

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC PHÂN TỬ CỦA VIRUS GÂY HỘI CHỨNG RỐI LOẠN SINH SẢN VÀ HÔ HẤP Ở LỢN (PRRS) PHÂN LẬP ĐƯỢC TẠI VIỆT NAM TỪ CÁC Ổ DỊCH NĂM 2007, 2010, 2013

*Nguyễn Thị Thu Hằng¹, Lê Quang Hòa², Trần Thị Thanh Hà¹,
Trần Thị Thu Hằng¹, Nguyễn Việt Không¹*

TÓM TẮT

Toàn bộ genome của 3 chủng virus PRRS: HT-07, QT-10, HD-13 đại diện phân lập được ở Hà Tây, Quảng Trị, Hải Dương tại các ổ dịch lợn mắc Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (PRRS) trong các năm 2007, 2010, 2013 đã được giải trình tự, chiều dài của các bộ genome của 3 chủng virus là 15320 nucleotid. Trình tự các bộ genome của 3 chủng virus nói trên đã được so sánh với trình tự bộ genome của 29 chủng đại diện ở ngân hàng gen thế giới (GenBank) để lập cây phả hệ và xác định sự tiến hóa của loài. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả 3 chủng virus PRRS phân lập được ở Việt Nam đều thuộc typ II (Bắc Mỹ), cùng phân nhóm với các chủng virus độc lực cao của Trung Quốc và có quan hệ họ hàng với chủng virus gốc VR-2332 (Bắc Mỹ).

Trình tự nucleotid và amino acid của gen ORF5 đã được sử dụng để phân tích, so sánh và tính tỷ lệ tương đồng về nucleotid và amino acid giữa 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HD-13 với nhau và với 4 chủng độc lực cao (JXA1, JXwn06, SY0608, 07HEBTJ) của Trung Quốc phân lập được từ những năm 2006 -2007. Kết quả so sánh cho thấy 3 chủng PRRS HT-07, QT-10, HD-13 có tỷ lệ tương đồng với nhau rất cao về nucleotid (98,7-99,7%), về amino acid (98-99,5%). So với 4 chủng của Trung Quốc thì chủng QT-10 có tỷ lệ tương đồng cao nhất về nucleotid (99,3-99,8%), về amino acid (99,5-100%) tiếp đến là chủng HT-07 (99-99,5% về nucleotid và amino acid) và chủng HD-13 có tỷ lệ tương đồng thấp nhất về nucleotid (98,7-99,3%), về amino acid (98-99%). So sánh với chủng gốc Bắc Mỹ VR-2332 thì các chủng virus PRRS của Việt Nam có tỷ lệ tương đồng thấp hơn về nucleotid (88,9-89,2%), về amino acid (88-88,5%).

Từ khóa: Virus PRRS, Gen ORF5, Lợn, Nucleotid, Amino acid, Việt Nam

Some molecular characteristics of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolated from the outbreaks in Viet Nam in 2007, 2010, 2013

*Nguyen Thi Thu Hang, Le Quang Hoa, Tran Thi Thanh Ha,
Tran Thi Thu Hang, Nguyen Viet Khong*

SUMMARY

The entire genome of three representative strains of PRRSV isolating from Ha Tay, Quang Tri and Hai Duong provinces in 2007, 2010 and 2013 namely HT-07, QT-10 and HD-13 was decoded and the length of these genomes was equal (15320 nucleotides). The genome sequences of 3 above PRRSV strains were compared with each other and compared with 29 representative strains in the GenBank for establishing the pedigree and determining the phylogenetic development. The studied result showed that 3 Vietnamese PRRSV strains belonged to Type II (North America) and in the same sub-group with the highly virulent Chinese PRRSV strains and in the same origin with the virus strain VR-2332 (North America).

The nucleotide and amino acid sequences of gene ORF5 were used to analyze, compare

¹ Viện thú y

² Trường CNSH và CNTP, Đại học Công nghệ Hà Nội

and calculate the similarity level on nucleotide and amino acid among three Vietnamese PRRSV strains with 4 highly virulent Chinese PRRSV strains (JXA1, JXwn06, SY0608, 07HEBTJ) isolated from 2006 to 2007. The studied result indicated that 3 Vietnamese strains shared a very high similarity rate with each other on nucleotide (98.7 to 99.7%) and on amino acid (98.0 to 99.5%). In case of comparison with 4 Chinese strains, the similarity rate of QT-10 strain and the Chinese strains on nucleotide and amino acid was highest (99.3 to 99.8%) and (99.5 to 100%) respectively; followed by HT-07 strain (99 to 99.5% on nucleotide and amino acid). The similarity rate of the HD -13 strain was lower on nucleotide (98.7-99.3%), and amino acid (98-99%). In comparison with the North America origin strain (VR-2332), the similarity rate of Vietnamese strains was lower 88.9-89.2% on nucleotide, 88-88.5 % on amino acid.

