

Nghiên cứu khoa học

XÁC ĐỊNH TOPOTYPE VÀ SO SÁNH DI TRUYỀN VIRUS LỞ MỒM LONG MÓNG TỪ HEO BỆNH VÀ TRONG VAXIN

*Nguyễn Ngọc Hải^{1,2}, Nguyễn Thị Hồng Diễm¹,
Nguyễn Thị Phương Bình², Trần Hoàng Anh Thu², Nguyễn Trung Quân²*

TÓM TẮT

Bệnh LMLM xảy ra trên heo tại Việt Nam chủ yếu là do virus LMLM thuộc serotype O. Hiệu quả của vaccin phòng bệnh LMLM không chỉ phụ thuộc vào serotype mà còn chịu ảnh hưởng của toptype của các chủng virus LMLM. Trong năm 2019, nhiều trại heo tuy đã được tiêm phòng vaccin LMLM nhưng đàn heo vẫn bị bệnh nghiêm trọng. Nghiên cứu được thực hiện với 15 chủng virus LMLM thu nhận được từ heo bị bệnh tại các trại heo thuộc một số tỉnh phía Nam Việt Nam và các chủng LMLM từ 3 loại vaccin LMLM thương mại ở Việt Nam. Kết quả định danh và phân tích di truyền đã xác định 15/15 chủng virus thực địa trong nghiên cứu này đều thuộc SEA toptype/dòng Mya-98, khác hoàn toàn với toptype của các chủng virus LMLM trong vaccin (ME-SA or Euro-SA). Tỷ lệ tương đồng trình tự nucleotide giữa 15 chủng virus LMLM thực địa và 3 chủng virus LMLM trong vaccin ở mức thấp (78,9 – 82,5%). Kết quả nghiên cứu cho thấy, tình trạng bệnh LMLM vẫn xảy ra ở các trại heo tại Việt Nam khi đã được tiêm vaccin LMLM có thể liên quan đến sự không phù hợp kháng nguyên giữa chủng virus LMLM vaccin và chủng virus LMLM thực địa, do vậy và cần có những nghiên cứu tiếp theo về vấn đề này để có chiến lược sử dụng vaccin phù hợp.

Từ khoá: Virus lở mồm long móng, toptype, cây sinh dòng, chủng thực địa và vaccin.

Topotype determination and genetic comparison of Foot and mouth disease viruses from infected pigs and vaccine

*Nguyen Ngoc Hai, Nguyen Thi Hong Diem,
Nguyen Thi Phuong Binh, Tran Hoang Anh Thu, Nguyen Trung Quan*

SUMMARY

The occurrence of FMD in pigs in Viet Nam is mainly caused by FMD virus serotype O. The effectiveness of vaccines against FMD depends not only on the serotype, but also influence of toptype of the FMDV strains. In 2019, many pig farms have been vaccinated with FMD vaccine, but the pig herds were still suffered seriously with FMD. This study was conducted with 15 FMDV strains obtaining from the pig farms in some southern provinces, and FMDV strains from 3 commercial FMD vaccines. The genetic analysis showed that 15/15 field FMDV strains in this study belonged to the Mya-98/SEA toptype, it was completely different compared to the toptype of the FMDV strains from the vaccines (ME-SA or Euro-SA). The similarity level of nucleotide sequence of 15 field FMDV strains and 3 vaccine FMDV strains was low (78.9 - 82.5%). The studied result showed that FMD was still occurred in the pig farms in Viet Nam after the pigs were vaccinated with FMD vaccines. This may be related to antigen nonconformity/mismatch between field FMDV strain and vaccine FMDV strain. This issue needs to be studied further so that the strategy of using FMD vaccines will be considered appropriately.

Keywords: FMD virus, toptype, phylogenetic, field and vaccine virus strains.

¹. Bộ môn Bệnh truyền nhiễm và Thú y cộng đồng, Khoa Chăn nuôi – Thú y, ĐH Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

². Phòng Chẩn đoán – Xét nghiệm thú y Hàn Việt, Khoa Chăn nuôi – Thú y, ĐH Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus gây bệnh lở mồm long móng (LMLM) được phân loại huyết thanh học thành 7 serotype là A, O, C, Asia1, SAT-1, SAT-2 và SAT-3; và không có miễn dịch chéo với nhau. Tại Việt Nam, bệnh LMLM trên heo được kiểm soát qua việc tiêm vaccin bắt buộc, dù vậy bệnh LMLM vẫn xảy ra ở nhiều tỉnh/thành trên cả nước.

