

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH  
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**



*Bài tiểu luận*

# **PROTEIN TÁI TỔ HỢP VÀ VIRUS DỊCH TẢ HEO**

**GVHD: PGS.TS Nguyễn Ngọc Hải**

**SVTH : Nguyễn Văn Khoa**

**Lớp : DH06SH**

**MSSV: 06126060**

*Tp Hồ Chí Minh, tháng 10 năm 2009*

## Đặc vấn đề

Bệnh dịch tả heo (DTH) do một loại virus pestivirus, họ Flaviviridae, đó là bệnh truyền nhiễm gây tiêu chảy nặng, lây lan nhiều, và không có thuốc đặc trị. Bệnh ở lợn mọi lứa tuổi với nhiều thể khác nhau, gây chết hoặc không, lợn nhiễm bệnh duy trì mầm bệnh lâu dài gây thiệt hại trầm trọng về mặt kinh tế cho người chăn nuôi. Virus xâm nhập chủ yếu qua đường tiêu hóa, qua niêm mạc, qua vết thương ở da và một phần qua hệ thống hô hấp. Đặc điểm quan trọng là thường thấy dịch tả heo cấp tính là xuất huyết điểm. Trong giai đoạn đầu thì bệnh có dấu hiệu lâm sàng giống như bệnh phó thương hàn. Theo các nghiên cứu cho thấy CSFV lây truyền theo chiều ngang và theo chiều dọc. Lây truyền virus theo chiều ngang tiếp xúc trực tiếp hay không trực tiếp giữa các vật nuôi, CSFV cũng có thể lây truyền theo chiều dọc từ mầm bệnh trong các phôi (Van Oirschot, 1992). Lây truyền theo chiều dọc thường dẫn đến chết non, hoặc những heo con sinh ra bị bệnh, do heo mẹ mang bệnh (carrier sows) thường sinh ra một số heo con bị nhiễm bệnh (Van Oirschot, 1992; Van Oirschot and Terpstra, 1977). Những heo con bị nhiễm bệnh này sẽ thải ra một lượng lớn virus, và các triệu chứng lâm sàng có thể xuất hiện sau một vài tháng. Do đó, chúng bị lây nhiễm trong suốt đời sống và sẽ không dễ để phát hiện (Van Oirschot, 1992).

Cho nên, việc đầu tiên là chuẩn đoán sớm để lập vùng để có áp dụng các biện pháp dập dịch. Ngay khi phương pháp chuẩn đoán được xây dựng, việc tiếp theo cần thực hiện là ngăn chặn bằng một loại vaccin và chương trình tiêm phòng chắc chắn, loại thải sớm heo mắc bệnh. Và cho đến nay vẫn chưa có một loại vaccine bất hoạt nào có hiệu quả trong việc bảo hộ heo chống lại virus dịch tả. Mặc dù vaccine nhược độc an toàn và có hiệu quả chống lại dịch tả heo nhưng nhược điểm chúng ta không thể phân biệt được giữa heo được chủng bằng vaccine nhược độc và heo bị nhiễm virus thực địa. Cộng đồng châu Âu cũng đã nỗ lực tìm ra các vaccin phòng bệnh và chọn ra những con heo bị nhiễm với hy vọng có thể dập tắt được dịch. Tuy nhiên, điều đó không thể thực hiện được vì lý do không thể phân biệt được heo nhiễm từ vaccin. Do đó, vaccin đã cấm sử dụng cuối năm 1990 trước khi thị trường chung trong nội địa châu Âu được thiết lập, chỉ cho phép buôn bán sản phẩm từ heo không có kháng thể kháng CSFV. Những qui định khắc khe đã ảnh hưởng việc buôn bán các sản phẩm từ heo ở các quốc gia có sử dụng vaccin.

Cho nên, ở các nước châu Âu đã cố gắng tìm ra loại vaccin mới với đặc tính có khả năng phân biệt được heo nhiễm CSFV do vaccin hay tự nhiên (DIVA), và đồng thời cũng phát triển phương pháp chuẩn đoán để phát hiện sớm các heo bị nhiễm CSFV. Những ứng dụng về tái tổ hợp đã cho phép đã cho phép tạo ra loại vaccin tái tổ hợp đáp ứng được những yêu cầu trên, và cùng với đó là hai bộ test để phát hiện

virus là Bayer's Bayovac® CSF với Ceditest Erns ELISA (Đức) và Intervet's Porcilis® Pesti với Chekit CSF Erns ELISA. (Hà Lan).

## A. Virus dịch tả heo *pestis suum*

### I. Vài nét về bệnh dịch tả heo

Bệnh dịch tả lợn lần đầu tiên ghi nhận ở Mỹ vào năm 1833 và đến 1855 bệnh lây lan ra toàn nước Mỹ. Sau đó bệnh lan ra các nước châu Mỹ, lan ra châu Âu và châu Á, châu Phi và châu Úc.

