

SO SÁNH TƯƠNG ĐỒNG GEN GIỮA CÁC CHỦNG PRRSV ĐỘC LỰC CAO THU THẬP THỰC ĐỊA VỚI CÁC CHỦNG VACXIN THƯƠNG MẠI

Đỗ Tiến Duy, Nguyễn Tất Toàn

Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường ĐHNLP. HCM

TÓM TẮT

Ba đoạn gen NSP2, ORF5 và ORF7 của 36 chủng HP-PRRSV thu thập tại các ổ dịch thực địa trong các năm 2009 - 2014 từ nhiều tỉnh thành đã được giải trình tự và phân tích tương đồng gen so với các chủng vacxin thương mại có mặt trên thị trường. Ở gen ORF5, các chủng thực địa có mức tương đồng nucleotid/amino acid (%) lần lượt: 86,8-99,7/84,0-99,5; 89,0-93,8/83,2-96,9; 84,1-98,8/88,1-92,1; 83,7-98,8/83,8-97,4; 83,3-98,5/81,4-96,9; 42,6-46,2/46,8-51,1 và 42,3-45,5/42,3-47,7 tương ứng so với chủng vacxin JXA1-R, P129 Foster, ATCC VR-2332 Ingelvac, Resp PRRS Ingelvac, BCL-PS 100, Amervac PRRS và Porcilis PRRS. Ở gen ORF7, các chủng thực địa có sự tương đồng nucleotid (%) lần lượt 91,1-99,7/94,7-99,1; 90,3-95,6/94,7-99,9; 90,6-99,7/94,7-99,9; 90,6-99,7/94,7-99,9; 41,9-46,0/52,8-55,8 và 42,3-46,1/52,8-56,9 so với chủng vacxin JXA1-R, P129 Foster, ATCC VR-2332 Ingelvac, Resp PRRS Ingelvac, Amervac PRRS và Porcilis PRRS. Sự đa dạng cao của các chủng thực địa dựa trên phân tích ORF5 và ORF7 dẫn đến mức tương đồng biến động lớn so với các chủng vacxin, nên việc xác định chủng nhiễm trên đàn heo hay vùng chăn nuôi có giá trị cho việc chọn vacxin phù hợp và hiệu quả tốt hơn.

Từ khóa: HP-PRRSV thực địa, NSP2, ORF5, ORF7, Tương đồng gen, Vacxin

Comparison of genomic homology among the highly virulent field HP-PRRSV strains isolated from 2009 to 2014 and the PRRSV strains of commercial vaccines

Do Tien Duy, Nguyen Tat Toan

SUMMARY

Three genetic fragments including NSP2, ORF5 and ORF7 of 36 field HP-PRRSV strains isolated during 2009-2014 from several provinces were sequenced and analyzed on genetic similarity in comparison with the commercial vaccine strains. At ORF5, field HP-PRRSV strains having the nucleotide/amino acid similarity level in comparison with those of the vaccine strains: JXA1-R, P129 Foster, ATCC VR-2332 Ingelvac, Resp Ingelvac PRRS, BCL-PS 100, Amervac PRRS and Porcilis PRRS decreased gradually: 86.8-99.7/84.0-99.5, 89.0-93.8/83.2-96.9, 84.1-98.8/88.1-92.1, 83.7-98.8/83.8-97.4, 83.3-98.5/81.4-96.9, 42.6-46.2/46.8-51.1 and 42.3-45.5/42.3-47.7 respectively. At ORF7, field HP-PRRSV strains having the nucleotide homology level in comparison with those of the vaccine strains: JXA1-R, P129 Foster, ATCC VR-2332 Ingelvac, Resp Ingelvac PRRS, Amervac PRRS and Porcilis PRRS decreased gradually: 91.1-99.7/94.7-99.1, 90.3-95.6/94.7-99.9, 90.6-99.7/94.7-99.9, 90.6-99.7/94.7-99.9, 41.9-46.0/52.8-55.8 and 42.3-46.1/52.8-56.9 respectively. The highly genetic diversity among the field isolates basing on ORF5 and ORF7 analysis led on large variation of homology in comparison with the current commercial vaccine strains.

Keywords: Field HP- PRRSV, NSP2, /ORF5, /ORF7, Genetic similarity, Vaccine

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus gây rối loạn sinh sản và hô hấp ở heo (PRRSV) là một virus RNA, sợi đơn và có vỏ bọc; thuộc giống *Arterivirus*, họ *Arteriviridae*.

PRRSV được phân chia thành hai kiểu gen, typ 1 (kiểu gen châu Âu) và typ 2 (kiểu gen Bắc Mỹ) (Snijder và Meulenberg, 1998; Allende và ctv., 1999). Gen của PRRSV được cấu thành từ 10 khung đọc mở với trọng lượng phân tử vào

khoảng 15 kb. Thứ tự sắp xếp gen lần lượt từ 5'-UTR, đoạn gen mã hóa protein không cấu trúc "non-structural proteins (ORF1a và ORF1b), đoạn gen mã hóa proteins cấu trúc (ORF2 đến ORF7) và 3'UTR gắn liền poly(A) (Snijder và Meulenberg, 1998). NSP2 và ORF5 là 2 vùng gen thường được sử dụng để đánh giá sự tiến hóa và mối liên hệ dịch tễ học phân tử của PRRSV do chúng có sự biến dị cao; trong khi ORF7 có sự biến dị thấp (Murtaugh và ctv., 1995; Fang và ctv., 2004). ORF5 là đoạn gen mã hóa protein vô quan trọng trong cơ chế gây bệnh cũng như khả năng kích thích sinh miễn dịch của PRRSV (Lopez và Osorio, 2004).