Theo Nick J. Knowles *et al.* (2005), virus LMLM serotype O có 10 toptotype: Cathay, Middle East-South Asia (ME-SA), South-East Asia (SEA), Europe-South America (Euro-SA), Indonesia-1 (ISA-1), Indonesia-2 (ISA-2), East Africa 1 (EA-1), East Africa 2 (EA-2), East Africa 3 (EA-3) và West Africa. Tại Việt Nam, virus LMLM gây bệnh trên đàn heo được ghi nhận phổ biến thuộc serotype O-Cathay, O-SEA/Mya-98, O-ME-SA/PanAsia (Cục Thú y, 2019). Vaccin phòng bệnh LMLM được sử dụng phổ biến ở Việt Nam chứa các kháng nguyên serotype O gồm các toptotype như: Manisa/ME-SA, O3039/Cathay, O1/Campos/Euro-SA.

Các nghiên cứu gần đây về hiệu quả của vaccin LMLM trên heo đã ghi nhận sự thất bại khi tiêm vaccin phòng bệnh LMLM trên đàn heo nhiễm các toptotype khác nhau trên thực địa (Hye-Eun Jo *et al.*, 2019; Mana Mahapatra *et al.*, 2017). Phân tích di truyền và huyết thanh học cho thấy có sự khác biệt về tương đồng di truyền và miễn dịch giữa các chủng, các toptotype trong vaccin và các chủng gây bệnh thực địa (Mana Mahapatra *et al.*, 2017; Galdo Novo *et al.*, 2018).

Nghiên cứu nhằm xác định toptotype của virus gây bệnh LMLM trên heo ở 1 số tỉnh phía Nam Việt Nam và so sánh tương đồng di truyền với các toptotype virus LMLM trong vaccin được sử dụng ở Việt Nam để có thêm cơ sở khoa học cho

các nghiên cứu sâu hơn về vaccin LMLM trên heo tại Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Vật liệu, hoá chất dùng cho phản ứng RT-PCR: GeneJET Viral DNA/RNA Purification kit (Thermo, Mỹ), GoTaq G2 Green master mix (Promega, Mỹ), tinh sạch ADN từ gel sau khi điện di bằng bộ kit GeneJET gel extraction and DNA micro (Thermo, Mỹ), kit GeneJET plasmid miniprep (Thermo, Mỹ), primer xuôi, ngược nhân bản gen VP1 (Thermo, Mỹ).

- Vật liệu, hoá chất dùng cho việc tạo dòng giải trình tự gián tiếp gen VP1: Môi trường LB (Luria Bertani), kháng sinh ampicillin, IPTG, X-Gal, môi trường SOC, vector tạo dòng pGEM - T Easy (Promega, Mỹ), vi khuẩn *E. coli* DH5α (Takara, Nhật Bản).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Ly trích ARN mẫu

Tổng cộng 15 mẫu bệnh phẩm (da tổn thương, mụn nước) được thu thập ngẫu nhiên trên heo có biểu hiện lâm sàng nghi ngờ bị bệnh LMLM (bảng 1) và 3 mẫu vaccin Aftopor (Merial), Aftogen OLEO (Amavet) và CAVac FMD (AVAC Vietnam) thương mại trên thị trường Việt Nam năm 2020 còn nguyên lọ được lấy ngẫu nhiên từ các trại heo để thực hiện xét nghiệm RT-PCR.

Mẫu bệnh phẩm thực địa (da tổn thương, mụn nước): Ly trích ARN mẫu bằng bộ kit GeneJET Viral DNA/RNA purification (Thermo, Mỹ).

Mẫu vaccin: Thực hiện ly trích ARN của virus LMLM trong vaccin theo 2 bước: tách virus LMLM khỏi chất bổ trợ nhũ

dầu, ly trích ARN virus vacxin thu được mẫu bằng bộ kit GeneJET viral DNA/RNA purification (Thermo, Mỹ). Quy trình tách virus LMLM khỏi chất bổ trợ nhũ dầu được thực hiện như sau: Lấy một thể tích vacxin LMLM nhũ dầu và một thể tích chloroform trộn đều cẩn thận bằng vortex, sau đó ly tâm ở tốc độ 4.000 vòng/phút trong 15 phút, hút lấy phần dịch trong bên trên và tiếp tục ly tâm phần dịch trong này ở 4.000 vòng/phút trong 15 phút, thu lấy phần dịch trong cuối để ly trích ARN virus LMLM.