Ở nước ta bệnh DTLCD được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1923-1924. Dịch phát nặng ở miền Bắc vào năm 1959. Từ 1975 đến năm 1979 dịch có phần lắng dịu. Nhưng đến năm 1980 dịch lại phát ra ở 13 tỉnh biên giới (Vũ Đình Tiến, 1980).

Nguồn bệnh chủ yếu là do lợn bệnh, lợn mang trùng. Đặc biệt nguy hiểm là lợn bệnh không có biểu hiện triệu chứng lâm sàng, lợn bệnh lưu niên. Những nguồn lợn bệnh này gieo rắc mầm bệnh qua phân, nước tiểu dịch mũi, nhiễm vào thức ăn, nước, đất, các dụng cụ chăn nuôi, các phương tiện vận chuyển v.v...

Các công trình nghiên cứu cho thấy, virus không thay đổi đặc tính qua tiếp đời liên tiếp, nhưng tác động mạnh yếu khác nhau tùy ổ dịch (Jactot, 1939).

Giống lợn lang miền Nam Trung Bộ có tính cảm thụ cao với virus. Tiêm 1/500 ml máu bệnh cho lợn gây chết 100%. Giống lợn này cảm thụ với các giống bệnh dịch tả lợn ở nơi khác như giống virus Angeri, virus Bắc Bộ và Trung Bộ.

Qua kết quả nghiên cứu về tính gây bệnh và tính kháng nguyên của 3 chủng phân lập được ở Hà Nội, Hà Tây và Nghệ An tác giả Trần Minh Châu (1970) đã chỉ ra rằng 3 chủng này được truyền đời qua lợn có đặc điểm không giống nhau. Chủng Nghệ An gây bệnh cho lợn ở thể thứ cấp điển hình, chủng Hà Tây gây bệnh nhưng bệnh tích không điển hình. Tất cả các chủng này đều giết lợn, chủng có độc lực mạnh là chủng Nghệ An với log LD50 là 10,5. Các chủng đều có tính kháng nguyên chung với chủng nhược độ vacxin (chủng nhược độ III54). Lợn được tiêm phòng vacxin đều được bảo hộ 100% khi công các chủng cường độ được phân lập nói trên.

Nguyên nhân chính làm dịch lan rộng là các loại lợn giống được chuyển đi từ nơi có ổ dịch sang nơi mới, hoặc ở những vùng có tập quán nuôi nái, do loại thải lợn bệnh không triệt để, virus có điều kiện tồn tại, hoặc ở những nơi lợn chưa được tiêm phòng hoặc tiêm phòng chưa triệt để.

Theo Lê Độ (1981) dịch thường xảy ra vào vụ đông xuân, qua tổng kết 10 năm (1966-1980) thì khoảng 60% ổ dịch phát ra tháng 1, 2, 3. Cao nhất là tháng 2 (khoảng 30%), các tháng khác trong năm đều có dịch.

Theo Trịnh Văn Thịnh (1982). Lợn ở các lứa tuổi đều mắc bệnh, nhưng nặng nhất là lợn con theo mẹ, lợn sau cai sữa.

## II. Đặc điểm virus dịch tả heo ( CSFV)

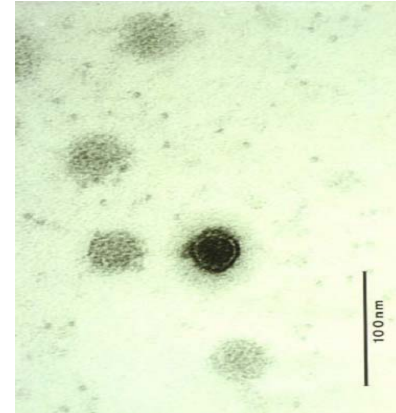
1. Phân loại: chi Pestivirus. Họ Flaviridae

2. Hình thái:

Virus dịch tả heo thuộc ARN virus, chuỗi đơn ARN ( dài 12.3kp)

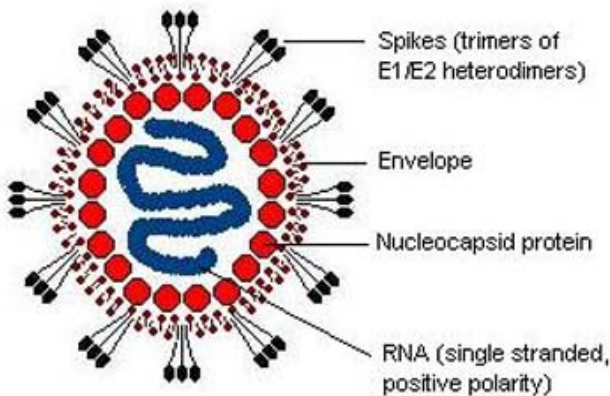
Vỏ bọc là lipoprotein. Đường kính 29nm

Dưới kính hiển vi điện tử virus có cấu tạo hình cầu với nucleocapside đối xứng, khối bao bọc bởi 1 màng ngoài ( envelop). Virion có đường kính 40-50nm



