

NGHIÊN CỨU THẨM ĐÒ PHÁT HIỆN DIOXIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP SANDWICH ELISA

Trần Thị Thanh Quỳnh*, Nguyễn Khánh Hoàng Việt, Nguyễn Thị Nhung,
Tô Lan Anh, Nguyễn Ngọc Hoa, Bùi Trung Hiếu

Tóm tắt: Dioxin là nhóm chất độc hóa học gồm 210 đồng phân, gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người với các bệnh như ung thư, các bệnh di truyền, dị tật bẩm sinh,... Trong đó, đồng phân 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) được xác định có hệ số độc cao nhất. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp Sandwich ELISA với thụ thể Aryl Hydrocarbon từ người và kháng thể đơn dòng đặc hiệu để phát hiện TCDD được pha loãng trong DMSO 1%. Kết quả bước đầu cho thấy, xét nghiệm miễn dịch có khả năng phát hiện TCDD tinh khiết với giới hạn phát hiện là 1 pg/ml (1 ppt), độ nhạy 97,14% và độ đặc hiệu 91,67%.

Từ khóa: Phát hiện dioxin; Thụ thể Aryl Hydrocarbon; Sandwich ELISA; 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin

1. MỞ ĐẦU

Dioxin là chất độc hóa học gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người và môi trường sinh thái. Đặc biệt, ở Việt Nam, sau cuộc chiến tranh với quân đội Mỹ, chất độc này đã nhiễm vào cơ thể nhiều người và gây ra một loạt các bệnh và dị tật bẩm sinh ở thế hệ con cái [10]. Nhìn chung, nồng độ dioxin trong mẫu môi trường của Việt Nam đã trở về mức thấp và nằm trong ngưỡng an toàn. Tuy nhiên, một số sân bay quân sự là nơi chứa, trung chuyển, tải nạp hóa chất trong các chiến dịch phun rải chất diệt cỏ vẫn có nồng độ dioxin trong mẫu bùn, đất và các loài thủy sinh ở mức cao, nhiều khu vực vượt trên 1000 ppt thậm chí lên đến 262.000 ppt [10]. Bên cạnh đó, một số các hoạt động sản xuất công nghiệp cũng tạo ra khí thải có chứa dioxin và các hợp chất tương tự dioxin [4].

Dioxin và các hợp chất tương tự dioxin đã được nghiên cứu phát hiện bằng nhiều phương pháp khác nhau. Trong đó, phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ với độ phân giải cao (HRGC/HRMS) là một trong những phương pháp truyền thống, tiêu biểu và phổ biến nhất được sử dụng rộng rãi ở các phòng thí nghiệm ở Việt Nam (Trung tâm nhiệt đới Việt Nga...) cũng như trên thế giới (CDC, WHO...), với giới hạn phát hiện theo phương pháp tiêu chuẩn EPA 1613 là 4,4 pg 2,3,7,8-TCDD/L [9]. Ưu điểm của phương pháp này là có tính đặc trưng của mẫu về hình dạng cấu trúc, và sự tính toán đương lượng chất độc theo tiêu chuẩn quốc tế. Nhược điểm là tốn nhiều thời gian (khoảng 2 tuần) và chi phí cao. Tất cả các mẫu phải được chiết bằng dung môi hữu cơ và làm sạch. Quá trình làm sạch rất phức tạp vì sự hiện diện của các chất gây nhiễu không mong muốn với nồng độ cao hơn nhiều các chất cần phân tích và có thể làm mất tín hiệu của dioxin hoặc cho kết quả sai trên thiết bị phân tích.

Trong những thập kỷ gần đây, một số phương pháp đã được phát triển thay thế bao gồm các phân tích truyền thống như phương pháp dấu ấn sinh học trong cơ thể, các xét nghiệm sinh học trong cơ thể, xét nghiệm miễn dịch, cảm biến sinh học... Mỗi phương pháp đều đạt được hiệu quả nhất định trong việc phân tích dioxin và có ưu nhược điểm riêng. Trong đó, các xét nghiệm miễn dịch dùng đánh dấu phóng xạ (RIA), huỳnh quang (FI) hay enzyme (ELISA) đã được xem xét là một trong số các phương pháp thành công [5, 6]. Ưu điểm chính của xét nghiệm miễn dịch là đơn giản, nhanh và chi phí thấp. Trước đây, xét nghiệm ELISA chưa được sử dụng rộng rãi do độ nhạy cao của các phương pháp khối phổ và tầm quan trọng của quá trình làm sạch. Tuy nhiên, ngày nay, với sự phát triển của các kháng thể đa dòng mới trong các xét nghiệm và sử dụng các dung môi phù hợp (methanol và DMSO) để tăng độ nhạy, phương pháp này trở nên phổ biến hơn [10]. Hiện nay, trên thế giới đã có một số nghiên cứu phát hiện dioxin/các hợp chất tương tự dioxin bằng phương pháp ELISA như: bộ kit của hãng Biosense (code D40000401) phát hiện

