Vietnam J. Agri. Sci. 2016, Vol. 14, No. 4: 605-612 Tạp chí KH Nông nghiệp Việt Nam 2016, tập 14, số 4: 605-612
www.vnua.edu.vn

ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA CHỦNG VIRUS PRRS (KTY-PRRS-05) PHÂN LẬP TẠI VIỆT NAM QUA CÁC ĐỜI CẤY TRUYỀN

Lê Thị Toan[2*], Nguyễn Thị Lan[1*], Nguyễn Hữu Nam[1], Phạm Hồng Ngân[1], Lê Văn Hùng[1]

[1]Khoa thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[2]NCS Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email[*]: Nguyenlan@vnua.edu.vn/agrivet.bp@gmail.com

Ngày gửi bài: 23.02.2016 Ngày chấp nhận: 03.05.2016

TÓM TẮT

Chủng virus PRRS trong nghiên cứu này là KTY-PRRS-05, được phân lập từ lợn mắc bệnh tai xanh (PRRS) tại thành phố Hải Phòng, Việt Nam. MARC-145 là tế bào thích hợp để phân lập virus PRRS. Virus này nhân lên nhanh trong tế bào và gây bệnh tích điển hình (các tế bào co cụm lại với nhau bong tróc khỏi đáy bình nuôi cấy). Bệnh tích tế bào xuất hiện sớm sau sau 24 giờ gây nhiễm. Sau 84 giờ gây nhiễm các tế bào đều bong tróc khỏi đáy bình nuôi cấy. Nồng độ virus đạt 10^5 (TCID50/25µl) ở các đời cấy truyền. Hàm lượng virus giải phóng tự do trong môi trường nhiều hơn so với trong tế bào. Lượng virus nhân lên trong tế bào liên tục tăng mạnh sau 48 giờ gây nhiễm, đạt mức độ cao nhất sau 72 giờ gây nhiễm (ở các đời cấy truyền) với giá trị $\log_{10}$ $TCID_{50}$ là 4,83. Nghiên cứu này đã xác định và so sánh được một số đặc tính sinh học như khả năng gây bệnh tích tế bào, lượng virus nhân lên, quy luật nhân lên của virus PRRS chủng KTY-PRRS-05 với virus vacxin, nhằm giúp cho việc lựa chọn chủng virus PRRS có tiềm năng sản xuất chế phẩm sinh học như vacxin hay chế tạo kháng nguyên giúp cho việc chẩn đoán.

Từ khóa: Đặc tính sinh học, đường cong sinh trưởng, phân lập virus, virus PRRS.

Biological Characteristics of PRRS Virus Strain Kty-Prrs-05 Isolated in Vietnam through Cultured Passages

ABSTRACT

The PRRSV strain studied in this research was KTY-PRRS-05, isolated from pigs carrying “blue ear” disease (PRRS) from Haiphong city, Vietnam. The cell line of MARC-145 was suitable to isolate PRRS virus. Virus quickly replicated in such cells and caused typical cytopathogenic effect (CPE), i.e cells clumped and sloughed from the bottoms of culture flask. PRRS virus caused CPE in MARC-145 cells as early as 24 hours post inoculation (hpi); after 84hpi, almost of cells were detached from surface of the culture flasks. Viral load could get 105 TCID50/25l) in each sub-culture passage. Viral load freely released in medium was higher than that inside cells. The viral titer multiplied in MARC-145 cells increased continuously at 48 hours post inoculation, then maximized at 72 hours withlog10 TCID50 of 4,83. In the present research, some biological characteristics, including CPE, viral load, and the growth curve of PRRSV isolates (KTY-PRRS-05) were identified and compared with those of vaccine virus. These results are useful for selecting PRRS virus in production of PRRS vaccine or antigen in development of test kit for diagnosis.

Keywords: Biological characteristics, growth curves, PRRSV, viral isolation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh tai xanh hay hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản ở lợn (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome - PRRS) là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm trên lợn, bệnh xảy ra trên mọi lứa tuổi (Hill, 1990).

Năm 1992, virus PRRS được nuôi cấy trên dòng tế bào có nguồn gốc từ tế bào biểu mô thận khỉ xanh như MA104, CL2621 và MARC-145

(Baron *et al.*, 1992). Tuy nhiên, những nghiên cứu tiếp theo đã chỉ ra rằng dòng tế bào MARC-145 là thích hợp nhất cho việc phân lập virus PRRS (Kim *et al.*, 1993; Meulenberg *et al.*, 2000).

