

SỰ HIỆN DIỆN CỦA PORCINE PARVOVIRUS 1 (PPV1) Ở LỢN NUÔI TẠI HÀ NỘI VÀ VÙNG PHỤ CẬN

Nguyễn Văn Giáp, Mai Thị Ngân, Lê Văn Trường, Vũ Thị Ngọc,
Võ Văn Hiếu, Tạ Thị Kim Chung, Vũ Đức Hạnh, Huỳnh Thị Mỹ Lệ*

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: huynhhtml@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 19.05.2020

Ngày chấp nhận đăng: 24.06.2020

TÓM TẮT

Porcine Parvovirus (PPV1) là một trong những nguyên nhân chính gây rối loạn sinh sản ở lợn nái và là một yếu tố kích hoạt trong cơ chế sinh bệnh của Porcine circovirus type 2. Ở Việt Nam, sự hiện diện và vai trò gây rối loạn sinh sản của PPV1 đã được chứng minh, nhưng vẫn còn ít công bố về PPV1. Nghiên cứu này đã tìm hiểu sự có mặt của PPV1 ở nhóm lợn giai đoạn nuôi thịt tại Hà Nội và vùng phụ cận bằng phản ứng huyết thanh học, PCR và phân tích trình tự gen. Kết quả cho thấy 88,2% (60/68) mẫu huyết thanh có kháng thể kháng PPV1, với 18/60 mẫu có kháng thể ở mức cao (HI >1/512). Hiện tượng virus huyết khá phổ biến khi phát hiện được ở 10/18 mẫu, với đặc điểm không phụ thuộc vào hàm lượng kháng thể kháng PPV1. Kết quả giải mã một phần gen NS1 cho biết 10 chủng PPV1 của Việt Nam thuộc nhóm di truyền 1. Cùng với các nghiên cứu khác, kết quả này cho thấy sự lưu hành của PPV1 ở lợn nuôi tại Việt Nam.

Từ khóa: Porcine Parvovirus 1, phát hiện virus, đặc điểm sinh học phân tử.

Investigating the Presence of Porcine Parvovirus 1 (PPV1) in Pigs in Hanoi and Neighboring Provinces

ABSTRACT

Porcine Parvovirus (PPV1) is one of the main pathogens inducing reproductive failure in sows. PPV1 is also known as a triggering factor of porcine circovirus type 2. In Vietnam, the presence of PPV1 and its association with reproductive disorders of sows had been confirmed. However, few publications are available on this topic. This study investigated the occurrence of PPV1 in growing pigs risen in Hanoi and neighboring provinces by serology test, PCR and genetic analysis. It was revealed that 88.2% (60/68) sera contained detectable antibodies against PPV1. Of these, 18/60 sera had high antibody titres (HI >1/512). The viremia was detected at a high frequency (10 out of 18 tested sera) and was uncorrelated with the level of antibody titers against PPV1. The genetic analysis based on the partial NS1- protein-coding gene showed that 10 PPV1 field strains were within genogroup 1. In combination with the other studies, the current result supported that PPV1 is circulating in pigs in Vietnam.

Keywords: Porcine Parvovirus 1, virus detection, molecular characterization.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn sinh sản ở lợn do nhiều nguyên nhân gây ra, trong đó nhóm virus gây bệnh thường gặp gồm: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Classical swine fever virus (CSFV), Porcine parvovirus 1 (PPV1), Porcine circovirus type 2 (PCV2), Porcine pseudorabies virus (PRV),... (Pozzi &

Alborali, 2012). PPV1 là một trong những mầm bệnh gây rối loạn sinh sản đã được biết đến từ rất sớm (Mayr & cs., 1968). Ngày nay, PPV1 còn được biết đến như là một yếu tố kích hoạt trong sinh bệnh học của hội chứng còi cọc ở lợn sau cai sữa do PCV2 gây ra (Ellis & cs., 2000).

Về phân loại, PPV1 thuộc họ Parvoviridae, là một ADN virus sợi đơn dài khoảng 5kb (Ranz & cs., 1989). Đến nay, người ta đã phát hiện

thêm một số loại parvovirus mới ở lợn, ký hiệu từ PPV2 đến PPV7. Khác với PPV1 (thuộc giống *Protoparvovirus*), 6 loại parvovirus phát hiện trong vòng 10 năm trở lại đây thuộc giống *Tetraparvovirus* (PPV2- PPV3), *Copiparvovirus* (PPV4- PPV6) và *Chapparrvovirus* (PPV7) (Cadar & cs., 2012; Xing & cs., 2018). Về cấu trúc, bộ gen PPV1 có 2 khung đọc mở (ORF) chính mã hóa cho protein phi cấu trúc NS1 và protein cấu trúc (VP1 và VP2) (Ranz & cs., 1989; Bergeron & cs., 1993). Gen mã hóa NS1 thường bảo thủ hơn do có tốc độ đột biến thấp hơn khoảng 10 lần so với gen mã hóa protein cấu trúc (Ren & cs., 2013). Trong các nghiên cứu về đặc điểm sinh học phân tử và xây dựng cây phát sinh chủng loại, các tác giả trên thế giới có thể dùng toàn bộ genome (Oh & cs., 2017), vùng gen mã hóa protein (Ren & cs., 2013) hoặc gen mã hóa VP2 và/hoặc NS1 (Hao & cs., 2011). Theo đó, PPV1 được phân chia thành 3 (Ren & cs., 2013) hoặc 4 nhóm di truyền (Hao & cs., 2011).