Năm 2006, dịch bệnh cấp tính gây rối loạn sinh sản và hô hấp xảy ra tại tỉnh Jiangxi, Trung Quốc với đặc trưng khác biệt so với trước đây và được đặt tên là "hội chứng sốt cao trên heo", ảnh hưởng trên 2.000.000 heo với ~ 400.000 heo bị chết. Nguyên nhân gây bệnh được xác định là PRRSV, tuy nhiên virus có đặc trưng kiểu gen đột biến mất đoạn không liên tục (30 amino acid) ở đoạn gen NSP2 so với chủng virus cổ điển và hiện tại được đặt tên là chủng virus PRRS độc lực cao (HP-PRRSV) (Tian và ctv., 2007). Ở Việt Nam, HP-PRRSV đã lây lan sang Việt Nam vào đầu năm 2007 và gây tỷ lệ chết cao trên heo (24%) (Feng và ctv., 2008). Các đợt dịch xảy ra vào các năm 2008, 2010 và 2012 đã gây chết hàng triệu heo trên cả nước (Cục Thú y, 2013/2014).

HP-PRRSV phân lập ở Việt Nam có đặc trưng kiểu gen tương tự như các chủng xuất phát từ Trung Quốc (Nguyen và ctv., 2013). Mặc dù phân tích đặc trưng gen giúp ích rất nhiều trong việc xây dựng phương án kiểm soát dịch bệnh bằng vaccin, tuy nhiên chưa có nghiên cứu hoàn chỉnh về so sánh tương đồng giữa các chủng HP-PRRSV thực địa với các chủng virus vaccin thương mại. Trong nghiên cứu này, ba đoạn gen NSP2, ORF5 và ORF7 của 36 chủng HP-PRRSV thu thập tại các ổ dịch thực địa trong giai đoạn 2009–2014 được giải trình tự và phân tích tương đồng gen so với các chủng vaccin thương mại có mặt trên thị trường.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Mẫu và xử lý mẫu

36 mẫu chủng virus HP-PRRSV được thu thập từ heo con cai sữa mắc bệnh ở 36 ổ dịch PRRS khác nhau. Heo bệnh trong khảo sát có nguồn gốc từ các trại xảy ra dịch bệnh ở nhiều tỉnh/thành vào các năm khác nhau (bảng 1b, biểu đồ 1); heo bệnh có các biểu hiện sốt cao, tím tái, rối loạn hô hấp, tiêu chảy, tỷ lệ chết cao. Mô phổi và hạch phổi được thu thập để tiến hành xét nghiệm nguyên nhân gây dịch bệnh bằng kỹ thuật chẩn đoán mô bệnh học và RT-PCR (Bệnh viện Thú y, Trường đại học Nông Lâm Tp/HCM).

Mẫu mô được nghiền nhỏ với nước PBS-1x (huyền dịch mô 10%) trong các cối sứ vô trùng, thực hiện lần lượt ở vị trí dễ dàng sát trùng sau mỗi lượt thao tác, đảm bảo tránh sự nhiễm chéo giữa các mẫu. Thực hiện ly tâm huyền dịch mô ở 3000 vòng/phút trong 5 phút để thu hoạch dịch mô phía trên dùng cho chiết tách RNA tổng số. RNA tổng số được chiết tách theo hướng dẫn của bộ kit Total RNA Isolation (Promega, Madison, Mỹ). RNA chiết tách được tổng hợp ngay sang dạng cDNA (bền trong bảo quản -20°C) bằng một hỗn hợp phản ứng Master mix TOPscript™ Reverse Transcriptase (TOPscript™ cDNA Synthesis kit, Enzynomics, Korea) trong điều kiện nhiệt phản ứng 50°C (trong 1 giờ).

2.2 Primer (mồi) và PCR nhân bản sản phẩm gen

Ba cặp mồi đặc hiệu cho nhân bản 3 đoạn gen NSP2, ORF5 và ORF7 của HP-PRRSV được thiết kế (Primer3: <http://primer3.ut.ee/>) dựa theo sánh dòng (alignment) các chủng tham khảo VR-2332 (PRU87392), JXA1 (EF112445) và 07QN (FJ394029) từ ngân hàng gen NCBI. Trình tự primer thiết kế cho nhân bản phân đoạn gen NSP2 với kích thước sản phẩm 667 base pair (bp): NSP2-F 5'-AAAGACCAGATG-GAGGAGGA-3' và NSP2-R 5'-GAGCTGAG-TATTTTGGGCGTG-3'. Tương tự, trình tự primer thiết kế cho nhân bản đoạn gen ORF5 và ORF7 hoàn chỉnh lần lượt với kích thước 826 bp

và 697 bp: ORF5-F 5'-GGCAATGTGTCAG-GCATC-3', ORF5-R 5'-CTGGAGCCGT-GCTATCAT-3'; và ORF7-F 5'-ACTCAGC-CATA G A A C C T G G A - 3 ' và ORF 7 - R 5'-CATGGTTCTCGCCAATTA-3'.