TCDD từ 1-64 pg/giếng, hay một nghiên cứu khác có giới hạn phát hiện là 4 pg/ml [1]. Phương pháp miễn dịch có thể là một công cụ giám sát bổ sung để đánh giá mức độ ô nhiễm dioxin trong trầm tích và đất và có thể được sử dụng trong phân tích để sàng lọc và phân loại các mẫu trước khi phân tích bằng phương pháp HRGC/HRMS [1].

Trong nghiên cứu này, việc thăm dò phát hiện dioxin bằng phương pháp Sandwich ELISA đã được thực hiện.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu và hóa chất

- Nguyên vật liệu: Đĩa 96 giếng của hãng Beckman Coulter, ống eppendorf 1,5 ml, ống falcon 50 ml, khẩu trang than hoạt tính chống độc 3B, đầu côn và pipet các loại (1 ml, 200 μ l, 10 μ l), găng tay cao su...

- Hóa chất: 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) của hãng Sigma, Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR_ABIN 1525356) và kháng thể đơn dòng kháng dioxin từ chuột (anti-Dioxin antibody_ABIN 934378) của hãng Antibody-online, kháng thể đa dòng cộng hợp HRP từ dê (Goat-antimouse IgG h&HRP_ab6789) của hãng Abcam, poly-L-lysine và 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine của hãng Sigma, Bovine serum albumin (BSA) của hãng Biobasic và các hóa chất thường dùng trong nghiên cứu sinh học phân tử của hãng Sigma, Merck, Thermo Scientific,...

2.2. Thiết bị

Tủ âm của Hãng Memmert (Đức), hệ thống ELISA (Ý), máy vortex (Mỹ), máy short spin của Hãng Hermle (Mỹ), tủ hút của Hãng Bestlab (Mỹ), máy khuấy từ gia nhiệt của Hãng Cole Palmer (Mỹ).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Chuẩn bị mẫu dioxin và các kháng thể

Dung dịch dioxin (TCDD) ban đầu có nồng độ 10 μ g/ml trong toluene được pha loãng với các nồng độ từ 2 pg/ml -1000 pg/ml trong DMSO 1%, BSA 1%. Thụ thể AhR được pha loãng về các nồng độ 1 μ g/ml, 2 μ g/ml, 5 μ g/ml và 10 μ g/ml trong đệm Tris 20 mM, NaCl 150 mM, pH 8. Kháng thể đơn dòng kháng dioxin được pha loãng về các nồng độ 1 μ g/ml, 2 μ g/ml, 5 μ g/ml và 10 μ g/ml trong đệm PBS 1X, BSA 1%. Kháng thể đa dòng cộng hợp HRP được pha loãng về nồng độ 0,4 μ g/ml trong đệm 1X, BSA 1%.

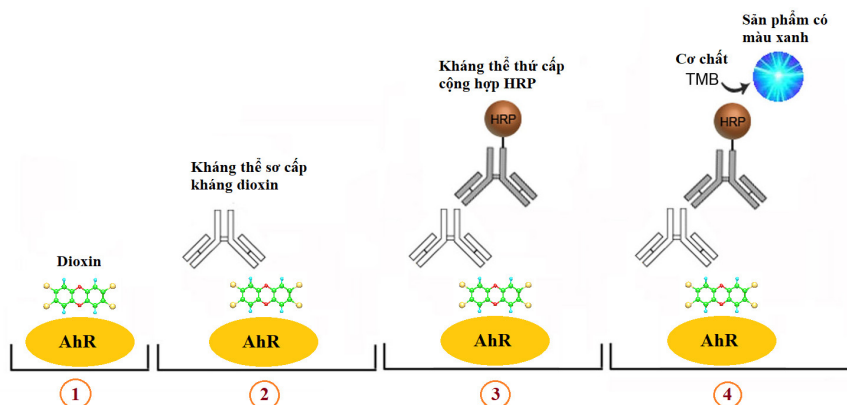
2.3.2. Đánh giá khả năng bắt cặp của kháng thể đơn dòng kháng dioxin từ chuột với kháng thể đa dòng cộng hợp HRP từ dê

