

Đánh giá giá trị chẩn đoán của khay thử phát hiện nhanh kháng nguyên virus rubella

Ngô Thu Hương^{1*}, Ngô Tiến Thọ¹, Nguyễn Đăng Hiền¹, Trương Quốc Phong², Trần Văn Sơn¹

¹Trung tâm Nghiên cứu, Sản xuất Vắc-xin và Sinh phẩm Y tế, 135 Lò Đúc, phường Phạm Đình Hổ, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Đại học Bách Khoa Hà Nội, 1 Đại Cồ Việt, phường Bách Khoa, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 16/3/2023; ngày chuyển phản biện 20/3/2023; ngày nhận phản biện 8/4/2023; ngày chấp nhận đăng 12/4/2023

Tóm tắt:

Rubella là bệnh truyền nhiễm qua đường hô hấp do virus rubella gây ra. Mặc dù phần lớn bệnh ở mức độ nhẹ nhưng khi phụ nữ mang thai mắc bệnh có thể gây ra những dị tật bẩm sinh nghiêm trọng đối với thai nhi, do đó việc sàng lọc, chẩn đoán phát hiện nhiễm virus rubella sớm là rất cần thiết. Với mục tiêu đó, các tác giả đã nghiên cứu phát triển khay thử chẩn đoán nhanh kháng nguyên virus rubella. Khay thử được phát triển dựa trên kỹ thuật sắc ký miễn dịch sử dụng hạt nano vàng. Nghiên cứu này nhằm xác định một số đặc tính của khay thử, bao gồm ngưỡng phát hiện, phản ứng chéo với một số tác nhân gây bệnh, độ lặp lại, độ nhạy và đặc hiệu. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khay thử có khả năng phát hiện được mẫu có chứa 10^5 PFU virus rubella; không có phản ứng chéo với các mẫu chứa các tác nhân gây bệnh như: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, virus sởi, virus cúm, *Adenovirus*, độ lặp lại của khay thử đạt 100% đối với mẫu âm tính và dương tính. Độ nhạy và độ đặc hiệu của khay thử đạt 98 và 99% tương ứng.

Từ khóa: chẩn đoán, khay thử, virus rubella.

Chỉ số phân loại: 2.6

1. Đặt vấn đề

Rubella là bệnh truyền nhiễm do virus rubella gây ra, có thể gặp ở mọi lứa tuổi và gây bệnh nhẹ cho người lớn và trẻ em [1]. Tuy nhiên, khi phụ nữ mang thai mắc bệnh có thể gây ra những dị tật bẩm sinh nghiêm trọng đối với thai nhi [2]. Hội chứng rubella bẩm sinh có thể bao gồm một hoặc nhiều triệu chứng: khiếm khuyết ở mắt, các dị tật về tim, động mạch, khiếm khuyết về hệ thống thần kinh, ban xuất huyết, bệnh về xương... [3]. Hiện tại chưa có thuốc điều trị đặc hiệu cho bệnh rubella, cách phòng tránh hiệu quả nhất là tiêm vắc-xin dự phòng [4].

Virus rubella là một loại virus ARN sợi đơn, hình cầu, có vỏ bọc, kích thước từ 40 đến 80 nm, thuộc họ *Togaviridae*, chi *Rubivirus* [5]. Bộ gen được bao bọc trong một capsid bao gồm nhiều bản sao của protein capsid. Nucleocapsid này được bao quanh bởi một lớp lipid kép có chứa các glycoprotein vỏ virus là E1, E2a và E2b. Các kháng thể thuộc các nhóm khác nhau chống lại E1, E2a, E2b và C được hình thành và có mặt trong quá trình đáp ứng miễn dịch sau khi tiếp xúc với virus rubella, trong đó protein E1 có phản ứng tạo miễn dịch chiếm ưu thế hơn cả [5].

