

**ỨNG DỤNG KHÁNG NGUYÊN NS1 TÁI TỔ HỢP GỘP BỐN TÝP
VIRUS DENGUE ĐỂ PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ IgM/IgG TRONG MÁU
BỆNH NHÂN MẮC SỐT XUẤT HUYẾT DENGUE**

Hoàng Xuân Cường^{1,3}, Đỗ Như Bình¹, Vũ Tùng Sơn¹
Nguyễn Thái Quỳnh Anh¹, Vũ Minh Thương², Võ Thị Bích Thủy²*

Tóm tắt

Virus Dengue (DENV) gây bệnh sốt xuất huyết Dengue (SXHD), được truyền qua muỗi *Aedes aegypti*, gồm bốn týp khác nhau (DEN-1 đến DEN-4). Kháng nguyên NS1 là dấu ấn sinh học quan trọng trong việc chẩn đoán SXHD thông qua các xét nghiệm miễn dịch đặc hiệu. **Mục tiêu:** Đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của kháng nguyên NS1 tái tổ hợp gộp 4 chủng để phát hiện kháng thể kháng DENV bằng kỹ thuật ELISA. **Phương pháp nghiên cứu:** Dùng kỹ thuật ELISA gián tiếp sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 có khả năng nhận diện cho cả 4 chủng Dengue nhằm phát hiện kháng thể IgM/IgG trong mẫu máu bệnh nhân (BN) mắc SXHD. So sánh độ nhạy, độ đặc hiệu với xét nghiệm real-time PCR. **Kết quả:** Xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp sử dụng kháng nguyên rAgNS1-DENV1-4 cho độ nhạy 95,9% và độ đặc hiệu 99,33% với ngưỡng cut-off 0,353. Giá trị tiên đoán dương tính là 95,21%, và giá trị tiên đoán âm tính là 99,43%. **Kết luận:** Kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 đạt ngưỡng giá trị tin cậy trong xét nghiệm miễn dịch phát hiện kháng thể IgM/IgG ở mẫu máu BN mắc SXHD.

Từ khóa: Sốt xuất huyết Dengue; NS1; ELISA gián tiếp; Độ nhạy; Độ đặc hiệu.

**APPLICATION OF RECOMBINANT NS1 ANTIGEN
FROM THE COMBINATION OF FOUR TYPES OF DENGUE VIRUS
TO DETECT IgM/IgG ANTIBODIES IN BLOOD SAMPLES
OF PATIENTS WITH DENGUE HEMORRHAGIC FEVER**

Abstract

The Dengue virus, transmitted by *Aedes aegypti* mosquitoes and encompassing four serotypes (DEN-1 to DEN-4), causes Dengue fever. The biomarker NS1 plays

¹Học viện Quân y

²Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương, Bộ Y tế

*Tác giả liên hệ: Hoàng Xuân Cường (hoangxuancuong@vmmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 12/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 29/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.694>

a pivotal role in diagnosing Dengue fever through specific immune tests. **Objectives:** To evaluate the sensitivity and specificity of recombinant NS1 antigen combined of four types of Dengue virus to detect antibodies against Dengue virus using ELISA technique. **Methods:** The methodology includes employing an Indirect ELISA with the recombinant antigen rAgNS1-DENV1-4, capable of identifying IgM/IgG antibodies for all four Dengue serotypes in patient blood samples. The sensitivity and specificity of the method were compared with real-time RT-PCR. **Results:** The Indirect ELISA immune tests utilizing the rAgNS1-DENV1-4 antigen demonstrated a sensitivity of 95.9% and specificity of 99.33%, with a cut-off threshold of 0.353. The positive predictive value was 95.21%, and the negative predictive value was 99.43%. **Conclusion:** The recombinant antigen rAgNS1-DENV1-4 meets the reliable threshold for detecting IgM/IgG antibodies in Dengue Hemorrhagic Fever.