Ở Việt Nam, vai trò gây bệnh của PPV1 đã được biết đến khá sớm, từ những năm 1990 (Hồ Đình Chúc & cs., 1995). Trong một thời gian dài, các vấn đề liên quan tới PPV1 ít được quan tâm nghiên cứu. Gần đây, kết quả khảo sát sự lưu hành của các genotype parvovirus ở khu vực miền Trung tiếp tục khẳng định sự hiện diện của genotype 1 (PPV1) ở lợn với tỷ lệ phát hiện virus là 52,7% (Nguyễn Trần Trung & cs., 2019). Nhằm làm rõ hơn về sự lưu hành của PPV1 ở lợn nuôi tại Việt Nam, nghiên cứu này đã được thực hiện nhằm xác định sự có mặt của PPV1 ở đàn lợn nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Xác định sự có mặt của kháng thể kháng PPV1 và PPV1 trong mẫu huyết thanh lợn thịt.
- Tìm hiểu đặc điểm sinh học phân tử gen mã hóa protein NS1 của các chủng PPV1.

2.2. Vật liệu

- Huyết thanh của lợn thịt trong giai đoạn 40 đến 80 ngày tuổi. Mẫu được lấy ở các hộ chăn

nuôi với quy mô >100 và ≤100 lợn thịt. Trong năm 2017, đã có 68 mẫu huyết thanh được lấy ở 21 trang trại thuộc 6 địa phương là Hà Nội, Hưng Yên, Hải Dương, Bắc Ninh, Hòa Bình và Vĩnh Phúc.

- Chủng PPV1 thuần khiết, vô hoạt được cung cấp bởi Bộ môn Vi sinh vật - Truyền nhiễm, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

- Hồng cầu chuột lang 10% và 1% pha trong dung dịch PBS1x

- Đĩa nhựa 96 giếng đáy chữ V

- Môi phát hiện PPV1 và giải mã gen được chọn theo nghiên cứu trước đây (Xu & cs., 2012). Trình tự 5'-3' như sau: PPVF-AGTTAGAAT AGGATGCGAGGAA và PPVR-AGAGTCTGT TGGTGTATTTATTGG.

- Hóa chất dùng tách chiết ADN tổng số gồm: dung dịch ly giải mẫu có chứa 27% sucrose, 15mM trisodium citrate, 0,15M sodium chloride, 1mM ethylene diaminetetraacetic acid, 1% sodium dodecyl sulphate, 200 µg/ml proteinase K; phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1); isopropyl; cồn 70% và đệm TE (pH = 8).

- Kít PCR (Maxime PCR PreMix i-Taq, 25025, iNtRON, Hàn Quốc).

- Hóa chất dùng phân tích sản phẩm PCR gồm: agarose (Agarose EP Master, Biosesang, Hàn Quốc); RedSafe Nucleic Acid Staining Solution (21141, iNtRON, Hàn Quốc) và 100bp DNA ladder (DM001-R500, GeneDireX Inc., Anh).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phát hiện kháng thể kháng PPV1

Sự có mặt của kháng thể kháng PPV1 trong huyết thanh lợn được phát hiện bằng phản ứng ngăn trở ngưng kết hồng cầu (HI), thực hiện theo mô tả trước đây (Joo & cs., 1976), sử dụng hồng cầu chuột lang 1% và với một số hiệu chỉnh. Cụ thể, để loại bỏ yếu tố gây ngưng kết hồng cầu, tiến hành ủ huyết thanh xét nghiệm với hồng cầu chuột lang 10% theo tỷ lệ 1:1, để qua đêm ở 4°C. Mẫu được coi là chuyển dương tính huyết thanh học (dương tính) nếu ở độ pha

loãng $>1/8$ ngăn trở hoàn toàn hiện tượng ngưng kết hồng cầu (Oravainen & cs., 2005). Cũng theo nghiên cứu trước đây, hiệu giá HI 1/512 được chọn làm mốc để xác định mẫu có hiệu giá kháng thể ở mức cao ($HI >1/512$) và ở mức thấp ($1/16 \leq HI \leq 1/512$) (Oravainen & cs., 2005).

2.3.2. Tách chiết ADN

(i) Ly giải mẫu: 250µl huyền dịch mẫu bệnh phẩm được trộn đều trong 500µl dung dịch sucrose/proteinase K; ủ ở $56^{\circ}\text{C}/90$ phút. (ii) Tách pha ADN bằng phenol-chloroform-isoamyl (25:24:1) bằng cách bổ sung 200µl dung dịch PCI vào ống mẫu sau khi ly giải, vortex hỗn hợp và ly tâm 12.000 vòng/phút/15 phút, ở nhiệt độ 4°C . (iii) Tủa ADN: dùng ống Eppendorf mới, trộn 450µl isopropyl và 450µl dịch nổi phía trên, trộn đều; sau đó tủa ADN ở $-20^{\circ}\text{C}/15$ phút; thu tủa bằng ly tâm, 12.000 vòng/phút/15 phút, ở nhiệt độ 4°C . (iv) Rửa tủa ADN bằng 1ml cồn 70%; thu tủa bằng ly tâm, 12.000 vòng/phút/15 phút, ở nhiệt độ 4°C ; sau đó loại bỏ hết cồn và hong khô ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. (v) Hòa tan tủa ADN trong 30µl đệm TE ($\text{pH} = 8,0$).

