

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM BỆNH LÝ Ở LỢN CON TIÊU CHẢY DO ROTAVIRUS

*Đào Lê Anh, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Thị Hạnh,
Nguyễn Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn Thị Ngọc, Lê Văn Hùng
Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

TÓM TẮT

Đã thu thập 103 mẫu lợn con tiêu chảy tại 6 tỉnh phía Bắc để nghiên cứu mức độ tổn thương đại thể và vi thể của bệnh do Rotavirus gây ra. Kết quả nghiên cứu bằng kỹ thuật RT-PCR cho thấy có 14 mẫu dương tính với Rotavirus và không có sự đồng nhiễm với một số tác nhân virus, vi khuẩn khác. Thông kê triệu chứng lâm sàng ở lợn con tiêu chảy do Rotavirus cho thấy triệu chứng tập trung ở hệ tiêu hóa, cụ thể là tiêu chảy (100%); phân vàng hoặc trắng có lẫn cặn sữa, có bọt khí (85,71%). Ngoài ra, lợn mắc bệnh còn có biểu hiện ủ rũ, mệt mỏi, lười vận động, uống nhiều nước, bỏ ăn, giảm ăn, lợn hốc hác và gầy còm. Tổn thương đại thể chủ yếu xảy ra ở ruột non, thành ruột mỏng, căng ra, trong ruột chứa cặn sữa không tiêu (90-100%). Bệnh tích vi thể tập trung ở ruột. Tổn thương vi thể chủ yếu xảy ra ở đỉnh lông nhung ruột (100%), lông nhung cùn, teo dần nên làm giảm khả năng tiêu hóa, hấp thu các chất dinh dưỡng. Trên các đoạn ruột non, tổn thương vi thể nặng hơn ở đoạn tá tràng và không tràng với biểu hiện sung huyết, thâm nhiễm tế bào viêm và lông nhung bị ăn mòn ở hầu hết các mẫu nghiên cứu.

Từ khóa: Lợn con, Rotavirus, bệnh tích đại thể và vi thể.

Some pathological characteristics of the piglets suffering with diarrhea caused by Rotavirus

*Dao Le Anh, Nguyen Thi Lan, Nguyen Thi Hanh,
Nguyen Thi Thu Hang, Nguyen Thi Hoa, Nguyen Thi Ngoc, Le Van Hung*

SUMMARY

A total of 103 diarrheal piglet samples were collected in 6 Northern provinces, Viet Nam for study on the pathology caused by rotavirus. The results of RT-PCR technique showed that 14 samples were positive with rotavirus and co-infection with other virus and bacteria was not found. The clinical symptoms of the piglets suffering with diarrhea by rotavirus were detected mainly in the digestive system, the severe symptom was diarrhea (100%); yellow or white feces with milk residues (85.71%). In addition, the rotavirus infected pigs presented several clinic signs, such as: moodiness, tiredness, drinking plenty of water, loss appetite and decline. The necropsy result of the rotavirus infected piglets indicated that the lesions were mainly occurred in the small intestine, such as the intestinal wall was thin, stretched, containing milk residue (90-100%). The histological lesions were mainly occurred on top of the intestinal villi (100%), it was blunt, gradually disappeared, thus reduced digestibility, nutrition absorption. The lesions in the intestine segments were heavier than that on the duodenum and jejunum with the manifestations of congestive, inflammatory, infiltrated cells and corrosive villi in most of the studied samples.

Keywords: Piglet, Rotavirus, gross and histological lesions.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tiêu chảy ở lợn con là một trong những vấn đề nghiêm trọng và gây thiệt hại kinh tế cho người chăn nuôi. Rotavirus là một trong số nguyên nhân chủ yếu gây tiêu chảy cấp ở lợn con và ở trẻ em, và được cho là một tác nhân có khả năng truyền lây giữa động vật và người (Nguyễn Tuấn Anh và cs, 2007). Rotavirus thuộc họ Reoviridae và được chia thành 5 nhóm (group) khác nhau, bao gồm nhóm A, B, C, D, E. Trong 5 nhóm này thì Rotavirus nhóm A là quan trọng và nguy hiểm nhất vì sự lưu hành và tỷ lệ gây bệnh tiêu chảy cấp tính cao đối với cả người và gia súc. Genome của Rotavirus mang vật liệu di truyền là những đoạn phân tử RNA, gồm 11 phân đoạn mã hóa cho 6 protein cấu trúc (structural protein) và 6 protein không cấu trúc (nonstructural protein). Do genome của Rotavirus có cấu trúc phân đoạn nên có sự tái tổ hợp về gen giữa các chủng Rotavirus với nhau khi chúng cùng nhiễm vào một tế bào và tạo ra các chủng/biến chủng virus mới. Rotavirus nhóm A được chia thành các genotype khác nhau dựa vào loại protein glycoprotein (G) và protease-sensitive (P) nằm trên lớp vỏ protein bao bọc lõi virus. Ít nhất có 23 loại genotype G và 31 loại genotype P được ghi nhận trên thế giới hiện nay. Các G và P genotype mới không ngừng được tìm thấy trong thời gian gần đây, nói lên tính đa dạng của Rotavirus trong tự nhiên.

