

THĂM DÒ SỰ HIỆN DIỆN CỦA VIRUS TORQUE TENO SUS TRÊN HEO

Đường Chi Mai, Nguyễn Vạn Tín, Nguyễn Thị Phương Bình, Lê Thanh Hiền

Khoa Chăn nuôi Thú y - Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã được tiến hành tại một trại heo nuôi công nghiệp trong thời gian từ tháng 1/2015 đến tháng 3/2016. Kỹ thuật PCR đã được áp dụng để xác định sự hiện diện của virus Torque teno sus (TTSuV1, TTSuV2) và PCV2 trong các mẫu mô và mẫu huyết thanh của heo ở trại này. Kết quả nghiên cứu cho thấy heo ở trại khảo sát có xu hướng nhiễm TTSuV1 và TTSuV2 trong máu tăng dần theo lứa tuổi. Heo nhiễm PCV2 có xu hướng nhiễm TTSuV2 cao hơn so với nhóm heo không nhiễm PCV2. Không tìm thấy sự khác biệt thống kê về tỷ lệ nhiễm TTSuV1 giữa hai nhóm heo nhiễm và không nhiễm PCV2. Thêm vào đó, TTSuV1 và TTSuV2 được tìm thấy ở tất cả các cơ quan khảo sát (máu, phổi, gan, lách, hạch hạnh nhân, hạch bẹn) với tần số xuất hiện khác nhau, trong đó gan và lách có tỷ lệ nhiễm TTSuV1 và TTSuV2 cao nhất. Tỷ lệ nhiễm TTSuV1 ở nhóm heo âm tính với PCV2 cao hơn ở nhóm heo dương tính với PCV2, nhưng tỷ lệ nhiễm TTSuV2 cao đều ở cả 2 nhóm heo dương và âm tính với PCV2.

Từ khóa: Heo, Virus Torque teno sus, PCV2, Tỷ lệ nhiễm

Detection of Torque teno sus virus (TTSuV) in pigs

Duong Chi Mai, Nguyen Van Tin, Nguyen Thi Phuong Binh, Le Thanh Hien

SUMMARY

The study "Detection of Torque teno sus virus (TTSuV) in pig" was conducted in an industrial pig farm from January, 2015 to March, 2016. PCR technique was applied to determine the presence of TTSuV and a co-infection of TTSuV and PCV2 in the pig tissue and serum samples. The studied result indicated that the pigs in this farm were infected with TTSuV1 and TTSuV2 with the increasing tendency by the age groups. The TTSuV2 prevalence of the PCV2-infected pigs was higher than that of the non-PCV2-infected pigs. There was not significant difference on TTSuV1 prevalence between the PCV2-infected and non-PCV2-infected pigs. Furthermore, both TTSuV1 and TTSuV2 were found in all of the studied organs including blood, lung, liver, spleen, tonsils and inguinal lymph nodes. The highest prevalence of TTSuV1 and TTSuV2 was found in the liver and spleen. TTSuV1 prevalence of the non-PCV2 infected pigs was higher than that of the PCV2 infected pigs; meanwhile, the TTSuV2 prevalence was similar in both pig groups.

Keywords: Pig, Torque teno sus virus, PCV2, Prevalence

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus *Torque teno* (TTV) được đề cập lần đầu tiên trên người mắc bệnh viêm gan nhưng không rõ nguyên nhân tại Nhật Bản vào năm 1997 (Nishizawa và ctv, 1997). Sau đó, sự lây nhiễm của virus trên heo đã được phát hiện vào năm 1999 (Leary và ctv, 1999) và đã được Ủy

ban Quốc tế về phân loại virus (International Committee on Taxonomy of Viruses - ICTV) đặt tên là virus *Torque teno sus* (TTSuV) (King và ctv, 2012). Trước đây, virus này được xem là vi sinh vật hội sinh vì không có khả năng gây bệnh trên người và các thú khác. Tuy nhiên, những nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng việc nhiễm đồng thời của TTSuV và *Porcine circovirus* type