2.3.3. Phương pháp PCR phát hiện PPV1

Phản ứng PCR được phối trộn theo hướng dẫn của nhà sản xuất, mỗi đặc hiệu được dùng ở nồng độ cuối cùng là 0,5pM cho mỗi mỗi xuôi-mỗi ngược. Chu trình nhiệt gồm: tiền biến tính $94^{\circ}\text{C}/5$ phút; lặp lại 35 lần chu trình nhiệt sau: biến tính $94^{\circ}\text{C}/30$ giây, gắn mỗi $57,1^{\circ}\text{C}/20$ giây, kéo dài $72^{\circ}\text{C}/30$ giây. Phân tích sản phẩm PCR bằng phương pháp điện di trong thạch agarose 2%, có bổ sung RedSafeNucleic Acid Staining Solution 1x.

2.3.4. Phân tích trình tự nucleotide của PPV1

Phân tích biến động mức tương đồng dọc theo chiều dài gen mã hóa protein NS1 của PPV1 được thực hiện bằng phần mềm SimPlot (Lole & cs., 1999) với các tham số mặc định. Mối quan hệ di truyền của PPV1 được xây dựng dựa trên một phần trình tự gen mã hóa protein NS1 (từ nucleotide 1470-1733). Phần mềm IQTREE phiên bản 1.6.2 (Nguyen & cs., 2015) được dùng để xây dựng cây phát sinh chủng loại với các tham số đầu vào như sau:

(i) phương pháp xây dựng cây phát sinh chủng loại là maximum likelihood; (ii) mô hình mô phỏng sự thay đổi nucleotide giữa các trình tự gen được lựa chọn tự động bằng câu lệnh “-m TEST”; (iii) mức tin cậy ở các nhánh của cây phát sinh chủng loại được ước tính theo phương pháp transfer bootstrap expectation (Lemoine & cs., 2018), với phép thử bootstrap lặp 1.000 lần. Các trình tự tham chiếu được chọn theo công bố trước đây (Hao & cs., 2011; Chung & cs., 2020). Chương trình iTOL (Letunic & Bork, 2019) được dùng để chú thích cây phát sinh chủng loại.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phát hiện kháng thể kháng PPV1

Trong 68 mẫu huyết thanh lợn thịt xét nghiệm, có 60/68 mẫu (88,2%) dương tính với kháng thể kháng PPV1 (hiệu giá $HI \geq 1/16$). Kết quả biểu diễn ở hình 1 cho thấy biên độ dao động hiệu giá kháng thể rộng, từ 1/16-1/4096. Cụ thể, 60 mẫu dương tính được xếp vào nhóm có mức hiệu giá cao (18/60 mẫu, 30%) và nhóm có mức hiệu giá thấp (42/60 mẫu, 70%).

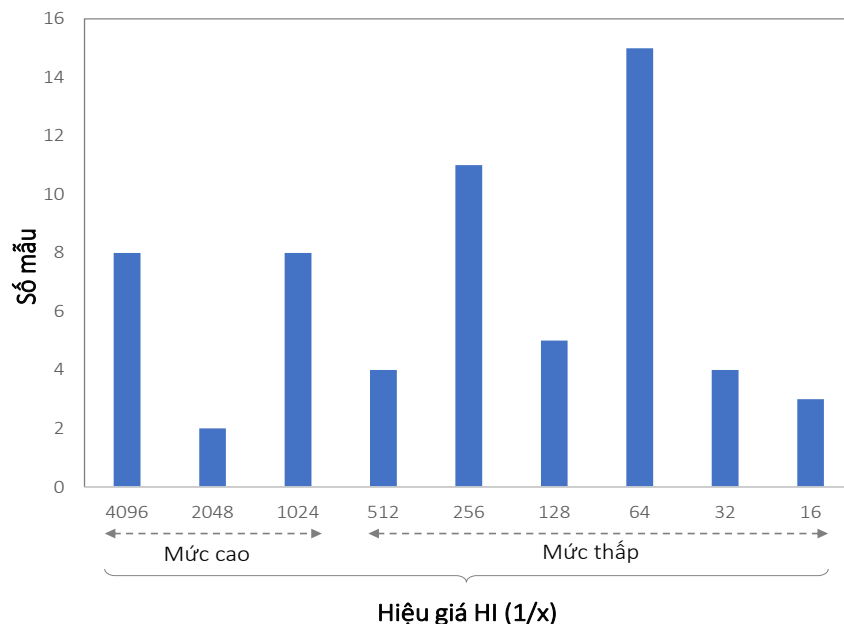
Một kết quả nghiên cứu công bố năm 2012 cho biết kháng thể thụ động kháng PPV1 truyền qua sữa đầu chỉ tồn tại trong vòng 1 tháng và hiện tượng chuyển dương tính huyết thanh học ở lợn giai đoạn nuôi thịt là kết quả đáp ứng miễn dịch chủ động chống lại sự phơi nhiễm PPV1 tự nhiên (Stojanac & cs., 2012). Dựa vào kết quả dương tính huyết thanh học (Hình 1), có thể suy luận hiện tượng phơi nhiễm PPV1 là khá phổ biến ở khu vực lấy mẫu. PPV1 là virus có mặt phổ biến ở lợn, tuy nhiên tỷ lệ dương tính là khác nhau giữa các nước (Saekhow & Ikeda, 2015; Chung & cs., 2020). Ở Việt Nam, kết quả khảo sát ở một số tỉnh miền Trung bằng phương pháp PCR đã phát hiện 52,7% huyết thanh lợn thịt có PPV1 (Nguyen Tran Trung & cs., 2019). Do vậy, tỷ lệ dương tính huyết thanh học cao của nhóm lợn thịt trong nghiên cứu này là có thể giải thích.

