

Nâng cao - tham khảo

CÁC PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN DỊCH TẢ LỢN CHÂU PHI, CHẨN ĐOÁN PHÂN BIỆT VỚI DỊCH TẢ LỢN CỔ ĐIỂN VÀ MỘT SỐ BỆNH ĐỎ KHÁC

Nguyễn Đăng Thọ

Trung tâm Chẩn đoán Thú y Trung ương – Cục Thú y

I. Khái niệm bệnh dịch tả lợn châu Phi

Bệnh dịch tả lợn châu Phi (DTLCP) là bệnh truyền nhiễm ở lợn nuôi và lợn rừng thuộc mọi lứa tuổi. Bệnh cấp tính có đặc điểm sốt cao, xuất huyết ở hệ lưới nội mô và tỷ lệ chết cao. Lợn là loài động vật nuôi duy nhất cảm nhiễm với virus DTLCP. Lợn hoang dã ở châu Âu cũng cảm nhiễm với virus DTLCP, có biểu hiện lâm sàng và tỷ lệ chết tương tự như lợn nhà. Ngược lại, lợn hoang dã ở châu Phi như lợn nòi (*Phacochoerus aethiopicus*), lợn rừng (*Potamochoerus porcus*) và lợn rừng khổng lồ (*Hylochoerus meinertzhageni*) đề kháng với virus DTLCP, chúng thường ít hoặc không có biểu hiện bệnh. Những loài lợn hoang dã này đóng vai trò là vật chủ mang trùng virus DTLCP ở châu Phi. Các loại ve thân mềm thuộc giống *Ornithodoros*, đặc biệt là *O. moubata* và

O. erracticus là vector chứa bệnh và truyền bệnh DTLCP. Bệnh DTLCP không lây sang người nhưng gây chết nhiều lợn mà không có vaccin.

II. Tác nhân gây bệnh

- Virus DTLCP là tác nhân gây bệnh DTLCP, thuộc họ Asfarviridae, giống Asfivirus. Hiện nay, virus DTLCP là thành viên duy nhất của họ Asfarviridae. Virus DTLCP này là virus ADN, vỏ bọc hình khối đa giác phức tạp, có nhiều điểm tương đồng với các virus iridovirus và virus đậu. Virus này có ít nhất 28 protein cấu trúc và hơn 100 protein lây nhiễm, 50 trong số đó có phản ứng với huyết thanh của lợn nhiễm bệnh hoặc đã khỏi bệnh.

- Virus DTLCP được tìm thấy trong máu, cơ quan, dịch bài tiết từ lợn nhiễm bệnh và chết bởi bệnh này. Lợn sau khi khỏi bệnh sẽ ở thể mạn tính, có thể mang virus suốt đời.

Sức đề kháng của virus gây bệnh dịch tả lợn châu Phi (nguồn: FAO)

Bệnh phẩm	Thời gian ASFV tồn tại
Thịt, xương dính thịt	105 ngày
Thịt muối	182 ngày
Thịt nấu chín (30 phút ở 70°C)	0
Thịt khô	300 ngày
Thịt hun khói	30 ngày
Thịt đông đá	1000 ngày
Thịt ướp lạnh	110 ngày
Nội tạng	105 ngày
Da /mỡ (làm khô)	300 ngày
Máu bảo quản ở 4°C	18 tháng
Phân ở nhiệt độ phòng (chuồng)	11 ngày
Máu thối rữa	15 tuần
Các ô chuồng bị nhiễm	1 tháng

- Virus có sức đề kháng cao, có thể tồn tại trong chất tiết, dịch tiết, trong xác động vật, trong thịt lợn và các chế phẩm từ thịt lợn như xúc xích, giăm bông, salami. Virus có khả năng chịu được nhiệt độ thấp, đặc biệt là trong các sản phẩm thịt lợn sống hoặc nấu ở nhiệt độ không cao nên virus có thể chịu được trong thời gian dài 3-6 tháng; virus có thể bị tiêu diệt ở 56°C trong 70 phút hoặc ở 60°C trong 20 phút. Virus sống trong máu đã phân hủy được 15 tuần; trong máu khô được 70 ngày; trong phân ở nhiệt độ phòng được 11 ngày; trong máu lợn ở 4°C trong 18 tháng; trong thịt dính xương ở 39°C được 150 ngày; trong giăm bông được 140 ngày và ở 50°C tồn tại trong 3 giờ.

Trong môi trường không có huyết thanh, virus có thể bị phá hủy ở pH <3,9 hoặc ở pH >11,5. Môi trường có huyết thanh, virus có thể tồn tại được ở pH = 13,4 trong 7 ngày.

Căn cứ thông tin về sức đề kháng của virus gây bệnh DTLCP, việc thiết lập danh mục sản phẩm động vật nhằm kiểm dịch nội địa và nhập khẩu tập trung riêng cho giai đoạn đang nỗ lực là cần thiết. Virus tồn tại lâu ở những sản phẩm cho dù đã qua chế biến sơ bộ như thịt muối, thịt xông khói... Những thông tin này có thể sẽ hữu ích trong quá trình truyền thông, tuyên truyền nhận thức về phòng chống dịch bệnh.

III. Phương thức truyền lây

- Virus DTLCP lây nhiễm thông qua tiếp xúc trực tiếp lợn ốm và lợn khỏe mạnh, qua đường tiêu hóa, qua sự tiếp xúc trực tiếp hoặc gián tiếp với các vật thể nhiễm virus như: chuồng trại, phương tiện vận chuyển, dụng cụ, đồ dùng, quần áo nhiễm virus và ăn thức ăn thừa lẫn thịt lợn nhiễm bệnh hoặc bị ve mềm cắn.

- Tại Trung Quốc, nghiên cứu dịch tễ của 68 ổ dịch đã chỉ ra rằng có 3 nguyên nhân chính làm bệnh DTLCP lây lan, bao gồm: 46% là do phương tiện vận chuyển và do con người không thực hiện vệ sinh, phun thuốc khử trùng tiêu độc; 34% là do sử dụng thức ăn dư thừa và 19% là do vận chuyển lợn sống và các sản phẩm của lợn giữa các vùng.

IV. Triệu chứng, bệnh tích của bệnh dịch tả lợn châu Phi

Bệnh DTLCP có đặc điểm gây chết lợn đột ngột. Lợn tất cả các lứa tuổi, tính biệt đều mắc bệnh. Lợn được tách đàn, ví dụ lợn mẹ và lợn con theo mẹ có thể không bị mắc bệnh vì mức độ lây nhiễm của bệnh DTLCP khá thấp. Thực tế, bệnh DTLCP có tỷ lệ gây chết cao nhưng ít lây nhiễm hơn so với các bệnh truyền lây qua biên giới khác như lở mồm long móng. Một số giống lợn bản địa châu Phi đã có thể kháng lại bệnh DTLCP ở một mức độ nhất định. Lợn hoang dã và lợn nuôi có biểu hiện bệnh tương tự nhau.

Biểu hiện lâm sàng do virus DTLCP gây ra rất khác nhau tùy thuộc vào nhiều yếu tố: độc lực của virus, giống lợn bị nhiễm bệnh, đường truyền lây, liều nhiễm và tình trạng lưu hành dịch tại khu vực. Về độc lực, virus DTLCP được chia thành 3 nhóm chính: nhóm độc lực cao, độc lực trung bình và độc lực thấp. Các thể bệnh DTLCP thay đổi từ thể quá cấp tính đến không biểu hiện triệu chứng. Các chủng độc lực cao gây bệnh quá cấp và cấp tính, các chủng độc lực trung bình gây bệnh thể cấp tính và á cấp tính. Các chủng độc lực thấp ở các vùng dịch địa phương gây những triệu chứng nhẹ và thỉnh thoảng liên quan đến bệnh thể cận lâm sàng hoặc mạn tính. Tỷ lệ mắc bệnh sẽ tùy thuộc vào chủng virus và đường truyền lây.

Mặc dù không biết chính xác, nhưng thời gian ủ bệnh trong tự nhiên dao động từ 4-19 ngày. Thời gian phát bệnh dao động từ dưới 7 ngày sau lây nhiễm, ở thể cấp tính, đến nhiều tuần, thậm chí nhiều tháng, ở thể mạn tính. Tỷ lệ chết tùy thuộc vào độc lực của virus, dao động từ 100% do chủng độc lực cao đến dưới 20% do chủng độc lực thấp gây ra. Ở thể mạn tính, bệnh có thể gây tử vong chủ yếu ở lợn mang thai và lợn con, lợn mắc bệnh kể phát hoặc bị suy yếu bởi lý do khác. Tỷ lệ sống sót sau khi nhiễm chủng virus độc lực cao ở những khu vực có dịch lưu hành là cao hơn do lợn đã thích nghi với chủng virus đó.

