiều tổn thương hệ thống miễn dịch của cơ thể. Hội chứng tăng nhiễm tại Việt nam đã có nghiên cứu của tác giả Trần Phú Mạnh Siêu và tác giả Huệ Vân (2018) trên đối tượng sử dụng corticoid [21], [26], [67]. Tương tự với các nghiên cứu trên, tác giả Yee. B trong năm 2015 cũng báo cáo ca bệnh tăng nhiễm giun lươn với chảy máu dạ dày ruột ở bệnh nhân bị Cushing tại Ethiopia, tác giả Galiano A. trong năm 2016 và Khuroo MS trong năm 2014 đã báo cáo tăng nhiễm ở bệnh nhân ghép thận, các bệnh nhân này đang phải sử dụng liệu pháp ức chế miễn dịch [50], [29], [81].

Do vậy, điều quan trọng là cần phải loại bỏ và điều trị nhiễm ATGL cho những ai mắc bệnh đã từng sống trong vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trước khi khởi phát điều trị với thuốc ức chế miễn dịch hay steroids vì tỷ lệ tử vong hội chứng tăng nhiễm rất cao, có thể đến 87% [54], [77].

1.5.5 Bệnh giun lươn lan tỏa

Bệnh giun lươn lan tỏa liên quan đến việc lan rộng AT đến các cơ quan bên ngoài ruột nằm ngoài nơi chu kỳ sống bình thường của ký sinh trùng. Các cơ quan bị ảnh hưởng bao gồm phổi, gan, tim, thận, các cơ quan nội tiết và hệ

thống thần kinh trung ương. Bệnh giun lươn lan tỏa nặng, có thể dẫn đến nhiễm trùng máu vi trùng và đôi khi gây viêm màng não với các tác nhân gây bệnh đường ruột. Vi khuẩn có thể được mang trên thân AT giai đoạn lây nhiễm di chuyển hoặc có thể đi vào tuần hoàn thông qua các vết loét ruột.

Bệnh giun lươn lan tỏa là hậu quả cuối cùng của hội chứng tăng nhiễm, bệnh thường nặng và dẫn đến tử vong cao. Bên cạnh các báo cáo ca bệnh trên thế giới về hội chứng tăng nhiễm, các ca bệnh giun lươn lan tỏa được báo cáo nhiều hơn và phần lớn cũng tập trung trên các đối tượng mắc hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (AIDS) [82], [53], nhiễm virus hướng ung thư tế bào lympho T type 1 (HTLV – 1) [43], [105], các cơ địa suy giảm miễn dịch khác như lao, ung thư tủy, ghép thận và các cơ quan khác, lupus, ... [52], [67], [101], [31]

1.5.6 Biến chứng và tử vong do bệnh giun lươn *S. stercoralis*

1.5.6.1 Biến chứng

Trong quá trình ký sinh và phát triển, ATGL đã di chuyển trên các cơ quan phủ tạng khác nhau, chính vì vậy bệnh đã gây ra nhiều biến chứng ở các cơ quan khác nhau trên hệ thần kinh (viêm não, màng não, absces não và xuất huyết, ...), trên hệ hô hấp (viêm phổi, áp xe phổi, ...), hệ tiêu hóa (viêm dạ dày, ruột, hội chứng ruột kích thích, ...), nhiễm trùng huyết do kéo theo hoặc đồng nhiễm với các loại vi khuẩn [54].

1.5.6.2 Tử vong

Hầu hết các ca tử vong đều được báo cáo ở thể bệnh nặng nhất là bệnh giun lươn lan tỏa, đi theo sau hội chứng tăng nhiễm. Các đối tượng bệnh AIDS hoặc nhiễm HTLV -1 mắc bệnh lan tỏa thường tử vong, tuy nhiên cũng có những trường hợp bệnh lý nền khác như cushing hoặc cá biệt chết do nhiễm trùng huyết, thứ phát sau nhiễm giun lươn [39], [26], [92], [96]. Nhiều tác giả lưu ý rằng cần xem xét cẩn trọng bệnh giun lươn tiềm ẩn trên các bệnh nhân

nguy cơ cao vì có ức chế miễn dịch do tỷ lệ tử vong trên các bệnh nhân có hội chứng tăng nhiễm rất cao [15].

Các báo cáo ca bệnh tử vong có thể xảy ra ngay tại những quốc gia không có bệnh giun lươn lưu hành được thống kê là do *S. stercoralis*, nguyên do được giải thích bởi chu trình tự nhiễm đặc biệt của giun lươn và người bệnh có tiền sử đi vào các vùng dịch tễ trước đó nhiều năm [54], [39], [42].

1.6. Chẩn đoán bệnh do giun lươn

Biểu hiện lâm sàng của nhiễm giun lươn không đặc trưng và khá phức tạp dẫn đến các chỉ định xét nghiệm xác định thường bị bỏ sót, đặc biệt với các thể bệnh nhẹ ở vùng dịch tễ. Quá trình chẩn đoán cần có sự phối hợp giữa chẩn đoán lâm sàng phối hợp với yếu tố dịch tễ, các xét nghiệm chẩn đoán xác định và các xét nghiệm mang tính cách hỗ trợ [8], [54].

1.6.1 Định nghĩa ca bệnh do giun lươn *Strongyloides stercoralis*

Theo định nghĩa ca bệnh của Bộ y tế (ICD 10-2016), ca bệnh nhiễm giun lươn tiêu hóa có mã số B78 và được chẩn đoán khi có tiêu chuẩn ca bệnh xác định, có hoặc không có tiêu chuẩn ca bệnh lâm sàng.

- **Ca bệnh lâm sàng:** hầu hết không có triệu chứng lâm sàng điển hình. Một số ít bệnh nhân có biểu hiện đau bụng vùng thượng vị, tiêu chảy; viêm da tại chỗ khi ấu trùng xâm nhập vào cơ thể; thiếu máu nhẹ; ...

- **Ca bệnh xác định:** có ấu trùng giun lươn trong phân.

Ngoài định nghĩa ca bệnh như trên, chẩn đoán bệnh do giun lươn *S. stercoralis* chưa có chuẩn thống nhất (WHO, 2013), đặc biệt đối với các trường hợp không có được tiêu chí ca bệnh xác định. Dù đã sử dụng nhiều kỹ thuật chẩn đoán hình thể để hỗ trợ nhưng tỷ lệ phát hiện giun lươn trong phân vẫn rất thấp.

Chẩn đoán ca bệnh giun lươn xác định được bổ sung trong năm 2018 tại viện SR – KST – CT TW đã có thêm tiêu chí xét nghiệm huyết thanh ELISA tìm thấy kháng thể kháng giun lươn dương tính. Tuy vậy, định nghĩa vẫn chưa

quy định tiêu chí huyết thanh chẩn đoán có thể thay thế xét nghiệm tìm thấy trực tiếp ATGL trong bệnh phẩm [10].

1.6.2 Chẩn đoán lâm sàng

Dựa vào tam chứng cổ điển: *Tiêu chảy, đau bụng, nổi mề đay* và đặc biệt là hội chứng *ấu trùng di chuyển dưới da*, chú ý ở những bệnh nhân sống hoặc có lui tới vùng dịch tễ nhiệt đới và cận nhiệt đới [8], [13].

Chỉ điểm chẩn đoán có thể được gợi ý bởi những xét nghiệm cận lâm sàng không đặc hiệu như: Bạch cầu ái toan tăng cao, CRP tăng, tốc độ lắng máu tăng, tăng IgE trong huyết thanh [13].

Bạch cầu ái toan ngoại vi tăng ($> 500/\text{mL}$ hoặc $> 6\%$) thể hiện cho một phản ứng miễn dịch với ấu trùng di chuyển thông qua các mô vật chủ và thường gặp trong giai đoạn nhiễm cấp tính (cao tới 75 - 80%), thỉnh thoảng gặp trong quá trình nhiễm mạn tính, và thường không tăng ở những ca bệnh giun lươn lan toả nặng và ở người suy giảm miễn dịch [3], [54], [67], [76].

1.6.3 Xét nghiệm chẩn đoán trực tiếp tìm KST

Ấu trùng giun lươn thường tìm thấy trong phân, đôi khi thấy trong dịch khác của cơ thể như: dịch dạ dày, tá tràng,, mô sinh thiết tại vết loét dạ dày hoặc mô khác [54].

Với các trường hợp bệnh giun lươn lan tỏa ngoài đường tiêu hóa, bệnh phẩm có thể là đàm, dịch rửa phế quản, nước tiểu, dịch não tủy, dịch màng bụng, ... tùy theo vị trí ký sinh gây bệnh cụ thể [22], [54].

1.6.3.1 Xét nghiệm phân trực tiếp: Xét nghiệm phân trực tiếp tìm AT giai đoạn 1 của giun lươn với nước muối sinh lý hoặc nhuộm iodin.

1.6.3.2 Phương pháp tập trung Baermann: là phương pháp tập trung tìm AT giun lươn với khối lượng phân lớn. Kỹ thuật này dựa trên tính ưa nước và ưa nhiệt của ấu trùng.

1.6.3.3 Phương pháp tập trung Formalin – ether: là phương pháp tập trung thường được sử dụng cho tất cả các loại KST, lượng phân sử dụng trong kỹ

thuật có nhiều hơn xét nghiệm trực tiếp. Kỹ thuật có ưu thế khi lược bỏ các thành phần chất xơ và mỡ, và tìm thấy ATGL dễ dàng hơn xét nghiệm trực tiếp. Tuy nhiên, phương pháp này vẫn ít được khuyến cáo sử dụng trong chẩn đoán nhiễm giun lươn [64], [111].

1.6.3.4 Phương pháp cấy phân Harada – Mori: giúp phát hiện ATGL sau khi cấy phân từ 3 – 7 ngày. Phương pháp này sử dụng giấy lọc với tính hút nước mao dẫn, sẽ tạo điều kiện cho AT phát triển và di chuyển xuống nước, phương pháp này cũng cần một khối lượng phân lớn. Tác giả Sasa và cộng sự (1986) đã cải tiến phương pháp cấy Harada – Mori: thay đổi ống nghiệm cấy thủy tinh bằng bọc nhựa polyethylen để phục vụ cho việc điều tra dịch tễ [64].

1.6.3.5 Cấy trên thạch (agar plate culture): tương tự các phương pháp cấy nhưng phân được cấy trên hộp thạch, chẩn đoán sau 5 ngày dựa vào quan sát đường di chuyển của AT và quan sát hình thể AT trong những trường hợp khó [64], [95], [5], [86].

Các phương pháp xét nghiệm trực tiếp áp dụng trong chẩn đoán giun lươn thường được mặc định độ đặc hiệu 100% do tìm thấy được mầm bệnh ở dạng AT. Những trường hợp nhầm lẫn nếu có xảy ra tuy hiếm đó là khi phân biệt với ấu trùng của giun móc trong kỹ thuật nuôi cấy hoặc xét nghiệm trực tiếp với phân để quá lâu ngoài môi trường. Khi đó cần áp dụng khoá định loài của WHO hoặc lấy lại mẫu phân khác xét nghiệm kiểm tra [49], [111].

Sự khác biệt trong các phương pháp trực tiếp được chú trọng ở khả năng phát hiện (độ nhạy), và là lý do để chọn lựa phương pháp thích hợp khi áp dụng thực tế [64], [72], [111].

Phương pháp xét nghiệm phân trực tiếp có độ nhạy thấp dưới 50% do số lượng phân khi làm xét nghiệm ít và khi số lượng ấu trùng trong phân ít cũng rất khó phát hiện. Hơn nữa, ấu trùng giun lươn cũng bài tiết trong phân không liên tục, lý giải cho khả năng phát hiện thấp của kỹ thuật soi trực tiếp. Tuy vậy, kỹ thuật này vẫn luôn được áp dụng trong hầu hết các nghiên cứu tại Việt Nam

và thế giới, bởi tính thuận tiện, dễ thực hiện và những tác dụng hữu ích nhất định của nó [8], [15].

Các kỹ thuật tập trung như Baermann, formalin ether, cải thiện độ nhạy trong chẩn đoán nhiễm giun lươn, thế nhưng vẫn không phát hiện tốt bằng kỹ thuật nuôi cấy [27], các nghiên cứu ngoài nước đã thực hiện nhiều so sánh giữa các kỹ thuật trực tiếp và xác định kỹ thuật cấy phân trên thạch có khả năng phát hiện giun lươn cao hơn 96% so với soi trực tiếp, và phương pháp cấy Kogar agar hiện đang là phương pháp cấy phổ biến nhất. [61], [72], [78], [66].

1.6.3.6 Nội soi, sinh thiết và phân tích các đặc điểm mô bệnh học

Nội soi bộ máy tiêu hóa có thể thấy hình ảnh niêm mạc từ bình thường cho đến chứng viêm tá tràng nặng, phù nề và niêm mạc xuất huyết. Trong hầu hết các trường hợp nhiễm giun nặng, ấu trùng được xác định bằng sinh thiết tá tràng, kiểm tra mô bệnh xác định ấu trùng trong 71,4% số bệnh nhân suy giảm miễn dịch. Vì vậy, ngoài việc xét nghiệm phân thì nội soi và sinh thiết là rất quan trọng trong phát hiện bệnh giun lươn [88].

Trong nhiễm giun lươn lan tỏa, AT có thể được phát hiện từ các vị trí ngoài ruột, trong đó có đờm, dịch phế quản, dịch não tủy, nước tiểu, tràn dịch màng bụng, sinh thiết dạ dày, và sinh thiết da. Phân tích dịch não tủy cho thấy tăng nồng độ protein, làm giảm nồng độ glucose và tăng ưu thế bạch cầu đa nhân trung tính. Nhuộm gram có thể thấy nhiều loài vi khuẩn khác nhau nhưng soi tươi dịch não tủy thường sẽ phát hiện AT *S. stercoralis* [8], [22].

Xét nghiệm mô học chẩn đoán giun lươn qua sinh thiết dạ dày dễ tạo ra kết quả âm tính giả do lấy một hoặc vài chỗ sẽ không chính xác hoặc xác suất không đúng vùng cư trú của ấu trùng giun lươn. Trong trường hợp này, nên ly tâm lắng cặn rồi soi sẽ phát hiện AT có khả năng hơn. Khi AT xâm lấn vách mô thì phương pháp sinh thiết sẽ tiện và chính xác hơn. Điểm cần lưu ý khi quan sát tiêu bản cũng rất khó phân biệt hình ảnh ấu trùng *S. stercoralis* với các loại ấu trùng giun khác [8], [83].

1.6.4 Phương pháp chẩn đoán miễn dịch học

Hiện nay, phương pháp xét nghiệm huyết thanh được sử dụng phổ biến và rộng rãi do độ nhạy cao và có tiềm năng áp dụng trong nhiều bệnh nhiễm giun sán. Một số phương pháp chẩn đoán miễn dịch đã được phát triển trong những năm qua với những thành công đáng kể, song cũng còn hạn chế do chế phẩm kháng nguyên chưa đạt độ tinh khiết, dẫn đến các phản ứng chéo [14].

Các kỹ thuật bao gồm xét nghiệm da với chiết xuất ấu trùng, miễn dịch huỳnh quang gián tiếp sử dụng ấu trùng cố định, xét nghiệm ngưng kết bổ thể, xét nghiệm hấp thụ điện di phóng xạ (radioallergosorbent testing) cho kháng thể đặc hiệu immunoglobulin E (IgE), miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (Indirect immuno Fluorescent Assay - IFA), ngưng kết hạt gelatin gián tiếp (gelatin particle indirect agglutination - GPIA), xét nghiệm Western blot và xét nghiệm ELISA phát hiện kháng thể immunoglobulin G (IgG) [8].

Kháng thể đặc hiệu bệnh giun lươn *Strongyloides* spp có thể được sử dụng để theo dõi huyết thanh, điều đó có thể áp dụng theo dõi sau điều trị thông qua sự chuyển đổi huyết thanh. Xét nghiệm ELISA phát hiện bệnh khoảng từ 85-90% với độ nhạy từ 82- 95%. Tuy nhiên, độ nhạy của xét nghiệm ELISA có thể thấp hơn ở những bệnh nhân suy giảm miễn dịch nặng và ELISA không thể phân biệt nhiễm mới hay tái nhiễm trong vùng lưu hành bệnh [8], [14], [67], [73].

Xét nghiệm kháng thể giun lươn cho thấy phản ứng chéo với nhiễm một số loài giun sán khác như giun chỉ, giun đũa, sán máng. Những kháng thể này có thể tồn tại trong một thời gian dài trong các vật chủ; do đó, chẩn đoán phân biệt giun lươn có thể nhầm với các loại giun sán khác là không thể tránh khỏi ở hầu hết các vùng lưu hành bệnh. Xét nghiệm miễn dịch men chống *Strongyloides* IgG là một lựa chọn tốt, cho chẩn đoán nhanh khi kết quả xét nghiệm phân âm tính [8], [33], [54].

Gần đây xét nghiệm ngưng kết miễn dịch (luciferase immunoprecipitation assay) được chứng minh là chính xác hơn phương pháp xét nghiệm ELISA. Trên nguyên lý, hệ thống ngưng kết miễn dịch này được phát triển chống lại một kháng thể với kháng nguyên tái tổ hợp giun lươn. Kỹ thuật có độ nhạy 100% và độ đặc hiệu 97,8% khi so sánh với ELISA, các giá trị tiên đoán âm và dương cũng tốt hơn [8]. Hơn nữa, kỹ thuật này không cho thấy bất kỳ dấu hiệu của phản ứng chéo với huyết thanh của bệnh nhân bị nhiễm ký sinh trùng khác, điều này khắc phục được nhược điểm lớn trong hầu hết các xét nghiệm huyết thanh. Nếu được thực hiện hiệu quả và phổ biến rộng rãi, xét nghiệm ngưng kết miễn dịch có thể là kỹ thuật mới thay thế ELISA trong chẩn đoán và theo dõi điều trị ở các bệnh nhân mắc và nhiễm giun lươn. Trong một nghiên cứu đánh giá so sánh được tiến hành trong khu vực lưu hành bệnh ở Thái Lan, các xét nghiệm ngưng kết hạt gelatin cũng được đánh giá là phương pháp xét nghiệm thiết thực hơn nhiều so với phương pháp ELISA [8], [89].

1.6.5. Chẩn đoán sinh học phân tử

Phương pháp xét nghiệm PCR phát hiện DNA ký sinh trùng trong phân, đặc biệt là giun lươn *Strongyloides* đang ngày càng được sử dụng rộng rãi hơn với ưu điểm là độ nhạy và độ đặc hiệu cao [8], [12], [55].

Nhiều kỹ thuật PCR khác nhau đã được ứng dụng để chẩn đoán nhưng phổ biến nhất hiện nay vẫn là Realtime – PCR, PCR lồng (nested – PCR), multiplex realtime PCR và PCR đa môi (multiplex PCR) [80], [94], [100].

Trong những nghiên cứu được thực hiện gần đây, phản ứng PCR đa môi với các cặp môi đặc hiệu cho đơn bào và các loài giun sán được sử dụng. Xét nghiệm PCR đa môi này cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu là 83% và 100% [8], [55]. Phương pháp PCR còn có ưu thế là có thể sử dụng cho nhiều loại bệnh phẩm khác như nước tiểu, dịch sinh học, máu, [94], [78], [47].

Phương pháp PCR khuếch đại duy nhất một đoạn gen ngắn (100 cặp base) cho thấy hiệu quả phát hiện *S. stercoralis* trong mẫu phân cao (100%) so với

các phương pháp nuôi cấy đĩa thạch và các kỹ thuật chẩn đoán trực tiếp khác. Trong khi đó, PCR lồng khuếch đại một đoạn gen mục tiêu lớn hơn [55], [79].

Các nghiên cứu so sánh kỹ thuật PCR với mỗi kỹ thuật chẩn đoán hình thể đơn lẻ hoặc với nhóm tất cả các kỹ thuật hình thể hợp lại trong chẩn đoán giun lươn, đều cho kết quả phát hiện cao hơn hẳn. Tuy nhiên kỹ thuật phân tử hiện vẫn còn điểm hạn chế về giá thành, điều kiện trang thiết bị, đặc biệt ở các quốc gia có nền kinh tế nghèo hoặc đang phát triển [91], [70], [72], [85].

Phương pháp realtime PCR sử dụng đơn vị gen rARN đã được phát triển để phát hiện DNA giun lươn trong các mẫu phân. Việc sử dụng phương pháp xét nghiệm này có thể dễ dàng theo dõi tỷ lệ mắc và cường độ nhiễm giun sán trong các chương trình can thiệp. Phương pháp realtime PCR cho thấy tỷ lệ phát hiện gia tăng gấp 2 lần khi so với phương pháp Baermann và có thể là một thay thế cho các phương pháp xét nghiệm thông thường có độ nhạy thấp [63], [70], [72], [85].

Trong một nghiên cứu khác, multiplex realtime PCR khi so sánh với chẩn đoán hình thể bằng kính hiển vi cho kết quả tỷ lệ phát hiện gia tăng từ 0,1% lên đến 0,8%. Nếu thực hiện một cách có hiệu quả thì những kỹ thuật mới này có thể nâng cao chất lượng chẩn đoán nhiễm giun lươn trong tương lai [15, 75]. Tác giả Shardinini và cộng sự trong năm 2015 đã nghiên cứu so sánh giữa 2 kỹ thuật Realtime PCR và PCR lồng, kết luận PCR lồng có khả năng phát hiện tốt hơn realtime PCR nhưng realtime PCR có độ đặc hiệu cao hơn [100]. Điều này cho thấy, việc chọn lựa kỹ thuật phân tử nào còn tùy thuộc vào nhu cầu và mục đích của từng nghiên cứu [75], [103].

Trong hầu hết các phương pháp xét nghiệm dựa vào PCR, một yếu tố thường được nhận thấy là làm giảm hiệu quả phát hiện, nguyên do là có sự hiện diện của các chất ức chế PCR, điều này tương đối phổ biến trong các mẫu phân; điểm hạn chế của phương pháp này bộc lộ khi xét nghiệm các mẫu phân có

DNA ký sinh trùng thấp. Điều này được giải quyết bằng cách tăng lượng phân trước khi chiết xuất DNA [8].

Hiện nay, kỹ thuật khuếch đại đẳng nhiệt ADN (Loop Mediated Isothermal Amplification - LAMP) đang được phát triển để ứng dụng trong chẩn đoán nhiễm giun sán trong đó có chẩn đoán giun lươn. Đây là một phương pháp khuếch đại ADN mới, có độ đặc hiệu cao, thời gian thực hiện nhanh hơn so với PCR. Hệ thống LAMP không yêu cầu nhiều thiết bị, do đó có thể giảm được thời chi phí, phù hợp với những vùng đang còn thiếu thốn về cơ sở hạ tầng ở các vùng nông thôn nước ta [15], [109].

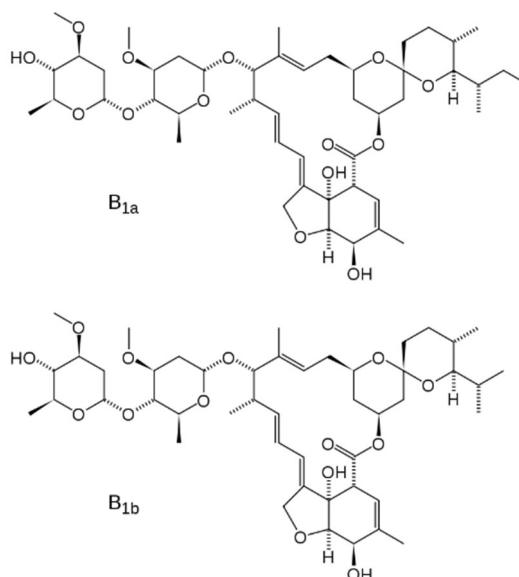
1.7 Điều trị và dự phòng

1.7.1 Các thuốc điều trị giun lươn

Hiện nay các thuốc thường được sử dụng điều trị bệnh giun lươn gồm: Ivermectin (IVM), albendazol (ALB) và thiabendazol (TBZ).

- **Ivermectin** (biệt dược Mectizan[®], Stromectol[®], Pizar)

Công thức: C₄₈H₇₄O₁₄ (22, 23-dihydroavermectin B_{1a}) và C₄₇H₇₂O₁₄ (22, 23-dihydroavermectin B_{1b})



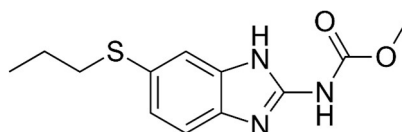
Hình 1.8 Công thức hoá học của ivermectin (nguồn: Wikipedia)

Thuốc có cơ chế tác động là gắn chọn lọc với kênh ion glutamate-gated chloride ion trên dây thần kinh cột sống và tế bào cơ của ký sinh trùng, gây chết

tế bào. Thời gian bán hủy thuốc là 16 giờ, thuốc chuyển hóa chủ yếu ở gan. Liều dùng người lớn là 150-200 mcg/kg/ngày đường uống và liều duy nhất. Liều trẻ em dưới 5 tuổi chưa thiết lập, song trẻ em trên 5 tuổi chỉ định liều dùng như người lớn. Tác dụng không mong muốn gồm có buồn nôn, nôn ói, rối loạn thần kinh nhẹ và có thể gây buồn ngủ.

- **Albendazol** (biệt dược Zentel[®], Azole, Hyarone[®], Albendazol stada, ...)

Công thức: $C_{12}H_{15}N_3O_2S$



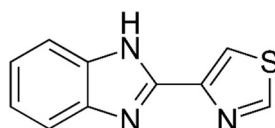
Hình 1.9 Công thức hoá học của albendazol (nguồn: Wikipedia)

Đây cũng là thuốc lựa chọn trong điều trị bệnh giun. Một loại thuốc nhóm nitroimidazole tổng hợp trong đó nó gắn kết với tubulin, ức chế các microtubule đồng thời làm giảm tiêu thụ và hấp thu glucose cũng như ức chế enzyme loại fumarate reductase bên trong KST. Thuốc tan rất kém trong nước nhưng lại tan và hấp thu tốt khi bữa ăn nhiều chất béo. Nồng độ thuốc trong dịch não tủy đạt đến 40% so với trong huyết thanh.

Liều dùng người lớn là 400 mg đường uống, ngày uống 2 lần x 3 - 7 - 14 - 21 ngày cho hiệu quả chữa khỏi thay đổi tùy theo thể bệnh. Với trẻ em, liều không xác lập nhưng có thể tính liều 15 mg/kg/ngày, đường uống, chia thành 2 lần/ ngày. Liệu trình kéo dài tùy thuộc vào sự theo dõi của bác sĩ và thể bệnh là phù hợp, không nên vượt quá 800mg/ngày.

- **Thiabendazol** (biệt dược Mintezol[®], Niczen[®])

Công thức: $C_{10}H_7N_3S$



Hình 1.10 Công thức hoá học của thiabendazol (nguồn: Wikipedia)

Là thuốc nhóm benzimidazole tổng hợp, được sử dụng chọn lựa ưu tiên cho bệnh giun lươn. Cơ chế tác động của nó tương tự cơ chế ALB. Liều người lớn: 50 mg/kg/ngày đường uống chia ra mỗi 12 giờ x 3 - 5 ngày liên tiếp, không nên dùng vượt quá 3 g/ ngày. Trên trẻ em có thể chỉ định theo liều trên. Khi dùng thuốc có thể dẫn đến tăng nồng độ theophylline, tăng độc tính để giám sát nồng độ trong huyết thanh và giảm liều.

Tác dụng phụ của thuốc thường gặp là buồn nôn, nôn mửa và chóng mặt có thể xảy ra trên bệnh nhân, có thể xuất hiện các ban đỏ, tăng mẫn cảm, hồng ban đa dạng, giảm bạch cầu, ảo giác.

1.7.2 Điều trị ca bệnh

Tác giả A.A Adenusi và CS sử dụng phác đồ Ivermectin với liều lượng là 200µg/kg, liều duy nhất cho hiệu quả cao sau 30 ngày điều trị là 84,07%, trong khi sử dụng Thiabendazol (TBZ) liều 25mg/kg cân nặng, hai lần mỗi ngày, trong 3 - 5 ngày liên tiếp chỉ cho hiệu quả 78,64 %. Tuy không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa 2 phác đồ nhưng nhóm tác giả khuyến cáo nên sử dụng ivermectin vì ít tác dụng phụ và sự tiện dụng của liều duy nhất [32].

Nhóm tác giả H.H Quang và cộng sự nghiên cứu phác đồ albendazol 800 mg/ngày trong 14 ngày cho tỷ lệ chữa khỏi là 95,65%. Nghiên cứu này cho kết quả cao hơn tác giả Nguyễn Ngọc Sơn và cộng sự. Nghiên cứu 2 phác đồ 7 ngày và 21 ngày trên bệnh nhân có triệu chứng dạ dày tá tràng nhận thấy phác đồ 21 ngày có hiệu quả cao hơn. Điểm hạn chế của phác đồ albendazol trong điều trị giun lươn là sử dụng dài ngày [20], [23].

Khi so sánh hiệu lực của ivermectin liều duy nhất 200 µg/kg và albendazol 15mg/kg trong 14 ngày, kết quả cho thấy ivermectin có hiệu quả 84,6% so với 53,3% của nhóm sử dụng albendazol. Điểm này phù hợp với nhiều báo cáo trên thế giới, tuy nhiên kết quả này thấp hơn các nghiên cứu khác do tiêu chí xét nghiệm đánh giá là dựa vào huyết thanh chẩn đoán [19], [59].

Với các trường hợp bệnh giun lươn lan toả hoặc có xuất hiện hội chứng tăng nhiễm, phác đồ khuyến cáo nên sử dụng ivermectin tối thiểu 2 ngày liên tục, hoặc sử dụng lặp lại liều duy nhất sau 1 tuần. Tổ chức y tế thế giới khuyến cáo nên sử dụng ivermectin mỗi ngày cho các trường hợp bệnh lan toả cho đến khi kết quả xét nghiệm ấu trùng âm tính trong thời gian tối thiểu 2 tuần [8], [59]. Đã có báo cáo trường hợp bệnh ghi nhận thất bại điều trị giun lươn bằng thuốc ivermectin dạng uống [39].

Hiệu quả của phác đồ kết hợp điều trị giữa ivermectin và thiabendazol đã được chứng minh hiệu quả hơn so với albendazol dài ngày. Và hiện nay ivermectin là thuốc lựa chọn đầu tiên cho điều trị giun lươn vì ít tác dụng phụ và tỷ lệ sạch ấu trùng cao [10], [46], [40].

1.7.3 Phòng bệnh và giáo dục sức khỏe

Với phương châm phòng bệnh hơn chữa bệnh, chúng ta nên lưu ý các vấn đề sau đây để hạn chế sự nhiễm bệnh, sự tái nhiễm và hạn chế sự lây lan trong cộng đồng.

- Vệ sinh môi trường, quản lý phân, nước, rác.
- Vệ sinh cá nhân, không phóng uế bừa bãi. Có biện pháp phòng hộ trong lao động và sinh hoạt hàng ngày, đặc biệt những người thường hay tiếp xúc với đất, bằng cách mang găng tay, đi giày dép, đi ủng.
- Người có những biểu hiện nghi ngờ bị nhiễm giun lươn nên đến khám chuyên khoa để được xét nghiệm xác định bệnh và chữa trị càng sớm càng tốt.
- Nâng cao sức đề kháng cơ thể, ăn nhiều rau, trái cây tươi, luyện tập thể dục thể thao hàng ngày... tránh tình trạng miễn dịch suy yếu làm bùng phát bệnh giun lươn.
- Tẩy giun định kỳ (4 - 6 tháng/lần hay 3 - 4 lần trong năm) bằng thuốc đặc hiệu ALB liều duy nhất, đây là nhóm thuốc tác động được trên nhiều loại giun và sử dụng đơn giản [10].
- Giáo dục sức khỏe liên quan đến chu trình lan truyền bệnh và gia tăng kiến thức y tế trong quần chúng, cộng đồng.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nhằm đạt được mục tiêu nghiên cứu, các thiết kế và đối tượng nghiên cứu được xây dựng dựa theo từng mục tiêu cụ thể.

2.1 Mục tiêu 1: Xác định tình trạng và một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn *Strongyloides* spp ở người dân huyện Đức Hoà, tỉnh Long An năm 2017 - 2018.

2.1.1 Đối tượng nghiên cứu

Người dân cư ngụ tại huyện Đức Hoà, tỉnh Long An nhằm xác định tỷ lệ nhiễm giun lươn.

Người đã được lấy phân xét nghiệm chẩn đoán nhiễm giun lươn, điều tra KAP từ đó xác định yếu tố nguy cơ.

Tiêu chuẩn chọn vào: Đối tượng trong dân số nghiên cứu sẽ được chọn với các điều kiện sau đây:

- Là người dân cư ngụ liên tục trên 6 tháng tại điểm nghiên cứu.
- Từ 5 tuổi trở lên, không phân biệt giới tính, dân tộc.
- Đồng ý tham gia vào nghiên cứu.
- Tỉnh táo, có khả năng nghe, hiểu, trả lời bằng tiếng Việt.
- Chưa uống thuốc tẩy giun trong 6 tuần tính đến ngày nghiên cứu.
- Có mẫu phân đạt yêu cầu xét nghiệm.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Không đồng ý tham gia.
- Đột ngột ngừng nghiên cứu không cần báo lý do.
- Không thu được mẫu phân, hoặc mẫu phân không đạt yêu cầu sau 3 lần thu thập.

2.1.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu

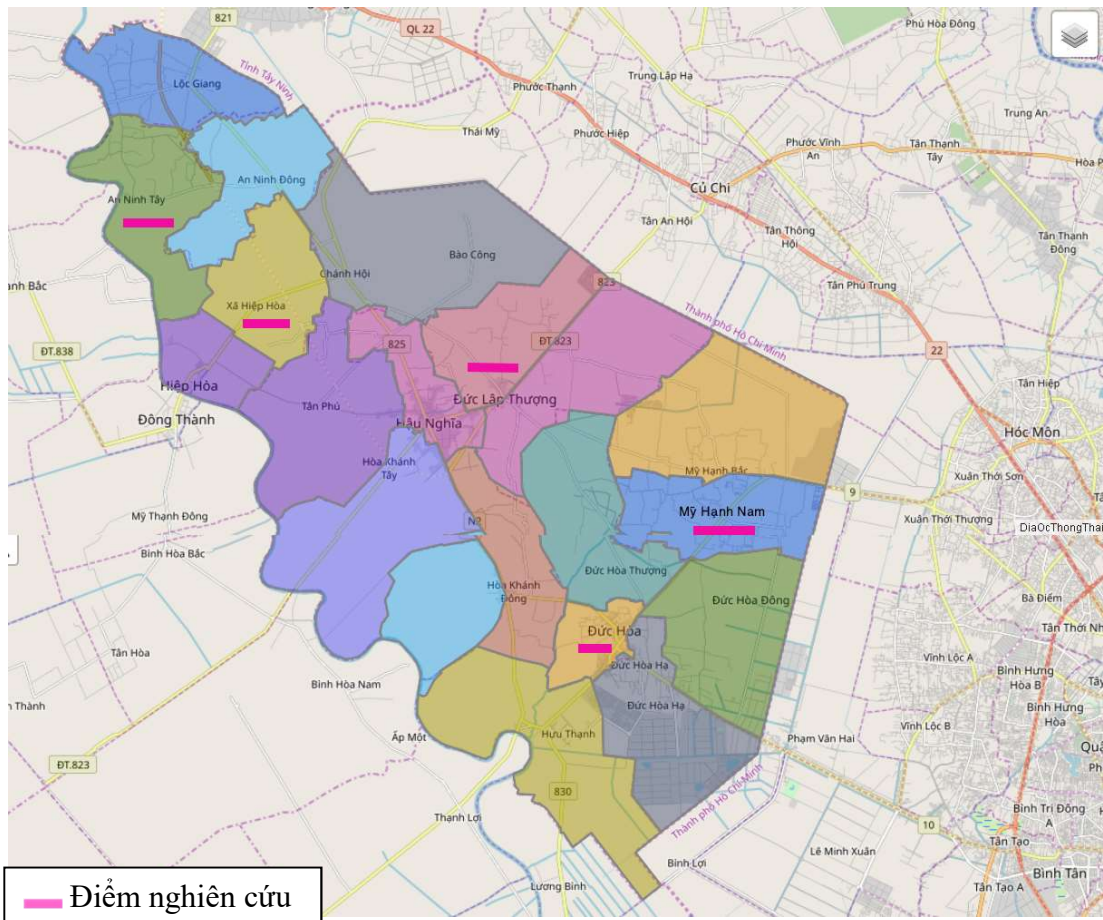
2.1.2.1 Địa điểm nghiên cứu

Thực địa:

Quần thể mẫu: huyện Đức Hòa, tỉnh Long An.

- Huyện Đức Hoà là huyện nông nghiệp nằm tại vị trí phía đông của tỉnh Long An, phía bắc giáp với tỉnh Tây Ninh, phía đông giáp Tp. HCM, có 3 thị trấn và 17 xã. Diện tích tự nhiên là 42.169 ha, phần lớn là đất nông nghiệp với dân số 245.617 người (thống kê 2017), mức độ di dân cơ học và tốc độ đô thị hóa cao.

Quần thể chọn mẫu: 4 xã Đức Lập Thượng, Mỹ Hạnh Nam, Hiệp Hoà, An Ninh Tây và 1 thị trấn Đức Hoà của huyện Đức Hoà (hình 2.1).



Hình 2.1 Bản đồ các điểm nghiên cứu tại Huyện Đức Hoà

+ Thị trấn Đức Hòa: là thị trấn lớn thứ 2 trong 3 thị trấn của huyện. Diện tích 692,2 ha, dân số 13.209 người. Đây là trung tâm kinh tế và tập trung các khu công nghiệp, có đời sống kinh tế phát triển nhất của huyện Đức Hòa.

+ Xã An Ninh Tây có diện tích 2159,6 ha, dân số 10.191 người. Xã Hiệp Hòa có diện tích 1891,8 ha, dân số 11.116 người, đây là 2 xã nông nghiệp, nằm

ở vị trí vùng thượng và phía tây của huyện, bên bờ sông Vàm Cỏ Đông, ranh giới với huyện Đức Huệ, Long An.

+ Xã Mỹ Hạnh Nam có diện tích 1752,2 ha, dân số 13.209 người, ở vị trí phía Đông của huyện Đức Hòa, tiếp giáp với huyện Hóc Môn của Tp.HCM, trên trục đường trung tâm giữa huyện Đức Hòa và thành phố, vốn là vùng đất nông nghiệp, đang được chuyển đổi kinh tế và có nhiều khu công nghiệp mới xây dựng, mức độ di dân cơ học cao.

+ Xã Đức Lập Thượng là xã thuần nông nghiệp và hoa trồng hoa màu, có diện tích 1902,6 ha, dân số 14.066 người. Xã ở vị trí phía đông, tiếp giáp với huyện Củ Chi của Tp.HCM, nằm 1 bên trục đường tỉnh lộ 8 nối huyện Củ Chi và trung tâm hành chính của huyện Đức Hòa.

Phòng thí nghiệm Ký sinh y học, Trường Đại Học Y Khoa (ĐHYK) Phạm Ngọc Thạch.

2.1.2.2 Thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 7/2017 đến tháng 03/2018

2.1.3. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu ngang mô tả có phân tích.

2.1.3.1 Cỡ mẫu

Cỡ mẫu xác định tỷ lệ nhiễm giun lươn được tính cho điểm nghiên cứu xã/thị trấn được áp dụng theo công thức [25].

$$n = Z^2_{(\alpha,\beta)} \frac{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}{(p_1 - p_2)^2}$$

- α : Xác suất của việc phạm phải sai lầm loại I, chọn $\alpha = 0,05$
- β : Xác suất của việc phạm phải sai lầm loại II, chọn $\beta = 0,05$
- $Z^2_{(\alpha,\beta)}$ tra bảng tương ứng = 13

Do huyện Đức Hòa chưa có bất kỳ nghiên cứu nào về nhiễm giun lươn, chúng tôi chọn p_1 là tỷ lệ nhiễm giun lươn tại các xã trước can thiệp bằng với

tỷ lệ nhiễm giun lươn tại 1 xã của huyện Củ Chi, Tp. HCM, có vị trí tiếp giáp với ranh giới phía đông của huyện Đức Hoà [27].

– $p_1 = 12,6 \%$: tỷ lệ nhiễm giun lươn tại các xã trước can thiệp.

– $p_2 = 3,2 \%$: tỷ lệ nhiễm giun lươn tại xã sau can thiệp .

Áp dụng vào công thức trên, tính được cỡ mẫu tối thiểu cho 1 điểm nghiên cứu là:

$$n = 13 \times (0,126 \times 0,874 + 0,032 \times 0,968) / (0,126 - 0,032)^2 = 208 \text{ người}$$

Nghiên cứu có 5 điểm nghiên cứu gồm 1 thị trấn và 4 xã. Cỡ mẫu tổng thể $n = 208 \times 5 = 1.040$ mẫu.

Thực tế, đề tài nghiên cứu đã thu thập và xét nghiệm được 1.190 mẫu.

Cỡ mẫu phỏng vấn KAP tìm các yếu tố liên quan: là người dân được xét nghiệm phân tương ứng với cỡ mẫu được tính tại mỗi điểm nghiên cứu.

2.1.3.2 Phương pháp chọn mẫu

Huyện Đức Hoà có 3 thị trấn: chúng tôi tiến hành chọn đại diện 1 thị trấn bằng cách bắt thăm ngẫu nhiên, xác định được thị trấn Đức Hoà.

Theo quy mô dân số tỷ lệ giữa số dân thị trấn/ các xã còn lại là 1/4,2 (phụ lục). Chọn thuận lợi 1 thị trấn và 4 xã.

Trục lộ trung tâm nối 2 thị trấn lớn chia địa bàn xã thành 8 xã phía đông, và 8 xã phía Tây và xã Hòa Khánh Đông nằm ở vị trí giữa 2 thị trấn (hình 2.1).

Bắt thăm ngẫu nhiên 2 trong 8 xã phía đông của huyện được xã Mỹ Hạnh Nam và Đức Lập Thượng. 2 xã phía Tây được bắt thăm là xã An Ninh Tây và Hiệp Hòa.

Tại mỗi xã/thị trấn, đơn vị thu thập số liệu là người dân, cách thức thu thập theo hộ gia đình. Tất cả thành viên cư ngụ tại hộ gia đình nếu thỏa tiêu chuẩn chọn mẫu sẽ được tham gia nghiên cứu.

Tại điểm nghiên cứu, số mẫu cần thiết của xã được phân bố đều vào các ấp. Đối với thị trấn Đức Hoà số mẫu cần thiết được chia vào các đơn vị là từng khu vực cụ thể (đơn vị tương đương ấp).

Cộng tác viên của trạm y tế sẽ lập danh sách hộ gia đình của từng ấp. Bốc thăm ngẫu nhiên theo danh sách được số hộ cần thu thập.

Tiến hành thu thập dữ liệu và mẫu phân của người dân tại từng hộ gia đình. Nếu hộ gia đình được chọn không có người ở nhà, hoặc không thỏa tiêu chuẩn chọn mẫu thì chúng tôi sẽ bỏ qua và chọn hộ gia đình ngay kề bên phải của hộ gia đình vừa loại.

Mỗi hộ gia đình sẽ được gặp gỡ và thu thập dữ liệu ít nhất 2 lần

- Lần 1: Điều tra viên phát hộp đựng phân và hướng dẫn cách lấy phân. Thông tin và hướng dẫn người dân về nghiên cứu. Lấy cam kết đồng thuận tham gia nghiên cứu. Trẻ em dưới 15 tuổi sẽ được cha mẹ hoặc người giám hộ thay thế xác nhận đồng ý tham gia.

- Lần 2 và 3: Điều tra viên thu lọ đựng mẫu phân đạt yêu cầu và bắt đầu tiến hành phỏng vấn trực tiếp bằng bảng câu hỏi KAP soạn sẵn.

Những người không thu thập được mẫu phân sau 3 lần gặp gỡ tại hộ gia đình sẽ bị loại khỏi mẫu nghiên cứu.

2.1.4 Nội dung nghiên cứu

- Tất cả đối tượng đã được chọn nghiên cứu là 1.190 người, đều được xét nghiệm phân bằng 2 kỹ thuật soi trực tiếp và nuôi cấy để xác định tỷ lệ nhiễm giun lươn.

- Điều tra KAP theo bảng câu hỏi để xác định yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn ở người dân tại điểm nghiên cứu (phụ lục 2)

2.1.5 Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

2.1.5.1 Kỹ thuật phỏng vấn thu thập dữ liệu

- Cộng tác viên thu thập mẫu phân tươi của toàn bộ người dân thỏa tiêu chuẩn chọn vào nghiên cứu.

- Bác sĩ của trạm y tế và nghiên cứu viên tiến hành phỏng vấn trực tiếp, thăm khám các triệu chứng nếu có, thu thập các thông tin bằng bảng câu hỏi có cấu trúc được soạn sẵn.