3.2. PCR phát hiện PPV1 trong mẫu huyết thanh

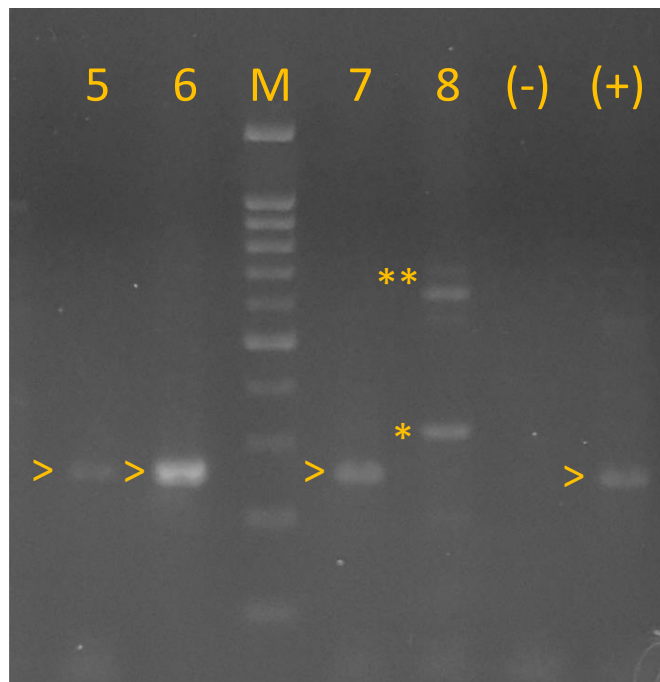
Một số nghiên cứu cho thấy sự có mặt của PPV1 trong máu không phụ thuộc vào hàm

lượng kháng thể đặc hiệu kháng PPV1 (Streck & cs., 2011; Dias & cs., 2013). Trong khuôn khổ của nghiên cứu, chúng tôi chọn ở mỗi tỉnh 3 mẫu huyết thanh có hiệu giá HI khác nhau để

phát hiện hiện tượng virus huyết bằng phương pháp PCR. Kết quả PCR xác định PPV1 trong mẫu huyết thanh được minh họa ở hình 2 và tổng hợp ở bảng 1.



Hình 1. Hiệu giá kháng thể kháng PPV1 ở mẫu huyết thanh lợn thịt



Ghi chú: M là thang ADN chuẩn với khoảng cách giữa các vạch là 100bp. Các mẫu huyết thanh xét nghiệm được bố trí ở giếng số 5 đến số 8. Các vạch sản phẩm PCR không đặc hiệu được đánh dấu “*”, “**”. Vạch sản phẩm đặc hiệu (265 bp) được đánh dấu bởi ký hiệu “>”.

Hình 2. Minh họa kết quả phản ứng PCR phát hiện PPV1

Kết quả ở hình 2 cho biết, ở các mẫu ở giếng số 5, 6 và 7 xuất hiện vạch đặc hiệu với kích thước 265bp. Mẫu ở giếng số 8 xuất hiện một số vạch PCR có kích thước không đặc hiệu và được đánh giá là âm tính. Tổng hợp kết quả PCR phát hiện PPV1 được trình bày ở bảng 1.

Có 10/18 mẫu huyết thanh xét nghiệm dương tính và 8/18 mẫu âm tính với PPV1. Các mẫu dương tính thu thập ở 5 trang trại tại 4 tỉnh là Vĩnh Phúc, Bắc Ninh, Hưng Yên và Hải Dương (Bảng 1). Như vậy, cả phản ứng huyết thanh học và PCR đều phát hiện sự lưu hành PPV1 ở lợn giai đoạn nuôi thịt (nhóm lợn không bao giờ được vaccin phòng bệnh do PPV1). Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) cho thấy hiệu giá HI giữa nhóm có virus huyết (PCR dương tính) và nhóm không có virus huyết (PCR âm tính) không có sự khác biệt (giá trị F lý thuyết = 1,59 < F_{thực nghiệm} ở mức P = 0,22 > 0,05). Kết quả trên phù hợp với kết luận: PPV1 lưu hành ở lợn được nuôi dưới nhiều phương thức

chăn nuôi khác nhau và không phụ thuộc vào hàm lượng kháng thể dịch thể đặc hiệu (Streck & cs., 2011). Nhận xét này cho thấy sự cần thiết kết hợp phương pháp huyết thanh học và phương pháp PCR trong nghiên cứu sự lưu hành virus. Mặc dù vậy, hạn chế của nghiên cứu hiện thời là chưa xét nghiệm được toàn bộ số mẫu huyết thanh lợn thịt bằng phản ứng PCR, nên không thể kết luận đầy đủ về hiện tượng nhiễm virus huyết.