1. Triệu chứng

Virus DTLCP gây rất nhiều thể bệnh khác

nhau từ quá cấp, cấp tính đến mạn tính và mang trùng khỏe mạnh. Lợn bệnh biểu hiện các triệu chứng không khác biệt so với triệu chứng của bệnh dịch tả lợn cổ điển (đã và đang có tại Việt Nam). Do đó, việc chẩn đoán DTLCP khó có thể xác định và phân biệt được bằng các triệu chứng lâm sàng, cần lấy mẫu gửi phòng thí nghiệm để xét nghiệm phát hiện virus DTLCP.

Thể quá cấp tính (Peracute) là do virus độc lực cao, lợn chết nhanh, sốt cao 41 - 42 °C, chết đột ngột trong vòng 1-3 ngày trước khi có triệu chứng lâm sàng, thường không biểu hiện triệu chứng, bệnh tích rõ ràng. Thể quá cấp tính chủ yếu xuất hiện ở vùng bệnh xuất hiện lần đầu.

Thể cấp tính (Acute) là do virus có độc lực cao gây ra, lợn sốt cao (41-42°C). Trong 2-3 ngày đầu tiên, giảm bạch cầu và giảm tiểu cầu. Lợn

không ăn, lười vận động, ủ rũ, nằm chổng đống, lợn thích nằm chỗ có bóng râm hoặc gần nước. Lợn có biểu hiện đau vùng bụng, lưng cong, di chuyển bất thường, một số vùng da trắng chuyển sang màu đỏ, đặc biệt là ở vành tai, đuôi, cẳng chân, da phần dưới vùng ngực và bụng, có thể có màu sẫm xanh tím. Trong 1-2 ngày trước khi con vật chết, có triệu chứng thần kinh, di chuyển không vững, nhịp tim nhanh, thở gấp, khó thở hoặc có bọt lẫn máu ở mũi, viêm mắt, nôn mửa, tiêu chảy đôi khi lẫn máu hoặc có thể táo bón, phân cứng đóng viên có kích thước nhỏ, có chất nhầy và máu, da tím tái sau 24-48h. Lợn sẽ chết trong vòng 6-13 hoặc 20 ngày. Lợn mang thai có thể sảy thai ở mọi giai đoạn, tỷ lệ chết cao, lên tới 100%. Lợn khỏi bệnh hoặc nhiễm virus thể mạn tính thường không có triệu chứng, sẽ là vật chủ mang ASFV và bài thải virus ra môi trường.



Lợn nôn, nằm ủ rũ, chổng đống



Da chuyển đỏ ở tai



Da chuyển đỏ ở mông



Chảy máu hậu môn



Lợn cong lưng đau bụng

Thể á cấp tính (Subacute) gây ra bởi virus có độc tính trung bình. Chủ yếu được tìm thấy ở châu Âu, lợn biểu hiện triệu chứng

không nghiêm trọng. Lợn sốt nhẹ hoặc sốt lúc tăng lúc giảm, giảm ăn, sụt cân, ủ rũ, viêm toàn bộ phổi nên khó thở, ho có đờm,

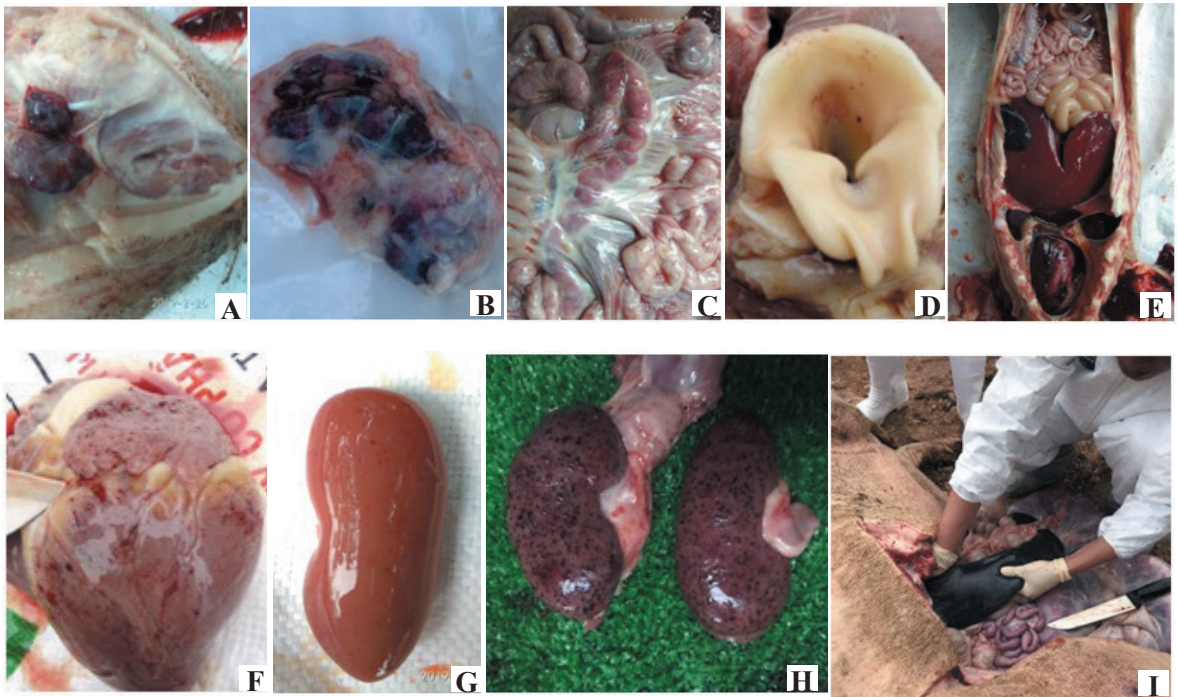
phổi có thể bội nhiễm vi khuẩn kế phát, viêm khớp, vận động khó khăn. Bệnh kéo dài 5-30 ngày, nếu máu ú trong tim (cấp tính hoặc suy tim) thì lợn có thể chết, lợn mang thai sẽ sảy thai, lợn chết trong vòng 15-45 ngày, tỷ lệ chết khoảng 30-70%. Lợn có thể khỏi hoặc bị bệnh mạn tính.

Thể mạn tính (Chronic form) gây ra bởi virus có độc tính trung bình hoặc thấp. Chủ yếu được tìm thấy ở Angola và châu Âu. Lợn có nhiều triệu chứng khác nhau, chẳng hạn như giảm cân, sốt không ổn định, có triệu chứng hô hấp, hoại tử da, hoặc viêm loét da mạn tính, viêm khớp, viêm cơ tim, viêm phổi dính sườn, viêm các khớp khác nhau trong giai đoạn phát triển. Triệu chứng kéo dài

2-15 tháng, có tỷ lệ tử vong thấp, lợn khỏi bệnh sau khi nhiễm virus sẽ trở thành dạng mạn tính.

2. Bệnh tích

Thể cấp tính: Xuất huyết nhiều ở các hạch lympho ở dạ dày, gan và thận. Thận có xuất huyết điểm, lá lách to có nhồi huyết. Da có màu tối và phù nề, da vùng bụng và chân có xuất huyết. Có nhiều nước xung quanh tim và trong xoang ngực hoặc xoang bụng, có các điểm xuất huyết trên nắp thanh quản, bàng quang và bề mặt các cơ quan bên trong; phù nề trong cấu trúc hạch lâm ba của đại tràng và phần tiếp giáp với túi mật, túi mật sưng.



A - B: Hạch sưng xuất huyết, C: Ruột xuất huyết, D: Nắp thanh quản xuất huyết, E: Nhiều dịch trong xoang cơ thể, F: Xung quanh tim, tim xuất huyết, G-H: Thận xuất huyết dính ghim, I: Lá lách sưng to

Thể mạn tính: Có thể gặp xơ cứng phổi hoặc có các ổ hoại tử hạch, hạch phổi sưng, viêm dính màng phổi.