Trên thế giới, nghiên cứu các biến đổi bệnh lý do Rotavirus gây ra được cho là hết sức quan trọng vì nó góp phần tạo nền móng cho việc thiết lập chẩn đoán bệnh, do vậy các nghiên cứu đã được thực hiện từ lâu (Janke B.H. et al., 1987; Johannsen U. et al., 1976). Ở Việt Nam, đã có nhiều nghiên cứu đề cập đến sự có mặt cũng như vai trò của Rotavirus trong các trường hợp lợn con tiêu chảy, tuy nhiên tính đến thời điểm này, hầu như chưa có nghiên cứu về mô bệnh học liên quan đến tiêu chảy ở lợn con do Rotavirus gây ra. Mục tiêu của nghiên cứu là tìm hiểu đặc điểm bệnh lý của lợn con tiêu chảy do Rotavirus nhằm đánh giá thương tổn của bệnh do Rotavirus trên lợn con ở mức độ đại

thể và vi thể, từ đó cung cấp thông tin cho chẩn đoán lâm sàng và giải thích nguyên nhân vì sao lợn con bị bệnh giảm hấp thu và tiêu hóa.

II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Xác định một số đặc điểm về triệu chứng của lợn con tiêu chảy do Rotavirus
- Bệnh tích đại thể của lợn con tiêu chảy do Rotavirus
- Biến đổi vi thể một số tổ chức nội tạng của lợn con tiêu chảy do Rotavirus.

2.2. Nguyên liệu

- Động vật lấy mẫu bệnh phẩm: Lợn con nghi mắc Rotavirus (0-28 ngày tuổi).
- Dụng cụ, hóa chất: Các dụng cụ, hóa chất, trang thiết bị tại Phòng thí nghiệm trọng điểm CNSH Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Hệ thống làm tiêu bản vi thể, kính hiển vi điện tử, máy PCR.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp quan sát: quan sát triệu chứng lâm sàng của lợn, chụp ảnh, ghi chép số liệu của từng cá thể và toàn đàn.
- Phương pháp mổ khám: Lợn bệnh được cố định trên bàn mổ hoặc khay mổ, mổ khám theo trình tự từ trên xuống dưới, bóc lột tất cả các khí quan để quan sát và tìm ra những biến đổi về bệnh tích đại thể.
- Phương pháp làm và nhuộm tiêu bản vi thể: những mẫu bệnh phẩm có các biến đổi đại thể được sử dụng cho nghiên cứu vi thể. Phương pháp làm tiêu bản vi thể theo quy trình tẩm đục bằng parafin, nhuộm Haematoxylin - Eosin (HE).
- Phương pháp RT-PCR.

Tách chiết ARN

Tiến hành tách chiết ARN tổng số theo hướng dẫn của bộ Kit tách chiết ARN của Ambion.

Cụ thể các bước tiến hành như sau: Mẫu bệnh phẩm được phân giải bằng 600 µl dung dịch LB-buffer, dùng chày nghiền mẫu, nghiền cho đến khi dung dịch phân giải hoàn toàn. Bổ sung 600µl cồn 70%. Chuyển toàn bộ huyền dịch trên sang cột lọc của Kit, sau đó rửa cột lọc hai lần bằng bộ đệm rửa Wash Buffer I, Wash Buffer II được cung cấp kèm theo Kit. Cuối cùng ARN được thu bằng 100 µl nước tinh khiết (kèm theo bộ Kit). DNA được bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích.

Phản ứng RT-PCR

Mẫu ARN sau khi tách chiết sẽ được tiến hành phản ứng RT-PCR theo bộ Kit Invitrogen. Cặp mồi được sử dụng trong nghiên cứu để nhân đoạn gen VP6 bao gồm :

Rota - set1 F (Forward primer): 5'-AAA

GAT GCT AGG GAC AAA ATT G- 3'

Rota - set1 R (Reverse primer): 5'-TTC
AGA TTG TGG AGC TAT TCC A-3'.

Chu kì nhiệt của phản ứng RT-PCR như sau: 45°C - 45 phút, 94°C - 2 phút, 35 chu kỳ (94°C - 30 giây, 45°C - 1 phút, 72°C - 1 phút), 72°C - 10 phút và cuối cùng giữ sản phẩm ở 4°C.

