

PHÁT TRIỂN PHƯƠNG PHÁP LAMP KẾT HỢP SỬ DỤNG CHỈ THỊ MÀU KÉP TRONG CHẨN ĐOÁN PHÁT HIỆN VIRUS GÂY TIÊU CHẢY CẤP Ở LỢN

*Mai Thị Ngân¹, Nguyễn Văn Giáp¹,
Cao Thị Bích Phượng¹, Huỳnh Thị Mỹ Lệ¹, Satoshi Sekiguchi²*

TÓM TẮT

Đánh giá kết quả của các phản ứng LAMP trong chẩn đoán virus gây tiêu chảy cấp ở lợn (PEDV) hiện tại là tốn thời gian và làm tăng nguy cơ tạp nhiễm cho các phản ứng tiến hành sau đó. Do vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi đã phát triển phương pháp LAMP kết hợp sử dụng chỉ thị màu kép cho chẩn đoán phát hiện PEDV. Với việc bổ sung thêm chỉ thị màu kép trong thành phần phản ứng LAMP, kết quả của quá trình khuếch đại này có thể quan sát bằng mắt thường. Bằng việc bổ sung thêm cặp mồi vòng lặp, thời gian của phương pháp LAMP trong chẩn đoán PEDV đã được tối ưu hóa ở 63°C trong 40 phút. Kết quả xét nghiệm từ 91 mẫu thực địa cho thấy đây là một phương pháp nhân gen đẳng nhiệt nhanh, đơn giản, có độ nhạy và độ đặc hiệu cao và kết quả của phản ứng có thể dễ dàng đánh giá bằng mắt thường. Do đó, kết quả nghiên cứu của chúng tôi có tính ứng dụng cao trong công tác chẩn đoán nhanh PEDV cũng như các tác nhân gây bệnh khác.

Từ khóa: Phương pháp LAMP, PEDV, chỉ thị màu kép, RT-PCR.

Development of LAMP method incorporating the use of double color indicator in diagnosing and detecting porcine epidemic diarrhea virus

*Mai Thi Ngan, Nguyen Van Giap,
Cao Thi Bích Phượng, Huynh Thi My Le, Satoshi Sekiguchi*

SUMMARY

Current LAMP assays for detecting PEDV are time-consuming and carry contamination risk for the following reactions. In this study, we developed the LAMP method combining a dual-color indicator for the detection of PEDV. With the addition of a dual-color indicator in the LAMP reaction, the results of this amplification process could be observed by the naked eyes. In addition, by adding loop primer pairs, the LAMP assay for the detection of PEDV was optimized in 40 minutes at 63°C. The result of testing 91 field samples showed that this was a method of simple, sensitive, fast isothermal gene multiplication, and the result of reaction could be easily judged by the naked eyes. Therefore, our research results can be highly applicable in the quick PEDV diagnosis as well as other pathogen detection.

Keywords: LAMP assay, PEDV, dual-color indicator, RT-PCR.

¹. Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

². Khoa Nông nghiệp, Đại học Miyazaki, Nhật Bản