100 μ l poly-L-Lysine 0,01% được nhỏ vào các giếng, ủ ở 37°C trong 1 giờ. Sau đó, rửa bằng 200 μ l đệm rửa (PBS 0,01 M, pH 7,4; tween 20 0,05%) rồi cho 100 μ l kháng thể đơn dòng kháng dioxin (kháng thể sơ cấp) ủ ở 4 °C qua đêm. Tiếp theo, 200 μ l BSA 1% được bổ sung, ủ ở 37°C trong 2 giờ. 100 μ l kháng thể đa dòng cộng hợp HRP (kháng thể thứ cấp) 0,4 μ g/ml được cho vào mỗi giếng, ủ ở 37 °C trong 1 giờ. Sau mỗi bước bổ sung kháng thể đều rửa sạch giếng bằng 200 μ l đệm rửa, 5-10 lần. Cuối cùng, bổ sung 50 μ l cơ chất TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine), ủ 60 phút ở 37 °C trong bóng tối từ 30 phút đến 3 giờ, bổ sung tiếp 50 μ l H₂SO₄ 1N. Enzyme HRP (Horse Radish Peroxidase) được gắn với kháng thể thứ cấp sẽ xúc tác thủy phân cơ chất tạo thành sản phẩm có màu xanh, sau khi bổ sung axit sẽ chuyển thành màu vàng, được đo độ hấp thụ ở bước sóng 450 nm và phân tích kết quả. Lượng sản phẩm màu vàng tạo thành sau phản ứng thể hiện khả năng bắt cặp của các kháng thể.

2.3.3. Phát hiện dioxin bằng phương pháp Sandwich ELISA

100 μ l poly-L-Lysine 0,01% được nhỏ vào các giếng, ủ ở 37°C trong 1 giờ. Sau đó, rửa

bằng 200 µl đệm rửa (PBS 0,01 M, pH 7,4; tween 20 0,05%) rồi cho 100 µl protein AhR ủ ở 4 °C qua đêm. Tiếp theo, 200 µl BSA 1% được bổ sung, ủ ở 37°C trong 2 giờ. 100 µl dioxin với các nồng độ khác nhau được bổ sung vào giếng, ủ ở 37°C trong 1 giờ. Kháng thể sơ cấp kháng dioxin và kháng thể thứ cấp cộng hợp HRP lần lượt được bổ sung vào giếng, các bước tiếp theo và cách đọc kết quả tương tự như phương pháp ở mục 2.3.2 (hình 1).



Hình 1. Mô phỏng cơ chế phát hiện dioxin bằng phương pháp Sandwich ELISA.

2.3.4. Xác định giới hạn phát hiện của xét nghiệm

Mẫu dioxin với các nồng độ khác nhau từ 0-1000 pg/ml được phân tích bằng phương pháp Sandwich ELISA. Nồng độ dioxin nhỏ nhất mà xét nghiệm có thể phát hiện được chính là giới hạn phát hiện của xét nghiệm. Thí nghiệm lặp lại 03 lần.

2.3.5. Đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm

Độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm được xác định là tỷ lệ phần trăm dương tính thật và tỷ lệ phần trăm âm tính thật trên tổng số xét nghiệm có cỡ mẫu lớn. Cụ thể, độ nhạy được xác định khi phân tích 36 mẫu có mặt dioxin với nồng độ ở giới hạn phát hiện và được tính bằng tỷ lệ phần trăm các mẫu cho kết quả là dương tính trên tổng số mẫu. Tương tự, độ đặc hiệu được xác định khi phân tích 36 mẫu không có mặt dioxin và được tính bằng tỷ lệ phần trăm các mẫu cho kết quả âm tính trên tổng số mẫu. Công thức tính độ nhạy và độ đặc hiệu cụ thể như sau:

- **Độ nhạy** = Số mẫu dương tính thật / (Số mẫu dương tính thật + Số âm tính giả);

- **Độ đặc hiệu** = Số trường hợp âm tính thật / (Số trường hợp âm tính thật + Số trường hợp dương tính giả).