Điện di trên thạch và đọc kết quả sản phẩm RT-PCR

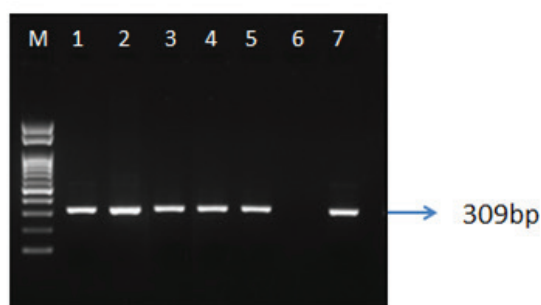
Sản phẩm RT-PCR được điện di trên bản thạch 1,2% trong dung dịch đệm TBE1X trong thời gian 35 phút ở hiệu điện thế 100V. Đọc kết quả điện di bằng tia UV tại bước sóng 254nm.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm Rotavirus ở lợn con từ 0-28 ngày tuổi tại một số tỉnh phía Bắc

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm Rotavirus ở lợn con từ 0 - 28 ngày tuổi ở một số tỉnh phía Bắc

STT	Địa điểm	Số mẫu xét nghiệm	Kết quả phản ứng RT-PCR	
			Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
1	Hưng Yên	21	5	23,81
2	Hà Nam	18	3	16,67
3	Bắc Giang	17	2	11,76
4	Hải Dương	16	5	31,25
5	Bắc Ninh	15	0	0
6	Nam Định	16	1	6,25
Tổng		103	16	15,53



Hình 1. Kết quả chạy điện di sản phẩm phản ứng RT-PCR phát hiện Rotavirus

M: thang chuẩn Marker (100bp); giếng 1-5: mẫu ruột, phân của lợn nghi nhiễm Rotavirus; giếng 6: đối chứng âm; giếng 7: đối chứng dương (chủng virus Rota vaccin)

Trong quá trình nghiên cứu, chúng tôi tiến hành thu thập các mẫu phân lợn tiêu chảy từ một số trang trại lợn ở phía Bắc Việt Nam, tiến hành phản ứng RT-PCR xét nghiệm phát hiện Rotavirus, chúng tôi thu được kết quả theo bảng 1.

Qua bảng 1 cho thấy kết quả phản ứng RT-PCR đã phát hiện 16 mẫu lợn con từ 0 - 28 ngày tuổi dương tính với Rotavirus, chiếm tỷ lệ 15,53%. Số mẫu lợn con dương tính với Rotavirus được phát hiện ở 5/6 tỉnh phía Bắc gồm Hưng Yên, Hà Nam, Bắc Giang, Hải Dương và Nam Định. Không phát hiện mẫu nào dương tính với Rotavirus ở tỉnh Bắc Ninh. Như vậy, Rotavirus gây bệnh cho lợn con lưu hành khá rộng rãi ở khu vực phía Bắc nước ta.

Trên thế giới có nhiều kỹ thuật chẩn đoán bệnh do Rotavirus trên lợn như phân lập virus, test thử nhanh, RT-PCR, RT-qPCR, trong đó kỹ thuật RT-PCR được sử dụng phổ biến tại các phòng thí nghiệm để xác định tỷ lệ nhiễm Rotavirus trên lợn con. Bằng kỹ thuật này tại Canada, một nghiên cứu đã thu thập 96 mẫu lợn trên 24 ngày tuổi ở các lò mổ từ 2005-2007 xác định tỷ lệ lợn nhiễm Rotavirus là 8,3% (Martel et al., 2013). Cùng giai đoạn đó, bằng kỹ thuật RT-PCR, xác định được tỷ lệ nhiễm 6,5% với Rotavirus trên đối tượng lợn con 28-63 ngày tuổi tại Ireland 2007 (Collins et al., 2010).

Ở Việt Nam, nghiên cứu của Phạm Hồng Anh và cs (2014) công bố tỷ lệ nhiễm Rotavirus nhóm A là 32,7% từ các mẫu lợn con khỏe mạnh và lợn con tiêu chảy ở 4 tỉnh đồng bằng sông Mekong. Kết quả tỷ lệ nhiễm Rotavirus trên lợn con của chúng tôi thấp hơn, có thể do số lượng

mẫu thu thập còn ít nên chưa phản ánh được đầy đủ tỷ lệ lưu hành của Rotavirus trên đàn lợn.

Ngoài chẩn đoán sự có mặt của Rotavirus, tất cả các mẫu bệnh phẩm trên cũng được xác định sự có mặt của virus TGE, virus PED, virus PRRS, vi khuẩn *E.coli*, *Salmonella*, *Clostridium* và Coccidiosis. Kết quả chẩn đoán cho thấy có 14/16 mẫu cho kết quả âm tính với virus TGE, PED, vi khuẩn *E.coli*, *Salmonella* và Coccidiosis (số liệu không trình bày trong bài báo này). Lựa chọn 14 mẫu chỉ dương tính với Rotavirus để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả về tỷ lệ nhiễm Rotavirus cho thấy đã có sự hiện diện khá cao của virus trong môi trường, đồng thời chúng còn tồn tại lâu trong môi trường (phân, dụng cụ, trang thiết bị chăn nuôi...). Đây là yếu tố nguy cơ lan truyền bệnh cần quan tâm vì nó có ảnh hưởng đến sức khỏe con người, đặc biệt ở trẻ em. Ngoài gây bệnh trên lợn, Rotavirus còn là nguyên nhân gây tiêu chảy cấp ở các loài chăn nuôi như người, chuột, bò, cừu. Sự truyền lây tự nhiên giữa người và động vật có thể xảy ra bởi con đường truyền lây chủ yếu là từ nguồn nước và phân động vật gây nhiễm.

