

MỘT SỐ ĐẶC TÍNH SINH HỌC VÀ TÍNH SINH MIỄN DỊCH CỦA CHỦNG VIRUS PORCINE EPIDEMIC DIARRHEA PHÂN LẬP TẠI MIỀN BẮC VIỆT NAM

*Nguyễn Thị Bích, Trần Văn Khánh,
Nguyễn Thanh Ba, Hoàng Bùi Tiến, Nguyễn Đức Lưu
Công ty CP Dược và vật tư Thú y (HANVET)*

TÓM TẮT

Bài báo này được trình bày dựa trên số liệu nghiên cứu bốn chủng virus porcine epidemic diarrhea (PEDV) đã được phân lập tại miền Bắc Việt Nam, nhằm tuyển chọn chủng virus dùng trong nghiên cứu, sản xuất vaccin phòng bệnh tiêu chảy cấp (PED). Các chủng PEDV thực địa đã được giám định genogroup bằng kỹ thuật multiplex RT-PCR. Kết quả nghiên cứu cho thấy các chủng virus thực địa thuộc genogroups 2, trong khi virus vaccin nhược độc (chủng SM98) từ vaccin nhập khẩu hiện đang lưu hành ở Việt Nam lại thuộc genogroup 1. Khi nhuộm miễn dịch tế bào vero nhiễm PEDV thực địa đã quan sát thấy, các tế bào vero đơn lẻ nhiễm virus chiếm đa số, thể hợp bào hình thành nhỏ, hiệu giá virus cao nhất đạt $10^{6.1}$ TCID₅₀. Nghiên cứu tính sinh miễn dịch giữa các chủng virus đã được thực hiện bằng phản ứng trung hòa virus, kết quả cho thấy chủng PEDV 0118 thực địa có khả năng kháng chéo 100% với 3 chủng thực địa còn lại trong nghiên cứu.

Từ khóa: Phân lập, virus gây bệnh tiêu chảy cấp (PEDV), lợn, bệnh tiêu chảy.

Some biological and immunological characteristics of porcine epidemic diarrhea virus strains isolated in the Northern Viet Nam

*Nguyen Thi Bich, Tran Van Khanh,
Nguyen Thanh Ba, Hoang Bui Tien, Nguyen Duc Luu*

SUMMARY

This article is presented basing on the database of four porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) strains which were studied, isolated in the Northern Viet Nam with the aim of selecting a PEDV strain for studying and producing vaccines against PEDV. Four field PEDV strains were identified for their genogroup by multiplex RT-PCR technique. The studied results showed that these field strains belonged to genogroups 2, while the attenuated vaccine strain from the imported vaccine that currently using in Viet Nam belonged to genogroup 1. The replication of these field PEDV strains in the vero cells were observed by immunostaining, the virus strains were infected into single cells to be majority and syncytial was small, virus titre reaching $10^{6.1}$ TCID₅₀ was the highest. Immunogenicity studies between virus strains were performed by viral neutralization. As a result, PEDV 0118 field strain was 100% cross-resistant with three field strains left.

Keywords: Isolation, PEDV, pig, diarrhea

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) thuộc họ *Coronaviridae* là nguyên nhân gây ra bệnh tiêu chảy cấp ở lợn (PED), triệu chứng là phân vàng lỏng như nước, nôn nhiều, dịch nôn chứa sữa không tiêu ở lợn con theo mẹ. Mô khám có bệnh tích điển hình là thành ruột mỏng, trong suốt nhìn rõ sữa không tiêu trong lòng ruột (Debouck và Pensaert, 1980; Stevenson và cs., 2013). Dịch

tiêu chảy do PEDV xảy ra rộng khắp ở châu Âu trong những năm 1970 đến 1980. Từ năm 2010, có những phát hiện về PEDV tại thực địa đã biến đổi so với các chủng virus vaccin đang lưu hành (Sun và cs., 2012; Stevenson và cs., 2013; Park và Song, 2016). Đặc biệt năm 2013, một vụ dịch lớn xảy ra ở Mỹ, sau đó các phân tích di truyền cho thấy hầu hết virus phân lập ở châu Á và châu Mỹ thuộc nhóm genogroup 2 (G2) (Wang và cs., 2014). Virus nằm ở

nhánh khác hoàn toàn với chủng virus vaccin đang lưu hành (Lee, 2015). Hiện nay, một số quốc gia đã thành công trong nghiên cứu vaccin PEDV vô hoạt từ chủng thực địa thuộc nhóm G2 (Collin và cs., 2015; Song và cs., 2012).