Phản ứng PCR được thực hiện với tổng phản ứng là 20 µl, bao gồm: 10 µl Master mix 2X TOPsimple™ PreMIX (aliquot)-Forte (Enzymomics, Daejeon, Korea), 1 µl mỗi ngược và xuôi (10 mM), 2 µl khuôn cDNA và 7 µl nước DEPC. Phản ứng PCR được thực hiện theo chu trình luân nhiệt như sau: 95°C trong 5 phút (kích hoạt enzym và tiền biến tính); và 40 chu kỳ ở 94°C trong 30 giây, bắt cặp ở 58°C trong 60 giây (hoặc 55°C cho primer NSP2), kéo dài ở 72°C trong 60 giây; và giai đoạn kéo dài sản phẩm sau cùng ở 72°C trong 7 phút.

2.3 Giải trình tự và phân tích tương đồng gen

Sản phẩm PCR đặc hiệu cho NSP2, ORF5

hay ORF7 được nhận diện trên gel điện di (agarose) khi so với thang chuẩn (ladder 100bp). Sau đó chúng được cắt chính xác và làm tinh sạch theo hướng dẫn từ bộ kit thương mại (Wizard® PCR Preps DNA Purification and PCR Clean-Up System, Promega, US) trước khi gửi đi giải trình tự ở phòng thí nghiệm sinh học phân tử (Sol Gent Co. Ltd., Daejeon, Korea).

Kết quả giải trình tự của 36 chủng virus được phân tích tương đồng gen với 7 chủng tham chiếu và 7 chủng vaccin thương mại (bảng 1a) tham khảo từ ngân hàng gen. Các phần mềm sử dụng để thực hiện tánh dòng, như ClustalW, Bioedit. Cây sinh dòng xây dựng theo neighbor-joining (maximum composite likelihood model) và phần mềm Mega 6; với giá trị bootstrap 1000.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Đặc trưng gen của 36 chủng PRRSV

Bảng 1a. Chủng PRRSV và chủng vaccin tham khảo sử dụng trong nghiên cứu

Tên chủng/mã số	Quốc gia/năm phân lập	Kiểu gen	Đoạn gen
Lelystad/M96262	Netherlands/1991	EU	Gen hoàn chỉnh
Lena/ JF802085	Belarus/2007	#	#
			#
VR2332/PRU87392	USA/1992	US	Gen hoàn chỉnh
CH-1a/ AY03262	China/1999	#	#
JXA1/EF112445	China/2006	HP	Gen hoàn chỉnh
MB6/KM244761	Vietnam/2009	#	ORF5
MN1/KM244763	Vietnam/2013	#	ORF5
MB6/KM244762	Vietnam/2009	#	ORF7
MN1/KM244764	Vietnam/2013	#	ORF7
Porcilis PRRS/AY743931,Q324710	Vaccin	EU	ORF5, ORF7
Amervac PRRS/GU067771	#	EU	Gen hoàn chỉnh
BCL-PS 100/GU187014	#	US	ORF5
RespPRRS Ingelvac/AF066183	#	US	Gen hoàn chỉnh
ATCC VR-2332 Ingelvac/U87392	#	US	Gen hoàn chỉnh
P129 Foster/AF494042	#	US	Gen hoàn chỉnh
JXA1-R/JQ804986	#	HP	Gen hoàn chỉnh

EU: kiểu gen châu Âu; US, kiểu gen Bắc Mỹ, và HP: kiểu gen độc lực cao

Bảng 1b. Các chủng HP-PRRSV thu thập thực địa trong nghiên cứu

Vùng địa lý	Tỉnh	Tên chủng_năm thu thập
Bắc Bộ	Bắc Ninh	D5/BN1/VN_2010
	Hà Tây	D6/HT1/VN_2009, D11/HT2/VN_2013
	Hưng Yên	D12/HY1/VN_2013
Nam Trung Bộ	Bình Định	D20/BD1/VN_2014
	Bình Thuận	D21/BT1/VN_2014, D27/BT2/VN_2014, D28/BT3/VN_2014, D41/BT4/VN_2014
Đông Nam Bộ	Tp. HCM	D1/HCM1/VN_2013, D16/HCM2/VN_2014, D33/HCM3/VN_2014
	Đồng Nai	D2/DN1/VN_2013, D7/DN2/VN_2010, D8/DN3/VN_2014, D14/DN12/VN_2014, D19/DN4/VN_2012, D29/DN5/VN_2014, D42/DN6/VN_2014, D43/DN7/VN_2014, D44/DN8/VN_2014, D49/DN9/VN_2014, D51/DN10/VN_2014, D54/DN11/VN_2014,
	Bình Dương	D10/BD1/VN_2013, D13/BD2/VN_2014, D15/BD3/VN_2014, D24/BD4/VN_2014, D30/BD5/VN_2014, D31/BD6/VN_2014, D50/BD7/VN_2014
	Bà Rịa – Vũng tàu	D3/BRVT1/VN_2013
Tây Nam Bộ	Bến Tre	D23/BTr1/VN_2014
	Sóc Trăng	D18/ST0/VN_2014, D22/ST1/VN_2014, D32/ST2/VN_2014
	An Giang	D9/AG1/VN_2013, D9/AG2/VN_2013

36 chủng virus PRRS thu thập trong nghiên cứu có đặc trưng gen tương tự với chủng virus độc lực cao (HP-PRRSV), qua phân giải trình tự NSP2 (hình 1). Kết quả sánh dòng gen NSP2 cho thấy, 36 chủng thu thập thực địa có sự đột biến mất 90 nucleotid (30 amino acid), tương tự chủng JXA1 (prototyp) ở Trung Quốc và chủng 07QN (prototyp) ở Việt Nam.