V. Chẩn đoán phân biệt

Bệnh DTLCP không phải lúc nào cũng biểu hiện tất cả những triệu chứng lâm sàng như đã

đề cập ở trên. Chẩn đoán lâm sàng có thể gặp khó khăn trong giai đoạn sớm của bệnh hoặc khi có số lượng nhỏ động vật bị mắc bệnh. Chẩn đoán bệnh DTLCP thường mang tính phỏng đoán, vì các triệu chứng có thể nhầm lẫn với các bệnh khác. Hơn nữa, rất nhiều bệnh ở lợn có thể gây tỷ lệ tử vong tương tự như ở bệnh DTLCP cấp tính. Do vậy, không có chẩn đoán nào mang tính kết luận cho đến khi có kết quả xác nhận của phòng thí nghiệm. Tuy nhiên, chẩn đoán phân biệt có ý nghĩa định hướng cho các xét nghiệm phòng thí nghiệm. Do vậy trong chẩn đoán phân biệt đối với bệnh DTLCP, cần xem xét một số bệnh sau:

1. Bệnh dịch tả lợn cổ điển (CSF)

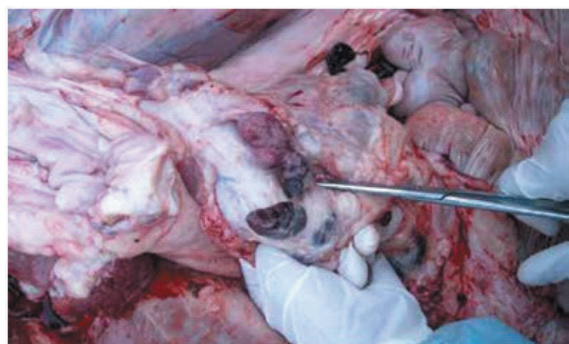
Chẩn đoán phân biệt quan trọng nhất đối với

bệnh DTLCP là bệnh dịch tả lợn cổ điển hay còn gọi là dịch tả lợn do một loại pestivirus thuộc họ *Flaviridae* gây ra. Giống như bệnh DTLCP, bệnh DTL cũng có nhiều thể bệnh lâm sàng khác nhau. Thể cấp tính có biểu hiện lâm sàng và tổn thương bệnh lý giống hệt thể cấp tính DTLCP và cũng đặc trưng bởi tỷ lệ tử vong cao. Các biểu hiện lâm sàng bao gồm sốt cao, bỏ ăn, ủ rũ, xuất huyết (ở da, thận, hạch amidan, bàng quang), viêm kết mạc, biểu hiện hô hấp, yếu, nằm co giật, da tím tái và chết trong vòng 2-10 ngày. Cách duy nhất để chẩn đoán phân biệt giữa 2 bệnh này là thông qua xét nghiệm phòng thí nghiệm. Không nên cố gắng tiêm phòng bệnh dịch tả lợn cho đến khi có kết quả xét nghiệm âm tính DTLCP vì bệnh DTLCP có thể dễ dàng lây lan rộng bởi những người không được tập huấn trong chiến dịch tiêm phòng.



A: Da tím tái, B: Hạch ruột sưng, xuất huyết, C: Lách nhồi huyết

2. Hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản ở lợn (PRRS)



Hạch sưng, xuất huyết ở lợn nhiễm virus PRRS độc lực cao

Còn được gọi là bệnh tai xanh, PRRS được

đặc trưng bởi viêm phổi ở lợn vỗ béo và lợn thịt và sảy thai ở lợn nái. Bệnh thường kèm theo sốt, đỏ da và đặc biệt biến màu ở tai, đôi khi có tiêu chảy. Mặc dù tỷ lệ tử vong do PRRS không cao, nhưng các chủng virus PRRS độc lực cao đã làm suy giảm đàn lợn ở Trung Quốc, Việt Nam và Đông Âu trong những năm qua, liên quan đến tỷ lệ tử vong cao, sốt cao, thờ ơ, chán ăn, ho, khó thở và tím tái/xanh (ở tai, chân và đáy chậu). Bệnh tích bao gồm các tổn thương ở phổi (viêm phổi kẽ) và các tổ chức lympho (teo tuyến ức và sưng và xuất huyết ở hạch bạch huyết) và xuất huyết đình ghim ở thận.

3. Bệnh đóng dấu lợn

Bệnh này do vi khuẩn *Erysipelothrix*

rhusiopathiae gây ra, ảnh hưởng đến lợn ở mọi lứa tuổi và có khả năng ảnh hưởng đến lợn ở cả trang trại quy mô nhỏ và quy mô lớn có tính chất thương mại và tập trung. Bệnh có thể biểu hiện ở dạng cấp tính hoặc á cấp tính. Dạng cấp tính thường thấy ở lợn con, được đặc trưng bởi chết đột ngột, mặc dù tỷ lệ tử vong thường thấp hơn nhiều so với DTLCP. Sau 2 hoặc 3 ngày nhiễm bệnh, lợn có thể xuất hiện các tổn thương da hình kim cương rất đặc trưng liên quan đến viêm mạch hoại tử (mạch máu bị sung viêm). Ở lợn trưởng thành, đây thường là biểu hiện lâm sàng duy nhất của bệnh. Giống như DTLCP cấp tính, lá lách có thể bị sung huyết và to ra rõ rệt. Các tổn thương bệnh lý khác bao gồm sung huyết ở phổi và hạch bạch huyết ngoại vi, cũng như xuất huyết ở vỏ thận, tim và viêm thanh dịch ở dạ dày. Phân lập vi khuẩn có thể xác nhận kết quả chẩn đoán và lợn đáp ứng tốt với điều trị penicillin. Những biến đổi vi thể của bệnh đóng dấu lợn khác với những biến đổi điển hình của DTLCP.



Tổn thương da hình kim cương đặc trưng của bệnh đóng dấu lợn

4. Bệnh Aujeszky

Bệnh Aujeszky, còn gọi là giả dại, gây ra các vấn đề sinh sản và thần kinh nặng ở động vật bị ảnh hưởng, thường dẫn đến tử vong. Mặc dù gần như tất cả các động vật có vú có thể bị nhiễm bệnh, lợn thường bị ảnh hưởng nhiều nhất và là vật chủ chứa virus. Động vật non bị ảnh hưởng nhiều nhất, với tỷ lệ tử vong đến 100% trong hai tuần đầu tiên. Lợn con thường bị sốt, ngừng ăn và có

dấu hiệu thần kinh (run rẩy, co giật, tê liệt) và thường chết trong vòng 24-36 giờ. Lợn lớn (hơn hai tháng tuổi) có thể có các triệu chứng tương tự, nhưng thường có dấu hiệu hô hấp và nôn, và ít khi tử vong. Lợn nái và lợn đực chủ yếu biểu hiện dấu hiệu hô hấp, nhưng lợn nái mang thai có thể sảy thai hoặc sinh ra lợn con yếu ớt, run rẩy. Tổn thương hoại tử điểm và viêm não xảy ra ở não, tiểu não, tủy thượng thận và nội tạng khác như phổi, gan hoặc lách. Ở thai nhi hoặc lợn con rất nhỏ, có các đốm trắng trên gan rất đặc trưng do nhiễm virus.



Lợn con biểu hiện thần kinh do mắc bệnh Aujeszky

5. Bệnh phó thương hàn (Salmonellosis)



Lợn mắc bệnh phó thương hàn có biểu hiện xanh tím ở tai

Lợn con thường là đối tượng bị ảnh hưởng. Nếu được điều trị kịp thời, con vật có thể đáp ứng với điều trị kháng sinh. Chẩn

đoán xác định là nuôi cấy phân lập vi khuẩn. Các triệu chứng giống với DTLCP bao gồm sốt, chán ăn, rối loạn hô hấp hoặc tiêu hóa và sung huyết khi giết mổ. Động vật có thể chết 3-4 ngày sau khi nhiễm bệnh. Lợn chết do bệnh Salmonellosis nhiễm trùng huyết có

biểu hiện xanh tím ở tai, chân, đuôi và bụng. Bệnh tích mổ khám bao gồm xuất huyết đỉnh ghim ở thận và trên bề mặt tim, lách to (nhưng có màu bình thường), sung hạch bạch huyết màng treo ruột, gan sưng to và phổi sung huyết.

Tóm tắt khác biệt biểu hiện lâm sàng ở một số bệnh lợn

Bệnh	Có vaccin	Sốt	Bỏ ăn	Mệt mỏi	Tổn thương da từ đỏ sang tím	Khó thở	Nôn	Tiêu chảy	Tiêu chảy có máu	Tỷ lệ chết cao	Chết đột ngột	Sảy thai	Khác biệt lâm sàng
DTLCP		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
DTL	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	Viêm kết mạc, mắt điều hòa. Có biểu hiện hệ thống thần kinh trung ương trong heo con, tư thế gập mình. Táo bón có thể tiến triển đến tiêu chảy màu vàng xám. Biểu hiện lâm sàng dài hơn.
Tai xanh	x	x	x	x	x	x	x			x		x	Cường độ suy hô hấp
Đóng dấu	x	x		x	x							x	Thường gặp ở lợn đạt trọng lượng xuất bán. Tổn thương da hình kim cương đặc trưng.
Phó thương hàn	x	x	x	x	x	x		x	x				Tiêu chảy màu vàng. Dấu hiệu hệ thần kinh trung ương bao gồm run, yếu, liệt và co giật.
Aujeszky	x	x	x	x		x						x	Biểu hiện khác nhau, phụ thuộc phần lớn vào tình trạng miễn dịch của con mẹ và tuổi của lợn bị ảnh hưởng. Hạ thân nhiệt, run rẩy và mất điều hòa, co giật. Viêm mũi và hắt hơi.