2.1.5.2 Kỹ thuật xét nghiệm chẩn đoán nhiễm giun lợn

Bằng kỹ thuật soi trực tiếp phối hợp với nuôi cấy Harada Mori cải tiến (Sasa, 1986). Trong đó, kỹ thuật nuôi cấy được thực hiện trước ngay tại thực địa cộng đồng, mẫu phân còn lại cho kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp sẽ được cố định bằng formalin 10% và được chuyển về phòng thí nghiệm thực hiện các xét nghiệm sau đó.

Kết quả chẩn đoán định danh ấu trùng bằng hình thể theo khoá định loại của Tổ chức Y Tế Thế Giới (WHO,1991) [111].

Kỹ thuật xét nghiệm phân trực tiếp

- Được thực hiện tại phòng thí nghiệm Ký sinh y học, trường ĐHYK Phạm Ngọc Thạch.

- Mẫu xét nghiệm: phân đã được bảo quản trong dung dịch formalin 10% (trong thời gian 12 giờ kể từ khi đại tiện) tại thực địa. Sau đó chuyển dần mẫu về phòng thí nghiệm.

- Vật dụng: Lam kính, miếng kính mỏng, que gỗ lấy phân, lọ nhỏ giọt chứa dung dịch Lugol 1%.

- Thực hiện: Dùng que gỗ lấy 1– 2 mg phân (to bằng đầu que diêm), đặt trên bề mặt lam kính, đánh tan đều trong dung dịch lugol 1%. Phủ miếng kính mỏng lên trên. Mỗi mẫu phân thực hiện 2 lần, áp dụng cả 2 lần trên 1 lam kính. Quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 100 lần tìm mầm bệnh, khi cần quan sát cấu trúc đặc trưng giúp phân biệt sẽ sử dụng độ phóng đại 400 lần (vật kính x 40).

- Kết quả: Dương tính khi tìm thấy ATGL giai đoạn 1. Âm tính khi không tìm thấy mầm bệnh.

Kỹ thuật cấy phân Harada Mori cải tiến

Được thực hiện 2 giai đoạn: Thực hiện kỹ thuật cấy tại thực địa cộng đồng và xét nghiệm trả lời kết quả tại phòng thí nghiệm Ký sinh y học, trường ĐHYK Phạm Ngọc Thạch.

- Tại thực địa

+ Vật dụng: Bọc nylon có khoá miệng, giá đỡ, giấy lọc 100 x 60 mm, muỗng nhựa phết phân, pipet nhựa, ống nghiệm nhựa có nắp vặn 15ml, nước cất.

+ Thực hiện: Phết phân tươi lên đoạn giữa giấy lọc (lượng phân khoảng 10 gam) cách 2 đầu giấy khoảng 3 cm. Đổ 5 ml nước cất vào bọc nylon. Đặt miếng giấy lọc đã phết phân vào trong bọc, đầu giấy thấm ở trên mặt nước độ 1 cm để không làm bắn nước. Treo lên giá và ủ ở nhiệt độ phòng tránh ánh sáng trực tiếp (phụ lục 1). Sau 3 ngày, dùng pipet thu mẫu nước cấy bên dưới bọc nylon, trữ vào ống nghiệm nhựa có nắp vặn và bảo quản bằng cồn 70⁰, chuyển về phòng thí nghiệm.

- Tại phòng thí nghiệm

+ Ly tâm mẫu nước cấy ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 3 phút.

+ Hút cặn lắng bằng pipet. Lấy một giọt nhỏ lên lam kính, phủ miếng kính mỏng và quan sát dưới KHV ở độ phóng đại 100 lần (vật kính x10) tìm mầm bệnh.

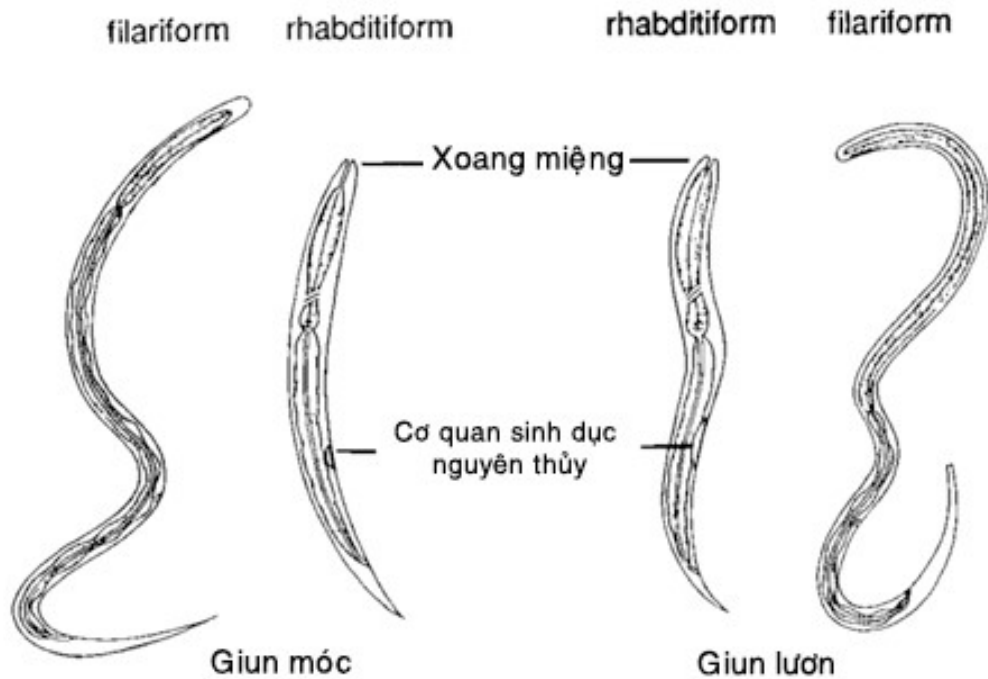
+ Kết quả: dương tính khi tìm thấy ATGL giai đoạn 2, AT giai đoạn 1 hoặc giun trưởng thành. Âm tính khi không tìm thấy bất kỳ giai đoạn nào của giun lươn.

- ATGL giai đoạn 1 và giai đoạn 2 được chẩn đoán xác định và phân biệt với ấu trùng giun móc dựa vào cấu trúc đặc trưng theo từng giai đoạn AT: cấu trúc xoang miệng ngắn đối với giai đoạn 1 và chóp đuôi tù hoặc chẻ đôi với giai đoạn 2 trở đi (hình 2.2) [64], [111].

Nhận định kết quả phối hợp 2 kỹ thuật:

- Trường hợp cả 2 kỹ thuật cho kết quả dương tính, kết luận có nhiễm giun lươn. Khi cả 2 kỹ thuật cho kết quả âm tính sẽ kết luận không nhiễm giun. Trường hợp chỉ có 1 trong 2 kỹ thuật xét nghiệm cho kết quả dương tính tìm thấy ấu trùng, sẽ được lấy mẫu phân lại lần 2 xét nghiệm kiểm tra. Nếu kết quả

lần 2 có kết luận dương tính ở bất kỳ kỹ thuật nào nêu trên, sẽ kết luận là trường hợp có nhiễm bệnh.



Hình 2.2 Khóa định loại giun móc và giun lươn theo WHO 1991 [111].

2.1.6 Các chỉ số đánh giá

Bảng 2.1 Các biến số sử dụng trong nghiên cứu cho mục tiêu 1

STT	Tên biến	Định nghĩa / chỉ số	Pp thu thập	Loại biến
1	Giới tính	Người dân tham gia trả lời phỏng vấn: nam/nữ	Phỏng vấn	Nhị phân
2	Tuổi	Người dân tham gia trả lời phỏng vấn Mức phân nhóm: dưới 15 tuổi; 15 đến 60 tuổi và nhóm trên 60 tuổi.	Phỏng vấn	Rời rạc Định danh
3	Trình độ học vấn	Trình độ học vấn của người dân tham gia trả lời phỏng vấn	Phỏng vấn	Định danh

		Mức phân nhóm: dưới PTTH và từ PTTH trở lên		
4	Tình trạng kinh tế	<p>Người dân tự xác nhận hoặc địa phương xác nhận hộ nghèo. Trong nhà có các phương tiện cơ bản và giải trí như tivi phẳng, điện thoại thông minh, xe gắn máy, ...</p> <p>Mức phân nhóm xác định gồm 3 mức theo qui định của Bộ LĐTBXH (phụ lục).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Nghèo - cận nghèo - Trung bình - Khá giả trở lên 	Phỏng vấn Quan sát	Định danh
5	Nghề nghiệp	<p>Nghề nghiệp: làm ruộng, trồng hoa màu, công nhân may, công nhân khu công nghiệp, học sinh, viên chức, người nghỉ hưu</p> <p>Mức phân nhóm: nghề nông nghiệp và nghề khác</p>	Phỏng vấn	Định danh
6	Tình trạng hố xí	<p>Tình trạng hố xí dội nước, hố xí 2 ngăn, sử dụng hố xí đào thô sơ, hố chôn sơ xài, đi cầu đồng, bụi rậm, ...</p> <p>Mức phân nhóm: hợp vệ sinh, không hợp vệ sinh</p>	Phỏng vấn Quan sát	Nhị phân Định danh
7	Thói quen tiếp xúc đất trực	- Làm việc tiếp xúc trực tiếp đất không bảo hộ, hoặc có thói quen tiếp xúc trực tiếp trong sinh hoạt	Phỏng vấn Quan sát	Nhị phân

	tiếp trong sinh hoạt (phụ lục 3)	hàng ngày. Trẻ em thì chơi trò chơi tiếp xúc trực tiếp đất như đá banh, lò cò, Mức phân nhóm đánh giá: Có tiếp xúc và không tiếp xúc.		
8	Nhiễm giun lươn	Xét nghiệm tìm thấy được ATGL trong kỹ thuật soi trực tiếp hoặc cấy phân Mức phân nhóm đánh giá: có nhiễm (+) và không nhiễm (-)	Xét nghiệm mẫu phân	Nhi phân

2.1.7 Xử lý số liệu

Nhập số liệu, phân tích, xử lý số liệu kết quả nghiên cứu bằng phần mềm SPSS 22.0 trong windows.

Số liệu phân tích: thống kê mô tả tần số và tính tỷ lệ (%).

Phân tích các mối liên quan, so sánh sự khác nhau giữa các biến số sử dụng test χ^2 để phân tích với ngưỡng ý nghĩa $p < 0,05$, phép kiểm fisher exact (khi có ô tần số < 5), chỉ số nguy cơ OR, khoảng tin cậy 95%.

Sử dụng phân tích đa biến tìm mối quan hệ của các yếu tố có liên quan.

2.2. Mục tiêu 2: Xác định loài giun lươn gây bệnh ở người bằng hình thái học và SHPT

2.2.1 Đối tượng nghiên cứu

Ấu trùng giai đoạn 1 của giun lươn thu được khi xét nghiệm trực tiếp.

Ấu trùng giai đoạn 2 của giun lươn thu được khi nuôi cấy phân.

Giun lươn trưởng thành đực và cái sống tự do trong mẫu cấy

Tiêu chuẩn chọn vào

Mẫu phân có hiện diện AT giai đoạn 1, 2 và trưởng thành của giun lươn.

Mẫu AT giai đoạn 2 của giun lươn không lẫn phân, lẫn AT giun móc hoặc giun khác và đủ số lượng AT cần thiết: trên 10 ấu trùng/mẫu (qui trình viện SR

– KST CT trung ương) [10].

Tiêu chuẩn loại trừ

Mẫu phân hoặc ấu trùng giai đoạn 2 của giun lươn không đạt yêu cầu xét nghiệm.

2.2.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.2.2.1 Địa điểm nghiên cứu

Phòng thí nghiệm Ký sinh y học, Trường ĐHYK Phạm Ngọc Thạch.

Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử của Viện Sốt rét – Ký sinh trùng – Côn trùng Trung ương.

Giải trình tự gen tại Phòng thí nghiệm First BASE Laboratories-Axil Scientific, Malaysia.

2.2.2.2 Thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 4/2018 đến tháng 11/2018

2.2.3. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu thực nghiệm tại phòng thí nghiệm.

2.2.3.1 Cỡ mẫu

Tất cả trường hợp được xác định kết quả dương tính với ấu trùng giun lươn bằng xét nghiệm phân trực tiếp và nuôi cấy.

Nghiên cứu đã thu được thực tế 79 mẫu xét nghiệm phân dương tính ấu trùng giun lươn.

Khảo sát hình thái 79 ấu trùng giai đoạn 1, 79 ấu trùng giai đoạn 2, 5 giun đực và 3 giun cái trưởng thành sống tự do.

Khảo sát được 70 mẫu sinh học phân tử về giun lươn.

2.2.3.2 Phương pháp chọn mẫu

Áp dụng cách thức chọn mẫu toàn bộ.

Để xác định hình thái:

Ấu trùng giai đoạn 1 của giun lươn: Chọn tất cả các mẫu xét nghiệm phân có kết quả dương tính. Khi quan sát nhìn thấy ấu trùng giai đoạn 1 sẽ tiến hành

chọn 1 ấu trùng ngẫu nhiên để khảo sát các thông số về hình thái tương ứng với mẫu nhiễm bệnh. Trường hợp khi xét nghiệm trực tiếp không tìm thấy nhưng kết quả bệnh nhân có nhiễm được xác định bằng kỹ thuật cấy thì sẽ lặp lại xét nghiệm trực tiếp 3 lần, cho đến khi tìm thấy ấu trùng giun lươn giai đoạn 1. Sau 3 xét nghiệm trực tiếp vẫn chưa tìm thấy sẽ tiến hành quay lại thực địa, thu thập mẫu phân lần 2 của bệnh nhân kiểm tra xét nghiệm.

Ấu trùng giai đoạn 2: cấy phân có ấu trùng giai đoạn 2 của giun lươn *Strongyloides* spp được xác định bằng hình thể học. Mỗi mẫu cấy sẽ chọn ngẫu nhiên một ấu trùng để khảo sát.

Giun trưởng thành sống tự do: Do trường hợp tìm thấy giun trưởng thành sống tự do đực và cái khi nuôi cấy không nhiều nên chọn tối đa tất cả số lượng giun trưởng thành khi tìm thấy.

Để xác định loài bằng sinh học phân tử: chọn mẫu ấu trùng giai đoạn 2 từ kỹ thuật nuôi cấy phân, lấy một nửa số lượng ấu trùng trong mẫu thu thập được tiến hành làm kỹ thuật. Một nửa lượng còn lại gửi xét nghiệm kiểm tra đối chiếu.

2.2.4 Nội dung nghiên cứu

- Xác định loài giun lươn bằng hình thái học: Xác định hình thái học của các ấu trùng và giun lươn trưởng thành tìm được trong các mẫu phân người, bằng phương pháp trực tiếp và nuôi cấy.

- Xác định thành phần loài giun lươn gây bệnh ở huyện Đức Hoà bằng kỹ thuật realtime PCR đa môi và giải trình tự gen.

- So sánh sự tương đồng với các đoạn gen chuẩn định loài trên genbank và vẽ sơ đồ cây phân loài mối quan hệ di truyền.

2.2.5 Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

2.2.5.1 Các kỹ thuật về chẩn đoán hình thái

Khi tiến hành xét nghiệm tìm thấy ấu trùng giun lươn giai đoạn 1, 2 hoặc giun trưởng thành, tiến hành đo đạc kích thước các cấu trúc hình thái cơ bản

bằng hệ thống đo từ phần mềm CellSens 5.0 của camera Dp26 kết nối trong hệ thống kính hiển vi Olympus BX53, ở các độ phóng đại 100, 200 và 400 lần.

Kích thước được hiển thị bằng đơn vị μm , ngay tại khoảng cách các cấu trúc cần đo. Ghi nhận từng kích thước và cấu trúc theo hệ thống chỉ số qui ước. Đối chiếu so sánh với các tác giả Grove D.I (1989), WHO (1991), Prayong D. và CS (2013) [54], [90], [111].

2.2.5.2 Kỹ thuật chuẩn bị mẫu trước tách chiết

Mỗi mẫu nước cấy chứa ấu trùng giai đoạn 2 của giun lươn được gạn lọc thô và rửa sạch bằng phương pháp ly tâm lắng cặn với nước cất vô trùng ở tốc độ 3000 vòng/phút x 5 phút. Thao tác thực hiện từ 3 – 5 lần.

Sau khi làm sạch bước đầu, thu được cặn mẫu. Thêm 1 ml dung dịch cồn 70⁰ và đánh số mã hóa.

Mỗi mẫu đã mã hóa được kiểm tra mật độ ấu trùng trong 100 μl dưới kính hiển vi quang học. Mẫu đạt yêu cầu thô khi số lượng trên 2 ấu trùng/100 μl (đạt ~ 20 AT/1 ml mẫu) [10].

2.2.5.3 Kỹ thuật tách chiết DNA

Tách chiết DNA của *Strongyloides* spp bằng phương pháp màng lọc silica với bộ tách chiết High Pure PCR Template Preparation Kit-Roche.

Lượng mẫu đưa vào tách chiết là 500 μl mẫu AT ấu trùng giun lươn đã chuẩn bị tương ứng với mỗi bệnh nhân nhiễm giun (phụ lục 1).

Khảo sát nồng độ DNA trong mẫu sau tách chiết bằng máy đo mật độ quang GeneQuant của hãng Amersham Biosciences – Anh, mục đích xác định nồng độ DNA.

Mỗi mẫu DNA được đo 3 lần, và lấy trung bình cộng của 3 lần đo để đánh giá so với quy định của hãng.

Tiêu chuẩn đánh giá độ tinh sạch của mẫu DNA sau ly trích là dựa vào tỉ lệ $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$. Mẫu DNA được cho là phù hợp để tham gia các phản ứng PCR khi tỉ số $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ nằm trong khoảng 1,6 – 2,0.

Cho mẫu DNA thu được vào các tít lưu trữ, trữ đông trong tủ lạnh âm 70°C, để sử dụng thực nghiệm dần.

Tổng kết số mẫu đạt được để tiến hành tiếp bước kỹ thuật realtime PCR.

2.2.5.4 Kỹ thuật Realtime PCR

Được thực hiện tại phòng thí nghiệm Ký sinh y học trường ĐHYK Phạm Ngọc Thạch.

Nguồn mẫu: DNA của ấu trùng giai đoạn 2 thu thập được từ phương pháp nuôi cấy đã qua bước tách chiết.

Thực hiện quy trình phản ứng Realtime PCR dựa trên các nguyên tắc được thiết kế như sau:

Định danh giống *Strongyloides spp* trên trình tự 28S rRNA gen vị trí GenBank U39490 theo S. Kramme và cộng sự (2011) [94].

– Mồi xuôi StroS: 5'-TTA GAG TCG TGT TGC TTG GAA-3'.

– Mồi ngược StroAS: 5'-GTG CAA CTG GCT CTG TAT GC-3'.

– Đoạn dò StroP3: HEX-5'-CTG TGA AGG AAA ATT GCA AAG TAC TCC GGA-3'-TAMRA.

Định danh loài *S. stercoralis* dùng trình tự gen Stro 18S vị trí GenBank AF279916 theo J.J. Verweij và cộng sự 2009 [63].

– Mồi xuôi 1530 F: 5'-GAA TTC CAA GTA AAC GTA AGT CAT TAG C-3'.

– Mồi ngược 1630 R: 5'-TGC CTC TGG ATA TTG CTC AGT TC-3'.

– Đoạn dò 1586T: FAM-5'-ACA CAC CGG CCG TCG CTG C-3'-BHQ.

Định danh loài *S. ratti* dùng đoạn gen Srat 28S vị trí GenBank DQ14570 theo M. R Watts và cộng sự (2014) [109].

– Mồi xuôi SratF: 5'-GCA GCC TTG AAA ATG GAT GG-3'.

– Mồi ngược SratR: 5'-CTG TTG CGG ATA TGG GTA CG-3'.

– Đoạn dò SratP: Cy5-5'-CGA AGT GGA AAA GGG TTT CAC G-3'-TAMRA.

Cách tiến hành:

Mỗi mẫu được pha theo công thức trong bảng 2.2, chạy thành 2 phản ứng realtime PCR lặp lại và kết quả cuối cùng (C_t) là trung bình cộng của hai lần thực nghiệm.

Bảng 2.2 Công thức phản ứng realtime PCR

Thành phần 1 mẫu	realtime PCR	Multiplex 2
DNA	5 μ l	5 μ l
Absolute [®] QPCR Mix	12,5 μ l	12,5 μ l
Primer StroS	0,6 μ l	-
Primer StroAS	0,6 μ l	-
Primer StroP3 (HEX)	0,6 μ l	-
Primer 1530 F	-	0,6 μ l
Primer 1630 R	-	0,6 μ l
Primer 1586T (FAM)	-	0,6 μ l
Primer SratF	-	0,6 μ l
Primer SratR	-	0,6 μ l
Primer SratP (CY5)	-	0,6 μ l
H ₂ O	5,7 μ l	3,9 μ l
Tổng	25 μl	25 μl

Do đây là thiết kế đa mồi mới được nghiên cứu này thiết kế lần đầu, nên được thực hiện mô hình thực nghiệm có lặp tại phòng thí nghiệm nhằm khảo sát tính ổn định của thử nghiệm trước khi áp dụng cho mẫu nghiên cứu. Các thông số kết quả về khảo sát qui trình chạy thực nghiệm thăm dò, tối ưu hóa kỹ thuật được thể hiện trong phần phụ lục 2.

Từ kết quả thực nghiệm, qui trình chẩn đoán realtime PCR định loài được xác định thực tế như sau:

- Mỗi PCR (giếng) = 5 μ l DNA + 20 μ l PCR mix (1 mẫu chuẩn bị 40 μ l PCR mix)

- Chu trình nhiệt của phản ứng Real-time PCR:

- + Giai đoạn 1: 15 phút tại 95°C

- + Giai đoạn 2: 40 chu kỳ bao gồm

15 giây tại 95°C

1 phút tại 60°C.

- Mẫu chứng DNA dương tính của *S. stercoralis*: được thu thập từ ấu trùng nuôi trong môi trường nhân tạo.

- Chứng âm: không cho mẫu DNA và thay bằng nước khử ion vô trùng.

Sự phát hiện, nhân lượng và các thông số kỹ thuật được phân tích bằng hệ thống Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR, Mỹ.

Ghi nhận kết quả định loài bằng kỹ thuật realtime PCR. Gửi chuyển mẫu kiểm tra đối chiếu về kết quả sinh học phân tử đến viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương.

2.2.5.5 PCR lồng 2 bước cho mục đích giải trình tự gen

Các trình tự gen 18S rRNA dễ dàng nhận diện các vùng bảo tồn mức độ cao, cho phép sử dụng được các môi thông dụng cho PCR để định cây phân hệ. Giun lươn *Strongyloides* spp trong nghiên cứu được áp dụng sử dụng bộ môi PCR lồng trên dữ liệu vị trí GenBank AJ 417023.

Các môi I xuôi Ss1 F: 5'-ACA CGG TAA ATA TTT TAG TTG-3' và ngược Ss1 R: 5'-CTA AAT CAT GAA AGA GCT ATC-3') nhân lượng sản phẩm PCR 1092 bp đặc hiệu *Strongyloides* spp gen 18S rDNA.

Các môi II xuôi Ss2 F: 5'-GCT AAT ACA CGC TAT TTA TAC-3' và ngược Ss2 R: 5'-GTT GAG TCA AAT TAA GCC GC-3') nhân lượng sản phẩm PCR 975 bp.

Chu trình nhiệt cho cả 2 bước PCR lồng bước 1 và 2 giống nhau bao gồm:

- Giai đoạn biến tính ban đầu 5 phút 94 °C
- Thực hiện tiếp theo 30 chu kỳ gồm 30 giây 94 °C (biến tính)
 30 giây 60 °C (bắt cặp)
 30 giây 72 °C (kéo dài)
- Giai đoạn kết thúc 5 phút 72 °C

Bảng 2.3 Công thức phản ứng PCR lồng 2 bước

Thành phần 1 mẫu	Ss1	Ss 2
DNA / Sản phẩm PCR lần 1	5 µl	5 µl
Tampon Taq (5 x)	5 µl	8 µl
MgCl ₂ (25 mM)	9 µl	9 µl
Primer Ss1 F	2,5 µl	
Primer Ss1 R	2,5 µl	
Primer Ss2 F	-	2.5 µl
Primer Ss2 R	-	2.5 µl
dNTP's (10 mM each)	1 µl	1 µl
Taq polymerase (5 U/µl)	0.2 µl	0,2 µl
H ₂ O	24,8 µl	21,8 µl
Tổng	50 µl	50 µl

Các sản phẩm PCR lồng II 975 bp sẽ được tinh sạch bằng bộ kit tinh sạch Wizard® SV Gel theo hướng dẫn của Hãng Promega, Mỹ.

Chuyên mẫu giải trình tự gen tại công ty First BASE Laboratories-Axil Scientific, Malaysia. Tiến hành giải trình tự gen trên máy ABI 3730 Series Genetic Analyzer.

2.2.6 Các chỉ số đánh giá

Bảng 2.4 Các biến số đánh giá hình thái và SHPT

STT	Tên biến	Định nghĩa /chỉ số	Pp thu thập	Loại biến
Hình thái học				
1	Ấu trùng giai đoạn 1 và 2, giun trưởng thành đực và cái	<ul style="list-style-type: none"> - Chiều dài ấu trùng từ đầu cho đến chóp đuôi. - Chiều ngang ấu trùng, tại vị trí lớn nhất. - Chiều dài xoang miệng. - Chiều dài thực quản. - Tỷ lệ thực quản và chiều dài. - Độ rộng chóp đuôi của ấu trùng giai đoạn 2 - Tỷ lệ vị trí lỗ sinh dục so với chiều dài thân ở giun cái - Chiều dài gai giao hợp đối với giun đực 	Đo bằng phần mềm dưới kính hiển vi	Liên tục
Sinh học phân tử				
2	Tên loài	Tên loài xác định bằng kỹ thuật bằng Realtime PCR với đoạn mồi đặc hiệu	Xét nghiệm	Định danh
3	Thành phần loài	Tỷ lệ từng loài được xác định bằng kỹ thuật Realtime PCR	Xét nghiệm	Định lượng
4	Tên loài	Giải trình tự gen	Xét nghiệm	Định danh

2.2.7 Phương pháp xử lý số liệu

- Các chỉ số về hình thái được nhập phần mềm excel windows 10.

- Sử dụng phân tích thống kê tính các số trung bình, độ lệch chuẩn (SD), giá trị thấp nhất (min), giá trị cao nhất (max) bằng phần mềm SPSS 22.0 for windows.

- Trình tự gen thu được sau giải trình tự, được xử lý bằng phần mềm Bioedit v.2.6 (Tom Hall, 2017). So sánh trình tự các mẫu trong nghiên cứu với trình tự *Strongyloides* spp đã được công bố trên ngân hàng gen (NCBI). Hệ số tương đồng trên genbank so với loài đã công bố ở các nước ở mức tối thiểu 97%.

- Dùng phần mềm MEGA 6 (Temura, 2013) dựng cây phân loài mối quan hệ di truyền.

2.3. Mục tiêu 3: Mô tả các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng và đánh giá kết quả điều trị ca bệnh do *Strongyloides* spp bằng Ivermectin liều duy nhất.

2.3.1 Đối tượng nghiên cứu

Các trường hợp ca bệnh nhiễm giun lươn đường tiêu hóa.

Tiêu chuẩn chọn vào

Người dân cư ngụ tại các điểm nghiên cứu, đã tham gia và được xét nghiệm phân dương tính tìm thấy ATGL.

Đồng ý tham gia tiếp vào nghiên cứu uống thuốc điều trị.

Từ 5 tuổi trở lên.

Thu thập đủ số lượng mẫu phân, máu và dữ liệu từ bảng câu hỏi.

Tiêu chuẩn loại trừ

Phụ nữ có thai hoặc đang nuôi con bằng sữa mẹ.

Trường hợp có nhiễm giun lươn nhưng mắc các bệnh mạn tính có chống chỉ định với thuốc ivermectin

Có mẫu phân hoặc máu không đạt yêu cầu xét nghiệm

Đột ngột ngừng nghiên cứu mà không cần giải thích lý do.

2.3.2 Địa điểm, vật dụng và thời gian nghiên cứu

2.3.2.1 Địa điểm nghiên cứu

- **Thực địa:** Tại nhà người dân và tại trạm y tế xã/thị trấn nghiên cứu
- **Phòng xét nghiệm:** Phòng thí nghiệm Ký sinh y học, Trường ĐHYK Phạm Ngọc Thạch, Phòng xét nghiệm huyết học và phòng xét nghiệm miễn dịch, bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới Tp. HCM.

2.3.2.2 *Vật dụng nghiên cứu*

Thuốc ivermectin liều duy nhất 0,2 mg/kg. biệt dược là Stromectin® của hãng USA RICHPHARM.

2.3.2.3 *Thời gian nghiên cứu*

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 7/2017 đến tháng 5/2018.

2.3.3. *Thiết kế nghiên cứu*

Nghiên cứu ngang mô tả loạt ca bệnh và can thiệp điều trị không đối chứng.

2.3.3.1 *Cỡ mẫu*

Tất cả các trường hợp bệnh nhân được chẩn đoán có nhiễm giun lươn đường tiêu hoá trong thời gian nghiên cứu.

Nghiên cứu đã thu nhận được thực tế 79 bệnh nhân đưa vào mô tả, điều trị bằng thuốc. Theo dõi và đánh giá hiệu quả điều trị 57 trường hợp bệnh.

2.3.3.2 *Phương pháp chọn mẫu*

- Tiến hành chọn mẫu toàn bộ.
- Những người có kết quả xét nghiệm dương tính có nhiễm giun lươn *Strongyloides* spp được mời đến trạm y tế.
- Tư vấn và ký cam kết đồng thuận tham gia nghiên cứu điều trị giun lươn bằng Ivermectin liều duy nhất.
- Lấy máu xét nghiệm và uống thuốc Ivermectin có kiểm soát: Thuốc được tính theo trọng lượng bệnh nhân tại thời điểm uống thuốc, liều 0,2 mg/kg. Bệnh nhân được uống thuốc tại chỗ trước sự chứng kiến của Bác sĩ của trạm y tế. Hướng dẫn bệnh nhân uống thuốc ivermectin với một ly nước lọc đầy (240ml) trước ăn sáng 2 giờ.

- Bệnh nhân được hướng dẫn ghi nhận về tác dụng phụ trong 2 ngày liên tiếp sau uống thuốc. Nếu có bất kỳ dấu hiệu bất thường nào khác như chóng mặt, nhức đầu, đau bụng, buồn nôn, tiêu chảy, đau cơ, sốt, ngứa, ban đỏ trên da phải gọi điện thoại cho bác sĩ hoặc đến trạm y tế để theo dõi ngay.

- Thu mẫu phân tươi xét nghiệm kiểm tra sau uống thuốc 3 lần tại các thời điểm 2, 4 và 6 tuần nhằm đánh giá hiệu quả điều trị của thuốc hoặc tái nhiễm mới.

2.3.4 Nội dung nghiên cứu

- Mô tả triệu chứng lâm sàng của các bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm giun lươn đường tiêu hoá trước và sau điều trị bằng phiếu phỏng vấn và thăm khám.

- Điều trị cho bệnh nhân nhiễm giun lươn bằng thuốc ivermectin liều duy nhất 0,2 mg/kg cân nặng tại thực địa.

- Thực hiện các xét nghiệm cận lâm sàng trước khi uống thuốc: công thức bạch cầu để xác định số lượng, tỷ lệ % bạch cầu ái toan và huyết thanh chẩn đoán ELISA tìm kháng thể kháng giun lươn. Xác định hiệu quả sạch ấu trùng bằng xét nghiệm phân tìm ấu trùng giun lươn sau khi uống thuốc.

- Theo dõi các tác dụng phụ của thuốc qua triệu chứng lâm sàng.

- Xác định hiệu quả điều trị lâm sàng và cận lâm sàng của ivermectin.

2.3.5 Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

Bao gồm thu thập thông tin, thăm khám triệu chứng và ghi nhận tác dụng phụ sau uống thuốc, các kỹ thuật xét nghiệm máu và xét nghiệm phân.

2.3.5.1 Kỹ thuật xét nghiệm máu xác định bạch cầu ái toan

- Được thực hiện tại Phòng xét nghiệm Huyết học, bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới Tp. HCM.

- Mẫu xét nghiệm: máu bệnh nhân được bảo quản trong ống nghiệm có chứa chất chống đông EDTA. Lượng máu tối thiểu 1 ml.

- Máy xét nghiệm: Máy huyết học tự động 22 thông số ADVIA hãng

SIEMENS (phụ lục 5).

Thực hiện: đặt ống nghiệm chứa mẫu máu theo chiều đứng thẳng vào khay, đặt khay vào máy, bấm nút đọc. In kết quả từ phần mềm trên máy tính. Huỷ bỏ mẫu máu theo quy trình của phòng xét nghiệm.

- Kết quả: số lượng tuyệt đối bạch cầu, số lượng tuyệt đối và tỷ lệ % bạch cầu ái toan hiển thị trên phiếu kết quả.

- Thực hiện phết lam máu nhuộm giemsa, lưu tiêu bản phục vụ công tác hậu kiểm vì không lưu trữ được mẫu máu xét nghiệm huyết học.

2.3.5.2 Kỹ thuật xét nghiệm máu ELISA tìm kháng thể kháng giun lươn IgG

- Được thực hiện tại Phòng xét nghiệm miễn dịch, khoa xét nghiệm bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới Tp. HCM.

- Mẫu xét nghiệm: mẫu huyết thanh được tách chiết từ cộng đồng. Lượng huyết thanh tối thiểu là 100 μ l.

- Vật dụng: bộ sinh phẩm Novalisa *Strongyloides* của hãng Novatech, Đức.

- Thiết bị xét nghiệm: hệ thống máy miễn dịch tự động Etimax 3000 của hãng Dia Sorin, Ý (phụ lục 5).

Nguyên tắc: bộ sinh phẩm phát hiện kháng thể IgG kháng giun lươn. Đơn vị tính là NTU (novatech unit), giá trị ngưỡng = 10 NTU.

- Độ nhạy của bộ sinh phẩm là 75 - 97%. Độ đặc hiệu từ 83,7 – 98,7% theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất, đã được Bộ Y Tế cấp phép sử dụng.

- Thực hiện: đặt ống nghiệm chứa mẫu huyết thanh theo chiều đứng thẳng vào khay, đặt khay vào máy. Chạy chương trình với quy trình 2 giờ. In kết quả từ phần mềm trên máy tính.

- Tách chiết và lưu trữ mẫu huyết thanh ở tủ âm 70⁰C cho mục đích xét nghiệm hậu kiểm.

- Kết quả: dương tính khi giá trị OD > 10 NTU, âm tính khi \leq 10 NTU

2.3.5.3 Thuốc sử dụng trong nghiên cứu

Ivermectin (Stromectin®), liều dùng 0,2 mg/kg cân nặng (200 µg/kg) theo quy định của hãng sản xuất, được cấp phép lưu hành thuốc của Bộ y tế.

Số lô sản xuất 6680116. Hạn sử dụng 7/11/2019. Dạng trình bày gồm viên liều 3mg và viên liều 6 mg.

Liều điều trị cho người bệnh tại cộng đồng được tính theo cân nặng.

2.3.5.4 Kỹ thuật xét nghiệm phân

Áp dụng phối hợp 2 kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp và cấy phân như trong mục tiêu 1, để xác định kết quả sau điều trị.

2.3.6 Các chỉ số đánh giá

Bảng 2.5 Các biến số về lâm sàng, cận lâm sàng và điều trị

STT	Tên biến	Định nghĩa/chỉ số	PP thu thập	Phân loại
1	Dấu hiệu lâm sàng	<p>Tam chứng nhiễm giun lươn:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tiêu chảy (có/không) - Đau bụng (có/không). Vị trí đau: thượng vị, quanh rốn, hạ vị) - Mày đay (có/không). Vị trí: tay chân, toàn thân. <p>Triệu chứng khác:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sụt cân (có/không) - Đau đầu (có/không) - Ấu trùng di chuyển dưới da (có/không) <p>Tính chất và thay đổi triệu chứng: Xuất hiện có thường xuyên (có/không)</p>	Phỏng vấn và thăm khám	Nhị phân Định danh

2	Dấu hiệu cận lâm sàng	Công thức máu: - Số lượng và % BCAT - Mức độ tăng BCAT: nhẹ (từ 500 – 1500) và tăng cao (trên 1500) ELISA : kháng thể kháng giun lươn dương /âm	Xét nghiệm máu	Định lượng Định tính
3	Hiệu quả điều trị lâm sàng	Các dấu hiệu lâm sàng cải thiện ở 3 mức độ: – Khởi – Giảm – Không khởi.	Phỏng vấn Thăm khám	Định danh
4	Hiệu quả điều trị cận lâm sàng	Xét nghiệm phân: âm tính (khởi), dương tính (còn nhiễm)	Xét nghiệm phân	Nhị phân
5	Tác dụng không mong muốn của thuốc	- Chóng mặt (có/không) - Buồn nôn (có/không) - Tiêu chảy gia tăng (có/không) - Ban đỏ trên da (có/không) - Ngứa gia tăng (có/không)	Phỏng vấn và quan sát	Nhị phân

Bảng 2.7 Định nghĩa các chỉ số, biến số và phương pháp thu thập

TT	Chỉ số/biến số	Định nghĩa	PP thu thập
Dấu hiệu lâm sàng			
1	Đau bụng	Cảm giác đau từ mũi ức đến trên xương mu, kiểu đau âm ỉ hoặc co thắt. Gồm 3 vùng:	Hỏi và thăm khám

		<ul style="list-style-type: none"> - Thượng vị. Từ dưới mũi ức đến ½ trên đường nối rốn và mũi ức - Quanh rốn: từ ½ dưới đường nối rốn và mũi ức cho đến đường nối 2 gai chậu trước trên - Hạ vị: vùng còn lại <p><i>Mức độ cải thiện sau can thiệp:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Khỏi: tương ứng khi hết đau - Giảm: khi còn cảm giác đau nhưng mức độ và số lần đau có giảm 	
2	Tiêu chảy	<p>Đi đại tiện phân lỏng từ ≥ 3 lần/ngày.</p> <p><i>Mức độ cải thiện sau can thiệp:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Khỏi: khi hết tiêu chảy - Giảm: khi còn tiêu chảy dưới 3 lần/ngày 	Hỏi và quan sát
3	Mày đay	<p>Xuất hiện mảng màu thay đổi trên da (thường màu đỏ), nổi gồ qua bề mặt da, riêng rẽ, ngứa.</p> <p><i>Mức độ cải thiện sau can thiệp:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Khỏi: khi hết nổi và không còn ngứa - Giảm: khi còn nổi nhưng mức độ và số lần có giảm 	Hỏi và quan sát
4	Sụt cân	<p>Sụt trên 2 kg trong tháng gần đây</p> <p><i>Mức độ cải thiện sau can thiệp:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Khỏi: khi cân nặng hồi phục đủ 3kg/ 6 tuần. - Giảm: cân nặng có phục hồi nhưng không đủ 3kg/ 6 tuần. - Không giảm: không tăng hoặc giảm cân thêm. 	Hỏi và cân
5	Đau đầu	<p>Cảm giác đau sâu, vị trí từ vùng trán cho tới vùng cằm, mức độ thường xuyên trên 1 lần/ngày.</p> <p><i>Mức độ cải thiện sau can thiệp:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Khỏi: tương ứng khi hết đau 	Hỏi và quan sát

		- Giảm: khi còn cảm giác đau nhưng mức độ và số lần đau có giảm	
6	Ấu trùng di chuyển dưới da	Đường lằn nổi dưới bề mặt lớp da, thường có hình dạng cong và ngoằn ngoèo, có thể có bóng nước bên trong, thay đổi chiều dài theo thời gian và có hướng di chuyển. <i>Mức độ cải thiện sau can thiệp:</i> - Khỏi: khi tổn thương không còn di chuyển, không còn bóng nước - Không khỏi: khi tổn thương còn di chuyển thêm.	Hỏi và quan sát
7	Ban đỏ	Xuất hiện các hồng ban, phẳng dưới mặt da, thường vị trí toàn thân và thường xuất hiện sau uống thuốc 6 giờ	Hỏi và quan sát
8	Ngứa sau uống thuốc	Ngứa gia tăng, có thể nổi đỏ sau đó, thường xuất hiện sau uống thuốc khoảng 2 giờ, không có xu hướng giảm như mề đay mạn tính.	Hỏi và quan sát
Cận lâm sàng Theo quy trình chuẩn SOP và ISO 15189 năm 2016			
9	Tăng bạch cầu ái toan	$\geq 500 \text{ BC} / \text{mm}^3$ máu hoặc $\geq 8\%$	Xét nghiệm trên máy huyết học tự động 22 thông số.
10	Tăng BCAT nhẹ	Khi BCAT 500 - 1500 / mm^3 máu	
11	Tăng BCAT cao	Khi BCAT > 1500 / mm^3 máu	
12	ELISA dương tính	Khi kết quả xét nghiệm > 10NTU	Xét nghiệm
Hiệu quả điều trị của ivermectin (lâm sàng và cận lâm sàng)			
13	Khỏi bệnh	Kết quả xét nghiệm sạch ấu trùng và có tất cả triệu chứng lâm sàng (nếu có) đạt mức khỏi.	

14	Giảm bệnh	Có kết quả xét nghiệm sạch ATGL trong phân và có triệu chứng lâm sàng cải thiện ở mức giảm	Xét nghiệm, thăm khám và phỏng vấn
15	Không khỏi bệnh (thất bại điều trị)	Có xét nghiệm phân còn ATGL hoặc Xét nghiệm sạch ấu trùng nhưng tất cả triệu chứng lâm sàng không thay đổi so với trước điều trị	

2.3.7 Xử lý số liệu

Phân tích, xử lý số liệu kết quả nghiên cứu bằng phần mềm SPSS 22.0 trong windows.

Phân tích so sánh sự khác nhau giữa các biến định lượng bằng test t với ngưỡng $p < 0,05$.

Trình bày kết quả nghiên cứu bằng phần mềm word, excel 2016 trong windows.

2.4 Sai số và biện pháp hạn chế sai số

Soạn kỹ bảng câu hỏi, văn phong đơn giản, dễ hiểu, phù hợp với đối tượng tham gia nghiên cứu. Thử nghiệm bảng câu hỏi trước khi đưa vào nghiên cứu.

Cỡ mẫu và cách chọn mẫu phải đúng theo công thức của phương pháp nghiên cứu.

Trước khi tiến hành nghiên cứu, tất cả thành viên tham gia được tập huấn theo các bước thực hiện trong đề cương.

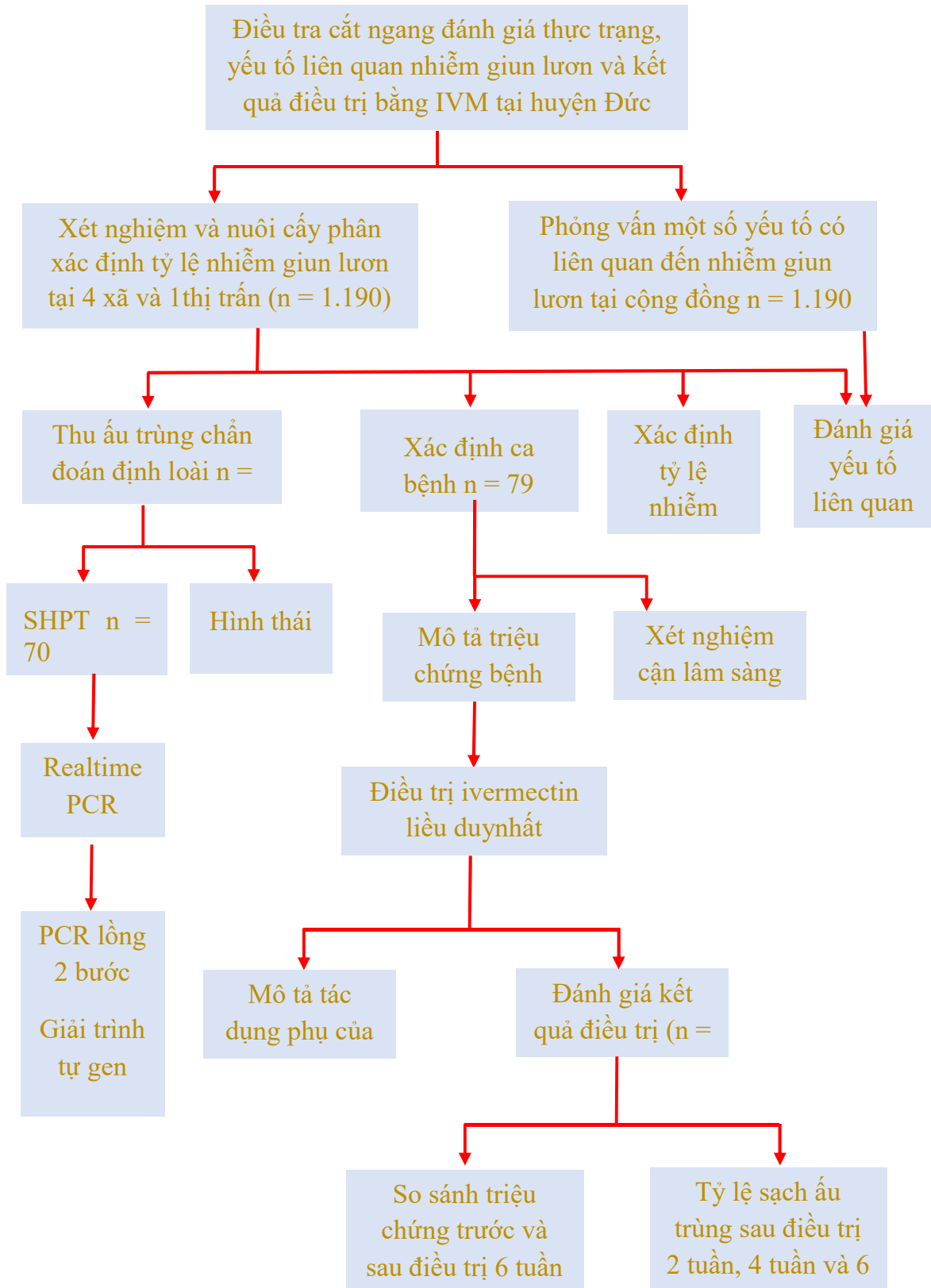
Số liệu, thông tin của bệnh nhân được lưu giữ vào dữ liệu nguồn để khi cần có thể kiểm soát, đối chiếu lại. Mẫu xét nghiệm của nghiên cứu được thực hiện đối chiếu kết quả, lưu mẫu cho công tác hậu kiểm.

