

TRUNG TÂM ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐỒNG NAI: THÀNH CÔNG BƯỚC ĐẦU TRONG NGHIÊN CỨU, CHẾ TẠO KIT CHẨN ĐOÁN SINH HỌC

THS NGUYỄN THỊ HOÀNG, NGÔ QUANG HƯỜNG

Sở KH&CN Đồng Nai

Với mong muốn chẩn đoán nhanh 2 dịch bệnh chủ yếu ở heo là: hội chứng rối loạn sinh sản, hô hấp và tiêu chảy cấp, góp phần kiểm soát dịch bệnh trong chăn nuôi heo trên địa bàn tỉnh Đồng Nai và các địa phương lân cận, Trung tâm Ứng dụng Công nghệ Sinh học Đồng Nai đã thực hiện thành công đề tài “Xây dựng kit phát hiện virus PRRS (hội chứng rối loạn sinh sản, hô hấp), virus, vi khuẩn trong bệnh tiêu chảy cấp trên heo nuôi bằng phương pháp PCR” với kết quả khả quan...

Những năm gần đây, ngành chăn nuôi của Việt Nam phải đối mặt với hàng loạt dịch bệnh nguy hiểm. Trong đó, bệnh tiêu chảy cấp và hội chứng rối loạn hô hấp, sinh sản trên heo không chỉ nguy hiểm, gây tử vong nhanh cho heo mà còn dễ bùng phát thành dịch lớn. Đồng Nai là tỉnh có đàn heo lớn thứ ba trong cả nước (sau Hà Nội và Nghệ An), năm 2009, trên địa bàn tỉnh đã xảy ra dịch tiêu chảy cấp, ngay sau đó là dịch rối loạn sinh sản và hô hấp trên heo, gây thiệt hại nghiêm trọng cho người chăn nuôi. Do đó, để ngành chăn nuôi phát triển ổn định, bên cạnh việc áp dụng các tiến bộ kỹ thuật trong chăn nuôi, cần quan tâm đặc biệt tới những biện pháp phòng chống dịch bệnh.

Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở heo, còn gọi là bệnh “tai xanh” (PRRS - Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome) được ghi nhận lần đầu tiên ở Mỹ vào năm 1987, do virus RNA thuộc bộ Nidovirales, họ Arteriviridae, giống Arterivirus. Gần đây, một biến thể của genotype 2 có độc lực cao hơn đã xuất hiện, gây nhiều tổn thất cho các nước châu Á. Bệnh làm giảm tỷ lệ sinh sản, gây sảy thai, heo chết lúc sinh ở heo nái, gây rối loạn hô hấp dẫn đến tử vong ở heo con. Bệnh có thể lây lan nhanh trong đàn heo trong 7-10 ngày. Đối với bệnh này, khó khăn thứ nhất là phân biệt được chủng độc lực cao và chủng thường để có biện pháp phòng ngừa,

chẩn trị hiệu quả; khó khăn thứ hai là cách lấy mẫu bệnh phẩm hiện nay thường từ các mô nội quan sẽ không thể tiến hành trên đàn heo giống làm mẹ nên phương pháp chẩn đoán cần thiết phải xác định được tác nhân gây bệnh trên mẫu huyết thanh. Dựa vào các nguyên lý hoạt động của các phương pháp chẩn đoán sinh học phân tử thì phương pháp RT-PCR hoàn toàn có thể phân biệt nhờ thiết kế primer đặc hiệu cho mỗi chủng và thí nghiệm cũng có thể tiến hành trên mẫu huyết thanh hay các loại mẫu khác.