Ở Việt Nam, bệnh PED được phát hiện lần đầu tiên năm 2008 (Toan và cs., 2011). Chủng virus thực địa tại Việt Nam thuộc 2 nhóm di truyền của PEDV là genogroup 1 (G1) và genogroup 2 (G2), trong đó PEDV thuộc nhóm G2 chiếm ưu thế (Van T. Than và cs., 2020; Nguyễn Văn Giáp và cs., 2020). Trong khi hiện nay, vaccin thương mại nhập khẩu vào Việt Nam chủ yếu là vaccin vô hoạt hoặc vaccin nhược độc sản xuất trên các chủng thuộc G1 như chủng CV777, DR13, SM98. Bởi vậy, dù vaccin PED được dùng đầy đủ trên lợn ở các cơ sở chăn nuôi, nhưng dịch tiêu chảy do PEDV vẫn xảy ra mà không có tín hiệu bảo vệ bởi vaccin.

Trước tình trạng dịch bệnh PED nổ ra liên tục trong các năm gần đây và thực trạng lưu hành vaccin ở nước ta thì ngoài vấn đề nghiên cứu về dịch tễ phân tử như các tác giả trước đã đề cập (Hoa và cs., 2018; Van T. Than và cs., 2020; Nguyễn Văn Giáp và cs., 2020), bài viết này sẽ đề cập tới đặc tính sinh miễn dịch của chủng PEDV thực địa, từ đó có cơ sở để nghiên cứu chọn chủng PEDV trong nghiên cứu sản xuất vaccin.

II. VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nguyên liệu dùng trong thí nghiệm gây nhiễm PEDV và phản ứng trung hòa virus được thực hiện trên tế bào Vero (ATCC - CCL-81), môi trường duy trì DMEM (Gibco, 31600083), tryptose phosphate broth (TBP-Merck), yeast extract (YE-Merck), trypsin 1: 250 (Gibco).

Vật liệu dùng để nhuộm miễn dịch trên tế bào 1 lớp: kháng thể 1 (anti- PEDV monoclonal antibody - Median Diagnostics Inc); kháng thể 2 (HRP - conjugated goat anti- mouse IgG - US Biological); N,N-Dimethylformamide (Sigma); cơ chất AEC-3-amino-9-ethylcarbazole (Sigma).

Động vật dùng chế tạo kháng huyết thanh đơn chủng là thỏ có huyết thanh âm tính với kháng thể kháng PEDV.

Chủng virus dùng trong nghiên cứu là 4 chủng PEDV do công ty HANVET phân lập từ thực địa ở Việt Nam từ năm 2016 đến năm 2018, có ký hiệu là PED 0116, PED 0117, PED 0317, PED 0118 và 1 chủng virus nhược độc SM98 từ vaccin nhập khẩu đang lưu hành tại Việt Nam, ký hiệu PEDV Vx.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Giám định genogroup của PEDV

Để phân biệt PEDV genogroup 1 (G1) và genogroup 2 (G2), nghiên cứu đã dùng phản ứng multiplex RT-PCR. Cặp mỗi sử dụng được chọn theo công bố trước đây (Zhao và cs., 2014) với trình tự được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Trình tự mỗi đặc hiệu genogroup PEDV

| Tên mỗi | Trình tự nucleotide 5'- 3' |
|---------------|----------------------------|
| PED.Zhao.840F | AACACTTAGCCTACCACAAGATG |
| PED.Zhao.840R | TGGCCTAGTCCATAAATCTTAGG |
| PED.F-Probe-V | TGGTACTGTGCTGGCCAACATCCA |
| PED.F-Probe-C | AGCTGGTACTGTGGCACAGGCATTG |

Cách đọc kết quả phản ứng multiplex RT-PCR như sau: cặp mỗi PED.Zhao.840F/PED.Zhao.840R chung cho G1 và G2, nên tất cả các mẫu dương tính PEDV thì đều có băng sản phẩm có kích thước 817bp. Nếu PEDV thuộc

G1 sẽ có thêm băng sản phẩm 685 bp (PED.F-Probe-C/ PED.Zhao.840R). Nếu PEDV thuộc chủng G2 thì sẽ xuất hiện băng sản phẩm có kích thước 669 bp (PED.F-Probe-V/ PED.Zhao.840R) (bảng 2).