Các virus CSF

3. Cấu trúc bộ gen



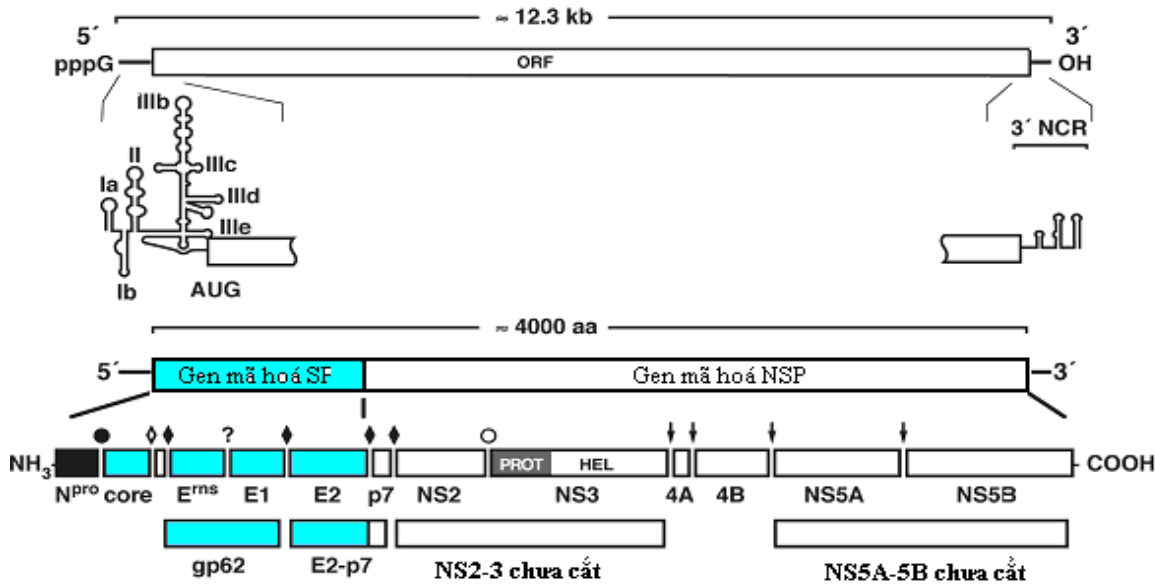
Cấu trúc của virus dịch tả heo

Nguồn :

<http://www.thepigsite.com/pighealth/article/447/classical-swine-fever-csf-hog-cholera-hc>

Bộ gen hoàn chỉnh của 6 chủng virus dịch tả heo được giải mã trong thập niên qua, RNA virus mã hoá 4 protein cấu trúc là C, E<sup>ms</sup>, E1 và E2 và 8 protein không cấu trúc N<sup>pro</sup>, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A và NS5B, chứa một khung đọc mở nằm ở bên sườn của 5'-UTR và 3'-UTR mã hoá một polyprotein lớn với khoảng 3900 amino acid. Polyprotein này được cắt bởi protease được mã hoá bởi virus và tế bào vật chủ để tạo nên protein trưởng thành của virus. Trình tự của sản phẩm gen đọc theo khung đọc mở là:

$\text{NH}_2\text{-(N}^{\text{pro}}\text{-C-E}^{\text{ms}}\text{-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B)-}$



### Cấu trúc bộ gen *Pestivirus* (Brett D. L., 2007)

Một polyprotein lớn được dịch mã từ RNA của virus sẽ được xử lý thành những protein virus riêng biệt. Protein đầu tiên mã hoá là N<sup>pro</sup> một protein không cấu trúc có nhiệm vụ phân cắt vị trí N<sup>pro</sup>/C. Peptidase ký chủ phân cắt những vị trí C/E<sup>ms</sup>, E1/E2, E2/p7 và p7/NS2 với sự phân cắt không hoàn toàn ở vị trí E2/p7. NS2-3 được phân cắt bởi autoprotease NS2. Sự phân cắt của polyprotein hình thành NS4A, NS4B, NS5A và NS5B được thuỷ phân bởi enzyme protease serine NS3-4A.

❖ N<sup>pro</sup> là autoprotease không cấu trúc có hoạt tính thuỷ phân protein. N<sup>pro</sup> không cần thiết đối với sự sao chép virus. N<sup>pro</sup> cũng hoạt động như một chất đối kháng của sự hoạt hoá IRF-3 và sự sản xuất ra IFN, ức chế sự phiên mã IRF-3 ở những tế bào nhiễm virus DTH. Những đột biến bỏ đi N<sup>pro</sup> của virus DTH đã được đề xuất như những dự tuyển vaccin virus sống.

#### ☞ Protein cấu trúc

C (mã hoá protein p14): là protein của nucleocapsid. Đầu cuối C (C-terminus) của protein C ở virus DTH đã được xác định và được định vị ở phần kỵ nước của chuỗi peptide tín hiệu bên trong (internal signal peptide) khởi đầu sự di chuyển của E<sup>ms</sup> vào trong khoang mạng lưới nội chất.