2.5 Đạo đức trong nghiên cứu

- Đề cương luận án thông qua Hội đồng y đức và hội đồng khoa học của Viện Sốt rét – Ký sinh trùng – Côn trùng Trung ương trước khi tiến hành nghiên cứu

- Đề cương luận án trình bày và được duyệt thông qua, cho phép triển khai tại Trung tâm y tế huyện Đức Hoà, Long An.

- Tuân thủ nghiêm ngặt các qui định về đạo đức trong nghiên cứu y, sinh học như: Trước khi nghiên cứu đối tượng nghiên cứu phải được thông báo và nói rõ mục đích nghiên cứu. Chỉ nghiên cứu ở người tự nguyện.
- Người tham gia nghiên cứu có quyền từ chối tham gia bất cứ lúc nào mà không cần phải giải thích lý do.
- Giữ bí mật về tình trạng sức khỏe của người tham gia nghiên cứu. Tích cực giúp đỡ, tư vấn, điều trị bệnh cho người tham gia nghiên cứu.
- Tất cả đối tượng tham gia nghiên cứu khi xác định có bệnh đều được điều trị miễn phí.
- Những người có kết quả xét nghiệm dương tính với giun lươn nhưng không đồng ý tham gia tiếp, hoặc có nhiễm các loại giun hoặc sán dây khác sẽ được điều trị miễn phí theo phác đồ tẩy giun sán của Bộ y tế ban hành.



Hình 2.3 Sơ đồ nghiên cứu

Chương 3

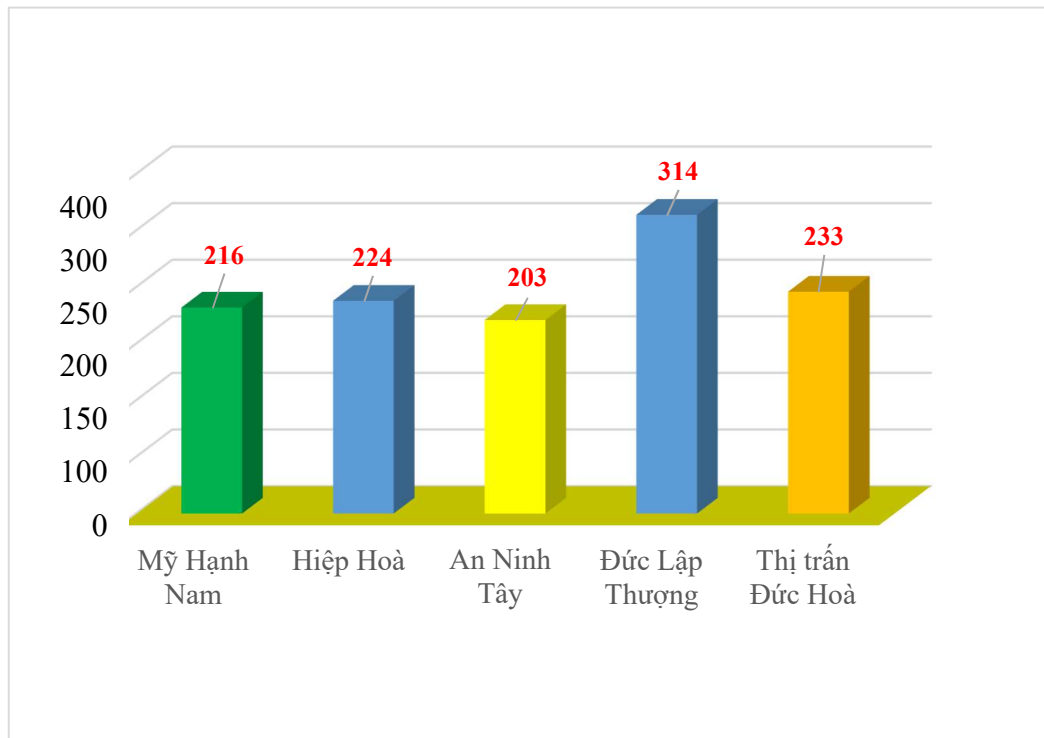
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Qua thời gian nghiên cứu từ tháng 3/2017 đến tháng 02/2019 tại cộng đồng và phòng thí nghiệm, kết quả nghiên cứu được trình bày theo các mục tiêu cụ thể như sau:

3.1 Xác định tình trạng và một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn *Strongyloides* spp ở người dân huyện Đức Hoà, tỉnh Long An, năm 2017 - 2018.

3.1.1 Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Tổng số mẫu thu được tại 4 xã và 1 thị trấn là 1.190 mẫu.



Hình 3.1 Phân bố mẫu tại các điểm nghiên cứu của huyện Đức Hoà

Nhận xét:

Mẫu được phân bố tại 5 điểm nghiên cứu gồm 4 xã và 1 thị trấn. Điểm nghiên cứu tại xã Đức Lập Thượng có số mẫu lớn nhất tương ứng với số dân đông nhất (314), kể đến là thị trấn Đức Hoà (233).

Điểm nghiên cứu có số mẫu thấp nhất là xã An Ninh Tây (203).

Bảng 3.1 Phân bố giới tính và nhóm tuổi tại điểm nghiên cứu (n = 1.190)

Xã/thị trấn	Số người	Giới tính		Nhóm tuổi		
		Nam (%)	Nữ (%)	<15 tuổi (%)	15 – 60 (%)	> 60 tuổi (%)
Xã Mỹ Hạnh Nam	216	108 (50)	108 (50)	51 (23,6)	129 (59,7)	36 (16,7)
Xã Hiệp Hòa	224	95 (42,4)	129 (57,6)	43 (19,2)	158 (70,5)	23 (10,3)
Xã An Ninh Tây	203	75 (36,9)	128 (63,1)	27 (13,3)	138 (68,0)	38 (18,7)
Xã Đức Lập Thượng	314	150 (47,8)	164 (52,2)	59 (18,8)	216 (68,8)	39 (12,4)
Thị trấn Đức Hòa	233	118 (50,6)	115 (49,4)	60 (25,8)	154 (66,1)	19 (8,2)
Tổng	1.190	546 (45,9)	644 (54,1)	240 (20,2)	795 (66,8)	155 (13,0)

Nhận xét:

Tỷ lệ nữ giới tham gia trong nghiên cứu là 54,1% nhiều hơn so với nam. Có sự chênh lệch về tỷ lệ nam và nữ giữa các xã và thị trấn nghiên cứu. Trong đó tại xã An Ninh Tây và Hiệp Hòa, tỷ lệ nam giới tham gia thấp (36,9% và 42,4%). Với các xã và thị trấn còn lại, sự chênh lệch giữa nam và nữ không đáng kể. Thị trấn Đức Hòa có số nam tham gia nhiều hơn nữ và không đáng kể.

Tại tất cả các điểm nghiên cứu, người trong độ tuổi từ 15 đến 60 tham gia chiếm đa số (66,8%). Tất cả các điểm nghiên cứu có điểm giống nhau về sự cấu trúc nhóm tuổi của đối tượng tham gia: nhóm trên 60 tuổi thấp nhất, kế đến là nhóm dưới 15 tuổi và cao nhất là nhóm từ 15 đến 60 tuổi.

Có sự chênh lệch về tỷ lệ của từng nhóm tuổi giữa các điểm nghiên cứu, thị trấn Đức Hòa và xã Mỹ Hạnh Nam có đối tượng < 15 tuổi tham gia là 25,8% và 23,6%, cao hơn các điểm còn lại.

Bảng 3.2 Phân bố trình độ học vấn và tình trạng kinh tế tại điểm nghiên cứu (n = 1.190)

Xã/thị trấn	Số người	Học vấn		Tình trạng kinh tế		
		Dưới THPT (%)	THPT trở lên (%)	Nghèo, cận nghèo	Trung bình	Từ khá giả trở lên
Xã Mỹ Hạnh Nam	216	146 (67,6)	70 (32,4)	25 (11,6)	105 (48,6)	86 (39,8)
Xã Hiệp Hòa	224	164 (73,2)	60 (26,8)	38 (17,0)	88 (39,3)	98 (43,8)
Xã An Ninh Tây	203	156 (76,8)	47 (23,2)	29 (14,3)	118 (58,1)	56 (27,6)
Xã Đức Lập Thượng	314	219 (69,7)	95 (30,3)	69 (22,0)	117 (37,3)	128 (40,7)
Thị trấn Đức Hòa	233	137 (58,8)	96 (41,2)	9 (3,9)	94 (40,3)	120 (55,8)
Tổng	1.190	822 (69,1)	368 (30,9)	170 (14,3)	522 (43,9)	498 (41,8)

Nhận xét:

Có sự chênh lệch về trình độ học vấn của đối tượng tham gia nghiên cứu giữa các xã và thị trấn nghiên cứu. Tại các xã An Ninh Tây, Hiệp Hòa và Đức Lập Thượng, số người có trình độ học vấn từ cấp 3 trở lên thấp. Tại thị trấn Đức Hòa, người tham gia nghiên cứu có trình độ học vấn THPT trở lên chiếm tỷ lệ cao nhất (41,2%).

Nhóm đối tượng tham gia có tình trạng kinh tế nghèo và cận nghèo chiếm tỷ lệ 14,3%. Tại xã Đức Lập Thượng, tỷ lệ người nghèo và cận nghèo tham gia chiếm tỷ lệ cao nhất (22%), khác biệt với thị trấn Đức Hòa có tỷ lệ người nghèo và cận nghèo tham gia thấp nhất (3,9%).

Bảng 3.3 Phân bố nghề nghiệp và tình trạng sử dụng hố xí tại từng điểm nghiên cứu (n = 1.190)

Xã/thị trấn	Số người	Nghề nghiệp		Tình trạng Hố xí	
		Nông nghiệp (%)	Khác (%)	Không HVS (%)	HVS (%)
Xã Mỹ Hạnh Nam	216	54 (25)	162 (75)	23 (10,6)	193 (89,4)
Xã Hiệp Hòa	224	59 (26,3)	165 (73,7)	26 (11,6)	198 (88,4)
Xã An Ninh Tây	203	53 (26,1)	150 (73,9)	17 (12,4)	186 (91,6)
Xã Đức Lập Thượng	314	102 (32,5)	212 (67,5)	61 (19,4)	253 (80,6)
Thị trấn Đức Hòa	233	26 (11,2)	207 (88,8)	10 (4,3)	223 (95,7)
Tổng	1.190	294 (24,7)	896 (75,3)	137 (11,5)	1.053 (88,5)

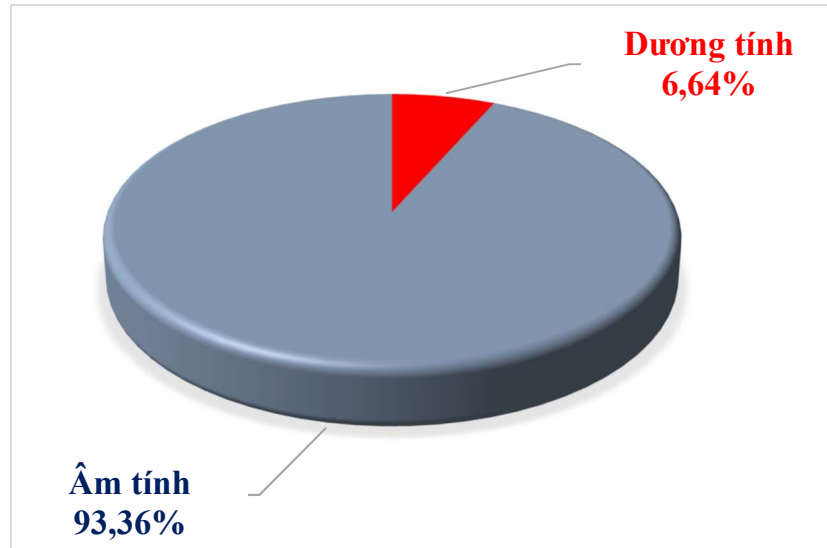
Nhận xét:

Số người tham gia nghiên cứu làm nghề nông nghiệp chiếm tỷ lệ 24,7%. Có sự chênh lệch về nghề nông nghiệp giữa các điểm nghiên cứu, trong đó xã Đức Lập Thượng có số người làm nông nghiệp tham gia nghiên cứu nhiều nhất (32,5%) và thấp nhất tại thị trấn Đức Hòa (11,2%).

Tình trạng sử dụng hố xí không hợp vệ sinh có tỷ lệ 11,5% và phân bố không đồng đều giữa các điểm nghiên cứu. Xã Đức Lập Thượng có số người tham gia nghiên cứu sử dụng hố xí không hợp vệ sinh nhiều nhất (19,4%) và thấp nhất tại thị trấn Đức Hòa (4,3%). Các xã còn lại có tỷ lệ người tham gia nghiên cứu sử dụng hố xí không hợp vệ sinh gần bằng nhau.

3.1.2 Thực trạng nhiễm giun lươn của huyện Đức Hòa

3.1.2.1 Tỷ lệ nhiễm giun lươn



Hình 3.2 Tỷ lệ nhiễm giun lươn (n = 1.190)

Nhận xét: Tỷ lệ nhiễm giun lươn chung của huyện Đức Hòa là 6,64%

Bảng 3.4 Tỷ lệ nhiễm giun lươn ở từng xã/thị trấn (n = 1.190)

STT	Xã/thị trấn	Số xét nghiệm	Số (+)	Tỷ lệ (%)
1	Xã Mỹ Hạnh Nam	216	16	7,4
2	Xã Hiệp Hòa	224	10	4,5
3	Xã An Ninh Tây	203	9	4,4
4	Xã Đức Lập Thượng	314	39	12,4
5	Thị trấn Đức Hòa	233	5	2,1
	Tổng	1.190	79	6,64

$$\chi^2 = 28,03; p < 0,01$$

Nhận xét:

Có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm giun lươn tại các xã và thị trấn nghiên cứu ($p < 0,01$). Trong đó, xã Đức Lập Thượng có tỷ lệ nhiễm giun lươn cao nhất là 12,4%, thấp nhất là tại thị trấn Đức Hòa 2,1%. Các xã An Ninh Tây và Hiệp Hòa có tỷ lệ nhiễm giun lươn gần bằng nhau là 4,4% và 4,5%.

3.1.2.2 Phân bố nhiễm giun lươn theo các yếu tố liên quan

Bảng 3.5 Phân bố giới tính ở bệnh nhân nhiễm giun lươn

Xã/thị trấn	Số người nhiễm	Giới tính		Giá trị p
		Nam (%)	Nữ (%)	
Xã Mỹ Hạnh Nam (n = 216)	16	13/108 (12,0)	3/108 (2,8)	< 0,01
Xã Hiệp Hòa (n = 224)	10	7/95 (7,4)	3/129 (2,3)	< 0,05
Xã An Ninh Tây (n = 203)	9	5/75 (6,7)	4/128 (3,1)	> 0,05
Xã Đức Lập Thượng (n = 314)	39	32/150 (21,3)	7/164 (4,3)	<0,001
Thị trấn Đức Hòa (n = 233)	5	3/118 (2,5)	2/115 (1,7)	> 0,05
Tổng	79	60/546 (11,0)	19/644 (3,0)	< 0,01

Nhận xét:

Nam giới nhiễm giun lươn chiếm tỷ lệ 11% cao hơn nhiều so với nữ 3%.
 Tại 3 xã Đức Lập Thượng, Mỹ Hạnh Nam và xã Hiệp Hòa, nam giới nhiễm giun lươn có tỷ lệ 21,3%, 12,0% và 7,4% nhiều khác biệt có ý nghĩa so với nữ là 4,3%, 2,8% và 2,3%. Sự khác biệt rõ nhất là tại xã Đức Lập Thượng ($p < 0,001$).

Tại thị trấn Đức Hòa và xã An Ninh Tây tỷ lệ nhiễm giun lươn ở nam cao hơn nữ là không có ý nghĩa ($p > 0,05$).

Bảng 3.6 Phân bố nhóm tuổi ở bệnh nhân nhiễm giun lợn

Xã/thị trấn	Số người nhiễm	Nhóm tuổi			Giá trị p
		5 - < 15 tuổi (%)	15 – 60 (%)	> 60 tuổi (%)	
Xã Mỹ Hạnh Nam (n = 216)	16	0/51 (0,0)	9/129 (7,0)	7/36 (19,4)	< 0,01
Xã Hiệp Hòa (n = 224)	10	0/43 (0,0)	9/158 (5,7)	1/23 (4,3)	> 0,05
Xã An Ninh Tây (n = 203)	9	0/27 (0,0)	6/138 (4,3)	3/38 (7,9)	> 0,05
Xã Đức Lập Thượng (n = 314)	39	0/59 (0,0)	28/216 (13,0)	11/39 (28,2)	< 0,01
Thị trấn Đức Hòa (n = 233)	5	0/60 (0,0)	3/154 (1,9)	2/19 (10,5)	< 0,05
Tổng	79	0/240 (0,0)	55/795 (6,9)	24/155 (15,5)	< 0,01

Nhận xét:

Trong số những người nhiễm giun lợn tại huyện Đức Hòa, không tìm thấy trường hợp nào dưới 15 tuổi, tỷ lệ nhiễm giun lợn tập trung cao nhất ở nhóm người trên 60 tuổi (15,5%).

Tỷ lệ người trên 60 tuổi nhiễm giun lợn cao tập trung tại xã Đức Lập Thượng (28,2%) và xã Mỹ Hạnh Nam (19,4%), cao khác biệt nhiều so với các nhóm tuổi khác ($p < 0,01$).

Ngược lại, tại xã Hiệp Hòa người nhiễm giun lợn trong nhóm tuổi 15 – 60 lại cao hơn so với người trên 60 tuổi, nhưng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.7 Phân bố trình độ học vấn ở bệnh nhân nhiễm giun lươn

Xã/thị trấn	Số người nhiễm	Học vấn		Giá trị p
		Dưới THPT (%)	Từ THPT trở lên (%)	
Xã Mỹ Hạnh Nam (n = 216)	16	15/146 (10,3)	1/70 (1,4)	< 0,05
Xã Hiệp Hòa (n = 224)	10	8/164 (4,9)	2/60 (3,3)	> 0,05
Xã An Ninh Tây (n = 203)	9	9/156 (5,8)	0/47 (0,0)	> 0,05
Xã Đức Lập Thượng (n = 314)	39	28/219 (12,8)	11/95 (11,6)	> 0,05
Thị trấn Đức Hòa (n = 233)	5	4/137 (2,9)	1/96 (1,0)	> 0,05
Tổng	79	64/822 (7,8)	15/368 (4,1)	< 0,05

Nhận xét:

Những người có trình độ học vấn dưới mức trung học phổ thông bị nhiễm giun lươn chiếm tỷ lệ 7,8 % cao hơn nhiều so những người có trình độ trên mức trung học phổ thông.

Tại xã Mỹ Hạnh Nam, những người nhiễm giun lươn tập trung ở đối tượng có trình độ học vấn dưới trung học phổ thông là 10,3%, cao hơn nhiều so với những người có trình độ từ trung học phổ thông trở lên.

Tại các xã và thị trấn còn lại, nhóm có trình độ dưới phổ thông trung học vẫn có tỷ lệ nhiễm giun lươn cao hơn nhóm còn lại, nhưng sự chênh lệch là không có ý nghĩa.

Bảng 3.8 Phân bố tình trạng kinh tế ở bệnh nhân nhiễm giun lươn

Xã/thị trấn	Số người nhiễm	Kinh tế			Giá trị P
		Nghèo, cận nghèo (%)	Trung bình (%)	Từ khá giả trở lên (%)	
Xã Mỹ Hạnh Nam (n = 216)	16	4/25 (16,0)	6/105 (5,7)	6/86 (7,0)	> 0,05
Xã Hiệp Hòa (n = 224)	10	8/38 (21,1)	1/88 (1,1)	1/98 (1,0)	< 0,01
Xã An Ninh Tây (n = 203)	9	7/29 (24,1)	1/118 (0,8)	1/56 (1,8)	< 0,01
Xã Đức Lập Thượng (n = 314)	39	23/69 (33,3)	9/117 (7,7)	7/128 (5,5)	< 0,01
Thị trấn Đức Hòa (n = 233)	5	3/9 (33,3)	1/94 (1,1)	1/130 (0,8)	< 0,01
Tổng	79	45/170 (26,5)	18/522 (3,4)	16/498 (3,2)	< 0,01

Nhận xét:

Tỷ lệ người nghèo và cận nghèo có tỷ nhiễm giun lươn cao nhất 26,5%, giảm dần sang, đối tượng có kinh tế trung bình (3,4%) và thấp nhất là đối tượng khá giả trở lên (3,2%).

Tại xã Mỹ Hạnh Nam, người nhiễm giun lươn có kinh tế nghèo và cận nghèo là 16% cao hơn các nhóm còn lại, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa.

Tại tất cả các điểm nghiên cứu còn lại, đối tượng nhiễm giun lươn có tình trạng kinh tế nghèo và cận nghèo đều cao hơn có ý nghĩa so với các nhóm còn lại ($p < 0,01$). Sự chênh lệch về tỷ lệ nhiễm giữa 2 nhóm có tình trạng kinh tế mức trung bình và từ khá trở lên là không nhiều.

Bảng 3.9 Phân bố nghề nghiệp ở bệnh nhân nhiễm giun lươn

Xã/thị trấn	Số người nhiễm	Nghề nghiệp		Giá trị P
		Nông nghiệp (%)	Khác (%)	
Xã Mỹ Hạnh Nam (n = 216)	16	10/54 (18,5)	6/162 (3,7)	< 0,01
Xã Hiệp Hòa (n = 224)	10	5/59 (8,5)	5/165 (3,0)	> 0,05
Xã An Ninh Tây (n = 203)	9	2/53 (3,8)	7/150 (4,7)	> 0,05
Xã Đức Lập Thượng (n = 314)	39	26/102 (25,5)	13/212 (6,1)	< 0,01
Thị trấn Đức Hòa (n = 233)	5	2/26 (7,7)	3/207 (1,4)	< 0,05
Tổng	79	45/294 (15,3)	34/896 (3,8)	< 0,01

Nhận xét:

Người làm nghề nông bị nhiễm giun lươn chiếm tỷ lệ 15,3% cao hơn nhiều so với người làm nghề khác.

Tại xã Đức Lập Thượng và xã Mỹ Hạnh Nam, tỷ lệ người làm nghề nông nhiễm giun lươn là 25,5% và 18,5%, cao hơn nhiều so với những người làm nghề khác 6,1% và 3,7%.

Ngược lại, tại xã An Ninh Tây, tỷ lệ nhiễm giun lươn trong nhóm làm nghề nông lại thấp hơn so với nhóm làm nghề khác nhưng sự khác biệt không nhiều có ý nghĩa.

Bảng 3.10 Phân bố tình trạng sử dụng hồ xí ở bệnh nhân nhiễm giun lươn

Xã/thị trấn	Số người nhiễm	Tình trạng hồ xí		Giá trị P
		Không HVS (%)	HVS (%)	
Xã Mỹ Hạnh Nam (n = 216)	16	4/23 (17,4)	12/193 (6,2)	> 0,05
Xã Hiệp Hòa (n = 224)	10	4/26 (15,4)	6/198 (3,0)	< 0,01
Xã An Ninh Tây (n = 203)	9	5/17 (29,4)	4/186 (2,2)	< 0,01
Xã Đức Lập Thượng (n = 314)	39	25/61 (41,0)	14/253 (5,5)	< 0,01
Thị trấn Đức Hòa (n = 233)	5	3/10 (30,0)	2/223 (0,9)	< 0,01
Tổng	79	41/137 (29,9)	38/1.053 (3,6)	< 0,01

Nhận xét:

Tỷ lệ người sử dụng hồ xí không HVS có nhiễm giun lươn là 29,9%, khác biệt nhiều so với những người sử dụng hồ xí HVS là 3,6% ($p < 0,01$).

Tại xã Đức Lập Thượng, thị trấn Đức Hòa và xã An Ninh Tây, những người sử dụng hồ xí không HVS có tỷ lệ nhiễm giun lươn là 41%, 30% và 29%. chênh lệch rất nhiều so với nhóm sử dụng hồ xí HVS. Trong khi tại xã Mỹ Hạnh Nam, sự chênh lệch về tỷ lệ nhiễm giun lươn giữa 2 nhóm là thấp hơn và khác biệt không có ý nghĩa.

3.1.3 Một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn

3.1.3.1 Giới tính

Bảng 3.11 Liên quan giữa nhiễm giun lươn với giới tính

Nhiễm GL	Có nhiễm	Không nhiễm	Tổng
Giới tính			
Nam	60	486	546
Nữ	19	625	644
Tổng	79	1.111	1.190

$p < 0,001$; OR = 4,06; KTC 95%: 2,39 - 6,89

Nhận xét:

Có mối liên quan giữa nhiễm giun lươn và giới tính ($p < 0,001$). Nam giới có nguy cơ nhiễm giun lươn cao hơn 4,06 lần so với nữ.

3.1.3.2 Nhóm tuổi

Bảng 3.12 liên quan giữa nhiễm giun lươn với nhóm tuổi

Nhiễm GL	Có nhiễm	Không nhiễm	Tổng
Nhóm tuổi			
Dưới 15 tuổi	0	240	240
Từ 15 – 60	55	740	795
Trên 60	24	131	155
Tổng	79	1.111	1.190

$p < 0,01$ (hiệu chỉnh Fisher test)

OR = 2,46; KTC 95%: 1,47 – 4,12

Nhận xét:

Có mối liên quan giữa nhiễm giun lươn và nhóm tuổi. Những người trên 60 tuổi có nguy cơ nhiễm giun lươn gấp 2,46 so với các nhóm còn lại.

3.1.3.3 Trình độ học vấn

Bảng 3.13 Liên quan giữa nhiễm giun lươn với trình độ học vấn

Nhiễm GL	Có nhiễm	Không nhiễm	Tổng
Trình độ học vấn			
Dưới THPT	64	758	822
Từ THPT trở lên	15	353	368
Tổng	79	1.111	1.190

$$p < 0,05; OR = 1,98 ; KTC 95\%: 1,12 - 3,54$$

Nhận xét:

Có mối liên quan giữa nhiễm giun lươn và trình độ học vấn ($p < 0,05$). Người có trình độ học vấn dưới mức trung học phổ thông có nguy cơ nhiễm giun lươn cao hơn 1,98 lần.

3.1.3.4 Tình trạng kinh tế

Bảng 3.14 Liên quan giữa nhiễm giun lươn với tình trạng kinh tế

Nhiễm GL	Có nhiễm	Không nhiễm	Tổng
Tình trạng kinh tế			
Nghèo và cận nghèo	45	125	170
Trung bình	18	504	522
Khá giả trở lên	16	482	498
Tổng	79	1.111	1.190

$$p < 0,001; OR = 10,84; KTC 95\%: 5,93 - 19,83$$

Nhận xét:

Có mối liên quan giữa nhiễm giun lươn và tình trạng kinh tế ($p < 0,001$). Người nghèo và cận nghèo có nguy cơ nhiễm gấp 10,84 lần so với 2 nhóm còn lại.

3.1.3.5 Nghề nghiệp

Bảng 3.15 Liên quan giữa nhiễm giun lươn với nghề nông

Nhiễm GL	Có nhiễm	Không nhiễm	Tổng
Nghề nghiệp			
Nông nghiệp	45	249	294
Khác	34	862	896
Tổng	79	1.111	1.190

$p < 0,001$; OR = 4,58; KTC 95%: 2,87 - 7,31

Nhận xét:

Có mối liên quan giữa nhiễm giun lươn và nghề nông ($p < 0,001$). Người làm nông nghiệp có nguy cơ nhiễm giun lươn gấp 4,58 lần người làm nghề khác.

3.1.3.6 Tình trạng sử dụng hố xí

Bảng 3.16 Liên quan giữa nhiễm giun lươn với tình trạng sử dụng hố xí

Nhiễm GL	Có nhiễm	Không nhiễm	Tổng
Hố xí			
Không HVS	41	96	137
HVS	38	1.015	1.053
Tổng	79	1.111	1.190

$p < 0,001$; OR = 11,40; KTC 95%: 6,99 – 18,59

Nhận xét:

Có mối liên quan giữa nhiễm giun lươn và tình trạng sử dụng hố xí không hợp vệ sinh ($p < 0,001$). Những người sử dụng hố xí không HVS có nguy cơ nhiễm giun lươn hơn những người sử dụng hố xí HVS 11,4 lần.

3.1.3.7 Hành vi tiếp xúc trực tiếp với đất

Bảng 3.17 Liên quan giữa nhiễm giun lươn với thói quen tiếp xúc đất trực tiếp trong sinh hoạt

Hành vi \ Nhiễm GL	Có nhiễm	Không nhiễm	Tổng
Có TXĐ	70	513	583
Không TXĐ	9	598	607
Tổng	79	1.111	1.190

$p < 0,001$; OR = 9,07; KTC 95%: 4,48 - 18,33

Nhận xét:

Có mối liên quan giữa hành vi tiếp xúc đất trực tiếp ($p < 0,001$). Những người tiếp xúc đất thường xuyên trong sinh hoạt hàng ngày sẽ có nguy cơ nhiễm giun lươn gấp 9,07 lần.

3.1.3.8 Phân tích đa biến xác định yếu tố liên quan

Khi phân tích các biến số độc lập có liên quan đến tình trạng nhiễm giun lươn tại huyện Đức Hòa, các biến số được tìm thấy có sự liên quan bao gồm:

- Các biến số về dân số học: giới tính nam, nhóm tuổi trên 60, trình độ học vấn dưới mức trung học phổ thông, tình trạng kinh tế nghèo - cận nghèo
- Các biến số về hành vi nguy cơ: làm nghề nông nghiệp, tình trạng sử dụng hố xí không hợp vệ sinh và thói quen tiếp xúc đất trong sinh hoạt hàng ngày.

Các biến số có sự liên quan được đưa vào mô hình phân tích đa biến tại bảng 3.18

Bảng 3.18 Phân tích đa biến các yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn

Biến số	Mối liên quan	Giá trị p	OR hiệu chỉnh
Giới tính (nam)	Có	< 0,01	3,26
Độ tuổi (> 60)	Có	< 0,01	2,89
Trình độ học vấn (dưới THPT)	Không	> 0,05	1,03
Tình trạng kinh tế (nghèo và cận nghèo)	Có	< 0,01	2,08
Nghề nghiệp (nghề nông nghiệp)	Có	< 0,05	2,07
Sử dụng hố xí (không HVS)	Có	< 0,01	3,30
Thói quen sinh hoạt (có TXĐ)	Có	< 0,05	2,69

Nhận xét:

Nhiễm giun lươn tại huyện Đức Hòa có liên quan đến: giới tính nam, nhóm tuổi trên 60, tình trạng kinh tế nghèo và cận nghèo, người làm nghề nông nghiệp, tình trạng sử dụng hố xí không hợp vệ sinh và thói quen tiếp xúc đất trong sinh hoạt.

Không có sự khác biệt về tình trạng nhiễm giun lươn ở nhóm có trình độ học vấn trên và dưới phổ thông trung học.

3.2 Xác định loài giun lươn *Strongyloides* gây bệnh**3.2.1 Khảo sát giun lươn *Strongyloides* gây bệnh bằng hình thái học****Bảng 3.19 Kết quả xét nghiệm phân lần 1 chẩn đoán giun lươn (n = 79)**

Loại xét nghiệm phân	Số trường hợp	Tỷ lệ %
Trực tiếp đơn thuần	46	58,2
Nuôi cấy Harada mori cải tiến	74	93,7
Phối hợp cả 2 kỹ thuật	79	100

Nhận xét:

Phối hợp cả 2 kỹ thuật trong lần xét nghiệm đầu tiên tìm thấy 79 trường hợp nhiễm giun lươn nhưng xét nghiệm trực tiếp đơn thuần chỉ phát hiện được 58,2% số trường hợp, thấp hơn nhiều so với kỹ thuật nuôi cấy (93,7%).



A: (1) Kích thước ngang, (2) Thực quản



B: Chiều dài thân



C: Chiều dài xoang miệng



D: Chiều ngang chóp đuôi

Hình 3.3 Giới thiệu các cấu trúc cơ bản khảo sát trong nghiên cứu.

3.2.1.1 Ấu trùng giun lươn *Strongyloides* giai đoạn 1



A

B

Hình 3.4 Hình ảnh ấu trùng giun lươn giai đoạn 1 (từ nghiên cứu).

Các vị trí đo kích thước hình thể:

Hình A: (1) xoang miệng, (2) thực quản, (3) chiều ngang

Hình B: (4) chiều dài của ấu trùng, (5) chóp đuôi

Bảng 3.20 Chỉ số hình thể ấu trùng giun lươn giai đoạn 1 (n = 79)

Cấu trúc	Trung bình \pm Độ lệch chuẩn	Min – max
Chiều dài thân (μm)	279,9 \pm 17,5	240,6 – 320,3
Ngang (μm)	18,47 \pm 0,61	16,5 – 20,0
Chiều dài thực quản (μm)	75,7 \pm 5,1	64 – 90,1
Chiều dài xoang miệng (μm)	4,4 \pm 0,3	3,9 – 5,3
Tỷ lệ thực quản/chiều dài thân (%)	27,1 \pm 2,1	21,0 – 34,0
Hình dạng chóp đuôi nhọn	79/79 (100%)	

Nhận xét:

Ấu trùng giai đoạn 1 tìm thấy khi xét nghiệm phân trực tiếp 100% có đuôi nhọn, chiều dài trung bình 279,9 μm , chiều dài thực quản chiếm tỷ lệ trung bình 27,1% so với chiều dài của thân.

3.2.1.2 Ấu trùng giun lươn *Strongyloides* giai đoạn 2**A:** Chiều dài toàn thân AT**B:** Chiều dài thực quản**C:** Chiều dài xoang miệng**D:** Hình dạng, chiều ngang chóp đuôi**Hình 3.5** Hình ảnh ấu trùng giun lươn giai đoạn 2 (từ nghiên cứu).

Bảng 3.21 Chỉ số hình thể ấu trùng giun lươn giai đoạn 2 (n = 79)

Cấu trúc	Trung bình \pm Độ lệch chuẩn	Min – max
Chiều dài thân (μm)	576,4 \pm 24,9	510,0 – 632,0
Ngang (μm)	16,9 \pm 1,1	15,3 – 19,6
Chiều dài thực quản (μm)	244,7 \pm 17,9	210,3 – 132,0
Chiều dài xoang miệng (μm)	4,5 \pm 0,5	4,0 – 6,0
Tỷ lệ thực quản/chiều dài thân (%)	42,5 \pm 3,8	36,0 – 53,0
Chiều ngang chóp đuôi (μm)	2,6 \pm 0,2	2,2 – 3,4
Hình dạng chóp đuôi (tù/chẻ 2)	11/68 (13,9 %/ 86,1 %)	

Nhận xét: Ấu trùng giai đoạn 2 của giun lươn khi nuôi cấy tại ngày thứ 3 có hình dạng thanh mảnh, đuôi tù hoặc chẻ 2.

3.2.1.3 Giun đực sống tự do



A: Chiều dài và ngang thân

B: Chiều dài thực quản

C: Chiều dài gai sinh dục

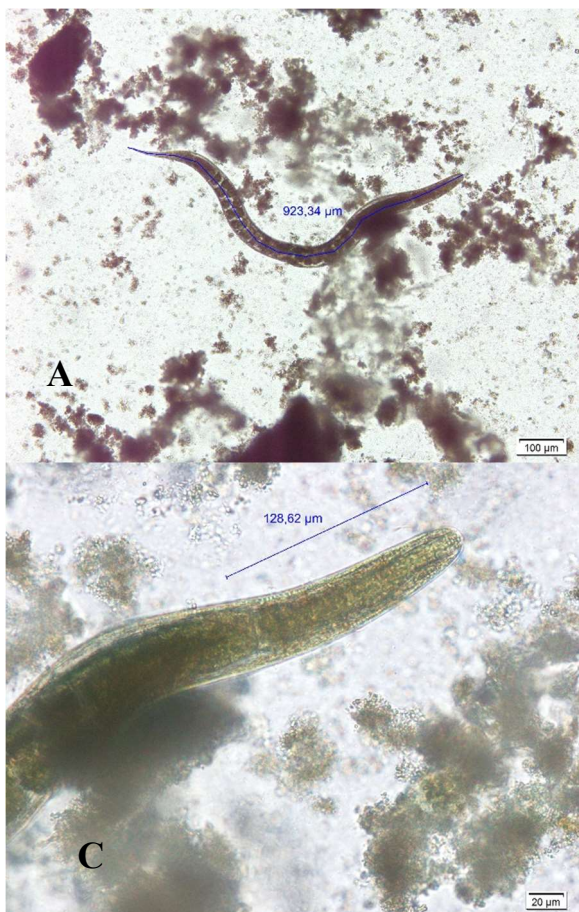
Hình 3.6 Hình ảnh giun lươn đực sống tự do (từ nghiên cứu).

Bảng 3.22 Chỉ số hình thể giun lươn đực sống tự do (n = 5)

Cấu trúc	Trung bình \pm Độ lệch chuẩn	Min – max
Chiều dài thân (μm)	778,8 \pm 27,7	740,8 – 812,6
Ngang (μm)	45,1 \pm 1,7	43,4 – 47,6
Chiều dài thực quản (μm)	131,3 \pm 6,9	120,0 – 136,2
Chiều dài xoang miệng (μm)	7,1 \pm 0,6	6,6 – 8,1
Tỷ lệ thực quản/chiều dài thân (%)	17,0 \pm 1,0	16,0 – 18,0
Chiều dài gai sinh dục (μm)	33,4 \pm 0,9	32,1 – 34,4
Hình dạng chóp đuôi nhọn	(100%)	

Nhận xét: giun lươn đực số sống tự do có hình dạng chữ J, dài trung bình 778,8 μm , đuôi nhọn.

3.2.1.4 Giun cái sống tự do



A: Chiều dài và ngang thân

B: Chiều dài từ lỗ sinh dục về sau

C: Chiều dài thực quản

Hình 3.7 Hình ảnh giun lươn cái sống tự do (từ nghiên cứu).

Bảng 3.23 Chỉ số hình thể giun lươn cái sống tự do (n = 3)

Cấu trúc	Trung bình ± Độ lệch chuẩn	Min – max
Chiều dài thân (µm)	916,7 ± 21,6	892,6 – 934,2
Ngang (µm)	46,2 ± 1,7	44,2 – 47,5
Chiều dài thực quản (µm)	130,6 ± 4,6	127,4 – 135,9
Chiều dài xoang miệng (µm)	6,8 ± 0,4	6,5 – 7,2
Tỷ lệ thực quản/chiều dài thân (%)	14,3 ± 1,2	14,0 – 15,0
Vị trí lỗ sinh dục cách đầu giun (% chiều dài của thân)	49 ± 1,0	48,0 – 50,0

Nhận xét: giun lươn cái sống tự do có chiều dài trung bình 916,7 µm, lỗ sinh dục nằm gần giữa thân hơi lệch nhẹ về phía trước từ 0 đến 1% chiều dài của thân.

3.2.2 Kết quả realtime PCR định loài *Strongyloides* spp

3.2.2.1 Kết quả thực nghiệm

Trong 79 mẫu ấu trùng giai đoạn 2 thu thập được từ 79 bệnh nhân nhiễm giun lươn của huyện Đức Hòa. Tiến hành tách chiết DNA theo quy trình của nhà sản xuất, tuy nhiên chỉ có 70/79 mẫu đạt yêu cầu (88,6%).

Thực hiện realtime PCR DNA *Strongyloides* spp trên mẫu bệnh nhân để định loài *Strongyloides* spp trên trình tự gen 28S rRNA vị trí U3949, định danh *S. stercoralis* trên trình tự gen Stro 18S vị trí AF279916 và định danh *S. ratti* trên trình tự gen Srat 28S vị trí DQ14570.

Do thiết kế phản ứng realtime PCR đa môi mới thực hiện lần đầu tiên, các thông số tối ưu hóa về kỹ thuật được thực nghiệm và kết quả được ghi nhận trong phụ lục 2.

Sau khi phản ứng realtime PCR kết thúc, ta sẽ có được bảng số liệu về Ct trung bình và định loài của từng mẫu .

Tổng cộng 70 mẫu được đưa vào thử nghiệm realtime PCR với trung bình mỗi mẫu có tối thiểu DNA của 10 ấu trùng giai đoạn 2 cho kết quả:

Bảng 3.24 Thành phần loài giun lươn được xác định bằng realtime PCR (n = 70)

Kết quả loài	Số trường hợp	Tỷ lệ %
<i>S. stercoralis</i>	66	94,2
<i>S. ratti</i>	2	2,9
Đồng nhiễm <i>S. stercoralis</i> và <i>S. ratti</i>	2	2,9
Tổng	70	100

Nhận xét:

Loài *S. stercoralis* hiện diện gây bệnh chiếm tỷ lệ ưu thế (68/70) là 97,1%, trong đó có 2,9% đồng nhiễm với *S. ratti*.

Bảng 3.25 Chu kỳ ngưỡng khi xác định bằng realtime PCR

Loài	Chu kỳ ngưỡng trung bình	Độ lệch chuẩn
<i>S. stercoralis</i> (n = 68)	24,75	3,85
<i>S. ratti</i> (n = 4)	24,99	5,2

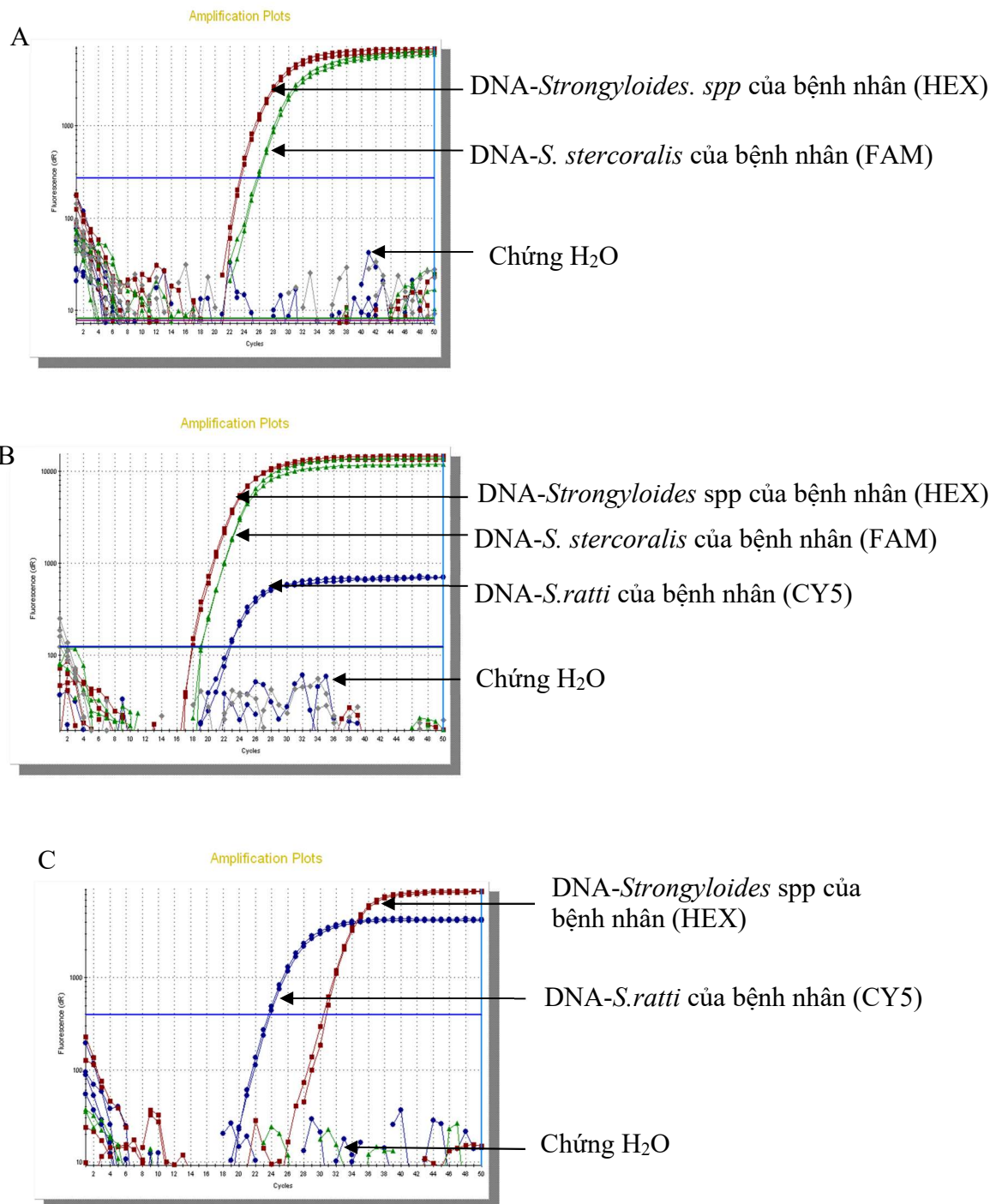
Nhận xét:

Chu kỳ ngưỡng trung bình cho cả 2 loài giun lươn trong phản ứng là 24 – 25 chu kỳ.