Tóm tắt khác biệt về tổn thương bệnh lý ở một số bệnh lợn

Bệnh	Lá lách mở rộng từ đỏ sẫm sang đen & bờ	Xuất huyết ở thận	Xuất huyết ở hạch lympho	Hạch lympho sưng to	Xuất huyết ở niêm mạc	Nhiều dịch trong xoang cơ thể và quanh tim	Viêm phổi	Khác biệt tổn thương bệnh lý
DTLCP	x	x	x	x	x	x	x	
DTL		x	x	x	x			Các nốt hoại tử hoặc “cúc áo” ở niêm mạc của đường tiêu hóa, nắp thanh quản và thanh quản. Viêm não. Lợn bị DTL giảm cân nhanh chóng. Màu nhợt nhạt ở rìa của lá lách.
Tai xanh		x	x	x				Viêm phổi kẽ. Không có lách sưng to. Teo tuyến ức.
Đóng dấu		x			x			Viêm khớp và viêm nội tâm mạc thực vật. Xuất huyết màng phổi và phúc mạc. Các hạch bạch huyết ngoại vi bị ảnh hưởng (chứ không phải dạ dày và thận).
Phó thương hàn		x					x	Viêm ruột và thỉnh thoảng viêm não. Viêm nội tâm mạc hoại tử. Hoại tử điểm như hạt kê trong gan. Không có các tổn thương mạch máu ở lách và hạch lympho.
Aujeszky							x	Tổn thương hoại tử điểm và viêm não xảy ra ở não, tiểu não, tuyến thượng thận và nội tạng khác như phổi, gan hoặc lách. Ở bào thai hoặc lợn con rất nhỏ, có các đốm trắng trên gan là đặc trưng của nhiễm bệnh do nhiễm virus. Viêm ruột hoại tử.

VI. Các phương pháp xét nghiệm phòng thí nghiệm

1. Lấy mẫu xét nghiệm

Lấy mẫu tại ổ dịch bệnh, nghi ổ dịch để xét nghiệm dịch bệnh:

- Chỉ nên lấy 3-5 mẫu tại một ổ dịch bệnh, nghi dịch bệnh. Đối với con lợn chết, nên lấy

mẫu là hạch lâm ba (Lympho) bên, hạch dưới hàm; hạn chế lấy phủ tạng (lách, thận...) để tránh mở phanh rộng gây ô nhiễm, lây nhiễm mầm bệnh ra môi trường.

Đối với lợn còn sống (đang ốm, sốt) sẽ lấy mẫu máu được chống đông bằng bổ sung EDTA 0,5%.

Nếu lấy mẫu huyết thanh để kiểm tra kháng

thể, nên lấy trong vòng 8-21 ngày sau khi lợn nhiễm bệnh.

- Mẫu được bảo quản ở nhiệt độ 4°C.

Lấy mẫu giám sát dịch bệnh:

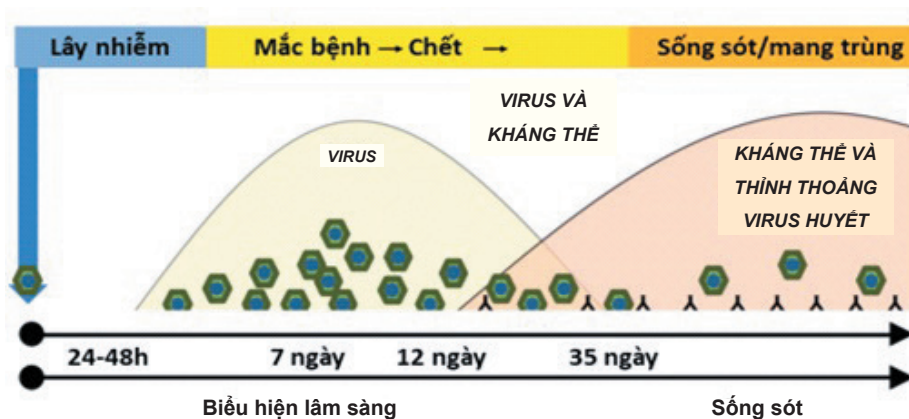
Lấy mẫu máu chống đông, số lượng theo quy định hiện hành về kiểm dịch, kiểm soát dịch bệnh.

2. Chẩn đoán phòng thí nghiệm bệnh Dịch tả lợn châu Phi

Bệnh DTLCP không có vacxin phòng bệnh, do đó việc phát hiện sớm và chính xác bệnh rất quan trọng để áp dụng các biện pháp vệ sinh nghiêm ngặt và kiểm soát an ninh sinh học nhằm ngăn ngừa sự lây lan của bệnh. Chẩn đoán bệnh DTLCP có nghĩa là xác định các con vật đã từng bị hoặc đang bị nhiễm virus DTLCP. Bởi vậy, chẩn đoán phù hợp phải bao

gồm việc phát hiện và định danh các kháng nguyên hoặc DNA và kháng thể đặc hiệu virus DTLCP nhằm hỗ trợ các thông tin hữu ích cho các chương trình khống chế và thanh toán dịch bệnh. Khi lựa chọn phương pháp xét nghiệm, cần chú ý xem xét đến diễn biến của bệnh. Mỗi con vật có thể ở các giai đoạn bệnh khác nhau, do đó xét nghiệm virus và kháng thể nên được tiến hành ở các ổ dịch và trong các chương trình khống chế và thanh toán dịch bệnh.

Thời gian ủ bệnh do lây nhiễm tự nhiên được báo cáo khác nhau, dao động từ 4-19 ngày. Khoảng 2 ngày trước khi xuất hiện triệu chứng, lợn nhiễm virus DTLCP bắt đầu bài thải lượng lớn virus. Bài thải virus có thể khác nhau tùy thuộc vào độc lực của chủng virus DTLCP gây bệnh. Sự đáp ứng kháng thể xảy ra từ 7-9 ngày sau lây nhiễm và sau đó kháng thể có thể phát hiện được ở cả đời lợn.



CÁC GIAI ĐOẠN SAU KHI NHIỄM VIRUS DTLCP Ở LỢN

Kết quả xét nghiệm dương tính virus (kháng nguyên) cho biết lợn được xét nghiệm đang nhiễm bệnh trong thời gian lấy mẫu. Trái lại, kết quả xét nghiệm dương tính kháng thể DTLCP nói lên lợn được xét nghiệm đang nhiễm bệnh

hoặc đã từng bị nhiễm bệnh và đã phục hồi (và có thể có kháng thể cả đời).

Từ năm 2015, các kết quả xét nghiệm huyết thanh học trên quần thể lợn hoang dã ở Đông Âu

cho thấy một số lợn có thể phục hồi sau khi nhiễm virus DTLCP và trong một số trường hợp nhất định, vẫn duy trì tình trạng nhiễm bệnh cận lâm sàng. Do đó xét nghiệm kháng thể có thể cung cấp được những thông tin cần thiết cho các chương trình khống chế và thanh toán bệnh DTLCP.

2.1. Xét nghiệm virus

2.1.1. Phương pháp PCR

Phương pháp PCR sử dụng để phát hiện gen của virus DTLCP trong mẫu lợn (máu, huyết thanh, phủ tạng...). Các mảnh DNA của virus được phản ứng PCR khuếch đại tới mức có thể phát hiện được. Các xét nghiệm PCR chuẩn cho phép phát hiện DNA của virus sớm, thậm chí trước khi con vật có biểu hiện triệu chứng lâm sàng. Phương pháp PCR có thể cho kết quả xét nghiệm trong vài giờ sau khi mẫu tới phòng thí nghiệm. Độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp PCR không thua kém so với phương pháp phân lập virus. Phương pháp PCR cho độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn hẳn so với các phương pháp phát hiện kháng nguyên khác như Ag/ELISA và FAT. Tuy nhiên độ cực nhạy cũng khiến cho phương pháp PCR dễ bị sai lệch do tạp nhiễm chéo. Vì vậy các kỹ thuật chống tạp nhiễm phải được áp dụng triệt để để giảm thiểu và kiểm soát rủi ro này.