Tại Việt Nam, năm 1997, điều tra huyết thanh học cho thấy 10/51 lợn giống nhập từ Mỹ có huyết thanh dương tính với virus PRRS (Bùi Quang Anh *và cs*, 2008). Tuy nhiên, sự bùng phát thành dịch và gây tổn thất đáng báo động cho ngành chăn nuôi lợn bắt đầu vào tháng 3 năm 2007 (Cục Thú y, 2007). Sau đó dịch lây lan nhanh và rộng khắp các tỉnh miền Bắc. Tới nay, các nghiên cứu về nguyên nhân gây bệnh,các nghiên cứu về bệnh, đặc biệt là các đặc tính sinh học và sinh học phân tử còn hạn chế. Vì vậy, việc nghiên cứu đặc tính sinh học của các chủng virus PRRS phân lập được từ thực địa qua các đời nuôi cấy có ý nghĩa quan trọng trong việc lựa chọn ra các chủng có tiềm năng sản xuất các chế phẩm sinh học, các kít chẩn đoán nhanh và vacxin phòng bệnh. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng môi trường tế bào MARC-145 để tiến hành nuôi cấy chủng virus KTY-PRRS-05 qua 40 đời cấy truyền và xác định đặc tính sinh học của chúng.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Chủng virus PRRS phân lập được tại Việt Nam (KTY-PRRS-05) và chủng virus vacxin; tế bào MARC-145 và dụng cụ, trang thiết bị phòng thí nghiệm cần thiết sử dụng trong quá trình nghiên cứu.

2.2. Phương pháp

- Nuôi cấy virus PRRS trên môi trường tế bào MARC-145

Chuẩn bị tế bào MARC-145 một lớp: Tế bào MARC-145 được nuôi cấy trong môi trường Dulbecco's Modified Eagle Medium - DMEM có bổ sung 10% Fetal bovine serum - FBS, nuôi cấy trong tủ ấm ở điều kiện 37°C, hàm lượng 5% CO_2. Tế bào MARC-145 một lớp được chuẩn bị trên khay nuôi cấy tế bào 24 giếng.

Gây nhiễm virus và quan sát kết quả: Từ các giếng tế bào MARC-145 một lớp đã được chuẩn bị, hút bỏ môi trường nuôi cấy và bổ sung 100µl huyễn dịch chứa virus. Tế bào được gây nhiễm virus được ủ ở điều kiện 37°C với 5% CO_2 trong 30 phút. Sau đó bổ sung 2ml môi trường DMEM có chứa 10% Tryptose Phosphate Broth -TPB- vào các giếng tế bào và để ở 37°C với 5% CO_2. Hàng ngày theo dõi sự phá hủy tế bào bằng kính hiển vi soi nổi và tiến hành thu virus khi 80% - 90% tế bào bị phá hủy.

- Xác định nồng độ virus TCID50/25µl

Tế bào MARC-145 một lớp được chuẩn bị trên khay 96 giếng. Mẫu virus cần xác định nồng độ được pha loãng theo cơ số 10 rồi đem gây nhiễm 25µl dung dịch virus vào các giếng có chứa tế bào MARC-145 một lớp, mỗi độ pha loãng lặp lại 3 lần. Sau 1 giờ ủ, bổ sung môi trường DMEM có chứa 10% TBP. Theo dõi bệnh tích tế bào hàng ngày bằng kính hiển vi soi nổi. Giá trị TCID50/25µl được xác định theo phương pháp Behrens-Karber (Lan NT et al., 2005)

- Xác định đường cong sinh trưởng của virus PRRS qua các đời cấy truyền

Virus PRRS được gây nhiễm lên tế bào với tỷ lệ Multiplicity of infection - MOI là 0,01. Sau 1 giờ ủ, huyễn dịch chứa virus được hút bỏ và môi trường nuôi dưỡng được rửa sạch với 0,5ml PBS, sau đó bổ sung môi trường DMEM có chứa 10% TPB. Virus giải phóng ngoài tế bào và trong tế bào được thu riêng ở các thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm virus (ở 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ, 60 giờ, 72 giờ, 84 giờ, 96 giờ và 108 giờ). Đường cong nhân lên của virus được xây dựng có biến là log_{10} của TCID50/25µl tại mỗi thời điểm thu virus.

- *Phương pháp RT-PCR*: sử dụng cặp mồi đặc hiệu (sản phẩm PCR có độ dài 392bp) để phát hiện sự có mặt của virus PRRS (chủng KTY-PRRS-05) có trong mẫu bệnh phẩm thu thập được bằng máy Eppendorf AG 22331 Hamburg (Đức).