Đối với bệnh tiêu chảy cấp, các tác nhân gây bệnh rất đa dạng, bao gồm virus, vi khuẩn và nguyên sinh động vật, trong đó virus là tác nhân gây hại lớn nhất. Trong số các virus, nhóm Rotavirus và hai Coronavirus là PEDV (Porcine Epidemic Diarrhea Virus) và TGEV (Transmissible Gastroenteritis Virus) là nguy hiểm nhất, với tỷ lệ gây chết đến 100% đối với heo con dưới 7 ngày tuổi. Bệnh có tốc độ lây lan rất nhanh, khi có tác nhân gây bệnh xuất hiện trong vùng. Do đó, vấn đề là phải tìm ra một phương pháp chẩn đoán nhanh, chính xác các tác nhân gây bệnh để kịp thời phòng ngừa đặc biệt từ đàn heo giống nhập về. Thêm vào đó, bệnh do nhiều tác nhân gây ra nhưng lại có triệu chứng tương tự nhau trong khi mỗi tác nhân đòi hỏi phải có những biện pháp phù hợp để phòng ngừa, chẩn trị. Để giải quyết vấn đề này cần phải có một phương

pháp chẩn đoán nhanh đồng thời các tác nhân trên và xác định được mẫu bệnh phẩm nhiễm tác nhân nào. Phương pháp multiplex PCR cho phép phát hiện nhanh (trong vòng 4-5 giờ từ khi nhận mẫu) và chỉ ra chính xác một hoặc đồng thời nhiều tác nhân nên rất phù hợp với mục tiêu này.

Xác định được các vấn đề trên, từ năm 2010 Trung tâm Ứng dụng Công nghệ Sinh học Đồng Nai đã thực hiện đề tài “Xây dựng kit phát hiện virus PRRS (hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp), virus và vi khuẩn trong bệnh tiêu chảy cấp trên heo nuôi bằng phương pháp PCR” với mục tiêu: giải quyết vấn đề chẩn đoán nhanh tác nhân gây 2 dịch bệnh lớn là hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp; tiêu chảy cấp trên heo. Qua thực hiện đề tài, Trung tâm đã xây dựng thành công 04 bộ kit PCR gồm: 01 bộ kit RT-PCR phát hiện PRRSV gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp; 01 bộ kit multiplex RT-PCR phát hiện nhóm Rotavirus, TGEV và PEDV trong bệnh tiêu chảy cấp; 01 bộ kit multiplex PCR phát hiện Salmonella Typhimurium, E. coli ETEC và Clostridium perfringens trong bệnh tiêu chảy cấp; 01 bộ kit real-time RT-PCR phát hiện PRRSV. Các kit được thử nghiệm trên mẫu thực địa và đánh giá khi so sánh với kit thương mại (Labhoo) cho thấy hiệu quả phát hiện tốt, chính xác, tiện dụng, không phụ thuộc vào thời gian vận chuyển.

Kết quả so sánh kit thương mại real-time RT-PCR (Labhoo) và kit RT-PCR phát hiện PRRSV gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp của đề tài

PRRSV RT-PCR		Kit real-time RT-PCR (Labhoo)		Tổng
		(+)	(-)	
Kit RT-PCR	(+)	8	0	8 (53%)
	(-)	4	3	7 (47%)
Tổng		12 (80%)	3 (20%)	15

Kết quả so sánh kit thương mại real-time RT-PCR (Labhoo) và kit real-time RT-PCR phát hiện PRRSV của đề tài

Phát hiện PRRSV		Kit real-time RT-PCR (Labhoo)		Tổng
		(+)	(-)	
Kit real-time RT-PCR	(+)	11	0	11 (73%)
	(-)	1	3	4 (27%)
Tổng		12 (80%)	3 (20%)	15

Kết quả so sánh kit thương mại real-time RT-PCR và kit multiplex PCR phát hiện vi khuẩn của đề tài

So sánh kit phát hiện vi khuẩn		Kit C		Tổng	Kit E		Tổng	Kit S		Tổng
		(+)	(-)		(+)	(-)		(+)	(-)	
Kit multiplex PCR	(+)	15	0	15 (83%)	9	4	13 (72%)	12	0	12 (67%)
	(-)	2	1	3 (17%)	0	5	5 (28%)	0	6	6 (33%)
Tổng		17 (94%)	1 (6%)	18	9 (50%)	9 (50%)	18	12 (67%)	6 (33%)	18
Hệ số kappa (ê)		0,45			0,56			1,0		

Trong đó: (C) - kit C. perfringens, (E) - kit E. coli ETEC, (S) - kit Salmonella spp. (Labhoo)

Kết quả phát hiện Rotavirus bằng kit real-time RT-PCR thương mại (Labhoo) và kit multiplex RT-PCR của đề tài

