

# TỶ LỆ NHIỄM CÁC MÀM BỆNH VÀ BỆNH LÝ LIÊN QUAN PCV2 Ở CA BỆNH PHỨC HỢP HÔ HẤP VÀ CÒI CỌC SAU CAI SỮA

*Đỗ Tiến Duy<sup>1</sup>, Ngô Thị Ngọc Trâm<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thế Hiển<sup>1</sup>, Trần Hoàng Vũ<sup>2</sup>, Nguyễn Tất Toàn<sup>1</sup>*

## TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định tỷ lệ nhiễm các mầm bệnh và bệnh lý liên quan PCV2 ở các ca bệnh hô hấp phức hợp (PRDC) và còi cọc ở heo sau cai sữa (PMWS). Mẫu mô và máu từ heo có dấu hiệu lâm sàng của bệnh được thu thập từ 90 trang trại khác nhau ở nhiều tỉnh/thành. Kết quả sàng lọc cho thấy PCV2 có tỷ lệ nhiễm cao nhất 63/90 (70,0%) theo trại và 98/157 (62,4%) theo ca bệnh khảo sát. Tỷ lệ nhiễm PRRSV, MH và HP theo trại và theo ca bệnh ở mức cao và thấp hơn là CSFV. Nhiễm ghép 2 mầm bệnh có tỷ lệ cao nhất theo trại và theo ca bệnh (lần lượt là 11,1 - 44,4% và 8,2 - 41,8%), tiếp theo là đồng nhiễm 3 mầm bệnh (6,3 - 23,8% theo trại và 4,1 - 16,3% theo ca bệnh). Dấu hiệu lâm sàng chủ yếu là hô hấp, còi cọc, lông xù, viêm da và tiêu chảy có sự khác biệt ( $P=0,000$ ) giữa ca bệnh nhiễm đơn PCV2 so với ca bệnh nhiễm PCV2 ghép với mầm bệnh khác. Bệnh tích đại thể và vi thể đặc trưng ở hạch bạch huyết chiếm tỷ lệ cao nhất, tiếp đến là bệnh tích ở phổi và sự khác biệt giữa các ca bệnh nhiễm đơn PCV2 so với ca bệnh nhiễm PCV2 ghép với mầm bệnh khác tương ứng với  $P=0,000$  và  $P=0,001$ .

*Từ khóa:* Porcine Circovirus type 2 (PCV2), đồng nhiễm, bệnh lý, heo.

## The prevalence of pathogens and PCV2 related pathologies in cases of porcine complex respiratory disease (PRDC) and post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)

*Do Tien Duy, Ngo Thi Ngoc Tram,  
Nguyen The Hien, Tran Hoang Vu, Nguyen Tat Toan*

## SUMMARY

The objective of this study was to investigate the prevalence of pathogens and the PCV2-related pathologies in cases of complex respiratory disease (PRDC) and post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). The tissue and blood specimens from the suspecting pigs with the clinical signs were collected from 90 different pig farms in several provinces. The screening results showed that PCV2 accounted for the highest detection rate at 75.6% (68/90) by farm and 62.4% (98/157) by case. The prevalence of PRRSV, MH and HP by farm and case was high in descending order and final was CSFV. The double infection accounted for the highest rate by farm and by case (11.1 - 44.4% and 8.2 - 41.8%, respectively), followed by co-infection with 3 pathogens (6.3 - 23.8% by farm and 4.1 - 16.3% by case). The major clinical signs were observed including respiratory failure, stunting, ruffled hair, dermatitis and diarrhea with difference ( $P = 0.000$ ) between single PCV2 infection compared with PCV2 co-infected with other pathogens. The proportion of specific gross and histological lesions at lymph nodes was the most dominant, followed by lung pneumonia and the difference was between cases of single PCV2 infection compared with cases of PCV2 co-infection corresponding to  $P = 0.000$  and  $P = 0.001$ .

*Keywords:* Porcine Circovirus type 2 (PCV2), co-infection, pathology, pigs.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Circovirus là virus không có vỏ bọc với bộ gen có dạng vòng DNA mạch đơn thuộc họ Circoviridae

(Segales và ctv., 2005). Bộ gen Circovirus chứa hai khung đọc mở chính (Open reading frames – ORFs) bao gồm ORF1 và ORF2, mã hóa cho protein cap và rep, hai protein này được mã hoá ngược chiều

<sup>1</sup> Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM

<sup>2</sup> Công ty Boehringer Ingelheim, Việt Nam

nhau (Cheung, 2003). Cho đến nay, bốn loại Porcine circovirus (PCV) đã được xác định, bao gồm PCV1 không gây bệnh trên heo (Tischer và ctv., 1986), PCV2 hiện đang gây bệnh phổ biến trên đàn heo (Allan và ctv., 1998), PCV3 phát hiện lần đầu vào năm 2015 (Palinski và ctv., 2017) và PCV4 vừa mới được phát hiện tại Trung Quốc (Zhang và ctv., 2019).