E<sup>ms</sup> (mã hoá protein gp44/48), E1(gp33), E2(gp55): là các protein vỏ. E2 và E<sup>ms</sup> có tính kháng nguyên mạnh nhất. E<sup>ms</sup> có tác dụng hỗ trợ thải virus qua một màng đặc biệt, được tiết ra từ tế bào nhiễm, đặc điểm nổi bật của E<sup>ms</sup> là hoạt tính ribonuclease với tính chuyên biệt đối với gốc uridine. Những kháng thể ức chế hoạt tính ribonuclease có khuynh hướng trung hoà tính nhiễm virus, sự đột biến ở E<sup>ms</sup> phá huỷ hoạt tính ribonuclease gây nên gia tăng số lượng virus. E<sup>ms</sup> tái tổ hợp là một độc

chất đối với tế bào bạch huyết trong ống nghiệm, có thể kết hợp với sự giảm bạch cầu ở nhiễm tự nhiên. Mặc dù độc tính tế bào là một đặc điểm nổi bật của những enzyme ribonuclease hoà tan khác nhưng người ta chưa rõ là hoạt tính ribonuclease của E<sup>rns</sup> có liên quan đến độc tính của nó hay không. Vùng đầu cuối C (C-terminal) của E<sup>rns</sup> có thể khởi động sự di chuyển của nó qua màng tế bào, có thể coi như là mục tiêu hoặc chức năng trong tế bào. Tuy nhiên, E<sup>rns</sup> tái tổ hợp cũng có thể nối một cách vững chắc với bề mặt tế bào qua sự tương tác với glycosaminoglycan và ức chế sự lây nhiễm.

E1 và E2 là những protein màng không thể thiếu. E2 của virus DTH tái tổ hợp có thể kết hợp với các tế bào và ngăn chặn sự lây nhiễm của virus DTH và BVD. Mặc dù vai trò quan trọng của những glycoprotein ở virus là lắp ráp và tiếp nhận nhưng những kháng thể đối với E<sup>rns</sup> hoặc E2 có thể trung hoà tính lây nhiễm của virus và cả hai kháng nguyên này có thể tạo ra tính sinh miễn dịch bảo vệ.

**Protein p7** theo sau những protein cấu trúc, gồm một vùng đảm đương nhiệm vụ trung tâm đối với việc tách đầu cuối kỵ nước và cần cho sự sản sinh của virus lây nhiễm nhưng không đòi hỏi trong quá trình sao chép RNA. P7 của pestivirus được phân cắt một cách không hiệu quả từ E2 qua peptidase đặc biệt. E2-p7 không phân cắt không cần thiết đối với sự sao chép trong nuôi cấy tế bào và cả hai E2-p7 và p7 giúp tế bào kết hợp với nhau. Tuy nhiên, chưa biết rõ p7 là một protein cấu trúc hay không cấu trúc mặc dù nó không được phát hiện trong virus tinh sạch. Pestivirus có p7 thì có thể hình thành những kênh ion tham gia trong sự lắp ráp và tiếp nhận của virus.

#### ☞ Protein không cấu trúc

Protein NS2 là một enzyme thuỷ phân protein chứa cysteine đã được nhận diện. Sự phân cắt NS2-3 thiết yếu đối với sự sao chép RNA của pestivirus và hiệu quả phân cắt NS2-3 được điều chỉnh bởi một chaperone tế bào và có thể xác định tính gây bệnh tế bào. Vùng NS2-3 tham gia lắp ráp virus.

NS3 chứa một vùng protease serine ở đầu cuối N và một helicase RNA ở đầu cuối C. Protease serine NS3 đòi hỏi NS4A như là một yếu tố hỗ trợ. Protease serine NS3-4A phân cắt giữa leucine và những amino acid không phân cực nhỏ. Hoạt tính protease serine ảnh hưởng đến sự sao chép RNA virus, đóng vai trò thiết yếu trong khả năng tồn tại của virus.

NS4A hoạt động như một yếu tố hỗ trợ hoạt tính protease serine NS3. NS4A và NS4B không đóng vai trò thiết yếu trong sự sao chép RNA của virus.

NS5A và NS5B hiện diện dưới dạng hai sản phẩm phân cắt hoàn toàn cũng không khác gì NS5A-5B không phân cắt. Chức năng của NS5A chưa được biết rõ.



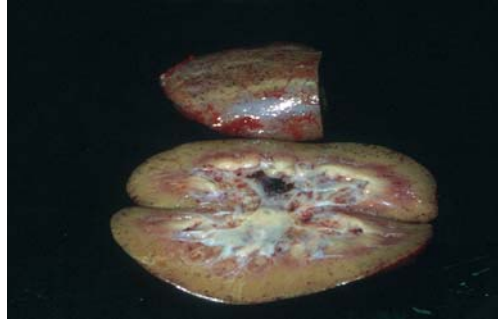
NS5B mang đặc điểm enzyme polymerase RNA phụ thuộc RNA (RdRp - RNA dependent RNA polymerase).