Bảng 2. Cách kết hợp mỗi xác định genogroup PEDV

| Mục đích | Kết hợp mỗi | Kích thước sản phẩm (bp) |
|-----------------------|------------------------------|--------------------------|
| Đặc hiệu chung PEDV | PED.Zhao.840F/ PED.Zhao.840R | 817 |
| Đặc hiệu genogroup G1 | PED.F-Probe-C/ PED.Zhao.840R | 685 |
| Đặc hiệu genogroup G2 | PED.F-Probe-V/ PED.Zhao.840R | 669 |

2.2.2. Xác định hiệu giá virus và khả năng gây nhiễm PEDV trên tế bào Vero

Hiệu giá virus được xác định bằng chỉ số TCID₅₀ (Median Tissue Culture Infectious Dose - liều nhiễm 50% số giếng tế bào) theo phương pháp Spearman-Kärber, với sự hỗ trợ của kỹ thuật hóa miễn dịch tế bào để xác định sự nhân lên của virus trong tế bào. Cố định thăm tế bào bằng dung dịch PBS chứa 10% formalin và 1% NP40, sau khi rửa đĩa thêm kháng thể đặc hiệu PEDV (anti-PEDV monoclonal antibody - Median Diagnostics Inc). Rửa đĩa phản ứng, thêm kháng thể cộng hợp (HRP - conjugated goat anti-mouse IgG (US Biological), bước cuối thêm 100µl cơ chất AEC. Quan sát qua kính hiển vi soi ngược, tế bào nhiễm virus đặc hiệu có màu nâu đỏ trong nguyên sinh chất.

2.2.3. Đánh giá tính miễn dịch đơn chủng PEDV

Miễn dịch mỗi kháng nguyên PEDV trên thỏ. Huyết thanh thỏ thu được kháng thể mỗi chủng là nguyên liệu thực hiện phản ứng trung hòa virus.

Cách tạo kháng huyết thanh miễn dịch đơn chủng:

Kháng nguyên dùng miễn dịch cho thỏ là nguyên dịch mỗi chủng virus được cô đặc có hiệu giá 10^{6.0}TCID₅₀/ml trước khi vô hoạt bằng BEI. Virus sau khi vô hoạt được nhũ hóa bởi chất bổ trợ nước trong dầu trong nước 50% (nước:dầu:nước, v/v/v), (ISA 201). Mỗi chủng PEDV được miễn dịch trên 5 thỏ bằng cách tiêm dưới da như sau: Mũi 1: tiêm 1 ml/thỏ; sau 14 ngày miễn dịch lần 2 với liều 1,5 ml/con; miễn dịch mũi 3 sau mũi 2 với liều 2 ml/con. Thu huyết thanh thỏ sau 21 ngày miễn dịch mũi 3, vô

hoạt bổ thể trong huyết thanh 56°C/30 phút. Bảo quản huyết thanh -20°C.

2.2.4. Xác định kháng thể trung hòa

Phương pháp trung hòa virus được thiết lập với sự kế thừa từ các tài liệu đã mô tả trước đây (Paudel và cs., 2014; Collin và cs., 2015; Bich và cs., 2020). Phương pháp được tóm tắt như sau: Huyết thanh pha loãng theo cơ số 2, mỗi độ pha loãng được trộn với virus (hiệu giá 100 TCID₅₀/100µl) theo tỷ lệ 1:1 (v/v). Ủ hỗn dịch huyết thanh/virus ở 37°C/5% CO₂ trong 1 giờ 30 phút. Chuyển 100 µl hỗn dịch huyết thanh/virus vào tế bào Vero 1 lớp. Sau thời gian hấp phụ 1 giờ 30 phút, thêm 100 µl DMEM duy trì có TPB (0,3%), YE (0,02%) và trypsin (5 µg/ml). Đọc kết quả trung hòa bằng cách cố định thăm tế bào bằng dung dịch PBS chứa 10% formalin và 1% NP40, sau khi rửa đĩa thêm kháng thể đặc hiệu PEDV (anti-PEDV monoclonal antibody - Median Diagnostics Inc.). Rửa đĩa phản ứng, thêm kháng thể cộng hợp (HRP-conjugated goat anti-mouse IgG (US Biological), bước cuối thêm 100µl cơ chất AEC. Tế bào nhiễm virus đặc hiệu được quan sát qua kính hiển vi soi ngược. Đọc kết quả trung hòa theo mô tả trước đây (Paudel và cs., 2014), giếng phản ứng được coi là dương tính khi quan sát số cụm tế bào nhiễm virus giảm ít nhất 90% so với số cụm tế bào nhiễm virus của giếng đối chứng âm. Đồng thời chuẩn độ ngược liều virus trung hòa, liều trung hòa đạt 30-300 TCID₅₀/100µl thì phản ứng trung hòa có giá trị xem xét. Hiệu giá kháng thể trung hòa là số nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất mà ở độ pha loãng đó huyết thanh dương tính (Collin và cs., 2015; Chen và cs., 2016).