Keywords: Dengue hemorrhagic fever; NS1; Indirect ELISA; Sensitivity; Specificity.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt xuất huyết Dengue là bệnh truyền nhiễm cấp tính do DENV gây ra. Virus được truyền từ người sang người thông qua muỗi *Aedes aegypti*. Hiện nay, thế giới có hơn một phần ba dân số đang sống trong các khu vực có nguy cơ lây nhiễm và SXHD đóng vai trò quan trọng trong gây bệnh và tử vong ở các vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới [1, 2]. Việt Nam nằm trong vùng dịch tễ sốt xuất huyết lưu hành cao và là một trong 5 nước có gánh nặng SXHD cao nhất ở khu vực châu Á - Thái Bình Dương [3]. Hiện nay, SXHD rất khó khống chế do có 4 chủng virus khác nhau có miễn dịch chéo rất yếu, chưa có vaccine phòng

bệnh nên một người có thể bị mắc SXHD nhiều lần. Các tít DENV khác nhau về trình tự hệ gen, độc lực virus, khả năng gây bệnh, cũng như có sự khác nhau trong tương tác với vật chủ, do đó gây ra bệnh cảnh lâm sàng đa dạng, từ không triệu chứng đến SXHD điển hình hoặc SXHD nặng với nhiều biến chứng. Hiện tại, các phương pháp chẩn đoán dựa trên phát hiện kháng thể IgM kháng DENV và xét nghiệm nhanh NS1 đã được sử dụng rộng rãi, nhưng còn hạn chế về độ nhạy và độ đặc hiệu [4, 5, 6, 7]. Việc phát triển kháng nguyên tái tổ hợp NS1 đa chủng có thể nâng cao độ chính xác của chẩn đoán SXHD. Hướng nghiên cứu này không chỉ mang tính đột phá trong việc

phát triển kháng nguyên tái tổ hợp NS1 đa chủng, mà còn tạo ra một phương pháp chẩn đoán đa mục tiêu, giúp đảm bảo độ nhạy và độ đặc hiệu cao trong việc xác định sớm nhiễm DENV. Trên cơ sở phân tích về sự cần thiết ở trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Ứng dụng kháng nguyên NS1 tái tổ hợp gộp 4 chủng (rAgNS1-DENV1-4) phát hiện kháng thể IgG/IgM kháng DENV nhằm đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của phương pháp này trong chẩn đoán bệnh.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1 DENV1-4 cộng gộp có khả năng nhận biết cả 4 chủng DENV (sản phẩm của đề tài khoa học công nghệ cấp Thành phố Hà Nội, mã số 01C-08/01-2020-03), đã được tinh sạch và bảo quản tại -20°C.

Tổng 366 mẫu máu BN được chẩn đoán SXHD và có xét nghiệm dương tính với NS1, IgG, IgM tại 02 bệnh viện (180 mẫu ở Bệnh viện Quân y (BVQY) 103 và 186 mẫu ở BVQY 175) và được xác định bằng real-time RT-PCR. Ngoài ra, nhóm chứng âm gồm 300 mẫu máu của người không bị nhiễm SXHD (thực hiện các xét nghiệm sinh hóa xác định kháng

nguyên NS1, kháng thể kháng DENV (IgM, IgG) sử dụng SXHD Bioine Dengue đều cho kết quả âm tính tại Khoa Vi sinh Y học, Bệnh viện Quân y 103 và khẳng định bằng real-time RT-PCR. Mẫu được bảo quản trong điều kiện đạt tiêu chuẩn trước khi thực hiện nghiên cứu đề tài.

** Địa điểm và thời gian nghiên cứu:*

Viện Nghiên cứu hệ gen (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) trong thời gian từ tháng 01/2022 - 7/2023.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Xác định các týp DENV bằng multiplex real-time RT-PCR:*

Mẫu máu của BN được xác định dương tính với SXHD tiến hành tách RNA bằng kit GeneJET Viral DNA/RNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific). Sau đó, các mẫu RNA được tổng hợp cDNA bằng bộ kit SuperScript™ III First-Strand Synthesis SuperMix (Thermo Fisher Scientific). Tất cả quy trình được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Bốn cặp mồi khác nhau để xác định DENV-1, DENV-2, DENV-3 và DENV-4 của DENV được tìm kiếm dựa trên các nghiên cứu trước đó theo tiêu chí đảm bảo độ đặc hiệu, độ nhạy, khả năng tương thích, khác nhau về kích thước sản phẩm PCR, tỷ lệ G-C, độ dài trình tự mồi và nhiệt độ