2.2.2. Thu nhận gen của virus LMLM bằng kỹ thuật RT-PCR

Thực hiện xét nghiệm RT-PCR phát hiện gen VP1 của virus LMLM với cặp mồi VN-OF sens 5'- AGATTTGTGAAAGT-DACACCA- 3' và VN-VP1R reverse 5'- CATGTCYTCYTGTCATCTGGTT-3'. Kích thước đoạn ADN nhân bản là 650 bp (Asad Ullah *et al.*, 2014). Quy trình RT-PCR được thực hiện theo Phòng Chẩn đoán – Xét nghiệm thú y Hàn Việt (bảng 1).

Bảng 1. Các mẫu bệnh phẩm từ heo nghi ngờ mắc bệnh lở mồm long móng

STT	Ký hiệu mẫu	Địa điểm	Thời gian thu mẫu	Loại mẫu
1	HVDN1	Đồng Nai	1/2019	Da móng chân, mụn nước
2	HVBD1	Bình Dương	1/2019	Da móng chân, mụn nước
3	HVBT1	Bến Tre	1/2019	Mụn nước
4	HVBD2	Bình Dương	2/2019	Da móng chân
5	HVBD3	Bình Dương	2/2019	Da móng chân
6	HVDN2	Đồng Nai	2/2019	Mụn nước
7	HVDN3	Đồng Nai	6/2019	Mụn nước
8	HVBD4	Bình Dương	2/2019	Da móng chân
9	HVBD5	Bình Dương	3/2019	Da móng chân, mụn nước
10	HVBD6	Bình Dương	3/2019	Da móng chân
11	HVBD7	Bình Dương	3/2019	Da móng chân
12	HVBD8	Bình Dương	4/2019	Da móng chân, mụn nước
13	HVBD9	Bình Dương	4/2019	Da móng chân, mụn nước
14	HVTG1	Tiền Giang	4/2019	Mụn nước
15	HVBD10	Bình Dương	5/2019	Da móng chân

2.2.3. Tạo dòng vi khuẩn mang gen VP1 của virus LMLM

Sản phẩm RT-PCR của gen VP1 được tinh sạch bằng bộ kit GeneJET gel extraction and DNA micro kit. ADN thu nhận được sau khi tinh sạch được sử dụng để gắn vào vector

tạo dòng pGEM - T Easy, và sau đó plasmid được kiểm tra dương tính với gen VP1 trước khi được dòng hoá vào chủng *E. coli* DH5 α . Chọn lọc vi khuẩn dòng hoá gen VP1 theo kiểu hình gen lacZ phân giải cơ chất Xgal. Chọn khuẩn lạc có màu trắng (bảng 2).

Bảng 2. Các chủng virus lở mồm long móng tham khảo trong nghiên cứu để so sánh trình tự và xây dựng cây phả hệ

STT	Tên chủng	Nơi phân lập	Năm	Phân nhóm	Mã số truy cập Ngân hàng Gen	Ghi chú
1	O/Hongkong /3039/2004	Hồng Kông	2004	Cathay	JF968170	Vaccin
2	TAW/12/1998	Trung Quốc	2014	Cathay	KJ606982	Vaccin
3	O1manisa iso87	Thổ Nhĩ Kỳ	2004		AY593823	Vaccin
4	Omanisa	Hàn Quốc	2012		DI431238	Vaccin
5	O/TUR/5/2009	Thổ Nhĩ Kỳ	2009	PanAsia	KP202878	Vaccin
6	O1campos51 iso51	Argentina		Euro-SA	AY593837	Vaccin
7	O1Campos	Brazil		Euro-SA	AJ320488	Vaccin
8	O/JPN/2000	Nhật Bản	2000	PanAsia	AB079061	
9	IRN/31/2009	Iran	2009	PanAsia	KY091284	
10	O/PAK/16/2010	Pakistan	2010	PanAsia	KY091285	
11	EGY 10/2011	Ấn Độ	2011	PanAsia	KC440883	
12	BHU/3/2009	Bhutan	2009	Ind-2001d	KM921814	
13	O/VIT/19350/2015	Việt Nam	2015	Ind-2001d	KY399465	
14	O/VIT/1828OB/2015	Việt Nam	2015	Ind-2001d	KY399467	
15	O/LAO/11/2015	Lào	2015	Ind-2001d	KY399460	
16	O/MYA/2493/2015	Myanmar	2015	Ind-2001d	KY399469	
17	O/HKN/21/70	Hồng Kông	2000	Cathay	AJ294911	
18	O/VIT/17-19073/2017	Việt Nam	2017	Cathay	MN250314	
19	O/VIT/18-3766/2018	Việt Nam	2018	Cathay	MN250315	
20	O/CAM/3/98	Campuchia		Cam-94	AJ294910	
21	O/VIT/2/97	Việt Nam		Cam-94	AJ294929	
22	O/LAO/3/2008	Lào	2008	Mya-98	HQ116181	
23	O/VN/QB88/2009	Việt Nam	2009	Mya-98	GU582115	
24	O/VN/SL01/2010	Việt Nam	2010	Mya-98	HQ260713	
25	O/GZ/CHA/2010	Trung Quốc	2010	Mya-98	JN998086	
26	O/VN/HN2/2014	Việt Nam	2014	Mya-98	KM588389	
27	O/SKR/2014-JC02D111	Hàn Quốc	2014	Mya-98	MG257782	
28	O/SKR/2015-JC71GHW	Hàn Quốc	2015	Mya-98	MG257786	
29	O/SKR/GJ/2016	Hàn Quốc	2016	Mya-98	KX534089	
30	O/VN/PT555/2018	Việt Nam	2018	Mya-98	MN379784	
31	O/VN/HN586/2018	Việt Nam	2018	Mya-98	MN379788	
32	O/VN/HT44/2018	Việt Nam	2018	Mya-98	MN379820	