Giống như các bệnh nhiễm virus khác, bệnh nhân nhiễm virus rubella có thể được chẩn đoán bằng xét nghiệm trực tiếp virus (phân lập hoặc sinh học phân tử) hoặc gián tiếp qua kháng thể [6]. Virus có thể được phát hiện bằng cách nuôi cấy trên các tế bào Vero/SLAM/RK13 ở 35°C trong 3-5 ngày [7]. Tuy

nhiên, phương pháp này cần nhiều thời gian và quy trình phân tích gồm nhiều bước nên ít được sử dụng trong chẩn đoán [8]. Gần đây, việc chẩn đoán các trường hợp nhiễm rubella chủ yếu sử dụng phương pháp miễn dịch và sinh học phân tử. Kỹ thuật sinh học phân tử (RT-PCR) có độ nhạy tốt, tuy nhiên kỹ thuật này có yêu cầu cao về điều kiện hoá chất, trang thiết bị và con người nên việc áp dụng rộng rãi kỹ thuật này còn nhiều hạn chế, đặc biệt là các cơ sở y tế tuyến địa phương. Kỹ thuật miễn dịch, ví dụ phương pháp ELISA phát hiện kháng thể IgM, IgG đặc hiệu virus rubella là một xét nghiệm phổ biến để phát hiện nhiễm virus rubella thông qua kháng thể [9-11]. Tuy nhiên, việc xét nghiệm dựa vào kháng thể có thể không phản ánh đúng thời điểm virus lưu hành.

Việc sàng lọc, chẩn đoán phát hiện nhiễm rubella sớm là vô cùng quan trọng nhằm giảm thiểu các biến chứng xảy ra do bệnh, đặc biệt là phụ nữ mang thai. Với ưu điểm cho kết quả nhanh, dễ dàng thực hiện và không yêu cầu thiết bị nên việc phát triển khay thử phát hiện nhanh trực tiếp virus rubella dựa trên kỹ thuật sắc ký miễn dịch là một giải pháp cần được nghiên cứu [12]. Chúng tôi đã phát triển khay thử phát hiện nhanh kháng nguyên virus rubella hoạt động dựa trên nguyên lý sắc ký miễn dịch với thiết kế như sau: kháng thể đa dòng kháng virus rubella thứ nhất (kháng thể 1) được gắn cộng hợp với các hạt vàng dạng keo tụ và được hấp phụ trên miếng cộng hợp. Kháng thể đa dòng kháng virus rubella thứ hai (kháng thể 2) được cố định tại vị trí vạch kiểm tra (T) của khay thử. Protein A được cố định tại vị trí vạch kiểm chứng (C).

*Tác giả liên hệ: Email: ngohuong@polyvac.com.vn

Evaluation of the diagnostic value of a rapid diagnostic test kit for detection of rubella virus

Thu Huong Ngo^{1*}, Tien Tho Ngo¹, Dang Hien Nguyen¹,
Quoc Phong Truong², Van Son Tran¹

¹Center for Research and Production of Vaccines and Biologicals,

135 Lo Duc Street, Pham Dinh Ho Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

²Institute of Biotechnology and Food Technology, Hanoi University of Science and Technology,

1 Dai Co Viet Street, Bach Khoa Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

Received 16 March 2023; revised 8 April 2023; accepted 12 April 2023

Abstract:

Rubella is a respiratory infection caused by the Rubella virus. Although most cases of the disease are mild, when pregnant women contact with the virus, it can lead to severe birth defects in the fetus. Therefore, screening and early diagnosis of rubella infection are necessary. In pursuit of this objective, we have conducted research and developed a rapid test kit for the rubella virus antigen. The test kit is based on a lateral flow immunoassay that utilises gold nanoparticles. This study aimed to characterise the test kit by evaluating its detection threshold, cross-reactivity with several pathogens, repeatability, sensitivity, and specificity. The results showed that the test kit is capable of detecting samples containing 10^5 PFU of the rubella virus. The kit did not show any cross-reactivity with samples containing pathogens such as *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, the measles virus, influenza virus or *Adenovirus*. The test kit exhibited 100% reproducibility for both negative and positive samples. Its sensitivity and specificity were determined to be 98 and 99%, respectively.

Keywords: diagnosis, rubella virus, test kit.

Classification number: 2.6

Đặc tính của khay thử là các thông số quan trọng, là tiền đề để đánh giá chất lượng của một bộ sinh phẩm chẩn đoán. Do đó, trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành đánh giá giá trị chẩn đoán của khay thử về một số thông số như ngưỡng phát hiện, phản ứng chéo, độ nhạy và độ đặc hiệu trên các mẫu chuẩn cơ sở ở quy mô phòng thí nghiệm.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Virus rubella chủng M33 (ATCC - Mỹ) do Trung tâm Nghiên cứu, Sản xuất Vắc-xin và Sinh phẩm Y tế cung cấp.