Keywords: PRRSV, ORF5 gene, Pig, Nucleotide, Amino acid, Viet Nam

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (Porcine reproductive and respiratory syndrome - PRRS) hay còn được gọi là “bệnh tai xanh ở lợn” đã gây thiệt hại đáng kể cho ngành chăn nuôi lợn trên toàn thế giới [12]. Tại Việt Nam, theo số liệu của Cục Thú y, trên phạm vi toàn quốc từ 2007 đến năm 2013 cho thấy đến cuối tháng 12/2013, đã có 4.102 ổ dịch PRRS (xã có dịch) trên phạm vi 57/63 tỉnh/thành [2].

Genome của PRRSV là một sợi đơn RNA và virus là thành viên của họ *Arteriviridae*, giống *Nidovirales* [10]. Dựa vào phân tích cấu trúc gen, người ta chia thành 2 nhóm genotyp: Nhóm I gồm virus thuộc dòng châu Âu, đại diện là chủng Lelystad (LV) và Nhóm II gồm virus thuộc dòng Bắc Mỹ mà tiêu biểu là chủng virus Bắc Mỹ ATCC-VR2332. Các nghiên cứu về dịch tễ học phân tử cho thấy các chủng PRRSV rất khác nhau về kháng nguyên, độc lực và đa dạng về trình tự gen [1][6]. Sợi đơn RNA của virus bao gồm một bộ gen có chiều dài khoảng 15 kb, mã hóa cho 9 khung đọc mở (ORFs) [10]. Khung đọc mở ORF1a và ORF1b cấu thành 75% bộ gen của virus mã hóa các polymerase protein liên quan đến sự nhân lên, có thể chia thành ít nhất 13 protein phi cấu trúc (NSP). Các khung đọc mở ORF2a, 3, 4 và 5 tất cả mã hóa cho các protein glycosyl hóa tương ứng là GP2a, GP3, GP4, GP5. ORF2b mới được định nghĩa mã hóa cho các protein nhỏ nhất là GP2b. ORF7 mã hóa các protein nucleocapsid không glycosyl hóa (N), chiếm 20-40% hàm lượng protein của virion. ORF6 mã hóa các protein tương tự như vậy không glycosyl hóa (M) [5][6][10]

[11]. Trong 7 khung đọc mở, ORF5 mã hóa glycoprotein vỏ chính của virus- GP5 có tính kháng nguyên mạnh và chịu trách nhiệm gây bệnh của virus. Protein GP5 cùng với protein N là đích chủ yếu của kháng thể trung hòa, tham gia cơ chế “lẩn tránh” đáp ứng miễn dịch cơ thể vật chủ với virus [8],[9]. Một vài peptide/protein chủ đạo như peptide tín hiệu, vùng xuyên màng, yếu tố quyết định kháng nguyên và điểm glycosyl hóa đã được xác nhận trên GP5 [13]. Vì vậy, đoạn gen ORF5 đã được sử dụng rộng rãi để phân tích sự biến đổi di truyền và dịch tễ học phân tử của virus PRRS.

Chính vì vậy, nghiên cứu giải mã toàn bộ genome của 3 chủng virus PRRS tại 3 thời điểm dịch khác nhau, phân tích sự tiến hóa về genome và gen ORF5 là thực sự cần thiết để có dữ liệu gen học về các chủng đại diện, giúp cho việc nghiên cứu sản xuất các vacxin thể hệ mới phù hợp với virus PRRS đang lưu hành, đồng thời xác định được mức độ tiến hóa của virus đương nhiên với các chủng trước đó tại Việt Nam và trên thế giới [15].

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng virus PRRS: HT-07, QT-10 và HD-13 phân lập được tại Hà Tây (2007), Quảng Trị (2010) và Hải Dương (2013).

2.2. Giải trình tự toàn bộ hệ gen 3 chủng virus PRRS và xây dựng cây phả hệ

Toàn bộ hệ gen của 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10 và HD-13 được giải trình tự theo các

bước:

- Tách chiết RNA bằng phương pháp Trizol (Cat. 1559618) hãng Invitrogen.

- Tổng hợp cDNA bằng phương pháp sử dụng Random primer.

- PCR khuếch đại các đoạn gen của PRRSV sử dụng phương pháp và các cặp mồi của Wei Han và cs [14].

- Giải trình tự các đoạn gen PRRSV theo phương pháp Sanger: Sản phẩm PCR tinh sạch được giải trình tự toàn bộ genome bằng BigDye X Terminator® Purification Kit (code 4376486). Trình tự tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Mỗi trình tự gen được giải trình tự 2 chiều. Trình tự gen thu được đem so sánh với trình tự gen tương ứng của chủng PRRSV SRV07 mã số tại GenBank là JX512910.1 tại trang web www.ncbi.nlm.nih.gov/ và tài liệu tham khảo.

Xây dựng cây phả hệ

Cây phả hệ toàn bộ genome 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HT-13 được xây dựng bằng phần mềm CLC Sequencer Viewer 6 với giá trị bootstrap là 1000.

2.3. Phân tích số liệu so sánh tương đồng nucleotid và amino acid

- Phân tích tiến hóa phân tử, sử dụng toàn bộ genome của 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10 và HD-13 với 29 trình tự toàn bộ genome các chủng virus PRRS đại diện ở Genbank [1].