Sự tương đồng nucleotid (amino acid) giữa các chủng thu thập thực địa với nhau biến động từ 85,2 (8,0) % đến 100 (100) % ở gen ORF5; và 90,0 (83,0) % đến 100 (100) % ở gen ORF7.

Ở cây sinh dòng ORF5, 32/36 chủng thực địa được phân vào cùng nhánh với chủng HP-PRRSV tham chiếu (JXA1, Trung Quốc), trong

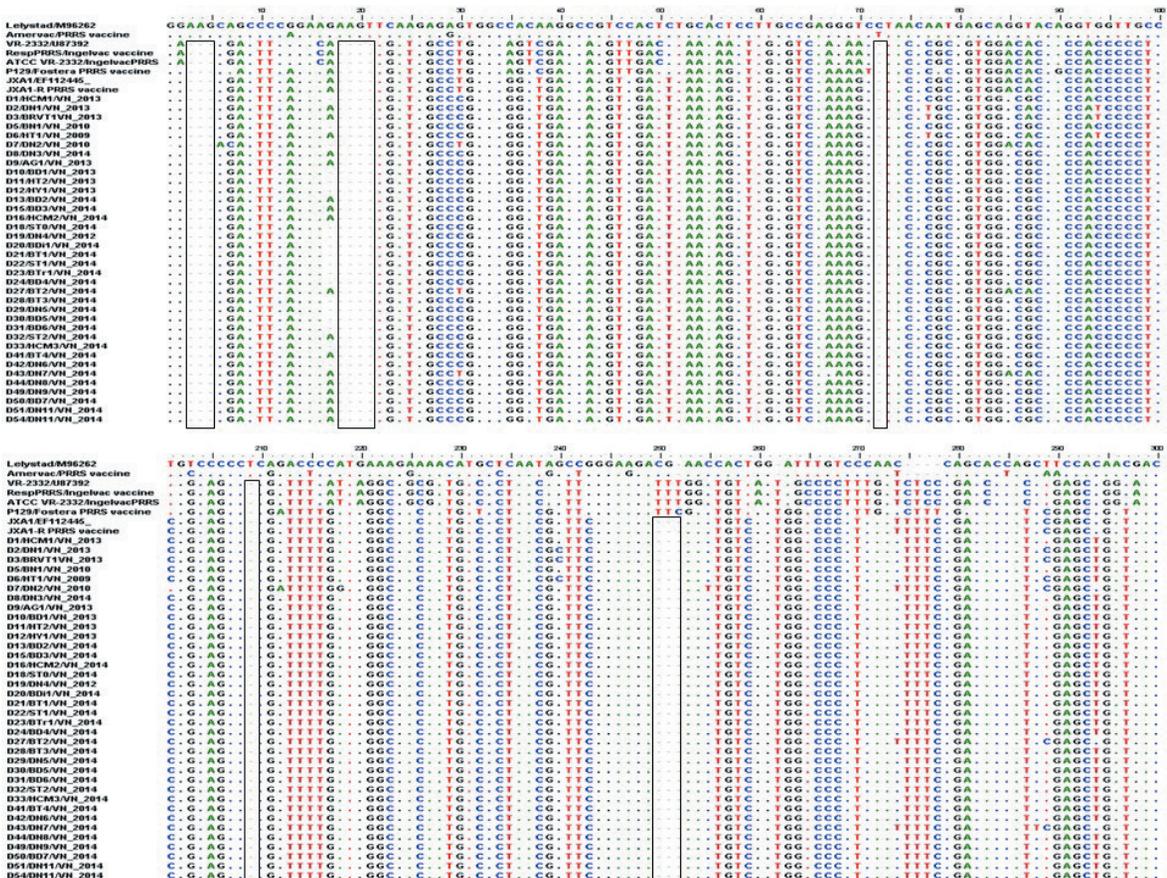
khi 4/36 chủng thực địa nằm ở phân nhánh cùng với chủng tham chiếu kiểu gen Bắc Mỹ (VR-2332). Sự khác biệt gen giữa các chủng thực địa nằm giữa hai phân nhánh trên rất lớn. Ngoài ra, 32 chủng thực địa nằm trong phân nhánh HP-PRRSV cũng được phân chia ra làm 4 phân nhánh nhỏ trên cây sinh dòng với khoảng cách khác biệt gen xa nhau (kết quả không trình bày). Tương tự ở cây sinh dòng ORF7, 30/36 chủng thực địa được phân vào cùng nhánh với chủng HP-PRRSV tham chiếu (JXA1, Trung Quốc), trong khi 6/36 chủng thực địa nằm ở phân nhánh cùng với chủng tham chiếu kiểu gen Bắc Mỹ (VR-2332). 30 chủng thực địa nằm trong phân nhánh HP-PRRSV cũng được phân chia ra làm



Biểu đồ 1. Vị trí trại heo tại các tỉnh/thành được thu thập mẫu trong nghiên cứu

2 phân nhánh nhỏ trên cây sinh dòng với khoảng cách khác biệt gen thấp hơn so với ORF5 (kết quả không trình bày).