- *Phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch (Immuno histochemistry - IHC):* Xác định sự cư trú của virus PRRS trên các cơ quan, bộ phận trên cơ thể lợn mắc bệnh tai xanh (chủng KTY-PRRS-05) (Tiêu Quang An và Nguyễn Hữu Nam, 2011).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng gây bệnh tích trên môi trường tế bào MARC-145 của chủng virus KTY-PRRS-05

Tiến hành phân lập mẫu bệnh phẩm trên môi trường tế bào MARC-145; quan sát sự biến đổi của tế bào trong thời gian 108 giờ sau gây nhiễm. Kết quả thu được tổng hợp và trình bày thông qua bảng 1 và hình 1.

Kết quả bảng 1 cho thấy, mẫu bệnh phẩm cần phân lập (chủng KTY-PRRS-05) có khả năng phát triển, nhân lên trên môi trường tế bào MARC-145 giống với quá trình xâm nhập, nhân lên của chủng virus vacxin. Các tế bào bị nhiễm virus PRRS co cụm lại với nhau chồi lên khỏi đáy bình nuôi cấy và khi tế bào bị virus phá hủy hoàn toàn thì bong khỏi đáy bình, có thể quan sát rất rõ hình thái bệnh tích này qua kính hiển vi soi ngược (Hình 1). Bệnh tích tế bào (CPE) xuất hiện sớm ở 24 giờ sau khi gây nhiễm (10%); trong đó chủng vacxin, CPE đạt 5%. Quan sát ở các giờ tiếp theo sau khi xuất hiện CPE chúng tôi nhận thấy CPE đạt 85% ở thời điểm 60 giờ gây nhiễm (chủng vacxin, CPE đạt 100%), CPE đạt 100% được ghi nhận ở 72 giờ sau gây nhiễm (chủng virus vacxin, toàn bộ tế bào bị bong tróc khỏi bề mặt bình nuôi cấy) và đến 84 giờ sau gây nhiễm các tế bào đều bong tróc khỏi bề mặt nuôi cấy. Từ các kết quả nghiên cứu về khả năng gây bệnh tích tế bào trên môi trường tế bào MARC-145 cho thấy, virus PRRS chủng KTY-PRRS-05 có khả năng nhân lên một cách mạnh mẽ; gây bệnh tích tế bào trong thời gian ngắn sau khi gây nhiễm và hủy hoại tế bào nhanh chóng.

3.2. Kết quả nghiên cứu khả năng gây bệnh tích tế bào của chủng virus KTY-PRRS-05 trên môi trường tế bào MARC-145 qua 40 đời cấy truyền

Kết quả về khả năng gây bệnh tích tế bào qua 40 đời cấy truyền trên môi trường tế bào MARC-145 được tổng hợp và trình bày thông qua bảng 2.

Bảng 1. Kết quả theo dõi sự biến đổi của tế bào MARC-145 (CPE)

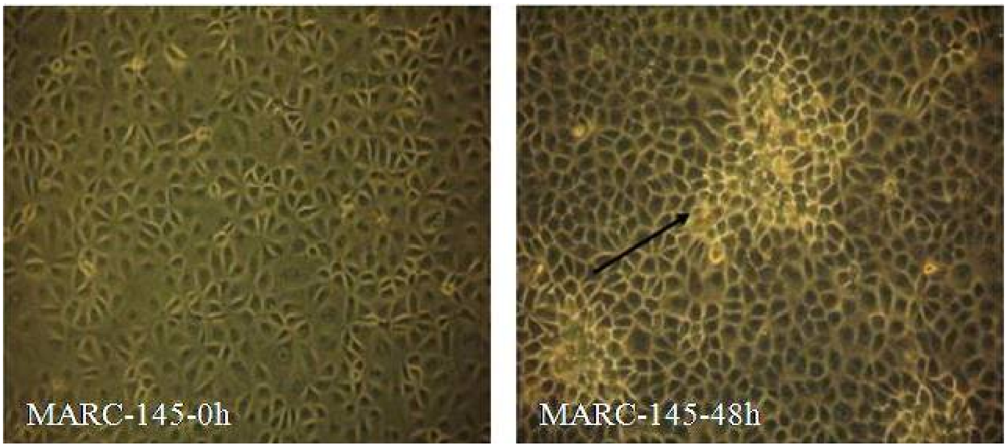
Thời gian (giờ)	24	36	48	60	72	84
Mẫu	CPE theo thời gian sau khi gây nhiễm virus (%)					
KTY-PRRS-05	10	40	60	85	100	B
Vacxin	5*	20	50	100	B	