Các bệnh do Porcine circovirus type 2 (Porcine circoviral disease - PCVD) hoặc còn được gọi là các bệnh liên quan đến Porcine circovirus type 2 (Porcine circovirus associated disease - PCVAD) là thuật ngữ đề cập đến một số thể bệnh trên heo, trong đó PCV2 đóng một vai trò quan trọng. Hội chứng còi cọc trên heo sau cai sữa (Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome - PMWS) là một thể bệnh PCVD phổ biến và quan trọng nhất, gây thiệt hại nặng trên heo do làm giảm năng suất đàn heo cũng như gia tăng chi phí chăn nuôi hoặc/và làm tăng tỷ lệ tử vong của heo sau cai sữa (Baekbo và ctv., 2012). Tiếp đến, bệnh hô hấp phức hợp trên heo (Porcine complex respiratory disease, PRDC) là một thể bệnh PCVD phổ biến thứ hai gây ảnh hưởng trên hệ thống hô hấp của heo và gây thiệt hại nhiều về năng suất và sự ổn định của đàn heo trên thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng. Các thể bệnh PMWS và PRDC có biểu hiện khá đa dạng, khó phân biệt lẫn nhau, không chỉ xuất hiện bệnh lý ở hệ thống đơn lẻ (hô hấp, bạch huyết) mà còn gây rối loạn trên hệ thống cơ quan khác tùy theo mức độ bệnh, sự có mặt của mầm bệnh đồng nhiễm, phụ nhiễm và đặc biệt là sự tương tác giữa chúng trong các trường hợp bệnh cụ thể (Segalés và ctv., 2004; Nguyễn Ngọc Hải và Đỗ Tiến Duy, 2019).

Khi có sự nhiễm trùng sớm trên heo sau cai sữa, PCV2 sẽ gây ảnh hưởng tới quá trình điều hòa và gây tổn thương hệ miễn dịch; từ đó làm cho heo rơi vào tình trạng đa nhiễm khuẩn (Ouyang và ctv., 2019). Báo cáo khoa học về sự đồng nhiễm PCV2 với các mầm bệnh khác nhau đã được biết; trong đó virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, PRRSV) chiếm 42 - 85,4%; *Mycoplasma hyopneumonia* (MH) chiếm 35,5%; *Haemophilus parasuis* (HP) chiếm 32,3% và dịch tả heo cổ điển (Pallarés và ctv., 2002; Drolet và ctv., 2003; Kim và ctv., 2003; Huang và ctv., 2011; Zhang và ctv., 2018; Zhao và ctv., 2018). Tuy nhiên, nghiên cứu đầy đủ về tỷ lệ đồng nhiễm của các mầm bệnh và PCV2 trong

các ca bệnh PMWS và PRDC tại Việt Nam phần nào còn rất hạn chế và chưa được cập nhật trong thời gian gần đây. Trong nghiên cứu này, phân tích sự đồng nhiễm các mầm bệnh và đánh giá các chỉ tiêu bệnh lý liên quan đến PCV2 ở các ca bệnh lâm sàng được thực hiện bằng phương pháp quan sát lâm sàng, mổ khám, nhuộm tiêu bản vi thể (HE), PCR, realtime-PCR và hóa mô miễn dịch (IHC).

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Mẫu và xử lý mẫu

Mẫu được thu thập từ 157 heo có dấu hiệu lâm sàng nghi ngờ do PCV2 (Segales và ctv., 2004, 2005) như hội chứng còi cọc sau cai sữa (PMWS) và hô hấp phức hợp (PRDC) ở các lứa tuổi heo cai sữa sớm (3 đến 10 tuần tuổi) từ 90 trại khảo sát. Thông tin lâm sàng được ghi nhận theo đối tượng khảo sát và bệnh tích được đánh giá qua việc mổ khám thường quy. Mẫu bệnh phẩm thu thập phù hợp với các phương pháp xét nghiệm: Mẫu mô tươi (phổi, hạch, lách, thận, gan) cho kỹ thuật xét nghiệm PCR và huyết thanh cho kỹ thuật realtime-PCR; mẫu mô được cố định formalin 10% cho kỹ thuật HE (phổi, hạch, lách, thận, gan) và IHC (phổi, hạch bẹn, hạch phổi, hạch ruột). Các xét nghiệm được thực hiện ở Phòng thí nghiệm nghiên cứu Chăn nuôi và Thú y, Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường đại học Nông Lâm TP. HCM.