2.2.5. Xem xét tính miễn dịch đồng chủng và dị chủng

Mỗi nhóm huyết thanh thử kháng mỗi chủng virus được tiến hành xác định hiệu giá kháng

thể trung hòa với virus đồng chủng và với virus dị chủng, kết quả tính tỉ số (ratio) như sau:

$$r1 = \frac{\text{Hiệu giá kháng thể trung hòa của huyết thanh kháng PEDV dị chủng}}{\text{Hiệu giá kháng thể trung hòa của huyết thanh kháng PEDV đồng chủng}}$$

Giá trị r1 càng tiến tới 1 thì khả năng tương đồng càng lớn. So sánh các giá trị r1 của mỗi chủng virus, từ đó biết khả năng miễn dịch đồng chủng và kháng chéo chủng của mỗi chủng PEDV nghiên cứu.

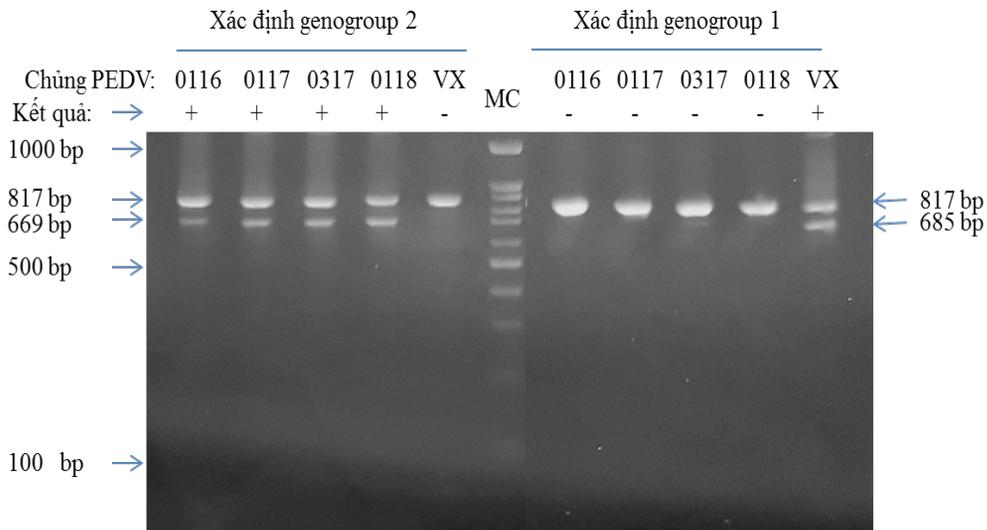
Các thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm trực thuộc Trung tâm nghiên cứu sinh phẩm, Công ty TNHH Dược HANVET.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Một số đặc điểm của các chủng PEDV thực địa

3.1.1. Xác định genogroup của PEDV

Các chủng PEDV được phân biệt sự khác nhau về genogroup bằng phản ứng multiplex RT-PCR, sử dụng cặp mồi đặc hiệu genogroup (Zhao và cs., 2014) cho kết quả như sau:



Hình 1. Điện di sản phẩm RT-PCR xác định genogroup các chủng PEDV

MC: thang chuẩn DNA 100bp (hãng Cleaverscientific). Sản phẩm điện di xuất hiện 2 vạch 817bp và 669bp thì dương tính genogroup 2 (ký hiệu +); xuất hiện 2 vạch 817bp và 685 bp thì dương tính genogroup 1; xuất hiện 1 vạch 817bp thì âm tính genogroup 1/âm tính genogroups 2.

Kết quả phản ứng multiplex RT-PCR (hình 1) cho thấy, 4 mẫu virus phân lập từ thực địa đều có 2 vạch 817bp và 669bp thuộc G2. Mẫu PEDV- SM98 từ vacxin được giám định thuộc G1-có 2 vạch 817bp và 685bp. Kết quả này phù hợp kết quả nghiên cứu gần đây của Than và cs.