4. Một số hình ảnh về biểu hiện bệnh

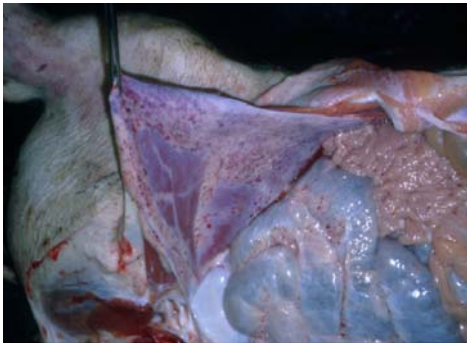
Xuất huyết ở da



đốm xuất huyết ở thận



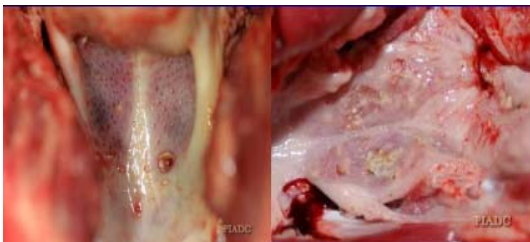
Xuất huyết ở màng bụng và ruột



viêm loét ruột già có hình nút



Hoại tử amidam



Gây liệt chân sau



viêm kết mạc

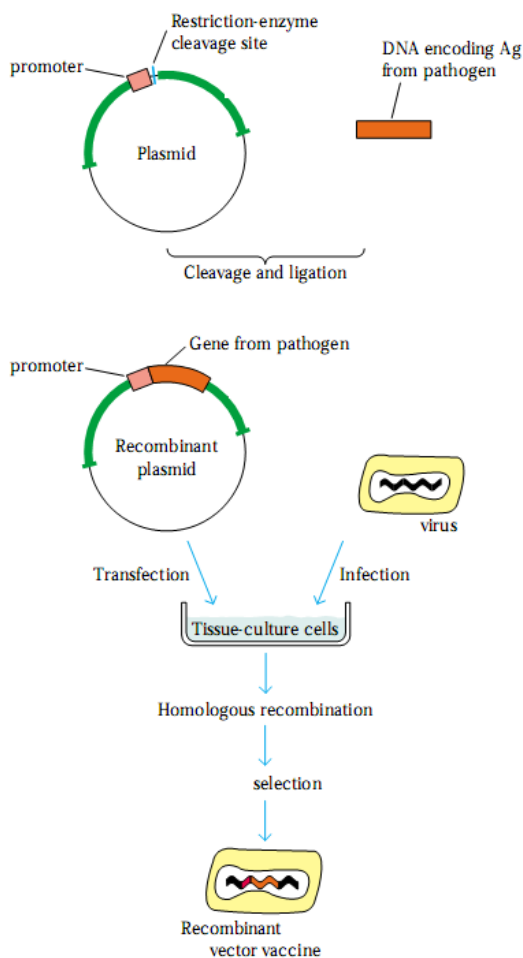


## 5. Protein tái tổ hợp. Marker vaccin

Công nghệ gen cho phép sản xuất nhiều loại protein tái tổ hợp (recombinat-protein) khá nhau không những số lượng lớn và mà còn có chất lượng protein tốt hơn. Công nghệ DNA tái tổ hợp cho phép sản xuất một lượng lớn protein virus và được dùng trong sản xuất vaccine chống lại virus. Về mặt lý thuyết, gen mã hóa bất kỳ protein miễn dịch đều được có thể tạo dòng biểu hiện trong tế bào nhận như nấm men, vi khuẩn, động vật có vú bằng kỹ thuật DNA tái tổ hợp. Số lượng các gen mã hóa bề mặt kháng nguyên tác nhân gây bệnh từ virus, vi khuẩn, động vật nguyên sinh đã được tạo dòng thành công trong hệ thống biểu hiện của vi khuẩn, nấm men, côn trùng và động vật có vú và được dùng để tạo vaccin.

So với các loại vaccine bất hoạt trước đây không tạo ra được hiệu quả lớn trong việc phòng bệnh dịch tả heo cho nên các nhà nghiên cứu đã đề xuất sản xuất một loại vaccine mới.

Sơ đồ chung trong sản xuất vaccin tái tổ hợp



Gen mã hóa kháng nguyên của tác nhân gây bệnh (màu cam) được chèn vào vector plasmid (màu hồng) và tạo thành plasmid tái tổ hợp. Chuyển plasmid tái tổ hợp cùng với virus gây bệnh ủ vào trong môi trường nuôi cấy tế bào.



Heo bị nhiễm CSFV thì sẽ tạo kháng thể chống lại protein cấu trúc vỏ  $E^{rns}$ ,  $E_2$  và protein không cấu trúc NS3.  $E^{rns}$ ,  $E_2$  cũng là kháng nguyên của kháng thể trung hòa và là kháng nguyên đặc trưng của CSFV. Dựa trên sự đáp ứng về mặt huyết thanh học của heo bị nhiễm CSFV. Một số nghiên cứu phát triển vaccine cho phép phân biệt được giữa heo được chủng ngừa bằng vaccine và heo bị nhiễm virus thực địa. Vaccine này được gọi là vaccine đánh dấu (Marker vaccine hay DIVA vaccine).