### 2.2. Xác định sự hiện diện của các mầm bệnh khảo sát

#### 2.2.1. Tách chiết DNA/RNA

Mẫu mô tươi được xử lý với dung dịch PBS 1X, thu được huyền dịch 10%. Ly tâm huyền dịch thu phần dịch nổi để tách chiết DNA/RNA theo quy trình của bộ kit thương mại (GeneJET Genomic DNA Purification Kit của Thermo Scientific, Lithuania) và RNA (SV Total RNA Isolation System, Promega, Mỹ). Huyết thanh từ ca bệnh được tách chiết DNA bằng bộ kit InviMAG Virus DNA/RNA (INVITEK Molecular, Berlin, Đức).

#### 2.2.2. Các kỹ thuật PCR/RT-PCR

Các cặp mồi đặc hiệu được sử dụng xác định sự hiện diện các mầm bệnh trong ca bệnh khảo sát được tham khảo từ các nghiên cứu trước đây: PRRSV (mồi PRRSV-ORF5; Duy và ctv., 2015), PCV2 (Larochelle

và ctv., 1999), CSFV (Paton và ctv., 2000), MH (Abhijit và ctv., 2012), HP (Hicinova và ctv., 2010). Phản ứng PCR/RT-PCR được thực hiện với tổng phản ứng là 25 $\mu$ l và chu trình luân nhiệt được thực hiện theo quy trình hiệu chỉnh của Phòng xét nghiệm sinh học phân tử thuộc Bệnh viện Thú y, Trường đại học Nông Lâm TP. HCM. Kết quả được đọc trên gel agarose 1% ở buồng chiếu tia UV.

### 2.2.3. Kỹ thuật realtime-PCR (qPCR) xét nghiệm PCV2

DNA tách chiết được sử dụng để định lượng virus PCV2 bằng kỹ thuật TaqMan realtime-PCR, theo hướng dẫn V615-42 (Chi cục Thú y vùng VI), với cặp mồi forward: 5'-CAGATCCTCCGC-CGCC-3', reverse: 5'-TBTGACTGTGGTASS-CTTGACA-3', probe: 5'-FAM-CTCCCGCAC-CTCC-MGBNFQ-3'. Phản ứng realtime-PCR có thành phần MasterMix (Invitrogen™ Platinum Quantitive PCR SuperMix-UDG). Giá trị kết quả được thể hiện qua giá trị Ct, Ct <40 là dương tính.

### 2.2.4. Kỹ thuật hóa mô miễn dịch (IHC)

Các khối paraffin được cắt tiêu bản với kích thước 3-5 $\mu$ m, và nhuộm theo quy trình tham khảo từ Phòng thí nghiệm bệnh lý thú y, Bộ môn Bệnh lý Thú y, trường Đại học quốc gia Seoul (Hàn Quốc). Kháng thể sơ cấp đặc hiệu với PCV2 (Monoclonal antibody to PCV2 mouse ascites; Rural Technology, Mỹ) và kháng thể thứ cấp (Anti-mouse Polyclonal goat immunoglobulin/AP, Dako Denmark A/S, Đan Mạch) được sử dụng trong nghiên cứu này. Kết quả dương tính được chấm điểm kháng nguyên (số tế bào dương tính/mm<sup>2</sup>), bằng quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính 10X, cho điểm từ điểm 0 đến 3 theo phần trăm (%) vi trường mô bạch huyết có tế bào dương tính với kháng nguyên PCV2, 0: không hiện diện, 1<sup>+</sup>: hiện diện kháng nguyên <10% vi trường, 2<sup>+</sup>: hiện diện kháng nguyên 10-50% vi trường, và 3<sup>+</sup>: hiện diện kháng nguyên >50% vi trường.

### 2.3. Tần suất biểu hiện lâm sàng, bệnh tích đại thể và vi thể

Từ kết quả nhiễm PCV2 và các mầm bệnh đồng nhiễm ở các ca bệnh khảo sát, các biểu hiện lâm sàng, bệnh tích (đại thể, vi thể) được phân tích tỷ lệ. Các chỉ tiêu biểu hiện lâm sàng gồm rối loạn hô hấp, thể trạng

còi cọc, xù lông, tiêu chảy và viêm da. Các chỉ tiêu bệnh tích đại thể gồm viêm phổi kẽ, hạch viêm sưng lớn (hạch bẹn, hạch phổi, hạch ruột), thận viêm hạt trắng, gan viêm và lách viêm. Các chỉ tiêu bệnh tích vi thể gồm viêm phổi kẽ, đông đặc phổi, thùy thũng vách liên kết gian tiểu thùy và phế nang phổi, hạch suy giảm mô lympho (lymphoid depletion), viêm hạt hạch (sự tăng số lượng nhiều bạch cầu đơn nhân, đại thực bào ở vùng viêm), viêm gan, thận viêm hạt và viêm lách.