Sự đa dạng kiểu gen ORF5 và ORF7 trong các chủng HP-PRRSV thu thập trong nghiên cứu hình thành rất nhanh sau khi chủng virus đầu tiên (07QN) vào Việt Nam năm 2007 (Metwally và ctv., 2010). HP-PRRSV ở Trung Quốc được phân biệt dựa vào sự đột biến mất đoạn không liên tục 30 amino acid được mã hóa ở gen NSP2 (An và ctv., 2007; Tian và ctv., 2007), và sự đột biến mất đoạn lớn hơn đến 68 amino acid ở chủng phân lập gần đây (Li et al., 2009). Mặc dù có đặc tính NSP2 giống nhau, nhưng 36 chủng HP-PRRSV trong nghiên cứu này lại có sự khác biệt lớn ở gen ORF5 và ORF7, qua phân tích cây sinh dòng (hình 2). Sự khác biệt, sự biến dị giữa các đoạn gen khác nhau giữa các chủng virus khác nhau đưa đến gánh nặng trong việc phòng chống bệnh khi vaccin PRRS hiện nay được xem như không có bảo hộ chéo (Murtaugh và Genzow, 2011) hay bảo hộ chéo rất thấp. Theo hình ảnh sánh dòng ở phân đoạn gen NSP2, các chủng vaccin châu Âu rất khác biệt so với chủng vaccin Bắc Mỹ và các chủng HP-PRRSV thu thập thực địa (hình 1).





Hình 1. Các vùng đột biến mất đoạn (được kẻ khung) trên gen NSP2: so sánh giữa các chủng virus vaccin (châu Âu, Bắc Mỹ và HP-PRRSV Trung Quốc) với 36 chủng HP-PRRSV thu thập thực địa trong nghiên cứu.

Chủng P129 Fostera (vaccin mới) cũng có sự đột biến mất đoạn (cùng vị trí so với chủng HP-PRRSV nhưng đứt đoạn ngắn hơn) so với chủng cổ điển VR-2332 và các chủng vaccin Bắc Mỹ.

3.2 Mức tương đồng gen so với các chủng vaccin

Ở gen ORF5, các chủng thực địa có sự tương đồng nucleotid (%) lần lượt là 86.8-99.7, 89.0-93.8, 84.1-98.8, 83.7-98.8, 83.3-98.5, 42.6-46.2 và 42.3-45.5 tương ứng so với chủng vaccin JXA1-R, P129 Fostera, ATCC VR-2332 Ingelvac, Resp PRRS Ingelvac, BCL-PS 100, Amervac PRRS và Porcilis PRRS. Tương tự, sự tương đồng amino acid (%) lần lượt là 84.0-99.5, 88.1-92.1, 83.2-96.9, 83.8-97.4, 81.4-96.9, 46.8-51.1

và 42.3-47.7 so với chủng vaccin JXA1-R, P129 Fostera, ATCC VR-2332 Ingelvac, Resp PRRS Ingelvac, BCL-PS 100, Amervac PRRS và Porcilis PRRS, tương ứng (bảng 2).

Ở gen ORF7, các chủng thực địa có sự tương đồng nucleotid (%) lần lượt là 91.1-99.7, 90.3-95.6, 90.6-99.7, 90.6-99.7, 41.9-46.0 và 42.3-46.1 tương ứng so với chủng vaccin JXA1-R, P129 Fostera, ATCC VR-2332 Ingelvac, Resp PRRS Ingelvac, Amervac PRRS và Porcilis PRRS. Tuy nhiên, sự tương đồng amino acid (%) lần lượt là 94.7-99.1, 94.7-99.9, 96.6, 94.7-99.9, 52.8-55.8 và 52.8-56.9 so với chủng vaccin JXA1-R, ATCC VR-2332 Ingelvac, Resp PRRS Ingelvac, P129 Fostera, Amervac PRRS và Porcilis PRRS, tương ứng (bảng 2).

Bảng 2. Sự tương đồng (%) nucleotid và amino acid (ORF5 và ORF7) giữa 36 chủng HP-PRRSV thu thập thực địa trong nghiên cứu so với các chủng virus vaccin (châu Âu, Bắc Mỹ và HP-PRRSV Trung Quốc)

Sự khác biệt [%]	Các loại vaccin PRRS						
	Kiểu gen châu Âu		Kiểu gen Bắc Mỹ				Kiểu gen HP-PRRSV
	Amervac PRRS	Porcilis PRRS	Resp PRRS Ingelvac	ATCC VR-2332 Ingelvac	BCL-PS 100 Bestar	P129 Foster	JXA1-R
ORF5 -nucleotid	42,6-46,2	(42,3-45,5)	(83,7-98,80)	(84,1-98,8)	(83,3-98,5)	(89,0-93,8)	(86,8-99,7)
-amino acid	46,8-51,1	(42,3-47,7)	(83,8-97,4)	(83,2-96,9)	(81,4-96,9)	(88,1-92,1)	(84,0-99,5)
ORF7 -nucleotid	(41,9-46,0)	(42,3-46,1)	(90,6-99,7)	90,6-99,7)	-	(90,3-95,6)	(91,1-99,7)
-amino acid	(52,8-55,8)	(52,8-56,9)	(94,7-99,9)	(94,7-99,9)	-	(94,7-97,4)	(94,7-99,1)

