

# Thiết kế in silico mồi và đầu dò cho phản ứng real-time PCR chẩn đoán và định type virus dengue tại Việt Nam

## Designing in silico primers and probes for the real-time PCR detection and serotype identification of dengue virus in Vietnam

Trương Nhật Mỹ\*, Đào Thị Huyền, Trần Thị Thu Hiền,  
Trần Thị Thanh Huyền, Nguyễn Trọng Thế,  
và Vũ Việt Sáng

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

### Tóm tắt

*Mục tiêu:* Xây dựng bộ sinh phẩm real-time PCR đa mồi định type virus dengue mang tính cập nhật từ dữ liệu gene virus dengue phân lập trên người bệnh Việt Nam. *Đối tượng và phương pháp:* Tổng số 1.718 trình tự toàn bộ bộ gen của các chủng virus dengue từ ngân hàng dữ liệu trong giai đoạn từ 2001 đến 2022, trong đó có 639 (37,2%) trình tự toàn bộ bộ gen của các chủng virus dengue thu thập tại Việt Nam được sử dụng. Bằng các công cụ sinh tin học, nhóm nghiên cứu thiết kế in silico các cặp mồi và đầu dò cho phản ứng real-time PCR chẩn đoán và định type virus dengue tại Việt Nam. *Kết quả và kết luận:* Thiết kế thành công bốn cặp mồi và đầu dò cho chẩn đoán và định type virus dengue với các kích thước gene đích lần lượt là 106bp, 98bp, 156bp, 103bp đặc hiệu cho 4 serotype 1, 2, 3, và 4 của virus dengue.

*Từ khóa:* Sốt xuất huyết dengue, virus dengue, real-time PCR, chẩn đoán, định type.

### Summary

*Objective:* To design in silico primer and probe sets for the development of a multiplex real-time PCR diagnostic and serotyping kit for the dengue virus, utilizing mostly genomic data isolated from Vietnamese patients. *Subject and method:* A total of 1,718 complete genome sequences of dengue virus strains from the database (covering the years 2001 to 2022) were used, including 639 (37.2%) complete genome sequences of dengue virus strains collected in Vietnam. Using bioinformatics tools, we designed in silico primers and probes sets for multiplex real-time PCR diagnosis and serotyping of the dengue virus in Vietnam. *Result and conclusion:* The results obtained include four pairs of primers and probes, with target gene sizes of 106bp, 98bp, 156bp, and 103bp, which are specific to dengue virus serotypes 1, 2, 3, and 4, respectively.

*Keywords:* Dengue fever, dengue virus, real-time PCR, diagnostic, serotyping.

---

Ngày nhận bài: 9/8/2024, ngày chấp nhận đăng: 27/9/2024

\* Tác giả liên hệ: [truongnhatmy@gmail.com](mailto:truongnhatmy@gmail.com) - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt xuất huyết (SXH) dengue là bệnh truyền nhiễm cấp tính, gây dịch, do virus dengue gây ra. Mặc dù virus dengue được phát hiện ở 128 quốc gia và vùng lãnh thổ nhưng thực tế bệnh này lưu hành chủ yếu ở châu Á, Mỹ La tinh<sup>1</sup>. Theo Tổ chức Y tế Thế giới trong năm 2019 hầu hết các quốc gia ở châu Á và Đông Nam Á đều có sự gia tăng về số lượng các trường hợp phát hiện mắc SXH. Việt Nam nằm trong vùng dịch tễ của nhiễm Flavivirus đặc biệt là virus dengue. Gánh nặng về kinh tế và sức khỏe cộng đồng của SXH Dengue ở Việt Nam ước tính khoảng 95 triệu đô la Mỹ năm 2016 và dự đoán sẽ không ngừng gia tăng<sup>2</sup>. Tại Việt Nam, số ca nhiễm dengue năm 2019 khoảng 300.000 ca, tăng gần gấp 3 lần so với năm 2018<sup>3</sup>.

Virus dengue thuộc nhóm Flavivirus họ Flaviridae, loài Arbovirus. Virus dengue dạng hình cầu đường kính 35-50nm, đối xứng hình khối, chứa 1 sợi RNA. Hệ gen của virus dengue được tạo thành bởi 11,000 nucleotide mã hoá cho 3 loại phân tử protein khác nhau (gồm protein nhân - Core, protein màng - Membrane, và protein vỏ - Envelope) tạo nên bộ khung của phần tử virus và 7 loại phân tử protein khác bao gồm: NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b và NS5<sup>4</sup>. Bảy loại protein này chỉ được tìm thấy trên bề mặt tế bào vật chủ và là yếu tố cần thiết cho sự tồn tại của virus.