2.3.6. Biện pháp đảm bảo an toàn

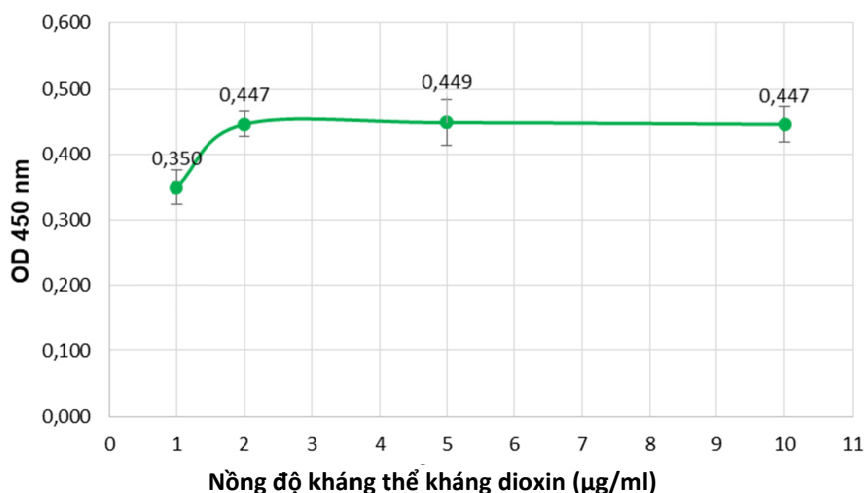
Các thao tác phân tích được thực hiện trong tủ hút cùng với các trang bị bảo hộ như găng tay, khẩu trang than hoạt tính phòng chất độc hóa học,... Vệ sinh bề mặt khu vực và dụng cụ sau khi làm thí nghiệm bằng acetone và toluene. Các chất thải rắn và lỏng được quản lý nghiêm ngặt, gom vào một thùng chứa than hoạt tính và được xử lý theo quy định đối với chất thải nguy hại.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng bắt cặp của kháng thể đơn dòng kháng dioxin với kháng thể đa dòng cộng hợp HRP

Kháng thể đa dòng cộng hợp HRP từ dê có khả năng bắt cặp tốt với các kháng thể đơn dòng từ chuột, đã được đánh giá trong các nghiên cứu trước của chúng tôi [7,8]. Do vậy, trong nghiên cứu này, kháng thể cộng hợp HRP được sử dụng để kiểm tra kháng thể đơn dòng kháng dioxin từ chuột trước khi tiến hành phương pháp Sandwich ELISA để phát

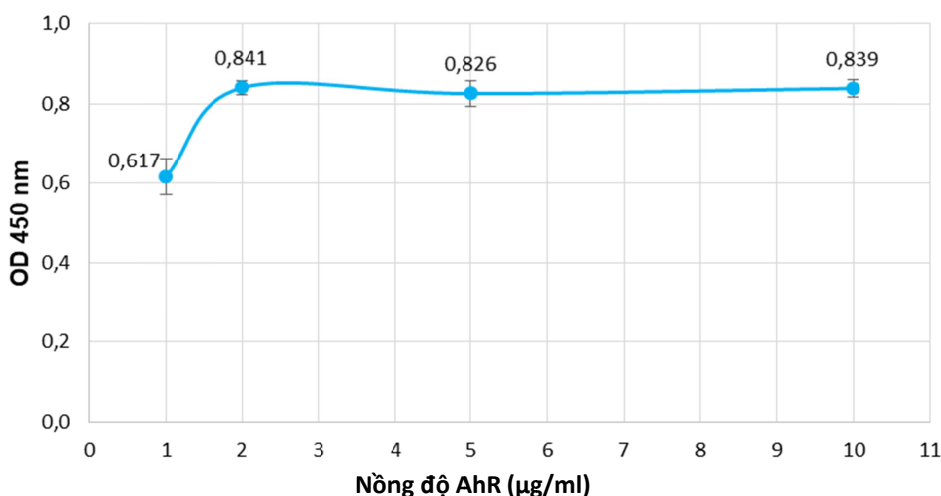
hiện dioxin. Hai kháng thể này sẽ đóng vai trò lần lượt là kháng thể sơ cấp và kháng thể thứ cấp (hình 1). Kháng thể kháng dioxin được cố định lên đĩa 96 giếng với các nồng độ là 1 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$ và 10 $\mu\text{g/ml}$. Sau khi tiến hành các bước ủ với kháng thể cộng hợp HRP 0,4 $\mu\text{g/ml}$, kết quả cho thấy hai kháng thể này có khả năng bắt cặp tốt với nhau. Bên cạnh đó, nồng độ 2 $\mu\text{g/ml}$ của kháng thể kháng dioxin là nồng độ thấp nhất có thể dùng trong xét nghiệm mà vẫn đảm bảo độ hấp thụ ở bước sóng 450 nm cao và tương đương như các nồng độ lớn hơn (hình 2). Chính vì vậy, chúng tôi đã lựa chọn sử dụng kháng thể kháng dioxin với nồng độ tối ưu là 2 $\mu\text{g/ml}$ cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Kết quả đo độ hấp thụ quang với các nồng độ kháng thể kháng dioxin khác nhau.