#### Nguyên tắc của vaccine đánh dấu:

Phân biệt thú tiêm vaccine với thú nhiễm bệnh thông qua sự vắng mặt của 1 hay nhiều protein mà bình thường tồn tại ở chủng hoang dại (thực địa). Sử dụng các kỹ thuật xét nghiệm đồng hành phát hiện các kháng thể chống lại protein thiếu trong chủng vaccine có thể phát hiện các con thú nhiễm bệnh trong đàn thú được chủng ngừa vaccine. Việc nhiễm bệnh từ đó có thể được kiểm soát.

#### Ưu điểm của vaccine đánh dấu:

Có thể tiến hành các điều tra về dịch tễ về tình hình nhiễm bệnh trên đàn thú đã được tiêm vaccine.

- Không ảnh hưởng đến việc chẩn đoán huyết thanh học trên quy mô toàn đàn hay chỉ trên cá thể
- Có thể đánh giá được hiệu quả của vaccine trong điều kiện thực tế
- Có thể sử dụng mà không ảnh hưởng đến việc mua bán động vật.

Hướng được áp dụng trong sản xuất vaccine đánh dấu:

#### ❖ Vaccine tiểu phần (Subunit vaccine)

Những tế bào nhân thật như tế bào nấm men hoặc tế bào côn trùng (*Spodoptera frugiperda*) thường được sử dụng làm hệ thống biểu hiện. Các hệ thống biểu hiện này sẽ làm nhiệm vụ tổng hợp nên các protein virus được quy định bởi gen được chèn vào (dòng hóa-cloning). Protein virus (protein tái tổ hợp) sau đó sẽ được tinh sạch bằng các kỹ thuật sắc ký và lọc để tạo vaccine



Đoạn gen E2 từ bộ gen của CFCV được cắt ra và chèn vào plasmid tế bào côn trùng. Sau đó nhân lên sản xuất ra kháng nguyên

**Baculovirus** là độc nhất trong số virus duy nhất có rất nhiều ứng dụng trong lĩnh vực công nghệ sinh học: những virus chuyên biệt cho tế bào côn trùng này không chỉ dùng cho mục đích quản lý vấn đề côn trùng gây hại, mà nó còn là công cụ nghiên cứu phòng thí nghiệm cho sản xuất protein tái tổ hợp và thể hiện protein, cũng như là vector tiềm năng cho các liệu pháp gen trên người.

**Baculovirus** là virus sợi đôi DNA xâm nhiễm các loài côn trùng khác nhau như vật chủ tự nhiên của nó. Người ta nhận thấy *baculovirus* không xâm nhiễm động vật có xương sống (Carbonell et al. 1985, Carbonell & Miller 1987), do vậy nó là 1 phương pháp an toàn để sản xuất protein. DNA *baculovirus* dùng trong hầu hết các hệ thống vector biểu hiện *baculovirus* là DNA virus polyhedrosis *Autographa californica* (nuclear polyhedrosis virus - AcNPV). Tế bào côn trùng thường dùng nhiều nhất mà nhạy với sự xâm nhiễm AcNPV là dòng tế bào Sf9 và Sf21. Cả 2 dòng tế bào này được thiết lập ban đầu từ mô buồng trứng ấu trùng *Spodoptera frugiperda*. Những dòng tế bào này có thể phát triển trong thể huyền phù và do đó có thể dùng trong bioreactor.

Đoạn DNA lạ được chuyển đồng thời với DNA virus AcNPV mạch thẳng vào trong tế bào côn trùng. Việc này cho phép tái tổ hợp giữa các vị trí tương đồng, chuyển gen lạ vào DNA AcNPV. Protein tái tổ hợp mong muốn có thể được sản xuất, thu nhận và tinh sạch.

Quy trình sản xuất vaccin tái tổ hợp dựa vào *Spodoptera frugiperda*



(theo William Sohn, 12/2008, viện ứng dụng khoa học và công nghệ Hàn quốc)

Bước 1: Tái tổ hợp kháng nguyên là đoạn gen E2 của CFSV với vector là *Baculovirus* vào trong tế bào côn trùng *Spodoptera frugiperda* rồi tiến hành lên men. Tế bào côn trùng tăng sinh khối và protein E2 cũng tăng lên.

Bước 2: Gây nhiễm với vector *Baculovirus* tái tổ hợp. mục đích là tạo ra vaccin tái tổ hợp CFSV

Bước 3: Tiến hành phá vỡ tế bào thu nhận vaccin tái tổ hợp và tinh sạch. Giai đoạn này đầu tiên tiến hành xử lý tế bào với  $\beta$ -propiolactone. Sau đó tinh sạch bằng phương pháp sắc ký và lọc. Cuối cùng của quá trình là bổ sung các chất bổ trợ, xác định công thức nhũ tương với nước trong dầu (formulation as an oil-in-water emulsion) đó là hợp chất dầu paraffin với mycobacteria đã làm chết, có tác dụng như tá dược đóng vai trò trong việc làm tăng khả năng đáp ứng miễn dịch với kháng nguyên.