Khay thử xét nghiệm định tính kháng nguyên virus rubella được phát triển và sản xuất tại Trung tâm Nghiên cứu, Sản xuất Vắc-xin và Sinh phẩm Y tế.

Khay thử dùng cho nghiên cứu (300 khay) được lấy ngẫu nhiên và cân bằng về số lượng từ các giai đoạn đầu, giữa và cuối của mỗi loạt đóng gói thành phẩm.

Các tác nhân vi sinh vật (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, virus sởi, virus cúm, *Adenovirus*) nằm trong bộ mẫu chuẩn kiểm định của Trung tâm Nghiên cứu, Sản xuất Vắc-xin và Sinh phẩm Y tế.

Biến số nghiên cứu: Các thông số về ngưỡng phát hiện, phản ứng chéo, độ nhạy và đặc hiệu của khay thử xét nghiệm định tính kháng nguyên virus rubella được xác định dựa trên mẫu âm tính và dương tính với virus rubella bằng phương pháp RT-PCR.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tạo mẫu chuẩn virus rubella và mẫu thử nghiệm

Tạo mẫu chuẩn: Virus rubella chủng M33 (ATCC - Mỹ) được gây nhiễm và nhân lên trên tế bào BHK21 trong điều kiện $37^{\circ}\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Sau 10 ngày nuôi cấy, virus rubella được thu hoạch bằng ly tâm thu dịch nổi và cô đặc bằng lọc tiếp tuyến sử dụng màng 100 kDa. Dung dịch virus sau cô đặc được kiểm tra hiệu giá bằng phương pháp tạo đám hoại tử trên tế bào RK13. Ngoài ra, dung dịch virus rubella cũng được kiểm tra vô trùng bằng phương pháp thử nghiệm vô trùng trực tiếp. Dung dịch virus được bảo quản ở -75°C .

Mẫu thử nghiệm: i) Mẫu âm tính: Dịch tỵ hầu của người khỏe mạnh (được xác nhận âm tính với virus rubella bằng RT-PCR); ii) Mẫu dương tính: Mẫu dịch tỵ hầu của người khỏe mạnh (được xác nhận âm tính với virus rubella bằng RT-PCR), sau đó trộn với virus rubella. Xác nhận dương tính với virus rubella bằng RT-PCR.

2.2.2. Phương pháp xác định ngưỡng phát hiện

Mẫu rubella chuẩn được pha loãng ở các dải lượng virus khác nhau: $1,0 \times 10^6$, 5×10^5 , $2,5 \times 10^5$, $1,0 \times 10^5$, $5,0 \times 10^4$, $2,5 \times 10^4$, $1,0 \times 10^4$, $5,0 \times 10^3$ PFU trong đệm chứa dịch tỵ hầu. Nhỏ 100 μl dịch mẫu vào vị trí nạp mẫu trên khay thử. Quan sát kết quả sau 10-15 phút. Nếu cửa sổ quan sát xuất hiện 2 vạch tín hiệu tại vị trí T và C thì kết quả là dương tính. Nếu cửa sổ quan sát chỉ xuất hiện vạch tín hiệu ở vị trí C thì kết quả là âm tính. Nếu cửa sổ quan sát chỉ xuất hiện vạch tín hiệu ở vị trí T, hoặc không xuất hiện cả ở vị trí T và C thì khay thử bị lỗi, cần thử lại với khay thử khác.

Ngưỡng phát hiện được xác định ở nồng độ virus thấp nhất mà khay thử cho kết quả dương tính. Thử nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.3. Phương pháp xác định phản ứng chéo của khay thử

Các tác nhân vi sinh vật (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, virus sởi, virus cúm, *Adenovirus*) được pha trong đệm chứa dịch tỵ hầu ở nồng độ $2,0 \times 10^6$ CFU/ml

(đối với vi khuẩn) và 2.0×10^6 PFU/ml (đối với virus). Dịch mẫu (100 μ l) được nhỏ vào vị trí nạp mẫu trên khay thử và quan sát kết quả.

2.2.4. Phương pháp xác định độ lặp của khay thử

Để xác định độ lặp lại của khay thử, 10 khay thử sẽ được thử nghiệm với cùng một loại mẫu âm hoặc dương với virus rubella.