Hiện nay, việc chẩn đoán xác định sốt xuất huyết dengue thường dựa vào hai loại xét nghiệm: Phát hiện RNA của virus trong máu hoặc các dịch tiết bằng kỹ thuật sinh học phân tử (trong đó có Real-time PCR) và, phát hiện kháng nguyên hay kháng thể kháng virus trong huyết thanh của người<sup>5</sup>.<sup>6</sup> Mỗi loại xét nghiệm nêu trên đều có ưu và nhược điểm, việc kết hợp cả hai phương pháp trên đã được chứng minh là sẽ đem lại tỷ lệ chẩn đoán chính xác cao hơn. Tuy nhiên, với việc phương pháp real-time PCR càng ngày càng được tinh chỉnh cho độ nhạy cao, giảm thời gian thực hiện và hạ giá thành thì giờ đây việc chẩn đoán bệnh SXH bằng real-time PCR từ mẫu bệnh phẩm bệnh nhân có các triệu chứng trên lâm sàng càng ngày càng phổ biến.

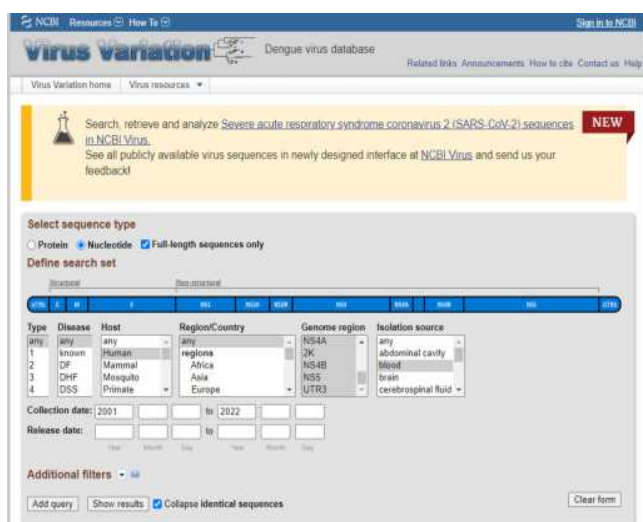
Virus dengue có 4 serotypes: DENV-1, DENV-2, DENV-3 và DENV-4. Tại Việt Nam, trong những năm gần đây có cả 4 serotype của virus dengue lưu hành.

Chính vì lý do đó, tỷ lệ gây bệnh, bệnh nặng phải vào viện và tỷ lệ tử vong do các serotype cũng thay đổi theo từng năm, từng vụ dịch. Nghiên cứu tổng hợp từ nhiều vụ dịch trong nhiều năm chỉ ra rằng, tỷ lệ tử vong có khác nhau giữa các serotype, theo thứ tự đứng đầu là DENV-2 với 2,0%, sau đó là DENV-3 với 1,6%, DENV-4 (0,7%) và DENV-1 (0,3%)<sup>7</sup>. Thứ tự nhiễm các serotype ở lần nhiễm đầu và lần thứ phát cũng được chỉ ra là có làm tăng nguy cơ nhiễm bệnh sốt xuất huyết dengue nặng: DENV-1 sau đó DENV-2, DENV-1 sau đó DENV-4, DENV-2 sau đó DENV-3, DENV-4 sau đó DENV-3<sup>8</sup>. Do đó, các công cụ chẩn đoán phân tử phải thường xuyên xem xét sự biến đổi trình tự bộ gen giữa các chủng lưu hành của các kiểu gen hiện tại. Đối với một phản ứng PCR, nhất là phản ứng real-time PCR, việc thiết kế mỗi và đầu dò đóng vai trò quan trọng, quyết định độ nhạy, độ đặc hiệu của phản ứng. Virus dengue cũng như các loài virus khác, thường xuyên có các biến đổi trình tự di truyền, do đó, việc phải thường xuyên cập nhật và thay đổi trình tự đầu dò và mỗi sẽ giúp nâng cao giá trị chẩn đoán. Vì vậy, nghiên cứu này hướng tới việc thiết kế mỗi và đầu dò với các cập nhật về trình tự bộ gen virus, chủ yếu đến từ các chủng virus dengue có nguồn gốc từ Việt Nam.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Đối tượng