Khi các con heo miễn dịch với vaccin, chúng sẽ tạo ra duy nhất kháng thể chống lại E2, nhưng không tạo ra kháng thể chống lại một trong protein miễn dịch khác là Erns. Do vậy, các test huyết thanh dùng để phân biệt nhiễm từ vaccin E2 là

dựa trên sự phát hiện đặc biệt trên kháng thể Erns (Moormann et al., 1996; de Smit et al., 2000; Floegel-Niesmann, 2001). Cho nên, bất kỳ kết quả dương tính nào đều sớm kết luận là có mắc CSFV, trong khi kết quả âm tính chưa hẳn vì có thể do khác như chưa đáp ứng được miễn dịch

Do vaccine tiểu phần chỉ chứa một hay một vài protein riêng biệt tinh sạch hoặc bán tinh sạch nên chúng có những ưu điểm sau:

- Độ an toàn cao.
- Có thể phối hợp nhiều loại vaccine tương ứng với các yếu tố kháng nguyên khác nhau phòng được nhiều bệnh khác nhau, giảm chi phí phân phối, tăng hiệu quả kinh tế.
- Tính hướng đến tế bào đích cao.
- Cho phép phân biệt thú tiêm vaccine và thú nhiễm bệnh tự nhiên

Vào năm 2001, hai vaccine đánh dấu được sử dụng rộng rãi ở EU để phòng bệnh dịch tả heo, đó là: Bayer's Bayovac ® CSF với Ceditest Erns ELISA (Đức) và Intervet's Porcilis ® Pesti với Chekit CSF Erns ELISA. (Hà Lan). Cả hai loại vaccin này chứa protein E2 của virus và test ELISA kháng thể kháng protein Erns của chủng thực địa (Hulst et al., 1993; Moormann et al., 2000). Trong đó ở các nước châu Âu Porcilis ® Pesti được sử dụng và công nhận hiệu quả của nó

Porcilis® Pesti



Porcilis ® Pesti chứa kháng nguyên là E2, ở dạng nhũ tương dùng để tiêm.

Porcilis ® Pesti thường dùng tiêm vào những heo con 5 tuần tuổi nhằm ngăn ngừa chết do bị bệnh CFS và cũng có thể dùng để khử và thải virus vào môi trường

Liều lượng tiêm: tiêm liều thứ nhất 2ml vào cơ phía sau tai. Liều thứ hai được tiêm sau 4 tuần, và tiêm lặp lại sau 6 tháng. tác dụng của vaccin sau 2 tuần và trong khoảng thời gian là 6 tháng. ( theo European Medicines Agency. Veterinary Medicines MEA/V/C/046)

Đánh giá hiệu quả của vaccin E2

E2, protein cấu trúc chính, tạo ra kháng thể trung hòa và bảo vệ miễn dịch trong các con heo được tiêm (Wensvoort, 1989; Van Zijl et al., 1991; Hulst et al., 1993; Rumenapf et al., 1991; van Rijn et al., 1996, 1999). Các vaccin đánh dấu CSFV đã được phát triển dùng E2 tái tổ hợp bọc trong protein (Van Zijl et al., 1991; Hooft van Iddkinge et al., 1996; Hulst, et al., 1993; Lutticken et al., 1998; Van Rijn et al., 1996, 1999). Nhưng các vaccin tiểu phần E2 không có hiệu quả như vaccin truyền thống khi thú nuôi được thử nghiệm ngắn sau khi tiêm. Không có sự bảo hộ nào chống lại bệnh khi quan sát sớm hơn 15 ngày ( 2 tuần) trong khi sự bảo hộ

chống lại sự lây nhiễm chỉ duy nhất có được khi tiêm đến tuần thứ 3 (Bouma et al., 2000; Utenthal et al., 2001). Sự không thành công này dẫn tới miễn dịch bảo vệ đặc hiệu và nhanh sẽ không sử dụng vaccin tiểu phần để có biện pháp kiểm soát khẩn cấp trong suốt thời kỳ phát triển của CSFV. Thêm vào đó, test chuẩn đoán huyết thanh cho vaccin đánh dấu tiểu phần E2 dựa trên kháng thể Erns có độ đặc hiệu và độ nhạy kém. Những kết quả này được công bố bởi các nhà khoa học ARS tại Plum Island Animal Disease Center (Risatti et al, 2005c). Các vaccin đánh dấu E2 CSFV và bộ test tốt nhất là sử dụng trong điều kiện ngắn hạn

Bên cạnh đó còn có 1 loại vaccine đánh dấu khác: vaccine virus lai. Các loại vaccine dịch tả heo thông thường sử dụng virus Trung Quốc “chủng C” làm yếu tố kháng nguyên. Kháng thể được tạo thành trong cơ thể thú không phân biệt được giữa thú được chủng ngừa bằng vaccine và thú bị nhiễm bệnh thực địa. Công nghệ di truyền đã cho phép tạo nên một dòng virus lai (chimera) mang gen của virus “chủng C” và virus chủng “Brescia”. Gen quy định glycoprotein E2 của virus “chủng C” được thay thế bằng glycoprotein E2 của virus chủng “Brescia”. Sự thay thế gen cho phép phân biệt kháng thể tạo thành do virus vaccine với virus “chủng C” và virus chủng “Brescia” nhờ vào các kháng thể đơn dòng chuyên biệt cho từng chủng virus: “chủng C” và chủng “Brescia”.