2.2.5. Phương pháp xác định độ nhạy, độ đặc hiệu của khay thử

Độ nhạy và độ đặc hiệu được xác định như sau:

Độ nhạy (%) = $\frac{\text{Số dương tính thực (a)}}{\text{Số dương tính (a + b)}} \times 100\%$

Độ đặc hiệu (%) = $\frac{\text{Số âm tính thực (c)}}{\text{Số âm tính (c + d)}} \times 100\%$

trong đó (a) mẫu dương tính thực; (b) mẫu âm tính giả; (c) âm tính thực; (d) dương tính giả.

2.3. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu được nhập và xử lý trên phần mềm Excel, tính toán khoảng tin cậy 95% (95% CI) theo phần mềm trên website [13].

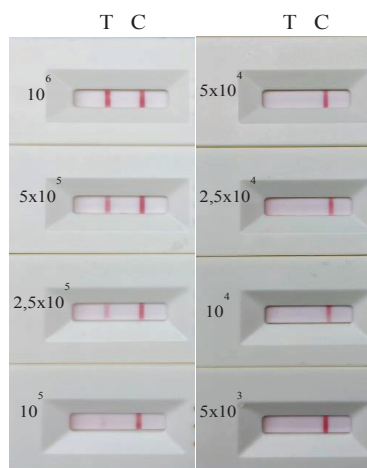
2.4. Đạo đức nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu thử nghiệm trên mẫu dịch ty hầu của người khoẻ mạnh tình nguyện tại cơ sở nghiên cứu đã được Hội đồng khoa học của cơ sở nghiên cứu thông qua.

3. Kết quả

3.1. Kết quả xác định ngưỡng phát hiện khay thử

Ngưỡng phát hiện là đặc tính quan trọng cần xác định của một sản phẩm khay thử nhanh. Ngưỡng phát hiện của một khay thử nhanh là lượng virus thấp nhất mà khay thử cho kết quả dương tính. Để xác định ngưỡng phát hiện của khay thử phát hiện nhanh virus rubella chúng tôi sử dụng dung dịch virus rubella có dải lượng như sau: 1.0×10^6 , 5×10^5 , 2.5×10^5 , 1.0×10^5 , 5.0×10^4 , 2.5×10^4 , 1.0×10^4 , 5.0×10^3 PFU trong đệm chứa dịch ty hầu.



Hình 1. Kết quả xác định ngưỡng phát hiện của khay thử. T: vạch thử nghiệm; C: vạch kiểm chứng.

Kết quả hình 1 cho thấy, tín hiệu quan sát được bằng mắt thường tại vị trí vạch T giảm dần khi lượng virus rubella giảm từ 10^6 xuống 10^5 PFU và tín hiệu không quan sát được tại lượng 5×10^4 PFU. Dựa trên kết quả quan sát bằng mắt thường xác định được ngưỡng phát hiện của khay thử đối với virus rubella là 10^5 PFU.

Bảng 1. Kết quả kiểm tra cường độ hấp thụ khi xác định ngưỡng phát hiện.

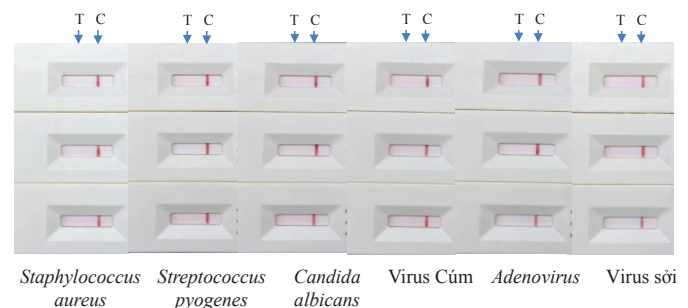
Lượng virus trong mẫu (PFU)	Cường độ hấp thụ (mAbs)				
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	CV(%)
10^6	391,2	390,6	390,4	390,73	0,1
5×10^5	125,8	126,2	126,1	126,03	0,2
$2,5 \times 10^5$	68,2	68,5	68,3	68,33	0,2
10^5	13,6	13,2	13,5	13,43	1,5
5×10^4	4,3	4,5	4,1	4,30	4,7
$2,5 \times 10^4$	2,9	3,1	2,8	2,93	5,2
10^4	2,9	2,9	3,2	3,00	5,8
$5,0 \times 10^3$	3,2	3,4	3,7	3,43	7,3