3.3. Phân tích trình tự gen mã hóa protein NS1

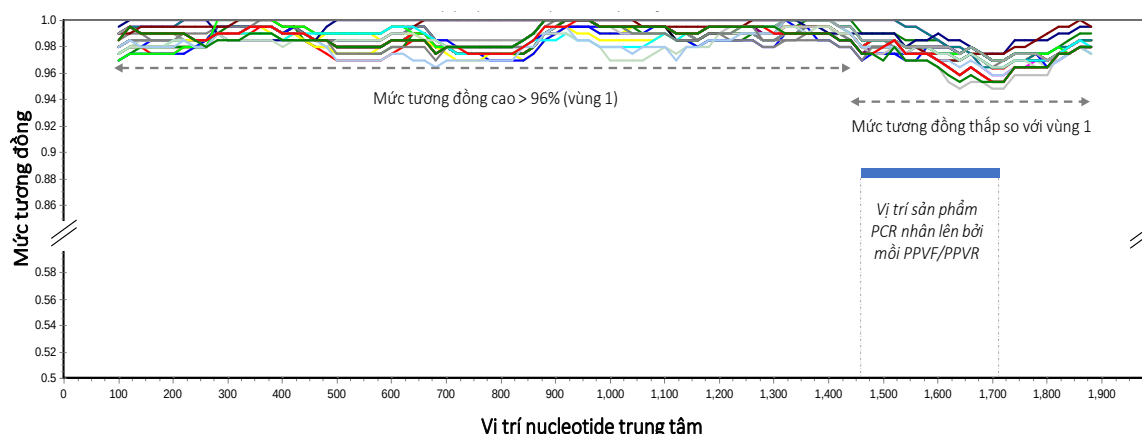
Đặc điểm của các chủng PPV1 phát hiện trong nhóm mẫu xét nghiệm được nghiên cứu sâu hơn dựa vào phân tích trình tự gen. Trên cơ sở phân tích mức tương đồng nucleotide dọc chiều dài gen mã hóa protein NS1 của các chủng PPV1 trên thế giới, đã xác định đầu 3' của gen NS1 (từ nucleotide 1400 trở đi) có mức tương đồng thấp hơn so với vùng còn lại (Hình 3).

Bảng 1. Kết quả PCR phát hiện PPV1 trong huyết thanh

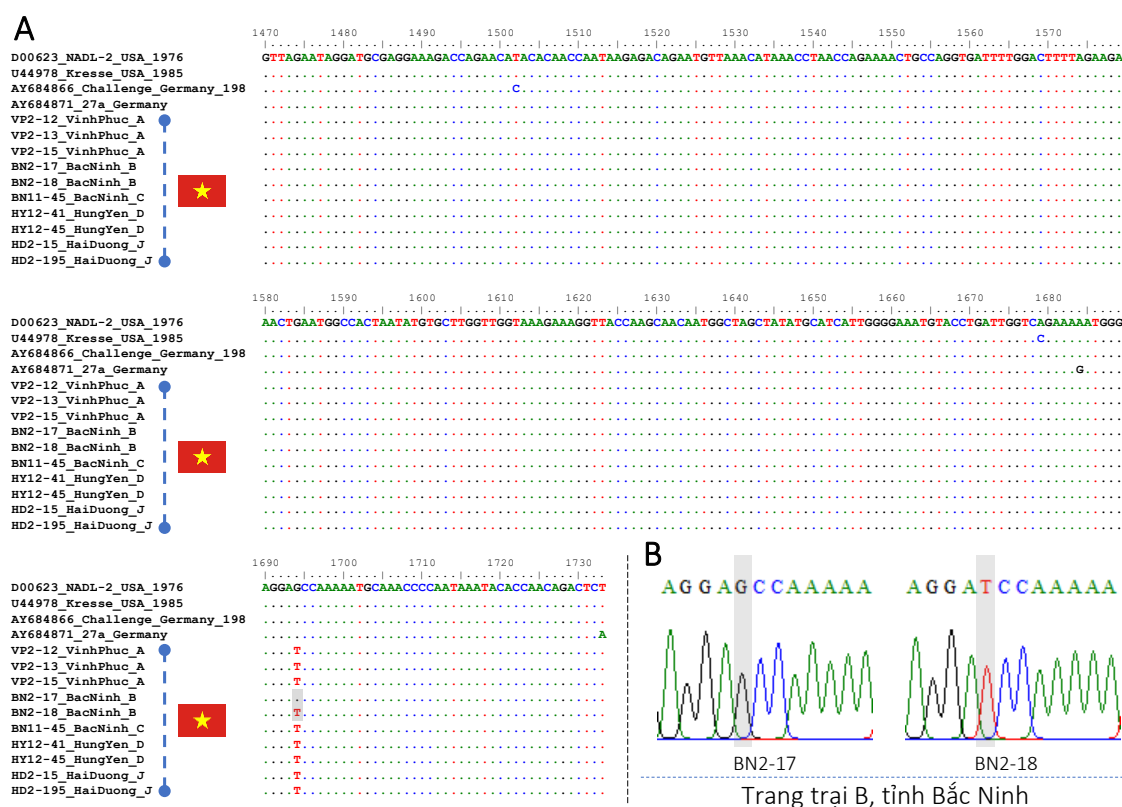
Ký hiệu thực địa	Địa điểm lấy mẫu	Mã số trang trại	Hiệu giá HI(1/x)	Kết quả PCR
VP2-12	Vĩnh Phúc	A	/512	+
VP2-13	Vĩnh Phúc	A	/64	+
VP2-15	Vĩnh Phúc	A	/8	+
BN2-17	Bắc Ninh	B	/64	+
BN2-18	Bắc Ninh	B	/4	+
BN11-45	Bắc Ninh	C	/128	+
HY12-41	Hưng Yên	D	/16	+
HY12-42	Hưng Yên	D	/32	-
HY12-45	Hưng Yên	D	/256	+
HB14-0403	Hòa Bình	E	/128	-
HB15-0401	Hòa Bình	F	/16	-
HB15-0405	Hòa Bình	F	/8	-
HN15-42	Hà Nội	G	/16	-
HN18-0401	Hà Nội	H	/32	-
HN18-0406	Hà Nội	H	/512	-
HD18-45	Hải Dương	I	/32	-
HD2-15	Hải Dương	J	/16	+
HD2-195	Hải Dương	J	/8	+

Ghi chú: 10 mẫu dương tính PPV1 được giải trình tự gen NS1 có thứ tự như sau: 1-7, 9, 17 và 18.