2 trên heo (PCV2) có thể dẫn đến hội chứng còi cọc sau cai sữa (Post-weaning multisystemic wasting syndrome PMWS) (Kekarainen và ctv, 2006; Martin-Valls và ctv, 2008). Nghiên cứu gây bệnh thực nghiệm trên heo với thứ tự các tác nhân TTsuV, PCV2 và virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở heo cho thấy việc gây nhiễm TTsuV trên heo ở tuần đầu tiên và gây nhiễm PCV2 một tuần sau đó sẽ làm heo phát triển hội chứng PMWS; nhưng nếu thứ tự nhiễm ngược lại thì heo sẽ không mắc hội chứng này (Krakowka và ctv, 2008). Thêm vào đó, việc đồng nhiễm TTsuV và PRRSV sẽ gây ra tình trạng bệnh lý tương tự như hội chứng viêm da và bệnh thận (Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome - PDNS) trên heo.

TTsuV đã được phát hiện trong huyết thanh heo trên toàn thế giới với tỷ lệ nhiễm rất khác nhau và dao động từ 17% đến 100%, tùy thuộc vào đặc điểm dịch tễ của mỗi nước, tuổi và tình trạng sức khỏe động vật (McKeown và ctv, 2004; Kekarainen và ctv, 2006; Taira và ctv, 2009). Việc buôn bán và vận chuyển heo sống đã góp phần quan trọng trong việc lây nhiễm TTsuV (Cortey và ctv, 2011). Tại Việt Nam, hiện chưa có nghiên cứu nào tìm hiểu về sự

hiện diện cũng như ảnh hưởng của TTsuV trên heo. Do đó, đề tài được thực hiện nhằm thăm dò sự hiện diện của hai loài TTsuV1 và TTsuV2, cũng như sự đồng hiện diện của hai loài này với PCV2, góp phần tìm hiểu ảnh hưởng của những virus này trên heo.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Mẫu huyết thanh được lấy ngẫu nhiên ở 4 nhóm lứa tuổi (heo 2, 6, 10 tuần tuổi, heo hậu bị - heo nái) trong cùng một trại heo công nghiệp. Mỗi lứa tuổi lấy 10 mẫu bệnh phẩm.

- Các mẫu mô (hạch hạnh nhân, hạch bẹn, phổi, lách, gan) từ 10 heo (2 heo/trại) của 5 trại heo khác nhau có triệu chứng của hội chứng PMWS (sốt, ho, khó thở, còi cọc, lông thô nhám, tiêu chảy, sưng hạch bẹn, viêm khớp, da nhợt nhạt/viêm/xuất huyết) .

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Việc tách chiết DNA của virus được thực hiện bằng bộ kit tách chiết DNA virus (phenol/chloroform) do Công ty cổ phần công nghệ Việt Á cung cấp.

Ký hiệu	Trình tự từ 5' đến 3'	Kích thước	Nguồn
TTSuV1-F	CGGGTTCAGGAGGCTCAAT	305 bp	Segalé và ctv (2008)
TTSuV1-R	GCCATTCGGAAGTGCCTTACT		
TTSuV2-F	TCATGACAGGGTTCACCGGA	252 bp	
TTSuV2-R	CGTCTGCGCACTTACTTATATACTCTA		
PCV2-F	TTAGGCTTTAAGTGGGTGTG	702 bp	Harm và ctv (2001)
PCV2-R	ATGACGTATCCAAGGAGCCG		

Trình tự đoạn mã xác định TTsuV1, TTsuV2 và PCV2 được sử dụng trong phản ứng PCR:

Để thăm dò các virus này, bộ kit DreamTaq Green PCR Master Mix (Promega) sẽ được dùng và các bước tiến hành được thực hiện theo như quy trình của Segalé và ctv (2008) và Harm

và ctv (2001).