Ngoài quan sát bằng mắt thường đánh giá khay thử, chúng tôi sử dụng máy đo cường độ vạch tín hiệu Hamamatsu (Nhật Bản) để đánh giá cường độ tín hiệu (độ hấp thụ) của vạch T sau khi thực hiện. Kết quả trong bảng 1 cho thấy, tín hiệu vạch T của cả 3 lần thực hiện đối với mẫu tại ngưỡng phát hiện bằng mắt thường cho kết quả tương đương nhau ($CV < 10\%$) và giá trị trung bình là 13,43 mAbs. Điều này cũng phù hợp với lý thuyết khả năng mất thường có thể nhìn thấy ở cường độ vạch ≥ 10 mAbs.

3.2. Kết quả kiểm tra phản ứng chéo của khay thử phát hiện virus rubella với một số tác nhân gây bệnh khác

Để thực hiện đánh giá phản ứng chéo của khay thử, chúng tôi đã thực hiện trên các tác nhân gây bệnh thường gặp trên đường hô hấp. Mẫu được hòa tan trong đệm dịch ty hầu với mật độ $>10^6$ CFU/ml đối với vi khuẩn và $>10^6$ PFU/ml đối với virus.

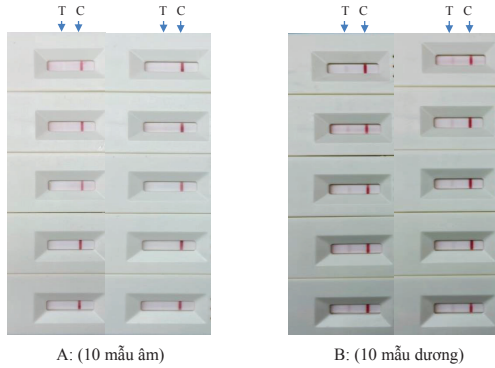
Kết quả hình 2 cho thấy, với 18 mẫu từ 6 tác nhân gây bệnh khác nhau khay thử không có phản ứng chéo với các mẫu chứa các tác nhân gây bệnh như: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, virus sởi, virus cúm, Adenovirus.



Hình 2. Phản ứng chéo với các tác nhân của khay thử phát hiện virus rubella. T: vạch thử nghiệm; C: vạch kiểm chứng.

3.3. Kết quả độ lặp lại của khay thử phát hiện virus rubella

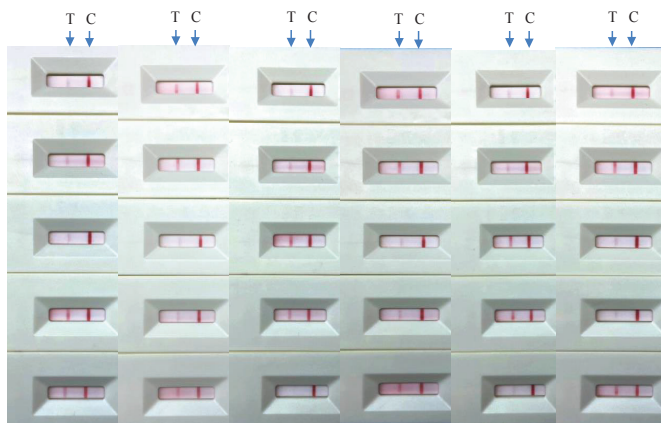
Kết quả trên hình 3A cho thấy, cả 10 khay thử với mẫu âm tính virus rubella đều cho cùng một kết quả là chỉ có sự xuất hiện của 1 vạch màu hồng tía tại vạch C; hình 3B cho thấy, cả 10 khay thử với mẫu dương tính virus rubella đều cho cùng một kết quả là sự xuất hiện 2 vạch tại C và T. Điều này khẳng định rằng, độ lặp lại của khay thử đạt 100% (10/10 khay thử).



Hình 3. Kết quả độ lặp lại của khay thử phát hiện virus rubella. T: vạch thử nghiệm; C: vạch kiểm chứng.

3.4. Kết quả xác định độ nhạy của khay thử

Để xác định độ nhạy của khay thử, chúng tôi tiến hành kiểm tra khay thử với 100 mẫu dịch ty hầu của người khỏe mạnh được bổ sung virus rubella (mẫu dịch ty hầu đã được xác định âm tính với virus rubella bằng phương pháp RT-PCR).