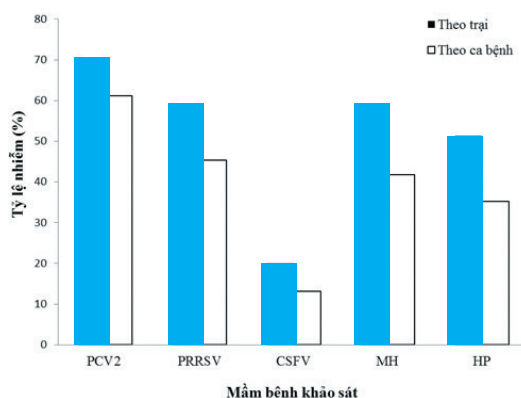
### 2.4. Xử lý số liệu

Các kết quả tỷ lệ nhiễm mầm bệnh được tính ở dạng tỷ lệ (%), so sánh Chi-square ( $\chi^2$ ) trên phần mềm thống kê Minitab 16.1 và so sánh F test trên phần mềm R studio.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tỷ lệ nhiễm và đồng nhiễm các mầm bệnh khảo sát

Trong khảo sát, 63/90 (70,0%) dương tính với PCV2 theo trại và 98/157 (62,4%) dương tính với PCV2 theo ca bệnh khảo sát. Tiếp đến, tỷ lệ nhiễm PRRSV, MH và HP theo trại và theo ca bệnh cũng ở mức cao (hình 1).



**Hình 1. Tỷ lệ nhiễm các mầm bệnh theo trại và theo ca bệnh**

Sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm của các mầm bệnh theo trại và theo ca bệnh có ý nghĩa thống kê với P=0,000 và P=0,000 tương ứng. Virus dịch tả heo cổ điển (CSFV) vẫn có sự lưu hành ở heo trong khảo sát này với tỷ lệ 19,11% (13/68) theo trại và 13,27% (13/98) theo ca bệnh.

Đồng nhiễm các mầm bệnh là kết quả phổ biến trong nghiên cứu này, trong đó sự nhiễm ghép 2 mầm bệnh có tỷ lệ cao nhất (11,1% - 44,4% theo trại và 8,2% - 41,8% theo ca bệnh),

tiếp theo là đồng nhiễm 3 mầm bệnh (6,3% - 23,8% theo trại và 4,1% - 16,3 % theo ca bệnh). Các trường hợp nhiễm 4 và 5 mầm bệnh có tỷ lệ thấp hơn (bảng 1).

**Bảng 1. Tỷ lệ đồng nhiễm các mầm bệnh theo trại và các ca bệnh**

Mầm bệnh đồng nhiễm	Theo trại (N= 63)		Theo ca bệnh (N= 98)	
	n	Tỷ lệ (%)	n	Tỷ lệ (%)
PCV2	9	14,29	20	20,41
PCV2 + PRRSV	28	44,4	41	41,8
PCV2 + MH	21	33,3	40	40,8
PCV2 + HP	20	31,7	28	28,6
PCV2 + CSFV	7	11,1	8	8,2
PCV2 + MH + HP	15	23,8	16	16,3
PCV2 + PRRSV + CSFV	5	7,9	5	5,1
PCV2 + CSFV + MH	4	6,3	4	4,1
PCV2 + PRRSV + CSFV + MH	3	4,8	3	3,1
PCV2 + CSFV + MH + HP	3	4,8	3	3,1
PCV2 + PRRSV + CSFV + MH + HP	2	3,2	2	2,0

Mặc dù heo khảo sát ở lứa tuổi khá nhỏ (3 đến 10 tuần tuổi), tuy nhiên sự nhiễm ghép nhiều hơn một mầm bệnh chiếm đa số, trong khi nhiễm đơn PCV2 chỉ có ở 14,29% theo trại và 20,41% theo ca bệnh khảo sát. Đối tượng heo khảo sát từ thực địa trong nghiên cứu này ở giai đoạn sau cai sữa, cùng với thời điểm tiêm phòng một số vaccin sống phòng bệnh CSF và PRRS, tuy nhiên phương pháp xét nghiệm PCR/RT-PCR sử dụng chưa phân biệt được chủng virus nhiễm hoặc từ tiêm phòng.