3.2. Tối ưu nồng độ thụ thể Aryl hydrocarbon (AhR)

Tương tác giữa dioxin và AhR có thể được khai thác một cách hợp lý cho nhiều phương pháp phân tích khác nhau để phát hiện ô nhiễm dioxin trong môi trường. Nhiều công trình nghiên cứu đã thành công trong việc sử dụng AhR trong việc phát hiện dioxin [2,11]. Thụ thể AhR và kháng thể sơ cấp có thể bắt cặp đặc hiệu với dioxin đã được chúng tôi thiết kế sử dụng trong xét nghiệm miễn dịch Sandwich ELISA. Nồng độ TCDD 1 ng/ml đã được phân tích thử nghiệm với AhR với các nồng độ khác nhau là 1 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$ và 10 $\mu\text{g/ml}$. Kết quả cho thấy, nồng độ AhR tối ưu là 2 $\mu\text{g/ml}$ (hình 3).

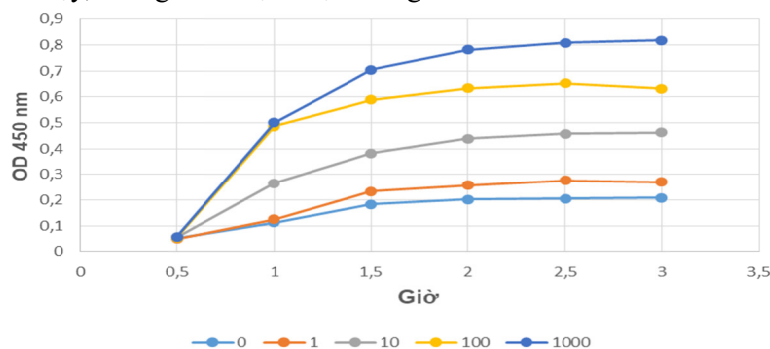


Hình 3. Kết quả đo độ hấp thụ quang với các nồng độ AhR khác nhau.

3.3. Tối ưu thời gian ủ cơ chất TMB

Enzyme HRP cộng hợp với kháng thể thứ cấp sẽ thủy phân cơ chất TMB để tạo thành sản phẩm có màu xanh, và chuyển sang màu vàng khi bổ sung axit H_2SO_4 . Lượng sản phẩm tạo thành sau phản ứng phản ánh lượng dioxin trong mẫu xét nghiệm ELISA thông qua độ hấp thụ ở bước sóng 450 nm. Do vậy, để đảm bảo kết quả đáng tin cậy, việc xác định thời gian ngừng phản ứng giữa enzyme HRP với một lượng cơ chất TMB dư thừa là rất quan trọng. Các mẫu có nồng độ dioxin khác nhau từ 0-1000 pg/ml đã được phân tích và đo độ hấp thụ OD 450 nm tại các thời điểm khác nhau từ 0,5 giờ đến 3 giờ.