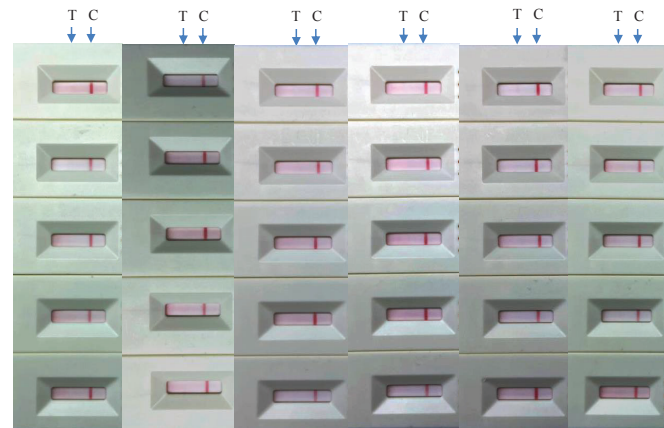


Hình 4. Kết quả độ nhạy của khay thử phát hiện virus rubella. T: vạch thử nghiệm; C: vạch kiểm chứng.

Khi chạy khay thử với 100 mẫu dương tính thì kết quả cho 98/100 mẫu xuất hiện 2 vạch màu hồng tía ở vạch T và C (hình 4), từ đó tính toán cho kết quả độ nhạy đạt 98%.

3.5. Kết quả xác định độ đặc hiệu của khay thử

Đối với độ đặc hiệu của khay thử, chúng tôi tiến hành kiểm tra khay thử với 100 mẫu dịch ty hầu của 100 người, các mẫu dịch ty hầu được xác nhận là âm tính với virus rubella bằng phương pháp RT-PCR.



Hình 5. Kết quả độ nhạy của khay thử phát hiện virus rubella. T: vạch thử nghiệm; C: vạch kiểm chứng.

Kết quả thử nghiệm xác định độ đặc hiệu cho thấy, 99/100 mẫu dịch ty hầu chạy với khay thử cho tín hiệu một vạch tại vị trí vạch C (hình 5), do đó chúng tôi kết luận độ đặc hiệu đạt 99%.

4. Bàn luận

Hiện nay, các phương pháp xét nghiệm chẩn đoán kháng nguyên virus rubella được sử dụng chủ yếu là RT-PCR. K. Okamoto và cs (2016) [14] đã đánh giá độ nhạy của phương pháp TaqMan RT-PCR đối với sự phát hiện virus rubella trên các mẫu lâm sàng. Giới hạn phát hiện của phương pháp đối với các kiểu gen riêng lẻ đã được kiểm tra bằng cách sử dụng RNA virus được chiết xuất từ 13 chủng đại diện. Xét nghiệm này cũng đã được thử nghiệm tại 10 phòng thí nghiệm cấp tỉnh ở Nhật Bản, được chỉ định là phòng thí nghiệm tham chiếu địa phương về bệnh sởi và rubella, để cho phép áp dụng xét nghiệm trên toàn quốc. Kết quả cho thấy, giới hạn phát hiện và hiệu quả khuếch đại của xét nghiệm là tương tự giữa tất cả các chủng đại diện của 13 kiểu gen. TaqMan RT-PCR có thể phát hiện khoảng 90% mẫu bệnh phẩm ngoáy họng và nước tiểu được lấy trong vòng 5 ngày kể từ khi bị bệnh. Các mẫu này được xác định là dương tính bằng RT-PCR lỏng có độ nhạy cao. TaqMan RT-PCR có thể phát hiện ít nhất 10 PFU virus rubella. Mặc dù độ nhạy thấp hơn một chút so với RT-PCR lỏng thông thường, nhưng TaqMan RT-PCR có thể thực tế hơn đối với các xét nghiệm thông thường để chẩn đoán và phát hiện rubella trong phòng thí nghiệm vì phản ứng nhanh và giảm nguy cơ lây nhiễm.