Sự hiện diện của Porcine Parvovirus 1 (PPV1) ở lợn nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận



Hình 3. Kết quả phân tích tương đồng trình tự nucleotide của gen NS1



Ghi chú: (A) Kết quả so sánh trình tự nucleotide PPV1 của Việt Nam (đánh dấu) với các chủng đại diện. Dấu “.” biểu thị các vị trí có nucleotide giống với chủng tham chiếu NADL-2; (B) Giải đồ giải trình tự tại vị trí đa hình nucleotide 1694 G- T của 2 chủng PPV1 thu được ở cùng trang trại B.

Hình 4. Trình tự nucleotide của phân đoạn gen mã hóa protein NS1

Trong khi đó đoạn gen được nhân lên trong phản ứng PCR phát hiện virus nằm trong vùng có mức tương đồng thấp kể trên. Do vậy, sản phẩm PCR phát hiện PPV1 được dùng giải mã phân đoạn gen NS1 của 10 mẫu dương tính

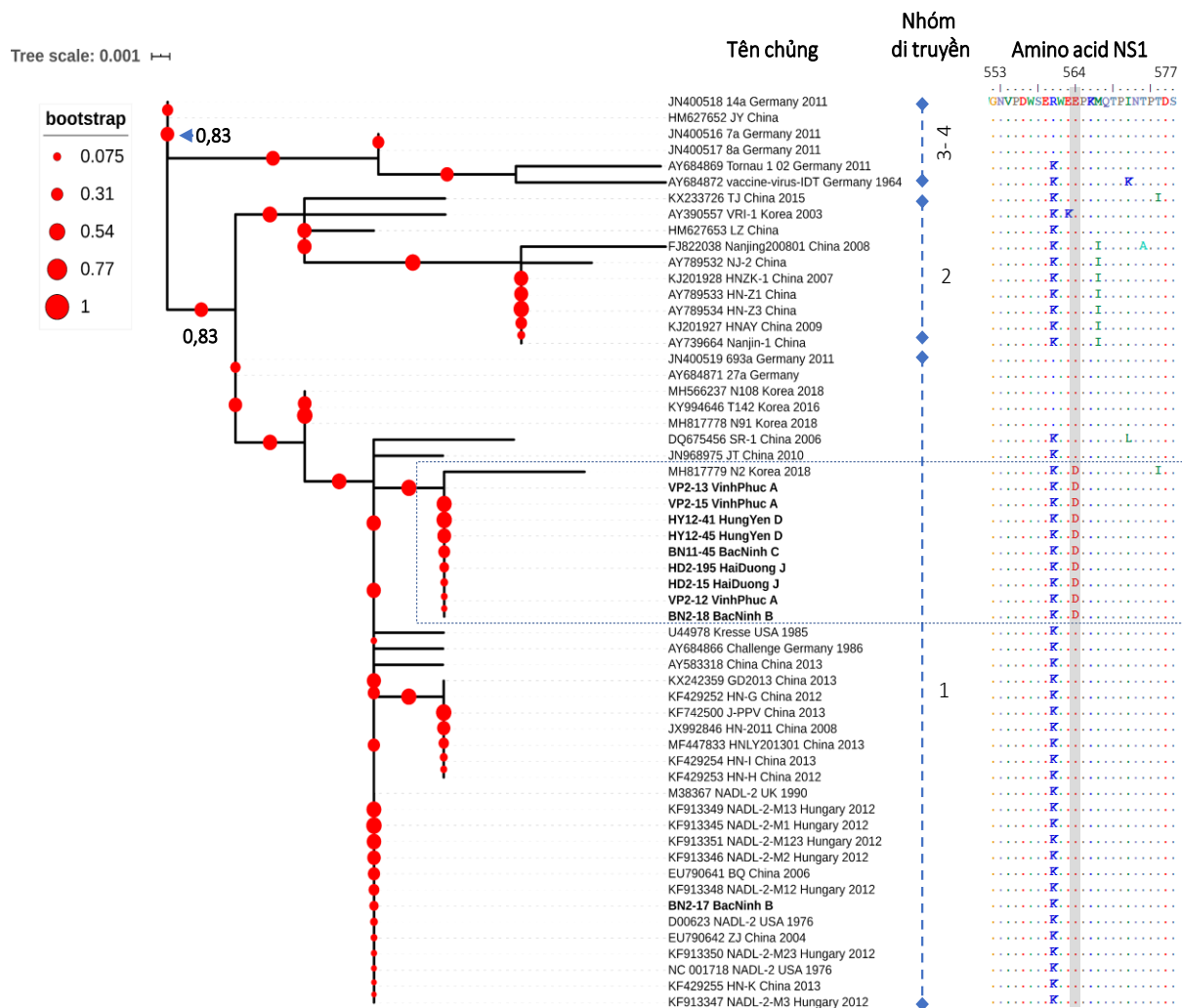
PPV1 (Bảng 1). Hình 4 trình bày kết quả giải mã gen của 10 chủng PPV1.