Chú thích: B: Toàn bộ tế bào bong tróc khỏi bề mặt bình nuôi cấy;
**: % tế bào bị phá hủy so với tổng diện tích đáy bình nuôi cấy*

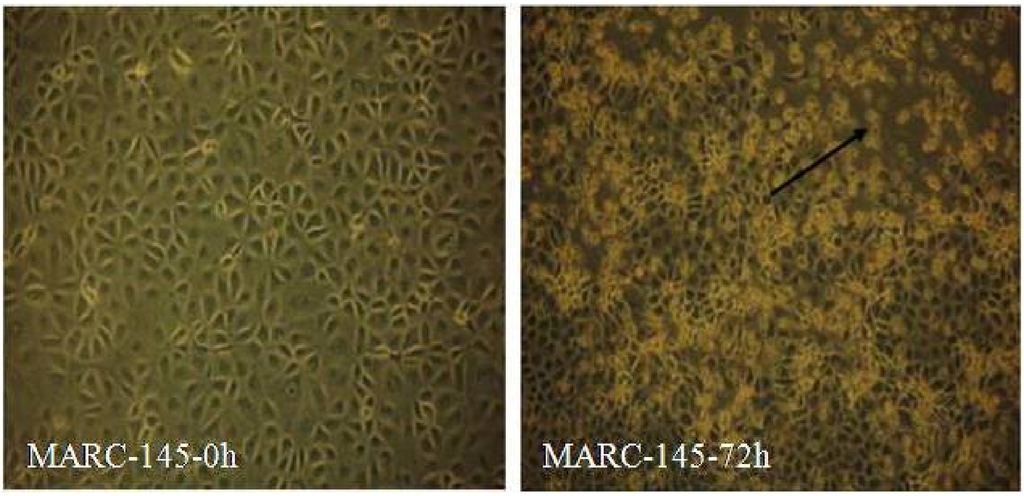
Bảng 2. Kết quả cấy truyền chủng virus KTY-PRRS-05 phân lập được trên môi trường tế bào MARC-145 qua 40 đời

Đời	CPE (%)					
	24 giờ	36 giờ	48 giờ	60 giờ	72 giờ	84 giờ
1	15*	40	60	85	100	B
10	20	45	65	90	100	B
20	20	45	65	90	100	B
30	25	55	70	90	100	B
40	25	55	70	90	100	B

*Chú thích: B: Toàn bộ tế bào bong tróc khỏi bề mặt nuôi cấy; *: % tế bào bị phá hủy so với tổng diện tích đáy bình nuôi cấy*



Hình 1. Khả năng gây bệnh tích tế bào (CPE) của chủng KTY-PRRS-05 trên môi trường tế bào MARC-145



Hình 2. Khả năng gây bệnh tích tế bào (CPE) của chủng virus KTY-PRRS-05 trên môi trường tế bào MARC-145 qua các đời cấy truyền

Kết quả bảng 2 cho thấy, qua các đời cấy truyền khác nhau, khả năng gây bệnh tích tế bào của các chủng virus là ổn định (sau 72 giờ gây nhiễm 100% tế bào bị phá hủy). Khả năng gây bệnh tích tế bào biến động không đáng kể ở thời điểm trước 60 giờ sau gây nhiễm. Ở đời thứ nhất, bệnh tích tế bào xuất hiện tại thời điểm 24 giờ sau gây nhiễm chiếm khoảng 15%; tuy nhiên, ở đời thứ 10 trở đi khả năng phá hủy tế bào tăng (chiếm khoảng 20%) và duy trì đến đời thứ 20; đến đời thứ 30 và 40, tỷ lệ này lại tăng đáng kể (chiếm khoảng 25%). Sau 48 giờ gây nhiễm, khả năng phá hủy tế bào giữa các đời trong nghiên cứu giao động khoảng 5% (đời 1 với đời 10, 20 và đời 10, 20 với đời 30, 40); CPE đạt trung bình khoảng 65%. Tại thời điểm 60 giờ sau khi gây nhiễm tỷ lệ (%) tế bào bị phá hủy ở các đời là tương đối giống nhau (khoảng 90%); sau 72 giờ CPE đạt 100% ở tất cả các đời nghiên cứu và sau 84 giờ, toàn bộ tế bào bị phá hủy và bong tróc khỏi bề mặt bình nuôi cấy (Hình 2).