- Các trình tự nucleotid và amino acid của đoạn ORF5 từ 3 chủng được kiểm tra và hiệu chỉnh bằng phần mềm Bioedit 7 (www.bioedit.software.informer.com/) để thu được kết quả chính xác nhất.

- 8/29 chủng virus PRRS đại diện được sử dụng so sánh, phân tích trình tự nucleotid và amino acid chính thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Các virus PRRS đại diện sử dụng trong phân tích trình tự

STT	Mã Genbank	Tên phân lập	Quốc gia	Năm	Genotype
1	EF112445	JXA1	Trung Quốc	2006	NA
2	EF641008	JXwn06	Trung Quốc	2006	NA
3	EU144079	SY0608	Trung Quốc	2006	NA
4	FJ393458	07HEBTJ	Trung Quốc	2007	NA
5	FJ394029	07QN/VN	Việt Nam	2007	NA
6	JX512910	SRV07	Việt Nam	2007	NA
6	AY150564	VR-2332	Mỹ	1992	NA
7	M96262	Lelystad virus	Hà Lan	1991	EU

Ghi chú: EU: European type - chủng châu Âu; NA: North American type - chủng châu Mỹ

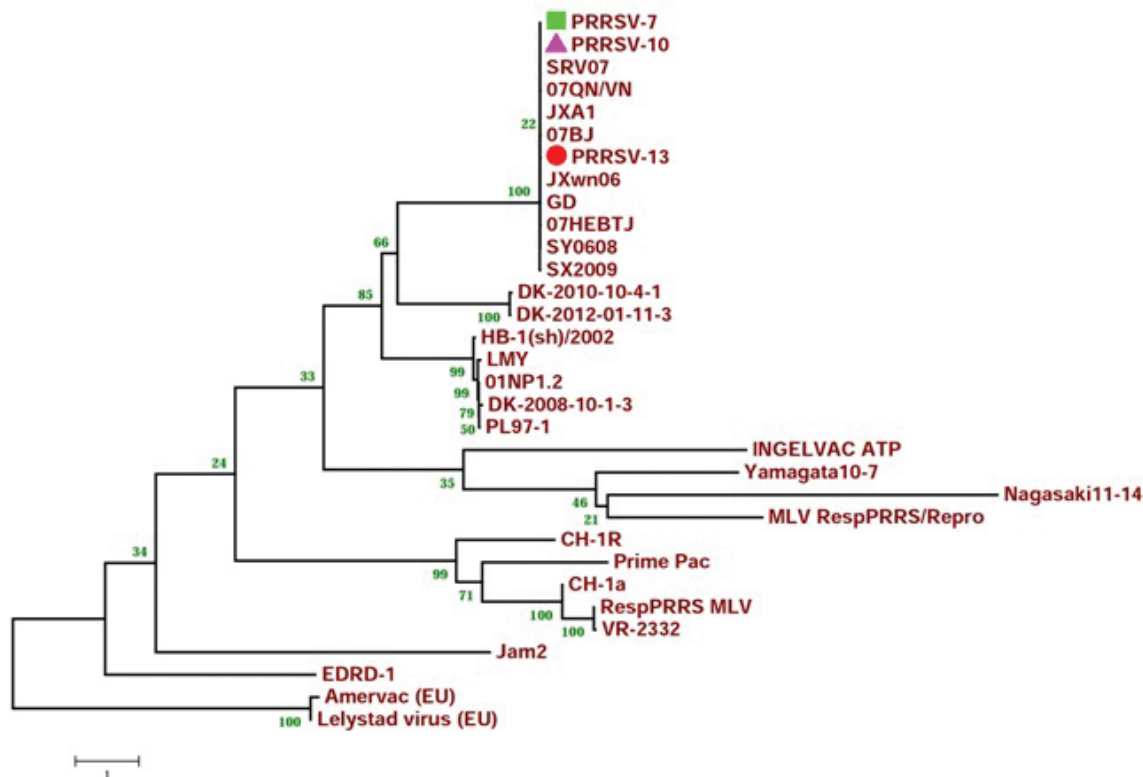
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1 Giải trình tự toàn bộ genome của 3 chủng PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 và xây dựng cây phả hệ

Kết quả giải trình tự toàn bộ genome của 3 chủng PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 đều có chiều dài là 15.320 nucleotid, không tính đuôi poly (A). Dựa trên kết quả trình tự toàn bộ genome và 9 khung đọc mở ORF của 3 chủng PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 thu được so sánh

với trình tự toàn bộ genome của 29 chủng đại diện đã được lựa chọn từ Genbank để lập cây

phả hệ, xác định sự tiến hóa của 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HD-13 thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Cây phả hệ 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HD-13 với 29 chủng tham chiếu