Các phương pháp PCR thường (Aguero et al., 2003) và Realtime PCR (King et al., 2003) theo khuyến cáo của OIE (2016) đã được đánh

giá đầy đủ trong thời gian dài và là những công cụ hữu ích cho công tác chẩn đoán thường quy đối với bệnh DTLCP. Nhiều quy trình Realtime PCR khác (Fernández-Pinero et al., 2012 và Tignon et al., 2011) đã chứng minh có độ nhạy cao hơn so với các quy trình do OIE khuyến cáo trong việc phát hiện gen virus DTLCP ở lợn mang trùng. Các bộ môi và mẫu dò sử dụng cho các kỹ thuật phân tử này được thiết kế dựa trên vùng gen P72, là vùng gen có tính ổn định cao của virus DTLCP và đã được nghiên cứu nhiều. Hầu hết các chủng virus thuộc 22 genotype có gen P72 đã biết đều có thể phát hiện được bằng các phương pháp PCR này, thậm chí ở cả những mẫu vô hoạt hoặc thoái hóa.

PCR là phương pháp được lựa chọn cho những trường hợp bệnh DTLCP quá cấp, cấp tính, á cấp tính. Hơn nữa, vì PCR phát hiện gen của virus, nên nó vẫn phát hiện được dấu vết của virus kể cả khi không phân lập được virus sống và là công cụ rất hữu ích để phát hiện DNA của virus DTLCP ở lợn bị nhiễm với các chủng virus DTLCP có độc lực trung bình cho đến thấp. Mặc dù PCR không cho biết thông tin về lây nhiễm nhưng nó có thể cho biết thông tin về định lượng của virus.

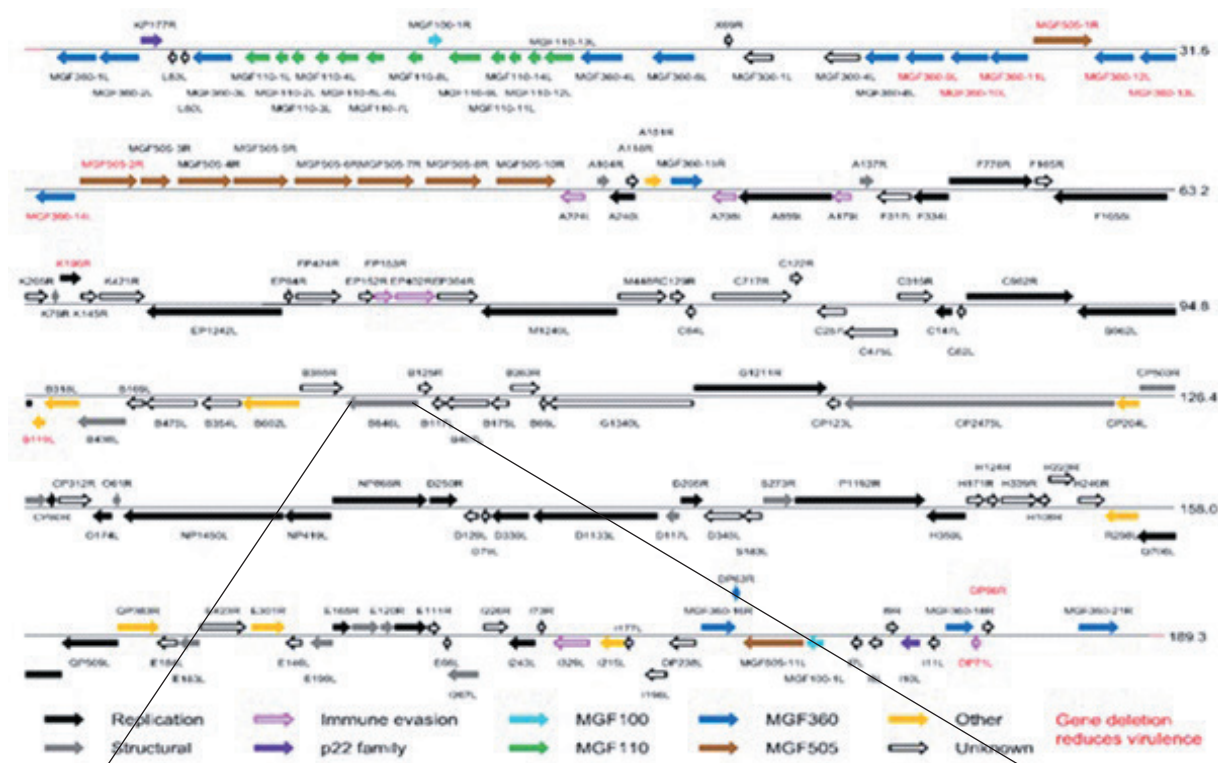
Phương pháp Realtime PCR phát hiện virus DTLCP theo OIE (King et al., 2003)

Đoạn môi và mẫu dò được thiết kế dựa trên vùng ổn định của gen P72 như sau:

Trình tự đoạn môi và mẫu dò

STT	Tên	Trình tự
1	Môi xuôi ASFV	5'-CTGCTCATGGTATCAATCTTATCGA-3'
2	Môi ngược ASFV	5'-GATACCACAAGATCRGCCGT-3'
3	Đoạn dò ASFV	5'- FAM-CCACGGGAGGAATACCAACCCAGTG-TAMRA-3'

Sơ đồ gen của virus DTLCP (Alonso et al., 2018)



Bộ primer và probe của phương pháp Realtime PCR (King, 2003) xuôi được thiết kế dựa trên vùng ổn định của gen P72 của virus DTLCP nhằm vào đoạn sản phẩm 250bp

```

GCAGAGATAAGCTTTCAGGATAGAGATACAGCTCTTCCAGACGCATGTTTCATCTATATCTGATAT
TAGCCCCGTTACGTATCCGATCACATTACCTATTATTAAAAACATTTCCGTAACTGCTCATGGTATC
FW Primer →
AATCTTATCGATAAAATTTCCATCAAAGTTCTGCAGCTCTTACATACCCCTTCCACTACGGAGGCAAT
GCGATTAAAACCCCCGATGATCCGGGTGCGATGATTACCTTTGCTTTGAAGCCACGGGAG
GAATACCAACCCAGTGGTTCATATTAACGTATCCAGAGCAAGAGAATTTTATATTAGTTGGGACAC
Probe
GGATTACGTGGGGTCTATCACTACGGCTGATCTTGTGGTATCGGCATCTGCTATTAAC
← RV primer
  
```

Đoạn gen P72 của virus DTLCP thu thập được từ ổ dịch Hưng Yên ngày 1/2/2019

+ Master mix và mẫu

Chuẩn bị Master mix cho phản ứng Realtime PCR

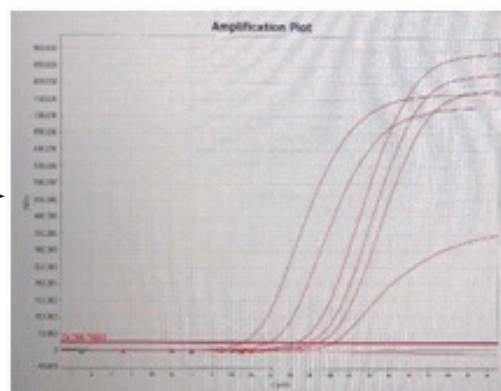
phát hiện virus DTLCP theo kit Platinum® Quantitative PCR SuperMix-UDG, Cat.No: 11730-017.

STT	Thành phần	Nồng độ	Thể tích cho 1 phản ứng (μl)
1	Nước không có RNA/DNA		5,5
2	Dung dịch SuperMix		12,5
3	Mồi xuôi ASFV	20 μM	0,5
4	Mồi ngược ASFV	20 μM	0,5
5	Đoạn dò ASFV	6 μM	1
	Tổng thể tích dung dịch đệm thực hiện phản ứng		20
6	Mẫu DNA		5
	Tổng thể tích dung dịch thực hiện phản ứng		25

Sau khi chuẩn bị xong, đưa các ống PCR có chứa master mix và mẫu vào máy PCR để chạy phản ứng theo chu kỳ luân nhiệt sau:

Cài đặt chu kỳ luân nhiệt và chạy phản ứng Realtime PCR

Nhiệt độ	Thời gian	Số chu kỳ
50°C	2 phút (*)	1
95°C	2 phút (*)	1
95°C	15 giây	
60°C	60 giây (Ghi nhận tín hiệu quang ở bước này)	45



Máy Realtime PCR và kết quả phản ứng Realtime PCR, các mẫu dương tính xuất hiện đường cong khuếch đại

+ Đọc kết quả:

Kết quả của phản ứng Realtime PCR

được xác định dựa vào chu kỳ ngưỡng (Cycle threshold: Ct).