## E. KẾT LUẬN

Dịch tả heo (Classical swine fever - CSF) là một trong những dịch bệnh gây tổn thất kinh tế rất lớn đối với người chăn nuôi trên thế giới. Có rất nhiều nghiên cứu về tính gây độc và quá trình sao chép của virus CSFV được thực hiện để làm cơ sở đưa ra các biện pháp phòng trừ; tuy nhiên hiện nay vẫn còn nhiều vấn đề chưa được giải thích cụ thể và cũng thực sự chưa có biện pháp hoàn hảo. Do CSFV chưa có thuốc đặc trị nên vaccin vẫn là phương pháp phòng trừ có hiệu quả nhất hiện nay

Vaccin đánh dấu – vaccine DIVA đầu tiên được tạo ra dựa trên glycoprotein E2 biểu hiện nhờ hệ thống *baculovirus* – tế bào côn trùng đã được đưa ra thị trường. ưu điểm lớn của vaccin này là tính an toàn cao, phân biệt được heo nhiễm do vaccin hay do tự nhiên và có khả năng sản xuất với qui mô lớn và giá thành sẽ không cao so với các loại vaccin khác nhờ phương pháp lên men. Tuy nhiên vaccin này chỉ có tác dụng trong thời gian sau 2 tuần tiêm và hiệu quả của nó chỉ dừng lại trong khoảng thời gian là 6 tháng. cho nên điều cần thiết là sử dụng loại vaccin này vào trường hợp gây miễn dịch với CSFV trong khoảng thời gian ngắn

Để hướng tới giải quyết bệnh dịch tả heo thì ngoài hoàn thiện tác dụng của vaccin tái tổ hợp và cũng cần nghiên cứu kỹ hiệu quả các loại vaccin mới với nhiều hướng triển vọng hơn, chủ yếu dựa trên xây dựng kỹ thuật di truyền, như: (1)

peptide CSFV có tính kháng nguyên; (2) Vaccine DNA; (3) Protein CSFV biểu hiện nhờ virus chuyển gen; (4) Pestivirus lai (chimeric) và (5) genome CSFV được cắt bỏ gen (VRP).

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1- *Công nghệ sinh học trong thú y*. Nguyễn Ngọc Hải. NXB Nông nghiệp. TP Hồ Chí Minh, 2007
- 2- *Bốn bệnh đở của lợn và biện pháp phòng trị*. Phan Thanh Phụng, Trần Thị Hạnh, Phạm Công Hoạt. NXB Nông Nghiệp. Hà Nội, 2002.
- 3- *Bài giảng dịch tả heo*. TS. Nguyễn Ngọc Hải
- 4- *Kuby immunology/ chapter 18. vaccines ( sách điện tử)*
- 5- **APPENDIX 4: National Veterinary Stockpile. Countermeasures Working Group Report. Classical Swine Fever\_ The Classical Swine Fever Countermeasures Working Group, Hannover, Germany .April 17, 2008**
- 6- *Evaluation of the epidemiological importance of classical swine fever infected, E2 sub-unit marker vaccinated animals with RT-nPCR positive blood samples\_*. Dewulf1,F. Koenen , S.Ribbens,A. Haegeman, H. Laevens and A. De Kruif1
- 7- **Chapter 7. Towards better control of classical swine fever epidemics: vaccination with an E2 marker vaccine\_**D. Klinkenberg, M.C.M. de Jong
- 8- <http://www.emea.europa.eu>.
- 9- <http://www.thepigsite.com/pighealth/article/447/classical-swine-fever-csf-hog-cholera-hc>



## MỤC LỤC

<b>A.</b> Đặc vấn đề.....	3
<b>B.</b> Virus dịch tả heo .....	4
<b>I.</b> vài nét về bệnh dịch tả heo.....	4
<b>II.</b> đặc điểm virus dịch tả heo ( CSFV) .....	5
1.phân loại .....	5
2. Hình thái .....	5
3. Cấu trúc bộ gen .....	5
<b>III.</b> Một số hình ảnh biểu hiện bệnh .....	8
<b>C.</b> Protein tái tổ hợp. Marker vaccine .....	9
Vaccine tiêu phân (Subunit vaccine).....	10
<b>D.</b> Kết luận .....	13
Tài liệu tham khảo.....	14