Dữ liệu trình tự toàn bộ bộ gene của bốn kiểu serotype các chủng virus dengue được thu thập từ ngân hàng dữ liệu Virus Variation Resources<sup>9</sup> trong giai đoạn từ 2001 đến 2022. Dữ liệu trình tự của virus được thu thập theo nguyên tắc vừa đảm bảo tính đa dạng về nguồn gốc địa lý của các chủng (đủ các châu lục) và vừa tập trung được nhiều các chủng có nguồn gốc thu thập tại Việt Nam. Trong đó, các tiêu chí tìm kiếm được trình bày ở Hình 1, bao gồm: Tất cả các serotype (type:any), tất cả các mức độ bệnh sốt xuất huyết dengue (Disease:any), vật chủ là người (Host: Human), tất cả các khu vực địa lý (Region/country: Any), toàn bộ các vùng của bộ gene (Genome region: All choice applied), mẫu phân lập virus là mẫu máu (Isolation source: Blood) được áp dụng trong quá trình tìm kiếm và lựa chọn các trình tự của cơ sở dữ liệu Virus Variation Resources<sup>9</sup>.



**Hình 1.** Các tiêu chí lựa chọn trình tự trên cơ sở dữ liệu Virus Variation Resources <sup>9</sup>.

**2.2. Phương pháp**

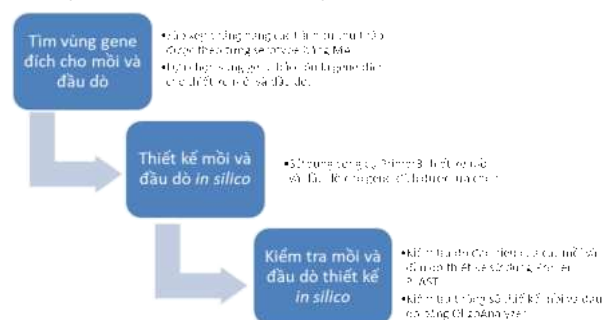
**Thiết kế môi và đầu dò**

Để thực hiện việc thiết kế bộ môi và đầu dò cho chẩn đoán và định type virus dengue, nhóm nghiên cứu sử dụng các công cụ và phần mềm phân tích trình tự và thiết kế tin sinh trình bày trong Bảng 1.

**Bảng 1. Các công cụ/phần mềm sinh tin học sử dụng cho nghiên cứu**

Công cụ/ phần mềm	Mục đích sử dụng
Mafft <sup>10</sup>	Thuật toán chuyên trách sắp xếp thẳng hàng trình tự gen để tìm vùng gene bảo toàn
Blast <sup>11</sup>	Công cụ so sánh các chuỗi trình tự gen với ngân hàng dữ liệu trình tự tham chiếu
Jalview <sup>12</sup>	Phần mềm quản lý file và hiển thị trình tự gen
Primer3 <sup>13</sup>	Công cụ thiết kế môi và đầu dò cho phản ứng PCR
Primer Blast <sup>14</sup>	Công cụ thiết kế môi cho phản ứng PCR
OligoAnalyzer <sup>15</sup>	Công cụ kiểm tra thông số vật lý và sự hình thành các cấu trúc thứ cấp của môi và đầu dò,

Thứ tự các bước thiết kế môi được trình bày ở Hình 1. Toàn bộ môi và đầu dò thiết kế được sản xuất bởi IDT (Integrated DNA Technologies, Iowa, USA).