Rotavirus		Kit Rotavirus real-time RT-PCR (Labhoo)		Tổng
		(+)	(-)	
Kit multiplex RT-PCR	(+)	8	0	8 (44%)
	(-)	1	9	10 (56%)
Tổng		9 (50%)	9 (50%)	18



Bộ kit chẩn đoán tác nhân

Ngoài các ưu điểm nêu trên, kit do đề tài nghiên cứu chế tạo có giá cả hợp lý và chế độ hậu mãi tốt hơn so với các kit nhập ngoại. Cùng với các đề tài nghiên cứu khác, kết quả của đề tài “Xây dựng kit phát hiện virus PRRS (hội chứng rối loạn sinh sản, hô hấp), virus, vi khuẩn trong bệnh tiêu chảy cấp trên heo nuôi bằng phương pháp PCR” đã trực tiếp phục vụ lợi ích của người dân trong vùng và các địa phương lân cận, giải quyết những bài toán đặt ra từ đời sống sản xuất; đồng thời góp phần nâng cao trình độ nghiên cứu của các bộ trong Trung tâm ■

TRUNG TÂM ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐỒNG NAI

Văn phòng đại diện: 1597 Phạm Văn Thuận, phường Thống Nhất, TP Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai

Địa chỉ: Ấp 2, xã Xuân Đường, huyện Cẩm Mỹ, tỉnh Đồng Nai

Điện thoại : 061.3822297; Fax: 061.3825585; Email: ucs@dost-dongnai.gov.vn

Trung tâm Ứng dụng Công nghệ Sinh học Đồng Nai được thành lập theo Quyết định số 3911/QĐ-UBND ngày 21.11.2008 của UBND tỉnh Đồng Nai. Tổng diện tích quy hoạch là 208 ha, nằm trên địa bàn xã Xuân Đường, huyện Cẩm Mỹ, tỉnh Đồng Nai (cách Tp Biên Hòa 40 km về phía Tây Bắc).

- Là nơi nghiên cứu, ứng dụng CNSH hiện đại trong nông nghiệp, thực phẩm và y tế, môi trường, tạo tiền đề xây dựng và phát triển Khu đô thị CNC. Phát triển theo mô hình huy động nguồn lực khoa học trong và ngoài nước. Đây là nơi tập trung thu hút và đào tạo nguồn nhân lực cho nghiên cứu và sản xuất CNC, là nơi nghiên cứu phát triển, tiếp nhận và chuyển giao CNC kết hợp sản xuất kinh doanh.

- Xây dựng Khu CNC chuyên ngành CNSH trên cơ sở thân thiện với môi trường, gắn với cộng đồng dân cư và có tác động trực tiếp đến sự phát triển kinh tế của tỉnh.

- Khu CNC xây dựng theo hướng mở để thu hút và sử dụng nhiều nguồn lực trong và ngoài tỉnh tham gia thực hiện với những phương thức thích hợp, gắn quyền lợi và nghĩa vụ của các bên tham gia; Có kế hoạch phối hợp với các tỉnh, các địa phương lân cận trong nghiên cứu ứng dụng CNSH để tránh trùng lặp gây lãng phí; Tạo mối liên kết với Khu nông nghiệp kỹ thuật cao của tỉnh, các doanh nghiệp trên địa bàn, các vệ tinh ở các huyện, tỉnh/thành phố trong vùng, các trường đại học, các viện nghiên cứu và các quốc gia khác trong tương lai.



Một số sản phẩm của Trung tâm



Một số hình ảnh của đề tài

“Điều tra, sàng lọc nguồn tài nguyên dược liệu thực vật tỉnh Lâm Đồng theo định hướng hoạt tính sinh học nhằm phát triển các loài có giá trị cao”
mã số TN3/T14, thuộc Chương trình Tây Nguyên 3

Gò đồng hoa trắng
Gordonia axillaris (Roxb. Ex Ker) Endl



Giếng giếng, Cây lâm võ
Butea monosperma (Lam.) Taub



Địa nhĩn, *Sapria himalayana* Griff



Các hoạt động điều tra dược liệu thực vật



Xáo leo
Paramignya scandens (Griff.) Craib