

Nghiên cứu khoa học

XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP MULTIPLEX-PCR PHÂN BIỆT SEROTYPE 1 VÀ SEROTYPE 3 CỦA VIRUS GÂY BỆNH MAREK TRÊN GÀ TẠI VIỆT NAM

Đoàn Thị Thanh Hương^{1,2}, Lê Thanh Hòa^{1,2}, Nguyễn Thị Thu Hiền^{1,2}, Đỗ Thị Roan¹, Nguyễn Thị Mai Phương³, Trần Thị Bình Nguyễn³, Lê Thị Kim Xuyên^{1,2}, Phan Xuân Đoc¹, Lê Thị Huệ¹, Phạm Thị Khánh Linh^{1,2}, Lưu Minh Đức^{1,2}, Nguyễn Thị Khuê^{1,2}*

**Tác giả liên hệ email: doantthuong74@gmail.com*

TÓM TẮT

Do nhu cầu cần có phương pháp chẩn đoán phân biệt serotype 1 và serotype 3 của virus gây bệnh Marek (MDV) trên gà tại Việt Nam, chúng tôi đã xây dựng và thử nghiệm bộ sinh phẩm chẩn đoán hai virus trên bằng kỹ thuật multiplex-PCR, sử dụng chỉ thị phân tử từ hệ gen của virus. Mỗi phản ứng multiplex-PCR có chứa hai cặp mồi đặc hiệu riêng cho từng serotype. Trong đó cặp mồi marekF-marekR được thiết kế trên cơ sở gen *meq* đặc hiệu cho MDV serotype 1, cho sản phẩm PCR có kích thước 773 bp với gen *meq* tiêu chuẩn (ở chủng thực địa) và 950 bp với gen *meq* dài (ở chủng vaccin CVI988). Cặp mồi HVT1-HVT2 được thiết kế trên gen *US3* đặc hiệu cho MDV serotype 3 cho sản phẩm PCR có kích thước là 505 bp. Các thành phần và chu trình nhiệt cho phản ứng PCR cũng đã được nghiên cứu và tối ưu. Kết quả đánh giá được so sánh với phương pháp PCR đơn mồi cho thấy phương pháp multiplex-PCR có độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

Từ khóa: Virus gây bệnh Marek, multiplex-PCR, serotype 1, 3.

Developing a multiplex-PCR assay for detecting simultaneously MDV serotype 1 and MDV serotype 3 in chicken in Viet Nam

Doan Thi Thanh Huong, Le Thanh Hoa, Nguyen Thi Thu Hien, Do Thi Roan, Nguyen Thi Mai Phuong, Tran Thi Binh Nguyen, Le Thi Kim Xuyen, Phan Xuan Doc, Le Thi Hue, Pham Thi Khanh Linh, Luu Minh Duc, Nguyen Thi Khue

SUMMARY

Due to the need to have a differential diagnosis method for serotypes 1 and 3 of marek's disease virus (MDV) in chickens in Viet Nam, we developed and tested the detecting method by multiplex-PCR technique using molecular markers from the viral genome. In each multiplex-PCR, there were two pairs of specific primers for each serotype. Of which, the marekF-marekR primer pair was designed basing on the specific *meq* gene for MDV serotype 1, this primer pair gave a PCR product with the size of 773 bp with standard *meq* gene (in the virulent field virus strain), and 950 bp with the long *meq* gene (in the vaccine CVI988 virus strain). The HVT1-HVT2 primer pair was designed basing on the specific *US3* gene for MDV serotype 3, this primer pair gave a PCR product with the size of 505 bp. Components and the thermal cycle for the PCR were also studied and optimized. The evaluation results were compared with the single primer pair PCR method, as a result, the multiplex-PCR method had high sensitivity and specificity.

Keywords: Marek's disease virus, multiplex-PCR, serotype 1, 3.

¹ Viện Công nghệ sinh học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

² Học viện Khoa học và Công nghệ – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³ Học viện Nông nghiệp Việt Nam