**Hình 2.** Sơ đồ các bước thực hiện thiết kế môi và đầu dò

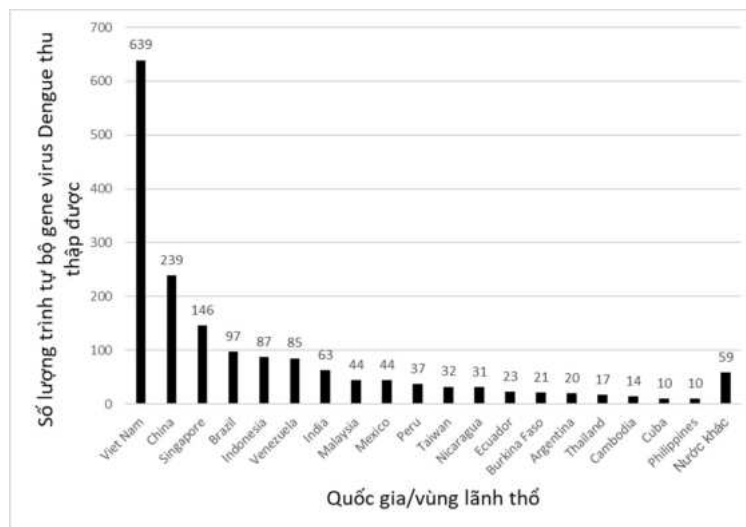
**III. KẾT QUẢ**

**3.1. Kết quả thu thập trình tự bộ gene các serotype virus dengue**

Nhóm nghiên cứu đã thu thập tổng số 1718 trình tự toàn bộ bộ gene của cả 4 serotype dengue công bố trên cơ sở dữ liệu Virus Variation Resource. Trong đó số lượng trình tự lần lượt của serotype DENV-1, DENV-2, DENV-3 và DENV-4 là 865, 578, 194 và 81 trình tự (Bảng 2). Số trình tự này được thu thập từ 44 quốc gia và vùng lãnh thổ, tập trung chủ yếu vào các trình tự virus ở Việt Nam cũng như các nước lân cận thuộc châu Á và Đông Nam Á như Trung Quốc, Singapore, Indonesia (Hình 3). Số lượng trình tự đến từ Việt Nam cho serotype DENV-1 là 499 trình tự, serotype DENV-2 là 118, serotype DENV-3 là 22 và không có trình tự DENV-4 nào (Bảng 2).

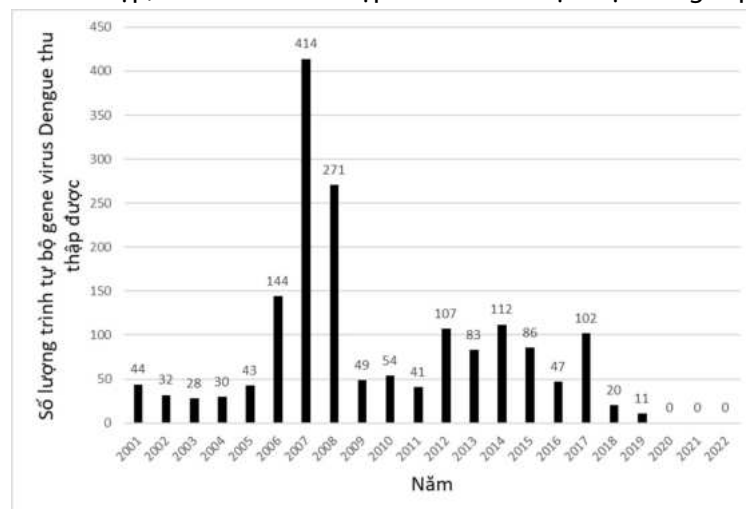
**Bảng 2. Số lượng trình tự chi tiết theo từng serotype và số lượng các trình tự tương ứng thu thập ở Việt Nam**

Serotype	Số lượng trình tự	Số lượng trình tự đến từ Việt Nam
Dengue 1	865	499
Dengue 2	578	118
Dengue 3	194	22
Dengue 4	81	0
<b>Tổng số</b>	<b>1718</b>	<b>639</b>



**Hình 3.** Phân bố số lượng trình tự thu thập theo vị trí địa lý. (Nước khác: Bao gồm các nước có số lượng trình tự thu thập được dưới 10 trình tự).

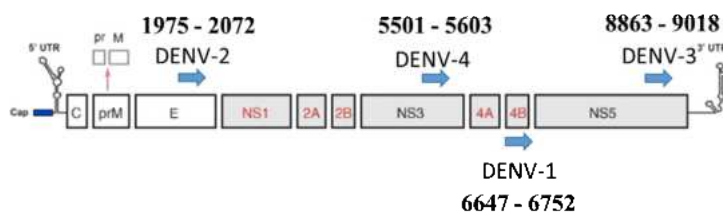
Các trình tự này được chia sẻ lên cơ sở dữ liệu trong giai đoạn từ 2001 đến 2022 trong đó, 48,25% trình tự được thu thập nằm trong giai đoạn 2006-2008 (Hình 4). Nhóm nghiên cứu tìm kiếm số liệu trình tự từ 2001 đến 2022 nhưng số liệu thực tế chỉ có đến 2019. Số liệu đầy đủ của các trình tự thu thập được bao gồm: Mã truy cập, serotype, nơi thu thập, thời điểm thu thập và tên trình tự được cung cấp ở Phụ lục.



**Hình 4.** Phân bố số lượng trình tự thu thập theo từng năm, từ 2001 đến 2022

**3.2. Kết quả thiết kế môi và đầu dò cho phản ứng real-time PCR đa môi chẩn đoán và định type virus dengue**

Toàn bộ trình tự sau khi được alignment bằng công cụ MAFFT<sup>10</sup>, nhóm nghiên cứu chọn các vùng có sự đa dạng giữa các type nhưng vẫn đảm bảo tính tương đồng cao trong cùng 1 type để thiết kế bộ môi và đầu dò cho phản ứng real-time PCR đa môi chẩn đoán và định type virus dengue. Nhóm nghiên cứu lựa chọn được 4 vùng gene đích nằm trên các gene NS4 cho serotype dengue 1, Protein E cho serotype dengue 2, NS5 cho serotype dengue 3 và NS3 cho serotype dengue 4 (Hình 5). Sử dụng công cụ Primer3 và các đoạn trình tự gen đích thu thập được, nhóm nghiên cứu thiết kế được 4 bộ môi và đầu dò với các thông số kỹ thuật ở Bảng 3.