3.2. Triệu chứng lâm sàng của lợn con nhiễm Rotavirus

Thông qua kết quả phản ứng RT-PCR phát hiện mẫu dương tính với Rotavirus, chúng tôi tiến hành quan sát biểu hiện lâm sàng của lợn con tiêu chảy nhiễm Rotavirus. Các triệu chứng lâm sàng trên lợn con đã được chúng tôi theo dõi, quan sát, ghi chép lại thông tin qua các chủ hộ. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Triệu chứng lâm sàng ở lợn con tiêu chảy do Rotavirus

STT	Chỉ tiêu theo dõi	Số lợn biểu hiện (n = 14)	Tỷ lệ (%)
1	Ủ rũ, mệt mỏi, lười vận động	13	92,86
2	Uống nhiều nước	8	57,14
3	Phân vàng hoặc trắng, có lẫn cặn sữa, có bọt khí	12	85,71
4	Nôn mửa	3	21,43
5	Lười bú, bỏ ăn, giảm ăn	12	85,71
6	Lợn hốc hác, gầy còm	12	85,71
7	Tiêu chảy	14	100

Nghiên cứu triệu chứng lâm sàng của lợn con tiêu chảy do Rotavirus, chúng tôi thấy bệnh diễn biến ở thể cấp tính. Triệu chứng lâm sàng của lợn thay đổi phụ thuộc vào lứa tuổi, trạng thái miễn dịch của lợn con, cũng như điều kiện quản lý chăm sóc của từng trại mà diễn biến lâm sàng của bệnh có thể giảm dần hoặc nghiêm trọng hơn và dẫn đến tử vong. Triệu chứng lâm sàng của bệnh bao gồm: ủ rũ, mệt mỏi, lười vận động, uống nhiều nước, tiêu chảy, phân vàng hoặc trắng có lẫn cặn sữa, có bọt khí, lười bú, bỏ ăn, giảm ăn, lợn hốc hác, gầy còm. Trong đó, triệu chứng lợn con ủ rũ, mệt mỏi, bỏ ăn, giảm ăn, gầy còm chiếm tỷ lệ 85,71-92,86% số con theo dõi.

Lợn tiêu chảy chiếm 100% tổng số con quan sát, do mất nước nhiều, con vật có biểu hiện khát nước và uống nhiều nước. Lợn uống nhiều nước chiếm 57,14%. Một số lợn con có biểu hiện nôn (21,43%).

Lợn con mắc bệnh làm cho quá trình hấp thu các chất bị cản trở, nhu động ruột tăng lên, khả năng tiêu hóa bị hạn chế, sữa và thức ăn thừa trong ruột non không được tiêu hóa, một thời gian chúng lên men yếm khí sinh hơi, do vậy phân của con vật có lẫn cặn sữa, có bọt khí. Lợn có phân vàng, hoặc trắng, có lẫn cặn sữa, có bọt khí chiếm 85,71%.

Rotavirus chịu được khoảng pH 3,0 - 9,0, nhờ đó chúng có khả năng chống chịu với pH thấp ở dạ dày (pH 2,5 - 3,5) và pH cao ở ruột non (6,0 - 7,5). Rotavirus tập trung chủ yếu ở lông nhung ruột non. Chúng tái tạo chủ yếu trong tế bào chất của tế bào biểu mô lông nhung ruột non (Buller và Moxley, 1988) và trong các tế bào biểu mô manh tràng hoặc đại tràng (Collins et al., 1989; Theil et al., 1978; Ward et al., 1996b), ở đây chúng phá hủy tế bào biểu mô trên bề mặt lông nhung. Kết quả là mọi hoạt động tiêu hóa, vận chuyển chất dinh dưỡng, chất điện giải của tế bào biểu mô trên bề mặt lông nhung bị đình trệ, giảm khả năng hấp thu chất dinh dưỡng. Nước và chất điện giải tích tụ trong lòng ruột cộng với chất dinh dưỡng hay sữa không được tiêu hóa làm tăng áp lực thẩm thấu trong lòng ruột. Áp lực này kéo nước trong mô bào vào lòng ruột càng làm dịch thể tích tụ trong xoang ruột, kích thích vào các thụ quan thần kinh cục bộ, tăng nhu động ruột sinh ra tiêu chảy làm cơ thể mệt mỏi dẫn đến chán ăn, bỏ ăn.