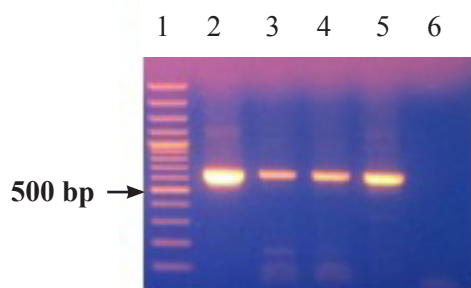
2.2.4. Xây dựng cây phả hệ và phân tích tương đồng di truyền giữa các chủng virus LMLM thực địa và tham khảo

Thu nhận plasmid từ vi khuẩn đã dòng hoá gen VP1 của virus LMLM thực địa và gửi đi giải trình tự gen 2 chiều VP1 tại Công ty Nam Khoa

(Tp. Hồ Chí Minh). Trình tự nucleotide gen VP1 thu nhận được từ các chủng dòng hoá sẽ được phân tích và xây dựng cây phả hệ của virus LMLM thực địa và tham khảo đã được công bố trên Ngân hàng Gen (bảng 2). Phân tích trình tự nucleotide và amino acid của VP1 bằng phần mềm Sequencher 5.4.6 (Genecodes). So sánh trình tự nucleotide và amino acid của VP1 giữa các chủng thực địa và các trình tự tham khảo bằng phần mềm BioEdit 7.2.6 (Hall, 1999). Xây dựng cây phả hệ để xác định topotype và phân tích mối quan hệ di truyền của các chủng được phân lập bằng phần mềm MEGA 6.06. Cây phả hệ được xây dựng theo phương pháp Neighbor – Joining, chỉ số bootstrap với 1.000 lần lặp lại.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ các mẫu thu nhận được từ heo nghi bệnh LMLM, 15/15 mẫu cho kết quả dương tính với gen VP1 của virus LMLM type O. Toàn bộ 15 sản phẩm RT-PCR đã được tinh sạch và dòng hoá vào tế bào *E. coli* DH5 α , hình thành các khuẩn lạc trắng và được kiểm tra dương tính với gen VP1 được chèn vào. Kết quả giải trình tự đã khẳng định 15 chủng virus thu được là virus LMLM.



Giếng 1: Thang DNA 100 bp
Giếng 2: Đối chứng dương FMDV type O (650 bp)
Giếng 3, 4, 5: Mẫu thực địa
Giếng 6: Đối chứng âm

Hình 1. Kết quả RT-PCR định serotype virus lở mồm long móng trong mẫu bệnh phẩm trên heo thực địa

Phân tích trình tự một phần gen VP1 (bảng 3), 15 chủng virus LMLM khảo sát năm 2019 thuộc dòng Mya-98, có độ tương đồng nucleotide rất cao giữa