3.2.2.2 Kết quả đối chiếu

Kết quả đối chiếu với kỹ thuật realtime PCR chẩn đoán đơn loài *S. stercoralis* với Viện SR KST CT Trung ương (phụ lục 1) cho kết quả 68/68 trường hợp là *S. stercoralis*. Kết quả tương đồng là 100% trong đó bao gồm cả 2 trường hợp đồng nhiễm.

2 mẫu nhiễm *S. ratti* (mẫu 54 và 66) cho kết quả âm tính.



Hình 3.8 Kết quả *real-time PCR* định loài *Strongyloides spp*
 (A): Mẫu số 1 loài *S. stercoralis*; (B): Mẫu số 25 đồng nhiễm loài *S. stercoralis* và *S. ratti*; (C): Mẫu số 54 loài *S. ratti*

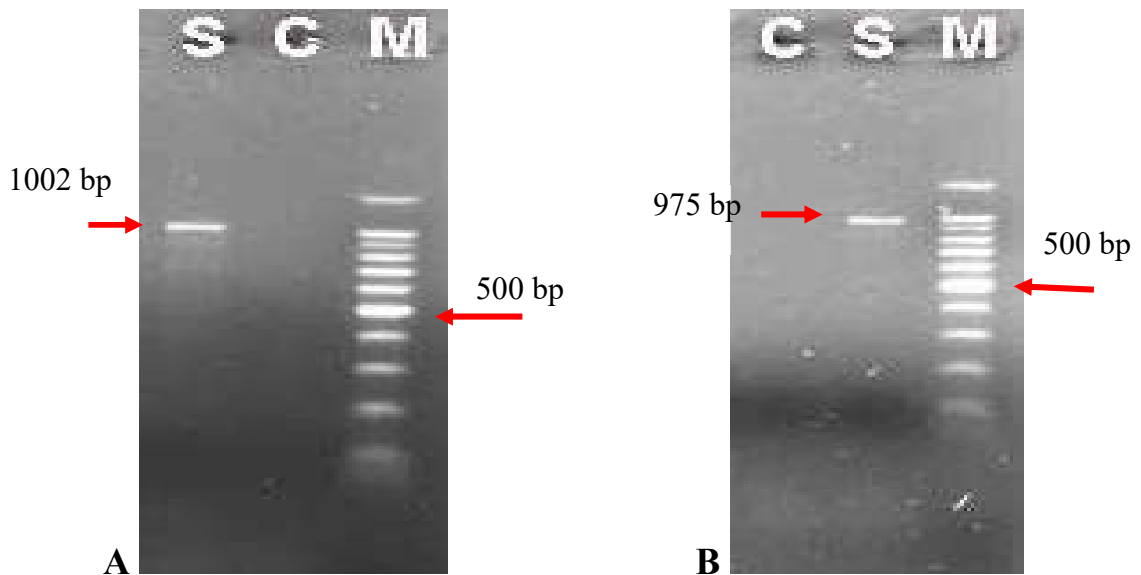
Nhận xét: Hình ảnh kết quả RT - PCR rõ ràng và phân biệt được giữa nhiễm *S. stercoralis* và *S. ratti*.

3.2.3 Kết quả PCR lồng và giải trình tự gen

3.2.3.1 Kết quả PCR lồng đoạn gen đặc hiệu *Strongyloides* spp vị trí GenBank AJ417023

Mẫu ấu trùng được xác định dương tính định loài bằng realtime PCR, tiếp tục thực hiện thí nghiệm PCR lồng bằng đoạn gen đặc hiệu *Strongyloides* spp vị trí GenBank AJ417023.

Chúng tôi chọn tất cả 4 mẫu có sự hiện diện *S. ratti*, chọn tiếp ngẫu nhiên 10 mẫu *S. stercoralis*, đạt được tổng cộng 14 mẫu cho thí nghiệm PCR lồng 2 bước, nhằm tạo sản phẩm chuẩn bị giải trình tự gen.



Hình 3.9 Kết quả điện di sản phẩm PCR lồng I (A) và PCR lồng II trên gel agarose 1,5%

M: thang đo DNA 100 bp; C: Mẫu chứng âm (H₂O)

S: Mẫu DNA của *Strongyloides* spp

Nhận xét:

Hình ảnh vạch kết quả DNA của giun lươn *Strongyloides* spp theo thiết kế được khuếch đại qua phản ứng PCR lồng xuất hiện rõ, xác định được việc nhân lượng đoạn gen đích đã thành công, đảm bảo chắc chắn có sản phẩm DNA cho bước giải trình tự gen kế tiếp.

3.2.3.2 Kết quả giải trình tự đoạn gen đặc hiệu *Strongyloides* spp vị trí GenBank AJ47023

Tiến hành chọn 10 mẫu ấu trùng nhiễm *S. stercoralis* trong nhóm 66 mẫu nhiễm đơn và 4 mẫu nhiễm *S. ratti* (có 2 trường hợp đồng nhiễm) đã xác định thông qua realtime PCR. Thực hiện tổng hợp nhân lượng PCR lồng II 975 bp của 14 mẫu ấu trùng này, đưa vào giải trình tự gen để xác định thành phần loài.

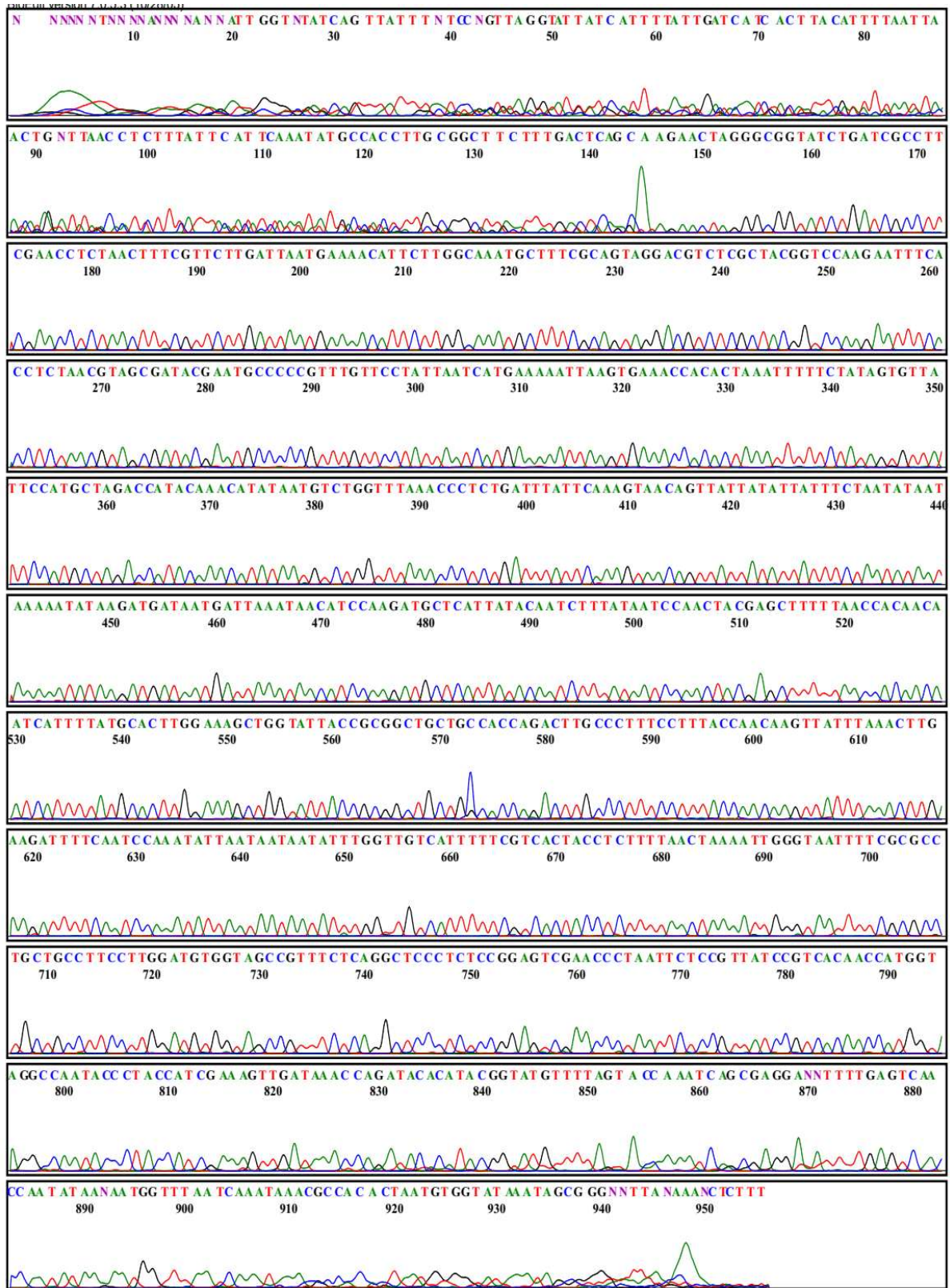
Kết quả giải trình tự so sánh bằng phần mềm Bio-edit v.7.2.6 và MEGA6 cho thấy đoạn gen vị trí AJ47023 của 14 mẫu ấu trùng hoàn toàn tương đồng với đoạn gen của giống *Strongyloides* spp đã được công bố trên thế giới.

Phân tích bằng chương trình BLAST truy cập ngân hàng gen tìm kiếm những chuỗi tương đồng đã được đăng ký. Kết quả thu được ở bảng 3.26.

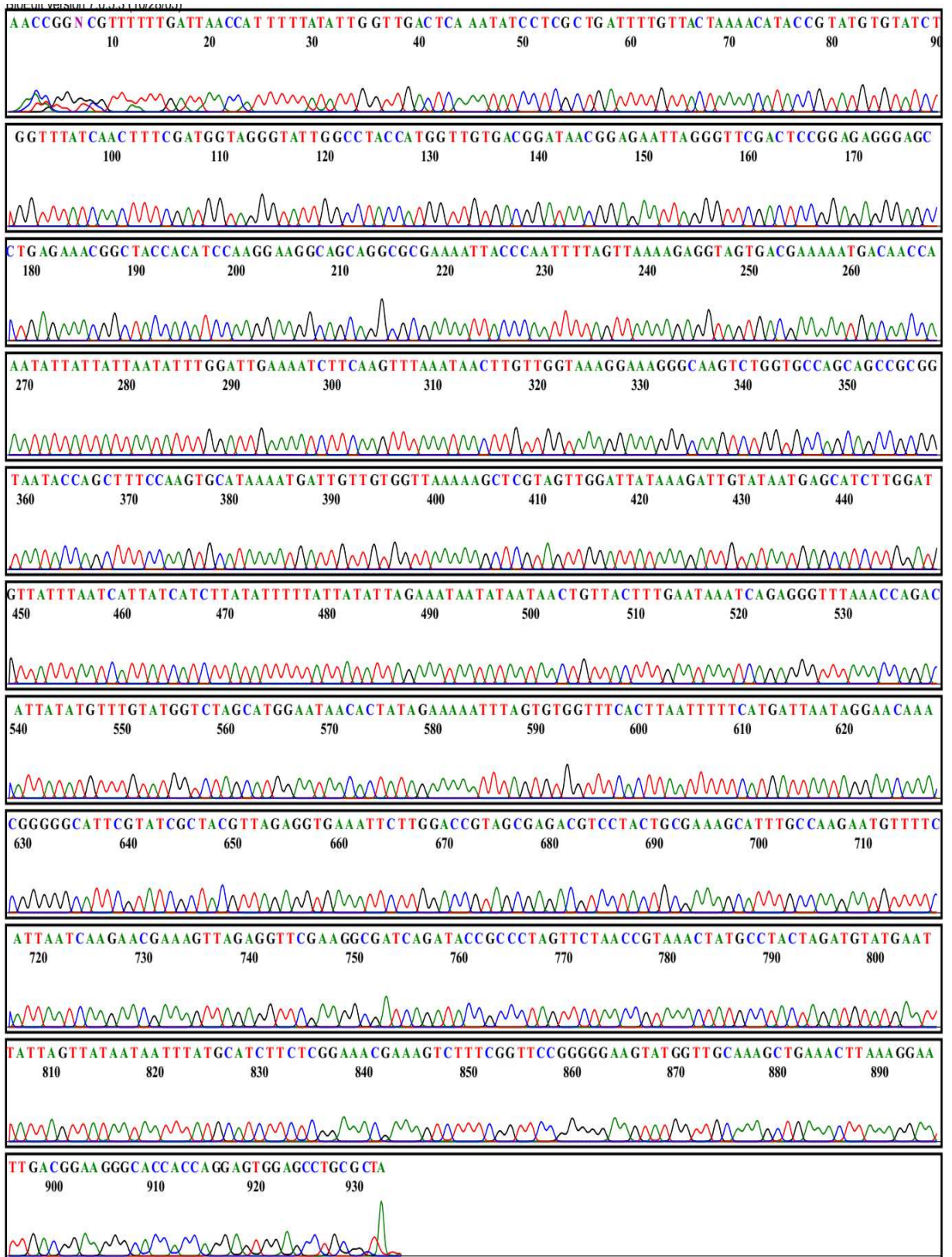
Bảng 3.26 Kết quả so sánh trình tự của 14 mẫu nghiên cứu với NCBI

STT	Mã số	Tương đồng cao nhất (%)	Mã code gen	Loài
1	1	99,5	AB923888.1	<i>S. stercoralis</i>
2	7	98,6	AB923888.1	<i>S. stercoralis</i>
3	11	99,4	AB923888.1	<i>S. stercoralis</i>
4	15	99,7	AB923888.1	<i>S. stercoralis</i>
5	20	95,6	MK369923.1	<i>S. stercoralis</i>
6	25	98,5/98	AB923888.1/ AB453329.1	<i>S. stercoralis</i> / <i>S. ratti</i>
7	26	91,3	LL999104.1	<i>S. stercoralis</i>
8	35	100,0	LL999088.1	<i>S. stercoralis</i>
9	42	100,0	LL999110.1	<i>S. stercoralis</i>
10	47	99,2	AB923888.1	<i>S. stercoralis</i>
11	50	100,0	MK369923.1	<i>S. stercoralis</i>
12	54	98,0	AB923889.1	<i>S. ratti</i>
13	65	99,3/98,0	AB923888.1/ AB453329.1	<i>S. stercoralis</i> / <i>S. ratti</i>
14	66	98,0	LN609412.1	<i>S. ratti</i>

Nhận xét: Thành phần loài có tính tương đồng cao với các phân lập công bố trên ngân hàng gen.



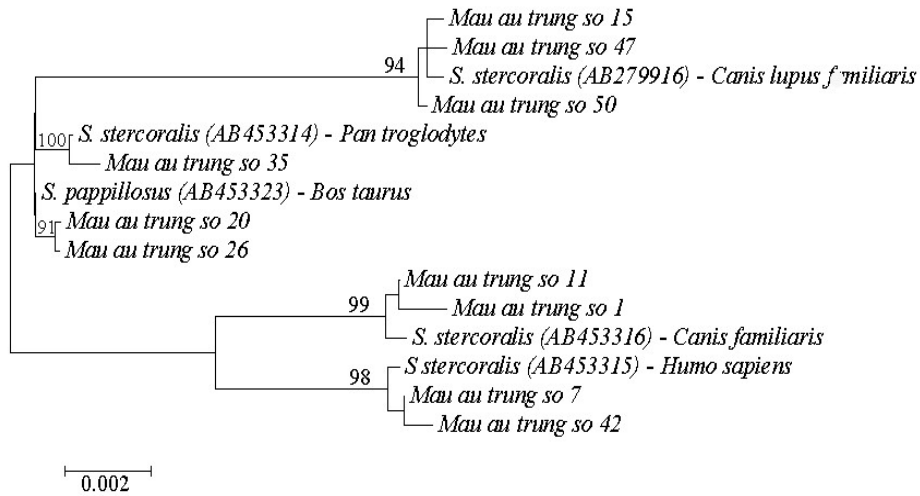
Hình 3.10 Đoạn gen của *S. stercoralis* kích thước 956bp (mẫu số 7)



Hình 3.11 Đoạn gen của *S. ratti* kích thước 933bp (mẫu 54)

3.2.4 Cây phân hệ các loài giun lươn được xác định trong nghiên cứu

3.2.4.1 Cụm ấu trùng *S. stercoralis*



Hình 3.12 Cây phát sinh loài xây dựng trên nhóm 10 AT. *S. stercoralis*

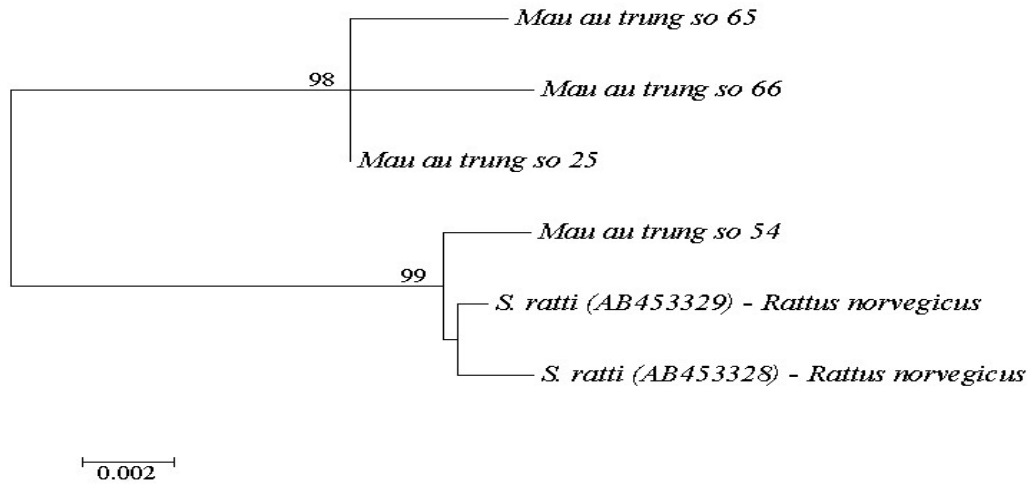
Nhận xét: các mẫu ấu trùng thuộc loài *S. stercoralis* có mức tương đồng cao, nguồn gốc vật chủ từ người và loài kè cận người.

Bảng 3.27. Hệ số tương đồng về trình tự gen của 10 mẫu AT *S. stercoralis*

Hệ số tương đồng (%)												
Hệ số sai khác (%)	Mẫu AT	1	7	11	15	20	26	35	42	47	50	Mã số gen của Genbank
	1	100	99,4	99,7	99,5	98,5	98,2	99,6	98,9	99,2	99,5	AB923888.1 <i>S. stercoralis</i>
	7	0,6	100	98,4	98,5	99,0	98,1	98,9	99,5	99,2	99,0	AB923888.1 <i>S. stercoralis</i>
	11	0,3	1,6	100	98,9	99,8	98,3	98,8	99,3	99,5	98,9	AB923888.1 <i>S. stercoralis</i>
	15	0,5	1,5	1,1	100	98,3	99,7	99,8	98,9	99,5	99,8	AB923888.1 <i>S. stercoralis</i>
	20	1,5	1,0	0,2	1,7	100	99,5	99,8	99,7	99,1	98,7	MK369923.1 <i>S. stercoralis</i>
	26	1,8	1,9	1,7	0,3	0,5	100	99,6	99,8	98,5	99,2	LL999104.1 <i>S. stercoralis</i>
	35	0,4	1,1	1,2	0,2	0,2	0,4	100	99,6	99,2	99,6	LL999088.1 <i>S. stercoralis</i>
	42	1,1	0,5	1,1	1,1	0,3	0,2	0,4	100	98,9	99,4	LL999110.1 <i>S. stercoralis</i>
	47	0,8	0,8	0,5	0,5	0,9	1,5	0,8	1,1	100	99,6	AB923888.1 <i>S. stercoralis</i>
	50	0,5	1,0	1,1	0,2	1,3	0,8	0,4	0,6	0,4	100	MK369923.1 <i>S. stercoralis</i>
	Mẫu AT	1	7	11	15	20	26	35	42	47	50	

Nhận xét: sự tương đồng về loài *S. stercoralis* giữa 10 mẫu là 100% với các phân lập công bố trên Genbanks (> 98%).

3.2.4.2 Cụm ấu trùng *S. ratti*



Hình 3.13 Cây phát sinh loài xây dựng trên nhóm 4 AT. *S. ratti*

Nhận xét: các mẫu ấu trùng thuộc loài *S. ratti* có nguồn gốc vật chủ từ loài gặm nhấm *Rattus norvegicus*.

Bảng 3.28 Hệ số tương đồng về trình tự gen của 4 mẫu AT *S. ratti*

Hệ số tương đồng (%)						
Hệ số sai khác (%)	Mẫu ấu trùng	25	54	65	66	Mã số gen của Ngân hàng gen thế giới
	25	100	99,5	99,5	99,7	AB453329.1 <i>S. ratti</i>
	54	0,5	100	100	99,2	AB923889.1 <i>S. ratti</i>
	65	0,5	0	100	99,1	AB923889.1 <i>S. ratti</i>
	66	0,3	0,2	0,9	100	LN609412.1 <i>S. ratti</i>
	Mẫu ấu trùng	25	54	65	66	

Nhận xét:

Sự tương đồng về loài *S. ratti* giữa 4 mẫu rất cao (> 98%), trong đó mẫu 54 và 65 tương đồng với nhau cao và với 1 mã số gen AB923889. 1.

3.3 Mô tả các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng và đánh giá kết quả điều trị ca bệnh do *Strongyloides* spp với Ivermectin liều duy nhất.

Tổng số bệnh nhân được xét nghiệm dương tính giun lươn *Strongyloides* spp là 79 trường hợp.

Tuổi trung bình: $52,97 \pm 27,64$, Trung vị = 54 (min – max = 22 – 84)

3.3.1 Các triệu chứng lâm sàng

Bảng 3.29 Triệu chứng lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm giun lươn (n = 79)

Chi tiết		Số trường hợp	Tỷ lệ %
Có triệu chứng	Có đủ tam chứng nhiễm giun lươn (đau bụng, tiêu chảy và nổi mào đay)	20	25,3
	Không đủ tam chứng nhiễm giun lươn	51	64,6
Không có triệu chứng		8	10,1
Tổng		79	100

Nhận xét:

Số bệnh nhân nhiễm giun lươn đường tiêu hoá hoàn toàn không có triệu chứng lâm sàng là 10,1%. 89,9 % bệnh nhân nhiễm giun lươn đường tiêu hóa có ít nhất 1 triệu chứng lâm sàng.

Có 25,3% số bệnh nhân có đủ tam chứng nhiễm giun lươn bao gồm: đau bụng, tiêu chảy và nổi mào đay.

Bảng 3.30 Các triệu chứng lâm sàng trong nhiễm giun lươn (n = 79)

Triệu chứng	Có	Tỷ lệ %	Chi tiết	Số trường hợp %
Đau bụng	58	73,4	Thượng vị	33/79 (41,7%)
			Quanh rốn	17/79 (21,5%)
			Hạ vị	8/79 (10,1%)
Tiêu chảy	33	41,8		
Mào đay	45	57,0	Tay chân	36/79 (45,6%)
			Toàn thân	9/79 (11,4%)
Đau đầu	49	62,0		
Sụt cân	9	11,4		
Ấu trùng di chuyển dưới da	3	3,8		

Nhận xét:

Các triệu chứng đường tiêu hóa có tỷ lệ cao bao gồm: đau bụng là 73,4 %, triệu chứng tiêu chảy chiếm 41,8 % .

Có 62 % bệnh nhân có triệu chứng đau đầu, triệu chứng sụt cân chiếm 11,4% và có 3 trường hợp ấu trùng di chuyển dưới da 3,8%.

3.3.2 Các kết quả cận lâm sàng

Tất cả bệnh nhân đã được chẩn đoán nhiễm giun lươn đường tiêu hóa, được khảo sát các xét nghiệm cận lâm sàng:

- Công thức máu khảo sát hiện tượng tăng bạch cầu ái toan về giá trị và mức độ.

- Xét nghiệm huyết thanh chẩn đoán ELISA xem xét mức độ kháng thể kháng giun lươn.

Bảng 3.31 Tỷ lệ bệnh nhân có tăng bạch cầu ái toan (n=79)

	Giá trị	Số trường hợp	Tỷ lệ %
Bạch cầu ái toan / μ l máu (BCAT)	Bình thường (< 500)	32	40,5
	Tăng (\geq 500)	47	59,5
	Tổng	79	100
	BCAT trung bình = 694,56 \pm 461,92 Test t = 3,744; p < 0,01; Mức chênh trung bình = 194,5; KTC 95% (91,1 – 298,0)		
Tỷ lệ % bạch cầu ái toan	Bình thường (< 8%)	35	44,3
	Tăng (\geq 8%)	44	55,7
	Tổng	79	100
	% BCAT trung bình = 9,24% \pm 9,70; Test t = 2,277; p < 0,05 Mức chênh trung bình = 1,24; KTC 95% (0,156 – 2,330)		
Mức độ tăng bạch cầu ái toan (E)	Bình thường (<500)	32	40,5
	Tăng nhẹ (500 - 1500)	41	51,9
	Tăng cao (>1500)	6	7,6
	Tổng	79	100

Nhận xét:

Có 59,5% bệnh nhân có hiện tượng tăng giá trị tuyệt đối BCAT trong máu. Số BCAT trung bình là 694,56, khác biệt có ý nghĩa so với ngưỡng bình thường $p < 0,01$

55,7% số bệnh nhân có tăng % BCAT trong máu, tỷ lệ % BCAT trung bình là 9,24%, khác biệt có ý nghĩa $p < 0,05$.

Mức độ tăng BCAT nhẹ chiếm tỷ lệ 51,9%. Có 7,6% số bệnh nhân có BCAT tăng nặng trên 1500/ μ l máu.

Bảng 3.32 Kết quả ELISA ở bệnh nhân nhiễm giun lươn (n = 79)

	Chi tiết	Số trường hợp	Tỷ lệ %
Xét nghiệm ELISA/ máu bệnh nhân	Dương tính	76	96,2
	Âm tính	3	3,8
	Tổng	79	100
Giá trị dương tính trung bình = $32,37 \pm 23,26$ NTU Test t = 15,25; $p < 0,01$; Chênh lệch trung bình: 22,4; KTC 95% (18,6 – 24,2)			

Nhận xét:

Chỉ có 96,2% số bệnh nhân nhiễm giun lươn đường tiêu hoá có kết quả dương tính tìm thấy kháng thể kháng giun lươn.

Giá trị dương tính trung bình của xét nghiệm huyết thanh ở những trường hợp bệnh nhân nhiễm giun lươn là 32,27 NTU, khác biệt có ý nghĩa so với ngưỡng dương tính ($p < 0,01$).

3.3.3 Hiệu quả điều trị của ivermectin liều duy nhất 0,2 mg/kg cân nặng

3.3.4.1 Đáp ứng lâm sàng

Trước điều trị có 79 bệnh nhân tham gia nghiên cứu được mô tả triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng. Tại thời điểm 6 tuần sau điều trị, có 22 bệnh nhân đã bỏ nghiên cứu, chỉ có 57 trường hợp được đánh giá kết quả điều trị.

Mức độ đánh giá triệu chứng lâm sàng được chia thành 3 mức khỏi, giảm và không khỏi.

Bảng 3.33 đánh giá mức độ thay đổi các triệu chứng lâm sàng được xây dựng trên tổng thể 57 bệnh nhân được theo dõi điều trị.

Bảng 3.33 Mức độ thay đổi từng triệu chứng lâm sàng sau điều trị 6 tuần ở 57 bệnh nhân

Triệu chứng		Trước điều trị	Sau điều trị 6 tuần		
			Khỏi (%)	Giảm (%)	Không giảm (%)
Tam chứng nhiễm GL	Đau bụng	48	24 /48 (50)	12/48 (25)	12/48 (25)
	Tiêu chảy	26	10/26 (38,4)	8/26 (30,8)	8/26 (30,8)
	Mày đay	39	4 /39 (10,3)	20/39 (51,2)	15/39 (38,5)
Đau đầu		42	10/42 (23,8)	2/42 (4,8)	30/42 (71,4)
Sụt cân		8	2/8 (25,0)	0/8 (0)	6/8 (75,0)
ATDC dưới da		2	2/2 (100)	0 (0)	0 (0)

Nhận xét: Các triệu chứng cải thiện ở mức độ khỏi nhiều hơn giảm, ngược lại triệu chứng mày đay giảm nhiều hơn khỏi.

3.3.3.2 Đáp ứng cận lâm sàng

Bảng 3.34 Tỷ lệ sạch ấu trùng sau điều trị (n = 79)

	Diễn tiến kết quả xét nghiệm sau điều trị			
	Trước điều trị	2 tuần	4 tuần	6 tuần
Số mẫu thu được	79	75	61	57
Số trường hợp còn nhiễm (%)		2 (2,7%)	3 (4,9%)	3 (5,3%)
Số trường hợp sạch ấu trùng (%)		73/75 (97,3%)	58/61 (95,1%)	54/57 (94,7%)

Nhận xét:

- Tại thời điểm 4 tuần sau điều trị, xuất hiện thêm 1 trường hợp dương tính so với thời điểm 2 tuần, và không xuất hiện thêm trường hợp nào ở thời điểm tiếp theo. Tỷ lệ sạch ATGL trong phân là 94,7% tại thời điểm 6 tuần.

Bảng 3.35 Hiệu quả điều trị của ivermectin (n = 57)

Tính chất		Số trường hợp	Tỷ lệ %
Khỏi	Xét nghiệm phân âm tính và triệu chứng lâm sàng khỏi	18	31,6
Giảm	Xét nghiệm phân âm tính và triệu chứng lâm sàng giảm	32	56,1
Không khỏi	Xét nghiệm phân còn dương tính	3	5,3
	Xét nghiệm phân âm tính, không cải thiện lâm sàng	4	7,0
Tổng		57	100

Nhận xét:

Hiệu quả điều trị từ giảm đến khỏi bệnh của ivermectin đạt 87,7%, trong khi hiệu quả sạch ấu trùng đạt 94,7%.

3.3.4.3 Tác dụng không mong muốn của thuốc ivermectin

Tác dụng không mong muốn của thuốc ivermectin được theo dõi trong 3 ngày kể từ khi uống thuốc.

Bảng 3.36 Tỷ lệ các tác dụng không mong muốn khi uống thuốc (n = 79)

Tác dụng không mong muốn	Số trường hợp	Tỷ lệ (%)
Chóng mặt, đau đầu gia tăng	1	1,3
Buồn nôn	1	1,3
Tiêu chảy, phân lỏng	4	5,1
Ban đỏ trên da	1	1,3
Ngứa gia tăng	2	2,5

Nhận xét:

Triệu chứng tiêu chảy, phân lỏng gia tăng sau khi uống thuốc chiếm tỷ lệ 5,1%. Những triệu chứng này không cần can thiệp sau 2 ngày theo dõi.

Các triệu chứng buồn nôn, chóng mặt chiếm tỷ lệ thấp hơn (1,3%) và cũng tự khỏi.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1 Xác định tình trạng và một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn *Strongyloides* spp ở người dân huyện Đức Hoà, tỉnh Long An năm 2017 - 2018.

4.1.1 Đặc điểm mẫu nghiên cứu

Hình 3.1 cho thấy số mẫu thu được tại 4 điểm nghiên cứu xã Đức Lập Thượng, Mỹ Hạnh Nam, Hiệp Hòa và thị trấn Đức Hòa đều đạt số mẫu so với cỡ mẫu được thiết kế. Duy nhất điểm xã An Ninh Tây số lượng mẫu có thấp hơn không nhiều so với dự kiến 203/208 (đạt 97,6%). Khi xem xét tổng thể mẫu chung cho toàn huyện, nghiên cứu này thu được 1.190 mẫu, thỏa được số lượng mẫu thiết kế. Vì lý do đó, mẫu thu được trong nghiên cứu có cơ sở đảm bảo tính đại diện cho quần thể đích.

Theo vị trí địa lý của huyện Đức Hòa, các trục đường chính nối liền 2 thị trấn lớn (hình 2.1) phân chia địa hình thành 2 khu vực phía đông và tây của huyện, theo vị trí địa lý chia làm 3 vùng thượng, trung tâm và hạ, các xã An Ninh Tây và Hiệp Hòa thuộc khu vực phía tây và vùng thượng, trong khi các xã Mỹ Hạnh Nam và Đức Lập Thượng thuộc phía đông của huyện và nằm ở vùng hạ và trung tâm. Như vậy, sự chọn lựa các điểm nghiên cứu phân bố tương ứng theo số dân và vị trí địa lý sẽ góp phần đại diện cho quy mô của toàn huyện Đức Hòa. Đây cũng là một ưu thế khi khái quát kết quả nghiên cứu từ quy mô các điểm nghiên cứu lên toàn quần thể đích. Vì huyện Đức Hòa có diện tích tự nhiên lớn, dân số đông, có sự đa dạng về phân bố dân số học, cũng như cơ cấu ngành nghề và các yếu tố xã hội khác nhau, nên từ bên trong các điểm nghiên cứu là xã và thị trấn cũng có những điểm không tương đồng nhau.

Bảng 3.1 cho thấy tỷ lệ nữ giới tham gia trong nghiên cứu là 54,1% nhiều hơn so với nam giới. Trong đó tại xã An Ninh Tây và Hiệp Hòa, tỷ lệ nam giới tham gia thấp (36,9% và 42,4%). Với các xã và thị trấn còn lại, sự chênh lệch giữa nam và nữ không đáng kể.

Tỷ lệ người trong độ tuổi lao động thuộc nhóm từ 15 đến 60 tuổi tham gia là 66,8%, người ngoài độ tuổi lao động luôn chiếm ít hơn trong dân số bởi tuổi lao động được qui định trong nghiên cứu từ 16 đến 60 tuổi, tương đương với kết cấu dân số chung của huyện. Bảng 3.1 cũng biểu thị người trên 60 tuổi tham gia nghiên cứu là thấp nhất, và giống nhau tại tất cả các điểm nghiên cứu.

Số người tham gia nghiên cứu có trình độ học vấn dưới mức phổ thông trung học chiếm tỷ lệ cao là 69,1% tại bảng 3.2. Số người có trình độ học vấn từ PTTH trở lên tham gia nghiên cứu có tỷ lệ thấp tại các xã An Ninh Tây, Hiệp Hòa và Đức Lập Thượng. Đây là các xã nông nghiệp, trong đó Hiệp Hòa và An Ninh Tây là các xã vùng xa của huyện Đức Hòa (hình 2.1). Tuy vậy, người tham gia nghiên cứu tại thị trấn Đức Hòa có trình độ học vấn PTTH trở lên chiếm tỷ lệ cao nhất cũng chỉ đạt tỷ lệ 41,2%.

Bảng 3.2 cũng biểu thị phân bố tình trạng kinh tế ở 3 mức theo quy ước thu nhập (phụ lục 3), cho thấy tỷ lệ nhóm người có tình trạng kinh tế nghèo và cận nghèo chiếm tỷ lệ 14,3%. Tỷ lệ người tham gia có tình trạng kinh tế ở mức trung bình và mức khá giả trở lên là gần bằng nhau. Tại xã Đức Lập Thượng, tỷ lệ người nghèo và cận nghèo tham gia chiếm tỷ lệ cao nhất (22%), khác biệt với thị trấn Đức Hòa có tỷ lệ người nghèo và cận nghèo tham gia thấp nhất (3,9%). Kết quả cho thấy có sự khác nhau giữa các xã và thị trấn nghiên cứu phù hợp với sự khác biệt về kinh tế vốn có giữa thị trấn có mức sống cao và các xã nông thôn luôn có tình trạng kinh tế thấp hơn.

Bảng 3.3 cho thấy nghề nông phân bố trong các mẫu nghiên cứu có tỷ lệ 24,7%. Điểm nghiên cứu Đức Lập Thượng có số người làm nông nghiệp tham gia nhiều nhất (32,5%) và thấp nhất tại thị trấn Đức Hòa (11,2%).

Tình trạng sử dụng hồ xí không hợp vệ sinh có tỷ lệ 11,5%, là khá cao. Một trong các lý do đó là quy ước về hồ xí không hợp vệ sinh trong nghiên cứu này còn bao gồm cả hành vi đi đại tiện ngoài đồng ruộng của người dân mặc

dù tại nhà của các đối tượng này vẫn có hổ xí hợp vệ sinh. Và cũng vì lý do đó nghiên cứu xếp việc sử dụng hổ xí vào hành vi nguy cơ và khảo sát. Bảng 3.3 đồng cho thấy xã Đức Lập Thượng có số người tham gia nghiên cứu sử dụng hổ xí không hợp vệ sinh nhiều nhất (19,4%) và thấp nhất tại thị trấn Đức Hòa (4,3%), kế đến là xã Mỹ Hạnh Nam (10,6%).

Tóm lại, có sự chênh lệch nhất định về các yếu tố khảo sát tại các điểm nghiên cứu. Sự khác nhau này chỉ ra tính đa dạng về phân bố các yếu tố khảo sát giữa các đơn vị hành chính nhỏ trong phạm vi huyện Đức Hòa.

4.1.2 Thực trạng nhiễm giun lươn của toàn huyện Đức Hòa

4.1.2.1 Tỷ lệ nhiễm giun lươn

Hình 3.2 tổng hợp số liệu tại 5 điểm nghiên cứu, xác định tỷ lệ nhiễm giun lươn chung của huyện Đức Hòa là 6,64%, được xếp là vùng lưu hành nặng của bệnh [54], [46].

So sánh với nghiên cứu tại 2 xã Phú Mỹ Hưng và Phú Hòa Đông của huyện Củ Chi của Tp. HCM, vị trí tiếp giáp phía Đông với huyện Đức Hoà, cùng với kỹ thuật xét nghiệm phân tương tự với nghiên cứu này, các tác giả đã xác định tỷ lệ nhiễm giun lươn lần lượt là 12,6% (n = 294) và 9,2% (n = 766). Cả 2 nghiên cứu vừa nêu đều cho kết quả cao hơn nghiên cứu của chúng tôi dù cỡ mẫu nhỏ hơn [27], [28]. Điểm đặc biệt trong nghiên cứu tại xã Phú Mỹ Hưng là tác giả sử dụng đồng lúc 4 kỹ thuật xét nghiệm khác nhau nên kết quả khác biệt nhiều trong khi nghiên cứu tại Phú Hòa Đông thì áp dụng kỹ thuật tương tự như chúng tôi nên sự khác biệt thấp hơn. Bên cạnh đó, có thể các địa bàn 1 xã trong các nghiên cứu vừa nêu có tính chất dịch tễ khu trú hơn so với nghiên cứu này là lý do không đưa đến sự tương đồng. Khi khảo sát ở qui mô một xã hoặc thị trấn, bảng 3.4 cho thấy tỷ lệ nhiễm giun lươn thay đổi từ 12,4% đến chỉ còn 2,1% tùy điểm nghiên cứu, càng khẳng định sự khác biệt với các nghiên cứu trước đây là do có khác biệt về qui mô nghiên cứu này lớn hơn.

Khi so sánh với nghiên cứu gần đây nhất của V.T.L. Bình (2014) tại 2 xã Dương Thành, tỉnh Thái Nguyên và Cáo Điền ở tỉnh Phú Thọ, tác giả V.T.L. Bình tìm thấy tỷ lệ nhiễm giun lươn chung là 7,6%, và được xếp vào vùng lưu hành nặng. Điểm khác biệt lớn so với nghiên cứu này là tác giả V.T.L. Bình chỉ tìm thấy ca bệnh bằng xét nghiệm huyết thanh ELISA, trong khi kỹ thuật xét nghiệm phân không tìm thấy trường hợp nào nhiễm. Theo y văn, phương pháp ELISA có khả năng phát hiện cao hơn, nhưng độ đặc hiệu thấp hơn kỹ thuật cấy [8], [14]. Như vậy về thực chất, tỷ lệ nhiễm cao tại Thái Nguyên và Phú Thọ vẫn chưa chắc cao hơn tỷ lệ nhiễm tại Đức Hoà. Nhưng với kết quả như thế, các địa điểm nghiên cứu của tác giả V.T.L. Bình cùng được xếp phân loại chung với huyện Đức Hoà là vùng lưu hành của bệnh.

Tác giả Myo Pa Pa (2018) nghiên cứu tại Myanmar xác định kết quả tỷ lệ nhiễm chung 5,7%, gần bằng với kết quả của nghiên cứu này. Kết quả tương đồng này có thể lý giải bằng điểm chung là sử dụng kỹ thuật nuôi cấy trong chẩn đoán ca nhiễm mặc dù tác giả Myo Pa Pa áp dụng kỹ thuật cấy trên thạch trong khi chúng tôi sử dụng kỹ thuật cấy với giấy lọc. Tuy vậy, kết quả tương đồng giữa 2 nghiên cứu tại 2 quốc gia khác nhau trong khu vực Đông Nam Á đã góp phần khẳng định đây là khu vực lưu hành của bệnh giun lươn như y văn mô tả [36], [54].

Tỷ lệ nhiễm tìm thấy tại huyện Đức Hoà trong nghiên cứu này vẫn thấp hơn so với tác giả Laoraksawong P. (2017) tại Thái Lan, Khieu V. (2014) tại Campuchia, Senephansiri P. (2017) tại Lào với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 23%, 21% và 17,1% [69], [74], [98]. Các nghiên cứu ở nước ngoài nêu trên có cỡ mẫu không tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi, nhưng có điểm chung là sử dụng các kỹ thuật xét nghiệm phân để xác định ca bệnh. Hiện trạng nhiễm cao này có thể đi đến kết luận các quốc gia tại khu vực Đông Nam Á là vùng lưu hành nặng của bệnh giun lươn [54], [15].

Tuyizere và CS (2018) nghiên cứu tại huyện Gisagara, thuộc một tỉnh phía nam của Rwanda xác định tỷ lệ nhiễm giun lươn là 17,4%. Ngay cả với đối tượng trẻ em Ethiopia, Amor A và CS (2016) xác định tỷ lệ nhiễm giun lươn là 20,7% trong đó kỹ thuật trực tiếp là 12,1%. Với kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp đơn thuần và tập trung formalin ether có khả năng phát hiện giun lươn thấp, Abath A.E. (2015) đã xác định trên đối tượng trẻ em Nigeria, tỷ lệ nhiễm giun lươn là 7,14% [30], [34]. Tại khu vực Nam Mỹ, một nghiên cứu được thực hiện tại Bolivia trong năm 2018 với mẫu gần tương tự với chúng tôi ($n= 1.151$) và áp dụng phối hợp 3 kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp và huyết thanh ELISA để chẩn đoán ca nhiễm, kết quả đã xác định tỷ lệ nhiễm là 23%, cao hơn rất nhiều so với kết quả nghiên cứu của chúng tôi [51]. Tổng kết lại, các tỷ lệ nhiễm cao vượt trội tại các quốc gia Châu Phi, Nam Mỹ so với Việt Nam đã góp phần cập nhật và xác định chính xác hơn bản đồ phân bố giun lươn trên toàn cầu, tương ứng với nhận định bệnh giun lươn phân bố nhiều ở khu vực Đông Nam Á, châu Phi, Trung và Nam Mỹ [54], [15], [46].