biến tính. Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn bộ môi để định tít DENV dựa trên nghiên cứu của Lanciotti và CS (1992) [8]. Trình tự và kích thước của sản phẩm khuếch đại gen được trình bày ở bảng 1. Thực hiện phản ứng khuếch đại gen đích

bằng phản ứng multiplex real-time PCR sử dụng SYBR™ Green PCR Master Mix xác định các tít của DENV theo hướng dẫn của bộ kit có chu trình nhiệt như sau: 95°C/3 phút; 40 chu kỳ (95°C/30 giây; 55°C/45 giây; 72°C/60 giây); 72°C/5 phút.

Bảng 1. Trình tự môi định danh các chủng DENV.

Tít virus	Trình tự môi 5'-3'	Kích thước
Dengue_F	5'-TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG-3'	
DENV1_R	5'-CGTCTCAGTGATCCGGGGG-3'	482 bp
DENV2_R	5'-CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3'	119 bp
DENV3_R	5'-TAACATCATCATGAGACAGAGC-3'	290 bp
DENV4_R	5'-CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA-3'	392 bp

* Quy trình thực hiện phương pháp ELISA gián tiếp:

Bộ kit Human Anti-Dengue virus IgM/IgG ELISA Kit (Abcam - Anh) được sử dụng để đánh giá khả năng phát hiện kháng thể IgM/IgG chống lại kháng nguyên rAgNS1-DENV1-4. Cố định 150µL kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 đạt nồng độ cuối cùng 20 µg/mL/giếng lên bề mặt đĩa ELISA, ủ ở 37° trong 1 giờ. Đồ dịch và loại bỏ các kháng nguyên tái tổ hợp thừa không gắn bản bằng 300 µL/giếng dung dịch rửa PBS Tween 1X. Khóa màng bằng 300 µL/giếng dung dịch BSA 1.5%, ủ ở 37° trong 1 giờ. Rửa

đĩa bằng 300 µL/giếng dung dịch rửa PBS Tween 1X. Thêm 200µL mẫu huyết thanh đã được pha loãng với dung dịch pha loãng mẫu TBS Tween 1X theo tỷ lệ 1:2, ủ ở 37° trong 1 giờ. Loại bỏ huyết thanh thừa bằng 300 µL/giếng PBS Tween 1X. Bổ sung 100µL dung dịch kháng thể cộng hợp Dengue virus anti-IgM/IgG HRP Conjugate đã được pha loãng theo tỷ lệ 1:5000 với nước khử ion vào mỗi giếng, ủ đĩa ở 37° trong 1 giờ. Ở các lần rửa đĩa đều lặp lại 3 lần để tránh nhiễm tạp. Bổ sung 100µL cơ chất TMB substrate, ủ trong tối 15 phút. Dừng phản ứng bằng 100µL dung dịch

HCl 1M. Đọc kết quả bằng máy đọc ELISA (Biotek ELX808 ELISA plate reader, Biotek, Hoa Kỳ) ở bước sóng 450nm.

* *Xử lý số liệu:*

Giá trị OD₄₅₀ của 300 mẫu huyết thanh người xác định là âm tính không bị nhiễm DENV được đo bằng phương pháp ELISA gián tiếp, các mẫu được lặp lại 3 lần nhằm hạn chế sai số. Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn SD của các mẫu đo ở bước sóng 450nm, sau đó được xử lý bằng phần mềm Graphpad Prism 9 Software (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA). Tổng giá trị OD₄₅₀ trung bình mẫu âm tính với 3 lần độ lệch chuẩn SD được sử dụng làm giá trị ngưỡng để xác định xét nghiệm ELISA gián tiếp [9]. Đối với những mẫu huyết thanh có giá trị OD₄₅₀ trên ngưỡng giá trị cut-off được coi là mẫu dương tính và ngược lại. Độ chính xác xét nghiệm phát hiện kháng thể IgM/IgG trong mẫu huyết thanh sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 được so sánh với kết quả xét nghiệm real-time PCR. Một đường cong ROC được xây dựng nhằm đánh giá độ tin cậy của phương pháp xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 trong chẩn đoán. Kết quả được tính toán bằng cách sử dụng các công thức xét nghiệm chẩn đoán độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên