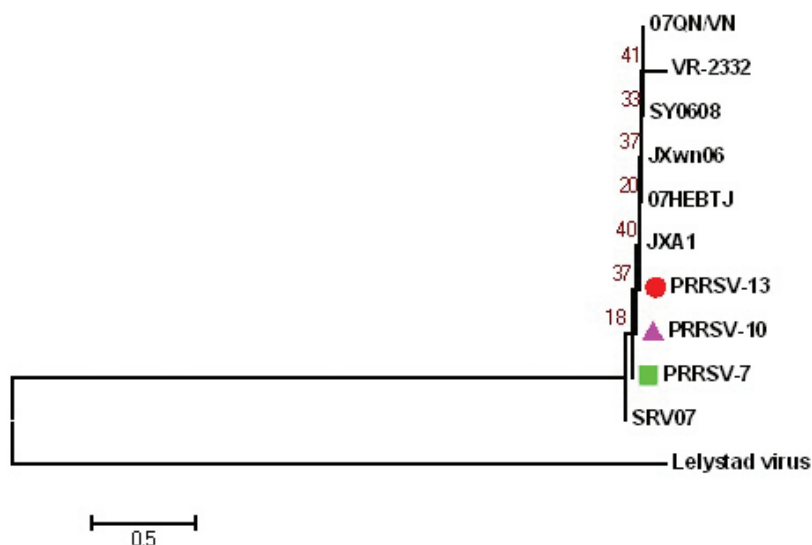
Ghi chú: 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HD-13 được ký hiệu trong cây phả hệ: PRRSV-7, PRRSV-10, PRRSV-13 và cây phả hệ được xây dựng bằng phần mềm MEGA 6 sử dụng phương pháp neighbor – joining tree với giá trị bootstrap là 1000.

Phân tích phả hệ cho thấy 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HD-13 đều nằm trong nhóm Typ II (Bắc Mỹ), cùng phân nhóm với các chủng virus độc lực cao của Trung Quốc, có quan hệ họ hàng với virus chủng gốc (Bắc Mỹ) VR-2332, tuy nhiên đã thấy có sự tiến hóa rõ về gen so với chủng gốc.

3.2. Xây dựng cây phả hệ và so sánh trình tự gen ORF5 3 chủng HT-7, QT-10, HD-13 với nhau và với 8 chủng virus PRRS tham chiếu

Đoạn gen ORF5 mã hóa glycoprotein cấu trúc nhỏ - GP5 được cho là đoạn có sự đa dạng về mặt di truyền và được sử dụng rộng rãi trong việc đánh giá sự đa dạng di truyền của virus PRRS, vì vậy chúng tôi tiến hành đánh

giá mối quan hệ di truyền của 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 với 4 chủng độc lực cao phân lập ở Trung Quốc (JXA1, JXwn06, SY068, 07HEBTJ), 2 chủng Việt Nam 07QN/VN và SRV07, 1 chủng tham chiếu gốc Bắc Mỹ (VR-2332) và 1 chủng tham chiếu châu Âu (Lelystad) được đăng tải trên Genbank dựa trên trình tự ORF5. Kết quả phân tích cây phả hệ (hình 2) cho thấy cả 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 đều thuộc cùng phân nhóm (quan hệ di truyền gần gũi) với cả 4 chủng phân lập ở Trung Quốc (JXA1, JXwn06, SY068, 07HEBTJ) và 2 chủng Việt Nam 07QN/VN và SRV07 cùng có quan hệ họ hàng với chủng tham chiếu gốc virus VR-2332 (Bắc Mỹ).



Hình 2. Cây phả hệ đoạn gen ORF5 của 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HD-13 với 8 chủng tham chiếu

Về kết quả so sánh chi tiết trình tự nucleotid gen ORF5 của 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 với nhau và với gen ORF5 ở 8 chủng virus PRRS tham chiếu (hình 3) cho thấy:

Gen ORF5 của 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 (603 nucleotid) có cùng độ dài với các chủng phân lập từ Trung Quốc và Bắc Mỹ, nhưng ít hơn 3 nucleotid, đúng bằng 1 bộ ba mã hóa thuộc dòng Châu Âu (606 nucleotid).

Gen ORF5 chủng HT-07 có sai khác nucleotid ở vị trí 109 (C $\leftrightarrow$ T) với 8 chủng typ II so sánh (QT-10, HD-13, JXA1, JXwn06, SY068, 07HEBTJ, 07QN/VN và VR-2332); Vị trí 519 (C $\leftrightarrow$ G) với 7 chủng typ II so sánh (ngoại trừ chủng QT-10 và SRV07); Vị trí 531 (A $\leftrightarrow$ G) với 7 chủng typ II so sánh (ngoại trừ chủng VR-2332 và SRV07).

Gen ORF5 chủng HD-13 có sự sai khác nucleotid với 8 chủng typ II ở các vị trí như 44 (T $\leftrightarrow$ C), 417 (C $\leftrightarrow$ T), 490 (G $\leftrightarrow$ A) và vị trí 587 (A $\leftrightarrow$ T); 456 (C $\leftrightarrow$ T).