**Hình 5.** Vị trí các cặp mồi và đầu dò thiết kế cho từng serotype, mũi tên chỉ vị trí của đoạn gene đích, số là vị trí chính xác của đoạn gene đích.

**Bảng 3.** Các bộ mồi cho phản ứng real-time PCR đa mồi chẩn đoán và định type

Serotype dengue	Tên mồi/đầu dò	Trình tự (5' - 3')	Tm°C	GC %	Kích thước sản phẩm
1	Mồi xuôi	TCAAGCGTACTGCTATGGATG	62	48	106
	Mồi ngược	GTCTGTCTGGCTCTGGAATAAG	62	50	
	Đầu dò	ACTGGAGTTCTTCCTGATGGTGCTG	68	52	
2	Mồi xuôi	GTCTTAGGTCGCCTGATTACAG	62	50	98
	Mồi ngược	ATGATGTAGCTGTCTCCGAATG	62	50	
	Đầu dò	AGGTTCTGCTTCTATGTTGACTGGGC	68	50	
3	Mồi xuôi	TGTGGACAGAGAACGTGAAC	58	50	156
	Mồi ngược	AACTCAAGGTACCTGGCTCC	59	55	
	Đầu dò	GCAAGTGTGGAAGCTGTGTT	60	50	
4	Mồi xuôi	CCAGAGCAACAGCCCAATAG	58	55	103
	Mồi ngược	CCACACAGTTTTCCCTTGGT	58	50	
	Đầu dò	AACACAGGGTTCGACTGGAT	60	50	

**3.3. Kết quả khảo sát mồi và đầu dò cho phản ứng real-time PCR đa mồi chẩn đoán và định type virus dengue**

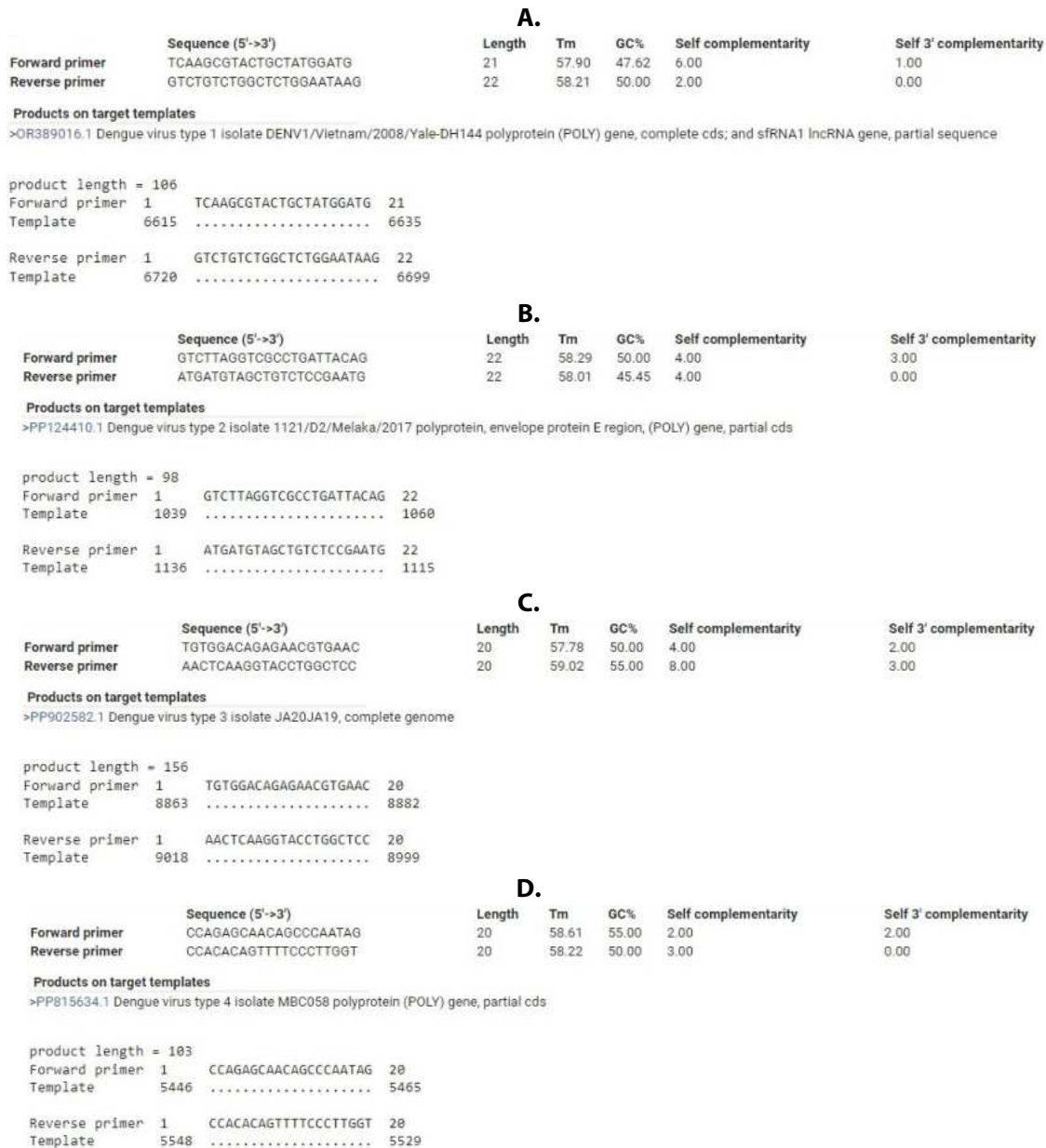
Các cặp mồi và đầu dò được khảo sát các thông số vật lý bằng công cụ OligoAnalyzer bao gồm: Năng lượng cấu trúc kẹp tóc, năng lượng cấu trúc tự bắt cặp và năng lượng cấu trúc dị bắt cặp.