các chủng (từ 99,1 – 100%); cho thấy các chủng virus gây bệnh LMLM ở các địa phương khảo sát có mối quan hệ di truyền rất gần, có lẽ có chung một nguồn gốc. Tuy nhiên, 15 chủng virus LMLM trong khảo sát có mức độ tương đồng nucleotide với các chủng virus LMLM tham khảo khác biệt rất lớn; biến động từ 73,6% đến 100%. Riêng với các chủng virus LMLM thuộc dòng Mya-98 tham khảo; 15 chủng virus LMLM thực địa có độ tương đồng nucleotide từ 84,9% - 100%; trong đó độ tương đồng cao nhất là với các chủng tham khảo từ Trung Quốc (92,5 - 93,1%; chủng JN998086) và Hàn Quốc (92,5 - 94,1%). Xét về nguồn gốc di truyền, 15 chủng virus LMLM trong khảo sát có nguồn gốc từ chủng Trung Quốc (JN998086 công bố năm 2010), gần hơn là với các chủng virus LMLM từ Hàn Quốc (MG257782 công bố năm 2014, MG257786 công bố năm 2015 và KX534089 công bố năm 2016). Trung Quốc, Hàn Quốc đều là 2 quốc gia có dịch bệnh LMLM trên heo và có hoạt động giao thương trong lĩnh vực chăn nuôi heo với Việt Nam, vì thế không loại trừ virus LMLM trong khảo sát có nguồn gốc từ các hoạt động thương mại quốc tế trong lĩnh vực nông nghiệp. Kết quả xây dựng cây di truyền dựa trên gen VP1 của 15 chủng virus LMLM thực địa và các chủng tham khảo cũng cho thấy mối liên hệ rất gần giữa các chủng virus LMLM nói trên (hình 2).

Khi so sánh trình tự nucleotide của 15 chủng virus LMLM trong khảo sát (năm 2019) với 6 chủng Mya-98 phân lập tại Việt Nam (1 chủng năm 2009 (GU582115), 1 chủng năm 2010 (HQ260713), 1 chủng 2014 (KM588389) và 3 chủng 2018 (MN379784, MN379788, MN379820), chúng tôi ghi nhận mức tương đồng nucleotide có thể được chia thành 2 nhóm: tương đồng thấp (84,9 - 87,7%) với các chủng virus LMLM dòng Mya-98 được phân lập trong khoảng thời gian 2009, 2010 và 2014; và tương đồng cao (99,1 - 100%) với các chủng virus LMLM dòng Mya-98 được phân lập trong năm 2018. Dựa theo tỷ lệ tương đồng nucleotide của các chủng virus LMLM dòng Mya-98 có thể thấy, virus LMLM tại Việt Nam có tốc độ biến đổi rất nhanh (11,4 - 15,1%) trong thời

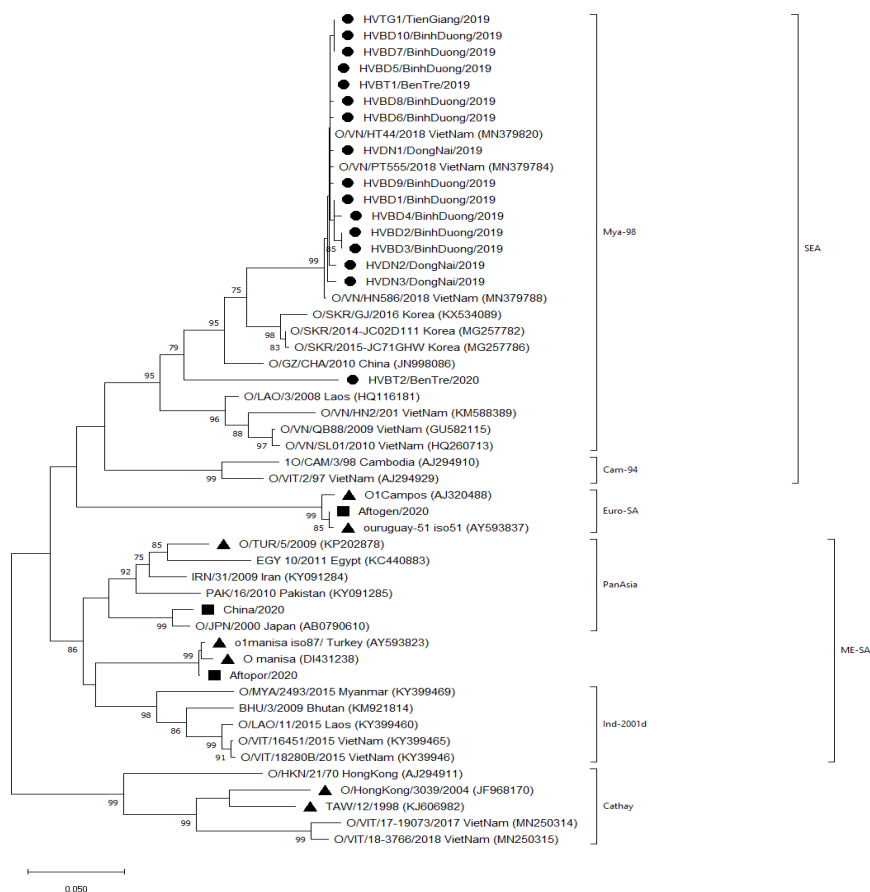
Bảng 3. Tương đồng trình tự nucleotide và amino acid các chủng virus LMLM thực địa và tham khảo