3.3. Xác định tổn thương đại thể trên lợn con tiêu chảy do Rotavirus

Tiến hành mổ khám trên lợn con bị tiêu chảy do Rotavirus (có kết quả xét nghiệm dương tính với Rotavirus bằng RT-PCR) để quan sát, kiểm tra bệnh tích đại thể và thu thập mẫu bệnh phẩm làm tiêu bản vi thể. Bệnh tích đại thể trên các cơ quan được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Các tổn thương đại thể ở lợn con tiêu chảy do Rotavirus (n=14)

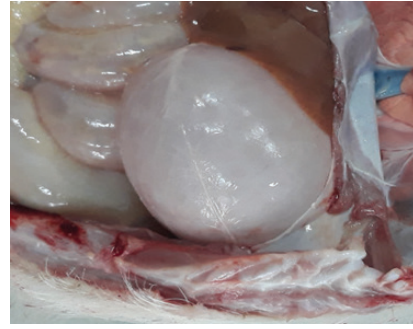
Bệnh tích	Số con biểu hiện	Tỷ lệ (%)
Có sữa trong dạ dày, ruột non	14	100
Hạch ruột sưng, thủy thũng	6	42,86
Thành ruột mỏng	11	78,57
Ruột non căng phồng	11	78,57
Viêm dạ dày-ruột	6	42,86
Niêm mạc ruột bị bào mòn, bong tróc	8	57,14

Quan sát các bệnh tích của lợn mổ khám, chúng tôi nhận thấy rằng bệnh tích chủ yếu tập trung ở ruột non, cụ thể hiện tượng có sữa trong dạ dày và ruột (100%), ruột non căng phồng, thành ruột mỏng

(78,57%) và niêm mạc ruột bị bong tróc, bị bào mòn (57,14%). Ngoài các bệnh tích kể trên, lợn con còn có hiện tượng hạch ruột sưng, thủy thũng và viêm dạ dày-ruột chiếm 42,86%.



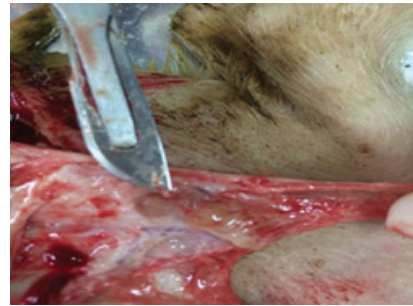
Hình 2. Lợn con bị tiêu chảy



Hình 3. Dạ dày căng phồng



Hình 4. Phổi viêm nhẹ



Hình 5. Hạch màng treo ruột sưng



Hình 6. Thận có vùng sung huyết



Hình 7. Thành ruột mỏng, căng phồng

Chúng tôi tiến hành so sánh với các bệnh khác gây tiêu chảy trên lợn con:

Theo bảng so sánh thì các bệnh gây tiêu chảy lợn do virus như PED, TGE và Rotavirus đều có triệu chứng, bệnh tích rất giống nhau nên trong thực tế lâm sàng dễ dàng chẩn đoán nhầm các bệnh với nhau. Vì vậy để phân biệt được các bệnh này cần phải dùng phương pháp chẩn đoán

trong phòng thí nghiệm như RT-PCR để xác định được nhanh và chính xác nguyên nhân gây bệnh và có biện pháp xử lý kịp thời giảm thiệt hại do bệnh gây ra trên đàn lợn.

Trên thực tế, lợn mắc Rotavirus bị nhiễm kế phát virus hoặc vi khuẩn thì bệnh trở nên trầm trọng và tỷ lệ chết tăng lên (Johannsen U., 1976).

TT	Tên bệnh	Tác nhân gây bệnh	Bệnh tích đại thể trên đường tiêu hóa	Tài liệu tham khảo
1	PED	Virus PED	Ruột căng phồng, đầy dịch màu vàng, chứa những cục sữa chưa tiêu. Thành ruột mỏng và trong suốt có thể do lỏng nhưng bị bào mòn, xuất huyết, chứa nhiều chất lỏng thối, hạch ruột sưng, thủy thũng, đặc biệt là ở không tràng và hồi tràng.	Nguyễn Tất Toàn và cs. (2012)
2	TGE	Virus TGE	Lợn tiêu chảy phân nhiều nước, phân màu vàng hoặc hơi xanh, lỏng nhớt, mùi khó chịu.	Nguyễn Như Thanh và cs. (2001)
3	Bệnh tiêu chảy do <i>E.coli</i>	Vi khuẩn <i>E.coli</i>	Lợn tiêu chảy phân có màu trắng, ruột bị sung huyết và xuất huyết.	
4	Phó thương hàn	Vi khuẩn <i>Salmonella</i>	Lợn tiêu chảy phân lỏng sống, màu vàng bột như cám hoặc màu xám, da xuất hiện những đám tụ máu, gan có những điểm hoại tử hoặc áp se	
5	Bệnh tiêu chảy do <i>Clostridium</i>	Vi khuẩn <i>Clostridium</i>	Lợn tiêu chảy ra máu, phân có lẫn bọt khí, có bệnh tích ở ruột non, xuất huyết máu đỏ tươi.	
6	Hồng lỵ	Vi khuẩn <i>Brachyspira</i>	Lợn tiêu chảy phân có lẫn máu tươi, màng niêm mạc và dịch nhầy do viêm ruột già, manh tràng, trực tràng.	