3.3. Kết quả nghiên cứu nồng độ virus TCID50/25µl của chủng virus KTY-PRRS-05 qua 40 đời cấy truyền

Kết quả xác định nồng độ virus (TCID50/25µl) của chủng virus KTY-PRRS-05 phân lập được qua 40 đời cấy truyền khác nhau. được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xác định nồng độ virus (TCID50/25µl) KTY-PRRS-05 phân lập được qua 40 đời cấy truyền

Virus	Đời 1	Đời 10	Đời 20	Đời 30	Đời 40
KTY-PRRS-05	$1,74 \times 10^5$	$4,16 \times 10^5$	$4,56 \times 10^5$	$5,16 \times 10^5$	$5,16 \times 10^5$
Vacxin	$1,44 \times 10^5$	$2,16 \times 10^5$	$2,83 \times 10^5$	$2,83 \times 10^5$	$2,16 \times 10^5$

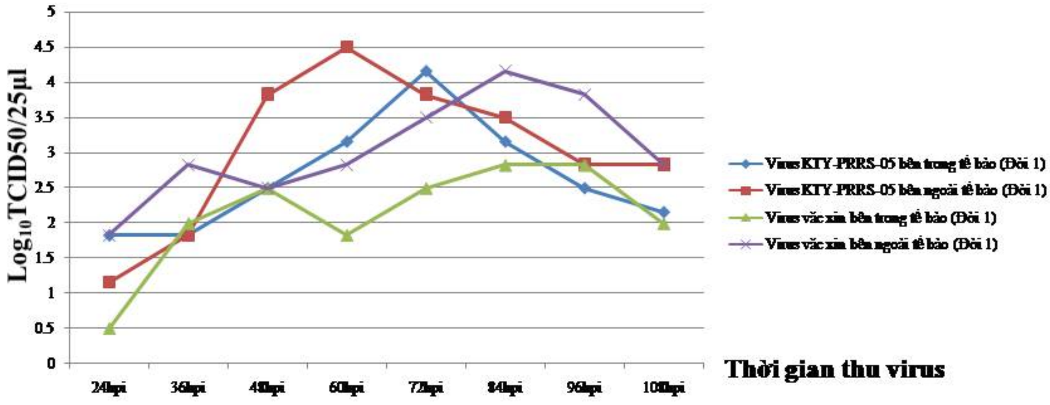
Kết quả bảng 3 cho thấy: nồng độ virus qua 40 đời cấy truyền là ổn định, giá trị TCID50/25l luôn giao động trong khoảng từ 1,74 đến $5,16x10^5$. Tuy nhiên, tại đời cấy truyền thứ nhất, giá trị TCID50/25µl là thấp nhất ($1,74x10^5$ so với $4,16x10^5$ đời thứ 10; $4,56x10^5$ đời thứ 20 và $5,16x10^5$ ở đời thứ 30 và đời thứ 40). Như vậy, chủng virus KTY-PRRS-05 có nồng độ cao, ổn định qua các đời cấy truyền và có thể được lựa chọn để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo như sản xuất các chế phẩm sinh học, vacxin phòng bệnh, kít chẩn đoán nhanh.

3.4. Kết quả xác định quy luật phát triển của chủng virus KTY-PRRS-05 phân lập được trên môi trường tế bào MARC-145

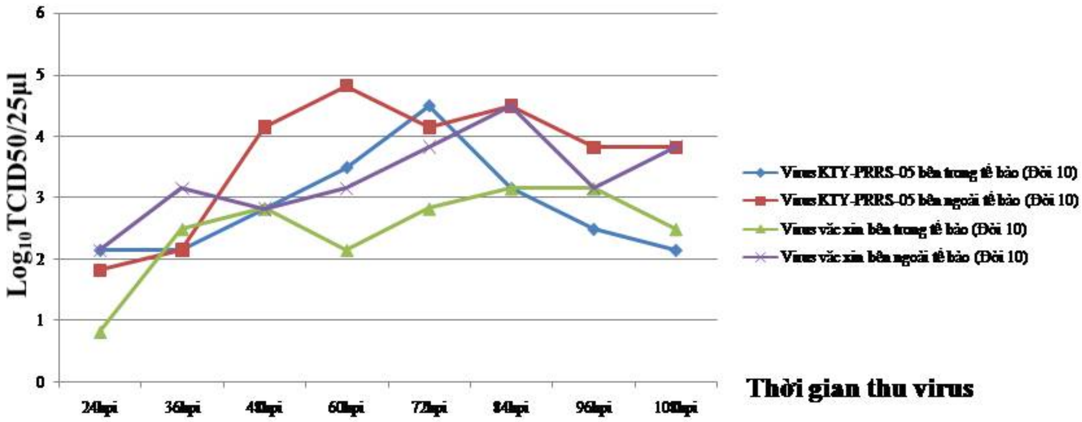
Kết quả theo dõi nồng độ virus ở các thời điểm đã quy định của chủng KTY-PRRS-05 được trình bày ở biểu đồ 1, 2, 3, 4 và 5.