Theo kết quả so sánh trình tự nucleotid gen ORF5 (hình 3) cho thấy nhìn chung cả 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 đều có mức độ đồng nhất nucleotid với các chủng của Trung Quốc (JXA1, JXwn06, SY068, 07HEBTJ) là rất cao (trên 99%). Mức độ đồng nhất nucleotid với chủng

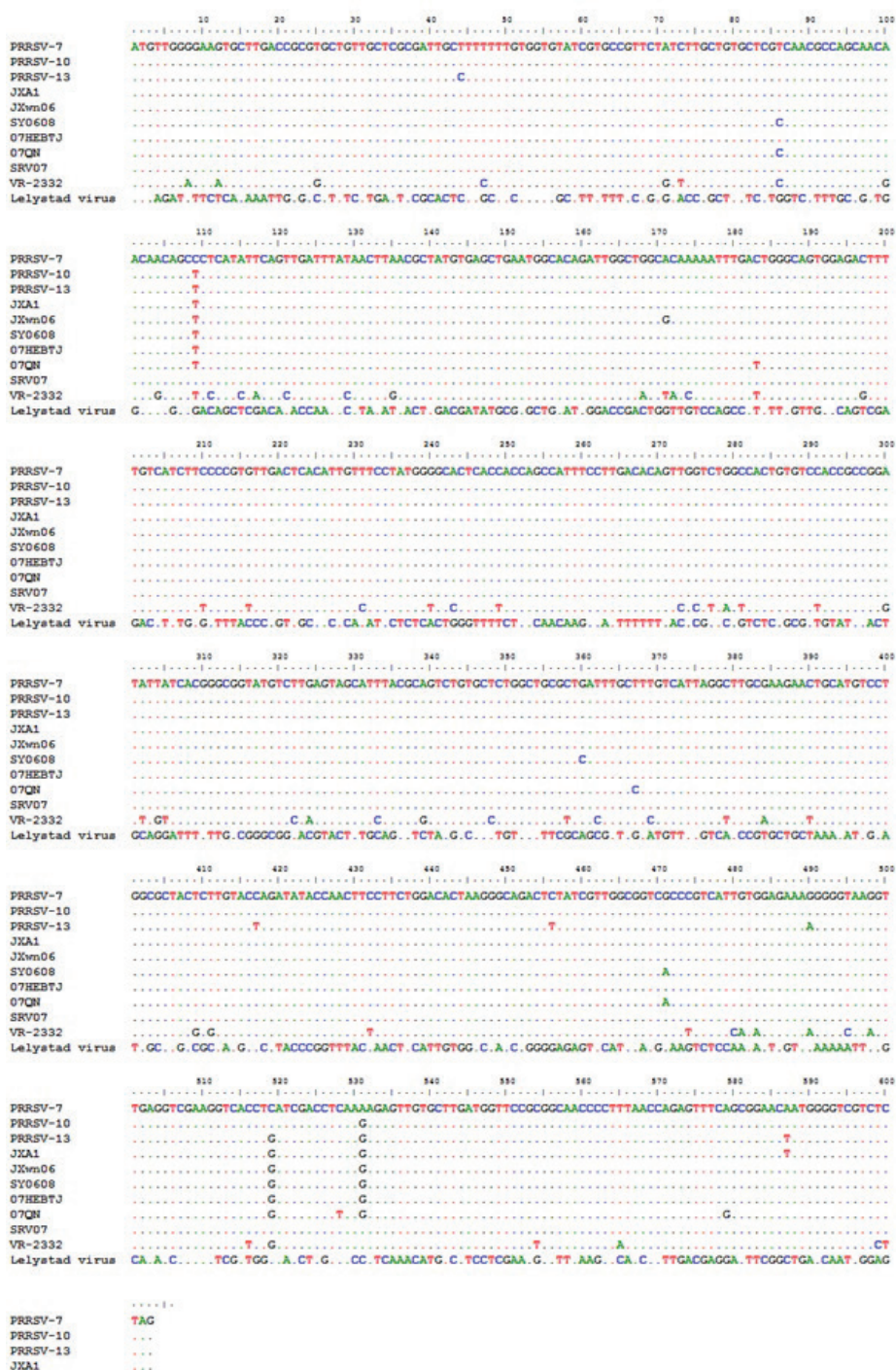
07QN/VN chỉ ở mức trên 98%, cụ thể có 6 vị trí khác biệt (86, 183, 367, 471, 528, 579). Mức độ đồng nhất nucleotid với chủng SRV07: HT-07 (100%); QT-10 (99,6%); HD-13 (98,6%). QT-10 sai khác với SRV07 ở các vị trí: 109 (T $\leftrightarrow$ C); 531 (G $\leftrightarrow$ A). HD-13 sai khác với SRV07 ở các vị trí: 109 (T $\leftrightarrow$ C); 519 (G $\leftrightarrow$ C); 531 (G $\leftrightarrow$ A).

So sánh với chủng VR-2332 cho thấy cả 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 và 4 chủng Trung Quốc (JXA1, JXwn06, SY068, 07HEBTJ) có 63 vị trí nucleotid khác biệt (hình 3). Như vậy, cùng với các chủng Trung Quốc so sánh, 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 (Việt Nam) có mức độ sai khác nucleotid rất cao so với chủng VR-2332 đại diện đặc trưng của dòng Bắc Mỹ, điều này phù hợp với tác giả Zhou và cs, (2008); Feng và cs, (2009). khi phân tích gen và độc lực gây bệnh PRRS xuất hiện 2006-2008 tại Trung Quốc và Việt Nam.

So sánh với chủng Lelystad, cho thấy cả 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 có trình tự nucleotid phần lớn là khác biệt (hình 3). Kết quả thu được một lần nữa khẳng định các chủng HT-07, QT-10, HD-13 thuộc typ II Bắc Mỹ.