- Mẫu có giá trị $Ct < 40$ được xem là dương tính

- Mẫu không có giá trị Ct là âm tính

- Mẫu có giá trị Ct trong khoảng $40 \leq Ct \leq 45$ được xem là nghi ngờ. Những mẫu nghi ngờ này cần được thực hiện lại xét nghiệm hoặc sử dụng phương pháp xét nghiệm tương đương khác để khẳng định kết quả.

Những điểm chú ý đối với phương pháp PCR

Vì phương pháp PCR có độ nhạy rất cao, nên điều chú ý nhất trong suốt quá trình thực hiện là nguy cơ tạp nhiễm chéo và kết quả dương tính giả có thể xảy ra trong tình huống này. Sự tạp nhiễm có thể do chính virus DTLCP có trong mẫu hoặc trong đối chứng dương được đưa vào chiết tách DNA, cũng có thể do DNA virus của lần khuếch đại PCR trước. Vì vậy nhân viên thực hiện xét nghiệm PCR cần phải tuân thủ nghiêm ngặt các nội quy làm việc để giảm thiểu nguy cơ tạp nhiễm:

- Tất cả các công đoạn của phương pháp PCR phải được thực hiện ở các khu vực riêng rẽ, sử dụng thiết bị, dụng cụ riêng: như khu chuẩn bị mẫu, khu chiết tách DNA, khu chuẩn bị hỗn hợp PCR và khu vực loại bỏ sản phẩm PCR.

- Nhân viên xét nghiệm phải luôn sử dụng găng tay sạch trong các khu vực PCR.

- Bất cứ khi nào di chuyển sang khu vực PCR khác, nhân viên xét nghiệm phải bỏ găng tay cũ và đi găng tay mới.

- Vật tư phải được sử dụng riêng cho từng công đoạn PCR.

- Luôn sử dụng đầu tip mới cho các mẫu khác nhau.

- Không được mở các ống chứa sản phẩm PCR ở các phòng PCR khác ngoài khu vực phân tích điện di.

2.1.2. Phương pháp phân lập

Phân lập virus được thực hiện bằng cách cấy mẫu bệnh phẩm lên môi trường tế bào sơ cấp có

nguồn gốc từ lợn như tế bào bạch cầu đơn nhân, đại thực bào. Nếu mẫu có virus DTLCP, chúng sẽ nhiễm, nhân lên trong các tế bào mẫn cảm và gây bệnh tích tế bào (CPE) ở các tế bào bị nhiễm. Phần lớn các chủng virus DTLCP có thể gây phản ứng hấp phụ hồng cầu do các tế bào hồng cầu lợn có tính chất bám vào các tế bào nhiễm virus DTLCP. Tính chất này đặc hiệu cho virus DTLCP vì không có loại virus nào khác ở lợn gây hấp phụ hồng cầu trên môi trường tế bào. Do vậy khi gây nhiễm tế bào, một lượng hồng cầu lợn được cho vào để tạo phản ứng hấp phụ hồng cầu. Hiện tượng hấp phụ hồng cầu là sự bám gắn của nhiều tế bào hồng cầu lợn lên tế bào bị nhiễm virus tạo nên hình hoa hồng.

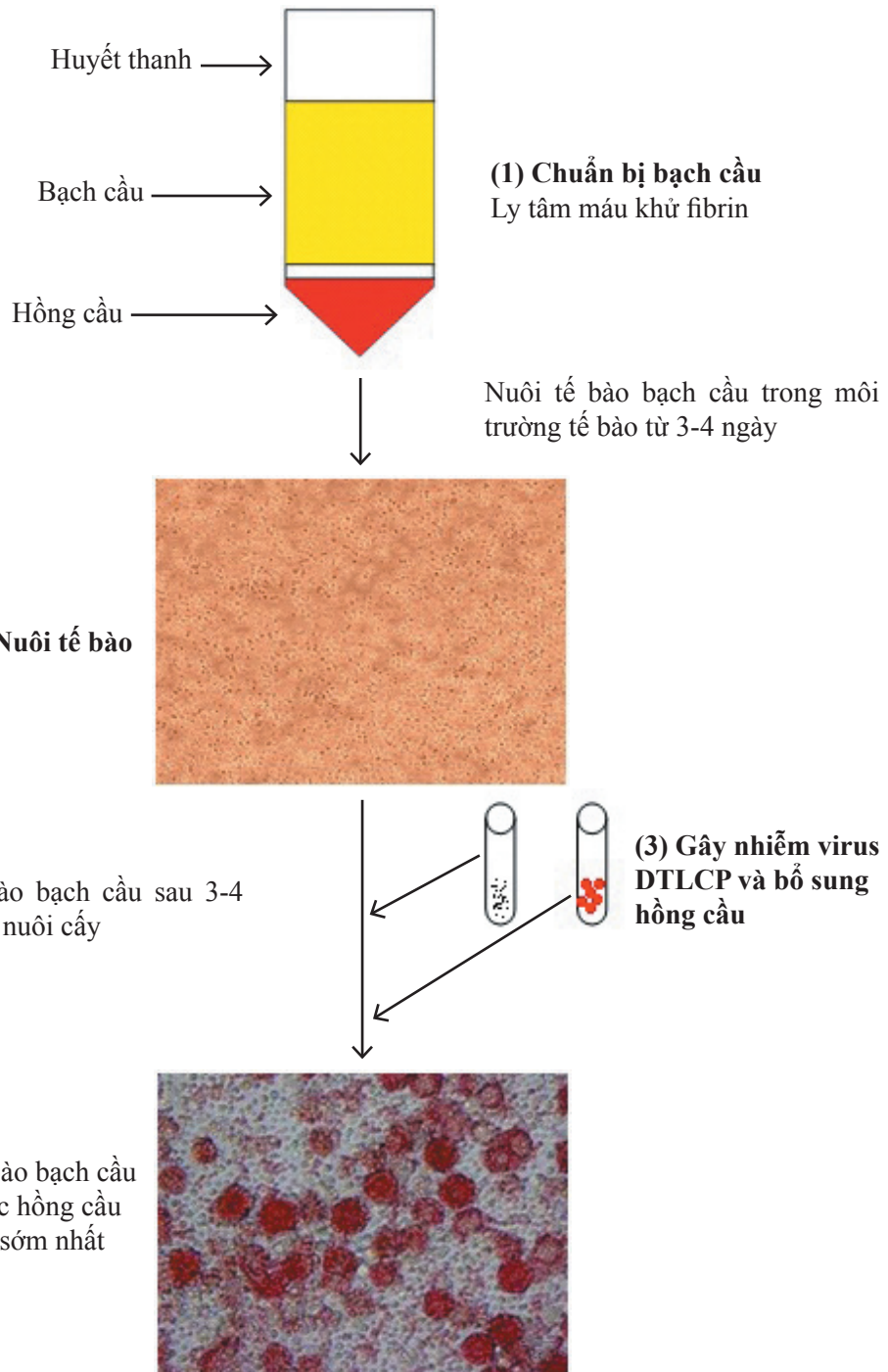
Tuy nhiên trong một số trường hợp không xuất hiện hấp phụ hồng cầu, cần chú ý CPE có thể do độc tố tế bào bắt nguồn từ mẫu, do các loại virus khác như Aujeszky's disease hay chủng virus DTLCP không gây hấp phụ hồng cầu. Trong những trường hợp này, cần sử dụng các phương pháp phát hiện kháng nguyên khác như FAT hoặc PCR để xác chẩn. Nếu kết quả FAT và PCR vẫn âm tính, sử dụng dịch nuôi cấy để cấy chuyển sang môi trường tế bào mới và tiếp đời 3-5 lần để kiểm tra lại chắc chắn không có virus DTLCP.

Những điểm chú ý đối với phương pháp phân lập

- Phương pháp này tốn nhiều thời gian và công sức. Để có kết quả chẩn đoán DTLCP đúng, phương pháp này tốn 5-10 ngày nếu phản ứng hấp phụ hồng cầu xảy ra ngay trong lần gây nhiễm đầu tiên. Nếu việc chẩn đoán không thể đợi đến 15-30 ngày, phương pháp này không được khuyến cáo để sử dụng cho chẩn đoán ban đầu. Phương pháp này có thể sử dụng để xác chẩn kết quả của các phương pháp PCR và phương pháp miễn dịch huỳnh quang gián tiếp.