Bảng 3.4 cho thấy xã Đức Lập Thượng có tỷ lệ nhiễm giun lươn cao nhất là 12,4%, thấp nhất là tại thị trấn Đức Hòa 2,1%. Các xã An Ninh Tây và Hiệp Hòa có tỷ lệ nhiễm giun lươn gần bằng nhau là 4,4% và 4,5%. Kết quả đã cho thấy, ngay cả trong một huyện, mỗi điểm nghiên cứu đều có kết quả khác nhau, nguyên do có thể những yếu tố có liên quan đã tác động và cần phân tích rõ ở các kết quả tiếp theo trong nghiên cứu.

4.1.2.2 Phân bố nhiễm giun lươn theo các yếu tố liên quan

Bảng 3.5 cho thấy trong nam giới nhiễm giun lươn chiếm tỷ lệ 11,0% cao hơn nhiều so với nữ là 3%. Tại xã Mỹ Hạnh Nam, Đức Lập Thượng và Hiệp Hòa, nam giới nhiễm giun lươn có tỷ lệ 21,3% ,12,0% và 7,4%, khác biệt có ý nghĩa so với nữ, trong khi tại xã An Ninh Tây và thị trấn Đức hòa, sự chênh lệch này không đáng kể ($p > 0,05$). Dù vậy, trong cả 5 điểm nghiên cứu, có sự tương đồng chung là nam giới bị nhiễm giun lươn nhiều hơn nữ.

Tỷ lệ người nhiễm giun lươn trong độ tuổi từ 15 đến 60 là 6,9 %, nhiều hơn độ tuổi dưới 15 tuổi nhưng thấp hơn tỷ lệ ở người trên 60 tuổi (15,5%). Đối chiếu với cách lây nhiễm và sự tồn tại dai dẳng của giun lươn, những người càng lớn tuổi sẽ có nguy cơ nhiễm bệnh nhiều hơn dẫn đến tỷ lệ nhiễm ở nhóm này cao hơn [15], [46]. Tại các điểm nghiên cứu, tỷ lệ người trên 60 tuổi nhiễm giun lươn cao tập trung tại xã Đức Lập Thượng (28,2%) và xã Mỹ Hạnh Nam (19,4%), cao hơn rất nhiều so với độ tuổi từ 15 đến 60 ($p < 0,01$), trong khi tại xã Hiệp Hòa cho kết quả ngược lại. Ở các điểm nghiên cứu còn lại, sự chênh lệch về tỷ lệ nhiễm giun lươn giữa 3 độ tuổi là không ý nghĩa ($p > 0,05$) và cũng có sự tương đồng chung giữa tất cả điểm nghiên cứu là không có trường hợp nhiễm giun lươn ở đối tượng dưới 15 tuổi.

Người có trình độ học vấn dưới mức PTTH nhiễm giun lươn chiếm tỷ lệ 7,8% cao hơn so những người có trình độ học vấn từ PTTH trở lên là 4,1%. Bảng 3.7 thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về trình độ học vấn với tình trạng nhiễm giun lươn tại xã Mỹ Hạnh Nam ($p < 0,05$) trong khi sự chênh lệch này không có ý nghĩa ở các điểm nghiên cứu còn lại. Điểm giống nhau ở tất cả xã/thị trấn nghiên cứu là người nhiễm giun lươn có trình độ dưới PTTH chiếm tỷ lệ cao hơn nhóm còn lại.

Với yếu tố tình trạng kinh tế, nhóm đối tượng có tình trạng kinh tế từ nghèo đến cận nghèo tuy không chiếm tỷ lệ cao trong mẫu nghiên cứu (14,3%), nhưng lại là nhóm có tỷ lệ nhiễm giun lươn cao nhất chiếm 26,5 %, cao hơn rất nhiều so với 2 nhóm đối tượng có tình trạng kinh tế ở mức trung bình (3,4%) và nhóm có mức kinh tế khá giả trở lên (3,2%). Và điểm tương đồng chung tại tất cả xã/thị trấn nghiên cứu, tỷ lệ người nhiễm giun lươn có tình trạng kinh tế nghèo đến cận nghèo chiếm tỷ lệ cao hơn nhóm có tình trạng kinh tế trung bình trở lên. Điều này phù hợp hoàn toàn với các nghiên cứu tại Lào và Campuchia [68], [69], [98].

Bảng 3.9 thể hiện trong số người làm nghề nông nghiệp, người bị nhiễm giun lươn chiếm tỷ lệ 15,3 %, cao hơn nhiều so với nhóm nghề khác (3,8%). Tỷ lệ người làm nghề nông nhiễm giun lươn cao tập trung tại xã Đức Lập Thượng (25,5%) và xã Mỹ Hạnh Nam (18,5%), khác biệt có ý nghĩa với các nghề khác ($p < 0,01$). Tỷ lệ nhiễm giun lươn cao hơn ở người làm nông nghiệp có thể cho thấy nghề nông có thể là một yếu tố quan trọng, phần khảo sát tương quan sẽ làm rõ sự khác biệt này. Cũng ghi nhận tại bảng 3.9 là xã An Ninh Tây có kết quả ngược lại, tỷ lệ người làm nghề nông nhiễm giun lươn lại thấp hơn và không có ý nghĩa ($p > 0,05$).

Tương tự yếu tố nghề nông nghiệp, tình trạng người sử dụng hố xí không hợp vệ sinh chiếm tỷ lệ thấp trong mẫu nghiên cứu (11,5%) nhưng nhóm đối tượng này lại có tỷ lệ nhiễm giun lươn cao đáng kể (29,9%), khác biệt có ý nghĩa so với nhóm đối tượng còn lại chỉ có tỷ lệ nhiễm giun lươn là 3,6%. Các tỷ lệ nhiễm giun lươn cao này gặp ở các điểm nghiên cứu Đức Lập Thượng, thị trấn Đức Hòa, và xã An Ninh Tây tạo ra sự chênh lệch lớn với nhóm sử dụng hố xí hợp vệ sinh. Trong khi đó, tại xã Mỹ Hạnh Nam, sự chênh lệch thấp hơn và không có ý nghĩa ($p > 0,05$). Điểm giống nhau giữa các xã/thị trấn nghiên cứu là tỷ lệ nhiễm giun lươn ở nhóm sử dụng hố xí không hợp vệ sinh cao hơn nhóm người sử dụng hố xí hợp vệ sinh. Sự tương đồng về tỷ lệ nhiễm giun lươn cao ở nhóm sử dụng hố xí không hợp vệ sinh chứng tỏ hành vi này có thể là một yếu tố tác động mạnh, dẫn đến kết quả chung giống nhau giữa điểm nghiên cứu.

4.1.3 Một số yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn

Các số liệu nghiên cứu được thu thập theo thiết kế theo từng điểm nghiên cứu và tổng hợp chung cho đối tượng đích là huyện Đức Hòa. Vì vậy, để loại bỏ các yếu tố sai lệch chung, sau khi phân tích đơn biến từng yếu tố, mô hình phân tích đa biến được đưa vào phân tích các mối tương quan giữa tình hình nhiễm giun lươn và các yếu tố liên quan tại huyện Đức Hòa.

4.1.3.1 Giới tính

Bảng 3.11 cho thấy có mối liên quan giữa nhiễm giun lươn với giới tính nam ($p < 0,001$). Nam giới có nguy cơ nhiễm giun gấp 4,06 lần so với nữ. Bảng 3.18 phân tích đa biến bổ sung cho thấy giới tính có liên quan đến nhiễm giun lươn ($p < 0,01$) và chỉ số nguy cơ OR đã được hiệu chỉnh. Như vậy, tại huyện Đức Hòa, giới tính là yếu tố liên quan đến nhiễm giun lươn và nam giới có nguy cơ nhiễm giun lươn gấp 3,26 lần so với nữ. Kết quả này tương tự với nghiên cứu tại Thái Lan năm 2018 của Laoraksawong P. và CS trên mẫu 526 người dân với nguy cơ nhiễm giun lươn ở nam giới gấp 4 lần [74].

So sánh với nghiên cứu tại Củ Chi trong năm 2004 xác định nam giới có nguy cơ nhiễm nhiều hơn nữ 2,96 lần ($n = 294$), kết quả tương tự với chúng tôi nhưng nguy cơ thấp hơn [27]. Trong các nghiên cứu tại Campuchia (2014) và Rwanda (2018), nhóm tác giả cũng xác định nam giới dễ mắc bệnh hơn nữ và có nguy cơ nhiễm giun lươn cao hơn 1,7 lần [68], [69], [106].

Như vậy, từ số liệu của nghiên cứu này, phối hợp với các nghiên cứu khác tìm thấy sự liên quan giữa giới tính nam với tỷ lệ nhiễm giun lươn, có thể cho kết luận giới tính là một yếu tố có liên quan với bệnh lý nhiễm giun lươn đường tiêu hoá tại huyện Đức Hòa.

4.1.3.2 Nhóm tuổi

Trong nghiên cứu, chúng tôi đặt mục tiêu xem xét mối liên quan giữa nhiễm giun lươn và nhóm tuổi đi học (dưới 15), lứa tuổi lao động (15 – 60) và nhóm người lớn tuổi (> 60). Kết quả tìm thấy có khác biệt có ý nghĩa $p < 0,01$. Trong đó, người già trên 60 tuổi có nguy cơ nhiễm giun lươn cao hơn so với 2 nhóm còn lại. Bảng phân tích đa biến 3.18 cũng ghi nhận sự liên quan có ý nghĩa ($p < 0,01$), nguy cơ ở người trên 60 tuổi nhiễm giun lươn là cao gấp 2,89 lần. Kết quả này khác biệt so với 3 nghiên cứu tại Củ Chi năm 2001, 2004 và 2017, các tác giả không tìm thấy sự liên quan của nhóm tuổi vì các nghiên cứu này chỉ quan tâm đến 2 nhóm tuổi trong và ngoài tuổi lao động [16], [27], [28].

Giun lươn được biết là nhiễm vào người qua hoạt động tiếp xúc đất tương tự giun móc. Ở nhóm tuổi lao động, hoạt động lao động thường sẽ có khả năng tiếp xúc với mầm bệnh ngoài môi trường cao hơn dẫn đến tỷ lệ nhiễm cao. Với nhiễm giun móc, nhóm tuổi lao động thường có sự liên quan nhưng với giun lươn có những điểm khác, đặc biệt về khả năng gây bệnh, sự tồn tại nhân lên ngay bên trong cơ thể người [7], [13]. Và trong nghiên cứu, mối liên quan giữa nhiễm giun lươn với nhóm tuổi trên 60 có thể cho thấy tính chất mạn tính của giun lươn. Bên cạnh đó, có thể đặt ra thêm vấn đề cơ hội của mầm bệnh, bởi thông thường lứa tuổi trên 60 được xem là bắt đầu hiện tượng lão hóa và suy giảm sức đề kháng [46], [58], [62].

4.1.3.3 Trình độ học vấn

Bảng 3.13 biểu thị có sự liên quan giữa nhiễm giun lươn và trình độ học vấn $p < 0,05$, những người có trình độ học vấn dưới mức PTTH có nguy cơ nhiễm giun lươn gấp 1,98 lần so với nhóm có trình độ học vấn từ PTTH trở lên. Tuy nhiên, khi đưa vào mô hình phân tích đa biến, bảng 3.18 lại cho thấy trình độ học vấn ở mức trên và dưới PTTH không có liên quan đến tình trạng nhiễm giun lươn tại huyện Đức Hòa, chỉ số OR hiệu chỉnh chỉ là 1,03. Như vậy, mối liên quan tìm thấy trong phân tích đơn biến không đủ mạnh, hoặc do yếu tố khác tác động và gây nhiễu.

Trong năm 2018, Myo Pa Pa nghiên cứu tại Myanmar, Suntaviritun P. và CS nghiên cứu tại Thái Lan, đều xác định không có mối liên quan về trình độ học vấn và nhiễm giun lươn [36], [104]. Nghiên cứu này cho kết quả tương tự, dù các tác giả nêu trên dùng mức phổ thông cơ sở để phân nhóm trong nghiên cứu.

Trình độ học vấn ở mức phổ thông trung học thể hiện một mức nhận thức tương đối cao, có thể tiếp thu dễ dàng kiến thức cơ bản về bệnh, là điều kiện cơ bản trong hoạt động phòng chống nhiễm giun sán. Trong nghiên cứu không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa, điều này cho thấy nếu đối tượng có trình độ học

vấn cao nhưng nếu không quan tâm đến giun lươn, vẫn sẽ có thể không biết về bệnh giun lươn. Hoặc ngược lại, có thể các nhóm có trình độ học vấn thấp hơn nhưng được can thiệp giun định kỳ (đối tượng học sinh tiểu học) đã có thể ảnh hưởng đến mối liên quan này. Thiết nghĩ cần có những nghiên cứu ở nhóm can thiệp và đối chứng sẽ lý giải chính xác hơn.

4.1.3.4 Tình trạng kinh tế

Bảng 3.14 cho thấy có liên quan đến tình hình nhiễm giun lươn tại cộng đồng với tình trạng kinh tế ($p < 0,001$), trong đó người có tình trạng kinh tế nghèo đến cận nghèo thường bị nhiễm giun lươn hơn so với nhóm có kinh tế trung bình và nhóm khá giả trở lên.

Bảng phân tích đa biến cũng cho thấy mối liên quan thật sự ($p < 0,01$) dù OR đã được hiệu chỉnh. Như vậy, tại huyện Đức Hòa, nhiễm giun lươn dễ gặp ở người nghèo và cận nghèo với nguy cơ cao hơn gấp 2,08 lần so với các nhóm còn lại (bảng 3.18). Kết quả này khác biệt so với nghiên cứu tại Củ Chi năm 2004 ($n = 294$). Có thể lý giải nguyên do khác biệt vì cỡ mẫu nghiên cứu này lớn hơn và lý do khác là thời điểm. Đối với yếu tố tình trạng kinh tế, khoảng cách thời gian hơn 10 năm giữa 2 nghiên cứu đã có sự khác biệt rất lớn [27].

So sánh với Tuyizere A. và CS (2018) tại Rwanda, Khieu V. và CS (2014) tại Campuchia cho kết quả người nghèo có nguy cơ nhiễm giun lươn gấp 3,4 và 1,9 lần, kết quả của nghiên cứu này là tương đồng [69], [106]. Như vậy, tình trạng kinh tế nghèo và cận nghèo là yếu tố có liên quan đến nhiễm giun lươn.

Tuy huyện Đức Hoà đã có chuyển đổi kinh tế mạnh mẽ trong những năm gần đây, nhưng chỉ số xác định hộ nghèo, cận nghèo và trung bình áp dụng trong nghiên cứu được qui định chung cho mức nông thôn cả nước. Chỉ số này cũng có thể chưa thật sự phù hợp với điều kiện thay đổi nhanh của kinh tế. Thế nhưng kết quả nghiên cứu tìm thấy phù hợp với nhận định chung, cũng như các nghiên cứu trên thế giới ghi nhận bệnh giun lươn có liên quan đến tình trạng nghèo khó [58], [46], [106].

4.1.3.5 Nghề nghiệp

Có mối liên quan giữa nghề nông nghiệp với tình trạng nhiễm giun lươn $p < 0,001$, những người làm nghề nông sẽ có nguy cơ nhiễm giun lươn cao hơn những người làm nghề khác. Kết quả kiểm tra phân tích đa biến tại bảng 3.18 cho thấy nghề nông nghiệp thật sự có liên quan đến nhiễm giun lươn ngưỡng ý nghĩa đã giảm xuống ($p < 0,05$) và chỉ số nguy cơ hiệu chỉnh là 2,08 lần.

Như vậy, khi lao động nông nghiệp, nguy cơ ấu trùng giun từ đất xâm nhập vào cơ thể và gây bệnh cao hơn so với nhóm còn lại. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Senephansiri P. tại Lào (2017), 2 nghiên cứu của Khieu V. và CS (2014) tại 2 địa điểm khác nhau ở Campuchia, đều xác định nghề nông có nguy cơ nhiễm giun lươn cao hơn các nghề khác [98], [68], [69].

Trái ngược với sự tương đồng trên, tác giả Laoraksawong P. (2018) không tìm thấy sự liên quan giữa nghề nông và tình trạng nhiễm giun lươn tại Thái Lan. Tương tự, Sutaravitun P. và CS (2018) cũng nghiên cứu 1 địa điểm khác của Thái Lan và cho cho kết quả không liên quan. Nếu quy cho lý do người làm nghề nông nghiệp tại Thái Lan có ý thức phòng bệnh tốt hơn sẽ không đúng bởi tỷ lệ nhiễm giun lươn được xác định trong 2 nghiên cứu nêu trên ở mức cao (23% và 5,7%). Như vậy, có thể thành phần nghề nông nghiệp trong các nghiên cứu tại Thái Lan chưa thể hiện hết hành vi tiếp xúc với mầm bệnh đã dẫn đến sự không tương đồng với kết quả của nghiên cứu này [74], [104].

4.1.3.6 Tình trạng sử dụng hố xí

Bảng 3.16 thể hiện có mối liên quan giữa tình trạng sử dụng hố xí và nhiễm giun lươn $p < 0,001$. Bảng phân tích đa biến 3.18 cũng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,01$) và nguy cơ nhiễm giun lươn ở người sử dụng hố xí không HVS được hiệu chỉnh là 3,3 lần so với người sử dụng hố xí HVS. Vậy, tại huyện Đức Hòa, tình trạng sử dụng hố xí không hợp vệ sinh là yếu tố làm tăng nguy cơ nhiễm giun lươn. Trong nghiên cứu của V.T.L Bình tại Thái Nguyên, tác

giả đã xác định tình trạng sử dụng hố xí không hợp vệ sinh có liên quan đến nhiễm giun lươn, tương đồng với nghiên cứu này [2].

Khi người bệnh nhiễm giun lươn thải mầm bệnh ra môi trường, ấu trùng có thể phát triển nhiều thế hệ ở môi trường nhiễm bẩn này [46], [106]. Nếu hành vi này lặp lại hoặc cộng đồng có tỷ lệ tiếp xúc trực tiếp với đất ô nhiễm cao sẽ dẫn đến tỷ lệ nhiễm giun lươn cao là tất yếu. Đây là một yếu tố thực trạng quan trọng cảnh báo cho người dân tại các điểm nghiên cứu, và cho cả huyện Đức Hòa.

4.1.3.7 Hành vi tiếp xúc trực tiếp với đất

Khảo sát mối liên quan giữa hành vi tiếp xúc trực tiếp với đất trong sinh hoạt hàng ngày và tình trạng nhiễm giun lươn cho thấy có sự liên quan chặt chẽ $p < 0,001$, những người thường tiếp xúc đất trong sinh hoạt có nguy cơ nhiễm giun lươn gấp 9,07 lần. Điều này cho thấy khi tiếp xúc trực tiếp với đất có ô nhiễm, mầm bệnh sẽ có thể xâm nhập và gây nhiễm cho người [8].

Khi đưa vào mô hình phân tích đa biến, kết quả cho thấy có mối liên quan nhưng ngưỡng ý nghĩa đã giảm ($p < 0,05$), chỉ số nguy cơ OR là 2,69. Dù mô hình phân tích đa biến xác định không tìm thấy sự đa cộng tuyến, tức các yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm giun lươn khá độc lập nhau, nhưng về thực chất vẫn có sự tương tác, bằng chứng cho thấy sự tương quan mạnh đã giảm. Kết quả chung cho thấy người có hành vi tiếp xúc trực tiếp với đất trong sinh hoạt có nguy cơ nhiễm giun lươn cao gấp 2,69 lần so với người không hoặc ít tiếp xúc trực tiếp. Kết quả này tương đồng so với nghiên cứu của tác giả V.T.L Bình nghiên cứu tại 2 xã Cáo Điền, tỉnh Phú Thọ và Dương Thành ở tỉnh Thái Nguyên năm 2014, Senephansiri P tại Lào và Myo Pa Pa tại Myanmar. Thay vì nghiên cứu hành vi tiếp xúc đất trong sinh hoạt, các tác giả vừa nêu chỉ khảo sát về hành vi đi chân đất, hành vi này là một trong các hình thức tiếp xúc trực tiếp với đất [1], [2], [98], [36].

Hành vi tiếp xúc trực tiếp với đất trong sinh hoạt được qui định khi khảo sát trong nghiên cứu này khá đa dạng, từ động tác làm vườn không mang găng tay, đến các trò chơi tiếp xúc đất, ... không quá khu trú như hành vi đi chân đất đơn thuần. Có thể chính vì lý do đó, khi kết quả phân tích đa biến thì mối liên quan có xu hướng giảm đi độ mạnh. Chính sự giảm thiểu đi độ mạnh này lại cho thấy thiết kế và phân tích xử lý số liệu trong nghiên cứu này là chặt chẽ và đầy đủ. Và như thế, tình trạng tiếp xúc đất trực tiếp trong sinh hoạt hàng ngày là yếu tố nguy cơ quan trọng đối với tình trạng nhiễm giun lươn tại huyện Đức Hòa [98], [36].

4.2 Xác định loài giun lươn *Strongyloides* gây bệnh

4.2.1 Khảo sát giun lươn *Strongyloides* gây bệnh bằng hình thái học

Bảng 3.19 cho thấy trong 79 bệnh nhân có nhiễm giun lươn đường tiêu hóa, xét nghiệm trực tiếp đơn thuần lần thứ nhất chỉ có khả năng phát hiện được 58,2%. Trong nghiên cứu, kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp áp dụng mỗi mẫu phân được xét nghiệm với 2 lá kính (lamele), gấp đôi so với thực hành thông thường tại các bệnh viện, thế nhưng cũng chỉ phát hiện 58,2%. Điều này cho thấy khả năng phát hiện của kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp trong chẩn đoán giun lươn là khá thấp. Kết quả này tuy cao hơn so với nghiên cứu tại huyện Củ Chi năm 2004 là 29,8% nhưng không được khuyến cáo là kỹ thuật chính để áp dụng cho các nghiên cứu tầm soát nhiễm giun lươn [56], [57], [27].

Kỹ thuật nuôi cấy phân cải tiến (Sasa 1986) trong nghiên cứu cho kết quả phát hiện 93,7% khi thực hiện lần xét nghiệm thứ nhất. Kết quả này cao hơn nhiều so với 78,4% trong một nghiên cứu tại huyện Củ Chi năm 2004, 47,8 % của Rayzan H.Z và CS (2012) tại Ai Cập. Nguyên do sự khác biệt bởi trong nghiên cứu này, chỉ ứng dụng phối hợp 2 phương pháp xét nghiệm trong khi các tác giả trên phối hợp đồng lúc 4 phương pháp khác nhau. Qua đó số ca phát hiện tổng thể sẽ tăng và khả năng phát hiện của các phương pháp sẽ giảm xuống lý giải cho việc thấp hơn này. Điều này cũng có thể chỉ ra số ca nhiễm giun

lươn đường tiêu hóa vẫn còn có khả năng tăng thêm tại cộng đồng nếu thật sự ứng dụng thêm các kỹ thuật xét nghiệm khác, đặc biệt là kỹ thuật sinh học phân tử [56], [57], [27].

Bảng 3.19 đồng thời cho thấy tuy khả năng phát hiện của kỹ thuật cấy cao hơn rất nhiều so với xét nghiệm trực tiếp, thế nhưng vẫn có 5 trường hợp (6,3%) trong lần nuôi cấy đầu không phát hiện được mà lại phát hiện được bằng kỹ thuật xét nghiệm trực tiếp. Vì lý do đó, việc phối hợp 2 kỹ thuật đã cho kết quả phát hiện tốt hơn tại huyện Đức Hòa, góp phần khẳng định thêm nhận định về sự phù hợp của thiết kế nghiên cứu và chứng minh được không một kỹ thuật nào có giá trị tuyệt đối [10], [56], [57], [64].

Hình 3.3 giới thiệu các cấu trúc khảo sát chung cho hình thể ấu trùng hoặc trứng được tìm thấy khi quan sát dưới kính hiển vi. Các cấu trúc cơ bản bao gồm chiều dài thân, chiều dài thực quản, tỷ lệ giữa thực quản so với chiều dài thân, chiều dài xoang miệng, hình dạng, chóp đuôi. Với chiều ngang của ấu trùng, nghiên cứu xác định vị trí có chiều ngang lớn nhất là kết quả đo, nguyên do bởi thân ấu trùng sẽ thuôn nhiều cho đến nhọn về phía cấu trúc đuôi. Ngoài ra, còn có các cấu trúc đặc biệt khác ví dụ gai giao hợp đối với giun đực và vị trí lỗ sinh dục đối với giun cái.

Bằng công cụ đo đạc trực tiếp hình thể dưới hệ thống camera chuyên dụng, đặc biệt đối với các cấu trúc không thẳng, hình 3.3 cho thấy có thể dễ dàng đo và nối các điểm liên tục, qua đó cho kết quả chính xác hơn so với các phương pháp đo truyền thống vốn đơn thuần đo khoảng cách theo trục thẳng. Điều này góp phần chứng minh sự chính xác cho các kết quả đo đạc trong nghiên cứu.

4.2.1.1 Ấu trùng giai đoạn 1

Ấu trùng giai đoạn 1 chủ yếu tìm thấy trong xét nghiệm phân trực tiếp. Bảng 3.19 cho thấy chỉ có 46 trường hợp xét nghiệm trực tiếp có kết quả dương tính. Như vậy để đạt tối đa mẫu theo quy ước chúng tôi đã xét nghiệm lặp lại 3

lần với các mẫu phân này, kèm thu thập mẫu phân lần 2 để bổ sung nếu chưa đủ. Kết quả đã đủ tổng cộng 79 mẫu nghiên cứu đạt yêu cầu.

Bảng 3.20 biểu thị kết quả ấu trùng giai đoạn 1 của giun lươn có chiều dài trung bình là 279,9 μm , chiều ngang trung bình là 18,47 μm . Như vậy, so với tài liệu của Grove D.I (1989), Prayong R. và CS (2013), chiều dài của ấu trùng trong nghiên cứu này có xu hướng dài hơn bởi các tác giả trên cho rằng chiều dài ấu trùng giai đoạn 1 từ 200 - 250 μm , trong khi chiều ngang của ấu trùng lại tương đồng [90], [54]. Lý giải cho sự khác biệt trên, nguyên do có thể do ấu trùng gây bệnh trên cộng đồng thường là mạn tính, mật độ ấu trùng thấp, các triệu chứng gây ra không ồ ạt tương đương với thời gian sống ấu trùng dài hơn, nên sự phát triển sẽ dài hơn dẫn đến thân mình ấu trùng sẽ dài hơn [54], [8]. Đối chiếu với thời gian xét nghiệm, nếu thời gian kéo dài trên 24 giờ, ấu trùng có thể phát triển dài hơn gấp đôi ở hình thái giai đoạn 2 và thon mảnh hơn ở chiều ngang do không tiêu hóa và chuẩn bị lột xác, điều đó đã lý giải cho sự khác biệt về kết quả chiều dài ấu trùng trong nghiên cứu [46], [54].

Chiều dài trung bình của thực quản là 75,7 μm , còn dạng ụ phình, và có tỷ lệ trung bình so với chiều dài thân là 27,1%. Điều này hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của ấu trùng giai đoạn 1 có thực quản phình và dưới 1/3 chiều dài thân mình [54], [90]. Như vậy, với kích thước thân và thực quản, cùng với kết quả 100% có đuôi nhọn, cho thấy tất cả ấu trùng đo đạc đều là ấu trùng giai đoạn 1 (rhabditiform).

Chiều dài xoang miệng trung bình của ấu trùng giai đoạn 1 là 4,4 μm , thấp nhất là 3,9 μm và tối đa là 5,3 μm (bảng 3.20). Đây là 1 cấu trúc quan trọng để phân biệt với ấu trùng giai đoạn 1 của giun móc vốn có xoang miệng dài [111], [90]. Kích thước trung bình của xoang miệng phù hợp với tác giả Grove D.I (1989), T.T Hồng (2017) và Prayong R. và CS (2013) cho rằng xoang miệng của ấu trùng giun lươn giai đoạn 1 là từ 4 – 8 μm [90], [54], [13]. Từ các kết quả vừa nêu, khẳng định được tất cả ấu trùng là giai đoạn 1 của giun lươn.

4.2.1.2 Ấu trùng giai đoạn 2

Ấu trùng giai đoạn 2 của giun lươn có chiều dài trung bình là 576,4 μm , chiều ngang trung bình là 16,9 μm (bảng 3.21). Như vậy, so với tài liệu của Grove D.I (1989), Prayong R. và CS (2013), chiều dài của ấu trùng trong nghiên cứu này phù hợp, bởi các tác giả trên cho rằng chiều dài ấu trùng giai đoạn 2 từ 450 - 600 μm , và chiều ngang mảnh mai hơn so với ấu trùng giai đoạn 1 (hình 3.5A) [54], [90]. Trong kỹ thuật cấy phân, chúng tôi tiến hành thu mẫu ngay tại ngày thứ ba và không để dài hơn nữa vì cần thu lượng ấu trùng giai đoạn này cho nghiên cứu định loài về sinh học phân tử. Để xác định chính xác là ấu trùng giai đoạn 2 cần phải quan sát cấu trúc thực quản và đuôi bên cạnh kích thước chiều dài của thân ấu trùng [64], [111].

Chiều dài trung bình của thực quản là 244,7 μm , còn dạng hình ống, và có tỷ lệ trung bình so với chiều dài thân là 42,5% (hình 3.5B). Điều này hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của ấu trùng giai đoạn 2 có thực quản hình ống và dài trên 1/3 chiều dài thân mình [54], [111]. Bảng 3.21 cũng cho thấy 100% ấu trùng không còn đuôi nhọn, trong đó 86,1 % có dạng đuôi chẻ 2, chứng tỏ tất cả ấu trùng đã qua giai đoạn lột xác. Như vậy, với kích thước thân và thực quản, cùng với kết quả 100% có đuôi tù hoặc chẻ 2, cho thấy tất cả ấu trùng đo đạc từ mẫu cấy, đều là ấu trùng giai đoạn 2 (filariform).

Chiều dài xoang miệng trung bình của ấu trùng giai đoạn 2 là 4,5 μm , thấp nhất là 4,0 μm và tối đa là 6,0 μm (bảng 3.21 và hình 3.5C). Đây là 1 cấu trúc tương đối khó quan sát và ít được đề cập bởi từ giai đoạn 2 trở đi ấu trùng khép miệng lại, không còn tiêu hóa thức ăn ngoài [54], [111]. Kích thước trung bình của xoang miệng này cũng phù hợp với tác giả Grove D.I (1989) và Prayong R. và CS (2013) cho rằng xoang miệng của ATGL là từ 4 – 8 μm [90], [54].

Y văn vẫn thường mô tả về đuôi tù và chẻ 2 của ấu trùng 2 giun lươn để phân biệt với ấu trùng 2 của loài giun móc có đuôi nhọn, chính cấu trúc này giúp chẩn đoán phân biệt. Kết quả trong nghiên cứu cho thấy đuôi của ấu trùng

2 dạng tù chiếm 13,9% và chẻ 2 như đuôi chim én là 86,1%. Bảng 3.21 cho kết quả độ rộng của chóp đuôi trung bình là 2,6 μm , đây là chỉ số cần thiết chứng tỏ nơi chóp đuôi không hề nhọn như ấu trùng giun móc và xác định chính xác ấu trùng được chọn lựa trong nghiên cứu là ấu trùng thuộc giống giun lươn. Từ các kết quả vừa nêu, khẳng định được tất cả mẫu ấu trùng là giai đoạn 2 của giun lươn.

4.2.1.3 Giun trưởng thành sống tự do đực và cái

Trong kỹ thuật nuôi cấy, các giai đoạn trưởng thành xuất hiện muộn hơn. Chính vì lý do đó, nghiên cứu này chỉ thu được 5 giun đực và 3 giun cái trưởng thành, khác hoàn toàn với số lượng lớn ấu trùng giai đoạn 2 trong mẫu cấy.

Bảng 3.22 cho kết quả chiều dài trung bình của giun đực là 778,8 μm , chiều ngang trung bình là 45,1 μm . Kết quả này tuy có cao hơn tác giả Prayong R. (khoảng 0,7mm), nhưng hoàn toàn phù hợp với tác giả Grove D. (1989), tác giả này cho khoảng cách chiều dài là 700 – 900 μm . Khác với ấu trùng giai đoạn 2, thực quản của giun trưởng thành phát triển to về chiều ngang và có chiều dài ngắn hơn. Chiều dài trung bình của thực quản là 131,3 μm , chiếm tỷ lệ trung bình chỉ 17% so với chiều dài thân. Gai giao hợp có kích thước trung bình là 33,4 μm , xác định giới tính giun là cá thể trưởng thành đực [90], [54].

Bảng 3.23 cho kết quả chiều dài trung bình của giun cái là 916,7 μm , chiều ngang trung bình là 46,2 μm . Kết quả này nằm trong ngưỡng nhưng lệch về mức thấp so với tác giả Grove D. I. (1989), tác giả này cho khoảng cách chiều dài là 900 – 1.200 μm . Thực quản của giun cái có chiều dài trung bình 130,6 μm gần bằng thực quản giun đực nhưng tỷ lệ so với chiều dài thân trung bình chỉ 14,3% vì thân giun cái dài hơn. 2 nhánh tử cung chứa trứng nằm đối xứng qua bên lỗ sinh dục (hình 3.7B). Tỷ lệ khoảng cách từ lỗ sinh dục đến đầu giun chiếm 49% chiều dài thân, tương đương vị trí giữa thân lệch nhẹ về phía trước. Bên cạnh chiều dài thân, vị trí của lỗ sinh dục cũng là yếu tố phân biệt giữa giun cái sống tự do và sống ký sinh.

Theo tác giả Grove D.I. (1989), sự phân biệt các loài giun lươn bao gồm *S. stercoralis*, *S. ratti*, *S. fuellebornii*, ... và vài loài khác chỉ có thể dựa vào yếu tố hình dạng cấu trúc miệng của giun trưởng thành tùy theo hình vuông, tròn, đa giác, có góc, điều này rất khó thuyết phục bởi nhiều yếu tố bao gồm: sự hiện diện của giun trưởng thành ít gặp, hình dạng miệng chỉ có thể quan sát ở kính hiển vi soi nổi, điểm khác biệt tại miệng giun giúp phân biệt cũng không rõ ràng bởi kích thước miệng quá nhỏ, ... [90], [54]. Vì những lý do trên, trên phương diện hình thái học tương ứng với thiết kế trong nghiên cứu này đã thực hiện, chỉ cho phép xác định chính xác các mẫu được xác định là từ ấu trùng giai đoạn 1, 2 và giun trưởng thành đực/cái của giống giun lươn *Strongyloides* spp.

4.2.2 Kết quả realtime PCR định loài *Strongyloides* spp

Tất cả mẫu ấu trùng của 79 bệnh nhân đã được tiến hành tách chiết, thông qua tiêu chuẩn đánh giá độ tinh sạch của mẫu DNA sau tách chiết do hãng sản xuất. Các mẫu DNA đủ tiêu chuẩn sẽ đưa vào các bước thí nghiệm tiếp theo (phụ lục 2).

Có tổng cộng 70 mẫu đạt tiêu chuẩn có đủ nồng độ DNA (88,6%) được đưa vào thực hiện Realtime PCR. So với các nghiên cứu định loài giun lươn bằng sinh học phân tử tại Việt Nam, đây là nghiên cứu đầu tiên có cỡ mẫu lớn khác biệt so với 7 mẫu trong nghiên cứu của N.V Đề và CS (2017) và 2 mẫu trong nghiên cứu của tác giả D. T. Hồng (2018) [4], [12].

Mẫu nghiên cứu này thấp hơn so với các tác giả Robertson G. M năm 2017 nghiên cứu tại Úc (625), Razan H. Z năm 2012 tại Hy Lạp (115). Tuy nhiên, các tác giả ngoài nước thường chỉ thực hiện với mẫu phân trực tiếp, không phải từ nguồn ấu trùng như trong nghiên cứu này [93], [57].

Hình 3.8 cho thấy kết quả của các đường cong xuất hiện tương ứng tín hiệu của từng loài giun lươn. Có trường hợp nhiễm đơn loài (A) và (C), và đồng nhiễm (B). Bảng 3.24 thống kê trong toàn bộ 70 mẫu nghiên cứu cho kết quả

loài *S. stercoralis* chiếm tỷ lệ ưu thế 97,1%, trong đó có 2,9% đồng nhiễm với *S. ratti*. Kết quả cũng tìm thấy trong thành phần loài có 2,9% nhiễm *S. ratti* đơn thuần.

Kết quả loài *S. stercoralis* chiếm ưu thế (97,1%) phù hợp với các tác giả N. V. Đề (2017) và D. T. Hồng (2018) xác định 100% là loài *S. stercoralis* dù các tác giả này không sử dụng kỹ thuật realtime PCR như chúng tôi [4], [12]. Điểm mạnh trong nghiên cứu này so với kỹ thuật mà các tác giả N. V. Đề (2017) và D. T. Hồng (2018) sử dụng đó là ưu điểm của realtime PCR cho kết quả nhanh, và có thể bán định lượng, tuy nhiên việc phải hoàn thiện quy trình kỹ thuật realtime PCR là điều cần thiết bắt buộc phải thực hiện [94]. Hơn nữa, một ưu thế vượt trội của realtime PCR so với các kỹ thuật phân tử khác là việc áp dụng thực tế cho số lượng mẫu lớn. Nếu thiết kế realtime PCR trong nghiên cứu thành công thì giá trị áp dụng thực tế của đề tài sẽ rất lớn.

Y văn trong và ngoài nước từ trước đến nay vẫn ghi nhận *S. stercoralis* chiếm đa số, và loài *S. fuellebornii* hiện diện rất ít. Tương đồng với y văn, nghiên cứu này cũng tìm thấy kết quả loài *S. stercoralis* chiếm đa số, một lần nữa khẳng định tại huyện Đức Hòa loài giun lươn chiếm đa số vẫn là loài truyền thống *S. stercoralis* [8], [54].

Bên cạnh loài truyền thống, nghiên cứu đã lần đầu tìm ra dấu vết sinh học phân tử của loài giun lươn *S. ratti* gây bệnh cho người. Loài giun lươn *S. ratti* xuất phát ký sinh từ loài chuột và gặm nhấm và nay đã hiện diện ở người. Việc phát hiện loài này bằng hình thể học là vô cùng khó vì hình dạng ấu trùng các loài giun lươn gần như hoàn toàn giống nhau [107], [108].

Bảng 3.25 xác định chu kỳ ngưỡng trung bình cho cả 2 loài giun lươn trong phản ứng là 24 – 25 chu kỳ. Như vậy, so sánh với các quy định dưới 40 chu kỳ của hãng thiết bị, và dưới 35 chu kỳ của quy trình tại Viện SR - KST – CT Trung ương, phản ứng realtime PCR mà chúng tôi thiết lập có kết quả tốt

[94]. So sánh với nghiên cứu Rayan H. Z. (2012) là 28,9 , Polanco Campo L.F. năm 2018 là 29,99 chu kỳ thì kết quả trong nghiên cứu là tương đồng [57],[41].

Kết quả loài truyền thống *S. stercoralis* trong nghiên cứu đã được so sánh đối chiếu với kỹ thuật realtime PCR đơn loài tại Viện SR – KST – CT Trung ương, kết quả phù hợp 100% (68/68) dù tại Viện SR – KST – CT Trung ương quy trình kỹ thuật dùng đoạn mồi giống với nghiên cứu này nhưng khác mồi dò (BHQ thay vì TAMARA). Vấn đề ở bước tiếp theo là khẳng định loài mới *S. ratti*.

Tóm lại, về thực nghiệm, phản ứng realtime PCR đa mồi trong nghiên cứu đã cho kết quả thành công theo thiết kế.

4.2.3 Kết quả PCR lồng và giải trình tự gen

Khi phát hiện loài mới, khả năng chứng minh được thật sự đoạn DNA được tìm thấy có đặc hiệu loài hay không là điều không dễ. Chính vì lẽ đó, nghiên cứu này tiến tới thiết kế xác định loài thông qua phản ứng PCR lồng 2 bước và giải trình tự đoạn gen của các mẫu nghiên cứu.

Khi tiến hành chọn giải trình tự gen, nghiên cứu thiết kế lựa chọn vùng gen DNA mã hóa cho 18S rRNA có tính bảo tồn đặc trưng chuyên biệt cao của các loài *Strongyloides* spp (Hasegawa và cs, 2010). Do đó, giải trình tự các gen DNA mã hóa cho 18S rRNA đã trở thành tiêu chuẩn vàng và cho thấy có sự thay đổi trình tự nucleotide của 18S rDNA giữa các loài thuộc giống *Strongyloides* spp. Đó là điểm đặc hiệu nhận biết loài dùng để phân tích các biến đổi di truyền trong dịch tễ học phân tử.

Với mục tiêu khẳng định lại loài, chúng tôi chia mẫu giải trình tự theo 2 nhóm trên cơ sở loài đã xác định bằng realtime PCR: nhóm 1 gồm 10 mẫu có kết quả loài *S. stercoralis* và nhóm 2 gồm 4 mẫu có dấu ấn phân tử của *S. ratti* tại đoạn gen 28S trong kỹ thuật realtime.

4.2.3.1 Kết quả PCR lồng đoạn gen đặc hiệu *Strongyloides* spp vị trí GenBank AJ417023

Tiến hành thực hiện quy trình PCR lồng 2 bước với đoạn gen 18S ribosom vốn có tính bảo tồn cao, ít biến đổi với độ dài thiết kế là 975 bp. Khi thiết kế phản ứng PCR lồng, trong lần phản ứng lồng thứ 1, nhiều thành phần tạp của mẫu có khả năng sẽ gây nhiễu. Vì vậy, chúng tôi tiếp tục thực hiện bước 2, sản phẩm nhân lượng đoạn gen đích sẽ được tiếp tục nhân lên trong khi các thành phần khác sẽ không được nhân lượng. Điều này sẽ đảm bảo được độ tinh khiết của sản phẩm nhân lượng trước khi đưa vào giải trình tự.

Hình 3.9 cho thấy hình ảnh sản phẩm sau điện di của kỹ thuật PCR lồng. Ở cả bước 1 (hình A) và bước 2 (hình B), các sản phẩm đoạn gen đích đặc thù cho giống *Strongyloides* spp đều hiện rõ. Kết quả thể hiện được đoạn gen đích đã được nhân lượng thành công.

Quy cách sử dụng lồng 2 bước như thiết kế trong nghiên cứu này tuy công phu, nhưng là cơ sở đảm bảo cho kết quả giải trình tự. Kỹ thuật này rất ít được thực hiện tại Việt Nam hoặc nếu có thực hiện chỉ thực hiện duy nhất 1 bước lồng. Giá trị của kỹ thuật này trong nghiên cứu là đánh giá chính xác loài, làm cơ sở để khẳng định thêm tính chính xác của kỹ thuật realtime PCR [4], [12].

4.2.4.2 Kết quả giải trình tự đoạn gen

Sau khi nhân lượng thành công ở phản ứng PCR lồng với tổng thể là 14 mẫu. Sản phẩm được giải trình tự gen tại Malaysia. Kết quả giải trình tự được so sánh với ngân hàng gen trên Blast (NCBI) để xác định chính xác loài.

Bảng 3.26 thể hiện kết quả giải trình tự xác định thành phần có tính tương đồng cao với các mã gen DNA mã hóa cho 18S rRNA của *Strongyloides* spp gây bệnh cho người trên ngân hàng gen. Trên ngân hàng gen thế giới, chưa có bất kỳ vùng trình tự gen này được công bố từ Việt Nam. Vùng trình tự các gen DNA mã hóa cho 18S rRNA của *Strongyloides* spp ký sinh khi gia nhập đã đăng ký trên ngân hàng gen thế giới AB453329.1, AB923889.1, LN609412.1,

AB923888.1, LL999065.1, LM528082.1, LL999063.1, MK369923.1 và LL999126.1 được sử dụng để so sánh trong nghiên cứu này. Mức độ tương đồng cao giữa trình tự gen của các mẫu trong nghiên cứu với trình tự trong ngân hàng gen cao (91,3% - 100 %) đối với *S. stercoralis* và trên 98% đối với *S. ratti*.

Kết quả tương đồng của *S. stercoralis* với ngân hàng gen trong nghiên cứu này tương tự với tỷ lệ 100% của tác giả N.V. Đê (2017) và D.T. Hồng (2018) [4], [12]. Tuy nhiên, các tác giả trên khu trú hơn ở nhóm 2 mẫu và 7 mẫu, nên tỷ lệ dao động sẽ thấp hơn so với nghiên cứu này là tất yếu.

Trình tự gen DNA mã hóa cho 18S rRNA 975 bp của 10 mẫu ấu trùng nhóm nhiễm loài *S. stercoralis* (ví dụ mẫu số 7 hình 3.10) và 4 mẫu ấu trùng nhóm nhiễm loài *S. ratti* (ví dụ mẫu đơn nhiễm 54 hình 3.11) được đưa vào mô hình vẽ cây phân loài và xem xét sự tương đồng giữa các mẫu nghiên cứu.