Tỷ lệ đồng nhiễm cao giữa PCV2 và PRRSV có sự phù hợp với nghiên cứu trước đây (Drolet và ctv., 2003), trong đó PRRSV chiếm tỷ lệ cao nhất trong khảo sát, nhưng ở khảo sát này PCV2 có tỷ lệ phát hiện cao hơn PRRSV. Cả PCV2 và PRRSV có mục tiêu nhiễm và gây hại đến các tế bào miễn dịch, bạch cầu đơn nhân và từ đó làm giảm khả năng phòng vệ của vật chủ (Ouyang và ctv., 2019). Tổ hợp nhiễm MH và PCV2 hoặc HP và PCV2 cũng chiếm tỷ lệ cao, tương tự kết quả báo cáo của Pallarés và ctv. (2002). Các kết quả này cho thấy PCV2, PRRSV, MH và HP đóng vai trò quan trọng ở các ca bệnh có dấu hiệu hô hấp sớm trên heo, mà khảo sát này chọn đối tượng lâm sàng theo hướng PRDC/PMWS.

### 3.2. Tần xuất lâm sàng, bệnh tích đại thể và vi thể

Trong 98 ca bệnh dương tính PCV2, nghiên cứu chọn ngẫu nhiên 24 ca bệnh được phân tích đầy đủ các chỉ tiêu bệnh lý, kết quả được trình bày ở bảng 2.

Dấu hiệu lâm sàng ở các ca bệnh thu thập được chủ yếu là rối loạn hô hấp (75%); thể trạng còi cọc, lông xù (62,5%); các triệu chứng viêm da và tiêu chảy chiếm tỷ lệ thấp hơn (8,3%). Bệnh tích đại thể và vi thể ở hạch chiếm tỷ lệ cao nhất trong khảo sát, tiếp đến là bệnh tích ở phổi (bảng 2). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các ca bệnh nhiễm đơn PCV2 so với ca bệnh nhiễm PCV2 ghép ở các bệnh tích đại thể ( $P=0,000$ ) và bệnh tích vi thể ( $P=0,001$ ); tuy nhiên không có sự khác biệt ( $P>0,05$ ) khi so sánh từng cặp chỉ tiêu đặc điểm lâm sàng, bệnh tích ở ca bệnh nhiễm đơn PCV2 so với ca bệnh nhiễm PCV2 ghép.

Biến đổi bệnh tích đặc trưng của heo nhiễm PCV2 chủ yếu tập trung ở hệ thống hạch bạch huyết và phổi; trong đó bệnh tích đặc trưng ở giai đoạn đầu là hạch lympho viêm, sưng lớn và có thể bị xuất huyết (Cuartero và ctv., 2002). Ở hội chứng còi cọc sau cai sữa (PMWS), dấu hiệu lâm sàng và bệnh tích phổ biến thứ hai là rối loạn hô hấp ở mức độ

nghiêm trọng tùy thuộc từng ca bệnh. Theo Segalés (2004), bệnh tích phổ biến nhất trên heo nhiễm PCV2 là sưng hạch bẹn cạn và/hoặc hạch ruột có

màu vàng đồng. Các bệnh tích ở cơ quan khác như gan, lách, thận, ruột, não, cơ cũng có thể xuất hiện nhưng sự đặc trưng chưa được xác định.