[illegible]

Ghi chú: Tương đồng nucleotide ở phần trên của đường chéo và tương đồng amino acid ở phần dưới của đường chéo

gian 10 năm từ 2009 đến 2019; nghĩa là trung bình khoảng 1,14 - 1,51% mỗi năm. Haydon D. T. *et al.* (2001) đã ghi nhận tỷ lệ thay đổi trình tự nucleotide ở virus LMLM serotype O vào khoảng 1,43%/năm ở Philippine và 0,43%/

năm ở Thổ Nhĩ Kỳ. Tại Đài Loan, Tsai CP *et al.* (2000) ghi nhận tần suất biến đổi nucleotide từ 0,2 – 0,9% trong vòng 2 tháng ở gen VP1 của virus LMLM serotype O phân lập từ heo tại ổ dịch năm 1997.



Hình 2. Cây di truyền dựa trên trình tự nucleotide một phần của gen VP1 - type O của các chủng virus LMLM

Cây di truyền được xây dựng theo phương pháp Neighbor-Joining bằng phần mềm MEGA 6.06. Các con số ở mỗi nhánh đại diện cho phần trăm giá trị bootstrap với 1000 lần lặp lại (Giá trị <70 không được trình bày). ● Các chủng virus LMLM khảo sát; ■ Các chủng virus LMLM vaccin khảo sát (2020); ▲ Các chủng virus LMLM vaccin tham khảo.

Kết quả phân tích trình tự nucleotide sản phẩm RT-PCR từ 3 loại vaccin Aftopor, Aftogen và CAVac FMD cho thấy, chủng virus LMLM trong vaccin Aftopor (2020) thuộc về Manisa/ME-SA toptype; chủng virus LMLM trong vaccin Aftogen (2020) thuộc về O1/Campos/Euro-SA toptype; và chủng virus LMLM trong vaccin CAVac FMD (2020) thuộc về PanAsia/ME-SA toptype. Trong khi đó tất cả 15 chủng virus

LMLM thu được trong nghiên cứu này đều thuộc về Mya-98/SEA toptype. Như vậy, kết quả định danh virus LMLM trong 3 loại vaccin sử dụng phổ biến ở Việt Nam cho thấy, không có vaccin nào có chủng virus vaccin LMLM cùng toptype với các chủng virus LMLM mới nhất (năm 2019) gây bệnh trên heo, thu nhận được ở những tỉnh có mật độ chăn nuôi heo cao tại phía Nam Việt Nam (Bình Dương, Đồng Nai, Tiền Giang, Bến

Tre). Hiệu quả miễn dịch của vaccin LMLM phụ thuộc không chỉ theo serotype, mà còn liên quan đến topotype (Mana Mahapatra *et al.*, 2017; S. Galdo Novo *et al.*, 2017). Phân tích tương đồng di truyền ghi nhận sự khác biệt về trình tự nucleotide của gen VP1 giữa 15 chủng virus LMLM trong nghiên cứu với các chủng virus LMLM trong 3 loại vaccin khảo sát năm 2020. Tỷ lệ tương đồng chỉ ở mức 78,9 - 82,5%; trong đó tương đồng thấp nhất là giữa 15 chủng virus LMLM thực địa và chủng virus LMLM vaccin Aftogen (78,9 - 79,7%); kế đến là với chủng virus LMLM vaccin Aftopor (80,7 - 81,5%); và cao nhất là với chủng virus LMLM vaccin CAVac FMD (81,7 - 82,5%). Kết quả cho thấy có sự khác biệt rất lớn về độ tương đồng trình tự nucleotide giữa 15 chủng virus LMLM thực địa và các chủng virus LMLM vaccin; dao động trong khoảng 17,5 - 21,1%. Tỷ lệ khác biệt này lớn hơn giá trị ngưỡng 15% phân chia các topotype virus LMLM dựa theo gen VP1 (OIE, 2004). Tất cả 15 chủng virus LMLM thực địa đều thuộc topotype SEA (Mya-98), trong khi các chủng virus vaccin thuộc các topotype ME-SA (Aftopor, CAVac FMD), Euro-SA (Aftogen).