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học bằng phần mềm Minitab phiên bản 16. Các tỷ lệ % được so sánh bằng trắc nghiệm Fisher.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình nhiễm TTsuV1 và TTsuV2 trên heo ở trại heo công nghiệp

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm TTsuV1 và TTsuV2 theo lứa tuổi

Lứa tuổi heo	TTsuV1	TTsuV2	TTsuV1 + TTsuV2
Heo 2 tuần tuổi (n=10)	0	0	0
Heo 6 tuần tuổi (n=10)	2	3	2
Heo 10 tuần tuổi (n=10)	1	6	0
Heo hậu bị/ Heo nái (n=10)	6	6	4
Tổng (%)	9/40 (22,5%)	15/40 (37,5%)	6/40 (15%)

Kết quả bảng 1 cho thấy tỷ lệ nhiễm của TTsuV1 và TTsuV2 ở trong trại khảo sát lần lượt là 22,5% và 37,5%. Không phát hiện việc nhiễm TTsuV1 và TTsuV2 ở nhóm heo 2 tuần tuổi. Nhìn chung, tỷ lệ nhiễm TTsuV1 và TTsuV2 tăng dần theo lứa tuổi. Kết quả phân tích thống kê cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa về tỷ lệ nhiễm TTsuV1, TTsuV2 ở nhóm heo 2 tuần tuổi và nhóm heo hậu bị/heo nái trong trại ($P < 0,05$), nhưng không có sự khác biệt thống kê về tỷ lệ nhiễm TTsuV1, TTsuV2 giữa các nhóm heo còn lại. Kết quả về tình hình nhiễm TTsuV theo lứa tuổi của heo trong nghiên cứu này tương đồng với Sibila và ctv (2009); tác giả

này cho rằng việc nhiễm các loài TTsuV thường tăng theo tuổi. Nhưng một số tác giả khác cho rằng tỷ lệ nhiễm TTsuV giảm theo tuổi (Martelli và ctv, 2006; Martínez và ctv, 2006). Taira và ctv (2009) ghi nhận được tỷ lệ nhiễm TTsuV không phụ thuộc vào lứa tuổi heo. Ở Tây Ban Nha, việc nhiễm TTsuV1 và TTsuV2 ở heo nái cũng chiếm tỷ lệ cao, lần lượt là 60% và 30%, nhưng không có mối liên hệ giữa việc nhiễm TTsuV ở heo nái và những heo con trong cùng đàn cũng như số lứa đẻ không liên quan đến tỷ lệ nhiễm của TTsuV trên heo (Martínez-Guino và ctv, 2009; Sibila và ctv, 2009).

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm TTsuV1 và TTsuV2 trên heo (+) PCV2 và heo (-) PCV2

Nhóm heo	TTsuV1 (% , n)	TTsuV2 (% , n)	TTsuV1+TTsuV2 (% , n)
Heo (-) PCV2	7,69 (2/26)	11,54 (3/26)	11,54 (3/26)
Heo (+) PCV2	7,14 (1/14)	42,86 (6/14)	21,43 (3/14)
Tổng	7,5 (3/40)	22,5 (9/40)	15 (6/40)

Bảng 2 cho thấy TTsuV1 và TTsuV2 hiện diện trong cả 2 nhóm heo dương và âm tính với PCV2. Trong đó, ở nhóm heo dương tính với PCV2, tỷ lệ nhiễm TTsuV2 có khuynh hướng cao hơn nhóm heo âm tính PCV2. Tuy nhiên, không tìm thấy sự khác biệt thống kê về tỷ lệ nhiễm TTsuV1 ở cả 2 nhóm heo dương

và âm tính với PCV2. Ở Tây Ban Nha, heo bị ảnh hưởng bởi PMWS (91%) có nhiều khả năng bị nhiễm TTsuV2 hơn những heo không bị ảnh hưởng bởi PMWS (72%), và không có sự khác biệt như vậy được ghi nhận với TTsuV1 (Kekarainen và ctv, 2006). Trong khi đó, tỷ lệ phát hiện của TTsuV2 ở nhóm heo

bị ảnh hưởng bởi những bệnh liên quan PCV2 (PCVAD) thì cao hơn đáng kể so với heo được chủng vaccin PCV2 ở những trại chăn nuôi heo ở Nhật (97,4% so với 81,4%); đồng thời, tỷ lệ phát hiện của TTsuV2 trong cả hai nhóm trên (heo bị ảnh hưởng PCVAD và được chủng ngừa PCV2) thì cao hơn đáng kể so với tỷ lệ phát hiện của TTsuV1 (Deguchi và Tshering, 2011). Dựa vào những kết quả này, các tác giả trên đã nhận định rằng TTsuV2 có thể là một đồng yếu tố của

PCVAD ở heo không được chủng ngừa PCV2.