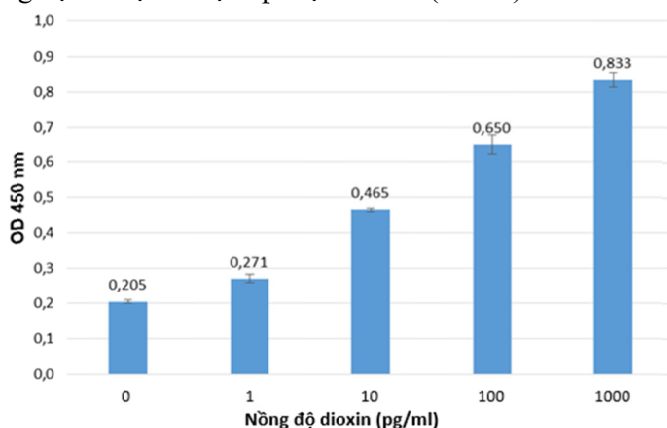
Sau 30 phút, giá trị đo được của các mẫu khá thấp, khoảng 0,05 và hầu như không có sự khác biệt, chứng tỏ lượng cơ chất vẫn chưa bị thủy phân đáng kể. Độ hấp thụ của các mẫu bắt đầu tăng dần sau 1 giờ và đạt đến mức cao nhất sau 2,5 giờ với mẫu có nồng độ dioxin 0 pg/ml, 1 pg/ml, 10 pg/ml, 100 pg/ml và 1000 pg/ml lần lượt tương ứng là 0,205; 0,276; 0,458; 0,652; và 0,809. Sau 3 giờ, độ hấp thụ của các mẫu tương đương như tại thời điểm 2,5 giờ (hình 4). Vì vậy, chúng tôi đã lựa chọn thời gian tối ưu để ủ cơ chất TMB là 2,5 giờ.



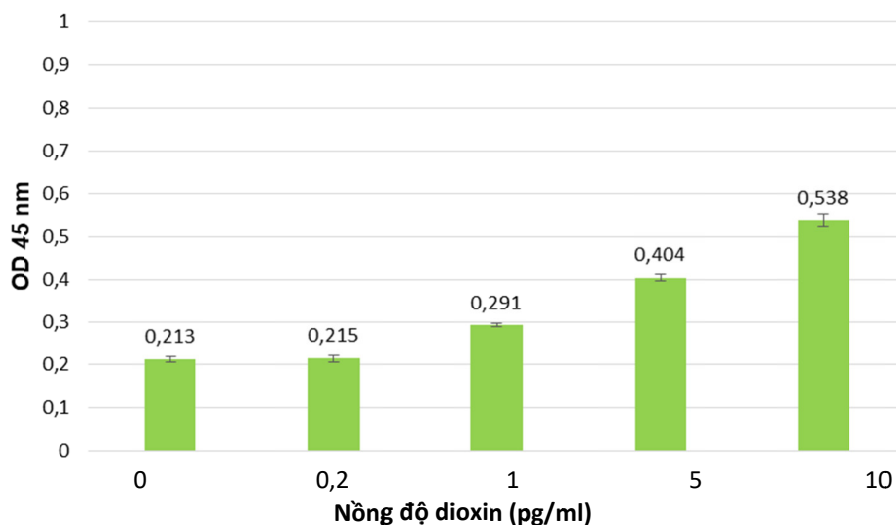
Hình 4. Kết quả đo độ hấp thụ quang tại các thời gian ủ cơ chất TMB khác nhau.

3.4. Giới hạn phát hiện dioxin của phương pháp Sandwich ELISA

Sau khi tối ưu các điều kiện, dãy nồng độ TCDD từ 1 pg/ml – 1000 pg/ml đã được phân tích bằng phương pháp Sandwich ELISA. Cả 4 nồng độ TCDD đều có độ hấp thụ tại bước sóng 450 nm cao hơn mẫu đối chứng âm và tăng dần, tỷ lệ thuận với nồng độ TCDD, từ 0,271-0,833 (hình 5). Như vậy, xét nghiệm Sandwich ELISA có khả năng phát hiện dioxin với nồng độ từ 1 pg/ml – 1000 pg/ml. Tiếp đến, chúng tôi chia nhỏ dãy nồng độ TCDD từ 0,2 pg/ml-10 pg/ml thành 4 điểm để xác định giới hạn phát hiện của xét nghiệm. Kết quả chỉ ra, nồng độ 0,2 pg/ml có độ hấp thụ ở bước sóng 450 nm xấp xỉ với mẫu đối chứng âm, trong khi các nồng độ còn lại có độ hấp thụ cao hơn (hình 6).