3.4. Xác định các tổn thương vi thể ở lợn con tiêu chảy do Rotavirus

Tất cả 14 cá thể lợn được xét nghiệm dương tính với Rotavirus, thu thập mẫu và bảo quản mẫu bệnh phẩm trong dung dịch formalin 10% trong thời gian 1 tuần để làm tiêu bản vi thể. Tiến hành đúc block, mỗi block được cắt, nhuộm tiêu bản, sau đó soi kính hiển vi đọc kết quả bệnh tích vi thể. Đánh giá bệnh tích vi thể: Nếu block có 2 tiêu bản có bệnh tích trở lên thì được coi là dương tính.

Tiêu hóa ở ruột non chiếm một vị trí vô cùng quan trọng trong việc hấp thu chất dinh dưỡng của cơ thể. Ruột non là nơi các chất dinh dưỡng của thức ăn được phân giải đến sản phẩm cuối cùng để cơ thể hấp thu dễ dàng. Ruột là cơ quan bị ảnh hưởng đầu tiên và là cơ quan bị tác động ngay khi Rotavirus xâm nhập. Chúng tôi đã đánh giá mức độ thương tổn trên các đoạn ruột do Rotavirus, kết quả được tổng hợp ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả tổn thương vi thể ở các đoạn ruột của lợn con tiêu chảy do Rotavirus

TT	Cơ quan	Tổn thương vi thể (n = 14)													
		Sung huyết		Xuất huyết		Hoại tử tế bào		Thoái hóa tế bào		Thâm nhiễm tế bào		Lông nhung bị ăn mòn		Tăng sinh các nang lympho	
		(+)	%	(+)	%	(+)	%	(+)	%	(+)	%	(+)	%	(+)	%
1	Tá tràng	9	64,2	8	57,1	3	21,4	14	100	14	100	13	92,8	13	92,8
2	Không tràng	13	92,8	6	42,8	10	71,4	14	100	14	100	14	100	14	100
3	Hồi tràng	6	42,8	5	35,7	8	57,1	13	92,8	12	85,8	9	64,2	10	71,4
4	Kết tràng	3	21,4	2	14,2	6	42,8	11	78,5	11	78,5	3	21,4	9	64,2

Ghi chú: n: số mẫu nghiên cứu; (+): số mẫu dương tính.

Qua bảng 4 nhận thấy sự biến đổi cấu trúc của ruột diễn ra mạnh nhất ở tá tràng và không tràng của ruột non, sự biến đổi sung huyết, thâm nhiễm tế bào viêm và lông nhung bị biến đổi xảy ra nhiều, chiếm tỷ lệ trên 80% số mẫu, vì không tràng là nơi diễn ra quá trình tiêu hóa hấp thu mạnh, đồng thời cũng là nơi dễ bị tổn thương.

Khi quan sát các tiêu bản vi thể ruột cho thấy tỷ lệ lông nhung bị teo dần ở tá tràng, không tràng là rất cao, lần lượt là 92,8% và 100%, còn hồi tràng và kết tràng có sự biến đổi cấu trúc lông nhung thấp hơn 21,4 – 64,2%. Bề mặt niêm mạc ruột non có nhiều “nếp gấp”. Trên những nếp nhăn lại có nhiều nhung mao (mỗi cm² có 2500 nhung mao) làm tăng bề mặt hấp thu của ruột non lên 20-25 lần. Diện tích tiếp xúc của nhung mao ở lợn là 28 m². Đoạn tá tràng của ruột non có nhiều nhung mao nhất so với các đoạn ruột khác. Càng về gần ruột già, số lượng lông nhung ruột càng giảm dần. Bề mặt các lông nhung được bao phủ bởi một lớp biểu mô mỏng.

Mỗi tế bào biểu mô lại có vô số vi nhung (3000 vi nhung trên một tế bào) làm tăng bề mặt hấp thu của lông nhung lên 30 lần, từ đó bề mặt hấp thu của ruột non tăng lên rất lớn (Trần Sáng Tạo, 2012). Như vậy, khi lợn con bị tiêu chảy do Rotavirus, ruột non có những tổn thương nghiêm trọng, đặc biệt ở lớp lông nhung và ảnh hưởng đến khả năng hấp thu chất dinh dưỡng, hậu quả có thể dẫn đến hiện tượng còi cọc, chậm lớn và thậm chí gây tử vong.

Quan sát dưới kính hiển vi, chúng tôi còn nhận thấy sự thâm nhiễm tế bào viêm ở mọi vị trí của ruột. Chúng tôi bắt gặp hiện tượng hoại tử tế bào, nhiều nhất ở phần không tràng (71,4%). Ngoài ra còn có hiện tượng tăng sinh tế bào lympho ở các đoạn ruột non (71,4 - 100%).

Bên cạnh nghiên cứu biến đổi vi thể của ruột thì chúng tôi còn nghiên cứu trên 14 mẫu ở các cơ quan hạch ruột, gan, phổi, thận. Kết quả được ghi lại ở bảng 5.