- Sự xuất hiện bệnh tích tế bào mà không có phản ứng hấp phụ hồng cầu có thể do sự có mặt của các loại virus khác, do độc tố hoặc do virus DTLCP không gây hấp phụ hồng cầu. Điều này khiến cho việc chẩn đoán đúng bệnh DTLCP

CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH PHÂN LẬP



gặp khó khăn và cần xác chẩn lại bằng phương pháp PCR.

- Phương pháp này cần sử dụng hồng cầu và

huyết thanh từ cùng con vật cung cấp bạch cầu làm tế bào để tránh hiện tượng hấp phụ hồng cầu không đặc hiệu.

- Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng mẫu bảo quản kém dễ gây ra phản ứng sai lệch và không phân lập được virus. Các mẫu phải được bảo quản lạnh trong quá trình vận chuyển và lưu giữ.

- Phương pháp này đòi hỏi phòng thí nghiệm phải có kỹ thuật tể bào và phòng nuôi động vật.

2.1.3. Phương pháp miễn dịch huỳnh quang trực tiếp (DIF)

Phương pháp DIF được sử dụng để phát hiện virus DTLCP trong mô của lợn nghi nhiễm bệnh. Nguyên tắc của phương pháp này là sử dụng kính hiển vi để phát hiện kháng nguyên virus trong tiêu bản smear hoặc tiêu bản cắt lạnh các tổ chức của lợn nghi nhiễm bệnh. Các kháng nguyên trong tế bào được các kháng thể đặc hiệu gắn huỳnh quang phát hiện. Các hạt hoặc thể vùi màu huỳnh quang xuất hiện trong tế bào chất của tế bào nhiễm bệnh. Phương pháp DIF cũng có thể sử dụng để phát hiện kháng nguyên virus DTLCP trong môi trường tế bào bạch cầu mà không có hiện tượng hấp phụ hồng cầu và có thể dùng để nhận diện những chủng virus không gây hấp phụ hồng cầu. Nó cũng có thể phân biệt được CPE của virus DTLCP và của các virus khác như Aujeszky hoặc độc tố.

DIF là phương pháp có độ nhạy cao đối với các trường hợp quá cấp và cấp tính. Tuy nhiên ở những trường hợp á cấp tính và mạn tính, DIF có độ nhạy giảm đáng kể (40%), điều này liên quan đến sự có mặt của các phức hợp kháng nguyên – kháng thể trong mô lợn bệnh đã ngăn không cho phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể (conjugate) xảy ra.

2.1.4. Phương pháp ELISA kháng nguyên

Kháng nguyên virus cũng có thể phát hiện được bằng phương pháp ELISA, nhưng nó chỉ được khuyến cáo sử dụng đối với các thể bệnh cấp tính. Tương tự như phương pháp DIF, phương pháp ELISA kháng nguyên có độ nhạy giảm đáng kể. Điều này có thể là do phức hợp kháng nguyên – kháng thể trong mô lợn bệnh

đã làm cho sự tương tác giữa kháng nguyên và kháng thể giảm. Do vậy, phương pháp ELISA kháng nguyên chỉ được khuyến cáo sử dụng như là phương pháp xét nghiệm cho đàn và sử dụng kết hợp với các phương pháp xét nghiệm kháng nguyên khác.

2.2. Xét nghiệm kháng thể

Xét nghiệm kháng thể được khuyến cáo cho các thể bệnh á cấp tính và mạn tính, cũng như cho các chương trình thanh toán và xét nghiệm quy mô lớn vì nhiều lý do như sau:

- Kháng thể thường được sản sinh nhanh chóng ở lợn nhiễm bệnh. Ở những lợn này, kháng thể có thể phát hiện được trong mẫu huyết thanh từ lợn sau nhiễm từ 7-10 ngày.

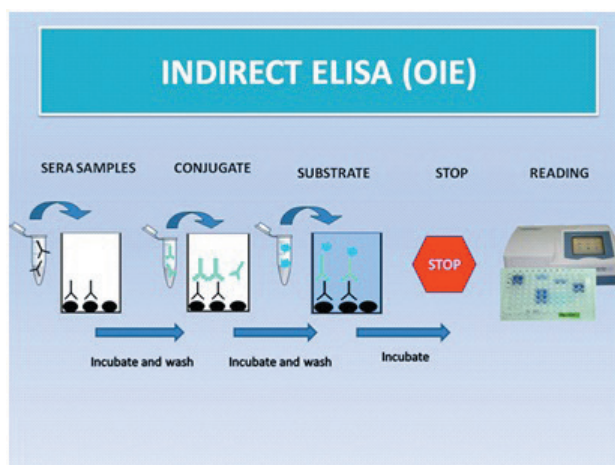
- Vacxin chưa sẵn có cho bệnh DTLCP, điều này có nghĩa rằng kháng thể đặc hiệu virus DTLCP chỉ do nhiễm bệnh.

- Ở lợn phục hồi sau nhiễm bệnh, các kháng thể đặc hiệu có thể phát hiện được trong nhiều tháng và thậm chí cả đời đối với một số lợn.

2.2.1. Phương pháp ELISA

Phương pháp ELISA là phương pháp rất hữu ích được sử dụng rộng rãi để chẩn đoán huyết thanh của nhiều bệnh động vật khác nhau. Một số tính chất nổi bật nhất của phương pháp này là các chỉ số về độ nhạy và độ đặc hiệu cao, tốc độ nhanh và chi phí thấp. Các quần thể động vật lớn có thể được xét nghiệm trong thời gian ngắn nhờ các thiết bị tự động có sẵn ngày nay. Kỹ thuật này cũng cho phép đọc kết quả dễ dàng.

Kỹ thuật được sử dụng nhiều hơn để phát hiện kháng thể DTLCP chính là ELISA, kỹ thuật này dựa vào các kháng thể hay kháng nguyên có gắn enzyme, vì vậy cộng hợp (conjugate) này vừa có hoạt động kháng thể và enzyme. Là thành phần (kháng nguyên hoặc kháng thể) có gắn enzyme và không hòa tan, phản ứng kháng nguyên - kháng thể sẽ được cố định và dễ dàng phát triển bằng việc cho thêm cơ chất (substrate) để có thể đọc được bằng máy quang phổ kế.



Trình tự các bước trong phản ứng ELISA gián tiếp phát hiện kháng thể bệnh DTLCP

Phương pháp ELISA gián tiếp được OIE (2012) khuyến cáo sử dụng để phát hiện kháng thể bệnh DTLCP. Kỹ thuật này đã được đánh giá đầy đủ qua thời gian với độ nhạy và độ đặc hiệu lên tới 95,8% và 97,3%. Phương pháp này có thể xét nghiệm số lượng mẫu lớn trong thời gian ngắn.

ELISA gián tiếp trên sử dụng các kháng nguyên bán thuần khiết, hòa tan trong bào tương từ môi trường nuôi cấy virus DTLCP. Chủng virus sử dụng cho sản xuất kháng nguyên là chủng virus Tây Ban Nha, phân lập năm 1970 (E70) và đã thích nghi phát triển trên một dòng tế bào ổn định của khí (MS cell line). Kháng nguyên được cố định trong đĩa ELISA. Mẫu có kháng thể DTLCP sẽ nhận diện kháng nguyên để bám vào và hình thành nên phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Sau đó, cộng hợp được cho vào và tìm đến phức hợp kháng nguyên – kháng thể để cố định vào. Đĩa ELISA sau đó được rửa nhiều lần bằng các dung dịch đệm, tất cả những thành phần trong đĩa không được cố định sẽ bị loại bỏ. Sau đó cơ chất được thêm vào để đọc kết quả: những giếng nào có phát màu là có kháng thể DTLCP. Tuy nhiên cần sử dụng máy ELISA đo mật độ quang học (OD) để cho kết quả chính xác.

Những điểm cần chú ý

Mặc dù phương pháp ELISA gián tiếp của OIE đã được chứng minh có độ nhạy và đặc hiệu

để phát hiện kháng thể DTLCP, nhưng phương pháp này vẫn có những điểm cần chú ý:

- Huyết thanh không được bảo quản tốt có thể gây ra phản ứng dương tính giả vì kháng thể của những huyết thanh này bám vào các giếng trong đĩa ELISA dưới dạng không đặc hiệu, gây ra kết quả dương tính giả, thậm chí không có kháng nguyên được cố định trong đĩa. Những huyết thanh được xét nghiệm bằng các phương pháp tham chiếu khác như Immunoblotting hay miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (Immunoperoxidase). Mặc dù những trường hợp dương tính giả trong chẩn đoán là rất thấp nhưng sự cẩn thận trong việc thu thập và bảo quản mẫu cần hết sức được chú ý. Trong trường hợp không có điều kiện bảo quản mẫu tốt, khả năng gây dương tính giả cần được xem xét khi phân tích mẫu bằng phương pháp ELISA gián tiếp.