3.3. So sánh trình tự amino acid của gen ORF5 3 chủng HT-7, QT-10 và HD-13 với nhau và với 8 chủng virus PRRS khác

Từ kết quả so sánh trình tự nucleotid, chúng

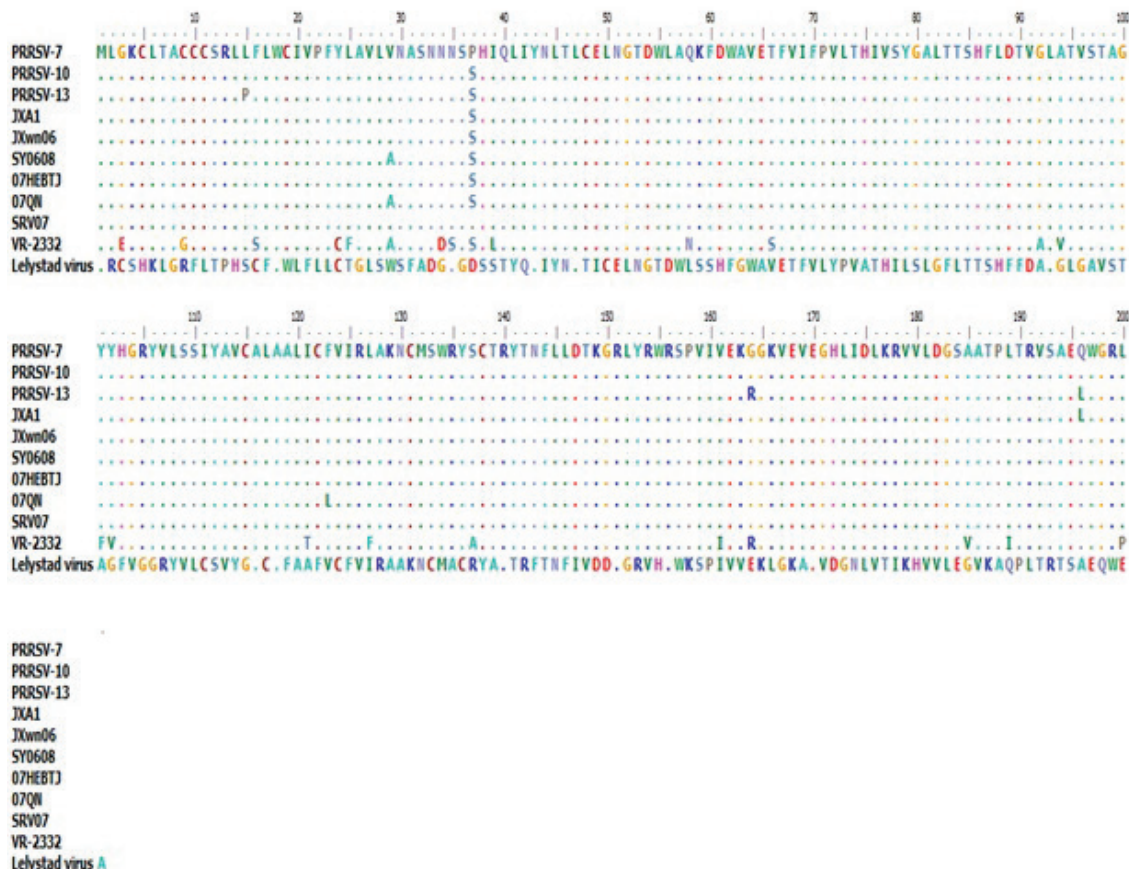


Hình 3. So sánh đối chiếu trình tự nucleotid gen ORF5 của 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 với 4 chủng Trung Quốc, 2 chủng Việt Nam (typ II, Bắc Mỹ) và 1 chủng Châu Âu (typ I)

Ghi chú: dấu (.) biểu thị giống với trình tự nucleotid tương ứng với chủng PRRSV-7 (HT-07), sự sai khác về nucleotid của các chủng tiếp theo được thể hiện bằng các chữ cái ký hiệu của chúng.

tôi tiến hành so sánh sự khác biệt về trình tự amino acid trong ORF5 tương ứng do đoạn này

quy định mã hóa. Kết quả so sánh trình tự amino acid được trình bày ở hình 4, cho thấy:



Hình 4. So sánh đối chiếu trình tự amino acid của gen ORF5 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 với 4 chủng Trung Quốc, 2 chủng Việt Nam (typ II, Bắc Mỹ) và 1 chủng Châu Âu (typ I)

Ghi chú: dấu (.) biểu thị giống với trình tự amino acid tương ứng với chủng PRRSV-7 (HT-07), sự sai khác về amino acid của các chủng tiếp theo được thể hiện bằng các chữ cái ký hiệu của chúng

Chuỗi polypeptid gen ORF5 của 3 chủng HT-07, QT-10, HD-13 và 7 chủng (4 chủng Trung Quốc, 2 chủng Việt Nam, 1 chủng VR-2332) đều có độ dài là 200 amino acid, nhưng kém 1 amino acid so với chủng phân lập từ châu Âu có 201 amino acid.