đoán dương tính và giá trị tiên đoán âm tính [10]. Trong đó: TP = số lượng kết quả dương tính thật, FP = số lượng kết quả dương tính giả, FN = số lượng kết quả âm tính giả và TN = số lượng kết quả âm tính thực.

$$\text{Độ nhạy: Se} = \frac{TP}{TP+FN} \times 100\%$$

$$\text{Độ đặc hiệu: Sp} = \frac{TN}{TN+FP} \times 100\%$$

Giá trị dự đoán âm:

$$NPV = \frac{FN}{FN+TN} \times 100\%$$

Giá trị dự đoán dương:

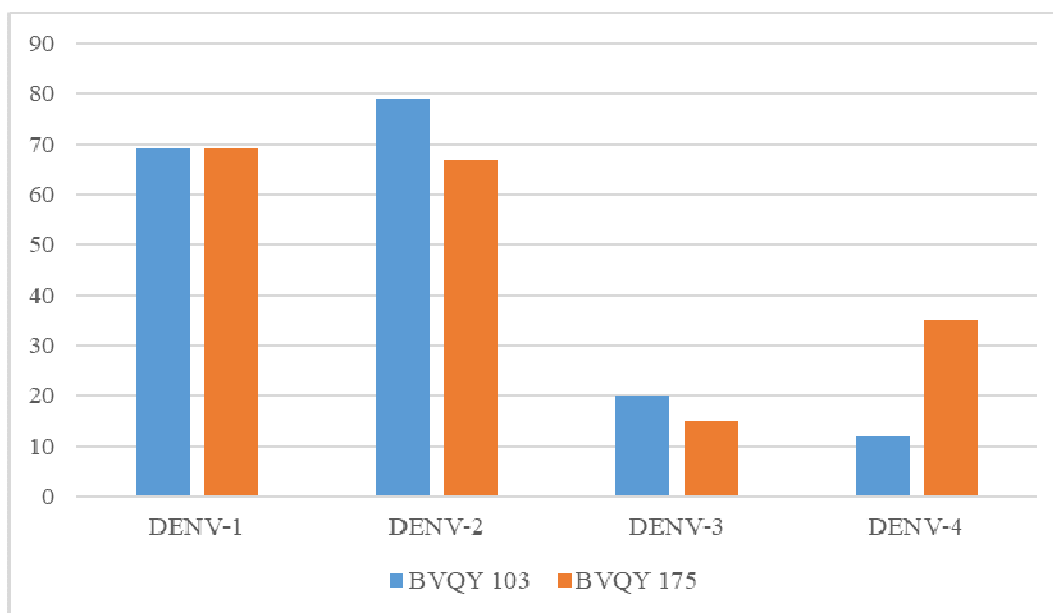
$$PPV = \frac{FP}{FP+TP} \times 100\%$$

3. Đạo đức nghiên cứu

Quy trình nghiên cứu được phê duyệt theo Giấy chứng nhận số 58/CN-VSR ngày 31 tháng 12 năm 2021 của Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y Sinh học, Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương và tuân thủ theo các tiêu chuẩn đạo đức của Tuyên bố Helsinki năm 1975. Các mẫu huyết thanh được thu thập ẩn danh bằng cách sử dụng số mã hóa, không sử dụng tên, tên viết tắt hoặc mã số nhập viện của BN. Các thông tin của BN được bảo mật nghiêm ngặt theo các hướng dẫn đạo đức quốc tế và sử dụng riêng cho nghiên cứu học thuật. Chúng tôi cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