Kết quả ở hình 4 cho thấy 10 chủng PPV1 thực địa ở Việt Nam có trình tự phân đoạn gen NS1 ít thay đổi, với mức tương đồng rất cao từ

99,7% đến 100%. Ở phân đoạn gen NS1 dài 263 nucleotide (nghiên cứu này), chỉ có 1 vị trí đa hình nucleotide là 1694 G-T (Hình 4B). So với 4 chủng tham chiếu (Kresse, 27a, Challenge và NADL-2), 10 chủng của Việt Nam có mức tương đồng trình tự nucleotide tối thiểu là 98,8%. Đặc tính tương đồng cao về trình tự nucleotide là do gen mã hóa NS1 có tính bảo thủ cao hơn, tốc độ biến đổi thấp hơn so với gen mã hóa capsid protein (Ren & cs., 2013; Meszaros & cs., 2017). Theo danh mục thuốc thú y đã được cấp phép lưu hành tại Việt Nam (Cục Thú y, 2019), chỉ có vaccin vô hoạt phòng bệnh do PPV1 gây ra lưu

hành trên thị trường Việt Nam. Do vậy, kết quả PCR và giải trình tự gen khẳng định sự lưu hành của virus chủng thực địa ở lợn tại một số tỉnh miền Bắc. Cùng với kết quả công bố gần đây về sự lưu hành các genotype parvovirus ở lợn nuôi tại miền Trung (Nguyen Tran Trung & cs., 2019) cho thấy PPV1 có mặt ở nhiều tỉnh/thành phố trong cả nước.

Nghiên cứu này tiếp tục xác định mối quan hệ di truyền giữa các chủng PPV1 thực địa bằng phương pháp phân tích cây phát sinh chủng loại (Hình 5).



Ghi chú: giá trị bootstrap được biểu diễn theo thang đo 0-1 tương ứng với mức 0-100%. Ký hiệu 10 chủng PPV1 của Việt Nam theo quy tắc: tên chủng, địa điểm lấy mẫu (tỉnh) và trang trại lấy mẫu (chữ cái A-J). Trình tự amino acid đính kèm tương ứng cho mỗi chủng PPV1 nhằm làm rõ khác biệt đột biến D/E ở amino acid 564 protein NS1.

Hình 5. Cây phát sinh chủng loại của PPV1 dựa vào phân đoạn gen mã hóa protein NS1

Kết quả xây dựng cây phát sinh chủng loại bao gồm các trình tự tham chiếu đã biết nhóm di truyền (Hình 5) cho thấy có 4 nhóm di truyền (nhóm 1-4) của PPV1 giống như công bố trước đây (Hao & cs., 2011). Dựa vào đặc điểm phân nhóm, đã xác định 10/10 chủng PPV1 được giải trình tự trong nghiên cứu này thuộc về nhóm 1. Nhóm 1 này gồm các chủng phát hiện được ở nhiều nước thuộc châu Mỹ (NADL-2, Kresse), châu Âu (Challenge) và châu Á (SR-1, N2). Có 9/10 chủng của Việt Nam (trừ chủng BN2-17) nằm cùng nhánh với chủng N2 của Hàn Quốc (đóng khung, hình 5). Nhóm này mã hóa aspartic (D) ở amino acid 564 và khác biệt so với 47 chủng PPV1 mã hóa glutamic (E) (đánh dấu màu xám, hình 5). Cho đến nay, các đột biến ảnh hưởng tới đặc tính sinh học của parvovirus chủ yếu tập trung ở capsid protein (Meszaros & cs., 2017; Oh & cs., 2017). Do đó, cần nghiên cứu thêm đặc điểm di truyền gen mã hóa capsid protein của các chủng PPV1 phát hiện được ở Việt Nam.