**Bảng 2. Tần xuất các dấu hiệu lâm sàng ở ca bệnh PCVD khảo sát**

Tình trạng nhiễm	PCV2-nhiễm đơn (n = 11)		PCV2-đồng nhiễm (n = 13)		Chung (n = 24)	
	Số ca	%	Số ca	%	Số ca	%
<b>Dấu hiệu lâm sàng</b>						
Rối loạn hô hấp	8	33,3 <sup>a</sup>	10	41,7 <sup>a</sup>	18	75,0
Thể trạng còi cọc, xù lông	7	29,2 <sup>a</sup>	8	33,3 <sup>a</sup>	15	62,5
Tiêu chảy	0	0,0	2	8,3	2	8,3
Viêm da	1	4,2	1	4,2	2	8,3
Khác	8	33,3 <sup>a</sup>	6	25,0 <sup>a</sup>	14	58,3
<b>Bệnh tích đại thể</b>						
Viêm phổi kẽ	7	29,2 <sup>a</sup>	6	25,0 <sup>a</sup>	13	54,2
Viêm hạch sưng lớn	10	41,7 <sup>a</sup>	10	41,7 <sup>a</sup>	20	83,3
Viêm thận hạt	7	29,2 <sup>a</sup>	3	12,5 <sup>a</sup>	10	41,7
Viêm gan	2	8,3	3	12,5	5	20,8
Viêm lách	0	0,0	2	8,3	2	8,3
Khác	6	25,0 <sup>a</sup>	7	29,2 <sup>a</sup>	13	54,2
<b>Bệnh tích vi thể</b>						
Viêm phổi kẽ	11	45,8 <sup>a</sup>	13	54,2 <sup>a</sup>	24	100
Đông đặc phổi	5	20,8 <sup>a</sup>	9	37,5 <sup>b</sup>	14	58,3
Thùy thũng vách gian tiểu thùy và phế nang phổi	4	16,7 <sup>a</sup>	10	41,7 <sup>b</sup>	14	58,3
Hạch suy giảm mô lympho	10	41,7 <sup>a</sup>	13	54,2 <sup>a</sup>	23	95,8
Viêm hạch hạt	11	45,8 <sup>a</sup>	13	54,2 <sup>a</sup>	24	100
Viêm gan	5	26,3 <sup>a</sup>	8	42,1 <sup>a</sup>	13	68,4
Viêm thận hạt	6	31,6 <sup>a</sup>	9	47,4 <sup>a</sup>	15	78,9
Viêm lách	5	23,8 <sup>a</sup>	10	47,6 <sup>b</sup>	15	71,4
Khác	4	16,7	9	37,5	13	54,2

Ghi chú: Ký tự a, b khác nhau theo hàng ngang thể hiện sự khác biệt thống kê ( $P < 0,05$ )

### 3.3. So sánh kết quả chẩn đoán PCV2 ở các ca bệnh khảo sát

Tỷ lệ xác định ca bệnh PMWS/PRDC qua dấu hiệu lâm sàng, bệnh tích (đại thể và vi thể) có sự tương đồng hoàn toàn với kết quả xét nghiệm PCR (24/24; 100%) ở các mẫu bệnh phẩm thu thập từ heo bệnh (hạch, phổi, lách, thận, gan). Tuy nhiên, kết quả xét nghiệm

realtime-PCR ở huyết thanh có tỷ lệ khá thấp (4/15; 26,7 %). Tương tự tỷ lệ dương tính PCV2 qua xét nghiệm IHC trên mô tương ứng cũng khá thấp (4/16; 25,0%). Sự khác biệt tỷ lệ phát hiện PCV2 ở các kỹ thuật xét nghiệm là rất có ý nghĩa ( $P = 0,000$ ).

Tỷ lệ phát hiện PCV2 bởi realtime-PCR (26,7%) thấp hơn nhiều so với PCR (100%), cho

thấy mô hạch và cơ quan nội tạng có sự hiện diện thường xuyên của mầm bệnh này hơn và là cơ quan đích để thu mẫu chẩn đoán ở các thể bệnh (Lam Thu Huong và Duong Chi Mai, 2006). Ở khảo sát của Grau-Roma và ctv. (2009), khả năng

phát hiện kháng nguyên PCV2 trong huyết thanh có độ nhạy thấp. Mặc dù, PCR phát hiện PCV2 ở mẫu mô trong các ca bệnh khảo sát, nhưng kết quả xét nghiệm IHC ở 24 ca bệnh của khảo sát này không có sự tương đồng.

**Bảng 3. Tương quan kết quả giữa các xét nghiệm ở các ca nhiễm PCV2**

Ca bệnh	Lâm sàng			Chẩn lâm sàng			
	PMWS /PRDC	Bệnh lý		PCR	Realtime-PCR	IHC	
		Đại thể	Vi thể			Kết quả	Điểm
1	+	+	+	+	-	-	0
2	+	+	+	+	-	+	1+
3	+	+	+	+	-	+	0
4	+	+	+	+	-	-	0
5	+	+	+	+	kxn	-	0
6	+	+	+	+	kxn	kxn	kxn
7	+	+	+	+	kxn	kxn	kxn
8	+	+	+	+	+	-	0
9	+	+	+	+	-	-	0
10	+	+	+	+	+	-	0
11	+	+	+	+	+	+	1+
12	+	+	+	+	+	+	1+
13	+	+	+	+	-	kxn	kxn
14	+	+	+	+	-	-	0
15	+	+	+	+	-	-	0
16	+	+	+	+	-	-	0
17	+	+	+	+	-	-	0
18	+	+	+	+	-	-	0
19	+	+	+	+	-	-	0
20	+	+	+	+	kxn	-	0
21	+	+	+	+	kxn	kxn	kxn
22	+	+	+	+	kxn	kxn	kxn
23	+	+	+	+	kxn	kxn	kxn
24	+	+	+	+	kxn	kxn	kxn
<b>Tổng</b>	<b>24/24</b>	<b>24/24</b>	<b>24/24</b>	<b>24/24</b>	<b>4/15</b>	<b>4/16</b>	
<b>Tỷ lệ (%)</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>26,7</b>	<b>25,0</b>	