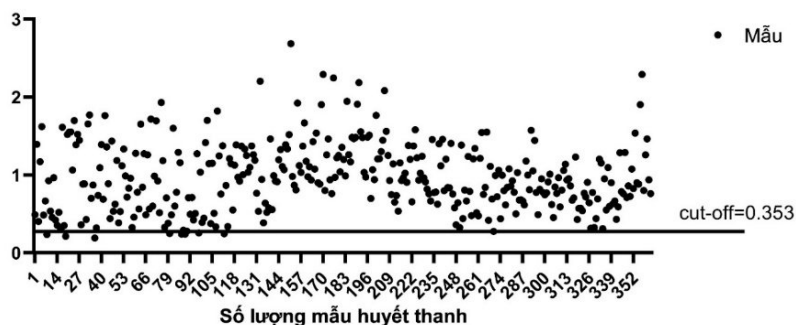
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Xét nghiệm multiplex real-time RT-PCR được thực hiện trên 666 mẫu gồm 300 mẫu xác định âm tính với DENV và 366 mẫu xác định dương tính với virus DENV. Trong tổng các mẫu dương tính từ 2 nhóm nghiên cứu trên có 138 mẫu nhiễm DENV-1 (BYQY 103: 69 mẫu; BYQY 175: 69 mẫu), 146 mẫu nhiễm DENV-2 (BYQY 103: 79 mẫu; BYQY 175: 67 mẫu); 35 mẫu nhiễm DENV-3 (BYQY 103: 20 mẫu; BYQY 175: 15 mẫu) và 47 nhiễm DENV-4 (BYQY 103: 12 mẫu; BYQY 175: 35 mẫu).



Hình 1. Biểu đồ phân bố các chủng DENV từ 2 nhóm nghiên cứu.

Để xác định giá trị ngưỡng phát hiện của các mẫu dương tính và âm tính, 300 mẫu âm tính được xác định ở trên được chọn làm số liệu để xây dựng ngưỡng cut-off. Kết quả cho thấy giá trị trung bình của các giá trị OD_{450} là 0,284, độ lệch chuẩn là 0,07778. Theo công thức tính toán giá trị ngưỡng được trình bày ở trên, trong nghiên cứu này giá trị ngưỡng được xác định là 0,353. Do đó, với xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp sử dụng rAgNS1-DENV1-4 để phát hiện kháng thể trong huyết thanh, các mẫu trên ngưỡng cut-off ($> 0,353$) được coi là dương tính và ngược lại (Hình 1).



Hình 2. Kết quả ELISA xác định mẫu dương tính SXHD trong 2 nhóm nghiên cứu. Giá trị cut-off = 0,353.

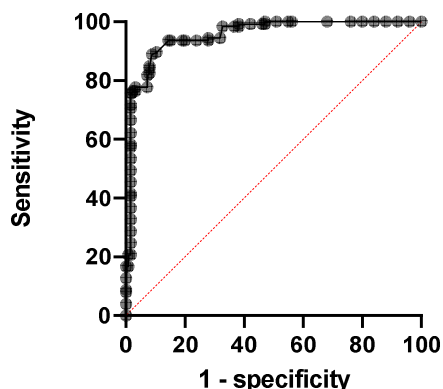
Trong số 366 mẫu bệnh được xác định dương tính bằng real-time PCR, xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp cho thấy có 351 mẫu dương tính thật và 15 mẫu âm tính giả. Với 300 mẫu đối chứng khi xét nghiệm bằng real-time RT-PCR xuất hiện 298 mẫu âm tính thật và 2 mẫu dương tính giả. Số lượng mẫu được kiểm chứng bằng phương pháp real-time RT-PCR ở cả 2 nhóm mẫu dương tính giả. Đánh giá sơ bộ về độ nhạy, độ đặc hiệu, dự đoán dương, và dự đoán âm theo công thức ở phần phương pháp cho thấy xét nghiệm định tính ELISA gián tiếp sử dụng rAgNS1-DENV1-4 cho độ nhạy 95,9% và độ đặc hiệu 99,33% với ngưỡng cut-off 0,353. Giá trị tiên đoán dương tính là 95,21%, trong khi giá trị tiên đoán âm tính là 99,43%.

Bảng 2. Đánh giá tương quan độ nhạy, độ đặc hiệu của xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp với phương pháp real-time RT-PCR.