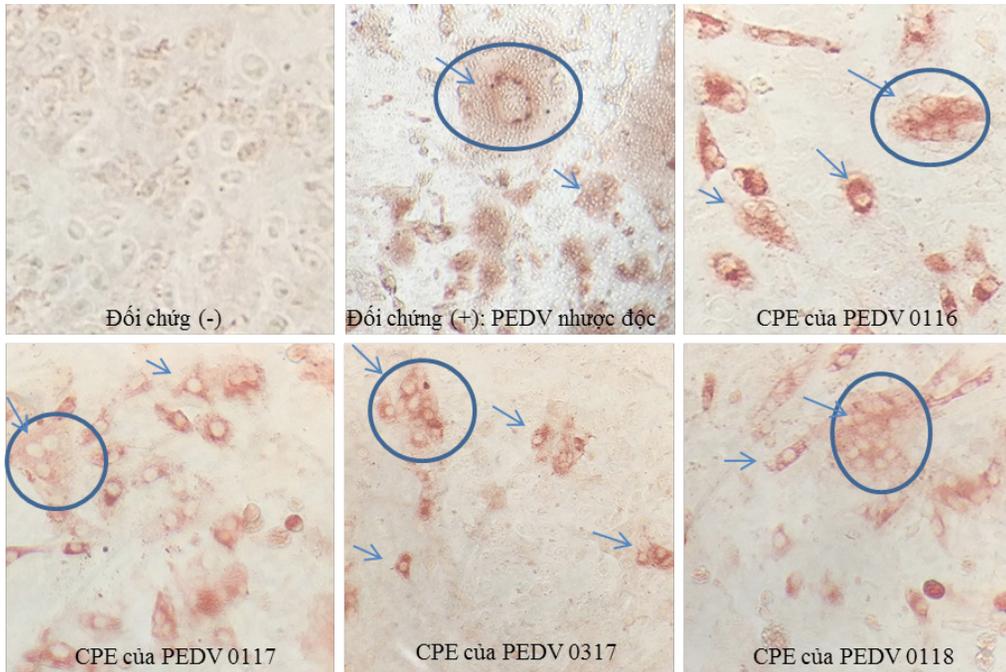
(2020), Nguyễn Văn Giáp và cs. (2020) về sinh học phân tử của PEDV, phát hiện bệnh phẩm PEDV từ năm 2015 đến năm 2020 ở Việt Nam có 2 nhóm di truyền của PEDV ở miền Bắc và Bắc Trung bộ là nhóm G1 và G2, trong đó nhóm mới nổi G2 chiếm ưu thế.

Việc xác định genogroup PEDV có ý nghĩa trong dự đoán khả năng bảo hộ của vaccin ở thực địa. Các dòng vaccin nhược độc như CV777, DR13 và SM98 đều thuộc nhóm G1 (Yang và cs., 2018). Như vậy, việc xác định các chủng PEDV phân lập trong nghiên cứu này thuộc nhóm G2 là tiền đề quan trọng cho việc nghiên cứu sâu hơn để lựa chọn chủng PEDV dùng để sản xuất

vaccin tại Việt Nam.

3.1.2. Đặc điểm gây nhiễm của PEDV thực địa trên tế bào Vero

Virus PED thực địa đời P4 được nhiễm trên tế bào Vero, nhuộm hóa miễn dịch trên tế bào một lớp thấy rõ sự khác biệt so với chủng nhược độc SM98.



Hình 2. Đặc điểm gây nhiễm của các chủng PEDV trong tế bào Vero

Bệnh tích tế bào (CPE) được biểu hiện qua phản ứng nhuộm hóa miễn dịch, đối chứng dương (+) là PEDV nhược độc SM98 từ vaccin nhập khẩu. Màu nâu đỏ là hình ảnh virus đặc hiệu trong nguyên sinh chất của tế bào.

Hình ảnh trên cho thấy đặc điểm gây nhiễm của PEDV được quan sát rõ ràng bởi hình ảnh virus khu trú trong nguyên sinh chất của tế bào Vero (bắt màu đỏ của cơ chất AEC). Đáng lưu ý, PEDV phân lập thực địa nhân trên các tế bào đơn lẻ chiếm đa số, tế bào đa nhân tạo thành các thể hợp bào chiếm số ít, không có sự khác biệt giữa 4 chủng PEDV phân lập thực địa. Tuy nhiên, có sự khác biệt khi so sánh giữa chủng SM98 thuộc nhóm G1 với các chủng PEDV thực địa, chủng vaccin SM98 xuất hiện thể hợp