**Bảng 4.** Các thông số vật lý của các cặp mồi và đầu dò thiết kế

Serotype	Mồi	a (kcal/mol)	c (kcal/mol)	c (kcal/mol)
Dengue 1	Mồi xuôi	-2.320	-2.232	-1.784
	Mồi ngược	0.820	-1.679	-4.157
	Đầu dò	-2.060	-2.973	-2.473
Dengue 2	Mồi xuôi	-1.235	-1.138	-2.258
	Mồi ngược	0.460	-2.003	-1.990
	Đầu dò	0.360	-1.852	-2.683
Dengue 3	Mồi xuôi	0.170	-2.503	-2.416
	Mồi ngược	-0.150	-3.594	-2.120
	Đầu dò	-0.070	-2.173	-3.159
Dengue 4	Mồi xuôi	-0.020	-2.370	-2.850
	Mồi ngược	0.180	-2.201	-2.772
	Đầu dò	-1.500	-2.659	-2.570

a: Năng lượng cấu trúc kẹp tóc ( $\Delta G$  mồi  $\geq -5kcal/mol$  và  $\Delta G$  đầu dò  $\geq -6kcal/mol$ ); b: Năng lượng cấu trúc tự bắt cặp ( $\Delta G$  mồi  $\geq -6kcal/mol$  và  $\Delta G$  đầu dò  $\geq -10kcal/mol$ ); c: Năng lượng cấu trúc dị bắt cặp ( $\Delta G$  mồi  $\geq -6kcal/mol$  và  $\Delta G$  đầu dò  $\geq -9kcal/mol$ )

Nhóm nghiên cứu tiến hành kiểm tra độ đặc hiệu của mỗi bằng công cụ Primer blast. **Hình 6**, kết quả các mô hình thiết kế bắt cặp 100% với các trình tự serotype virus dengue tương ứng, với kích thước sản phẩm lần lượt là 106bp, 98bp, 156bp và 103bp.



**Hình 6.** Kết quả Primer blast các cặp mô hình thiết kế đặc hiệu bắt cặp 100% với trình tự gen tương ứng với (A) serotype 1, (B) serotype 2, (C) serotype 3, (D) serotype 4.

Công cụ Primer blast cũng cho phép kiểm tra các trình tự mỗi với ngân hàng dữ liệu gen của Người, Nấm (Fungi (taxid:4751)) và vi khuẩn (Bacteria (taxid:2)). Kết quả cho thấy các cặp mô hình thiết kế cho serotype dengue 2, 3, 4 không bắt cặp với bất cứ trình tự nào trong các ngân hàng dữ liệu trên (Bảng 5). Riêng cặp mô hình thiết kế cho serotype dengue 1 có bắt cặp với một trình tự của loài nấm *Alternaria brassicae* (Bảng 5). Kết quả blast chi tiết được trình bày ở Phụ lục 2.