Hình 5. Kết quả phân tích TCDD với nồng độ 0-1000 pg/ml.



Hình 6. Kết quả phân tích TCDD với nồng độ 0-10 pg/ml.

Qua đó cho thấy, giới hạn phát hiện của phương pháp Sandwich ELISA trong nghiên cứu này là 1 pg/ml (tương đương 0,1 pg/giếng hoặc 1 ppt). Giá trị này thấp hơn một số nghiên cứu đã áp dụng thành công phương pháp ELISA để phân tích dioxin như: Harrison và cộng sự đã nghiên cứu phát hiện TCDD bằng phương pháp ELISA cạnh tranh dựa trên kháng thể đơn dòng từ chuột với ngưỡng phát hiện là 25 pg TCDD/giếng đối với mẫu dioxin được tách chiết từ đất, tro hoặc trầm tích [3], nghiên cứu của Emon và cộng sự có giới hạn phát hiện là 4 pg/ml khi phân tích mẫu dioxin trong đất và trầm tích [1] hay bộ kit thương mại phát hiện TCDD của hãng Biosense có giới hạn phát hiện là 1 pg/ giếng. Ngoài ra, dựa trên Quy chuẩn Việt Nam về hàm lượng tối đa cho phép của dioxin trong một số loại đất (QCVN 45:2010/BTNMT) với nồng độ nằm trong khoảng 40 ppt – 1200 ppt thì giới hạn phát hiện của phương pháp Sandwich ELISA trong nghiên cứu này có thể sử dụng để phân tích sàng lọc các mẫu đất và trầm tích trước khi phân tích bằng phương pháp HRGC/HRMS, giúp tiết kiệm thời gian và chi phí phân tích.

3.5. Độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm

Sau khi xét nghiệm 36 mẫu có mặt dioxin với nồng độ 1 pg/ml, kết quả chỉ ra có 35 mẫu dương tính thật và 1 mẫu âm tính giả, tương ứng với độ nhạy là 97,14%. Đối với 36 mẫu không chứa dioxin, kết quả xét nghiệm cho thấy có 33 mẫu âm tính thật và 3 mẫu dương tính giả, tương ứng với độ đặc hiệu là 91,67% (bảng 1). Trong nghiên cứu của Emon và cộng sự, phương pháp ELISA đã được sử dụng để phân tích dioxin trong mẫu đất và trầm tích, với tỷ lệ âm tính giả và dương tính giả đều nhỏ hơn 10%. Đối với bất kỳ phương pháp xét nghiệm nào, tỷ lệ âm tính giả 0% (tương đương độ nhạy 100%) và tỷ lệ dương tính giả nhỏ hơn 10% (tương đương độ nhạy lớn hơn 90%) được xem là lý tưởng [1].

Bảng 1. Kết quả đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu.

Xét nghiệm	Kết quả		Kết luận
	Dương tính	Âm tính	
Độ nhạy (n=36)	35	1	97,14%
Độ đặc hiệu (n=36)	3	33	91,67%

4. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được phương pháp phát hiện dioxin bằng xét nghiệm miễn dịch Sandwich ELISA với nồng độ tối ưu của thụ thể AhR và của kháng thể đơn dòng kháng dioxin là 2 µg/ml.

Đã tối ưu thời gian phản ứng giữa enzyme HRP và cơ chất TMB là 2,5 giờ.

Phương pháp Sandwich ELISA có giới hạn phát hiện dioxin tinh khiết trong dung dịch DMSO 1% là 1 pg/ml, với độ nhạy là 97,14% và độ đặc hiệu 91,67%.

Đây là những kết quả bước đầu cho thấy triển vọng trong việc phân tích dioxin trong các mẫu đất và trầm tích bằng phương pháp xét nghiệm miễn dịch Sandwich ELISA. Để có thể ứng dụng vào thực tiễn cần phải có các nghiên cứu bổ sung để đảm bảo tính chính xác khi định lượng dioxin trong mẫu.

Lời cảm ơn: Công trình này được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu khoa học định hướng cho cán bộ trẻ năm 2019: "Nghiên cứu thăm dò phát hiện dioxin bằng kỹ thuật xét nghiệm miễn dịch".