ELISA	Real-time RT-PCR		Tổng
	(+)	(-)	
(+)	351	2	ELISA (+) = 353
(-)	15	298	ELISA (-) = 313
Tổng	366	300	666
Se (%)		95,90	
Sp (%)		99,33	
PPV (%)		99,43	
NPV (%)		95,21	

Một đường cong ROC (receiver operating characteristic) được dựng bằng phần mềm GraphPad Prism 9.0.0 so sánh giữa các điểm cut-off của phản ứng ELISA gián tiếp sử dụng rAgNS1-DENV1-4 với kết quả xét nghiệm tiêu chuẩn vàng real-time RT-PCR cho kết quả diện tích dưới đường cong AUC (Area

Under the Curve) là 0,9541 với giá trị $p < 0,0001$. Điều này chứng tỏ rAgNS1-DENV1-4 sử dụng trong xét nghiệm bằng phương pháp ELISA gián tiếp đạt ngưỡng giá trị tin cậy trong xác định kháng thể IgG/IgM trên BN SXHD.



Hình 3. Đường cong ROC đánh giá độ tin cậy của xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp NS1 gộp 4 chủng DENV.

BÀN LUẬN

Một số nhóm nghiên cứu thiết kế phát triển bộ test miễn dịch huỳnh quang sử dụng dấu ấn sinh học NS1 như Yow KS và CS (2021) thu được kết quả là tất cả các test nhanh đều có giá trị dự đoán dương tính cao (98,4 - 100%) đối với IgM và khi kết hợp NS1/IgM: Standard Q có giá trị dự đoán âm tính cao nhất là 63,8% (IgM) và 96,8% (NS1/IgM). Các giá trị dự đoán dương tính (PPV) cho IgM và NS1/IgM đều trên 95%. Ngược lại, các giá trị dự đoán âm tính (NPV) nằm trong khoảng từ 39,2 - 63,8% đối với IgM. Giá trị NPV tăng lên 78,4 - 96,8% khi kết hợp NS1/IgM. Giá trị NPV của test nhanh Standard Q cao

nhất khi phát hiện IgM và kết hợp NS1/IgM [11]. Với nhóm của Haider M và CS (2022) phân tích 19 nghiên cứu ($n = 5202$; tỷ lệ nhiễm DENV là 55,9%) thấy rằng test nhanh sắc ký miễn dịch NS1 có nhiều tiềm năng chẩn đoán hơn (DOR: 48,35), tiếp theo là NS1/IgM (DOR: 27,87) và IgM (DOR: 10,54). Test nhanh sắc ký miễn dịch NS1 có độ nhạy gộp (70,0%) và độ đặc hiệu gộp (95,4%) trong giai đoạn cấp tính cao hơn so với test nhanh sắc ký miễn dịch IgM (Se: 45,32%, Sp: 92,71%) nhưng thấp hơn so với khi kết hợp NS1/IgM (Se: 78,77%, Sp: 88,25%). Sáu loại test nhanh IgM cũng có độ nhạy thay đổi (19,3 - 78,5%) và độ đặc hiệu tương đương (88,1 - 95,2%) [12]. Test nhanh

sắc ký miễn dịch NS1 có độ nhạy gộp (70,0%) và độ đặc hiệu gộp (95,4%) trong giai đoạn cấp tính cao hơn so với test nhanh sắc ký miễn dịch IgM (Se: 45,32%, Sp: 92,71%) nhưng thấp hơn so với khi kết hợp NS1/IgM (Se: 78,77%, Sp: 88,25%). Sáu loại test nhanh IgM cũng có độ nhạy thay đổi (19,3 - 78,5%) và độ đặc hiệu tương đương (88,1 - 95,2%).

Xét nghiệm ELISA này có thể hữu ích ở những nơi không có xét nghiệm định lượng real-time RT-PCR, giúp sàng lọc trên diện rộng, số lượng mẫu nhiều trên một lần xét nghiệm, và có thể trả lời những mẫu dương tính đang nhiễm một trong bốn týp DENV, thay vì phải thực hiện xét nghiệm với từng týp riêng rẽ. Điều này giúp tiếp cận cộng đồng nhanh, sẽ làm giảm nhu cầu về cơ sở vật chất phòng thí nghiệm vốn đòi hỏi nhiều nhân lực và chi phí. Thử nghiệm này cũng có thể có lợi khi so sánh với các thử nghiệm định lượng tốn nhiều thời gian hơn trong phòng thí nghiệm. Việc sử dụng xét nghiệm định tính có thể giảm bớt gánh nặng cho BN âm tính thật hoặc dương tính giả tại bệnh viện chuyên tuyến, số lượng nhập viện ít hơn, có khả năng tiết kiệm chi phí chăm sóc sức khỏe và giảm tình trạng quá tải ở các khoa cấp cứu và bệnh viện. Vì vậy, các nghiên cứu tiếp theo với cỡ mẫu phù hợp có thể củng cố hơn nữa kết quả nghiên cứu của