Ghi chú: kxn: không xét nghiệm, +: kết quả dương, -: kết quả âm

Theo báo cáo của Segales và ctv. (2012), các ca bệnh hô hấp PCV2 thường được phát hiện qua IHC ở mức trung bình đến cao (2<sup>+</sup> đến 3<sup>+</sup>), nhưng hạch bạch huyết thường có kết quả âm tính và/hoặc tín

hiệu dương thấp. Ngược lại, ở các ca bệnh PMWS kết quả phát hiện PCV2 (IHC) ở mức trung bình đến cao ở các hạch bạch huyết và các cơ quan khác có kết quả thấp hơn rõ rệt. Ở nghiên cứu này, kết

quả phát hiện PCV2 bởi IHC thấp có thể do các ca bệnh thu thập ở thực địa, giai đoạn mạn tính, có sự phức hợp giữa nhiều mầm bệnh (bảng 1); thực tế là hạch bạch huyết ở heo ở các ca bệnh có hiện tượng suy giảm mô lympho (95,8%; bảng 2) ở mức độ trung bình nặng, làm mất đi những tế bào bạch cầu đơn nhân vùng bạch huyết.

Kết quả so sánh các kỹ thuật chẩn đoán ca bệnh thực địa trong nghiên cứu này cho thấy rằng để xác định trại/ca bệnh do PCV2 cần có sự kết hợp của chẩn đoán lâm sàng và cận lâm sàng. Trong đó, biểu hiện lâm sàng, bệnh tích có tính chất định hướng nghi ngờ và kết quả PCR trên cơ quan đích (hạch bạch huyết) khẳng định sự nhiễm trùng PCV2.

#### IV. KẾT LUẬN

PCV2 có tỷ lệ nhiễm cao nhất trong các ca bệnh nghi ngờ PRDC và PMWS. Đồng nhiễm có tỷ lệ phổ biến giữa PCV2 với PRRSV, MH, HP và CSFV. Tỷ lệ dấu hiệu lâm sàng và bệnh tích liên quan cao nhất với các ca nhiễm PCV2 là rối loạn hô hấp, thể trạng còi cọc và hạch viêm sưng lớn, viêm phổi kẽ. Sự kết hợp dấu hiệu lâm sàng, bệnh tích đặc trưng với kỹ thuật xét nghiệm PCR có giá trị khẳng định ca bệnh do PCV2.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Ngọc Hải và Đỗ Tiến Duy, 2019. *Bệnh do vi khuẩn. Trong Các bệnh truyền nhiễm quan trọng và mới nổi trên heo*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh, 133-139.
2. Abhijit, K. B., Lee, H. Y., Jeong, H. W., Truong, Q. L., Joo, H. G., Hahn, T. W., 2012. An improved multiplex PCR for diagnosis and differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis*. *Korean J Vet Res* 52(1): 39-43
3. Allan, G. M., McNeilly, F., Kennedy, S., Daft, B., Ellis, J. A., Haines, D. M., Meehan, B. M., Adair, B. M., 1998. Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 10(1): 3-10.
4. Baekbo, P., C. S. Kristensen and L. E. Larsen, 2012. Porcine circovirus diseases: a review of PMWS. *Transboundary and emerging diseases* 59: 60-67.
5. Cheung A. K., 2003. The essential and nonessential transcription units for viral protein synthesis and DNA replication of *Porcine circovirus* type 2. *Virology* 313, 452–459.
6. Cuartero, L., Dee, S., Deen, J., Ruiz, A., Pijoan, C., 2002. Association between clinical signs and high serum titers of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in nursery pigs under field conditions. *J Swine Health Prod.* 10: 118-121
7. Drolet, R., Larochelle, R., Morin, M., Delisle, B., Magar, R., 2003. Detection rates of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, Porcine circovirus type 2, and Swine influenza virus in porcine proliferative and necrotizing pneumonia. *Veterinary pathology* 40(2): 143-148.
8. Duy, DT., Park, C., Choi, K., Jeong, J., Nguyen, TT., Le, DT., Vo, KM., Chae, C., 2015. Nucleotide sequence analysis of Vietnamese highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus from 2013 to 2014 based on the NSP2 and ORF5 coding regions. *Arch Virol* 161: 669-675
9. Grau-Roma, L., Hjulager, K. C., Sibila, M., Kristensen, S. K., López-Soria, S., Enøe, C., Casal, J., Bøtner, A., Nofrarías, M., Bille-Hansen, V., Frailea, L., Baekbo, P., Segalés, J., and Larsen, E. L., 2009. Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Veterinary microbiology* 135(3-4): 272-282.
10. Hričinová, M., Holoda, E., Mudroňová, D., Ondrašovičová, S., *Microbiologica, F.*, 2010. Multiplex PCR assay for detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Haemophilus parasuis* in lungs of pigs from a slaughterhouse. *Folia Microbiol.* 55 (6), 635–640