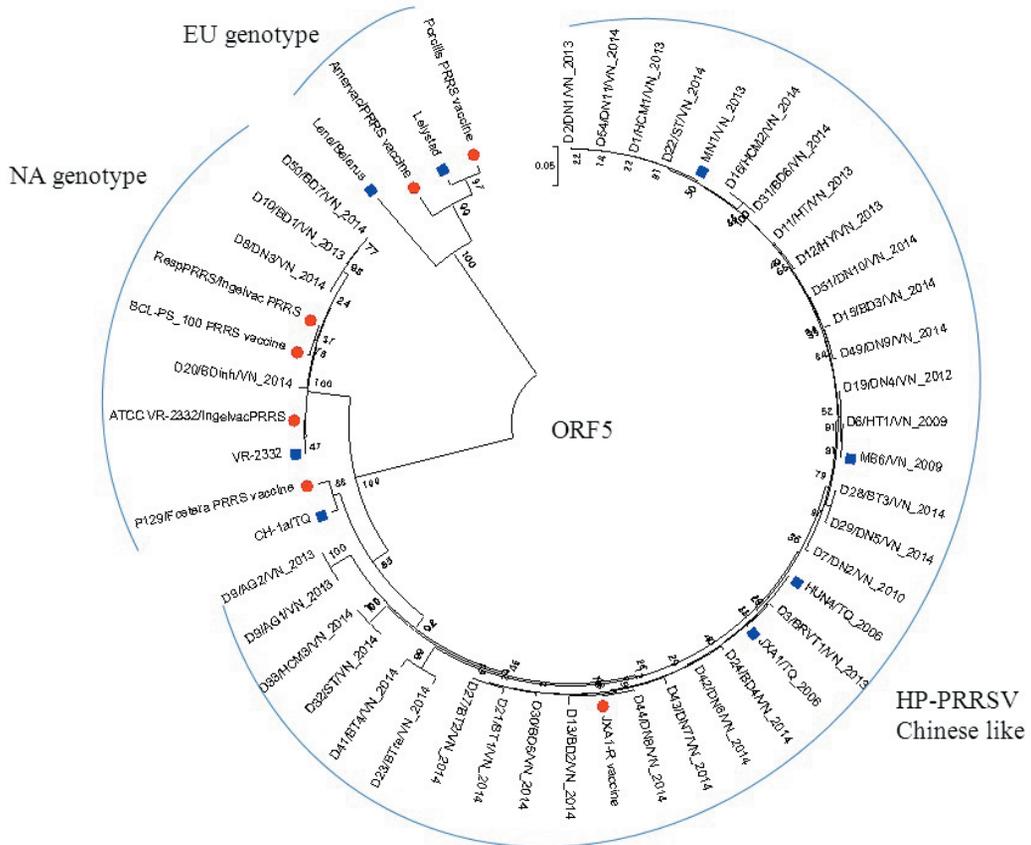
(-) phạm vi biến động tương đồng

Cây sinh dòng ORF5 (hình 2) biểu diễn mối liên hệ phân tử giữa các chủng tham chiếu, chủng vaccin thương mại và các chủng PRRSV thu thập thực địa trong nghiên cứu. 32/36 chủng virus thực địa nằm trong phân nhánh của chủng PRRSV độc lực cao Trung Quốc (JXA1/2006) và chủng HP-PRRSV vaccin (JXA1-R); trong khi 4/36 chủng thực địa nằm trong phân nhánh với chủng cổ điển Bắc Mỹ (VR-2332) và các chủng vaccin như RespPRRS Ingelvac, ATCC VR-2332 Ingelvac và BCL-PS 100. Chủng vaccin P129 Foster là chủng phân nhánh trung gian giữa chủng PRRSV cổ điển và chủng HP-PRRSV. Sự tương đồng (%) giữa chủng thực địa và các chủng vaccin trình bày ở bảng 2. Không có chủng thực địa trong nghiên cứu nằm trong phân nhánh kiểu gen châu Âu (Lelystad và Lena/Belarus).

Ở cây sinh dòng ORF7 (hình 2), 30/36 chủng virus thực địa nằm trong phân nhánh của chủng

PRRSV độc lực cao Trung Quốc (JXA1/2006) và chủng HP-PRRSV vaccin (JXA1-R); trong khi 6/36 chủng thực địa nằm trong phân nhánh với chủng cổ điển Bắc Mỹ (VR-2332) và các chủng vaccin như RespPRRS Ingelvac và ATCC VR-2332 Ingelvac. Tương tự ORF5, chủng vaccin P129 Foster là chủng phân nhánh trung gian giữa chủng PRRSV cổ điển và chủng HP-PRRSV; trong khi không có chủng thực địa trong nghiên cứu nằm trong phân nhánh kiểu gen châu Âu (Lelystad và Lena/Belarus).