bào lớn chiếm đa số, chúng phát triển tạo thành hợp bào có hàng trăm nhân. Các mô tả trước đây của nhóm tác giả Hofmann và Wyler (1988) đã cho biết, tế bào đơn lẻ nhiễm virus hoặc cụm tế bào đa nhân (10 nhân) chiếm đa số ở các đời đầu phân lập virus, sau khi cấy chuyển thích nghi trên tế bào Vero, thể hợp bào chứa hàng trăm nhân chiếm ưu thế. Bốn chủng PEDV đã được thích nghi trên tế bào Vero và hiệu giá virus ở P4 và P6 đạt được như trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Hiệu giá bốn chủng PEDV phân lập thực địa

| TT | Ký hiệu chủng | Năm thu mẫu | Địa điểm | Hiệu giá virus (TCID ₅₀) | |
|----|---------------|-------------|-----------|--------------------------------------|-------------------|
| | | | | Đời virus P4 | Đời virus P6 |
| 1 | PEDV 0116 | 2016 | Hải Dương | 10 ^{4,3} | 10 ^{5,7} |
| 2 | PEDV 0117 | 2017 | Hưng Yên | 10 ^{4,5} | 10 ^{5,9} |
| 3 | PEDV 0317 | 2017 | Hà Nam | 10 ^{4,5} | 10 ^{5,7} |
| 4 | PEDV 0118 | 2018 | Hưng Yên | 10 ^{4,7} | 10 ^{6,1} |

Kết quả trên cho thấy, hiệu giá virus ở đời P4 và P6 của cả bốn chủng PEDV đều tăng sau khi liên tục tiếp đời. Hiệu giá virus cao nhất đạt được 10^{6,1} TCID₅₀/ml với chủng PEDV 0118 P6. Tham khảo một số báo cáo trước đây, nhóm tác giả Nguyễn Thị Hoa và cs. (2018) phân lập PEDV sau 4 đời cây chuyển một số chủng đã đạt được hiệu giá 10^{7,3} TCID₅₀/ml. Nhóm tác giả Kusanagi và cs. (1992) cho biết kết quả chỉ đạt được 10^{5,5} TCID₅₀/ml sau cấy mù một số đời, tuy nhiên còn tùy thuộc mỗi chủng virus và số

lần cấy chuyên thích nghi với tế bào.

3.2. Tính sinh miễn dịch và khả năng kháng chéo giữa các chủng PEDV

Khả năng miễn dịch của mỗi chủng PEDV được thực hiện bằng cách tối miễn dịch từng virus đơn chủng trên thỏ, huyết thanh miễn dịch thu được dùng đánh giá hàm lượng kháng thể trung hòa với virus đồng chủng và virus dị chủng. Thực hiện phản ứng giữa mỗi cặp đời của huyết thanh và PEDV, kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Hiệu giá kháng thể trung hòa giữa các chủng PEDV

| Chủng virus | Hiệu giá kháng thể trung hòa của huyết thanh kháng PEDV | | | | |
|-------------------------|---|------------|-----------|------------|-------------------------|
| | PEDV 0116 | PEDV 0117 | PEDV 0317 | PEDV 0118 | PEDV vaccin (SM98 dòng) |
| PEDV 0116 | 512 | 128 | 32 | 256 | 128 |
| PEDV 0117 | 128 | 128 | 32 | 256 | 32 |
| PEDV 0317 | 256 | 128 | 64 | 256 | 32 |
| PEDV 0118 | 128 | 64 | 32 | 256 | 32 |
| PEDV vaccin (SM98 dòng) | 64 | 64 | 32 | 128 | 256 |

Số in đậm và gạch chân là kết quả hiệu giá kháng thể trung hòa đồng chủng. Hiệu giá kháng thể trung hòa là số nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất mà ở độ pha loãng đó kháng thể trung hòa dương tính.

Kết quả bảng 4 cho thấy, các chủng PEDV đều sinh kháng thể trung hòa sau khi miễn dịch trên thỏ. Ưu điểm của phản ứng trung hòa là mỗi chủng virus quan tâm nghiên cứu đều được tham gia trong phản ứng huyết thanh học. Kết quả trên cho thấy hiệu giá kháng thể trung hòa của huyết thanh kháng chủng PEDV0118 với các chủng PEDV thực địa cho hiệu giá đồng đều và

tính kháng chéo trội. Từ hiệu giá kháng thể trung hòa trong bảng 4 thì giá trị r1 được xác định ở bảng 5.

Kết quả cho thấy, trong 4 chủng virus thực địa thì chủng PEDV0118 miễn dịch tương đồng 100% với các chủng thực địa (r1 = 1). Bên cạnh đó thấy rằng, chủng PEDV vaccin dòng (SM98) cho giá trị r1 với các chủng thực địa chỉ từ 0,12 đến 0,5.