Bảng 5. Tổn thương vi thể ở một số cơ quan khác của lợn con tiêu chảy do Rotavirus

		Tổn thương vi thể (n = 14)									
TT	Cơ quan	Sung huyết		Xuất huyết		Hoại tử tế bào		Thoái hóa tế bào		Thâm nhiễm tế bào viêm	
		n (+)	%	n (+)	%	n (+)	%	n (+)	%	n (+)	%
1	Phổi	6	42,9	2	14,3	2	14,3	1	7,1	3	21,4
2	Hạch ruột	10	71,4	3	21,4	1	7,1	3	21,4	5	35,7
3	Gan	6	42,9	3	21,4	1	7,1	2	14,3	4	28,6
4	Thận	5	35,7	4	28,6	2	14,3	1	7,1	2	14,3

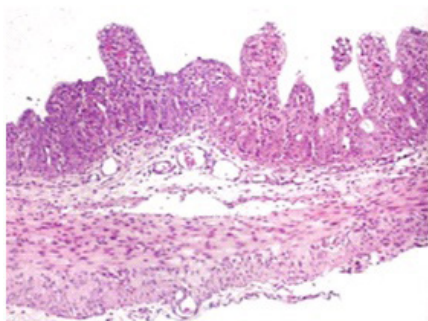
Ghi chú: n: số mẫu nghiên cứu, n (+): số mẫu dương tính.

Qua bảng 5, chúng tôi thấy tổn thương vi thể ở hạch ruột, gan, thận, phổi như sau:

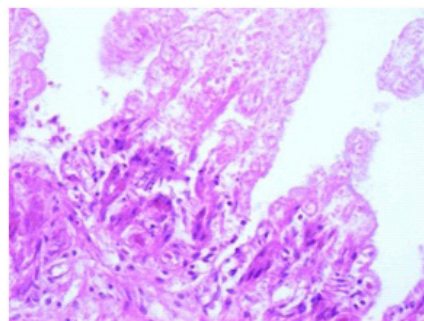
- Hạch ruột cũng như ruột, luôn là cơ quan chịu tác động tương đối sớm và bị ảnh hưởng lớn nhất, bên cạnh đó hạch còn tham gia vào các quá trình đáp ứng miễn dịch nên những biến đổi bệnh lý ở hạch ruột thường bị sớm hơn. Do vậy mà ở hạch ruột có quá trình biến đổi bệnh lý trầm trọng hơn, hiện

tượng sung huyết (71,4%), thoái hóa tế bào và thâm nhiễm tế bào viêm (chiếm 21,4-35,7%).

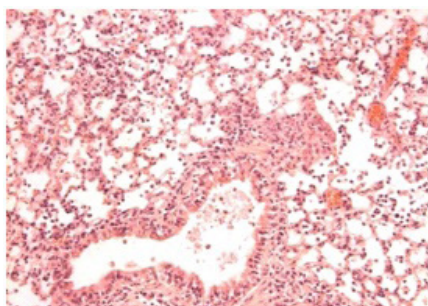
- Gan: tổn thương tập trung vào thoái hóa tế bào và thâm nhiễm tế bào viêm, hiện tượng thâm nhiễm tế bào viêm chiếm 28,6%, chủ yếu là các tế bào dạng lympho, tổ chức bào, đại thực bào và thoái hóa tế bào chiếm 14,3% .



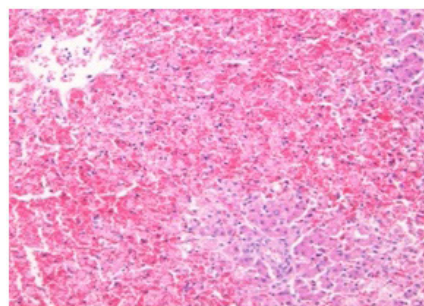
Hình 8. Niêm mạc ruột mỏng, các lông nhung ngắn và dính lại với nhau, HE, 100x



Hình 9. Ruột, một số lông nhung bị hoại tử phần đỉnh, HE, 400x



Hình 10. Phổi sung huyết và thâm nhiễm tế bào viêm, HE, 200x



Hình 11. Gan sung huyết, một số vùng có thâm nhiễm nhẹ bào lympho, HE, 200x

- Phổi: sung huyết chiếm 42,9%, thâm nhiễm tế bào viêm chiếm 21,4%.

- Thận: khác với gan, thâm nhiễm tế bào viêm chiếm 14,3%. Ở kẽ thận còn có biến đổi như xuất huyết chiếm 28,6%, mạch quản bị tổn thương nên gây hiện tượng sung huyết chiếm 35,7%, trên vi trường thấy mạch quản giãn rộng, trong lòng mạch quản chứa hồng cầu.

IV. KẾT LUẬN

Từ những kết quả nghiên cứu đã đạt được, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. Đã phát hiện 16 mẫu/103 mẫu lợn con dương tính với Rotavirus, chiếm tỷ lệ 15,53%. Trong đó 14 mẫu chỉ dương tính với Rotavirus mà không đồng nhiễm tác nhân gây bệnh khác được thực hiện đánh giá mức độ thương tổn bệnh lý.

