

Nghiên cứu khoa học

PHÂN LẬP VIRUS GÂY BỆNH VIÊM DA NỔI CỤC (LUMPY SKIN DISEASE – LSD) Ở BÒ TRÊN TẾ BÀO DÒNG MADIN – DARBY BOVINE KIDNEY (MDBK)

*Trần Thị Thanh Hà¹, Trương Anh Đức¹, Lý Đức Việt¹,
Hoàng Văn Tuấn¹, Nguyễn Thị Chính¹, Đặng Thị Kiều Anh¹,
Nguyễn Thế Vinh², Hoàng Thị Nhung³, Nông Đại Thế⁴,
Đỗ Tiến Đạt⁴, Dương Doãn Doanh⁴, Nguyễn Nam Hùng⁴, Đặng Vũ Hoàng¹*

TÓM TẮT

Mẫu bệnh phẩm bao gồm dịch mũi, dịch mắt và u cục trên da bò nghi nhiễm virus lumpy skin disease (LSDV) tại huyện Hữu Lũng (tỉnh Lạng Sơn) đã được thu thập (theo tiêu chuẩn của OIE) để xác định LSDV bằng phương pháp PCR truyền thống sử dụng cặp mồi đặc hiệu theo hướng dẫn của OIE [6] kết hợp realtime-PCR theo công bố của Alexander và cs. [3]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mẫu bệnh phẩm thu thập trên bò tại thực địa dương tính với LSDV gây bệnh viêm da nổi cục. Kết quả phân lập LSDV ở ngày thứ 3 sau khi gây nhiễm virus ghi nhận thâm tế bào đã bắt đầu xuất hiện bệnh tích tế bào (CPE) đặc trưng. Các bệnh tích tế bào tăng dần ở ngày thứ 5 và đạt đỉnh ở ngày thứ 7. Kết quả phân lập LSDV được giám định lại bằng phương pháp realtime-PCR và PCR chẩn đoán theo khuyến cáo của OIE, kết hợp với phát hiện 4 gen chỉ báo gồm p32, RP030, ORF103 và thymidine kinase (TK) của LSDV gây bệnh viêm da nổi cục. Trình tự nucleotide của 4 gen chỉ báo đã được gửi đến Ngân hàng Gen (GenBank) với các mã truy cập như sau: MW326768 (gen p32), MW326766 (gen RP030), MW326769 (gen TK) và MW326767 (gen ORF103). Kết quả nghiên cứu cho thấy LSDV gây bệnh viêm da nổi cục ở bò tại Việt Nam đã được phân lập thành công.

Từ khóa: Virus gây viêm da nổi cục (LSDV), tế bào dòng MDBK, phân lập virus, realtime-PCR.

Isolation of Lumpy skin disease virus in Madin-Darby bovine kidney (MDBK) cell line

*Tran Thi Thanh Ha, Truong Anh Duc, Ly Duc Viet,
Hoang Van Tuan, Nguyen Thi Chinh, Dang Thi Kieu Anh,
Nguyen The Vinh, Hoang Thi Nhung, Nong Dai The,
Do Tien Dat, Duong Doan Doanh, Nguyen Nam Hung, Dang Vu Hoang*

SUMMARY

The nasal, eye fluid samples and lump samples on the skin of the cattle suspecting LSDV infection with the clinical signs, such as fever, nodules on the skin, mucous membranes and oedema of the skin were collected to identify LSDV by the conventional PCR method using the

¹ Bộ môn Hóa sinh miễn dịch - Viện Thú y

² Bộ môn Virus - Viện Thú y

³ TT Dịch vụ nông nghiệp huyện Hữu Lũng, Lạng Sơn

⁴ Chi cục Chăn nuôi và Thú y Lạng Sơn

specific primers according to the guideline of OIE [6] in combination with realtime-PCR method as described previously by Alexander *et al.* [3]. The studied results showed that these field samples were positive with LSDV. The Madin-Darby bovine kidney (MDBK) cell line system was used for LSDV isolation according to the guideline of OIE. The result of LSDV isolation showed that after 3 days of LSDV infection, the cytopathogenic effect (CPE) in the MDBK cell line was appeared in cell culture. The CPE caused by LSDV infection in MDBK cell line was increased at the day 5th and reached to the maximum at the day 7th. These results were re-inspected by realtime-PCR and conventional PCR for LSDV diagnosis recommended by OIE in combination with the detection of 4 well-known genetic markers, such as p32, RP030, ORF103 and thymidine kinase (TK) genes of LSDV. All sequences of 4 genetic markers generated in this study were submitted to GenBank under accession Nos. MW326768, MW326766, MW326769 and MW326767 for p32, RP030, thymidine kinase and ORF103 genes, respectively. The studied results indicated that LSDV has been successfully isolated in MDBK cell line for the first time in Viet Nam.

Keywords: LSDV, MDBK cell line, virus isolation, realtime-PCR.