Bảng 5. Giá trị r1 của mỗi kháng huyết thanh kháng chủng PEDV

| Chủng virus | Giá trị r1 | | | | |
|-------------------------|------------|----------|----------|----------|-------------------------|
| | PEDV0116 | PEDV0117 | PEDV0317 | PEDV0118 | PEDV vaccin (SM98 dòng) |
| PEDV0116 | 1 | 1 | 0,50 | 1 | 0,50 |
| PEDV 0117 | 0,25 | 1 | 0,50 | 1 | 0,12 |
| PEDV0317 | 0,50 | 1 | 1 | 1 | 0,12 |
| PEDV0118 | 0,25 | 0,50 | 0,50 | 1 | 0,12 |
| PEDV vaccin (SM98 dòng) | 0,12 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 1 |

Ghi chú: Giá trị r1 là kết quả của tỷ số hiệu giá kháng thể trung hòa dị chủng/đồng chủng

Các tác giả Collin và cs. (2017), Lee và cs. (2018) cho rằng, hiệu quả bảo hộ của vaccin liên quan lớn đến vai trò của kháng thể trung hòa đặc hiệu. Đề cập tới khả năng trung hòa chéo giữa các chủng PEDV, các nghiên cứu trước đã chỉ ra rằng, vaccin sống nhược độc bắt nguồn từ PEDV thuộc nhóm G1 không bảo hộ sau thử thách với PEDV dòng G2b, trong khi vaccin thương mại vô hoạt từ PEDV thuộc G2b đã bảo vệ được hoàn toàn (Lee và cs., 2018).

Nghiên cứu này đã xác định được khả năng nhân nhiễm của virus thực địa trên tế bào Vero từ đó thực hiện được phản ứng trung hòa. Các chủng PEDV thực địa đều có khả năng miễn dịch, sinh kháng thể trung hòa. Nghiên cứu đã cho thấy trong số 4 chủng PEDV phân lập tại miền Bắc Việt Nam từ năm 2016 đến năm 2018 thì chủng PEDV0118 có giá trị trung hòa chéo cao nhất. Tính miễn dịch và miễn dịch chéo của chủng giống PEDV0118 là một đặc tính quan trọng để tuyển chọn giống, giúp cho việc nghiên cứu sản xuất vaccin tại Việt Nam.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy 4 chủng PEDV phân lập tại miền Bắc đều thuộc genogroup 2.

Tính nhân nhiễm của bốn chủng PEDV phân lập thực địa trên tế bào Vero đặc trưng bởi các tế bào nhiễm virus đứng đơn lẻ chiếm nhiều hơn các thể hợp bào lớn.

Cả 4 chủng PEDV thực địa đều sinh kháng thể trung hòa với đồng chủng ở mức độ khác nhau.

Từ kháng thể trung hòa chéo giữa các chủng PEDV, chọn được chủng PEDV 0118 có tính kháng chéo tốt nhất ($r1 = 1$) khi so với 3 chủng phân lập thực địa còn lại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Bích, Khánh, Trần Văn Khánh, Nguyễn Thanh Ba và Chu Thị Thanh Hương, 2020. Kết quả thiết lập phản ứng trung hòa porcine epidemic diarrhea (PEDV) sử dụng chủng thực địa phân lập tại miền Bắc. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 2020.
2. Chen Q., Thomas, J. T., Giménez-Lirola, L. G., Hardham, J. M., Gao, Q., Gerber, P. F., Opriessnig, T., Zheng, Y., Li, G. và Gauger, P. C., 2016. Evaluation of serological cross-reactivity and cross-neutralization between the United States porcine epidemic diarrhea virus prototype and S-INDEL-variant strains. *BMC veterinary research*, 12(1): 70.
3. Clement T., Singrey, A., Lawson, S., Okda, F., Nelson, J., Diel, D., Nelson, E. A. và Christopher-Hennings, J., 2016. Measurement of neutralizing antibodies against porcine epidemic diarrhea virus in sow serum, colostrum, and milk samples and in piglet serum samples after feedback. *Journal of Swine Health and Production*, 24(3): 147-153.
4. Collin E. A., Anbalagan, S., Okda, F., Nelson, E. và Hause, B. M., 2015. An inactivated vaccine made from a US field isolate of porcine epidemic disease virus is immunogenic in pigs as demonstrated by a dose-titration. *BMC veterinary research*, 11(1): 62.