Bảng 3.27 cho thấy hệ số tương đồng của nhóm 10 mẫu *S. stercoralis* là cao và mã gen gần nhiều nhất là AB923888.1.

Bảng 3.28 cho thấy hệ số tương đồng của nhóm 4 mẫu *S. ratti* là rất cao và mã gen gần nhiều nhất là AB923889.1. Loài *S. ratti* có nguồn gốc từ chuột *Rattus novogicus*. Kết quả nghiên cứu phù hợp với Polanco Campo L F. (2018) tại Braxin, tác giả này cũng tìm thấy được sự hiện diện của *S. ratti* vốn có vật chủ từ chuột.

Trong 2 mẫu đồng nhiễm *S. stercoralis* và *S. ratti* (mẫu 25 và 65), kết quả so sánh mức tương đồng cao nhất thuộc về loài *S. stercoralis*. Như vậy, đoạn gen được nhân lên và giải trình tự trong kết quả là của loài *S. stercoralis*. Kết quả này có thể được giải thích nguyên nhân số lượng mầm bệnh *S. stercoralis* nhiều hơn trong mẫu bệnh phẩm, hoặc đoạn gen của *S. ratti* không được nhân lên qua quá trình lỏng. Kết quả giải trình tự đối với 2 mẫu đồng nhiễm này tuy không khẳng định chắc chắn được loài, nhưng góp phần khẳng định sự thành

công của kỹ thuật realtime PCR đã mới được áp dụng thực nghiệm trên mẫu đồng nhiễm trong nghiên cứu, đặc biệt với loài truyền thống *S. stercoralis*.

Như vậy, với kết quả xác định loài mới là *S. ratti* được phát hiện bằng realtime PCR với 1 đoạn gen (28S), giải trình tự gen xác định sự tương đồng 98% của *S. ratti* tại 1 đoạn gen khác (18S) trên ngân hàng gen, nghiên cứu này đã đưa ra bằng chứng có cơ sở để khẳng định sự hiện diện gây nhiễm của loài *S. ratti* ở mức độ phân tử. Trong tương lai, cần có các nghiên cứu ở các khu vực địa phương khác nhau tại Việt Nam, để đối chiếu với kết quả nghiên cứu này. Và cao hơn nữa, nghiên cứu sử dụng thêm các chỉ dấu di truyền phân tử đặc hiệu khác giúp mô tả rõ hơn về cây phát sinh loài của quần thể *Strongyloides* spp [108], [41], [63].

4.3 Mô tả các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng và đánh giá kết quả điều trị ca bệnh do *Strongyloides* spp với Ivermectin liều duy nhất.

Tổng số bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm giun lươn *Strongyloides* spp đường tiêu hóa được mô tả triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng là 79 trường hợp.

4.3.1 Các triệu chứng lâm sàng

Bảng 3.29 biểu thị số bệnh nhân có triệu chứng là 71 trường hợp (89,9%) và có 8 (10,1%) trường hợp không có bất kỳ triệu chứng nào. Thông thường, bệnh nhân sẽ đến cơ sở y tế khám bệnh nếu có triệu chứng đáng kể, tỷ lệ 89,9% bệnh nhân có triệu chứng trong nghiên cứu này cũng ghi nhận đó là các triệu chứng nhẹ. Người dân vẫn sinh sống và làm việc bình thường. Đây chính là nét đặc trưng của quần thể bệnh nhân nhiễm giun lươn tại cộng đồng. So sánh với nghiên cứu của tác giả N.N. Sơn (2014) và H.H. Quang (2014), không có trường hợp nào không có triệu chứng bởi các tác giả này chọn mẫu là bệnh nhân đến khám tại cơ sở y tế [19], [23]. Trong các cơ sở y tế, việc chẩn đoán và xét nghiệm xác định thường dựa trên các triệu chứng, vậy đối với 10,1% các trường hợp không có triệu chứng lâm sàng nhưng xét nghiệm phân chứng minh

được có sự hiện diện của mầm bệnh, đây được gọi là những người lành mang mầm bệnh với sự phát hiện nhiễm trong phân là tình cờ. Khái niệm người lành mang mầm bệnh đối với giun lươn không được lưu ý nhiều trước đây trong y văn, nay được chứng minh trong nghiên cứu này góp phần cảnh báo cho cộng đồng, bởi theo tính chất sinh bệnh học của giun lươn, nếu có điều kiện thuận lợi, bệnh có nguy cơ bùng phát sang dạng thể bệnh lan tỏa [54], [46].

Bảng 3.29 cũng cho thấy số trường hợp bệnh nhân có đủ cả 3 triệu chứng của tam chứng nhiễm giun lươn là 20 (25,3%), cao hơn tỷ lệ 10,2% và 10% trong nghiên cứu tác giả N.N. Sơn (2014) và H.H. Quang (2014). Như vậy, các triệu chứng cơ năng nhẹ của bệnh cảnh giun lươn đường tiêu hóa cần được chú trọng hơn khi khai thác bệnh sử của bệnh [19], [23].

Bảng 3.30 ghi nhận các triệu chứng kinh điển của tam chứng nhiễm giun lươn là đau bụng (73,4%), mảy đày (57%) và tiêu chảy (từng đợt không thường xuyên) là 41,8%. Kết quả này cho thấy biểu hiện ở đường tiêu hóa là biểu hiện chính của nhiễm giun lươn tại cộng đồng, trong đó đau bụng chiếm tỷ lệ cao nhất và ở mức cao hơn so với nghiên cứu của H.H. Quang cùng CS (71,4%) tại 5 tỉnh miền Trung [20]. Có thể sự khác biệt này là do nghiên cứu của chúng tôi xác định tất cả trường hợp bệnh đều có sự hiện hữu ấu trùng trong đường tiêu hóa, so với tỷ lệ chỉ 30,6% trường hợp có ấu trùng trong nghiên cứu của H.H. Quang và CS [20].

So sánh với tỷ lệ hiện diện triệu chứng đau bụng (81,8%) trong mẫu 22 ca bệnh tìm thấy ấu trùng trong phân của T.T.K. Dung, kết quả của nghiên cứu này thấp hơn (73,4%). Tuy tác giả T.T. K. Dung cũng chọn lựa mẫu nghiên cứu có sự hiện diện ATGL trong phân giống với nghiên cứu này nhưng đối tượng mẫu được khu trú chọn lọc ở nhóm bệnh nhân đến điều trị tại cơ sở y tế, sự thấp hơn này có thể giải thích được bởi bệnh nhân trong mẫu trong nghiên cứu của tác giả T. T. K. Dung có triệu chứng nhiều và nặng hơn, là lý do họ đến cơ sở y tế khám bệnh, dẫn đến tỷ lệ triệu chứng đau bụng là cao hơn. Như vậy, kết

quả chung cho thấy, triệu chứng đau bụng có tỷ lệ cao ở bệnh cảnh giun lươn đường tiêu hoá [6].

Bên cạnh đó, các triệu chứng mày đay và tiêu chảy không thường xuyên, từng đợt cũng cao hơn tác giả H.H. Quang cùng CS với thứ tự 57%, 41,8% so với 23,5% và 10,2%. Với sự chênh lệch này, chính sự khác biệt trong chọn lựa mẫu đã có thể giải thích, tác giả H.H. Quang nêu trên đã không tìm thấy ấu trùng trong phân bệnh nhân mà chẩn đoán dựa vào huyết thanh chẩn đoán. Mầm bệnh giun lươn đang tồn tại trong đường tiêu hóa của nhóm bệnh nhân trong nghiên cứu này đã cho thấy kết quả tỷ lệ triệu chứng cao trong tam chứng nhiễm giun lươn [20].

Tỷ lệ hiện diện triệu chứng đau bụng và mày đay trong nghiên cứu này khá tương đồng hơn khi so với nghiên cứu của Forrea A. và CS (2017), trong nhóm bao gồm 103 bệnh nhân nhiễm giun lươn, tỷ lệ triệu chứng lần lượt là 83,1% và 60,1% [48]. Các tỷ lệ này cao hơn nghiên cứu của chúng tôi không nhiều do cùng cách chọn mẫu như chúng tôi, đã củng cố thêm cho nhận định về các khác biệt so với kết quả nghiên cứu của H.H. Quang và CS là do khác biệt về quần thể chọn bệnh.

Khi so sánh với nghiên cứu của N.V. Đề và CS năm 2017, triệu chứng đau bụng, mày đay trong nghiên cứu của chúng tôi là 73,4%, 57% cao hơn so với 42 % và 21,4%. Thế nhưng tỷ lệ của triệu chứng tiêu chảy lại thấp hơn 41,8% so với 64,3% của tác giả N.V. Đề với quần thể mẫu là các bệnh nhân đến khám tại bệnh viện. Có thể triệu chứng tiêu chảy trong nghiên cứu của tác giả N.V. Đề là một trong các lý do mà bệnh nhân đến khám bệnh. Điều này góp phần khẳng định sự khác biệt của tác giả N.V. Đề với của kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi là do khác biệt về chọn mẫu [4].

Ngoài ra, khi đối chiếu với chu trình phát triển gây bệnh của giun lươn, có những giai đoạn ấu trùng di chuyển trong mô mà không hiện diện ở đường tiêu hóa một cách liên tục, có thể ảnh hưởng đến tỷ lệ hiện diện của các triệu chứng

kinh điển này. Điều này là khách quan khi giải thích sự khác biệt vốn không nhiều về kết quả tỷ lệ hiện diện triệu chứng giữa các nghiên cứu [4], [48], [20].

Vị trí đau ở bụng trong nghiên cứu này được chia làm 3 vùng, đau thượng vị chiếm tỷ lệ cao nhất 41,7%, quanh rốn 21,5% và vùng hạ vị 1018%. Triệu chứng đau bụng mang tính chất cơ năng, khi thăm khám thực thể không xác nhận được vị trí các điểm đau khu trú. Vì thế vị trí đau trong nhiễm giun lươn có thể bị chòong lấp với các vấn đề khác. Điểm này phù hợp với nghiên cứu tại miền Trung của H.H. Quang [12], cũng như nghiên cứu của N.N. Sơn là vị trí thượng vị thường chiếm tỷ lệ cao nhất [23]. Riêng tác giả T.P.M. Siêu ghi nhận 18/22 (81,82%) trường hợp bệnh tìm thấy ấu trùng giun lươn tại dạ dày có triệu chứng đau thượng vị [21].

Trong tỷ lệ đau bụng chung là 83,1% ở nghiên cứu của mình, tác giả Forrer A. và CS (2017) chỉ duy nhất ghi nhận triệu chứng đau thượng vị là 51,7%. Như vậy với cùng kiểu chọn mẫu ở bệnh nhân có ấu trùng trong phân và cư ngụ tại cộng đồng tương tự như nghiên cứu này, so với tỷ lệ 41,7% của chúng tôi xác định, số liệu chênh lệch không nhiều giữa 2 nghiên cứu cho thấy tỷ lệ đau thượng vị của nghiên cứu này có giá trị đáng tin cậy [48].

Với triệu chứng nổi mày đay, điểm ghi nhận trong nghiên cứu là có đến 45,6% vị trí nổi mày đay nhiều ở cánh tay và 2 chân, nhiều hơn rất nhiều so với kiểu nổi mày đay toàn thân (11,4%). Trong các nghiên cứu của tác giả H.H. Quang và N.N. Sơn, kết quả chỉ ghi nhận triệu chứng nổi mày đay mà không xác định vị trí [20], [23]. Tương tự, Tác giả Forrer A và CS (2017) cũng ghi nhận rất nhiều triệu chứng khác nhau của bệnh nhân tại cộng đồng cũng không phân định vị trí [48]. Riêng tác giả HH, Quang và CS ghi nhận 91,3% mày đay là ở thân mình chung với triệu chứng ngứa. Có thể lý giải khi nổi mày đay toàn thân nhiều thì đó là lý do người bệnh đi khám và chữa bệnh tại cơ sở y tế, khác hẳn với thể triệu chứng nhẹ của người dân sống tại cộng đồng và tham gia nghiên cứu này [20], [23].

Bảng 3.30 thể hiện triệu chứng sụt cân chiếm tỷ lệ 11,4%, thể hiện các tác động toàn thân của tình trạng nhiễm trên người bệnh. Đối chiếu với y văn ghi nhận trong bệnh nhiễm giun lươn, sụt cân là hậu quả do tiêu chảy. Trong nghiên cứu, có 41,8% bệnh nhân bị tiêu chảy trong khi chỉ 11,4% sụt cân, có thể đúng sụt cân chính là do tiêu chảy. Theo cơ chế bệnh học, tiêu chảy kéo dài chính là nguyên nhân làm bệnh nhân sụt cân thông qua sự mất nước và điện giải, điều này phù hợp với kết quả của nghiên cứu [8], [77].

Khi so sánh với nghiên cứu tại các tỉnh miền Trung, triệu chứng sụt cân trong nghiên cứu này thấp hơn nhiều so với nhóm tác giả H.H. Quang và CS (2014) xác định tỷ lệ 47,3%. Các tác giả này nghiên cứu trên đối tượng bệnh nhân đến khám tại viện, đây có thể là lý do giải thích cho sự khác biệt vì người bệnh tự đi khám thường có triệu chứng rõ và nặng nề hơn đối tượng đang cư ngụ tại cộng đồng trong nghiên cứu của chúng tôi [20].

Triệu chứng đau đầu chiếm tỷ lệ 62%, đây là triệu chứng cơ năng và chúng tôi ghi nhận sự xuất hiện tỷ lệ cao, nhưng với các đối tượng mắc bệnh trong nghiên cứu này có tuổi trung bình cao (52,97 tuổi), các đối tượng chắc chắn có tiềm ẩn các bệnh lý nội ngoại khoa khác theo quá trình tích tuổi và lão hóa. Dù không thể xem đau đầu là một triệu chứng chính yếu và quan trọng của bệnh giun lươn đường tiêu hóa, nhưng việc ghi nhận triệu chứng đau đầu trong nghiên cứu đã thể hiện được phần nào sự ảnh hưởng của bệnh không chỉ khu trú tại đường tiêu hóa mà còn tác hại toàn thân khác. Từ đó, để xác định rõ vai trò của triệu chứng đau đầu, cần thực hiện nghiên cứu phân tầng các nhóm triệu chứng và bệnh lý nền khác khi phân tích sẽ có hướng xác định cụ thể hơn.

Hiện tượng ấu trùng di chuyển dưới da vùng chi dưới được ghi nhận ở 3 trường hợp (3,8%). Về cơ chế bệnh sinh, điều này hoàn toàn phù hợp đối với tác nhân giun lươn vốn có khả năng xâm nhập qua da tương tự như giun móc [8], [13]. Tỷ lệ trên thấp hơn không nhiều so với tỷ lệ 4,35% trong nghiên cứu

của tác giả H.H. Quang (2013) tại miền Trung [12], nhưng lại thấp hơn khá đáng kể so với N.V. Đề và CS (2017) xác định là 7,1% [4].

Bên cạnh khác biệt về yếu tố địa điểm thu mẫu của nhóm đối tượng nghiên cứu là bệnh nhân đến viện, đối tượng trong nghiên cứu của chúng tôi tuy chọn từ cộng đồng nhưng thuần túy được chẩn đoán bằng việc xác định ấu trùng từ đường tiêu hoá. Các tác giả vừa nêu lại chọn lựa tiêu chí chẩn đoán từ xét nghiệm huyết thanh, có nghĩa dạng bệnh trong các nghiên cứu đó phân tán, đa dạng hơn nghiên cứu này, góp phần giải thích lý do cho sự khác biệt về tỷ lệ triệu chứng ấu trùng di chuyển.

4.3.2 Các kết quả cận lâm sàng

Khi khảo sát về số lượng bạch cầu ái toan trong máu các bệnh nhân nghiên cứu, bảng 3.31 thể hiện số lượng tăng đáng kể với mức trung bình là $694,56/\text{mm}^3$. So với mức trung bình của người bình thường có chỉ số tuyệt đối dưới 500 [3], [113]. Bảng thể hiện có 59,5% người bệnh nhiễm giun lươn có tăng BCAT, kiểm tra sự khác biệt này có ý nghĩa $p < 0,01$. Như vậy, ở người bệnh nhiễm giun lươn đường tiêu hoá, BCAT sẽ tăng số lượng tuyệt đối trong máu.

Năm 2009, T.T.K. Dung ghi nhận giá trị trung bình của BCAT là $640,27/\text{mm}^3$, gần bằng với kết quả trong nghiên cứu. Các đối tượng chọn mẫu trong nghiên cứu của T.T.K. Dung hoàn toàn giống với tiêu chuẩn chọn mẫu của nghiên cứu này nhưng có cỡ mẫu nhỏ hơn, do đó kết quả số lượng trung bình BCAT của nghiên cứu này là đáng tin cậy [6].

Khảo sát hiện tượng tăng BCAT theo tỷ lệ ở ngưỡng 8% [15], [113], kết quả xác định được 55,7% số bệnh nhân có tăng, điểm này khác biệt nhẹ so với 59,5% nếu lấy giá trị tuyệt đối. Sự khác nhau này được giải thích nguyên nhân do số lượng bạch cầu trong máu người là một số không cố định [18]. Giá trị trung bình của tỷ lệ % BCAT xác định trong nghiên cứu này là 9,24%, khác biệt có ý nghĩa so với mức 8% ($p < 0,05$). Như vậy, tăng tỷ lệ % BCAT là phổ

biến trong bệnh nhiễm giun lươn đường tiêu hoá, và tăng tương đối đồng bộ với giá trị BCAT tuyệt đối.

Các nghiên cứu trong và ngoài nước vẫn thường xét sự tăng BCAT dựa vào tỷ lệ % hơn là giá trị tuyệt đối [18], [20], [4]. H.H Quang năm 2014 ghi nhận tỷ lệ tăng BCAT là 93% dù tác giả lấy mức ngưỡng là 6%, nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả thấp hơn rất nhiều, điểm lý giải có thể do khác biệt về mẫu nghiên cứu, tác giả trên thu chọn đối tượng dựa vào xét nghiệm ELISA và bệnh nhiễm giun lươn không khu trú ở đường tiêu hoá. Ấu trùng có thể đang ở mô hoặc vị trí nội tạng nào khác dẫn tới hiện tượng tăng BCAT nhiều hơn và khác nhiều so với mẫu nghiên cứu của chúng tôi [19]. Tác giả N.V. Đề và CS năm 2017 tìm thấy tỷ lệ tăng % BCAT trong 1 nghiên cứu là 77,7%, cao hơn tỷ lệ 55,7% của chúng tôi dù chọn là mức BCAT tương tự (8%), sự khác biệt cũng được ghi nhận do sự khác nhau về đối tượng mẫu nghiên cứu [4].

Ngược lại với sự tăng quá cao của 2 nghiên cứu vừa nêu, N.N. Sơn và CS chỉ tìm thấy tỷ lệ tăng BCAT từ 20,8 - 33,3% ở nhóm bệnh nhân nhiễm giun lươn có hội chứng dạ dày tá tràng. Tác giả đã chọn ngưỡng tăng 5% nhưng kết quả lại thấp hơn rất nhiều so với tỷ lệ 55,7%. Trong cùng bệnh cảnh giun lươn đường tiêu hoá, tác giả N.N Sơn chọn các bệnh nhân tổn thương đường tiêu hoá trên và dựa vào ELISA để chẩn đoán, trong khi chúng tôi lại chọn người dân cộng đồng có xét nghiệm phân dương tính và tổn thương thường ở ruột non và đại tràng [23]. Vậy có thể tạm lý giải sự khác biệt này là do vị trí tổn thương khác nhau từ đường tiêu hoá tạo ra hoặc do sự khác biệt của tiêu chuẩn chọn ca bệnh. Để giải thích xác đáng tỷ lệ tăng BCAT trong từng dạng bệnh cụ thể vừa nêu, thiết nghĩ cần có các phân tích đoàn hệ ở nhóm bệnh và chứng khác nhau và phải có cùng tiêu chí chẩn đoán [9].

Khi chia mức độ tăng BCAT thành 3 mức: bình thường, tăng nhẹ và tăng cao, bảng 3.27 biểu thị phần lớn BCAT của bệnh nhân có mức độ tăng nhẹ từ

500 đến 1500 chiếm tỷ lệ cao nhất (51,9%), mức độ tăng cao chiếm tỷ lệ thấp hơn (7,6%).

Trong thực hành lâm sàng, để chẩn đoán nhiễm giun sán, dấu hiệu tăng BCAT vẫn thường được sử dụng như giá trị gợi ý trước khi tiến hành các xét nghiệm có tính chất xác định. Do vậy, cần cảnh giác bởi nếu dựa quá nhiều vào việc tăng BCAT đơn thuần trước khi chỉ định xét nghiệm chuyên biệt xác định nhiễm giun sán, nguy cơ bỏ sót bệnh sẽ cao vì có tới 40,5 % bệnh nhân có bằng chứng nhiễm giun sán mà không có tăng BCAT. Từ đó cho thấy, chúng ta cần cân nhắc giảm chỉ số ngưỡng BCAT trong bệnh nhiễm giun sán hay không nhằm tránh bỏ sót ca bệnh [8], [18].

Trước đây, chỉ số bạch cầu ái toan được xác định ở mức tuyệt đối là 300 tế bào / μ l [18], nhưng thời gian gần đây Bộ y tế qui định chung cho mầm bệnh giun sán là mức 500 tế bào/ μ l, không có qui định cho riêng mầm bệnh giun sán [3]. Những nghiên cứu chọn mức 6% tương đương giá trị tuyệt đối khoảng 400 tế bào/ μ l như nghiên cứu của tác giả H.H.Quang và CS (2014) cho kết quả tỷ lệ tăng BCAT (93%) nhiều hơn nghiên cứu này (ngưỡng 500 tế bào/ μ l) là khách quan. Đây là một ví dụ minh chứng cho ý kiến đề xuất về ngưỡng BCAT cho từng tác nhân KST gây bệnh, cụ thể là đối với tác nhân giun sán [19].

Bảng 3.32 biểu hiện tỷ lệ kết quả xét nghiệm huyết thanh dương tính ở các bệnh nhân nhiễm giun sán đường tiêu hoá đạt 96,2%. Thông số này cao hơn báo cáo của hãng về độ nhạy của bộ thử nghiệm là 89,47% (KTC 95%: 75,2 – 97%). Kết quả của nghiên cứu nằm trong khoảng tin cậy được công bố của hãng cho thấy việc áp dụng kỹ thuật chẩn đoán với bộ xét nghiệm này trong nghiên cứu là phù hợp. Tuy vậy, nếu muốn trả lời giả thiết đặt ra về việc sử dụng kỹ thuật ELISA thay thế xét nghiệm phân trong chẩn đoán bệnh nhiễm giun sán đường tiêu hóa, thiết nghĩ cần có nhiều nghiên cứu lặp lại, trên những nhóm đối chứng, cũng như chọn lựa bộ thử nghiệm khác nhau để minh chứng.

Giá trị dương tính trung bình là $32,37 \pm 23,26$ NTU. So với giá trị ngưỡng bình thường < 10 NTU, sự khác biệt có ý nghĩa rõ ($p < 0,01$). Điều này thể hiện kết quả về lượng kháng thể (biến thiên thuận theo thông số kết quả) ở những người bị nhiễm bệnh giun lươn là tương đối cao. Tuy nhiên, việc định lượng kháng thể này không thể khẳng định được mức độ nặng nhẹ của bệnh, cũng như không thể xác định được chính xác thời gian bị nhiễm. Đối chiếu theo khả năng đáp ứng sinh kháng thể đặc hiệu IgG ở người, thời gian tính từ khi nhiễm cho đến kết quả dương tính tối thiểu là hơn 2 tuần, xảy ra đồng thời với ghi nhận các triệu chứng mạn tính của bệnh trong nghiên cứu này [8], [54].

Trong một nghiên cứu năm 2012, tác giả T.T. Hồng và CS xác định vẫn tồn tại 6% số trường hợp bệnh nhân nhiễm giun lươn đường tiêu hoá có kết quả huyết thanh âm tính ($n = 47$) [14]. Trong nghiên cứu này, tuy phát hiện giá trị âm tính giả thấp hơn nhưng để kết luận bộ test sử dụng là tốt hơn thì chưa thể hoàn toàn khẳng định bởi còn nhiều giá trị khác tác động và cần lặp lại với mẫu khác. Điểm thống nhất giữa nghiên cứu này và tác giả T.T Hồng là vẫn xuất hiện những trường hợp bệnh nhân dù được chứng minh nhiễm giun lươn nhưng cơ thể vẫn không thể sinh kháng thể IgG dẫn tới kết quả âm tính của ELISA, và hoàn toàn phù hợp với tác giả Grove D.I (1989) ghi nhận tỷ lệ không tìm thấy kháng thể là từ 2 – 8% [54].

Xét nghiệm ELISA còn cho kết quả âm tính ở những bệnh nhân bị ức chế miễn dịch dù rằng xét nghiệm phân hoặc đàm tìm thấy mật độ ấu trùng cao, đặc biệt ở những trường hợp có hội chứng tăng nhiễm [8], [67]. Giải thích cho hiện tượng trên, bên cạnh việc không sản sinh kháng thể do suy giảm miễn dịch, kết quả không sinh được kháng thể đặc hiệu chống mầm bệnh còn được giải thích thông qua hiện tượng dung nạp miễn dịch. Hiện tượng dung nạp miễn dịch xảy ra tùy cơ địa bệnh nhân, và có một tỷ lệ nhất định ở người. Trong nghiên cứu này, kết quả của ELISA phù hợp với y văn và thể hiện bằng số liệu thực tế cho thấy đó là điểm mạnh và tin cậy.

Những kết quả về xét nghiệm phân, công thức máu, ELISA cũng đồng cho thấy không một phương pháp xét nghiệm nào cho kết quả hoàn toàn chính xác tuyệt đối. Điều cần thiết là sự phối hợp của nhiều yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng cũng như dịch tễ học để có chẩn đoán quyết định cuối cùng [3], [10]. Với các chỉ số kết quả thu được từ nghiên cứu, sẽ là dữ liệu quan trọng cho việc áp dụng vào thực tế lâm sàng, điều trị và theo dõi bệnh.

4.3.3 Hiệu quả điều trị của ivermectin liều duy nhất

4.3.3.1 Đáp ứng lâm sàng

Trong quá trình theo dõi điều trị, tại thời điểm sau 6 tuần chỉ có 57 trường hợp tham gia đánh giá được về xét nghiệm phân. Vì thế bảng 3.33 được xây dựng trên cơ sở 57 trường hợp bệnh nêu trên và xác định mức độ thay đổi các triệu chứng sau điều trị.

Bảng 3.33 cho thấy các triệu chứng đau bụng, tiêu chảy, ấu trùng di chuyển dưới da có mức độ khỏi cao hơn mức độ giảm, ngược lại triệu chứng mày đay lại có tỷ lệ giảm cao hơn khỏi hẳn (51,2% so với 10,3%). Điểm này có thể lý giải do triệu chứng mày đay nằm trong tam chứng nhiễm giun lươn kinh điển nhưng bản chất lại là phản ứng toàn thân, liên quan đến nhiều hệ thống cơ quan khác nhau của cơ thể và sự hồi phục của triệu chứng cần nhiều thời gian sau điều trị [77]. Bảng 3.33 cũng cho thấy triệu chứng đau đầu và sụt cân không giảm chiếm tỷ lệ cao (71,4 % và 75%, trái ngược hoàn toàn với các nhóm triệu chứng còn lại.

Bảng 3.33 cũng ghi nhận được triệu chứng AT di chuyển dưới da đáp ứng điều trị tốt nhất (100% khỏi), mức độ không giảm của các triệu chứng đau bụng và tiêu chảy khá thấp (25% và 30,8%) . Như vậy, các triệu chứng về đường tiêu hóa cải thiện đáng kể, các kết quả này có thấp hơn tác giả H.H .Quang và CS (2014) khi xác định hiệu quả điều trị của ivermectin là 84,6% [19]. Điểm khác biệt này có thể được lý giải bởi tác giả H.H. Quang theo dõi điều trị tại thời

điểm 3 tháng và nhóm bệnh nhân được chọn là bệnh nhân đến viện khám trong khi nghiên cứu này chỉ theo dõi tại thời điểm 6 tuần.

4.3.3.2 *Đáp ứng cận lâm sàng*

Bảng 3.34 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân theo dõi xét nghiệm sau điều trị giảm dần theo thời gian. Tại thời điểm 6 tuần, tỷ lệ bệnh nhân còn tham gia nghiên cứu là 57 trường hợp (72,2%). Tỷ lệ mất mẫu sau điều trị dưới 30% là tỷ lệ có thể chấp nhận được trong các nghiên cứu tiến cứu. Điểm quan trọng là số trường hợp còn theo dõi vẫn cao hơn 50, đảm bảo được việc phân tích kết quả và giá trị của nghiên cứu [25].

Tại thời điểm 2 tuần sau điều trị với liều ivermectin duy nhất, tỷ lệ sạch ấu trùng là 97,3 % tương đương số ca còn nhiễm là 2. Tuy nhiên khi xét nghiệm kiểm tra tại thời điểm 4 tuần sau điều trị, xuất hiện thêm 1 trường hợp xét nghiệm có nhiễm giun lươn, tỷ lệ âm tính hóa chỉ còn 95,1%. Số ca con dương tính vẫn giữ nguyên đến thời điểm 6 tuần. Như vậy, tại thời điểm 6 tuần sau điều trị, dù không xuất hiện thêm ca nhiễm nào nhưng tính trên tổng số mẫu được kiểm tra tỷ lệ âm tính hoá của Ivermectin là 94,7%.

Bảng 3.34 cũng đồng cho thấy việc cần thiết xét nghiệm lặp lại trong việc xác định hiệu quả của thuốc. Với xét nghiệm phân theo dõi hiệu quả của điều trị, dù áp dụng kỹ thuật nuôi cấy có khả năng phát hiện tương đối cao nhưng từ thời điểm 2 đến 4 tuần sau điều trị, đã xuất hiện 1 trường hợp dương tính. Đối chiếu với chu trình phát triển của giun lươn thì có thể có các trường hợp có thể xảy ra:

(1) Đây không phải là 1 trường hợp mới nhiễm mà là việc điều trị chưa âm tính hoàn toàn, nhiều khả năng số lượng mầm bệnh có giảm dần tới kết quả âm tính tại thời điểm 2 tuần, nhưng sau đó gia tăng và có kết quả dương tính sau đó, khi đó khoảng thời gian tương ứng với chu kỳ phát triển có tính thuyết phục hơn [54], [13].

(2) Chưa thể loại trừ nguyên do tại kỹ thuật xét nghiệm: có thể bệnh nhân còn nhiễm giun nhưng kỹ thuật xét nghiệm phân không phát hiện vì mỗi kỹ thuật cũng chỉ có khả năng phát hiện nhất định. Bảng 3.19 chỉ ra xét nghiệm cấy cũng chỉ đạt 93,7% là một ví dụ. Hoặc có thể phối hợp cả 2 lý do (1) và (2) vừa nêu.

(3) Đối chiếu theo chu kỳ phát triển của giun lươn, tính từ khi xâm nhập đến khi có thể sản sinh ấu trùng là 17 – 21 ngày. Trong trường hợp này, sự xuất hiện trong thời gian 28 ngày. Nếu tính trừ đi 1 ngày thuốc đào thải ra khỏi cơ thể như vậy, sự tái nhiễm nếu có sẽ xảy ra tại thời điểm từ ngày thứ 2 đến hết tuần đầu sau uống thuốc. Về lý thuyết là cơ hội này vẫn có thể xảy ra, nhưng xác suất có thể thấp hơn 2 tình huống đầu, hoặc phối hợp cả hai. Một điểm không ủng hộ cho tình huống này đó là trong 54 trường hợp còn lại cả trong 6 tuần vẫn không xảy ra tình huống tái nhiễm. Một lần nữa lý giải khả năng tái nhiễm là rất thấp.

Dù vậy, trên quan điểm dịch tễ học điều trị, trường hợp vừa nêu vẫn được xem xét là trường hợp chưa thành công của thuốc bởi cần chấp nhận những lý do có xác suất đúng cao hơn. Và một lần nữa cho thấy, sự cần thiết đánh giá nhiều thời điểm phù hợp.

Trong nghiên cứu so sánh đối chiếu giữa ivermectin và albendazol trong điều trị giun lươn được thực hiện tại miền Trung, H.H. Quang và CS đã xác định tỷ lệ thành công đối với ivermectin liều duy nhất là 95,8%, cao hơn nghiên cứu này không đáng kể, như vậy ivermectin liều duy nhất điều trị cho bệnh lý giun lươn đường tiêu hoá trong nghiên cứu này có kết quả tốt [19].

Kết quả sạch ấu trùng 94,7% với liều duy nhất ivermectin trong nghiên cứu này cũng tương đồng với kết quả 95,2% trong nghiên cứu của Barda B. và CS (2017) tại cho thấy hiệu quả tốt của thuốc [37]. Tuy nhiên năm 2003, Adenusi và CS lại chỉ tìm thấy hiệu quả sau điều trị 30 ngày chỉ đạt 84,1%, thấp hơn khá nhiều so với kết quả mà chúng tôi xác định. Tuy vậy, Adenusi và

CS vẫn kết luận đây là thuốc tốt có hiệu quả cao khác biệt so với thuốc thiabendazol trong nghiên cứu so sánh của mình [32].

4.3.3.3 Hiệu quả điều trị của ivermectin liều duy nhất

Hiệu quả của thuốc còn cần được xem xét ở góc độ phối hợp giữa sự cải thiện lâm sàng và cận lâm sàng. Bảng 3.35 xem xét sự phối hợp trên theo quy ước khỏi bệnh, giảm và không khỏi cho thấy: có 18 trường hợp đạt tiêu chuẩn khỏi bệnh chiếm tỷ lệ 31,6%, thấp hơn so với tỷ lệ giảm bệnh là 56,1%. Có 12,3% không khỏi bệnh trong đó thất bại về xét nghiệm chiếm 5,3% và 7% thất bại về triệu chứng lâm sàng. Tuy nhiên, nếu tính theo hiệu quả điều trị gộp từ mức giảm đến khỏi bệnh hoàn toàn thì bảng 3.35 cho kết quả 87,7%. Kết quả này cao hơn không nhiều so với H.H. Quang và CS năm 2014 là 84,6% nhưng cũng cho thấy ivermectin có hiệu quả tốt trong điều trị nhiễm giun lươn.

Như vậy, việc xác định cần thiết kiểm tra sự âm tính hóa nhiều lần vào các thời điểm khác nhau trong nghiên cứu đã cho kết quả chính xác hơn. Với kết quả sạch ấu trùng 94,7% cùng với hiệu quả điều trị từ giảm đến khỏi hẳn là 87,7% , ivermectin vẫn là thuốc được ưu tiên lựa chọn trong điều trị bệnh nhiễm giun lươn [3], [10].

Trong tương lai, để mở rộng hơn, cần có thêm các nghiên cứu kế tiếp nhằm so sánh có nhóm chứng, với nhiều phác đồ ở các liều lượng thuốc, thời gian điều trị và thời điểm đánh giá khác nhau. Từ đó sẽ có thể xây dựng chiến lược và phác đồ sử dụng ivermectin hiệu quả và toàn diện.

4.3.4 Tác dụng không mong muốn của thuốc ivermectin

Do khi xác định 79 trường hợp nhiễm giun lươn và tiến hành điều trị, nghiên cứu đã ghi nhận tác dụng ngoại ý trên toàn thể mẫu 79 trường hợp. Các tác dụng phụ của thuốc ivermectin liều duy nhất được ghi nhận từ ngày 1 đến ngày thứ 3 sau điều trị (48 giờ sau uống) với tiêu chảy 4/79 (5,1%), ngứa gia tăng 2/79 (2,5%); các triệu chứng chóng mặt, buồn nôn, phát ban đỏ trên da có đồng tỷ lệ 1,3 % (1/79). Nghiên cứu không ghi nhận được bất cứ tác dụng nặng

nè nào khác. Như vậy, các tác dụng ngoại ý này nhẹ và tự hết không đáng kể tương tự như tác giả Barda B. ghi nhận trong nghiên cứu so sánh giữa ivermectin và moxidectin trong năm 2017 [37].

Trong nghiên cứu, tác dụng phụ tiêu chảy gặp nhiều nhất là 5,1%. Triệu chứng tiêu chảy này được qui định là sự xuất hiện mới, lượng nhiều và mức độ nhiều hơn 3 lần trong 2 ngày liên tục sau uống thuốc nhằm phân biệt với triệu chứng tiêu chảy dây dưa của bệnh nhiễm giun lươn. Các trường hợp tiêu chảy này cũng mất đi sau đó mà không cần can thiệp hỗ trợ, như vậy tác dụng gây tiêu chảy của thuốc cũng được xem là nhẹ và tự hết.

So với nghiên cứu của tác giả H.H. Quang (2014) lại ghi nhận tác dụng phụ là đau bụng và buồn nôn gặp nhiều nhất (6,66%) [19]. Nghiên cứu này có sự không tương đồng và có tỷ lệ thấp hơn nhẹ (1,3%). Tương tự như thế, sự không tương đồng còn trong nghiên cứu của tác giả Adenusi và CS lại ghi nhận đau đầu mới là tác dụng phụ gặp nhiều nhất (9,0%) trong khi trong nghiên cứu này tỷ lệ đau đầu cũng chỉ là 1,3%. Điều lý giải cho sự khác biệt không nhiều trong cả 2 trường hợp này đó có thể chính do nguồn thuốc can thiệp. Tuy có cùng hoạt chất ivermectin giống nhau, nhưng với mỗi loại thuốc biệt dược khác nhau, đăng ký sản xuất tại các quốc gia khác nhau, thậm chí tại một quốc gia nhưng giữa các hãng và trong các thời điểm không giống nhau vẫn luôn tiềm ẩn các sự khác biệt [46].

Tổng hợp tất cả các tác dụng phụ đã được ghi nhận trong các nghiên cứu khác nhau và cùng với kết quả của nghiên cứu này cho thấy sử dụng ivermectin có ít triệu chứng tác dụng không mong muốn [32].

KẾT LUẬN

Nghiên cứu thực trạng nhiễm giun lươn trên 1.190 người dân tại huyện Đức Hoà, Long An năm 2017 – 2018, chúng tôi thu được kết quả như sau:

1. Thực trạng nhiễm giun và các yếu tố liên quan

1.1 Tỷ lệ nhiễm giun lươn

- Tỷ lệ nhiễm giun lươn tại huyện Đức Hòa 6,64%, được xếp vào vùng lưu hành của bệnh.

- Xã Đức Lập Thượng có tỷ lệ nhiễm cao nhất là 12,4%, thấp nhất là thị trấn Đức Hòa tỷ lệ nhiễm là 2,1 %. Tại các xã Mỹ Hạnh Nam, Hiệp Hòa và An Ninh Tây, tỷ lệ nhiễm giun lươn là 7,4%, 4,5% và 4,4%.

- Nam giới nhiễm giun lươn 11,0% nhiều hơn nữ giới. Người làm nghề nông nhiễm giun lươn 15,3% cao hơn nghề khác nhiễm 3,8%; nhóm tuổi trên 60 có tỷ lệ nhiễm giun lươn 15,5% cao hơn nhóm 15 – 60 tuổi nhiễm 6,9%.

1.2 Các yếu tố liên quan

Có mối liên quan giữa tình trạng nhiễm giun lươn với tình trạng kinh tế, nghề nông nghiệp tình trạng sử dụng hố xí và thói quen tiếp xúc đất trong sinh hoạt hàng ngày, trong đó

- Người nghèo và cận nghèo có nguy cơ nhiễm gấp 2,08 lần người có kinh tế trung bình trở lên.

- Nghề nông có nguy cơ nhiễm gấp 2,07 lần nghề khác.

- Người sử dụng hố xí không HVS có nguy cơ nhiễm gấp 3,3 lần so với sử dụng hố xí HVS.

- Người thường hay tiếp xúc trực tiếp với đất có nguy cơ nhiễm giun lươn hơn những người còn lại 2,69 lần.

2. Thành phần loài giun lươn gây bệnh

Đã phát hiện và xác định được 2 loài giun lươn gây bệnh là *S. stercoralis* và *S. ratti* bằng kỹ thuật SHPT. Loài gây bệnh chủ yếu là *S. stercoralis* chiếm tỷ lệ 97,1%, đồng nhiễm 2 loài là 2,9% và đơn nhiễm *S. ratti* là 2,9%.

Chẩn đoán hình thể chỉ xác định được giống *Strongyloides* spp, trong đó: AT giai đoạn 1 dài $279,9 \pm 17,5 \mu\text{m}$, AT giai đoạn 2 dài $576,4 \pm 24,9 \mu\text{m}$, giun đực sống tự do dài $778,8 \pm 27,7 \mu\text{m}$, giun cái tự do $916,7 \pm 216 \mu\text{m}$.

3. Các triệu chứng lâm sàng và hiệu quả điều trị của ivermectin liều duy nhất 0,2mg/kg.

3.1 Triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng

- Triệu chứng kinh điển của bệnh nhiễm giun lươn là đau bụng, mày đay và tiêu chảy chiếm tỷ lệ 73,4%, 57% và 41,8%. Các triệu chứng khác như đau đầu, sụt cân, ấu trùng di chuyển dưới da chiếm tỷ lệ thấp hơn.

- Có 10,1% bệnh nhân nhiễm giun lươn không có triệu chứng lâm sàng.

- Với bệnh nhân nhiễm giun lươn, kết quả xét nghiệm ELISA dương tính chỉ đạt tỷ lệ 96,2%.

- BCAT không tăng trong 40,5% số trường hợp bệnh. Trong các trường hợp tăng BCAT, mức độ tăng nhẹ chiếm đa số là 51,9%.

3.2 Kết quả điều trị Ivermectin liều duy nhất 0,2mg/kg cân nặng

Sau 6 tuần điều trị, hiệu quả điều trị từ giảm đến khỏi bệnh hoàn toàn là 87,7%, trong đó:

- Tỷ lệ sạch ấu trùng giun lươn trong phân sau điều trị 2 tuần là 97,3% và 6 tuần là 94,7%.

- Các dấu hiệu lâm sàng có mức độ khỏi nhiều hơn giảm bao gồm đau bụng 50%, tiêu chảy 38,4% và ấu trùng di chuyển 100%. Triệu chứng đau đầu và sụt cân khỏi là 23,8% và 25%. Triệu chứng mày đay chủ yếu giảm nhiều hơn khỏi hẳn là 51,2%.

3.3 Tác dụng ngoại ý của thuốc ivermectin liều duy nhất

- Triệu chứng tiêu chảy nhiều nhất chiếm tỷ lệ 5,1%, ngứa gia tăng là 2,5%. Các triệu chứng chóng mặt, buồn nôn, phát ban đỏ trên da có đồng tỷ lệ 1,3 %.

- Các tác dụng ngoại ý nhẹ, tự khỏi và không cần can thiệp điều trị.