Mặt khác, khi so sánh trình tự nucleotide giữa 15 chủng virus LMLM thực địa và 7 chủng virus LMLM vaccin đã được công bố trên Ngân hàng Gen (O/Hongkong/3039/2004 (JF968170), TAW/12/1998 (KJ606982), O1manisa iso87 (AY593823), Omanisa (DI431238), O/TUR/5/2009 (KP202878), O1campos51 iso51 (AY593837) và O1Campos (AJ320488)), tỷ lệ tương đồng ghi nhận được ở mức rất thấp, chỉ trong khoảng 73,8 - 81,5%; trong đó thấp nhất là với các chủng O/Hongkong/3039/2004 và chủng TAW/12/1998 (tương ứng là 73,8 - 74,6% và 74,4 - 75,3%). Kết quả này thấp hơn so với tỷ lệ 80,7 - 81,5% của các chủng virus LMLM vaccin Aftopor (2020) trong nghiên cứu của chúng tôi. Sự khác biệt quá lớn (18,5 - 26,2%) về trình tự nucleotide gen VP1 của 15 chủng virus LMLM thực địa và các chủng virus LMLM vaccin có thể ảnh hưởng đến mức tương đồng kháng nguyên giữa virus LMLM thực địa và vaccin (S. Galdo Novo *et al.*, 2017; Katie

Lloyd-Jones *et al.*, 2017), cũng như hiệu quả bảo hộ của vaccin LMLM trên thực địa. VP1 là một trong các kháng nguyên quyết định đến miễn dịch trung hoà, bảo vệ động vật khỏi bệnh do virus LMLM.

Phân tích độ tương đồng amino acid (bảng 3) của 15 chủng virus LMLM thực địa trong nghiên cứu (năm 2019) ghi nhận tỷ lệ tương đồng rất cao giữa các chủng (98,7 - 100%), và tương đồng khá cao với 6 chủng Mya-98 phân lập tại Việt Nam trước đó (89,1 - 100%), trong đó tương đồng thấp nhất với chủng O/VN/HN2/2014 phân lập năm 2014 (89,1 - 89,7%) và cao nhất là với các chủng virus LMLM được công bố ở Việt Nam năm 2018 (98,7 - 100%). Van Phan Le *et al.* (2016) cũng ghi nhận tỷ lệ tương đồng rất cao (90,1 - 100%) khi phân tích trình tự amino acid của các chủng virus LMLM thuộc dòng Mya-98/SEA topotype phân lập được tại các tỉnh miền Bắc Việt Nam trong giai đoạn 2006 - 2014.

Xét mức độ tương đồng giữa trình tự nucleotide và amino acid giữa 15 chủng virus LMLM thực địa (năm 2019) và các chủng virus LMLM vaccin tham khảo, nghiên cứu ghi nhận tỷ lệ tương đồng giữa trình tự nucleotide thấp hơn rõ so với amino acid, tương ứng là 73,8 - 81,5% và 83,7 - 90,3%. Virus LMLM có bộ gen là ARN vì thế có tốc độ biến đổi di truyền nhanh, tuy nhiên sự thay đổi nucleotide có thể không làm thay đổi amino acid tương ứng, do vậy tỷ lệ tương đồng nucleotide thường thấp hơn so với tỷ lệ tương đồng amino acid khi so sánh phân tử giữa các chủng virus LMLM (Jong-Hyeon Park *et al.*, 2018).

Mức tương đồng thấp về trình tự amino acid của VP1 ở 15 chủng virus LMLM thực địa trong nghiên cứu với các chủng virus vaccin LMLM (83,7% đến 90,3%), có thể là nguyên nhân lý giải chỉ số tương đồng kháng nguyên (r) rất thấp giữa các chủng virus LMM phân lập được trên thực địa và chủng virus LMLM vaccin, cũng như sự thất bại của chương trình tiêm phòng vaccin LMLM trên heo tại Việt Nam và một số quốc gia (Jong-Hyeon Park *et al.*, 2018).