2. Triệu chứng lâm sàng lợn con tiêu chảy do

Rotavirus tập trung trên hệ tiêu hóa, nặng nhất là biểu hiện tiêu chảy chiếm 100%; phân vàng hoặc trắng có lẫn cặn sữa, có bọt khí chiếm 84% tổng số con theo dõi. Ngoài ra lợn mắc bệnh còn biểu hiện ủ rũ, mệt mỏi, lười vận động, uống nhiều nước, bỏ ăn, giảm ăn, lợn hốc hác và gầy còm.

3. Tổn thương đại thể của lợn con tiêu chảy do Rotavirus chủ yếu xảy ra ở ruột non, thành ruột mỏng, căng ra, trong ruột chứa cặn sữa không tiêu (90-100%).

4. Tổn thương vi thể lợn con tiêu chảy do Rotavirus chủ yếu xảy ra ở đỉnh lông nhung làm lông nhung cùn, teo dần làm giảm khả năng tiêu hóa, hấp thu các chất dinh dưỡng của lợn con. Trên các đoạn ruột non, tổn thương vi thể nặng hơn trên đoạn tá tràng và không tràng với biểu hiện sung huyết, thâm nhiễm tế bào viêm và lông nhung bị ăn mòn ở hầu hết các mẫu nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Buller CR, Moxley RA., 1988. Natural infection of porcine ileal dome M cells with rotavirus and enteric adenovirus. *Vet Pathol* 25:516-517.
2. Collins JE, Benfield DA, Duimstra JR., 1989. Comparative virulence of two porcine group A rotavirus isolates in gnotobiotic pigs. *Am J Vet Res* 50:827-835.
3. Collins P.J., Martella V., Buonavoglia C., O'Shea H., 2010. Identification of a G2-like porcine rotavirus bearing a novel VP4 type, P[32] *Veterinary Research*;41(5):73
4. Johannsen U., 1976. Pathology and pathogenesis of coli dysentery and coli diarrhea in suckling piglets, 2. Studies on the experimental induction of disease through the intragastric administration of coli-enterotoxin, *Arch Exp Veterinarmed*, 30(5), 709-25.
5. Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RA., 2001. Rotaviruses, In Fields Virology. DM Kinipe, PM Howley, eds, Philadelphia: Lippincott-Raven and Wilkins Publishers, pp. 1787–1834.
6. Nguyễn Tất Toàn, Nguyễn Đình Quát, Trịnh Thị Thanh Huyền, Đỗ Tiến Duy, Trần Thị Dân, Nguyễn Thị Phước Ninh và Nguyễn Thị Thu, 2012. Phát hiện virus gây tiêu chảy cấp (PED) trên heo các tỉnh miền Đông Nam Bộ. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*. pp. 26-30.
7. Tuan Anh Nguyen, Pattara Khamrin, Quang Duy Trinh, Tung Gia Phan, Le Duc Pham, Le Phuc Hoang, Kim Trong Hoang, Fumihiko Yagyu, Shoko Okitsu, Hiroshi Ushijima, 2007. Sequence analysis of Viet Name P[6] rotavirus strains suggests evidence of interspecies transmission. *J. Medical Virology*. Vol 79.86-98.
8. Nguyễn Như Thanh, Nguyễn Bá Hiên, Trần Thị Lan Hương, 2001. Giáo trình vi sinh vật thú y. *Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội*.
9. Martel-Paradis O., Laurin M.-A., Martella V., Sohal J.S., L'Homme Y, 2013. Full-length genome analysis of G2, G9 and G11 porcine group A rotaviruses. *Veterinary Microbiology*. 62:94–102.
10. Lâm Thị Thu Hương và Đường Chi Mai, 2011. Tỷ lệ nhiễm Rotavirus và *Escherichia coli* K88 trên heo con tiêu chảy. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*. Tập XVIII - số 6, trang 15-26.
11. Pham Hong Anh, Juan J. Carrique-Mas, Nguyen Van Cuong, Ngo Thi Hoa, Nguyen Lam Anh, Do Tien Duy, Vo Be Hien, Phan Vu Tra My, Maia A. Rabaa, Jeremy Farrar, Stephen Baker and Juliet E. Bryant, 2014. The prevalence and genetic diversity of group A rotaviruses on pig farms in the Mekong Delta region of Viet Nam. *Vet Microbiol*. 170(3-4): 258–265.
12. Theil KW, Bohl EH, Cross RF, Kohler EM, Agnes AG., 1978. Pathogenesis of porcine rotaviral infection in experimentally inoculated gnotobiotic pigs. *Am J Vet Res* 39:213-220.
13. Trần Sáng Tạo, 2012. Giáo trình sinh lý động vật, *Nhà xuất bản Đại học Huế*.
14. Ward LA, Rosen BI, Yuan L, Saif LJ., 1996. Pathogenesis of an attenuated and a virulent strain of group A human rotavirus in neonatal gnotobiotic pigs. *J Gen Virol* 77:1431-1441.

Ngày nhận 24-12-2018

Ngày phản biện 15-2-2019

Ngày đăng 1-5-2019