KIẾN NGHỊ

Từ các kết quả nghiên cứu thu được, chúng tôi có các kiến nghị sau

1. Tăng cường công tác phòng chống giun lươn tại cộng đồng huyện Đức Hòa, tỉnh Long An. Căn cứ vào các yếu tố có liên quan đến bệnh như: tình trạng kinh tế, nghề nông nghiệp, tình trạng sử dụng hồ xí và thói quen sinh hoạt được tìm thấy, làm cơ sở để xây dựng chương trình phòng chống hiệu quả.
2. Ứng dụng quy trình realtime PCR đã xác định trong nghiên cứu để chẩn đoán chính xác bệnh giun lươn. Nghiên cứu áp dụng kỹ thuật realtime PCR với các loại bệnh phẩm khác.
3. Ứng dụng hiệu quả điều trị tốt của thuốc ivermectin đối với giun lươn trong công tác điều trị ca bệnh tại bệnh viện và điều trị hàng loạt cho cộng đồng.
4. Sử dụng nguồn mẫu ấu trùng, huyết thanh, và mẫu phân của nghiên cứu làm cơ sở phát triển các nghiên cứu mới về mầm bệnh giun lươn tại các tỉnh phía Nam.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Đề tài cung cấp chi tiết các số liệu khoa học có giá trị về thực trạng nhiễm giun lươn và các yếu tố liên quan của bệnh nhiễm giun lươn tại nhiều điểm nghiên cứu của huyện Đức Hòa tỉnh Long An.
2. Cung cấp chi tiết về sự hiện diện các triệu chứng, xét nghiệm cận lâm sàng của các ca bệnh nhiễm giun lươn đường tiêu hóa.
3. Xác định được hiệu quả điều trị của thuốc ivermectin về lâm sàng và hiệu quả sạch ấu trùng, làm cơ sở xây dựng chương trình can thiệp thích hợp.
4. Lần đầu tiên xác định sự hiện diện thêm 1 loài giun lươn ở người dân huyện Đức Hòa có nguồn gốc từ động vật, bằng kỹ thuật khoa học và hiện đại.
5. Bước đầu thiết lập được kỹ thuật qui trình realtime PCR trong chẩn đoán đồng thời 2 loài giun lươn: loài *S. stercoralis* và loài mới *S. ratti*.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC LIÊN QUAN TRỰC
TIẾP ĐẾN NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ**

TT	Tên bài báo, tạp chí
1	Le Duc Vinh, Nguyen Kim Thach, Huynh Hong Quang (2017). “Morphological characterization and real-time PCR for the detection of human <i>Strongyloides</i> spp. in Long An province in 2017”. <i>Journal of malaria and parasite diseases control</i> , Vol 6 (102), pp. 3 – 8.
2	Lê Đức Vinh, Trần Thị Hồng, Vũ Văn Du, Nguyễn Kim Thạch, Huỳnh Hồng Quang (2018), Báo cáo loạt ca nhiễm giun lươn <i>Strongyloides stercoralis</i> tại cộng đồng huyện Đức Hòa, tỉnh Long An và hiệu quả điều trị bằng ivermectin liều duy nhất từ tháng 3/2017 – 12/ 2017”. <i>Tạp chí phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng</i> , Số 5(107), tr. 24 – 39.
3	Lê Đức Vinh, Cao Bá Lợi, Vũ Văn Du, Trần Thị Hồng (2019), Thực trạng nhiễm giun lươn đường ruột <i>Strongyloides stercoralis</i> tại huyện Đức Hòa, tỉnh Long An từ tháng 3/2017 – 12/ 2017. <i>Tạp chí phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng</i> , Số 4(112), tr. 35 – 42.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Vũ Thị Lâm Bình và các cộng sự. (2014), "Thực trạng nhiễm giun lươn đường ruột tại xã Dương Thành, huyện Phú Bình, tỉnh Thái Nguyên và hiệu quả điều trị giun lươn bằng Albendazole", *Tạp chí PC bệnh sốt rét và các bệnh KST*. 3, tr. 5-9.
2. Vũ Thị Lâm Bình và các cộng sự. (2014), "Thực trạng nhiễm giun lươn đường ruột tại xã Dương Thành, huyện Phú Bình, tỉnh Thái Nguyên và xã Cáo Điền, huyện Hạ Hòa, tỉnh Phú Thọ", *Tạp chí PC bệnh sốt rét và các bệnh KST*. 3, tr. 10-14.
3. Bộ Y tế (2016), "Định nghĩa ca bệnh nhiễm giun theo ICD. Tài liệu hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh truyền nhiễm", tr. 33.
4. Nguyễn Văn Đề, Phạm Ngọc Minh và Trần Văn Thanh (2017), "Biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng và xác định loài giun lươn *Strongyloides stercoralis* ký sinh ở người", *Tạp chí Phòng chống Bệnh sốt rét và các Bệnh KST*. 2(98), tr. 15-20.
5. Trần Thị Kim Dung và CS (2006), "Phát hiện bệnh nhiễm giun lươn bằng kỹ thuật cấy phân trên thạch", *Tạp chí y học thực hành Tp.HCM*. tập 10(1), tr. 88 - 90.
6. Trần Thị Kim Dung và các cộng sự. (2009), "Tìm hiểu các đặc điểm của bệnh nhiễm giun lươn trên các bệnh nhân nhập viện có triệu chứng lâm sàng ở dạ dày tá tràng", *Y học Tp. HCM*. 13(1), tr. 1-8.
7. Trần Thanh Dương và CS (2015), *Dịch tễ học - Ký sinh trùng y học. Giun lươn*, Giáo trình sau đại học, nhà xuất bản y học, tr. 478-481.
8. Trần Thanh Dương và CS (2016), *Ký sinh trùng y học. Giun lươn*, Giáo trình sau đại học, nhà xuất bản y học, tr. 288-300.
9. Trần Thanh Dương và CS (2017), *Thống kê y sinh học ứng dụng. Phân tích tương quan*, Giáo trình giảng dạy sau đại học, NXB Y học, tr.134-176.
10. Trần Thanh Dương và CS (2018), *Quy trình xét nghiệm chuẩn, Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng. Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị và phòng bệnh giun lươn*, nhà xuất bản y học, tr.254-258.

11. Lê Thanh Hòa (2007), "Chẩn đoán phân loại ký sinh trùng bằng các phương pháp truyền thống và sinh học phân tử", *Tạp chí y học thực hành Tp.HCM.* tập 11(2), tr. 1 - 8.
12. Dương Thị Hồng và các cộng sự. (2019), Định danh ấu trùng giun lươn *Strongyloides stercoralis* thu từ bệnh nhân bằng kỹ thuật phân tử dựa trên trình tự gen 18S. *Kỷ yếu hội nghị ký sinh trùng toàn quốc lần thứ 46*, NXB Học viện nông nghiệp.
13. Trần Thị Hồng và CS (2017), *Ký sinh trùng y học.* Giun lươn *Strongyloides* spp, Nhà xuất bản Y học, tr. 147-155.
14. Trần Thị Hồng và Lê Đức Vinh (2012), "Giá trị của phương pháp ELISA trong chẩn đoán nhiễm giun lươn *Strongyloides stercoralis*", *Tạp chí y học thực hành Tp.HCM.* tập 16(1), tr. 24 - 29.
15. Nguyễn Thu Hương và các cộng sự. (2014), "Tổng hợp và cập nhật y văn thế giới về bệnh ký sinh trùng giun lươn ở người: căn bệnh nhiệt đới bị lãng quên", *Tạp chí PC bệnh sốt rét và các bệnh KST.* 5, tr. 4-13.
16. Phan Hữu Vy Lan, Lê Đức Vinh và Trần Thị Hồng (2001), "Điều tra tình hình nhiễm giun móc - giun lươn tại xã Trung Lập Thượng, huyện Củ Chi, Tp.HCM", *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh.* 5(1), tr. 25-29.
17. Trần Xuân Mai và các cộng sự. (2010), *Ký Sinh Trùng Y học: Giun lươn Strongyloides stercoralis*, NXB Y học, tr. 202-210.
18. Trần Xuân Mai và các cộng sự. (2010), *Ký Sinh Trùng Y học: Tăng Bạch cầu toan tính trong bệnh ký sinh trùng*, NXB Y học.
19. Huỳnh Hồng Quang và Nguyễn Văn Chương (2014), "So sánh hiệu lực ivermectin với albendazole trong điều trị bệnh nhân nhiễm ấu trùng giun lươn *Strongyloides stercoralis* ", *Tạp chí y học thực hành Tp.HCM.* tập 18(6), tr. 116-122.
20. Huỳnh Hồng Quang, Nguyễn Văn Chương và CS (2013), "Lâm sàng, cận lâm sàng và hiệu lực phác đồ albendazole (ALB) trên bệnh nhân nhiễm ấu trùng giun lươn *Strongyloides stercoralis* chưa biến chứng tại 5 tỉnh

- ven biển miền Trung, Việt Nam", *Tạp chí y học thực hành Tp.HCM.* tập 17(1), tr. 116-122.
21. Trần Phủ Mạnh Siêu và CS (2006), "Bệnh nhiễm giun lươn đường tiêu hóa - nhân một số trường hợp lâm sàng", *Tạp chí y học thực hành Tp.HCM.* tập 10(1), tr. 105 - 109.
 22. Trần Phủ Mạnh Siêu và CS (2007), "Nhân một trường hợp viêm màng não thứ phát do nhiễm *Strongyloides stercoralis* tại bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới, Tp Hồ Chí Minh", *Tạp chí y học thực hành Tp.HCM.* tập 11(2), tr. 58 - 61.
 23. Nguyễn Ngọc Sơn và Trần Thị Hồng (2007), "Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và hiệu quả của albendazole trong điều trị nhiễm *Strongyloides stercoralis* ở bệnh nhân có biểu hiện rối loạn tiêu hóa", *Tạp chí y học thực hành Tp.HCM.* 11(2), tr. 67 - 73.
 24. Trần Thị Khánh Tường (2007), "Một trường hợp nhiễm giun lươn lan tỏa trên bệnh nhân sử dụng corticosteroid. ", *Tạp chí y học thực hành Tp.HCM,* . tập 11(2), tr. 54 - 57.
 25. Viện Vệ Sinh Dịch Tễ Trung Ương (2013), *Thống kê y học. Cách tính cỡ mẫu,* Giáo trình giảng dạy sau đại học, NXB Y học.
 26. Trần Thị Huệ Vân và các cộng sự. (2017), "Báo cáo trường hợp hội chứng tăng nhiễm giun *Strongyloides stercoralis* trên bệnh nhân có hội chứng Cushing do thuốc", *Tạp chí Phòng chống Bệnh sốt rét và các Bệnh KST.* Số đặc biệt(96), tr. 254-259.
 27. Lê Đức Vinh và Trần Thị Hồng (2005), "Điều tra nhiễm *Strongyloides* sp. bằng các phương pháp xét nghiệm phân cải tiến tại xã Phú Mỹ Hưng, huyện Củ Chi Thành phố Hồ Chí Minh ", *Y học Tp. HCM.* 9(4), tr. 101-105.
 28. Lê Đức Vinh và các cộng sự. (2007), "Điều tra tình hình nhiễm giun móc và giun lươn bằng phương pháp cấy phân cải tiến tại xã Phú Hòa Đông, huyện Củ Chi, Tp. Hồ Chí Minh từ tháng 7/2006 đến tháng 12/2006", *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh.* 11(2), tr. 39-42.

Tiếng Anh

29. Yee B., et al. (2015), "*Strongyloides stercoralis* Hyperinfection Syndrome Presenting as Severe, Recurrent Gastrointestinal Bleeding, Leading to a Diagnosis of Cushing Disease, *Am J Trop Med Hyg.* 93(4), pp. 822-7.
30. Abah, A. E. and Arene, F. O. (2015), Status of Intestinal Parasitic Infections among Primary School Children in Rivers State, Nigeria, *J Parasitol Res.* 2015, p. 937096.
31. Abdullah, A., et al. (2018), Disseminated Strongyloidiasis in Association with Nephrotic Syndrome, *Case Rep Nephrol Dial.* 8(2), pp. 155-160.
32. Adenusi, AA, Oke, AO, and Adenusi, AO (2003), Comparison of ivermectin and thiabendazole in the treatment of uncomplicated human *Strongyloides stercoralis* infection, *African Journal of Biotechnology.* 11(2), pp. 465-469.
33. Ahmad, A. F., Hadip, F., Ngui, R., Lim, Y. A., and Mahmud, R. (2013), Serological and molecular detection of *Strongyloides stercoralis* infection among an Orang Asli community in Malaysia, *Parasitol Res.* 112(8), pp. 2811-6.
34. Amor A., et al. (2016), High prevalence of *Strongyloides stercoralis* in school-aged children in a rural highland of north-western Ethiopia: the role of intensive diagnostic work-up, *Parasit Vectors.* 9(1), p. 617.
35. Aragon, Silvia, Valero, Juan, Jaramillo, and Lina Eugenia (2017), Intestinal mass in a one year old child: An unusual presentation of *Strongyloides stercoralis* infection. Case report, *Journal of Pediatric Surgery Case Reports.* 20, pp. 29-32.
36. Aung, Mppthh, et al. (2018), Prevalence and associated risk factors of *Strongyloides stercoralis* infection in Lower Myanmar, *Trop Med Health.* 46, p. 43.
37. Barda B et al (2017), Efficacy of Moxidectin Versus Ivermectin Against *Strongyloides stercoralis* Infections: A Randomized, Controlled Noninferiority Trial, *Clin Infect Dis.* 65(2), pp. 276-281.
38. Belhassen-Garcia, M., et al. (2017), Surveillance of strongyloidiasis in Spanish in-patients (1998-2014), *PLoS One.* 12(12), p. e0189449.

39. Bogoch, II., et al. (2015), Failure of ivermectin per rectum to achieve clinically meaningful serum levels in two cases of *Strongyloides* hyperinfection, *Am J Trop Med Hyg.* 93(1), pp. 94-6.
40. Buonfrate D and Gobbi F (2016), Treatment for chronic *Strongyloides stercoralis* infection: moderate-to-low evidence shows that ivermectin is more effective and tolerable than albendazole and thiabendazole, respectively, *Evid Based Med*(3), p. 102.
41. Campo-Polanco, L. F., et al. (2018), Strongyloidiasis in humans: diagnostic efficacy of four conventional methods and real-time polymerase chain reaction, *Rev Soc Bras Med Trop.* 51(4), pp. 493-502.
42. Cohen, R., Finn, T., Babushkin, F., Shapiro, M., Uda, M., and Grossman, T.. (2018), *Streptococcus pyogenes* bacteremia and toxic shock syndrome related to *Strongyloides stercoralis* hyperinfection: a case report, *J Med Case Rep.* 12(1), p. 346.
43. De Mendoza, C., et al. (2019), Clinical Presentation of Individuals With Human T-Cell Leukemia Virus Type-1 Infection in Spain, *Open Forum Infect Dis.* 6(2), p. ofz036.
44. Dib JR, et al (2015), Prevalence of intestinal parasitic infection among children from a shanty town in Tucuman, Argentina, *Trop Biomed.* 2, p. 5-12.
45. Dogan, C., Gayaf, M., Ozsoz, A., Sahin, B., et al. (2014), Pulmonary *Strongyloides stercoralis* infection, *Respir Med Case Rep.* 11, pp. 12-5.
46. Farthing, Michael, et al. (2018), *Management of strongyloidiasis* .
47. Formenti, F., et al. (2019), A diagnostic study comparing conventional and real-time PCR for *Strongyloides stercoralis* on urine and on faecal samples, *Acta Trop.* 190, pp. 284-287.
48. Forrer A., et al. (2017), *Strongyloides stercoralis* is associated with significant morbidity in rural Cambodia, including stunting in children, *PLoS Negl Trop Dis.* 11(10), p. e0005685.
49. Franklin A.Neva and Harold W. Brown (1994), *Basic clinical parasitology* Appleton & Lange.
50. Galiano, A., Trelis, M., Moya-Herraiz, A., Sanchez-Plumed, J., and Merino, J. F. (2016), Donor-derived *Strongyloides stercoralis*

- hyperinfection syndrome after simultaneous kidney/pancreas transplantation, *Int J Infect Dis*. 51, pp. 19-21.
51. Getaz, L., et al. (2019), Epidemiology of *Strongyloides stercoralis* infection in Bolivian patients at high risk of complications, *PLoS Negl Trop Dis*. 13(1), p. e0007028.
 52. Gonzalez-Ibarra, F., et al. (2014), Strongyloidiasis and diffuse alveolar hemorrhage in a patient with systemic lupus erythematosus, *Case Rep Med*. 2014, p. 278390.
 53. Grossi, P. A., Lombardi, D., Petrolo, A., Rovelli, C., et al. (2018), *Strongyloides stercoralis* Hyperinfection in an HIV-Infected Patient Successfully Treated with Subcutaneous Ivermectin, *Trop Med Infect Dis*. 3(2).
 54. Grove, David I (1989), *Strongyloidiasis: a major roundworm infection of man*, Taylor and Francis - London - Newyork - Philadenphia.
 55. H Moghaddassani, H Mirhendi, M Hosseini, , MB Rokni, Gh Mowlavi2, and Kia, *Eb (2011), Molecular diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection by PCR detection of specific DNA in human stool samples, *Iranian J Parasitol*. 6 (2), pp. 23 - 30.
 56. Hailegebriel Tamirat, Petros Beyene, and Tekola, Endeshaw (2017), Evaluation of parasitological methods for the detection of of *Strongyloides stercoralis* among individuals in selected health institutions in Addis Ababa, Ethiopia, *Ethiopian Journal of Health Sciences*. 27(5), p. 515.
 57. Hanan Z, Rayan, Rasha H, Soliman, and Galal, Nahla M. (2012), Detection od *Strongyloides stercoralis* in fecal samples usins conventional parasitological techniques and realtime PCR: a comparative study, *PUJ*. 5(1), pp. 27 - 34.
 58. Heinz Mehlhorn et al (2016), *Human parasites: Diagnosis, Treatment, Prevention*, Vol. 1, Springer Nature, Switzerland
 59. Henriquez-Camacho C et al (2016), Ivermectin versus albendazole or thiabendazole for *Strongyloides stercoralis* infection, *Cochrane Database Syst Rev*(1).
 60. Hunt, V. L., et al. (2016), The genomic basis of parasitism in the *Strongyloides* clade of nematodes, *Nat Genet*. 48(3), pp. 299-307.

61. Intapan, P. M., et al. (2005), Comparison of the quantitative formalin ethyl acetate concentration technique and agar plate culture for diagnosis of human strongyloidiasis, *J Clin Microbiol.* 43(4), pp. 1932-3.
62. J., Burton, et al. (1998), *Human parasitology*, Academic press. San diego - London - Boston - New York - Sydney - Tokyo - Toronto. .
63. J.J. Verweij, M. Canales, K. Polman, J. Ziem, E. A. Brienen A. M. Polderman, and L. V. Lieshout (2009), Molecular diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in fecal samples using real-time PCR, *Trans R Soc Trop Med Hyg* 103, pp. 342-346.
64. Jitra Waikagul and Malinee Thairunggoj (1999), *Diagnostic helminthology laboratory manual*, Faculty of tropical medicine. Mahidol university.
65. Jongsuksuntigul P, Intapan PM, Wongsaroj T, Nilpan S, Singthong S, Veerakul S, and Maleewong W. (2003), Prevalence of *Strongyloides stercoralis* infection in Northeastern Thailand (agar plate culture detection). , *J Med Assoc Thai.* 86 (8), pp. 737 -741.
66. Jongwutiwes S, Charoenkorn M, Sitthichareonchai P, Akaraborvorn P, and Putaporntip C. (1999), Increased sensitivity of routine laboratory detection of *Strongyloides stercoralis* and hookworm by agar-plate culture, *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 93(4), pp. 398-400.
67. Keiser, P. B. and Nutman, T. B. (2004), *Strongyloides stercoralis* in the Immunocompromised Population, *Clinical Microbiology Reviews.* 17(1), pp. 208-217.
68. Khieu, V., et al. (2014), High prevalence and spatial distribution of *Strongyloides stercoralis* in rural Cambodia, *PLoS Negl Trop Dis.* 8(6), p. e2854.
69. Khieu, V., et al. (2014), Prevalence and risk factors of *Strongyloides stercoralis* in Takeo Province, Cambodia, *Parasit Vectors.* 7, p. 221.
70. Knopp, S., et al. (2014), Diagnostic accuracy of Kato-Katz, FLOTAC, Baermann, and PCR methods for the detection of light-intensity hookworm and *Strongyloides stercoralis* infections in Tanzania, *Am J Trop Med Hyg.* 90(3), pp. 535-545.

71. Kobayashi J, Hasegawa H, Soares EC, Toma H, Dacal AR, Brito MC, Yamanaka A, Foli AA, and Sato Y. (1996), Studies on prevalence of *Strongyloides* infection in Holambra and Maceio, Brazil, by the agar plate faecal culture method, *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 38(4), pp. 279-84.
72. Kristanti H, et al. (2018), Diagnostic comparison of Baermann funnel, Koga agar plate culture and polymerase chain reaction for detection of human *Strongyloides stercoralis* infection in Maluku, Indonesia., *Parasitol Res*. 117(10), pp. 3229-3235.
73. Krolewiecki, A. J., et al. (2018), Transrenal DNA-based diagnosis of *Strongyloides stercoralis* (Grassi, 1879) infection: Bayesian latent class modeling of test accuracy, *PLoS Negl Trop Dis*. 12(6), p. e0006550.
74. Laoraksawong, P., et al. (2018), Current high prevalences of *Strongyloides stercoralis* and *Opisthorchis viverrini* infections in rural communities in northeast Thailand and associated risk factors, *BMC Public Health*. 18(1), p. 940.
75. Llewellyn S et al (2016), Application of a Multiplex Quantitative PCR to Assess Prevalence and Intensity Of Intestinal Parasite Infections in a Controlled Clinical Trial, *PLoS Negl Trop Dis*. 10(1).
76. Loutfy MR, Wilson M, Keystone JS, and Kain KC (2002), Serology and eosinophil count in the diagnosis and management of Strongyloidiasis in a non - endemic area, *Am J Trop Med Hyg*. 66(6), pp. 749 -52.
77. Mandell, Douglas and Bennett (2009), *Principles and practice of infectious diseases*, Churchill Livingstone.
78. Marchi Blatt J and Cantos GA. (2003), Evaluation of techniques for the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in human immunodeficiency virus (HIV) positive and HIV negative individuals in the city of Itajai, Brazil, *Braz J Infect Dis*(6), pp. 402-8.
79. Meysam Sharifdini, et al. (2018), Molecular diagnosis of strongyloidiasis in a population of an endemic area through nested-PCR, *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 11(1), pp. 68-74.
80. MR Nilforuoshan et al (2007), A DNA - based identification od *Strongyloides stercoralis* Isolates from Iran, *Iranian J Parasitol*. 36(3), pp. 16-20.

81. MS, Khuroo (2014), Hyperinfection strongyloidiasis in renal transplant recipients , *BMJ Case Rep*.
82. Natrajan, K., et al. (2018), Strongyloidosis Hyperinfection Syndrome in an HIV-Infected Patient: A Rare Manifestation of Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome, *Case Rep Infect Dis*. 2018, p. 6870768.
83. Nutman, T. B. (2017), Human infection with *Strongyloides stercoralis* and other related *Strongyloides* species, *Parasitology*. 144(3), pp. 263-273.
84. Page, W., Judd, J. A., and Bradbury, R. S. (2018), The Unique Life Cycle of *Strongyloides stercoralis* and Implications for Public Health Action, *Trop Med Infect Dis*. 3(2).
85. Paula, F. M., Malta Fde, M., Marques, P. D., Sitta, R. B., et al. (2015), Molecular diagnosis of strongyloidiasis in tropical areas: a comparison of conventional and real-time polymerase chain reaction with parasitological methods, *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 110(2), pp. 272-4.
86. Pocaterra L. A., et al. (2017), Improved Detection of *Strongyloides stercoralis* in Modified Agar Plate Cultures, *Am J Trop Med Hyg*. 96(4), pp. 863-865.
87. Prasongdee T. K., et al. (2017), An eleven-year retrospective hospital-based study of epidemiological data regarding human strongyloidiasis in northeast Thailand, *BMC Infect Dis*. 17(1), p. 627.
88. Ra, H., Chung, J. W., Chung, D. H., et al. (2019), Strongyloidiasis Presenting as Yellowish Nodules in Colonoscopy of an Immunocompetent Patient, *Clin Endosc*. 52(1), pp. 80-82.
89. Rascoe LN et al (2015), Development of Ss-NIE-1 recombinant antigen based assays for immunodiagnosis of Strongyloidiasis, *PLoS Negl Trop Dis*. 9(4).
90. Rdomyos, Prayong, et al. (2013), *Atlas of medical parasitology*, 9 ed, Thailand.
91. Repetto SA et al (2016), Comparison between PCR and larvae visualization methods for diagnosis of *Strongyloides stercoralis* out of endemic area: A proposed algorithm, *Acta Trop*. , pp. 169-77.

92. Reyes, F., Singh, N., Anjuman-Khurram, N., Lee, J., and Chow, L. (2017), *Strongyloides* Hyperinfection Syndrome causing fatal meningitis and septicemia by *Citrobacter koseri*, *IDCases*. 10, pp. 102-104.
93. Robertson, G. J., et al. (2017), Application of PCR-Based Tools to Explore *Strongyloides* Infection in People in Parts of Northern Australia, *Trop Med Infect Dis*. 2(4).
94. S. Kramme, N. Nissen, H. Soblik, K. Erttmann,, E. Tannich, B. Fleischer, M. Panning,, and N. Brattig (2011), Novel real-time PCR for the universal detection of *Strongyloides* species, *J Med Microbiology*. 60, pp. 454-458.
95. S.H. Gillespie and P.M Hawwkey (1996), *Medical parasitology: a practice approach*, Oxford university press.
96. Saradna, A., Shenoy, A., Ambesh, P., and Kamholz, S. (2018), *Strongyloides* Hyperinfection and Miliary Tuberculosis Presenting with Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion in a Malnourished Patient, *Cureus*. 10(3), p. e2349.
97. Schar, F., et al. (2013), *Strongyloides stercoralis*: Global Distribution and Risk Factors, *PLoS Negl Trop Dis*. 7(7), p. e2288.
98. Senephansiri P., et al. (2017), Status and Risk Factors of *Strongyloides stercoralis* Infection in Rural Communities of Xayaburi Province, Lao PDR, *Korean J Parasitol*. 55(5), pp. 569-573.
99. Seo, A. N., et al. (2015), Comorbid gastric adenocarcinoma and gastric and duodenal *Strongyloides stercoralis* infection: a case report, *Korean J Parasitol*. 53(1), pp. 95-9.
100. Sharifdini, M., Mirhendi, H., Ashrafi, K., Hosseini, M., et al. (2015), Comparison of Nested Polymerase Chain Reaction and Real-Time Polymerase Chain Reaction with Parasitological Methods for Detection of *Strongyloides stercoralis* in Human Fecal Samples, *Am J Trop Med Hyg*. 93(6), pp. 1285-91.
101. Shields, A. M., et al. (2014), *Strongyloides stercoralis* hyperinfection presenting as subacute small bowel obstruction following immunosuppressive chemotherapy for multiple myeloma, *BMJ Case Rep*. 2014.

102. Silva, M. L., Ines Ede, J., Souza, A. B., Dias, V. M., et al. (2016), Association between *Strongyloides stercoralis* infection and cortisol secretion in alcoholic patients, *Acta Trop.* 154, pp. 133-8.
103. Sitta RB, et al. (2014), Conventional PCR for molecular diagnosis of human strongyloidiasis., *Parasitology.* 14(5), pp. 716-21.
104. Suntaravitun, P. and Dokmaikaw, A. (2018), Prevalence of Intestinal Parasites and Associated Risk Factors for Infection among Rural Communities of Chachoengsao Province, Thailand, *Korean J Parasitol.* 56(1), pp. 33-39.
105. Tanaka T., et al. (2016), Relationship Among *Strongyloides stercoralis* Infection, Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 Infection, and Cancer: A 24-Year Cohort Inpatient Study in Okinawa, Japan, *Am J Trop Med Hyg.* 94(2), pp. 365-370.
106. Tuyizere, A., et al. (2018), Prevalence of *Strongyloides stercoralis* infection and other soil-transmitted helminths by cross-sectional survey in a rural community in Gisagara District, Southern Province, Rwanda, *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 112(3), pp. 97-102.
107. Viney, M. and Kikuchi, T. (2017), *Strongyloides ratti* and *S. venezuelensis* - rodent models of *Strongyloides* infection, *Parasitology.* 144(3), pp. 285-294.
108. Viney, Mark E. and Lok, YJames B. (2007), *Worm book. Strongyloides* spp, pp. 1-11.
109. Watts, M. R., James, G., Sultana, Y., Ginn, A. N., et al. (2014), A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for *Strongyloides stercoralis* in stool that uses a visual detection method with SYTO-82 fluorescent dye, *Am J Trop Med Hyg.* 90(2), pp. 306-11.
110. Wesółowska, M., Rymer, W., Kicia, M., and Popiołek, M. (2018), Concurrent infection of a young tourist by hookworm and *Strongyloides stercoralis* during low budget travel in Southeast Asia, *Helminthologia.* 55(2), pp. 166-172.
111. WHO (1991), *Basis laboratory methods in medical parasitology*, Geneve, pp. 67-71.

112. Wilson, A. and Fearon, D. (2018), Paediatric Strongyloidiasis in Central Australia, *Trop Med Infect Dis.* 3(2).
113. Wilson M. E and Weller p.F. (2004), *Eosinophilia.Tropical infectious diseases: principles, pathogens, and practice.* , Churchill Livingstone USA, pp. 1478-1495.
114. Winnicki, W., Eder, M., Mazal, P., Mayer, F. J., Sengolge, G., and Wagner, L. (2018), Prevalence of *Strongyloides stercoralis* infection and hyperinfection syndrome among renal allograft recipients in Central Europe, *Sci Rep.* 8(1), p. 15406.
115. Zaghlool, D. A., Hassan, A. A., , Moustafa, A. M., and Shahin, W. A. (2016), A case of fatal gastrointestinal ,haemorrhage due to hyperinfection with *Strongyloides stercoralis*, *J Parasit Dis.* 40(4), pp. 1347-1350.

Phụ lục 1: Kỹ thuật cấy phân và sinh học phân tử RT - PCR
CÁY PHÂN LÊN GIẤY LỌC TRONG BỊCH NY LON
(Sasa, 1986)

Vật liệu

- Bịch ny lon có khóa miệng (110 x 130) . Giấy lọc 90 x 45 mm
- Nước cất. Muỗng nhựa phết phân
- Hũ đựng phân tươi

Kỹ thuật

1. Trét phân tươi lên ở phần giữa tờ giấy lọc chừa 2 đầu khoảng 2 – 3 cm
2. Đổ 20 ml nước cất vào túi ny lon
3. Đặt miếng giấy lọc vào túi ny lon, phân ở trên mặt nước độ 1 cm để không làm bắn nước.
4. Treo túi nylon thẳng đứng, kẹp thêm 2 ống hút nhựa cố định bằng băng kẹp để oxy vào.
5. Ủ 1 – 2 ngày, ở nhiệt độ 25-28⁰C, sẽ có Ấu trùng thực quản ụ phình, ủ từ ngày 3 -7 ngày sẽ có ấu trùng thực quản hình ống.
6. Dùng kẹp mở nắp, lấy giấy lọc hơi lửa bỏ đi.
7. Chưng cách thủy nước trong ống nghiệm 50⁰C trong 15 phút
8. Chuyển qua ống ly tâm.
9. Ly tâm, xem cận bằng kính hiển vi.

Ghi chú:

Khâu 7, 8 thay bằng: Để ống đứng yên 30 phút cho lắng cặn. lọc bỏ phần nước nổi. Cho Còn 70 vào cố định phân cặn.

Khâu 1 – 8: Tiến hành tại cộng đồng

Khâu 9: Tiến hành tại Bộ Môn Ký Sinh Y Học

Lượng phân sử dụng khoảng 10 g



Hình ảnh phương pháp cấy Sasa triển khai trong nghiên cứu



Thu mẫu nước cây, xét nghiệm tìm ấu trùng giun lươn

PP REALTIME PCR ỨNG DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU

Nguyên tắc của Real-time PCR: Là một dạng PCR định lượng sử dụng máy luân nhiệt phát huỳnh quang để nhân lượng những chuỗi nucleic acid và đồng thời đo nồng độ của nó. Hai đoạn mồi (primer) và một đoạn dò Taqman (probe) khoảng 24-30 bp đặc hiệu của gene được sử dụng. Taqman probe có đầu 5' gắn chất phát huỳnh quang (reporter) và đầu 3' gắn chất hấp phụ tương ứng (quencher). Khi có sản phẩm PCR hình thành thì Taqman probe sẽ bắt cặp vào sợi khuôn và sẽ bị Taq polymerase, có hoạt tính 5'-3' exonuclease, cắt bỏ để tổng hợp sợi bổ sung. Vì vậy reporter sẽ rời ra và phát huỳnh quang khi có nguồn sáng kích thích.

- Càng nhiều sản phẩm khuếch đại thì reporter tự do càng nhiều. Đo lường giá trị của việc gia tăng huỳnh quang trên đường nền (baseline) trong 3-15 chu kỳ chỉ ra sự tích tụ của sản phẩm PCR.
- Chu kỳ ngưỡng Ct (Threshold cycle) là số chu kỳ mà tại đó lượng huỳnh quang thoát ra vượt quá ngưỡng cố định. Nếu số lượng bản sao của gen đích ban đầu cao thì lượng huỳnh quang gia tăng càng nhanh và giá trị Ct sẽ nhỏ hơn so với số lượng bản sao của gen đích ban đầu thấp.

Thực hiện

Tách chiết DNA:

Tách chiết DNA của *Strongyloides* spp bằng phương pháp màng lọc silica với bộ tách chiết High Pure PCR Template Preparation Kit-Roche. theo hướng dẫn của nhà sản xuất mục tách chiết ADN từ mẫu mô dựa trên nguyên lý sử dụng cột silica gắn chọn lọc ADN.

- Chuẩn bị các dung dịch tách chiết:
 - + Thêm 25ml dung dịch cồn ethanol tuyệt đối (96-100%) vào lọ đựng dung dịch đệm AW1 trước khi sử dụng lần đầu tiên, đánh dấu và ghi ngày tháng năm lên thành và nắp ống;
 - + Thêm 30ml dung dịch cồn ethanol tuyệt đối (96-100%) vào lọ đựng dung dịch đệm AW2 trước khi sử dụng lần đầu tiên, đánh dấu và ghi ngày tháng năm lên thành và nắp ống.
- Lấy 5mg mẫu ấu trùng cho vào ống 1,5mL đã ghi ký hiệu mẫu tương ứng;
- Thêm 180µl đệm ATL vào ống đựng mẫu ở điều kiện nhiệt độ phòng;
- Thêm 20µl proteinase K vào ống mẫu, trộn đều trên máy trộn vortex trong vòng 15 giây;

- Ủ trên máy lắc ủ nhiệt khô ở 56⁰C, tốc độ lắc 900 vòng/phút trong thời gian từ 5-6 tiếng hoặc qua đêm cho đến khi mẫu mô được ly giải hoàn toàn;
- Thêm 200µl đệm AL vào ống mẫu và trộn đều trên máy trộn vortex trong 15 giây;
- Thêm 200µl cồn Ethanol tuyệt đối vào ống mẫu, trộn đều bằng máy trộn vortex trong 15 giây;
- Ủ ống mẫu ở nhiệt độ phòng trong 5 phút;
- Ly tâm nhanh ống mẫu;
- Chuyển toàn bộ dung dịch mẫu lên cột Cột High Pure PCR đã ghi ký hiệu mẫu tương ứng;
- Ly tâm cột ở tốc độ 8000 vòng/phút trong 1 phút;
- Chuyển cột Cột High Pure PCR sang ống thu hồi 2ml mới;
- Thêm 500µl đệm AW1 vào cột QIAamp MinElute;
- Ly tâm cột ở tốc độ 8000 vòng/phút trong 1 phút;
- Chuyển cột Cột High Pure PCR sang ống thu hồi 2ml mới;
- Thêm 500µl đệm AW2 vào cột QIAamp MinElute;
- Ly tâm cột ở tốc độ 8000 vòng/phút trong 1 phút;
- Chuyển cột Cột High Pure PCR sang ống thu hồi 2ml mới;
- Ly tâm ở tốc độ tối đa (13.200 vòng/phút) trong 3 phút;
- Chuyển cột Cột High Pure PCR sang ống 1,5ml mới đã ghi ký hiệu mẫu tương ứng;
- Thêm 50µl đệm AE lên màng của cột QIAamp MinElute;
- Ly tâm ở tốc độ tối đa (13.200 vòng/phút) trong 1 phút để thu hồi ADN.
- Các ống đựng ADN được bảo quản ở nhiệt độ 2⁰C- 8⁰C trong vòng 1 tuần và chuyển vào bảo quản ở -20⁰C cho thời gian dài.

Chạy real time PCR

Thực hiện quy trình phản ứng Realtime PCR dựa trên các nguyên tắc được thiết kế như sau:

Định danh giống *Strongyloides spp* trên trình tự 28S rRNA gen vị trí GenBank U39490 theo S. Kramme và cộng sự (2011) [94].

– Môi xuôi StroS: 5'-TTA GAG TCG TGT TGC TTG GAA-3'.

– Môi ngược StroAS: 5'-GTG CAA CTG GCT CTG TAT GC-3'.

– Đoạn dò StroP3: HEX-5'-CTG TGA AGG AAA ATT GCA AAG TAC TCC GGA-3'-TAMRA.

Định danh loài *S. stercoralis* dùng trình tự gen Stro 18S vị trí GenBank AF279916 theo J.J. Verweij và cộng sự 2009 [63].

– Mồi xuôi 1530 F: 5'-GAA TTC CAA GTA AAC GTA AGT CAT TAG C-3'

– Mồi ngược 1630 R: 5'-TGC CTC TGG ATA TTG CTC AGT TC-3'

– Đoạn dò 1586T: FAM-5'-ACA CAC CGG CCG TCG CTG C-3'-BHQ

Định danh loài *S. ratti* dùng đoạn gen Srat 28S vị trí GenBank DQ14570 theo M. R Watts và cộng sự (2014) [109].

– Mồi xuôi SratF: 5'-GCA GCC TTG AAA ATG GAT GG-3'

– Mồi ngược SratR: 5'-CTG TTG CGG ATA TGG GTA CG-3'

– Đoạn dò SratP: Cy5-5'-CGA AGT GGA AAA GGG TTT CAC G-3'-TAMRA

Cách tiến hành:

Mỗi mẫu được pha theo công thức trong bảng 2.2, chạy thành 2 PCR (duplicate) và kết quả cuối cùng (C_t) là trung bình cộng của hai lần thực nghiệm.

Từ kết quả thực nghiệm, qui trình chẩn đoán realtime PCR định loài được xác định thực tế như sau:

- Mỗi PCR (giếng) = 5 μ l DNA + 20 μ l PCR mix (1 mẫu chuẩn bị 40 μ l PCR mix)

- Chu trình nhiệt của phản ứng Real-time PCR:

+ Giai đoạn 1: 15 phút tại 95°C

+ Giai đoạn 2: 40 chu kỳ bao gồm 15 giây tại 95°C và 1 phút tại 60°C.

- Mẫu chứng DNA dương tính của *S. stercoralis*: được thu thập từ ấu trùng nuôi trong môi trường nhân tạo.

- Chứng âm: không cho mẫu DNA

Sự phát hiện, nhân lượng và các thông số kỹ thuật được phân tích bằng hệ thống Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR, Mỹ.

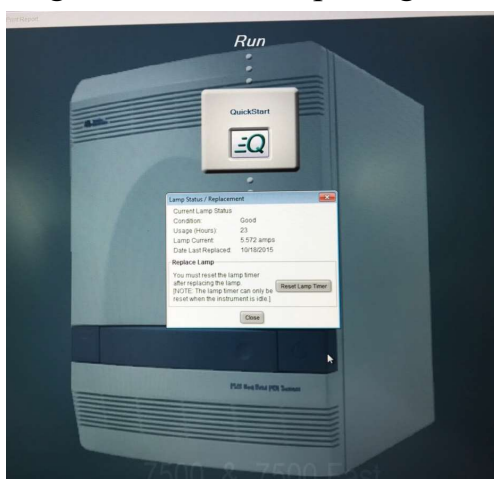
Ghi nhận kết quả định loài bằng kỹ thuật realtime PCR. Gửi chuyển mẫu kiểm tra đối chiếu về kết quả sinh học phân tử đến viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương.

Sự phát hiện, nhân lượng và các thông số kỹ thuật được phân tích bằng hệ thống Stratagene Mx3005P (Agilent Technologies Division, Germany). Chu kỳ ngưỡng (threshold cycle) hoặc giá trị ngưỡng (threshold value) (số chu kỳ mà tại đó lượng huỳnh quang thoát ra vượt quá ngưỡng phát hiện thấp nhất) của các mẫu dương tính được ghi nhận thống kê trong nghiên cứu.

Công thức phản ứng realtime PCR

Thành phần 1 mẫu	Multiplex 1	Multiplex 2
DNA	5 μ l	5 μ l
Absolute [®] QPCR Mix	12,5 μ l	12,5 μ l
Primer StroS	0,6 μ l	-
Primer StroAS	0,6 μ l	-
Primer StroP3 (HEX)	0,6 μ l	-
Primer 1530 F	-	0,6 μ l
Primer 1630 R	-	0,6 μ l
Primer 1586T (FAM)	-	0,6 μ l
Primer SratF	-	0,6 μ l
Primer SratR	-	0,6 μ l
Primer SratP (CY5)	-	0,6 μ l
H ₂ O	5,7 μ l	3,9 μ l
Tổng	25 μl	25 μl

Do đây là thiết kế đa môi mới được nghiên cứu này thiết kế lần đầu, nên được thực hiện mô hình thực nghiệm có lập tại phòng thí nghiệm nhằm khảo sát tính ổn định của thử nghiệm trước khi áp dụng cho mẫu nghiên cứu.

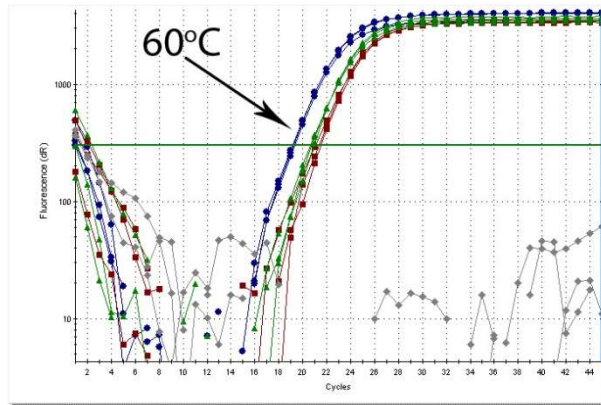


Máy Realtime PCR 7500 dùng trong nghiên cứu

QUI TRÌNH THỰC NGHIỆM THĂM DÒ CÁC CHỈ SỐ CHO PHẢN ỨNG PCR ĐA MÔI

Tối ưu hóa các điều kiện của phản ứng Real-time PCR định danh loài *Strongyloides* spp

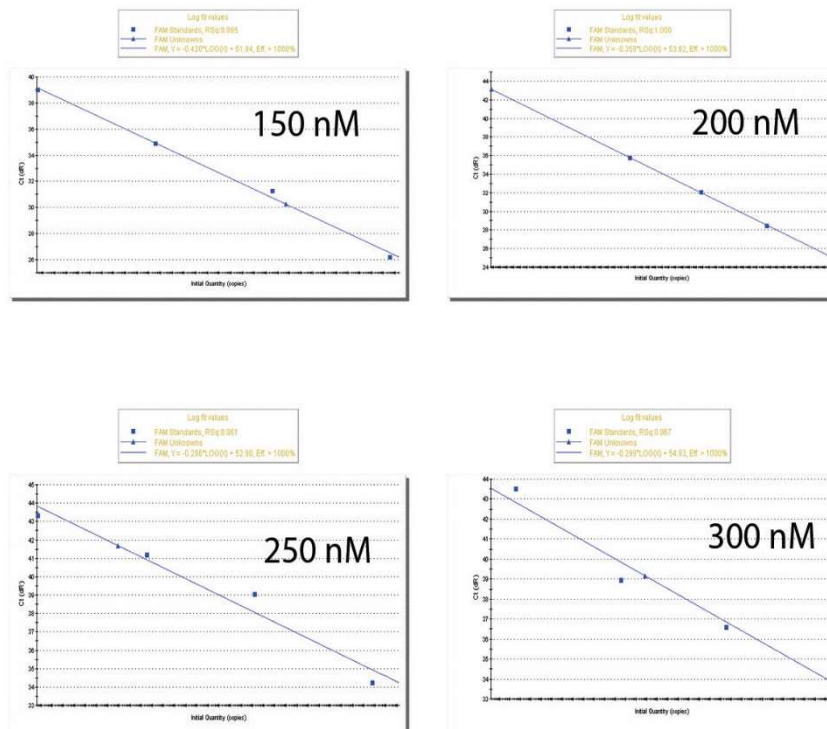
1 Nhiệt độ bắt cặp của môi



Biểu đồ nhiệt độ bắt cặp của môi

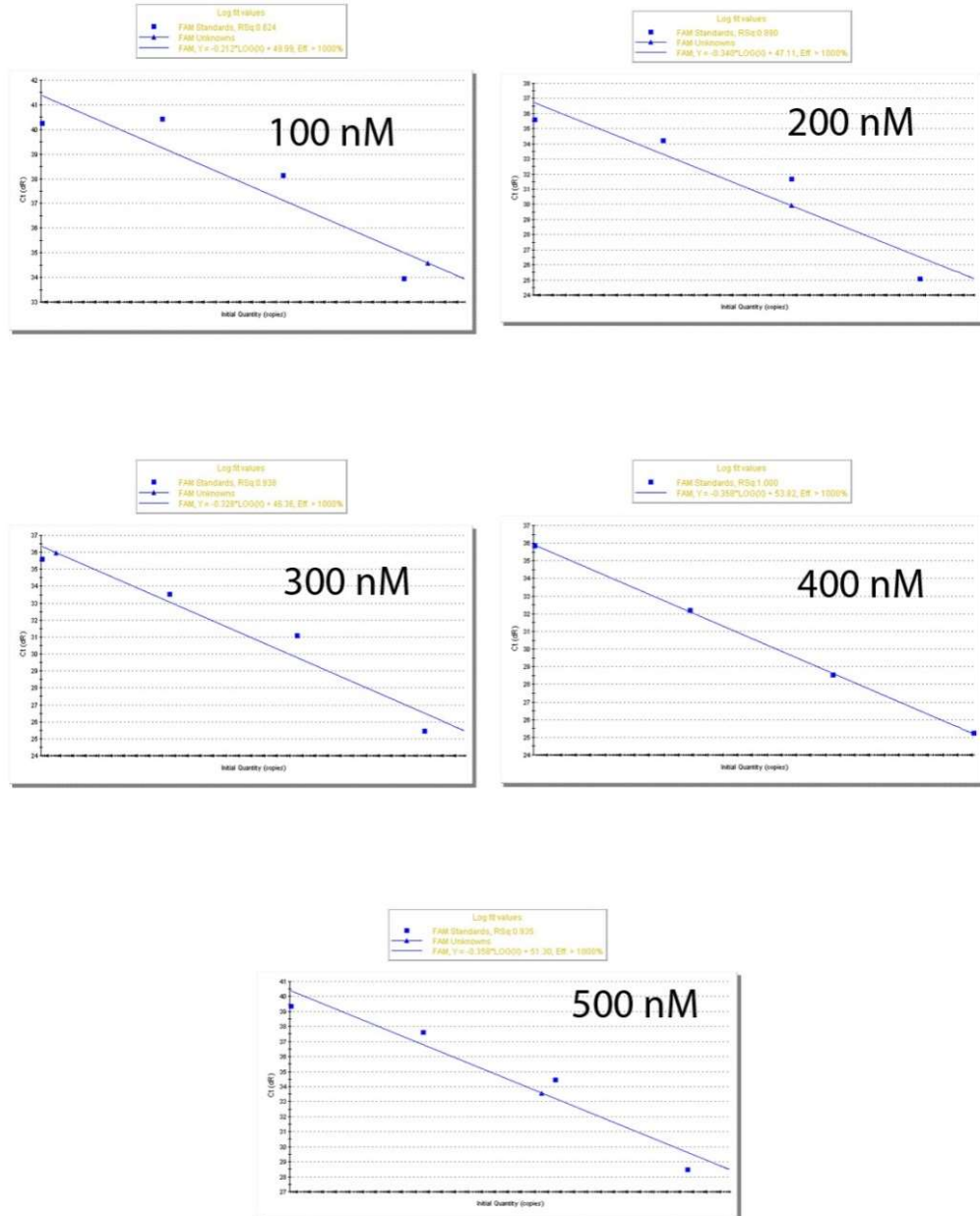
Nhận xét: Sau khi khảo sát các phổ nhiệt độ từ 59 – 61°C. 60°C là nhiệt độ bắt cặp thích hợp nhất.