IV. KẾT LUẬN

Virus LMLM gây bệnh trên heo trong nghiên cứu được thu thập mẫu ở một số tỉnh/thành phía Nam Việt Nam năm 2019 thuộc dòng Mya-98/SEA topotype. Tuy nhiên theo Cục Thú y (2019), các topotype khác như O-Cathay hay O/ME-SA dòng PanAsia cũng đã được thông báo lưu hành ở Việt Nam. Tương tự như ở các quốc gia khác, phân tích di truyền cho thấy virus LMLM gây bệnh trên heo năm 2019 ở Việt Nam có tốc độ biến đổi nhanh (Haydon D. T. *et al.*, 2001; Tsai CP *et al.*, 2000), và có mối quan hệ gần với các chủng virus LMLM gây bệnh trên heo ở Trung Quốc và Hàn Quốc. Kết quả của nghiên cứu là cơ sở khoa học cho chiến lược tiêm phòng vaccin LMLM tại Việt Nam, như định kỳ phân tích di truyền và đánh giá sự tương đồng kháng nguyên giữa chủng virus LMLM thực địa và vaccin để có sự lựa chọn vaccin phù hợp, cũng như tăng cường các biện pháp kiểm dịch trong thương mại quốc tế sản phẩm nông nghiệp, nhất là mua bán heo giống từ các nước vẫn chưa kiểm soát được hoàn toàn bệnh LMLM.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Thú y, 2019. Nghiên cứu định type và chủng virus gây bệnh lở mồm long móng trên heo. *Tạp chí Chăn nuôi Việt Nam*.
2. Nick J. Knowles, Alan R. Samuel, Paul R. Davies, Rebecca J. Midgley and Jean-François Valarcher, 2005. Pandemic strain of foot-and-mouth disease virus serotype O. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 11, No. 12.
3. Mana Mahapatra, Sasmita Upadhyaya, Sharie Aviso, Aravindh Babu, Geoff Hutchings, Satya Parida, 2017. Selection of vaccine strains for serotype O foot-and-mouth disease viruses (2007–2012) circulating in Southeast Asia, East Asia and Far East. *Vaccine* 35, 7147–7153.
4. Galdo Novo S., V. Malirat, E.D. Maradei, A.R. Pedemonte, A.M. Espinoza, E. Smitsaart, K.N. Lee, J.H. Park, I.E. Bergmann, 2018. Efficacy of a high quality O1/Campos foot-and-mouth disease vaccine upon challenge with a heterologous Korean O Mya98 lineage virus in pigs. *Vaccine*, 36(12): 1570-1576.
5. Hye-Eun Jo, Mi-Kyeong Ko, Joo-Hyung Choi, Sung Ho Shin, Hyundong Jo, Su-Hwa You, Min Ja Lee, Su-Mi Kim, Byoungan Kim, Jong-Hyeon Park, 2019. New foot-and-mouth disease vaccine, O JC-R, induce complete protection to pigs against SEA topotype viruses occurred in South Korea, 2014–2015. *J. Vet. Sci.*, e42.
6. Haydon, D. T., A. R. Samuel, and N. J. Knowles, 2001. The generation and persistence of genetic variation in foot-and-mouth disease virus. *Prev. Vet. Med.*, 51:111–124.
7. Tsai CP, Pan CH, Liu MY, Lin YL, Chen CM, Huang TS, Cheng IC, Jong MH, Yang PC, 2000. Molecular epidemiological studies on foot-and-mouth disease type O Taiwan viruses from the 1997 epidemic. *Vet. Microbiol.*, 74(3):207-16.
8. S. Galdo Novo, V. Malirat, E.D. Maradei, A.M. Espinoza, E. Smitsaart, A.R. Pedemonte, N. Mattion, I.E. Bergmann, 2017. Antigenic and immunogenic spectrum of foot-and-mouth disease vaccine strain O1 Campos against representative viruses of topotypes that circulated in Asia over the past decade. *Vaccine*, 35, 2303–2307.
9. Jong-Hyeon Park, Dongseob Tark, Kwang-Nyeong Lee, Ji-Eun Chun, Hyang-Sim Lee, Young-Joon Ko, Soo-Jeong Kye, Yong-Joo Kim, Jae-Ku Oem, Soyeon Ryoo, Sung-Bin Lim, Seo-Yong Lee, Joo-Hyung Choi, Mi-Kyeong Ko, Su-Hwa You, Myoung-Heon Lee, Byoungan Kim, 2018. Control of type O foot-and-mouth disease by vaccination in Korea, 2014–2015. *J. Vet. Sci.*, 19(2), 271-279.
10. Asad Ullah, Mohammad Zahid Mustafa, Muhammad Azam Kakar, Ferhat Abbas, Sara Naudhani, Jamil Ahmad, 2014. Multiplex one-step RT-PCR for detection and serotyping of foot and mouth disease virus in Balochistan. *J. App. Em. Sc.*, Vol 5, Issue 2.

Ngày nhận 7-1-2021

Ngày phản biện 11-2-2021

Ngày đăng 1-5-2021