- Loại đĩa sử dụng để phủ kháng nguyên: chất liệu nhựa của đĩa rất quan trọng đối với độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp. Các nghiên cứu ở châu Âu đã cho thấy phương pháp này có độ nhạy tốt nhất khi sử dụng đĩa Polysorp 96 wells của hãng Nunc.

- Loại cộng hợp (conjugate): các nghiên cứu ở châu Âu cũng chứng minh rằng loại cộng hợp cũng rất quan trọng đối với độ nhạy của phương

pháp ELISA. Sử dụng cộng hợp có Peroxidase của hãng PIERCE, làm tăng độ nhạy của ELISA.

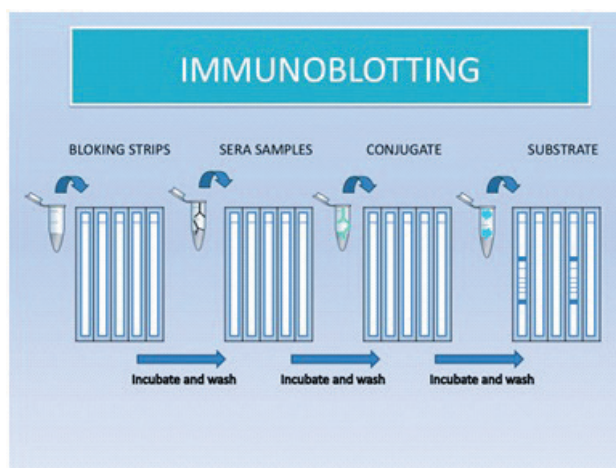
2.2.2. Phương pháp immunoblotting (IB)

IB là một xét nghiệm nhanh và nhạy để phát hiện và phân tích protein bằng cách sử dụng tính đặc hiệu vốn có trong nhận diện kháng nguyên – kháng thể. Nó bao gồm quá trình hòa tan, tách điện di, và chuyển các protein lên màng (thường là màng nitrocellulose). Màng được phủ kháng thể thứ nhất đặc hiệu với mục tiêu đích và với kháng thể thứ 2 có đánh dấu.

Để chuẩn bị các test IB xét nghiệm kháng thể DTLCP, các protein của virus DTLCP được phân tách bằng điện di trên SDS-PAGE, rồi chuyển lên màng lọc nitrocellulose với cường độ dòng điện không đổi. Sau đó màng lọc được cắt thành

các băng nhỏ và được làm bão hòa các vị trí bám protein còn lại. Sau khi làm bão hòa, huyết thanh được đưa lên băng kháng nguyên để kháng thể phản ứng với kháng nguyên. Để đọc kết quả, cộng hợp protein A (conjugate) peroxidase và cơ chất 4-chloro-1-naphtol được tiếp tục cho vào, trong trường hợp mẫu có kháng thể đặc hiệu virus DTLCP, phản ứng peroxidase sẽ được nhìn thấy.

Phương pháp IB được OIE (2012) khuyến cáo sử dụng để xác chẩn các mẫu dương tính hay nghi ngờ bằng ELISA và trong trường hợp mẫu được bảo quản không đúng hoặc bảo quản kém. Kỹ thuật này đã được đánh giá đầy đủ và có độ nhạy và độ đặc hiệu 98%. Phương pháp này cho phép phát hiện những con vật nhiễm bệnh mà không biểu hiện triệu chứng lâm sàng.



Các bước thực hiện phản ứng immunoblotting (IB)

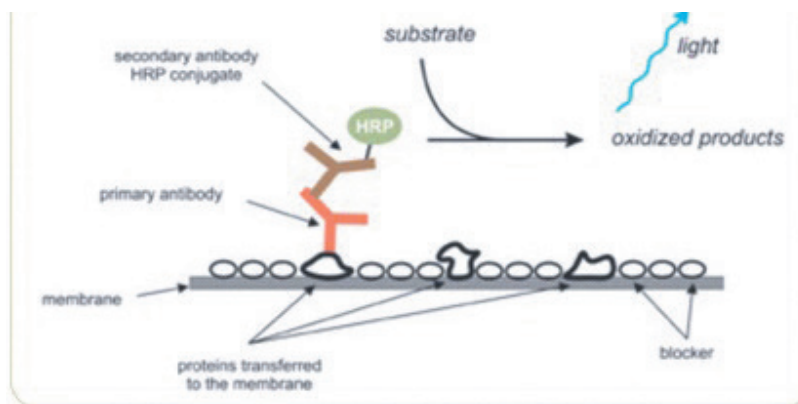
Những điểm cần chú ý:

Trong những năm qua, rất nhiều mẫu huyết thanh đã được xét nghiệm bằng phương pháp IB và cho kết quả tốt, nhưng có một số điểm cần cân nhắc:

- Phản ứng dương tính giả: huyết thanh từ động vật đã tiêm vaccin với các bệnh khác có thể bị dương tính giả do phản ứng với các protein tế bào có mặt trong băng IB chuẩn bị với virus

DTLCP bán thuần khiết. Trong những trường hợp này, huyết thanh cần phải được xét nghiệm bằng các phương pháp khác như Immunoperoxidase gián tiếp hoặc Immunofluorescence gián tiếp.

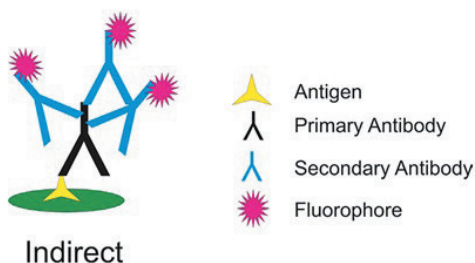
- Loại cộng hợp (conjugate): các nghiên cứu ở châu Âu cũng chứng minh rằng loại cộng hợp cũng rất quan trọng đối với độ nhạy của phương pháp. Protein A peroxidase conjugated được khuyến cáo sử dụng.



Phản ứng immunoblotting trên băng kháng nguyên DTLCP

2.2.3. Phương pháp miễn dịch huỳnh quang (immunofluorescence) gián tiếp

Phương pháp miễn dịch huỳnh quang gián tiếp là phương pháp chẩn đoán huyết thanh học. Trong phương pháp này, độ nhạy của kỹ thuật vi thể và độ đặc hiệu của kỹ thuật miễn dịch được kết hợp. Phương pháp này sử dụng cộng hợp (conjugate) gắn huỳnh quang kháng IgG trong huyết thanh mẫu.



Sự tương tác của các thành phần trong phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp

V. Khuyến nghị công tác chẩn đoán xét nghiệm bệnh Dịch tả lợn châu Phi

- Hiện nay chưa có vaccin và thuốc điều trị được DTLCP, vì vậy đối với người chăn nuôi, giải pháp chăn nuôi an toàn sinh học, thực hiện các biện pháp phòng bệnh tổng hợp, đồng bộ, là giải pháp hữu hiệu duy nhất hiện nay đối với phòng, chống bệnh DTLCP.

- Đàn lợn khi phát hiện nghi nhiễm, mắc bệnh

DTLCP cần lấy mẫu và gửi đến các Phòng thí nghiệm uy tín để xét nghiệm xác định nguyên nhân bệnh, nếu xác định dương tính, không thực hiện điều trị lợn bệnh, lợn nghi mắc bệnh; cần báo cáo ngay chính quyền địa phương và thú y cơ sở để tiêu hủy sớm toàn bộ đàn lợn, thực hiện vệ sinh, khử trùng tiêu độc, áp dụng các biện pháp an toàn sinh học.

- Đối với kiểm dịch vận chuyển, cần lấy mẫu xét nghiệm theo quy định trong thông tư 07/2016/TT-BNNPTNT. Tuy nhiên cần đề nghị các cơ quan chức năng cho phép xét nghiệm mẫu gộp (tối đa 5 mẫu) để giảm chi phí.

- Để xác định bệnh DTLCP hiện nay ở Việt Nam, cần áp dụng các phương pháp xét nghiệm kháng nguyên. Các phương pháp xét nghiệm kháng thể không có ý nghĩa nhiều trong giai đoạn này ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alonso, C., Borca, M., Dixon, L., Revilla, Y., Rodriguez, F., Escibano, J.M., and ICTV Report Consortium. 2018, ICTV Virus Taxonomy Profile: Asfarviridae, Journal of General Virology, 99: 613–614
2. Beltrán-Alcrudo, D., Arias, M., Gallardo, C., Kramer, S. & Penrith, M.L. 2017. *African swine fever: detection and diagnosis – A manual for veterinarians*. FAO Animal Production and Health Manual No. 19. Rome. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/.