2 Khảo sát nồng độ mẫu dò Taqman



Biểu đồ khảo sát nồng độ mẫu dò Taqman ở các nồng độ

Nhận xét: Từ kết quả này cho thấy 200 nM là nồng độ mẫu dò tối ưu.
3 Khảo sát nồng độ môi



Biểu đồ khảo sát nồng độ môi

Nhận xét:

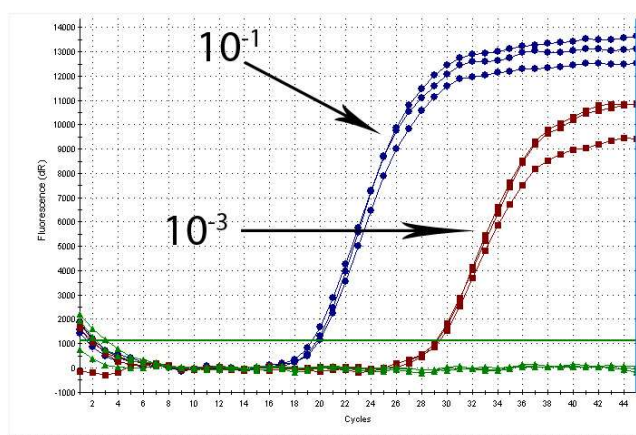
Kết quả trên cho thấy tại nồng độ môi là 400 nM thì E% là 100% và $R^2 \geq 0,99$. Vậy, 400 nM là nồng độ môi tối ưu cho phản ứng.

4 Độ lặp lại của phản ứng Real-time PCR

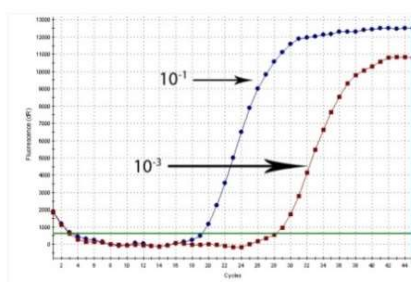
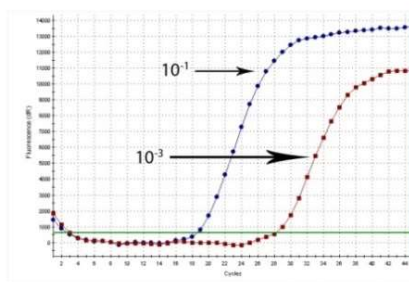
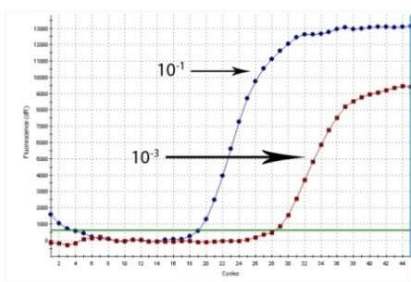
Độ lặp lại trong một phản ứng

Độ pha loãng của mẫu	Chu kỳ ngưỡng (Ct)			Trị số trung bình (mean)	Độ lệch chuẩn (SD)
	1	2	3		
10^{-1}	18,31	17,79	18,33	18,14	0,31
10^{-3}	26,82	26,91	27,52	27,08	0,38

Nhận xét: Kết quả trị số trung bình của hai nồng độ pha loãng 10^{-1} và 10^{-3} lần lượt là 18,14 và 27,08.



Đường cong nhân lượng thể hiện độ lặp lại trong một phản ứng
5 Độ lặp lại giữa các lần thí nghiệm (inter-assay)



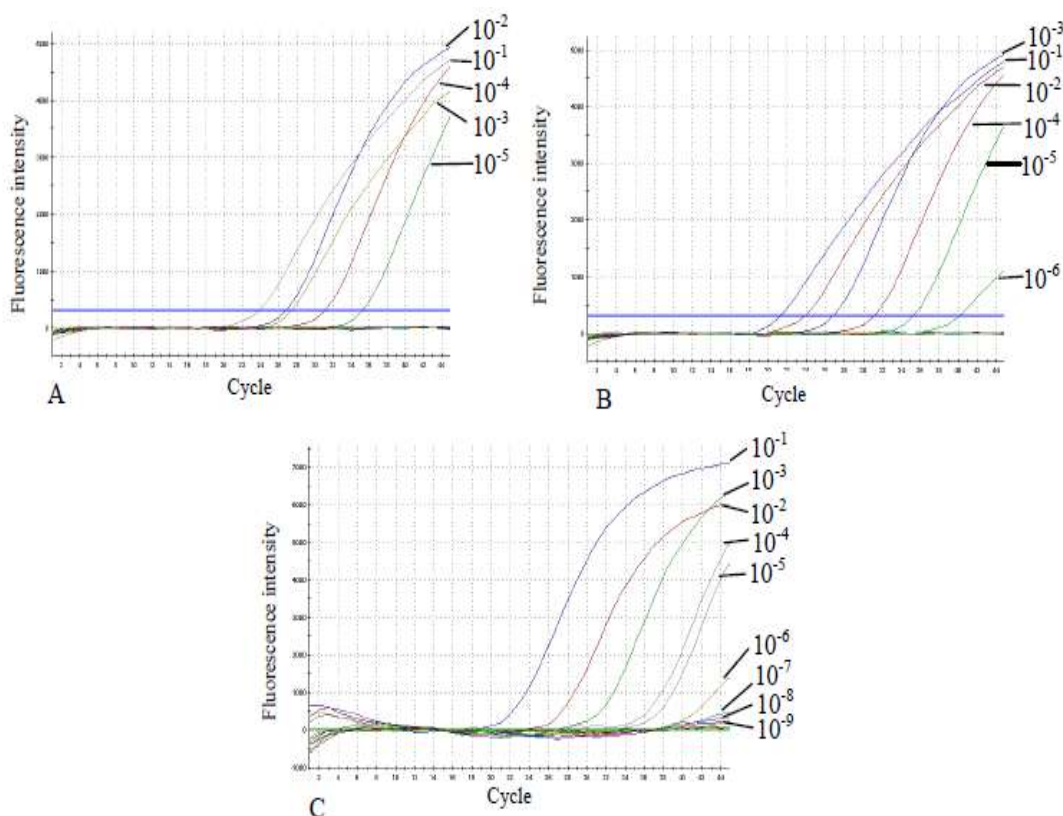
Đường cong nhân lượng thể hiện độ lặp lại giữa các lần thí nghiệm

Độ lặp lại giữa các lần thí nghiệm

Độ pha loãng của mẫu	Chu kỳ ngưỡng (Ct)			Trị số trung bình (mean)	Độ lệch chuẩn (SD)
	1	2	3		
10^{-1}	18,36	18,45	18,32	18,38	0,07
10^{-3}	26,85	26,55	26,42	26,61	0,22

Nhận xét: Kết quả trị số trung bình của hai nồng độ pha loãng 10^{-1} và 10^{-3} lần lượt 18,38 và 26,61.

6 Nồng độ ngưỡng của khuôn



Đường biểu diễn nồng độ mẫu DNA của *Strongyloides* spp với những độ pha loãng khác nhau.

(A) định danh *S. ratti* (B) định danh *S. stercoralis* (C) giống *Strongyloides* spp
 Nồng độ xác định *S. ratti* dùng Srat 28S genDQ14570 là 10^{-5} (~ 2.27 pg/ μ l), *S. stercoralis* dùng Stro 18S gen AF279916 và *Strongyloides* spp trên trình tự 28S rRNA gen U39490 là 10^{-6} (~ 0.227 pg/ μ l).

QUY TRÌNH XÁC ĐỊNH GIUN LƯƠN ĐƯỜNG RUỘT *Strongyloides stercoralis*. BẢNG KỸ THUẬT PHẢN ỨNG CHUỖI POLYMERASE THỜI GIAN THỰC (REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION – REAL TIME PCR) (tóm gọn)

NGUYÊN TẮC

Kỹ thuật này sử dụng một cặp mồi và đầu dò thủy giải có gắn huỳnh quang để nhân bản đoạn trình tự ADN đặc hiệu trên gen 18S rARN của giun lươn đường ruột *Strongyloides stercoralis*. Kết quả được xác định dựa vào tín hiệu huỳnh quang phát ra khi mồi và đầu dò bắt cặp hoàn toàn với đoạn ADN đích và tiến hành nhân bản.

Hóa chất sinh phẩm chạy realtime PCR

- QuantiNova Probe PCR Master Mix 2X: 1 ống 1mL
- Nước khử ion: 1 ống 1mL.
- Mồi:

TT	Mồi (Primer)	Trình tự	Nồng độ (mM)	Thể tích (μL)
1	Stro18S-1530F	5'-GAATTCCAAGTAAACGTAAGTCAT TAGC-3'	25	100
2	Stro18S-1630R	5'-TGCCTCTGGATATTGCTCA GTTC-3'	25	100

- Đầu dò thủy giải:

T	Đầu dò (Probe)	Trình tự	Nồng độ (mM)	Thể tích (μL)
1	Stro18S-1586T	FAM-5'-ACACACCG GCCGTCGCTGC-3'-BHQ1	10	100

Tất cả các ống hóa chất được bảo quản ở nhiệt độ 2^oC – 8^oC.

CHẠY REAL TIME PCR

Trộn hỗn hợp phản ứng real time PCR

- Lấy hóa chất ra khỏi nơi bảo quản để trên khay đựng đá bào;
- Trộn đều các ống hóa chất trên máy trộn vortex trong 15 giây;
- Ly tâm nhanh các ống hóa chất;
- Lấy số lượng ống phản ứng tương ứng với số mẫu cần xét nghiệm và 1 mẫu chứng âm, 1 mẫu chứng dương, ghi ký hiệu mẫu và sơ đồ chạy mẫu vào biểu mẫu NIMPE. BM 03. PP.41/01;

- Trộn hỗn hợp phản ứng trong ống 1,5mL với thành phần và thể tích như bảng sau (Tổng thể tích 20 μ l):

TT	Thành phần	Thể tích cho 1 phản ứng (μ l)
1	Quantinova probe PCR master mix 2X	12,5
2	Môi Stro18S-1530F (25 μ M)	0,3
3	Môi Stro18S-1630R (25 μ M)	0,3
4	Đầu dò Stro18S-1586T (10 μ M)	0,5
5	H ₂ O	6,4
	Tổng	20

- Trộn hỗn hợp phản ứng trên máy trộn vortex trong 15 giây;
- Ly tâm nhanh ống đựng hỗn hợp phản ứng;
- Chia 20 μ l hỗn hợp dung dịch phản ứng vào các ống phản ứng;
- Cất các ống đựng thành phần hóa chất vào nơi bảo quản.

Nạp ADN mẫu

- Lấy các ống chứa ADN ra khỏi nơi bảo quản để đến nhiệt độ phòng;
- Trộn đều các ống mẫu trên máy trộn vortex trong 15 giây;
- Lấy 5 μ l ADN mẫu, chứng dương, chứng âm cho vào các ống phản ứng theo sơ đồ chạy mẫu đã ghi trong biểu mẫu NIMPE. BM 03. PP.41/01;
- Đậy nắp các ống phản ứng;
- Ly tâm nhanh các ống phản ứng;
- Cất các ống ADN vào nơi bảo quản.

Chạy máy

- Đặt các ống phản ứng vào máy real time PCR 7500 theo đúng sơ đồ chạy mẫu ghi trong biểu mẫu NIMPE. BM 03.PP.40/01.
- Chạy máy với chương trình chạy như sau:

Bước	Mô tả	Số chu kỳ	Nhiệt độ	Thời gian
1	Hoạt hóa Taq polymerase	1	95 ^o C	3 phút
2	Khuếch đại	45	95 ^o C	5 giây
			60 ^o C	30 giây
3	Ổn nhiệt	1	15 ^o C	∞

- Chọn kênh màu FAM cho đích phát hiện là *Strongyloides stercoralis*.

XỬ LÝ, TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

Một mẫu được coi là dương tính khi tín hiệu huỳnh quang cao hơn tín hiệu huỳnh quang nền.

Mẫu dương tính khi chu kỳ ngưỡng Ct < 40.

Phụ lục 2: BẢNG CÂU HỎI PHÒNG VẤN THU THẬP SỐ LIỆU

Bảng 1: Bảng phỏng vấn về KAP và triệu chứng

1. Họ tên:
2. MS:
3. Giới: Nam Nữ
4. Tuổi: Năm sinh:
5. Trình độ học vấn:
 Mù chữ Biết đọc, biết viết Cấp I
 Cấp II Cấp III Trên cấp III
6. Nghề nghiệp:
 Nội trợ: Công nhân: Làm rẫy:
 Sinh viên, học sinh: Buôn bán: Làm ruộng:
 Công nhân viên: Làm ruộng, rẫy Khác:
7. Địa chỉ:

I. KINH TẾ

8. Thu nhập bình quân hàng tháng của gia đình:
- Và cho cá nhân Anh/ Chị/ bình quân mỗi người /tháng
9. Với thu nhập trên, kinh tế gia đình ở mức:

Khó khăn Đủ sống Có dư

Gia đình có được địa phương xác nhận hộ nghèo hay cận nghèo:

Có Không

10. Nhà ở: Cấp I Cấp II Cấp III Cấp IV

11. Tiện nghi sinh hoạt trong gia đình:

Tivi Xe gắn máy Xe ô tô

Tủ lạnh Máy điều hoà Ipad, game pad

II. CÁC DỮ KIỆN LIÊN QUAN ĐẾN XỬ LÝ PHÂN

12. Trong nhà Ông/bà, dạng câu xí là:

Câu máy (câu dội nước = câu tự hoại) Câu cá

Câu bán tự hoại (câu 2 ngăn) Hồ chôn

Đi cầu trên mặt đất Hồ chìm Khác:

13. Nhà ông (bà) có:

Ruộng Rẫy hay vườn

Cả 2 Không

14. Khi đi làm đồng ruộng hoặc không thuận tiện, Ông bà đi đại tiện ở đâu:

Cầu máy (nhà người quen, quán xá,)

Tùy nơi thuận tiện khác

Nếu chọn nơi thuận tiện: hãy chọn ô dưới đây

Đi cầu trên mặt đất Hồ chìm Cầu cá

Khác:

Mức độ của hoạt động trên

Thường xuyên Không thường xuyên Rất ít khi

III. TÌNH TRẠNG TIẾP XÚC VỚI ĐẤT

15. Khi làm đồng hoặc làm công việc lao động hàng ngày, ông (bà) mang

Chân đất Dép Ủng Khác:

Nếu có chọn lựa, mức độ là:

Thường xuyên Không thường xuyên Rất ít khi

16. Khi ở nhà hoặc làm việc quanh vườn nhà, ông (bà) mang:

Chân đất Dép Ủng Khác:

Nếu có chọn lựa, mức độ là: Thường xuyên Không thường xuyên

17. Khi lao động, nhổ cỏ, trong vườn hoặc ngoài ruộng, ông (bà) dùng tay:

Tay trần Tay đeo găng Không làm

Nếu có chọn lựa, mức độ là:

Thường xuyên Không thường xuyên Rất ít khi

18. Thói quen đi chân đất (không mang dép) khi đi lại trong nhà và ngoài sân

Có Không

Nếu có chọn lựa, mức độ là:

Thường xuyên Không thường xuyên Rất ít khi

19. Nếu người được phỏng vấn là trẻ em, hỏi xem có hay chơi nghịch đất, chơi trò chơi tiếp xúc với đất (bắn bi, đá banh, chơi bán đồ hàng, nhảy lò cò ...)

Có Không

Nếu có chọn lựa, mức độ là:

Thường xuyên Không thường xuyên Rất ít khi

20. Khi vui chơi sinh hoạt các em mang dép hay đi chân đất?

Đi dép Chân đất Cả hai

Nếu có chọn lựa, mức độ là:

Thường xuyên Không thường xuyên Rất ít khi

IV. CÁC TRIỆU CHỨNG: ông bà thường có các triệu chứng này hay không?

21. Đau bụng:

Có Không

Nếu có thì vị trí vùng đau:

Thượng vị Quanh rốn Hạ vị Khác:

Mức độ:

Thỉnh thoảng Thường xuyên Không thường xuyên

22. Tiêu lỏng (trên 3 lần/ngày): Có không

Nếu có, mức độ là

Thỉnh thoảng Thường xuyên Không thường xuyên

Khác:

23. Nổi mề đay:

Có không

Nếu có thì vị trí:

Tay Chân Mặt Thân mình Toàn thân

Mức độ: Thỉnh thoảng Thường xuyên Không thường xuyên

24. Đau đầu:

Có không

Nếu có thì vị trí:

Trán Đỉnh đầu Thái dương Chẩm Khác:

Mức độ: Thỉnh thoảng Thường xuyên Không thường xuyên

25. Đường di chuyển của ấu trùng dưới da

Có không

Nếu có thì vị trí:

Tay Chân Mặt Thân mình Toàn thân

26. Trong 3 tháng gần đây Ông/bà/cháu có sụt cân không?

Có Không

Nếu có: số cân nặng bị sụt là, tương đương/tháng

Chữ ký: ----- **Ngày Ký:** -----

(Lấn dấu tay hoặc đánh dấu cộng nếu không biết chữ)

Bảng 2: Bảng phỏng vấn về tác dụng phụ khi uống thuốc

(Thực hiện ngày thứ 3 sau uống thuốc)

Họ tên:

MS: Phái: Nam Nữ Tuổi:

Trong quá trình uống thuốc điều trị, Ông/bà có xuất hiện các triệu chứng nào bất lợi dưới đây không?

1. Chóng mặt: Có không

Nếu có:

Triệu chứng xuất hiện bao lâu sau uống thuốc?

Ông /bà: Cảm nhận mức độ như thế nào

Không đáng kể Chịu đựng được Không chịu đựng được

Ông/bà làm gì khi đó:

2. Đau đầu Có không

Nếu có:

Triệu chứng xuất hiện bao lâu sau uống thuốc?

Ông /bà: Cảm nhận mức độ như thế nào

Không đáng kể Chịu đựng được Không chịu đựng được

Ông/bà làm gì khi đó:

3. Tiêu chảy, phân lỏng: Có không

Nếu có:

Triệu chứng xuất hiện bao lâu sau uống thuốc?

Ông /bà: Cảm nhận mức độ như thế nào

Không đáng kể Chịu đựng được Không chịu đựng được

Ông/bà làm gì khi đó:

4. Ban đỏ trên da. Có không

Nếu có:

Triệu chứng xuất hiện bao lâu sau uống thuốc? vị trí:

Ông /bà: Cảm nhận mức độ như thế nào

Không đáng kể Chịu đựng được Không chịu đựng được

Ông/bà làm gì khi đó:

5. Ngứa. Có không

Nếu có:

Triệu chứng xuất hiện bao lâu sau uống thuốc?

vị trí:

Ông /bà: Cảm nhận mức độ như thế nào

Không đáng kể Chịu đựng được Không chịu đựng được

Ông/bà làm gì khi đó:

Khác:

Bảng 3: Bảng phỏng vấn về triệu chứng sau điều trị

Họ tên:

MS: Giới: Nam Nữ Tuổi:

Trong lần xét nghiệm và điều trị giun vừa qua. Ông/bà đã được uống thuốc điều trị. Hiện tại, Ông/bà còn các triệu chứng nào dưới đây không?

1. Đau bụng: Có Không

Nếu còn thì vùng đau:

Thượng vị Quanh rốn Hạ vị Khác:

Mức độ so với lần trước điều trị theo Ông/bà là

Khỏi Giảm nhiều Giảm ít Không giảm

2. Tiêu lỏng (trên 3 lần/ngày): Có không

Nếu còn, mức độ so với lần trước điều trị theo Ông/bà là

Khỏi Giảm nhiều Giảm ít Không giảm

3. Nổi mề đay: Có không

Nếu còn thì vị trí:

Tay Chân Mặt Thân mình Toàn thân

Mức độ so với lần trước điều trị theo Ông/bà là

Khỏi Giảm nhiều Giảm ít Không giảm

4. Đau đầu: Có không

Nếu có thì vị trí:

Trán Đỉnh đầu Thái dương Chẩm Khác:

Mức độ so với lần trước điều trị theo Ông/bà là

Khỏi Giảm nhiều Giảm ít Không giảm

5. Đường di chuyển của ấu trùng dưới da Có không

Nếu có thì vị trí:

Tay Chân Mặt Thân mình Toàn thân

Mức độ so với lần trước điều trị theo Ông/bà là

Khỏi Giảm nhiều Giảm ít Không giảm

6. Ông/bà có tăng cân kể từ sau khi uống thuốc không?

Có Không

Nếu có: số cân nặng tăng lên là

MỘT SỐ QUI ƯỚC BẢNG CÂU HỎI

Với trẻ em từ 5 – 10 tuổi: Phỏng vấn thông qua người thân/giám hộ (thường là mẹ của bé), xác định lại bởi cộng tác viên (người cùng thôn ấp).

Qui ước về tình trạng kinh tế: đánh giá qua phỏng vấn và quan sát nhà ở, phương tiện sinh hoạt (theo quyết định 59 của Bộ LĐTB và XH)

Nghèo và cận nghèo: nhà cấp 4, thuộc diện chính sách, xóa đói giảm nghèo. Không có những tiện nghi cơ bản tối thiểu. Có thu nhập bình quân đầu người/tháng dưới 1.000.000 đồng và thiếu hụt dưới 03 chỉ số đo lường mức độ thiếu hụt tiếp cận các dịch vụ xã hội cơ bản.

Trung bình: có nhà ở từ cấp 4 trở lên, lao động thu nhập ổn định, có những tiện nghi cơ bản như tivi, xe máy, người dân và đại diện địa phương xác nhận. Có thu nhập bình quân đầu người/tháng dưới 1.950.000 đồng

Khá trở lên: trên những đối tượng trên.

Qui ước về thói quen tiếp xúc đất trong sinh hoạt

– **Có tiếp xúc đất:** người có thói quen đi chân đất, mang dép thô sơ trong khi làm ruộng, rẫy, vườn nhà, sử dụng tay trần khi nhổ cỏ, bón phân, ... tiếp xúc trực tiếp với đất. Trẻ em chơi những trò chơi nghịch đất như bắn bi, đá banh, ... không mang giày dép. Mức độ tiếp xúc đất từ mức thường xuyên trở lên trong các hành vi tiếp xúc đất được phỏng vấn (rất ít khi, không thường xuyên, thường xuyên)

– **Không tiếp xúc đất:** không thuộc những trường hợp trên. Hoặc có tiếp xúc ở mức rất ít khi tiếp xúc đối với các hành vi tiếp xúc đất được phỏng vấn.

Qui ước về sử dụng hố xí

– **Hợp vệ sinh:** cầu tự hoại, bán tự hoại, cầu ao cá, hố chìm sâu, (cách nguồn nước ít nhất 10 m theo bán kính, đào sâu ít nhất 1,5 m, có nắp đậy, lấp hố phân khi cách mặt đất 0,5 m bằng tro và đất. Và thường đi đại tiện tại đây.

– **Không hợp vệ sinh:** sử dụng hố xí không đạt tiêu chuẩn trên. Hoặc có hành vi đi đại tiện bên ngoài đồng ruộng, hố đào từ mức độ không thường xuyên trở lên.

Phụ lục 3: MỘT SỐ KẾT QUẢ VỀ SHPT - GIẢI TRÌNH TỰ GEN

Bảng nồng độ DNA *Strongyloides* spp ly trích từ mẫu bệnh phẩm

Mẫu	Ratio	D.O	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Mẫu	Ratio	D.O	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)
1	1,81	0,14	140	36	1,81	0,274	274
2	1,79	0,105	105	37	1,8	0,265	265
3	1,79	0,124	124	38	1,8	0,178	178
4	1,8	0,315	315	39	1,82	0,129	129
5	1,78	0,308	308	40	1,79	0,218	218
6	1,81	0,081	81	41	1,8	0,156	156
7	1,8	0,194	194	42	1,8	0,147	147
8	1,79	0,101	101	43	1,8	0,172	172
9	1,8	0,89	89	44	1,79	0,194	194
10	1,73	0,134	134	45	1,78	0,165	165
11	1,78	0,152	152	46	1,8	0,198	198
12	1,79	0,105	105	47	1,81	0,127	127
13	1,82	0,296	296	48	1,8	0,136	136
14	1,8	0,184	184	49	1,81	0,175	175
15	1,8	0,119	119	50	1,82	0,116	116
16	1,81	0,215	215	51	1,79	0,183	183
17	1,81	0,125	125	52	1,8	0,104	104
18	1,81	0,096	96	53	1,8	0,087	87
19	1,82	0,178	178	54	1,81	0,119	119
20	1,82	0,206	206	55	1,82	0,124	124
21	1,81	0,168	168	56	1,79	0,151	151
22	1,8	0,218	218	57	1,8	0,132	132
23	1,79	0,162	162	58	1,8	0,193	193
24	1,78	0,188	188	59	1,8	0,195	195
25	1,79	0,227	227	60	1,81	0,162	162
26	1,8	0,305	305	61	1,81	0,197	197
27	1,8	0,139	139	62	1,82	0,153	153
28	1,8	0,181	181	63	1,8	0,241	241
29	1,81	0,147	147	64	1,8	0,208	208
30	1,82	0,202	202	65	1,81	0,179	179
31	1,81	0,199	199	66	1,8	0,184	184
32	1,8	0,107	107	67	1,81	0,137	137
33	1,8	0,136	136	68	1,8	0,198	198
34	1,81	0,124	124	69	1,81	0,169	169
35	1,82	0,185	185	70	1,81	0,185	185

Bảng Số liệu Ct trung bình và định loài *Strongyloides* của các mẫu bệnh nhân

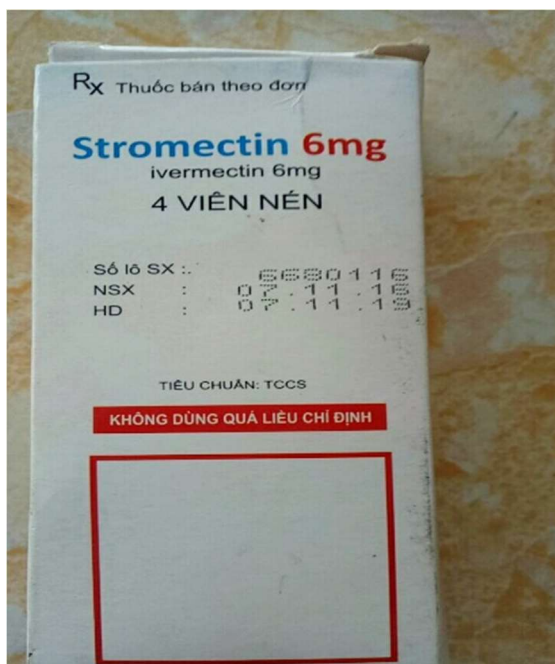
MS	Tín hiệu	Ct	Loài	MS	Tín hiệu	Ct	Loài
1	FAM	21,85	<i>S. stercoralis</i>	36	FAM	29,29	<i>S. stercoralis</i>
2	FAM	24,61	<i>S. stercoralis</i>	37	FAM	16,32	<i>S. stercoralis</i>
3	FAM	27,77	<i>S. stercoralis</i>	38	FAM	22,49	<i>S. stercoralis</i>
4	FAM	22,54	<i>S. stercoralis</i>	39	FAM	22,77	<i>S. stercoralis</i>
5	FAM	25,55	<i>S. stercoralis</i>	40	FAM	27,17	<i>S. stercoralis</i>
6	FAM	25,29	<i>S. stercoralis</i>	41	FAM	21,67	<i>S. stercoralis</i>
7	FAM	19,38	<i>S. stercoralis</i>	42	FAM	25,71	<i>S. stercoralis</i>
8	FAM	24,03	<i>S. stercoralis</i>	43	FAM	31,39	<i>S. stercoralis</i>
9	FAM	22,70	<i>S. stercoralis</i>	44	FAM	30,41	<i>S. stercoralis</i>
10	FAM	24,87	<i>S. stercoralis</i>	45	FAM	27,30	<i>S. stercoralis</i>
11	FAM	24,19	<i>S. stercoralis</i>	46	FAM	24,70	<i>S. stercoralis</i>
12	FAM	27,61	<i>S. stercoralis</i>	47	FAM	21,41	<i>S. stercoralis</i>
13	FAM	26,17	<i>S. stercoralis</i>	48	FAM	18,22	<i>S. stercoralis</i>
14	FAM	26,62	<i>S. stercoralis</i>	49	FAM	23,82	<i>S. stercoralis</i>
15	FAM	13,84	<i>S. stercoralis</i>	50	FAM	21,16	<i>S. stercoralis</i>
16	FAM	26,67	<i>S. stercoralis</i>	51	FAM	19,32	<i>S. stercoralis</i>
17	FAM	25,11	<i>S. stercoralis</i>	52	FAM	23,71	<i>S. stercoralis</i>
18	FAM	27,19	<i>S. stercoralis</i>	53	FAM	28,16	<i>S. stercoralis</i>
19	FAM	30,09	<i>S. stercoralis</i>	54	CY5	24,01	<i>S. ratti</i>
20	FAM	25,83	<i>S. stercoralis</i>	55	FAM	21,02	<i>S. stercoralis</i>
21	FAM	27,57	<i>S. stercoralis</i>	56	FAM	23,66	<i>S. stercoralis</i>
22	FAM	37,51	<i>S. stercoralis</i>	57	FAM	24,82	<i>S. stercoralis</i>
23	FAM	29,72	<i>S. stercoralis</i>	58	FAM	23,64	<i>S. stercoralis</i>
24	FAM	22,52	<i>S. stercoralis</i>	59	FAM	24,05	<i>S. stercoralis</i>
25	FAM	22,58	<i>S. stercoralis</i>	60	FAM	23,82	<i>S. stercoralis</i>
	CY5	32,16	<i>S. ratti</i>	61	FAM	23,10	<i>S. stercoralis</i>
26	FAM	24,7	<i>S. stercoralis</i>	62	FAM	25,24	<i>S. stercoralis</i>
27	FAM	26,75	<i>S. stercoralis</i>	63	FAM	22,66	<i>S. stercoralis</i>
28	FAM	24,5	<i>S. stercoralis</i>	64	FAM	23,64	<i>S. stercoralis</i>
29	FAM	30,32	<i>S. stercoralis</i>	65	FAM	24,64	<i>S. stercoralis</i>
30	FAM	29,11	<i>S. stercoralis</i>		CY5	19,68	<i>S. ratti</i>
31	FAM	23,91	<i>S. stercoralis</i>	66	CY5	24,09	<i>S. ratti</i>
32	FAM	18,88	<i>S. stercoralis</i>	67	FAM	22,49	<i>S. stercoralis</i>
33	FAM	21,15	<i>S. stercoralis</i>	68	FAM	24,93	<i>S. stercoralis</i>
34	FAM	28,53	<i>S. stercoralis</i>	69	FAM	23,48	<i>S. stercoralis</i>
35	FAM	34,44	<i>S. stercoralis</i>	70	FAM	22,47	<i>S. stercoralis</i>

PHỤ LỤC 4: DANH SÁCH NGƯỜI BỆNH THAM GIA NGHIÊN CỨU

STT	HỌ	TÊN	XÃ	GIỚI	TUỔI
1	Nguyễn thị	S.	ANT	Nữ	65
2	Nguyễn văn	S.	ANT	Nam	64
3	Lưu thị thu	H.	ANT	Nữ	60
4	Nguyễn thành	V.	ANT	Nam	45
5	Hồ văn	C.	ANT	Nam	82
6	Nguyễn thị	L.	ANT	Nữ	50
7	Nguyễn văn	R.	ANT	Nam	52
8	Nguyễn thị	P.	ANT	Nữ	39
9	Nguyễn văn	H.	ANT	Nam	56
10	Lê văn	B.	ĐLT	Nam	59
11	Nguyễn văn	NH.	ĐLT	Nam	33
12	Nguyễn văn	R.	ĐLT	Nam	49
13	Nguyễn văn	KH.	ĐLT	Nam	60
14	Nguyễn văn	K.	ĐLT	Nam	57
15	Lý minh	T.	ĐLT	Nam	52
16	Nguyễn thị mai	H.	ĐLT	Nữ	62
17	Nguyễn văn	TR.	ĐLT	Nam	67
18	Nguyễn thị	X.	ĐLT	Nữ	84
19	Nguyễn thanh	TR.	ĐLT	Nam	45
20	Nguyễn văn	H.	ĐLT	Nam	36
21	Trần văn	D.	ĐLT	Nam	51
22	Nguyễn văn	NH.	ĐLT	Nam	64
23	Nguyễn văn	R.	ĐLT	Nam	41
24	Nguyễn thị	R.	ĐLT	Nữ	53
25	Phạm văn	T.	ĐLT	Nam	66
26	Trần thị	N.	ĐLT	Nữ	65
27	Nguyễn văn	P.	ĐLT	Nam	65
28	Trần văn	L.	ĐLT	Nam	64
29	Trình văn	TH.	ĐLT	Nam	60
30	Lê văn	M.	ĐLT	Nam	45
31	Nguyễn văn	CH.	ĐLT	Nam	82
32	Nguyễn văn	TH.	ĐLT	Nam	71
33	Đình văn	Q.	ĐLT	Nam	48
34	Đình thanh	V.	ĐLT	Nam	46
35	Châu văn	TR.	ĐLT	Nam	63
36	Nguyễn văn	KH.	ĐLT	Nam	57
37	Nguyễn thị thu	TH.	ĐLT	Nữ	54
38	Huỳnh thanh	T.	ĐLT	Nam	59

39	Đinh thị	B.	ĐLT	Nữ	58
40	Nguyễn thị	PH.	ĐLT	Nữ	46
41	Phan tán	PH.	ĐLT	Nam	48
42	Nguyễn thị	CH.	ĐLT	Nữ	53
43	Trần	TH.	ĐLT	Nam	66
44	Phan văn	Đ.	ĐLT	Nam	65
45	Nguyễn tán	T.	ĐLT	Nam	57
46	Nguyễn văn	TH.	ĐLT	Nam	52
47	Huỳnh minh	L.	ĐLT	Nam	55
48	Ngô văn	PH.	ĐLT	Nam	42
49	Nguyễn đình	KH.	HH	Nam	71
50	Đặng thị kim	O.	HH	Nữ	48
51	Đặng văn	L.	HH	Nam	46
52	Trần thị	TH.	HH	Nữ	63
53	Võ thị	TH.	HH	Nữ	57
54	Lê bá	T.	HH	Nam	54
55	Lê dân	L.	HH	Nam	59
56	Trương văn	NH.	HH	Nam	58
57	Nguyễn văn	G.	HH	Nam	46
58	Võ văn	NH.	HH	Nam	48
59	Thi văn	L.	MHN	Nam	64
60	Châu minh	Đ.	MHN	Nam	65
61	Nguyễn thị	KH.	MHN	Nữ	60
62	Hoài	V.	MHN	Nam	32
63	Nguyễn văn	KH.	MHN	Nam	47
64	Trần thị kim	Y.	MHN	Nữ	37
65	Huỳnh văn	T.	MHN	Nam	82
66	Lê tuấn	KH.	MHN	Nam	39
67	Lê văn	M.	MHN	Nam	62
68	Võ thị	N.	MHN	Nữ	59
69	Lê văn	S.	MHN	Nam	68
70	Nguyễn văn	R.	MHN	Nam	76
71	Lê văn	U.	MHN	Nam	53
72	Nguyễn văn	T.	MHN	Nam	68
73	Trương thị	Đ.	MHN	Nữ	26
74	Nguyễn văn	S.	MHN	Nam	48
75	Nguyễn thị kiều	TH.	TTĐH	Nữ	26
76	Trương công	Đ.	TTĐH	Nam	27
77	Phạm văn	T.	TTĐH	Nam	71
78	Lưu minh	Đ.	TTĐH	Nam	33
79	Trần thị	G.	TTĐH	Nữ	62

PHỤ LỤC 5: MỘT SỐ HÌNH ẢNH KHI THỰC HIỆN NGHIÊN CỨU



Thuốc dùng trong nghiên cứu



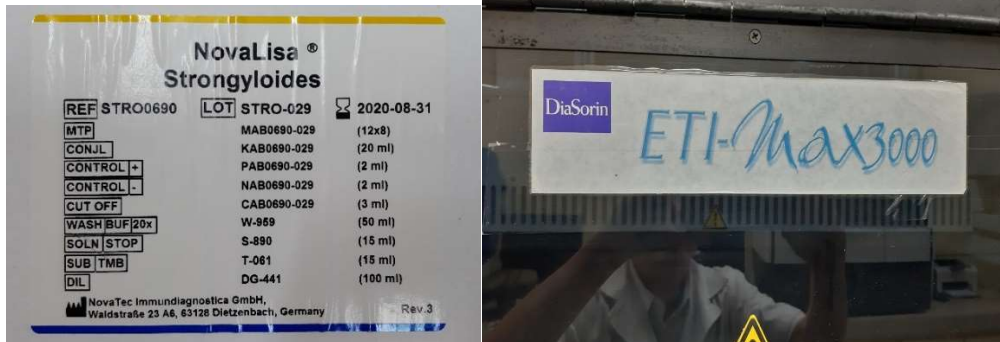
Hình ảnh uống thuốc có kiểm soát



Mẫu máu thu được từ cộng đồng



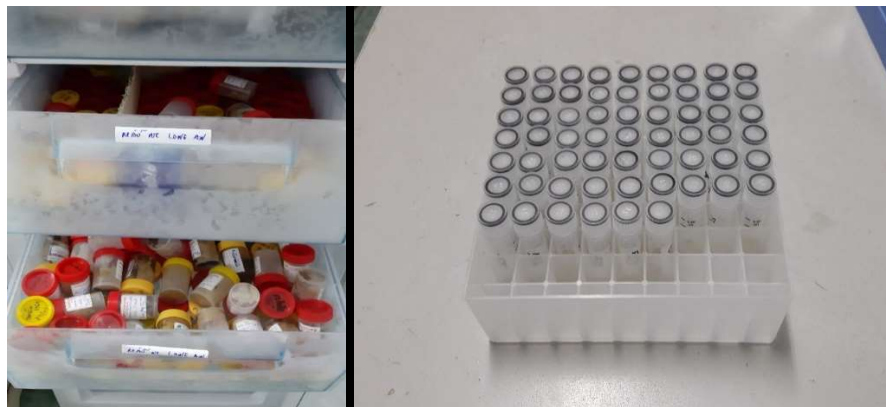
Máy xét nghiệm huyết học sử dụng trong nghiên cứu



**Bộ sinh phẩm và thiết bị chẩn đoán giun lươn Novalisa® Strongyloides
và Thiết bị tự động Eti – max 3000, Ý**



Mẫu phân thu thập và Ấu trùng giun lươn sau khi cấy



**Lưu mẫu phân và Mẫu giun lươn gửi về Viện SR KST CT TW kiểm tra
đối chiếu kết quả SHPT**

Phụ lục 6: BẢNG CAM KẾT ĐỒNG THUẬN.

Bảng 1: Cam kết đồng thuận tham gia nghiên cứu điều tra xét nghiệm giun miễn phí

- Tôi đã đọc các thông tin được cung cấp, và tôi hoàn toàn đồng ý tham gia vào nghiên cứu này.

- Tôi đã được thông tin đầy đủ về những nguy cơ về lợi ích của việc tham gia vào nghiên cứu này. Tôi đã nhận được những câu trả lời giải đáp những thắc mắc của bản thân về nghiên cứu và tôi đồng ý tham gia chương trình nghiên cứu.

- Tôi đồng ý cho nhân viên của chương trình ghi nhận các thông tin về sức khỏe của tôi và sử dụng các thông tin này về sau cho các nghiên cứu y học.

- Tôi biết rằng tôi có thể ngừng tham gia nghiên cứu bất kỳ lúc nào. Nếu tôi ngừng tham gia nghiên cứu, thì điều này sẽ không ảnh hưởng đến việc chăm sóc điều trị cho tôi. Tôi đồng ý cho phép chương trình vẫn tiếp tục được sử dụng các thông tin của tôi đã được thu thập, tính đến thời điểm tôi ngưng tham gia nghiên cứu.

Mã số nghiên cứu: -----

Tên người tham gia: -----

Chữ ký: ----- **Ngày Ký:** -----

(Lấn dấu tay hoặc đánh dấu cộng nếu không biết chữ)

Tên của nhân viên nghiên cứu: -----

Chữ ký: ----- **Ngày Ký:** -----

Nếu người chấp thuận không thể tự đọc phiếu này, một người làm chứng cần có mặt ở đó và ký vào đây: Tôi hiện diện ở đây trong suốt quá trình chấp thuận với người tham gia chương trình nghiên cứu. Thông tin trong phiếu này đã được đọc cho người tình nguyện nghe, tất cả thắc mắc từ người tình nguyện đã được giải đáp và họ tình nguyện chấp thuận tham gia vào chương trình này.

Tên người làm chứng: -----

Chữ ký: ----- **Ngày Ký:** -----

Bảng 2: Đồng ý uống thuốc điều trị

PHIẾU CHẤP THUẬN THAM GIA UỐNG THUỐC

Họ và tên: Tuổi: Dân tộc:

Địa chỉ:

Tôi đã được các bác sĩ thông báo và giải thích về nguy cơ mắc và tác hại bệnh nhiễm giun lươn *Strongyloides* sp..

Tôi đã xét nghiệm phân và biết mình bị nhiễm giun lươn tại đường ruột.

Tôi được chỉ định điều trị bệnh giun lươn với thuốc ivermectin liều duy nhất, tên thương mại của thuốc là STROMECTIN đã được Bộ y tế Việt Nam cho lưu hành HSD: 07 /11 / 2019

Tôi đã được cán bộ y tế tư vấn về tác dụng của thuốc và không phải trả tiền nếu chấp thuận uống thuốc điều trị

Đồng ý tham gia Không đồng ý

.....
Ngày.....tháng năm 2017

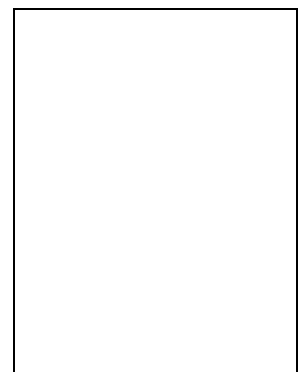
Cán bộ thực hiện

Người tham gia/Người bảo hộ

Hoặc điểm chỉ

(Ký và ghi họ tên)

(Ký và ghi họ tên)



.....
Cán bộ y tế liên hệ khi có triệu chứng/vấn đề cần trao đổi

Bs Lê Thị Thanh Thảo: 01207025739

Bs Lê Đức Vinh: 0919096773