5. Debouck P. và Pensaert, M., 1980. Experimental infection of pigs with a new porcine enteric coronavirus, CV 777. *Am J Vet Res*, 41(2): 219-23.
 6. Hofmann M. và Wyler, R., 1988. Propagation of the virus of porcine epidemic diarrhea in cell culture. *J Clin Microbiol*, 26(11): 2235-9.
 7. Kusanagi, H K., T K., Nunoya T., Y. I., Samejima T. và Tajima M., 1992. Isolation and serial propagation of porcine epidemic diarrhea virus in cell cultures and partial characterization of the isolate. *J Vet Med Sci*. 54(2): 313-8.
 8. Opriessnig T., Gerber P. F., Shen H., De Castro A. M. M., Zhang J., Chen Q. và Halbur P., 2017. Evaluation of the efficacy of a commercial inactivated genogroup 2b-based porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) vaccine and experimental live genogroup 1b exposure against 2b challenge. *Veterinary research*. 48(1): 69.
 9. Lee C., 2015. Porcine epidemic diarrhea virus: An emerging and re-emerging epizootic swine virus. *Virology*, 12(1): 193.
 10. Lee S. H., Yang, D. K., Kim, H. H. và Cho, I. S., 2018. Efficacy of inactivated variant porcine epidemic diarrhea virus vaccines in growing pigs. *Clin Exp Vaccine Res*, 7(1): 61-69.
 11. Paudel, S, Park J., Jang H. và Shin H., 2014. Comparison of serum neutralization and enzyme-linked immunosorbent assay on sera from porcine epidemic diarrhea virus vaccinated pigs. *Veterinary Quarterly*. 34(4): 218-223.
 12. Puranaveja S., Poolperm P., Lertwatcharasarakul P., Kesdaengsakonwut S., Boonsoongnern A., Urairong K., Kitikoon P., Choojai P., Kedkovid R. và Teankum K., 2009. Chinese-like strain of porcine epidemic diarrhea virus, Thailand. *Emerging infectious diseases*. 15(7): 1112.
 13. Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn Thị Lan, Trương Quang Lâm, Trịnh Đình Thâu và Ngô Thị Hạnh, 2018. Nghiên cứu phân lập và xác định một số đặc điểm sinh học của virus PED (Porcine epidemic diarrhea virus). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 16(3): 257-267
 14. Nguyễn Văn Giáp, Đặng Hữu Anh, Trương Hà Thái và Huỳnh Thị Mỹ Lệ, 2020. Một số đặc điểm sinh học phân tử của chủng PEDV (porcine epidemic diarrhea virus) phân lập ở lợn nuôi tại Hưng Yên. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 18(7): 463-474.
 15. Toan N. T., Puranaveja S. và Thanawongnuwech R., 2011. Genetic characterization of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) isolates from southern Vietnam during 2009-2010 outbreaks. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*. 41(1): 55-64.
 16. Song D. và Park B., 2012. Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. *Virus Genes*. 44(2): 167-75.
 17. Stevenson G. W., Hoang H., Schwartz K. J., Burrough E. R., Sun D., Madson D., Cooper V. L., Pillatzki A., Gauger P. và Schmitt B. J., 2013. Emergence of porcine epidemic diarrhea virus in the United States: clinical signs, lesions, and viral genomic sequences. *Journal of veterinary diagnostic investigation*. 25(5): 649-654.
 18. Van T. Than, Se-Eun Choe, Thi T.H.Vu, Tien D.Do, Thi L. Nguyen, Thi T.N. Bui, Thi.N. Mai, Ra M.Cha, Deasub Song, Dong-Jun An, Van P.Le., 2020. Genetic characterization of the spike gene of porcine epidemic diarrhea viruses (PEDVs) circulating in Vietnam from 2015 to 2016. *Vet Med Sci*. 2020;00:1-8
 19. Yang D.-K., Kim H.-H., Lee S.-H., Yoon S.-S., Park J.-W. và Cho I.-S., 2018. Isolation and characterization of a new porcine diarrhea virus variant that occurred in Korea in 2014. *Journal of veterinary science*. 19(1): 71-78.
 20. Wang L., Byrum B. và Zhang Y., 2014. New variant of porcine epidemic diarrhea virus, United States, 2014. *Emerg Infect Dis*. 20(5): 917-9.
 21. Zhaoss P. D., Bai J., Jiang P., Tang T. S., Li Y., Tan C. và Shi X., 2014. Development of a multiplex TaqMan probe-based real-time PCR for discrimination of variant and classical porcine epidemic diarrhea virus. *J Virol Methods*. 206: 150-5.
- Ngày nhận 5-7-2021
 Ngày phản biện 2-8-2021
 Ngày đăng 1-1-2022