3.2. Sự hiện diện của TTsuV1 và TTsuV2 trong các loại mô khảo sát của heo có triệu chứng của PMWS

Để tìm hiểu thêm về sự đồng hiện diện của những virus này ở những heo có triệu chứng của hội chứng PMWS, tổng số 50 mẫu bệnh phẩm (hạch hạnh nhân, hạch bẹn, phổi, lách, gan) từ 10 heo mổ khám đã được kiểm tra. Kết quả được trình bày qua bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ heo nhiễm TTsuV1 và TTsuV2 theo cơ quan khảo sát (n=10 heo)

Cơ quan	TTsuV1 n (%)	TTsuV2 n (%)	TTsuV1 + TTsuV2 n (%)
Phổi	3 (30)	3 (30)	2 (20)
Gan	5 (50)	8 (80)	5 (50)
Lách	5 (50)	8 (80)	4 (40)
Hạch hạnh nhân	4 (40)	6 (60)	4 (40)
Hạch bẹn	2 (20)	4 (40)	1 (10)

*n: số heo nhiễm virus

Kết quả bảng 3 cho thấy TTsuV1 và TTsuV2 hiện diện ở tất cả các cơ quan khảo sát với tần số xuất hiện khác nhau, nhưng không có sự khác biệt thống kê về tỷ lệ nhiễm TTsuV1 so với TTsuV2 trong cùng một mẫu, cũng như tỷ lệ TTsuV1 và TTsuV2 giữa các mẫu với nhau ($P > 0,05$). Kết quả trong nghiên cứu này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Teixeira và ctv (2013) cũng cho rằng cả 2 loài TTsuV hiện diện trong tất cả các cơ quan khảo sát (phổi, thận, gan, lá lách và các hạch bạch huyết) của heo bị

ảnh hưởng hội chứng PMWS và không bị ảnh hưởng hội chứng PMWS; chính vì thế, nhóm nghiên cứu này cho rằng không có cơ quan đích cho sự nhân lên của virus TTsuV1 và TTsuV2. Ở heo khỏe, sự phân bố của hai loài TTsuV1 và TTsuV2 cũng được tìm thấy trong tất cả các mẫu mô gồm: não, phổi, tim, gan, lách, thận, tủy xương, hạch bạch huyết, màng treo ruột và không có sự khác biệt đáng kể về tỷ lệ nhiễm của hai loài TTsuV trong các mô (Aramouni và ctv, 2010).

Bảng 4. Tỷ lệ heo nhiễm TTsuV1 và TTsuV2 theo sự hiện diện của PCV2 trên cơ quan khảo sát

Nhóm heo		Phổi	Gan	Lách	Hạch hạnh nhân	Hạch bẹn
Heo (-) PCV2	TTsuV1	50 (3/6)	66,67 (4/6)	66,67 (4/6)	50 (3/6)	33,33 (2/6)
	TTsuV2	33,33 (2/6)	83,33 (5/6)	83,33 (5/6)	50 (3/6)	33,33 (2/6)
Heo (+) PCV2	TTsuV1	0 (0/4)	25 (1/4)	25 (1/4)	25 (1/4)	0 (0/4)
	TTsuV2	25 (1/4)	75 (3/4)	75 (3/4)	75 (3/4)	50 (2/4)