chúng tôi và xác định liệu việc phát hiện kháng thể kháng NS1 có giúp hỗ trợ điều trị ở giai đoạn sớm và qua đó giúp cải thiện tình trạng của BN hay không. Ngoài ra cần có sự thử nghiệm so sánh thêm với các kit thương mại khác để nâng cao độ tin cậy của phương pháp ELISA gián tiếp sử dụng rAgNS1-DENV1-4 phát hiện kháng thể IgM/IgG kháng DENV.

KẾT LUẬN

Bước đầu đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của xét nghiệm ELISA gián tiếp xác định kháng thể kháng NS1 bằng kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1DENV1-4 có độ nhạy lên đến 95,9%, độ đặc hiệu xấp xỉ 100%, giá trị tiên đoán dương tính là 95,21%, và giá trị tiên đoán âm tính là 99,43%. Cần đánh giá thêm trên cỡ mẫu lớn hơn và so sánh với nhiều kit thương mại để khẳng định độ nhạy, độ đặc hiệu của kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 phát hiện kháng thể IgG/IgM trong máu BN SXHD bằng xét nghiệm ELISA gián tiếp.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu xin cảm ơn Ban giám đốc BVQY 103 và BVQY 175 đã hỗ trợ và tạo điều kiện để thu thập các mẫu máu BN mắc SXHD. Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ đề tài cấp Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hà Nội, mã số 01C-08/01-2020.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. W Dengue. Guidelines for diagnosis, Treatment. *Prevention and Control*. (No Title). 2009.
2. DJ Gubler. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever is a public health, social, and economic problem in the 21st century. *Trends Microbiol*. 2002; 10(2):100-103.
3. DL Akey, et al. Flavivirus NS1 crystal structures reveal a surface for membrane association and regions of interaction with the immune system. *Science*. 2014; 343(6173):881.
4. DR Glasner, H Puerta-Guardo, PR Beatty, and E Harris. The good, the bad, and the shocking: The multiple roles of dengue virus nonstructural protein 1 in protection and pathogenesis. *Annu Rev Virol*. 2018; 5:227-253.
5. MA Kabir, H Zilouchian, MA Younas, and W Asghar. Dengue detection: Advances in diagnostic tools from conventional technology to point of care. *Biosensors (Basel)*. 2021; 11(7):206.
6. EK Alidjinou, S Tardieu, I Vrenken, D Hober, and AC Gourinat. Prospective evaluation of a commercial dengue ns1 antigen rapid diagnostic test in New Caledonia. *Microorganisms*. 2022; 10(2):346.
7. LT Liu, et al. Comparison of two rapid diagnostic tests during a large dengue virus serotype 3 outbreak in the Solomon Islands in 2013. *PLoS One*. 2018; 13(8):e0202304.
8. RS Lanciotti, CH Calisher, DJ Gubler, GJ Chang, and AV Vorndam. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1992; 30(3):545-551.
9. S Suwanto, et al. Dengue score: A proposed diagnostic predictor for pleural effusion and/or ascites in adults with dengue infection. *BMC Infect Dis*. 2016; 16(1):1-7.
10. P Tontulawat, P Pongsiri, C Thongmee, A Theamboonlers, N Kamolvarin, and Y Poovorawan. Evaluation of rapid immunochromatographic NS1 test, anti-dengue IgM test, semi-nested PCR and IgM ELISA for detection of dengue virus. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. 2011; 42(3):570.
11. Yow KS, et al. Rapid diagnostic tests for the detection of recent dengue infections: An evaluation of six kits on clinical specimens. *PLoS One*. 2021; 16(4):e0249602.
12. Haider M, et al. Diagnostic accuracy of various immunochromatographic tests for NS1 antigen and IgM antibodies aetection in acute Dengue virus infection. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022; 19(14):8756.