11. Huang, Y. L., Pang, F. V., Lin, C. M., Tsai, Y. C., Chia, M. Y., Deng, M. C., Chang, C. Y., and Jeng, C. R., 2011. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infection decreases the efficacy of an attenuated classical swine fever virus (CSFV) vaccine. *Veterinary research* 42(1): 115.
12. Kim, J., Chung, H.K., Chae, C., 2003 Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *The Veterinary Journal*. 166, 251-256.
13. Larochelle, R., Magar, R., Allaire, S.D., 2002. Genetic characterization and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) strains from cases presenting various clinical conditions. *Virus Res.* 90, 101–112.
14. Lam Thu Huong and Duong Chi Mai, 2006. *Detection of porcine circovirus from lesions of postweaning-pig with wasting disease at some farms in Ho Chi Minh city and some adjacent provinces*. Proceedings of international workshop on Biotechnology in agriculture, Ho Chi Minh city Vietnam, 65-67.
15. Ouyang, T., Zhang, X., Liu, X., and Ren, L., 2019. Co-infection of swine with porcine circovirus type 2 and other swine viruses. *Viruses* 11(2): 185.
16. Palinski, R., Piñeyro, P., Shang, P., Yuan, F., Guo, R., Fang, Y., Byers, E., Hause, M. B., 2017. A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure. *Journal of virology* 91(1): e01879-16.
17. Pallarés, F. J., Halbur, P. G., Opriessnig, T., Sorden, S. D., Villar, D., Janke, B. H., Yaeger, M. J., Larson, D. J., Schwartz, K. J., Yoon K. J., Hoffman, L. J., 2002. Porcine Circovirus type 2 (PCV-2) coinfections in US field cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 14(6): 515-519.
18. Paton, D. J., McGoldrick, A., Greiser-Wilke, I., Parchariyanon, S., Song, J. Y., Liou, P. P., Stadejek, T., Lowings, J. P., Bjorklund, H., Belak, S., 2000. Genetic typing of classical swine fever virus. *Vet Microbiol.* 73:137–157. doi: 10.1016/S0378-1135(00)00141-3.
19. Segales, J., Allan, G. M., Domingo, M., 2005. Porcine circovirus diseases. *Anim Health Res Rev.*6(2):119–142.
20. Segalés, J., Rosell, C., and Domingo, D., 2004. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Veterinary microbiology* 98(2): 137-149.
21. Segalés, J., Sibila, M., Fort, M., Nofrarias, M., Rozas D. P. A., Cardiel, G. I., Mateu, E., 2012. Simultaneous Porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* Co-inoculation does not potentiate disease in conventional pigs. *Journal of comparative pathology* 147(2-3): 285-295.
22. Tischer, I., Miels, W., Wolff, D., Vagt, M., and Griem, W., 1986. Studies on epidemiology and pathogenicity of porcine circovirus. *Archives of virology* 91(3-4): 271-276.
23. Zhang, H. H., Hu, W. Q., Li, J. Y., Liu, T. N., Zhou, J. Y., Opriessnig, T., and Xiao, C. T., 2019. Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as Porcine circovirus 4, Hunan province, China. *Transboundary and Emerging Diseases*
24. Zhang, L., Luo, Y., Liang, L., Li, J., and Cui, S., 2018. Phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 and porcine circovirus type 2 in china detected by duplex nanoparticle-assisted PCR. *Infection, Genetics and Evolution* 60: 1-6.
25. Zhao, D., Wang, X., Gao, Q., Huan, C., Wang, W., Gao, S., and Liu, X., 2018. Retrospective survey and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 in jiangsu province, china, 2008 to 2017. *Archives of Virology* 163: 2531–2538.

Ngày nhận 7-4-2021

Ngày phản biện 28-4-2021

Ngày đăng 1-11-2021