Sự khác biệt gen giữa các chủng PRRSV kiểu gen châu Âu và kiểu gen Bắc Mỹ là rất lớn (>50%). Các chủng PRRSV mang kiểu gen châu Âu cũng có sự đa dạng lớn với sự khác biệt lên đến 18,2% ở gen ORF5 và 12% ở gen ORF7 (Shi và ctv., 2010); trong khi các chủng mang kiểu gen Bắc Mỹ được phân làm 5 nhóm chính, trong đó sự khác biệt giữa các nhóm khoảng 10% trong phân tích liên hệ gen PRRSV



Hình 2. Hình ảnh cây sinh dòng (ORF5 và ORF7) giữa 36 chủng HP-PRRSV thu thập thực địa trong nghiên cứu cùng với các chủng virus vaccin (châu Âu ~EU, Bắc Mỹ ~NA và HP-PRRSV Trung Quốc) (■: chủng tham chiếu; ●: chủng vaccin).

toàn cầu của Shi và ctv. (2010). HP-PRRSV là chủng mới nổi có nguồn gốc từ chủng Bắc Mỹ nhưng sự khác biệt lớn do sự đột biến mất đoạn 30 amino acid được mã hóa ở gen NPS2 (An và ctv., 2007; Tian và ctv., 2007), và cũng phân tách thành một nhánh riêng trên cây sinh dòng ORF5 (Nilubol và ctv., 2012; Nguyen và ctv., 2013). Sự đột biến mất một vài nucleotid ở gen NSP2 cũng được báo cáo trên các chủng PRRSV gây bệnh ở Mỹ năm 2001 (Han và ctv., 2006). Tuy nhiên, sự đột biến mất đoạn được loại trừ là nguyên nhân làm tăng độc lực lên cao của PRRSV trong các ổ dịch “sốt cao trên heo” ở Trung Quốc năm 2006 (Zhou và ctv., 2009).

Các chủng HP-PRRSV thực địa trong nghiên cứu có sự đa dạng rất cao trên cây sinh dòng

ORF5 khi phân chia làm 2 phân nhánh lớn; trong đó ở phân nhánh HP-PRRSV, 32/36 chủng tiếp tục phân chia thành ít nhất 4 phân nhánh nhỏ với sự khác biệt 3,2-6,7% so với chủng JXA1 (JXA1-R). Sự khác biệt giữa các phân nhánh nhỏ này của các chủng thực địa rất lớn (8,2%); trong khi chúng khác biệt với các chủng ở phân nhánh VR-2332 cổ điển đến 16,7% (kết quả không trình bày).

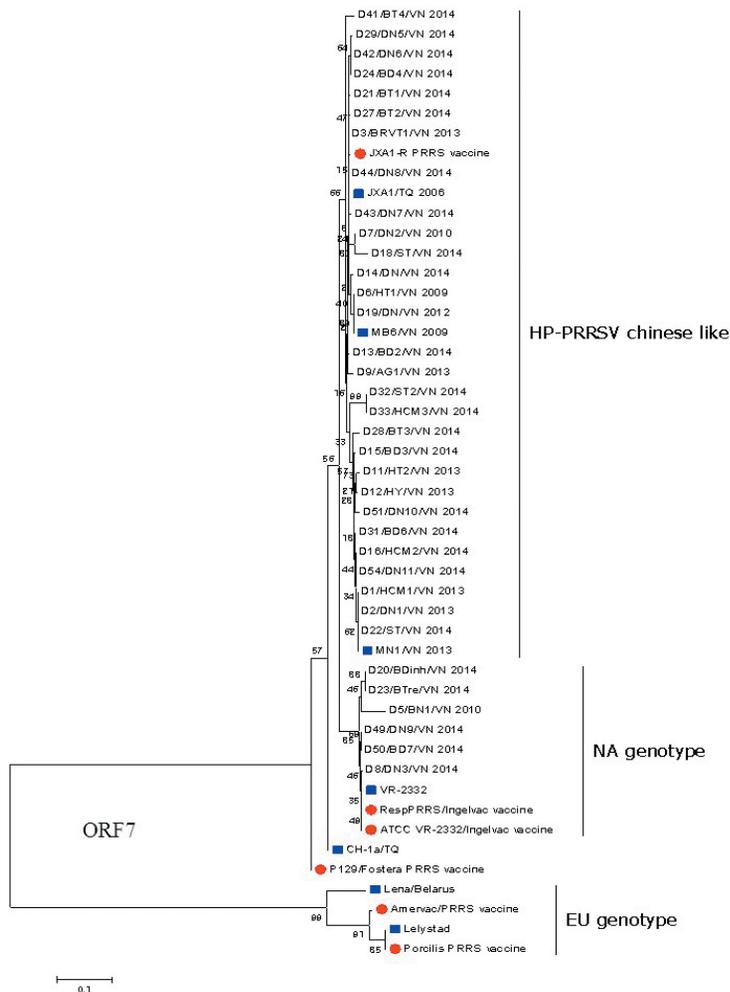
ORF5 được đánh giá và nghiên cứu nhiều với vai trò chính mang epitope kích thích sinh kháng thể trung hòa (Lopez và Osorio, 2004), tuy nhiên sự đáp ứng miễn dịch trung hòa này rất yếu và chậm hoặc không có ở một số cá thể heo (Yoon và ctv., 1994; Chand và ctv., 2012); nguyên nhân có thể do sự hiện diện

“decoy epitope” ở GP5 (mã hóa từ ORF5) có khả năng đánh lừa đáp ứng miễn dịch nên trì hoãn sản sinh kháng thể trung hòa trên vật chủ (Ostrowski và ctv., 2002).