**Bảng 5. Kết quả bắt cặp của các trình tự mỗi thiết kế cho từng type với các ngân hàng dữ liệu gene người, nấm và vi khuẩn**

Serotype	Ngân hàng dữ liệu gene		
	Người	Nấm (taxid:4751)	Vi khuẩn (taxid:2)
Dengue 1	Không bắt cặp	<i>Alternaria brassicae</i>	Không bắt cặp
Dengue 2	Không bắt cặp	Không bắt cặp	Không bắt cặp
Dengue 3	Không bắt cặp	Không bắt cặp	Không bắt cặp
Dengue 4	Không bắt cặp	Không bắt cặp	Không bắt cặp

#### IV. BÀN LUẬN

Các bộ mỗi và đầu dò được thiết kế dựa trên 1718 trình tự toàn bộ bộ gen của cả 4 serotype dengue công bố trên cơ sở dữ liệu Virus Variation Resource. Trong đó, ưu tiên các trình tự toàn bộ bộ gen virus dengue thu thập tại Việt Nam với mong muốn có một thiết kế đặc hiệu hơn cho nhóm bệnh nhân người Việt Nam. Cho mỗi serotype dengue, nhóm nghiên cứu chủ động thiết kế vào các vùng có sự đa dạng nhất giữa các type nhưng vẫn phải đảm bảo tính tương đồng cao nhất trong cùng 1 type, và tránh trùng lặp với các vùng gene đích đã được lựa chọn trong các thiết kế mỗi và đầu dò trước đó như của bộ kit của CDC Hoa Kỳ<sup>6</sup>.

Đối với một phản ứng PCR, nhất là Real-time PCR, thiết kế mỗi và đầu dò đóng vai trò quan trọng, quyết định độ nhạy, độ đặc hiệu của phản ứng. Thiết kế tốt là điều kiện cần thiết cho các phản ứng thành công. Kết quả khảo sát cho thấy các cặp mỗi và đầu dò thiết kế đều thỏa mãn các điều kiện cơ bản. Chiều dài mỗi và đầu dò thông thường từ 18 - 2bp, đây là chiều dài được coi là tối ưu và đảm bảo điều kiện đủ dài để đạt độ đặc hiệu và giúp mỗi dễ dàng gắn vào khuôn DNA sợi đơn tại nhiệt độ gắn mỗi. Trong thiết kế của nhóm nghiên cứu, các mỗi và đầu dò đều có chiều dài trong ngưỡng từ 20 đến 22bp, đảm bảo tối ưu chiều dài của mỗi và đầu dò. Tỷ lệ GC của mỗi và đầu dò thiết kế dao động trong khoảng từ 48% đến 55%, với giá trị trung bình GC 50,83% nằm trong khoảng tối ưu lý thuyết 40-60%. Kết quả khảo sát cũng cho thấy nhiệt độ nóng chảy của mỗi nằm trong khoảng 58-62°C, với giá trị trung bình là 60,12°C. Theo lý thuyết, nhiệt độ nóng chảy

của đầu dò thường cao hơn nhiệt độ nóng chảy của mỗi từ 6 đến 10°C để đảm bảo rằng đầu dò vẫn bám dính vào DNA khuôn trong quá trình kéo dài chuỗi. Tuy nhiên, trong quá trình sàng lọc các bộ mỗi thiết kế được, để đảm bảo độ đặc hiệu với gene đích, hai bộ mỗi và đầu dò thiết kế cho serotype Dengue 3 và 4 có nhiệt độ đầu dò không thể cao hơn quá nhiều so với nhiệt độ mỗi. Các thông số vật lý của các cặp mỗi và đầu dò thiết kế, bao gồm năng lượng cấu trúc kẹp tóc ( $\Delta G$  primer  $\geq -5$ kcal/mol và  $\Delta G$  Đầu dò  $\geq -6$ kcal/mol); năng lượng cấu trúc tự bắt cặp ( $\Delta G$  primer  $\geq -6$ kcal/mol và  $\Delta G$  Đầu dò  $\geq -10$ kcal/mol); năng lượng cấu trúc dị bắt cặp ( $\Delta G$  primer  $\geq -6$ kcal/mol và  $\Delta G$  Đầu dò  $\geq -9$ kcal/mol) đều nằm trong ngưỡng cho phép, hạn chế tối đa việc hình thành các cấu trúc kẹp tóc, tự ghép cặp (primer-dimer) hay dị bắt cặp (hetero-dimer), qua đó tối ưu hiệu suất của phản ứng.