C. Claus và cs (2017) [15] đã phát triển xét nghiệm PCR định lượng phiên mã ngược một bước (RT-qPCR) dựa trên Taq-Man RT-PCR với gen p90 là một gen đích mới và chưa được khám phá cho đến nay để phát hiện các kiểu gen I và II. Xét nghiệm này đặc hiệu và có độ nhạy cao với giới hạn phát hiện thấp từ 5 đến 1 bản sao cho mỗi phản ứng hoặc 200 hạt virus truyền nhiễm trên mỗi ml. Giá trị CV của Ct lặp trong một

xét nghiệm và giữa các xét nghiệm đều thấp, tối đa lần lượt là 3,4 và 2,4%. Thử nghiệm đã được chứng minh là phù hợp và đặc hiệu để phân tích các mẫu lâm sàng và p90 là đích mới phù hợp để chẩn đoán RV trên toàn thế giới.

Z. Zhu và cs (2007) [16] đã đánh giá độ nhạy của 4 phương pháp phát hiện nhiễm virus rubella bằng cách sử dụng tằm bông lấy mẫu từ cổ họng, được thu thập ở các tỉnh Hà Nam và An Huy ở Trung Quốc. Các phương pháp được sử dụng là phiên mã ngược RT-PCR, sau đó là lai Southern sử dụng RNA được chiết xuất trực tiếp từ các mẫu bệnh phẩm; phương pháp phát triển của virus trong nuôi cấy mô, sau đó là phát hiện virus bằng RT-PCR; phương pháp miễn dịch huỳnh quang nền thấp trong các tế bào nuôi cấy mô bị nhiễm bệnh sử dụng các kháng thể đơn dòng đối với các protein cấu trúc của virus rubella; và phương pháp phát hiện virus truyền nhiễm dựa trên vòng sao chép (replicon). Trong số 4 phương pháp này, RT-PCR trực tiếp sau đó lai là phương pháp nhạy cảm nhất (91%), trong khi các phương pháp còn lại đều có độ nhạy là 77%; phương pháp dựa trên bản sao ít khó thực hiện nhất.

Tất cả các phương pháp trên có độ nhạy cao, tuy nhiên mất nhiều thời gian, cán bộ thực hiện đòi hỏi trình độ cao, được đào tạo kỹ lưỡng, trang thiết bị đắt tiền mà không phải bất cứ phòng thí nghiệm nào cũng có. Khay thử hoạt động theo nguyên lý sắc ký miễn dịch trong nghiên cứu này có thể phát hiện virus ở ngưỡng 10^5 PFU, độ nhạy có thể không cao bằng các phương pháp trên tuy nhiên thời gian thực hiện chỉ 10-15 phút, không cần trang thiết bị và người bệnh có thể dễ dàng tự thực hiện. Khi dịch bệnh xảy ra, đặc biệt ở các tuyến dưới không có trang thiết bị để sàng lọc nhanh thì khay thử phát hiện nhanh rất có ý nghĩa, giúp cách ly kịp thời và các bác sỹ có hướng điều trị nhanh, giảm gánh nặng bệnh tật cho cộng đồng. Để có thể ứng dụng khay thử này vào thực tiễn, cần tiếp tục nghiên cứu đánh giá khay thử trên các mẫu lâm sàng.