Bảng 4 cho thấy trong cả hai nhóm heo dương và âm tính PCV2, cả TTsuV1 và TTsuV2 đều được tìm thấy ở những cơ quan khảo sát. Không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) về tỷ lệ nhiễm TTsuV1 và TTsuV2 ở cả hai nhóm heo dương và âm tính PCV2. Kết quả của nghiên cứu này tương đồng với kết quả của Teixeira và ctv (2013), không có sự khác biệt đáng kể nào về sự phân bố của TTsuV1 và TTsuV2 trong các mô khác nhau được kiểm tra ở những heo có và không có hội chứng PMWS. Bằng phương pháp qPCR, Aramouni và ctv (2011) đã kết luận rằng lượng virus TTsuV2 ở thú mắc hội chứng PMWS cao hơn đáng kể ở thú không có hội chứng PMWS; ngược lại, tỷ lệ nhiễm và số lượng TTsuV1 không có sự khác biệt giữa hai nhóm heo này. Tóm lại, vai trò của virus TTsuV1 và TTsuV2 liên quan đến hội chứng PMWS hay PCVD trên heo vẫn còn đang tranh cãi. Tỷ lệ vẩy nhiễm TTsuV trong mẫu gan heo và sườn heo tại các cửa hàng bán lẻ lần lượt là 98,6% (279/283) và 97,9% (587/599) đã được ghi nhận bởi Leblanc và ctv (2014). Thực phẩm có nguồn gốc động vật có thể lây truyền virus một cách tiềm năng cho người (Rodriguez-Lazaro và ctv, 2012). Kết quả từ nghiên cứu của Leblanc và ctv (2014) cho thấy khả năng người có thể tiếp xúc với TTsuV thông qua việc chăn nuôi và sản phẩm từ heo. Đến nay, TTsuV vẫn chưa được biết là có gây hại cho người hay không, nhưng ở một điều kiện nhất định nào đó, những chủng mới xuất hiện này có thể gây bệnh trên người (Bzhalava và ctv, 2012).

Tóm lại, mặc dù cơ chế gây bệnh của TTsuV chưa rõ, nhưng chúng đóng vai trò quan trọng trong đồng nhiễm với các tác nhân gây bệnh khác trên heo và chúng thường hiện diện trên heo mắc hội chứng PMWS (Kekarainen và ctv, 2006; Aramouni và ctv, 2011), PRDC (Rammohan và ctv, 2012). Một nghiên cứu khác cho rằng TTsuV ức chế đáp ứng miễn dịch và khi đồng nhiễm với PRRS, chúng gây ra PRRS trên heo (Zhang và ctv, 2012). Vì vậy, Jiménez-Melsió và ctv (2015) cho rằng nên có vaccin TTsuV nhằm giảm lượng virus trong

máu. Theo Bigarré và ctv (2005), vai trò của TTsuV cần được nghiên cứu thêm, bởi vì cũng giống TTsuV, PCV2 thường được tìm thấy trên heo khỏe mạnh. Ngày nay, các nhà khoa học đã chứng minh được rằng PCV2 là một trong những nguyên nhân gây ra hội chứng PMWS. Do đó, giả thuyết rằng TTsuV sẽ gây ra bệnh/hội chứng nào đó vẫn còn là vấn đề nên được quan tâm.

IV. KẾT LUẬN

Trại heo khảo sát có xu hướng nhiễm TTsuV1 và TTsuV2 trong máu tăng dần theo lứa tuổi. Heo nhiễm PCV2 có xu hướng nhiễm TTsuV2 cao hơn nhóm heo không nhiễm PCV2.

TTsuV1 và TTsuV2 hiện diện ở tất cả các cơ quan khảo sát (phổi, gan, lách, hạch hạnh nhân, hạch bẹn), tuy nhiên tần số xuất hiện khác nhau. Tỷ lệ nhiễm TTsuV1 ở nhóm heo âm tính PCV2 cao hơn ở nhóm heo dương tính PCV2, nhưng tỷ lệ nhiễm TTsuV2 cao đều ở cả 2 nhóm heo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aramouni M., Segalés J., Cortey M. and Kekarainen T., 2010. Age-related tissue distribution of swine Torque teno sus virus 1 and 2. *Vet Microbiol* 146: 350-353.
2. Bzhalava D., Ekstrom E., Lysholm F., Hultin E., Faust H., Persson B., Lehtinen M., de Villiers E.-M. and Dillner J., 2012. Phylogenetically diverse TT virus viremia among pregnant women. *Virology* 432: 427-434.
3. Deguchi E. and Tshering C., 2011. Detection of swine Torque teno virus geno groups 1 and 2 in sera of PCV2 associated disease-affected pigs and PCV2-vaccinated-normal pigs. In Proceedings of the 5th Asian Pig Veterinary Society Congress 7-9 March 2011, Pattaya, Thailand p59.
4. Cortey M., Pileri E., Segalés J. and Kekarainen T., 2011. Globalisation and global trade influence molecular viral