Hiệu quả vaccin phụ thuộc nhiều vào sự tương đồng gen giữa các chủng PRRSV lưu hành thực địa với chủng virus vaccin sử dụng (Murtaugh et al., 2002; Chareerntanakul và ctv., 2012) kể cả ở vaccin nhược độc hay bất hoạt. PRRS vaccin chưa bảo vệ hoàn toàn sự nhiễm trùng với chủng tương đồng (trích dẫn bởi Chareerntanakul và ctv., 2012) hay chủng không tương đồng (Leng và ctv., 2012; Park và ctv., 2014), mà chỉ làm giảm thiểu các triệu chứng lâm sàng, bệnh lý qua gây nhiễm thực nghiệm trên heo được tiêm phòng; cũng có nghiên cứu

cho thấy không có sự bảo hộ chéo (Murtaugh và Genzow, 2011). Hiệu quả chống lại sự nhiễm trùng HP-PRRSV từ chủng tương đồng nhược độc được đánh giá ở một số nghiên cứu gần đây (Tian và ctv., 2009; Wang và ctv., 2011; Lu và ctv., 2014) mang đến hứa hẹn trong việc kiểm soát HP-PRRSV.

Vaccin nhược độc tương đồng cao với chủng gây nhiễm có tác dụng bảo vệ hữu hiệu thú tiêm phòng (Tian và ctv., 2009; Wang và ctv., 2011; Lu và ctv., 2014), tuy nhiên một số nguy cơ cũng mang đến từ vaccin sống nhược độc cần được thảo luận khi sử dụng như sự bài thải virus vaccin, sự tái tổ hợp giữa chủng thực địa với chủng vaccin (Li et al., 2009), hay sự trở lại cường độc của chủng vaccin.



Hình 2 (tiếp tục)

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Thực tế đa dạng cao ở hai phân đoạn gen ORF5 và ORF7 của các chủng thực địa HP-PRRSV dẫn đến có sự tương đồng rất biến động giữa chúng so với các chủng virus vaccin thương mại.

Sự biến động kiểu gen của HP-PRRSV và khác biệt lớn so với chủng virus vaccin gây khó khăn khi lựa chọn vaccin phòng bệnh. Xác định chủng nhiễm trên đàn heo hay vùng chăn nuôi có giá trị cho việc chọn vaccin phù hợp và hiệu quả tốt hơn. Phát triển chủng virus vaccin nhược độc từ phân lập thực địa hay vaccin đa giá gồm nhiều chủng mang nhiều hứa hẹn trong chiến lược phòng chống bệnh do PRRSV.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Allende, R., Lewis, T.L., Lu, Z., Rock, D.L., Kutish, G.F., Ali, A., Doster, A.R., Osorio, F.A., 1999. North American and European porcine reproductive and respiratory syndrome viruses differ in non-structural protein coding regions. *Journal of General Virology* 80, 307-315.
- An, T.Q., Zhou, Y.J., Liu, G.Q., Tian, Z.J., Li, J., Qiu, H.J., Tong, G.Z., 2007. Genetic diversity and phylogenetic analysis of glycoprotein 5 of PRRSV isolates in mainland China from 1996 to 2006: coexistence of two NA-subgenotypes with great diversity. *Veterinary Microbiology* 123, 43-52.
- Chand, R.J., Tribble, B.R., Rowland, R.R., 2012. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Current Opinion in Virology* 2, 256-263.
- Charerntantanakul, W., 2012. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine: Immunogenicity, efficacy and safety aspects. *World Journal of Virology* 1, 23-30.
- Fang, Y., Kim D.Y., Roop S., Steen P., Christopher-Hennings J., Nelson. E.A., Rowland. R.R., 2004. Heterogeneity in Nsp2 of European-like porcine reproductive and respiratory syndrome viruses isolated in the United States. *Virus Research* 100, 229-235.
- Feng, Y., Zhao, T., Nguyen, T., Inui, K., Ma, Y., Nguyen, T.H., Nguyen, V.C., Liu, D., Bui, Q.A., To, L.T., Wang, C., Tian, K., Gao, G.F., 2008. Porcine reproductive and reproductive syndrome virus variants, Viet Nam and China, 2007. *Emerging Infectious Diseases* 14, 1774-1776.
- Han, J., Wang, Y., Faaberg, K.S., 2006. Complete genome analysis of RFLP 184 isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Research* 122, 175-182.
- Leng, X., Li, Z., Xia, M., He, Y., Wu, H., 2012. Evaluation of the efficacy of an attenuated live vaccine against highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus in young pigs. *Clinical and Vaccine Immunology* 19, 1199-1206.
- Li, B., Fang, L., Xu, Z., Liu, S., Gao, J., Jiang, Y., Chen, H., Xiao, S., 2009. Recombination vaccine and circulating strains of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *Emerging Infectious Diseases* 15(12), 2032-2035.
- Lopez, O.J., Osorio, F.A., 2004. Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 102, 155-163.
- Lu, W., Sun, B., Mo, J., Zeng, X., Zhang, G., Wang, L., Zhou, Q., Zhu, L., Li, Z., Xie, Q., Bi, Y., Ma, J., 2014. Attenuation and immunogenicity of a live high pathogenic PRRSV vaccine candidate with a 32-amino acid deletion in the nsp2 protein. *Journal of Immunology Research* 2014, 1-11.
- Metwally, S., Mohamed, F., Faaberg, K., Burrage, T., Prarat, M., Moran, K., Bracht, A., Mayr, G., Berninger, M., Koster, L., To, T.L., Nguyen, V.L., Carrillo, C., 2010. Pathogenicity and molecular characteriza-