Thời gian virus xâm nhập vào trong tế bào MARC-145 tương đối nhanh qua các đời cấy truyền. Tại các thời điểm khác nhau số lượng virus nhân lên trong tế bào cũng khác nhau và nồng độ virus cũng khác nhau. Ở thời điểm 24 giờ sau gây nhiễm; giá trị Log_{10}TCID50/25µl trung bình đạt 2,23 (trong khi đó chủng virus nhược độc vacxin là 0,66) và giá trị này đạt cao nhất tại thời điểm 72 giờ sau khi gây nhiễm (4,56); đối với chủng virus vacxin giá trị này đạt cao nhất sau 84 giờ gây nhiễm là 2,58. Mặt khác, ở các đời cấy truyền khác nhau; khả năng nhân lên của virus trong tế bào MARC-145 cũng khác nhau. Tại đời cấy truyền thứ 1, khả năng nhân lên của chủng virus là thấp nhất, giá trị Log_{10}TCID50/25µl đạt trung bình 2,66 so với 2,87 ở đời thứ 10, 20 và 3,16 ở đời thứ 30 và 40 (do khả năng thích ứng của chủng virus với môi trường tế bào MARC-145 chưa cao). Trong khi đó, đối với chủng virus vacxin; ở đời cấy truyền thứ nhất giá trị này đạt 2,12 so với 2,50 ở các đời thứ 10, 20, 30 và 40. Tuy nhiên, giá trị này luôn duy trì ở mức cao và ổn định ở các đời tiếp theo (đời thứ 10, 20, 30 và 40) trong nghiên cứu do khả năng thích nghi của chủng virus với môi trường tế bào MARC-145 ngày càng cao và ổn định. Như vậy, khả năng nhân lên của virus PRRS chủng KTY-PRRS-05 qua 40 đời cấy truyền là ổn định so với chủng virus vacxin sau 40 đời cấy truyền.

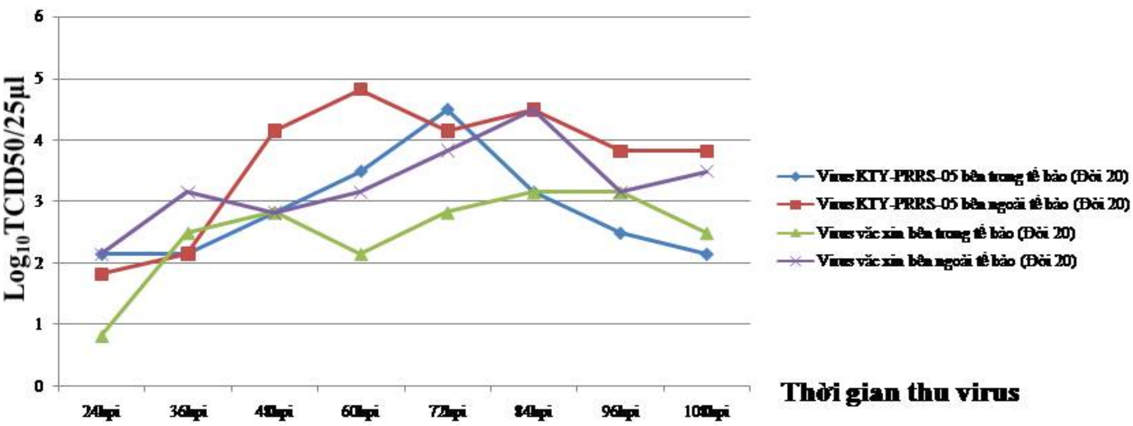
Tại các thời điểm khác nhau, chúng tôi tiến hành theo dõi và thu mẫu để nghiên cứu quá trình giải phóng virus tại các đời. Kết quả biểu đồ 07, 08, 09, 10 và 11 cho thấy, khả năng phá vỡ tế bào, giải phóng virus tại các thời điểm và các đời khác nhau thì khác nhau. Sau 24 giờ gây nhiễm, hàm lượng virus giải phóng ra khỏi tế bào tăng dần; giá trị Log_{10}TCID50/25µl trung bình đạt 1,83 trong khi đó, giá trị này đối với chủng virus vacxin là 1,73. Tuy nhiên, lượng virus giải phóng trong giai đoạn này thấp hơn lượng virus nhân lên trong tế bào (1,83 so với 2,23); đối với chủng virus vacxin giá trị này cao hơn (1,73 so với 0,66). Thời điểm virus giải phóng khỏi tế bào đạt đỉnh ở 60 giờ sau khi gây nhiễm, giá trị Log_{10}TCID50/25µl đạt 4,76; chủng virus vacxin giá trị này đạt đỉnh sau 84 giờ gây nhiễm là 3,60. Khả năng nhân lên và khả năng giải phóng virus tại các thời điểm khác nhau thì khác nhau. Khả năng giải phóng virus khỏi tế bào ở các đời cấy truyền là ổn định. Tuy nhiên, tại đời cấy truyền thứ nhất, hàm lượng virus được giải phóng khỏi tế bào thấp hơn (3,04 so với 3,44 ở các đời cấy truyền tiếp theo). Mặc dù vậy, lượng virus được giải phóng khỏi tế bào luôn cao hơn lượng virus bên trong tế bào ở các đời cấy truyền trong nghiên cứu.