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Emon J. M. Van, Chuang J. C., Lordo R. A., Schrock M. E., Nichkova M., et al. (2008) "An enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of dioxins in contaminated sediment and soil samples," *Chemosphere*, 72 (1), 95–103.
- [2]. Faiad W., Hanano A., Kabakibi M. M., Abbady A. Q. (2016) "Immuno-detection of dioxins using a recombinant protein of aryl hydrocarbon receptor (AhR) fused with sfGFP," *BMC Biotechnology*, 16 (1).
- [3]. Harrison, R.O.; Carlson, R.E. (1997), "An immunoassay for TEQ screening of dioxin/furan samples: Current status of assay and applications development", *Chemosphere*, 34, 915–928.
- [4]. Sally S. W. and Linda S. B. (2009), "An Overview of the Effects of Dioxins and Dioxin-like Compounds on Vertebrates, as Documented in Human and Ecological Epidemiology", *Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, 27(4), 197–211.
- [5]. Samara F., Gullett B. K., Harrison R. O., Chu A., Clark G. C. (2009) "Determination of relative assay response factors for toxic chlorinated and brominated dioxins/furans using an enzyme immunoassay (EIA) and a chemically-activated luciferase gene expression cell bioassay (CALUX)," *Environment International*, 35 (3), 588–593.
- [6]. Tian W., Xie H. Q., Fu H., Pei X., Zhao B. (2012) "Immunoanalysis methods for the detection of dioxins and related chemicals," *Sensors (Switzerland)*, 12 (12), 16710–16731.
- [7]. Tô Lan Anh, Nguyễn Khánh Hoàng Việt, Tô Văn Thiệp, Nguyễn Văn Hoàng, Nguyễn Ngọc Tùng, Lê Quang Hòa (2018), "Chế tạo que thử phát hiện nhanh độc tố Shiga 2 trong thực phẩm bằng kỹ thuật sắc ký miễn dịch", *Tạp chí phân tích Hóa lý sinh học*, 4(20), 9-19.
- [8]. Trần Thị Thanh Quỳnh, Phạm Kiên Cường, Nguyễn Khánh Hoàng Việt, Phan Tuấn Nghĩa, Nguyễn Thị Tâm Thư (2018), "Tạo que thử phát hiện nhanh *Vibrio cholerae* trong nước sinh hoạt", *Tạp chí Nghiên cứu KH&CN Quân sự*, 55, 146-153.
- [9]. U.S. Environmental Protection Agency (1994), "Method 1613: Tetra- through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS".
- [10]. Văn phòng Ban chỉ đạo 33, Bộ Tài Nguyên và môi trường (2013), "Báo cáo tổng thể về tình hình ô nhiễm dioxin tại ba điểm nóng: sân bay Biên Hòa, Đà Nẵng và Phù Cát".
- [11]. Wang B. J., Wu P. Y., Lu Y. C., Chang C. H., Lin Y. C., et al. (2013) "Establishment of a cell-free bioassay for detecting dioxin-like compounds," *Toxicology Mechanisms and Methods*, vol. 23, no. 6, pp. 464–470.

ABSTRACT

AN EXPERIMENTAL STUDY ON DETECTION OF DIOXIN
USING SANDWICH ELISA

Dioxin is a group of highly toxic chemical compounds including 210 congeners, causing serious diseases on human health such as cancer, genetic diseases, birth defects and others. In particular, 2,3,7,8 -Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) was determined to have the highest toxic coefficient. In this study, we used the Sandwich ELISA method based on Aryl hydrocarbon receptor and monoclonal antibody to detect TCDD in 1% DMSO. The initial results showed that the immunoassay was capable of detecting TCDD with a detection limit of 1 pg/ml (1 ppt), a sensitivity of 97,14% and a specificity of 91,67%.

Keywords: Detect dioxin; Aryl hydrocarbon receptor; Sandwich ELISA; 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin.

Nhận bài ngày 29 tháng 10 năm 2019

Hoàn thiện ngày 17 tháng 12 năm 2019

Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 4 năm 2020

Địa chỉ: Viện Công nghệ mới/Viện Khoa học và Công nghệ quân sự.

**Email:* tranthithanhquynhk55b2@gmail.com.