5. Kết luận

Khay thử phát hiện nhanh virus rubella được nghiên cứu phát triển có khả năng phát hiện mẫu có chứa virus rubella ở ngưỡng 10^5 PFU; không có phản ứng chéo với các mẫu chứa các tác nhân gây bệnh như: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, virus sởi, virus cúm, *Adenovirus*; độ lặp lại của khay thử đạt 100 % đối với mẫu âm tính và dương tính. Độ nhạy và độ đặc hiệu của khay thử đạt lần lượt là 98 và 99%. Kết quả nghiên cứu thu được là cần thiết để đánh giá giá trị phát hiện của khay thử xét nghiệm virus rubella. Tuy nhiên, khay thử này cần được tiếp tục nghiên cứu đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu trên các mẫu lâm sàng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Bộ Y tế thông qua đề tài: “Nghiên cứu sản xuất huyết thanh kháng rubella ứng dụng trong kiểm định vắc-xin và phát triển sinh phẩm chẩn đoán”. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J. Wang, Y. Xu, X. Wang, et al. (2022), “Epidemiological characteristic of rubella by age group during 12 years after the national introduction of rubella vaccine in Hangzhou, China”, *Human Vaccines Immunotherapeutics*, **18**(5), pp.205-208, DOI: 10.1080/21645515.2022.2054208.
- [2] M. Toizumi, S. Tanaka, M. Moriuchi, et al. (2021), “Rubella seroprevalence among mothers and incidence of congenital rubella three years after rubella vaccine introduction in Vietnam”, *Human Vaccines Immunotherapeutics*, **17**(9), pp.3156-3161, DOI: 10.1080/21645515.2021.1922264.
- [3] S. Katow (2004), “Molecular epidemiology of rubella virus in Asia: Utility for reduction in the burden of diseases due to congenital rubella syndrome”, *Pediatrics International*, **46**(2), pp.207-213, DOI: 10.1046/j.1442-200x.2004.01866.x.
- [4] T. Ogata, M. Murooka, M. Akashi, et al. (2021), “The period from prodromal fever onset to rash onset in laboratory-confirmed rubella cases: A cross-sectional study”, *BMC Infectious Diseases*, **21**(1), DOI: 10.1186/s12879-021-06158-9.
- [5] M.V. Prasad, S.D. Willows, A. Fokine, et al. (2013), “Rubella virus capsid protein structure and its role in virus assembly and infection”, *Proceedings of The National Academy of Sciences*, **110**(50), pp.20105-20110, DOI: 10.1073/pnas.1316681110.
- [6] A.A. Dolskiy, I.V. Grishchenko, D.V. Yudkin (2020), “Cell cultures for virology: Usability, advantages, and prospects”, *International Journal of Molecular Sciences*, **21**(21), DOI: 10.3390/ijms21217978.
- [7] Y. Feng, S. Santibanez, H. Appleton, et al. (2011), “Application of new assays for rapid confirmation and genotyping of isolates of rubella virus”, *Journal of Medical Virology*, **83**(1), pp.170-177, DOI: 10.1002/jmv.21941.
- [8] S.P. Curti, C.A. Figueiredo, M.I. Oliveira, et al. (2014), “Prenatal diagnosis of congenital rubella infection in São Paulo”, *Revista da Associação Médica Brasileira*, **60**, pp.451-456, DOI: 10.1590/1806-9282.60.05.013.
- [9] Y. Wondimeneh, M. Tiruneh, G. Ferede, et al. (2021), “Diagnostic performance of Sd bioline immunochromatography test for the detection of rubella specific IgM and IgG antibodies in resource limited settings”, *Ethiopian Journal of Health Biomedical Sciences*, **11**(1), pp.83-93, DOI: 10.20372/ejhs.v11i01.293.
- [10] J.M. Hübschen, S.M. Bork, K.E. Brown, et al. (2017), “Challenges of measles and rubella laboratory diagnostic in the era of elimination”, *Clinical Microbiology Infection*, **23**(8), pp.511-515, DOI: 10.1016/j.cmi.2017.04.009.
- [11] B.M. Isaac, J.R. Zucker, F.R. Giancotti, et al. (2017), “Rubella surveillance and diagnostic testing among a low-prevalence population, New York city, 2012-2013”, *Clinical Vaccine Immunology*, **24**(9), pp.e00102-e00117, DOI: 10.1128/CVI.00102-17.
- [12] M. Chiarello, S. Cavallera, C. Baggiani, et al. (2021), “Ten years of lateral flow immunoassay technique applications: Trends, challenges and future perspectives”, *Sensors*, **21**(15), DOI: 10.3390/s21155185.
- [13] VassarStats: Statistical Computation Website (2022), *The Confidence Interval of A Proportion*, <http://vassarstats.net/>, accessed 5 October 2022.
- [14] K. Okamoto, Y. Mori, R. Komagome, et al. (2016), “Evaluation of sensitivity of TaqMan RT-PCR for rubella virus detection in clinical specimens”, *Journal of Clinical Virology*, **80**, pp.98-101, DOI: 10.1016/j.jcv.2016.05.005.
- [15] C. Claus, S. Bergs, N.C. Emmrich, et al. (2017), “A sensitive one-step TaqMan amplification approach for detection of rubella virus clade I and II genotypes in clinical samples”, *Archives of Virology*, **162**, pp.477-486, DOI: 10.1007/s00705-016-3131-1.
- [16] Z. Zhu, W. Xu, E.S. Abernathy, et al. (2007), “Comparison of four methods using throat swabs to confirm rubella virus infection”, *Journal of Clinical Microbiology*, **45**(9), pp.2847-2852, DOI: 10.1128/jcm.00289-07.