- population genetics of Torque Teno Sus Viruses 1 and 2 in pigs. *Vet Microbiol* 156: 81-87.
5. Jiménez-Melsió A., Rodriguez F., Darjia A., Segalés J., Cornelissen-Keijsers V., van den Born E., Kekarainen T., 2015. Vaccination of pigs reduces Torque teno sus virus viremia during natural infection. *Vaccine* 33 (2015) 3497–3503.
 6. Kekarainen T., Sibila M. and Segalés J., 2006. Prevalence of swine Torque teno virus in PMWS-affected and non-PMWS-affected pigs in Spain. *J. Gen. Virol.* 87: 833-837.
 7. Leary T.P., Erker J.C., Chalmers M.L., Desai S.M. and Mushahwar I.K., 1999. Improved detection systems for TT virus reveal high prevalence in humans, non-human primates and farm animals. *J Gen Virol* 80: 2115-2120.
 8. Leblanc D., Houde A., Gagné M.J., Plante D., Bellon-Gagnon P., Jones T.H., Muehlhauser V., Wilhelm B., Avery B., Janecko N. and Brassard J., 2014. Presence, viral load and characterization of Torque teno sus viruses in liver and pork chop samples at retail. *International Journal of Food Microbiology* 178 (2014): 60–64.
 9. Martelli F., Caprioli A., Di Bartolo I., Cibir V., Pezzotti G., Ruggeri F.M. and Ostanello F., 2006. Detection of swine Torque teno virus in Italian pig herds. *J. Vet. Med. B* 53: 234–238.
 10. Martinez L., Kekarainen T., Sibila M., Ruiz-Fons F., Vidal D., Gortazar C. and Segalés J., 2006. Torque teno virus (TTV) is highly prevalent in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Vet. Microbiol.* 118: 223–229.
 11. Martínez-Guinó L., Kekarainen T. and Segalés J., 2009. Evidence of *Torque teno virus* (TTV) vertical transmission in swine. *Theriogenology* 71: 1390-1395.
 12. Rammohan L., Xue L., Wang C., Chittick W., Ganesan S. and Ramamoorthy S., 2012. Increased prevalence of Torque teno viruses in porcine respiratory disease complex affected pigs. *Vet Microbiol* 157: 61-68.
 13. Sibila M., Martínez-Guinó L., Huerta E., Llorens A., Mora M., GrauRoma L., Kekarainen T. and Segalés J., 2009. Swine Torque teno virus (TTV) infection and excretion dynamics in conventional pig farms. *Veterinary Microbiology* 139: 213-218.
 14. Taira O., Ogawa H., Nagao A., Tuchiya K., Nunoya T. and Ueda S., 2009. Prevalence of swine Torque teno virus genogroups 1 and 2 in Japanese swine with suspected post-weaning multisystemic wasting syndrome and porcine respiratory disease complex. *Veterinary Microbiology* 139 (2009): 347–350.
 15. Teixeira T.F., Dezen D., Cibulski S.P., Varela A.P.M., Sheffer C.M., Holz C.L., Dos Santos H.F., Franco A.C. and Roehe P.M., 2013. Torque teno sus virus (TTSuV) in tissues of pigs and its relation with the occurrence of postweaning multisystemic wasting syndrome. *Virus Genes.* 47(2): 276-281.
 16. Zhang Z.W.Y, Fan H., and Lu C., 2012. Natural infection with Torque teno sus virus 1 (TTSuV1) suppresses the immune response to PRRSV vaccination. *Arch Virol* 2012; 157 (5): 927–933.

Nhận ngày 16-5-2016

Phản biện ngày 30-8-2016