Biểu đồ 1. Đường cong sinh trưởng của chủng virus KTY-PRRS-05 qua 1 đời cấy truyền

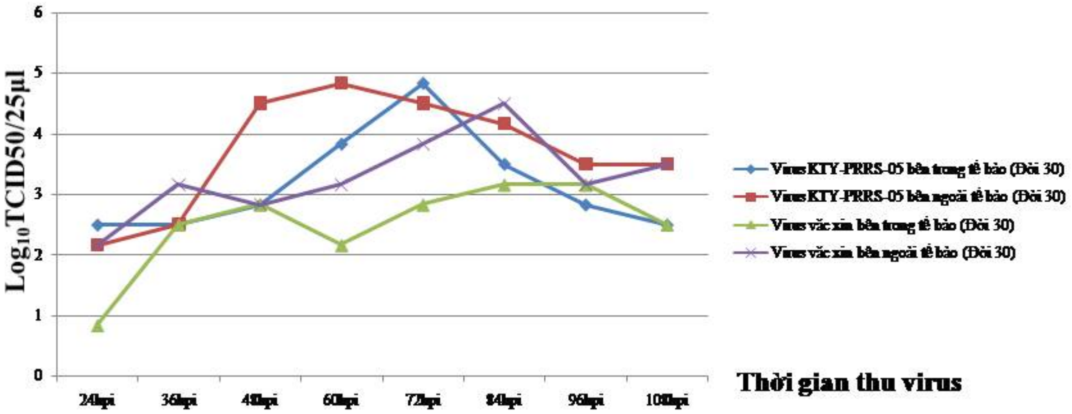


Biểu đồ 2. Đường cong sinh trưởng của chủng virus KTY-PRRS-05 qua 10 đời cấy truyền

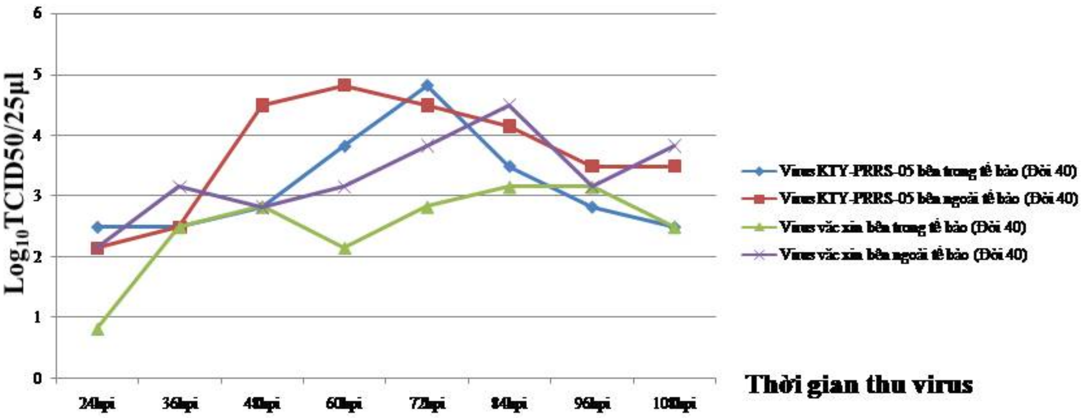


Biểu đồ 3. Đường cong sinh trưởng của chủng virus KTY-PRRS-05 qua 20 đời cấy truyền