Chủng HT-07 có 1 sai khác amino acid duy nhất ở vị trí 37 (P↔S) với các chủng QT-10, HD-13, JXA1, JXwn06, SY0608, 07HEBTJ, 07QN/VN và chủng gốc VR-2332 (typ II) trừ chủng SRV07.

Chủng HT-13 có 3 amino acid sai khác ở vị trí 15 (L↔P) với 9 chủng typ II so sánh; Vị trí 164 (G↔R) sai khác với 8 chủng typ II so sánh

ngoại trừ chủng VR-2332 và vị trí 196 (Q↔L) sai khác với 8 chủng typ II so sánh, ngoại trừ chủng JXA1 (Trung Quốc).

Ba chủng PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 có sự khác biệt đến 22 vị trí amino acid so với chuỗi polypeptid ORF5 tương ứng của chủng gốc Bắc Mỹ (VR-2332) thể hiện trên kết quả so sánh đối chiếu trình tự amino acid gen ORF5 ở hình 4. Kết quả so sánh trình tự amino acid gen ORF5 của 3 chủng PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 với chủng Lelystad thấy có sự khác biệt rõ rệt, sai khác ở nhiều vị trí.

Theo kết quả thu được, về trình tự amino acid, chuỗi polypeptid gen ORF5 của 3 chủng

PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 Việt Nam có sự tương đồng cao với trình tự chuỗi tương ứng ở 4 chủng typ II độc lực cao phân lập từ Trung Quốc (JXA1, JXwn06, SY068, 07HEBTJ), ít hơn so với chuỗi tương ứng của chủng gốc VR-2332 (Bắc Mỹ) và khác biệt rõ rệt với chủng Lelystad (typ I) châu Âu. Kết quả này là phù hợp với kết quả phân tích so sánh về trình tự nucleotid của gen ORF5 đã phân tích ở trên.

3.4. Mức tương đồng nucleotid và amino acid giữa 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HD-13

với các chủng PRRS so sánh

Kết quả tính tỷ lệ tương đồng về gen ORF5 và amino acid tương ứng của 3 chủng PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 với nhau được trình bày ở bảng 2 cho thấy, 3 chủng PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 có tỷ lệ tương đồng cao về nucleotid (98,6-99,6%) và tương đồng về amino acid ở mức 98,0-100%.

So sánh tỷ lệ tương đồng về gen ORF5 và amino acid tương ứng của 3 chủng PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 với 4 chủng phân lập từ Trung

Bảng 2: Tỷ lệ tương đồng về amino acid (dưới đường chéo) và nucleotid của gen ORF5 (trên đường chéo) của 3 chủng HT-7, QT-10 và HD-13 với nhau và với các chủng virus PRRS khác

STT	Chủng virus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	PRRSV-7		99,6	98,6	99,3	99,3	99,0	99,5	98,5	100	89,2	61,4
2	PRRSV-10	100		99,0	99,6	99,6	99,3	99,8	98,8	99,6	89,2	61,4
3	PRRSV-13	98,0	98,5		99,3	99,0	98,6	99,1	98,1	98,6	88,8	61,0
4	JXA1	99,0	99,5	99,0		99,6	99,3	99,8	98,8	99,3	89,2	61,1
5	JXwn06	100	100	99,0	100		99,3	99,8	98,8	99,3	89,3	61,3
6	SY0608	99,0	99,5	98,0	99,0	100		99,5	99,1	99,0	89,2	61,6
7	07HEBTJ	100	100	99,0	100	100	100		99,0	99,5	89,3	61,3
8	07QN/VN	99,0	99,0	98,0	99,0	99,0	100	99,0		98,5	89,0	61,4
9	SRV07	100	99,5	98,0	99,0	99,5	99,5	99,5	98,5		89,2	61,4
10	VR-2332	88,0	88,5	88,0	88,0	89,0	89,0	89,0	89,0	88,0		62,1
11	Lelystad virus	56,0	56,5	55,6	56,0	56,5	56,5	56,5	56,0	56,0	54,6	

Ghi chú: 1. PRRSV-7 (HT-07); 2. PRRSV-10 (QT-10); 3. PRRSV-13 (HD-13); 4. JXA1; 5. JXwn06; 6. SY0608; 7. 07HEBTJ; 8. 07QN/VN; 9. SRV07; 10. VR-2332; 11. Lelystad virus

Quốc (JXA1, JXwn06, SY068, 07HEBTJ) typ II năm 2006-2007 cho thấy: Chủng PRRSV QT-10 có tỷ lệ tương đồng cao nhất về nucleotid (99,3-99,8%), amino acid (99,5-100%), tiếp đến là chủng HT-07 về nucleotid (99,0-99,5%), amino acid (99,0-100%). Chủng HD-13 có tỷ lệ tương đồng về nucleotid và amino acid là thấp hơn hai chủng QT-10 và HT-07 với 4 chủng Trung Quốc so sánh, tỷ lệ tương đồng nucleotid (98,6-99,3%), amino acid (98,0-99,0%). Kết quả này là hoàn toàn phù hợp với kết quả so sánh đối chiếu trình tự nucleotid và amino acid ở trên.

