

PHÁT TRIỂN BỘ KIT TOPSPEC® ASFV MULTIPLEX qPCR ĐỂ PHÁT HIỆN VÀ PHÂN BIỆT CHỦNG ASFV HOANG DẠI VÀ NHƯỢC ĐỘC XÓA GEN *I177L*

*Nguyễn Huỳnh Cẩm Tú, Mai Hoàng Khánh Chi,
Nguyễn Thị Xuân My, Nguyễn Duy Khánh
Công ty TNHH Giải pháp Y sinh ABT
Tác giả liên hệ email: tnbich@ctu.edu.vn*

TÓM TẮT

Dịch tả heo châu Phi (ASF) là một bệnh do virus gây ra, rất dễ lây lan và gây tỷ lệ tử vong cao ở heo, ảnh hưởng nghiêm trọng đến ngành chăn nuôi heo trên toàn thế giới. Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ đã phát triển chủng virus nhược độc bằng cách xóa gen *I177L* khỏi bộ gen của chủng ASFV có độc lực cao, chủng virus nhược độc này đã được một số công ty ở Việt Nam sử dụng (trực tiếp hoặc biến đổi) để sản xuất vaccin. Bộ kit TopSPEC® ASFV multiplex qPCR (MQV-121) được phát triển để phát hiện và phân biệt các chủng ASFV hoang dại và chủng vaccin xóa gen *I177L*; theo đó đối với chủng ASFV hoang dại, bộ kit sẽ nhận bản chọn lọc đồng thời hai gen mục tiêu là *B646L* (FAM) và *I177L* (TexaRed), trong khi chủng nhược độc từ vaccin chỉ phát hiện ở kênh màu FAM. Về độ nhạy, bộ kit đạt 2,45 copies/ μ L tương đương 12,23 copies/phản ứng với gen *B646L* và 6,7 copies/ μ L tương đương 33,5 copies/phản ứng với gen *I177L*. Hệ số biến thiên nội phản ứng và liên phản ứng của *B646L* lần lượt là 1,57% và 1,44%; tương tự của *I177L* là 1,57% và 3,47%. Đối với xét nghiệm trên mẫu thực tế, kết quả cho thấy bộ kit đã nhận diện và phân biệt chủng ASFV hoang dại và chủng ASFV nhược độc từ vaccin. Với những kết quả này, bộ kit TopSPEC® ASFV multiplex qPCR có triển vọng trở thành công cụ hỗ trợ chẩn đoán phân biệt chủng ASFV hoang dại và chủng ASFV nhược độc xóa gen của vaccin.

Từ khóa: ASFV, multiplex qPCR, phân biệt, virus hoang dại, virus vaccin.

Developing the TopSPEC® ASFV multiplex qPCR kit for detecting and discriminating the wild ASFV strain and the *I177L* gene-deletion attenuated strain

*Nguyen Huynh Cam Tu, Mai Hoang Khanh Chi,
Nguyen Thi Xuan My, Nguyen Duy Khanh*

SUMMARY

African swine fever (ASF) is a viral disease that is highly contagious and causes high mortality in pigs, seriously affecting the pig industry in the worldwide. The US Department of Agriculture developed an attenuated virus strain by deleting the *I177L* gene from the genome of a highly virulent ASFV strain. This attenuated virus strain has been used (directly or modified) by a number of companies in Viet Nam to produce vaccines at present. TopSPEC® ASFV multiplex qPCR kit (MQV-121) was developed to detect and differentiate the wild-type ASFV strains and the *I177L* gene deletion vaccine strain. Accordingly, for the wild ASFV strain, the primer set would simultaneously, selectively clone two target genes: *B646L* (FAM) and *I177L* (TexaRed) while the attenuated vaccine strain was only detected in the FAM color channel. In terms of sensitivity, the kit achieved 2.45 copies/ μ L equivalent to 12.23 copies/reaction with *B646L* gene and 6.7 copies/ μ L equivalent to 33.5 copies/reaction with *I177L* gene. The intra-reaction and inter-reaction coefficients of variation of *B646L* gene were 1.57% and 1.44%, and those of *I177L* gene were 1.57% and 3.47%, respectively. For testing on field samples, the results showed that the kit identified and distinguished the wild ASFV strain and the attenuated ASFV strain from the vaccine. With these results, the TopSPEC® ASFV multiplex qPCR kit has the potential to become a tool to support the differential diagnosis for the wild ASFV strains and the *I177L* gene-deletion attenuated strains.

Keywords: ASFV, multiplex qPCR, differentiation, wild virus, vaccine virus.