Khi tiến hành kiểm tra độ đặc hiệu của mỗi bằng công cụ Primer blast thì mỗi cặp mỗi và đầu dò đều bắt cặp 100% với các gen đích của serotype tương ứng, trong đó độ dài sản phẩm khuếch đại đúng với độ dài thiết kế. Các cặp mỗi và đầu dò khi được test với các ngân hàng dữ liệu của vi khuẩn, nấm, gene người không cho kết quả bắt cặp nào. Trừ cặp mỗi thiết kế cho serotype dengue 1 có bắt cặp với một đoạn gen của loài nấm *Alternaria brassicae*. Tuy nhiên, loài nấm này là một loài nấm kí sinh ở cây và việc có vật chất di truyền của loài nấm này trong mẫu máu ở người là không khả thi. Điều này cho thấy độ đặc hiệu trên thiết kế in silico của mỗi đảm bảo không khuếch đại nhầm các vùng gene khác hoặc gen của các loài khác trong một hỗn hợp nhiều các tác nhân trong mẫu bệnh phẩm ở

bệnh nhân. Đây thường là một thách thức trong thiết lập và tối ưu mỗi và đầu dò để phát hiện các mầm bệnh trong mẫu bệnh phẩm, vốn thường là các là các mẫu có thể chứa đồng thời nhiều mầm bệnh và đặc biệt là bao gồm cả gen người.

## V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thiết kế thành công *in silico* các cặp mỗi và đầu dò cho phản ứng real-time PCR đa mỗi chẩn đoán và định type virus dengue, cụ thể là 4 cặp mỗi và đầu dò đặc hiệu cho lần lượt 4 type virus dengue 1, 2, 3, và 4. Kết quả của thiết kế này sẽ được đưa vào tối ưu trên thực nghiệm và qua đó phục vụ cho việc xây dựng bộ kit real-time PCR đa mỗi chẩn đoán và định type virus dengue.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bhatt S, Gething PW, Brady OJ et al (2013) *The global distribution and burden of dengue*. Nature 496(7446): 504-507.
- Hung TM, Clapham HE, Bettis AA et al (2018) *The estimates of the health and economic burden of dengue in Vietnam*. Trends Parasitol 34(10): 904-918. doi:10.1016/j.pt.2018.07.007.
- Phadungsombath J, Vu HTT, Nguyen QT et al (2023) *Molecular characterization of dengue virus strains from the 2019-2020 epidemic in Hanoi, Vietnam*. Microorganisms. 11(5). doi:10.3390/microorganisms11051267.
- Dwivedi VD, Tripathi IP, Tripathi RC, Bharadwaj S, Mishra SK (2017) *Genomics, proteomics and evolution of dengue virus*. Brief Funct Genomics 16(4): 217-227.
- Costa VG da, Marques-Silva AC, Moreli ML (2014) *A meta-analysis of the diagnostic accuracy of two commercial NS1 antigen ELISA tests for early dengue virus detection*. PLoS One 9(4): 94655.
- Centre for Disease Control and Prevention (2013) *CDC DENV-1-4 real-time RT-PCR assay for detection and serotype identification of dengue virus the CDC real time RT-PCR assay for dengue diagnosis*. CDC. Published online:1-5.
- Guo C, Zhou Z, Wen Z et al (2017) *Global epidemiology of dengue outbreaks in 1990-2015: A systematic review and meta-analysis*. Front Cell Infect Microbiol 7: 317.
- Aguas R, Dorigatti I, Coudeville L, Luxemburger C, Ferguson NM (2019) *Cross-serotype interactions and disease outcome prediction of dengue infections in Vietnam*. Sci Rep 9(1): 1-12.
- Hatcher EL, Zhdanov SA, Bao Y et al (2017) *Virus Variation Resource - improved response to emergent viral outbreaks*. Nucleic Acids Res 45(D1): 482-490. doi:10.1093/nar/gkw1065.
- Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T (2002) *MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform*. Nucleic Acids Res 30(14): 3059-3066.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990) *Basic local alignment search tool*. J Mol Biol. 215(3): 403-410. doi:10.1016/S0022-2836(05)80360-2.
- Waterhouse AM, Procter JB, Martin DMA, Clamp M, Barton GJ (2009) *Jalview Version 2 a multiple sequence alignment editor and analysis workbench*. Bioinformatics. 25(9): 1189-1191. doi:10.1093/bioinformatics/btp033.
- Koressaar T, Remm M (2007) *Enhancements and modifications of primer design program Primer3*. Bioinformatics 23(10): 1289-1291. doi:10.1093/bioinformatics/btm091.
- Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden TL (2012) *Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction*. BMC Bioinformatics 13: 134. doi: 10.1186/1471-2105-13-134.
- Owczarzy R, Tataurov A V, Wu Y et al (2008) *IDT SciTools: a suite for analysis and design of nucleic acid oligomers*. Nucleic Acids Res 36(Web Server issue):W163-169. doi:10.1093/nar/gkn198.