Với chủng VR 2332 cổ điển (Bắc Mỹ), tỷ lệ tương đồng về gen ORF5 tương ứng của 3 chủng PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 chỉ đạt 88,8-89,2% và amino acid 88,0-88,5%. Kết quả so sánh với chủng cổ điển châu Âu Lelystad có tỷ lệ tương đồng rất thấp, chỉ có 61,0- 62,1% (đối với nucleotid) và 54,6-56,5% (đối với amino acid) (bảng 2).

Như vậy với các kết quả thu được, có thể thấy 3 chủng PRRSV HT-07, QT-10, HD-13 phân lập vào các năm khác nhau 2007, 2010 và 2013 cùng các chủng của Trung Quốc (JXA1,

JXwn06, SY068, 07HEBTJ) phân lập các năm 2006, 2007 có tỷ lệ tương đồng cao về gen ORF5 và amino acid tương ứng và đều thuộc typ II Bắc Mỹ, tuy nhiên đã có sự tiến hóa xa hơn rất nhiều so với chủng gốc cổ điển VR-2332.

IV. KẾT LUẬN

Toàn bộ genome của 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HD-13 đã được giải trình tự đều có chiều dài bằng nhau là 15320 nucleotid và thuộc phân nhóm Typ II (Bắc Mỹ). Trình tự nucleotid và amino acid của 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HD-13 với nhau có tỷ lệ tương đồng rất cao về nucleotid (98,7-99,7%), amino acid (98-99,5%).

Kết quả so sánh với 4 chủng Trung Quốc (JXA1, JXwn06, SY068, 07HEBTJ) độc lực cao phân lập 2006-2007 cùng phân nhóm cho thấy chủng QT-10 có tỷ lệ tương đồng cao nhất về nucleotid (99,3-99,8%), amino acid (99,5-100%) tiếp đến chủng HT-07 tương đồng nucleotid và amino acid đồng mức (99-99,5%), chủng HD-13 có tỷ lệ tương đồng thấp nhất trong 3 chủng về nucleotid (98,7-99,3%), amino acid (98-99%).

So sánh với chủng gốc Bắc Mỹ VR-2332 có tỷ lệ tương đồng thấp hơn về nucleotid (88,9-89,2%), amino acid (88-88,5%), kết quả này chứng minh 3 chủng virus PRRS HT-07, QT-10, HD-13 đã có sự tiến hóa nhiều so với chủng gốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Báo cáo tổng kết nhiệm vụ "Bảo tồn, lưu giữ nguồn gen vi sinh vật thú y" năm 2014 của Viện Thú y.
2. Đỗ Hữu Dũng (2015). "Nghiên cứu dịch tễ học hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRS) tại Việt Nam, giai đoạn 2007-2013" Tóm tắt luận án tiến sỹ.
3. Nguyễn Bá Hiên, Trần Xuân Hạnh, Phạm Quang Thái, Hoàng Văn Năm. Công nghệ chế tạo và sử dụng vacxin thú y ở Việt Nam, NXBNN, Hà Nội, 2011.
4. Appedices IV and V of the Report of the OIE

AD HOC group on porcine reproductive and respiratory syndrome. Paris, 9-11, June 2008.

5. Gonin P., Pirzadeh B., Gagnon C.A., Dea S. (1999). Seroneutralization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus correlates with antibody response to the GP5 major envelope glycoprotein. *J Vet Diagn Invest* 11(1): 20-6.
6. Jenny G. Cho, Scott A. Dee (2007). Virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*. 5. 74-80.
7. Youjun Feng, Tiezhu Zhao, Nguyễn Tùng, Ken Inui, Ying Ma, Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn Văn Cẩm, Di Liu, Bùi Quang Anh, Tô Long Thành, Chuabin Wang, Kegong Tian và George F. Gao (2009). Các biến chủng virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp tại Việt Nam và Trung Quốc năm 2007. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*. 1. 5-9.
8. Wei Han, Jia-Jun Wu, Xiao-Yu Deng, Zhen Cao, Xiu-ling Yu, Chuan-Bin Wang, Tie-Zhu Zhao, Nan-Hua Chen, Hong-Hui Hu, Wang Bin, Li-Li Hou, Li-Lin Wang, Ke-Gong Tian, Zhong-Qiu Zhang (2009). Molecular mutations associated with the in vitro passage of virulent porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Gens*. 38: 276-284
9. Zhang M, Xie J, Sun L, Cao Z, Gu H, Deng S, Chen Y, Cao Z, Tang F, Su S, Zhang G, 2013. Phylogenetic analysis and molecular characteristics of 17 porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolation in Southern China from 2010 to 2011. *Microb Pathog*; 65-72.
10. Zhou Y.J., X.F. Hao, Z.J. Tian, G.Z. Tong, D. Yoo, T.Q. An, T. Zhou, G.X. Li, H.J. Qiu, T.C. Wei and X.F. Yuan (2008). Highly virulent porcine reproductive and respiratory syndrome virus emerged in China. *Trans-bound Emerg Dis.*, 55 (3-4) p.152-64

Nhận ngày 17-9-2015

Phản biện ngày 10-11-2015