4. KẾT LUẬN

Có một tỷ lệ cao (88,2%) mẫu huyết thanh lợn thịt dương tính với kháng thể kháng PPV1. Hiện tượng virus huyết đã phát hiện ở 10/18 mẫu với đặc điểm không phụ thuộc vào hàm lượng kháng thể kháng PPV1. Kết quả giải mã một phần gen NS1 cho biết 10 chủng PPV1 của Việt Nam thuộc nhóm di truyền 1, gồm các chủng phát hiện được ở nhiều nước thuộc châu Mỹ, châu Âu và châu Á.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bergeron J., Menezes J. & Tijssen P. (1993). Genomic organization and mapping of transcription and translation products of the NADL-2 strain of porcine parvovirus. *Virology*. 197(1): 86-98.
- Cadar D., Dan A., Tombacz K., Lorincz M., Kiss T., Becskei Z., Spinu M., Tuboly T. & Csagola A. (2012). Phylogeny and evolutionary genetics of porcine parvovirus in wild boars. *Infection, Genetics and Evolution*. 12(6): 1163-1171.
- Chung H.C., Nguyen V.G., Huynh T.M., Park Y.H., Park K.T. & Park B.K. (2020). PCR-based detection and genetic characterization of porcine parvoviruses in South Korea in 2018. *BMC Veterinary Research*. 16(1): 113.
- Cục Thú y (2019). Danh mục thuốc thú y đã được cấp phép lưu hành tại Việt Nam (phụ lục 1A, 1B). Truy cập từ <http://cucthuy.gov.vn/Pages/danh-muc-thuoc-thu-y-da-duoc-cap-giay-chung-nhan-luu-hanh-tai-viet-nam-.aspx>, ngày 31/12/2019.
- Dias A.S., Gerber P.F., Araujo A.S., Auler P.A., Gallinari G.C. & Lobato Z.I.P. (2013). Lack of antibody protection against Porcine circovirus 2 and Porcine parvovirus in naturally infected dams and their offspring. *Research in Veterinary Science*. 94(2): 341-345.
- Ellis J.A., Bratanich A., Clark E.G., Allan G., Meehan B., Haines D.M., Harding J., West K.H., Krakowka S., Konoby C., Hassard L., Martin K. & Mcneilly F. (2000). Coinfection by porcine circoviruses and porcine parvovirus in pigs with naturally acquired postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 12(1): 21-27.
- Hao X., Lu Z., Sun P., Fu Y., Cao Y., Li P., Bai X., Bao H., Xie B., Chen Y., Li D. & Liu Z. (2011). Phylogenetic analysis of porcine parvoviruses from swine samples in China. *Virology Journal*. 8: 320.
- Hồ Đình Chúc, Nguyễn Thị Phương Đông & Trần Duy Khanh (1995). Tình hình hội chứng rối loạn sinh sản của lợn nái ở Thái Bình. *Tạp chí Thú y*. 1: 1-4.
- Joo H.S., Donaldson-Wood C.R. & Johnson R.H. (1976). A standardised haemagglutination inhibition test for porcine parvovirus antibody. *Australian Veterinary Journal*. 52(9): 422-424.
- Lemoine F., Domelevo Entfellner J. B., Wilkinson E., Correia D., Davila Felipe M., De Oliveira T. & Gascuel O. (2018). Renewing Felsenstein's phylogenetic bootstrap in the era of big data. *Nature*. 556(7702): 452-456.
- Letunic I. & Bork P. (2019). Interactive Tree of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucleic Acids Research*. 47(W1): W256-W259.
- Lole K.S., Bollinger R.C., Paranjape R.S., Gadkari D., Kulkarni, S.S., Novak N.G., Ingersoll R., Sheppard H.W. & Ray S.C. (1999). Full-length human immunodeficiency virus type 1 genomes from subtype C-infected seroconverters in India, with evidence of intersubtype recombination. *Journal of Virology*. 73(1): 152-160.
- Mayr A., Bachmann P.A., Siegl G., Mahnel H. & Sheffy B.E. (1968). Characterization of a small porcine DNA virus. *Arch Gesamte Virusforsch*. 25(1): 38-51.
- Meszaros I., Olsasz F., Csagola A., Tijssen P. & Zadori Z. (2017). Biology of Porcine Parvovirus (Ungulate parvovirus 1). *Viruses*. 9(12): 393.

- Nguyen L.T., Schmidt H.A., Von Haeseler A. & Minh B.Q. (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*. 32(1): 268-274.
- Nguyen Tran Trung, Tran Quoc Dung, Dinh Thi Ngoc Thuy, Vu Thi Tien, Do Vo Anh Khoa & Nguyen Thi Dieu Thuy (2019). Detection of porcine parvovirus (PPV) in pigs in central provinces of Viet Nam. *Journal of Animal Husbandry Sciences and Technics*. 249: 110-115.
- Oh W.T., Kim R.Y., Nguyen V.G., Chung H.C. & Park B.K. (2017). Perspectives on the evolution of porcine parvovirus. *Viruses*. 9(8): 196.
- Oravainen J., Heinonen M., Tast A., Virolainen J. & Peltoniemi O. (2005). High porcine parvovirus antibodies in sow herds: prevalence and associated factors. *Reproduction in Domestic Animals*. 40(1): 57-61.
- Pozzi P.S. & Alborali G.L. (2012). Reproductive diseases in sows (*Sus scrofa domestica*): a review. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 67(1): 24-33.
- Ranz A.I., Manclus J.J., Diaz-Aroca E. & Casal J.I. (1989). Porcine parvovirus: DNA sequence and genome organization. *Journal of General Virology*. 70(Pt 10): 2541-2553.
- Ren X., Tao Y., Cui J., Suo S., Cong Y. & Tijssen P. (2013). Phylogeny and evolution of porcine parvovirus. *Virus Research*. 178(2): 392-397.
- Saekhow P. & Ikeda H. (2015). Prevalence and genomic characterization of porcine parvoviruses detected in Chiangmai area of Thailand in 2011. *Microbiology and Immunology*. 59(2): 82-88.
- Stojanac N., Gagrčin M., Stevančević O., Stančić I. & Potkonjak A. (2012). Passive and active immunity against parvovirus infection in piglets. *African Journal of Biotechnology*. 11(30): 7771-7774.
- Streck A., Gava D., Souza C., Gonçalves K., Bortolozzo F., Wentz I. & Canal C. (2011). Presence of porcine parvovirus in sera from pigs is independent of antibody titers. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 124: 242-246.
- Xing X., Zhou H., Tong L., Chen Y., Sun Y., Wang H. & Zhang G. (2018). First identification of porcine parvovirus 7 in China. *Archives of Virology*. 163(1): 209-213.
- Xu X.G., Chen G.D., Huang Y., Ding L., Li Z.C., Chang C.D., Wang C.Y., Tong D.W. & Liu H.J. (2012). Development of multiplex PCR for simultaneous detection of six swine DNA and RNA viruses. *Journal of Virological Methods*. 183(1): 69-74.