Sự xâm nhập và phát triển của virus PRRS trên môi trường tế bào MARC-145 qua 40 đời cấy truyền không phải là một quá trình liên tục. Tại những thời điểm khác nhau thì khả năng nhân lên và giải phóng virus khỏi tế bào MARC-145 là khác nhau phù hợp với quy luật nhân lên của chủng virus vacxin nhược độc. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu trước đây



Biểu đồ 4. Đường cong sinh trưởng của chủng virus KTY-PRRS-05 qua 30 đời cấy truyền



Biểu đồ 5. Đường cong sinh trưởng của chủng virus KTY-PRRS-05 qua 40 đời cấy truyền

cho rằng: Hiệu giá virus phân lập được từ các mẫu bệnh phẩm được cao nhất đạt $6,67x10^4$ ($TCID_{50}$/25µl). Hàm lượng virus giải phóng tự do nhiều hơn hàm lượng virus ở trong tế bào. Lượng virus phân lập được trong tế bào liên tục tăng mạnh sau 48 giờ gây nhiễm, đạt mức độ cao nhất sau 72h gây nhiễm với giá trị log $TCID_{50}$ là 4,83 (đời thứ nhất) (Nguyễn Thị Lan và Lương Quốc Hưng, 2012). Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành so sánh đặc tính sinh học của chủng KTY-PRRS-05 qua 40 đời cấy truyền.

4. KẾT LUẬN

Khả năng gây bệnh tích tế bào của chủng virus PRRS (KTY-PRRS-05) là nhanh, mạnh và ổn định qua các đời cấy truyền; bệnh tích tế bào xuất hiện sớm sau 24 giờ gây nhiễm và sau 72 giờ, 100% tế bào bị phá hủy và bong tróc khỏi bề mặt bình nuôi cấy. Nồng độ virus TCID50/25µl ổn định, không có sự sai khác đáng kể qua các đời cấy truyền. Đường cong sinh trưởng của chủng virus này qua các đời cấy truyền khác nhau không phải là một quá trình liên tục. Tại những thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm thì khả năng nhân lên và giải phóng virus khỏi tế bào MARC-145 là khác nhau. Kết quả này có thể được ứng dụng trong việc lựa chọn chủng virus PRRS có tiềm năng sản xuất các chế phẩm sinh học hoặc sản xuất vacxin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Baron T, Albina E, Leforban Y (1992). Report on the first out-breaks of the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in France. Diagnosis and viral isolation. Ann Rech Vet, 23:161-335.

Bùi Quang Anh, Hoàng Văn Năm, Văn Đăng Kỳ, Nguyễn Văn Long, Nguyễn Ngọc Tiến (2008). Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRS), Nhà xuất bản Nông nghiệp, tr. 7- 21.

Cục Thú y (2007). Báo cáo tại Hội thảo khoa học phòng chống Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn; ngày 21 tháng 5 năm 2007, Hà Nội.

Nguyễn Thị Lan, Lương Quốc Hưng (2012). Nghiên cứu một số đặc tính sinh học của virus gây hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản (PRRS) phân lập được trên đàn lợn nuôi tại một số tỉnh phía Bắc, Việt Nam. Tạp chí Khoa học và Phát triển Nông thôn, 2(2): 82-87.

Hill, H. (1990). Overview and history of mystery swine disease (swine infertility and respiratory syndrome). In: Proceedings of the Mystery Swine Disease Communication Meeting. Denver, CO, pp. 29-31.

Kim, H.S., Kwang, J., Yoon, I.J., Joo, H.S. and Frey, M.L. 1993. Enhanced replication of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in a homogeneous subpopulation of MA-104 cell line. Arch. Virol., 133: 477-483.

Lan, N.T., Yamaguchi, R., Kai, K., Uchida, K., Kato, A. and Tateyam, S. (2005). The growth profiles of three types of canine distemper virus on Vero cells expressing canine signaling lymphocyte activation molecule. Journal of veterinary medical science, 67(5): 491-495.

Meulenberg, J.J. (2000). PRRSV, the virus. Vet. Res., 31: 11-21.

Tiêu Quang An, Nguyễn Hữu Nam (2011). Một số đặc điểm bệnh lý đại thể và vi thể ở lợn bị hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (PRRS). Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y, XVIII(6): 24-30.