

# SỰ ĐỒNG NHIỄM VÀ ĐẶC TRƯNG KIỂU GEN CỦA PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2 VÀ 3 TRÊN HEO CÓ DẤU HIỆU RỐI LOẠN SINH SẢN VÀ HÔ HẤP

*Đỗ Tiến Duy<sup>1\*</sup>, Đặng Hoàng Kim<sup>1</sup>, Ngô Thị Ngọc Trâm<sup>1</sup>, Đinh Xuân Phát<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thu Năm<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Phương Trang<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Nam<sup>3</sup>, Nguyễn Tất Toàn<sup>1</sup>*

*\*Tác giả liên hệ email: duy.dotien@hcmuaf.edu.vn*

## TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định sự đồng nhiễm và đặc trưng kiểu gen của các chủng porcine circovirus (PCV) type 2 và 3 trên heo nái bị rối loạn sinh sản và heo con bị rối loạn hô hấp. Mẫu máu, mô, dịch tiết cơ thể của heo bị bệnh được thu thập từ 25 trang trại ở nhiều tỉnh/thành trong cả nước. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm PCV2 là 51,52% và nhiễm PCV3 là 44% cùng với tỷ lệ đồng nhiễm PCV2 và PCV3 là 16% theo trang trại đã khảo sát. Sự lưu hành PCV3 được phát hiện chủ yếu trong các ca rối loạn sinh sản ở heo nái và tỷ lệ nhiễm PCV2 chủ yếu trong các ca bệnh rối loạn hô hấp ở heo con sau cai sữa ( $P<0,05$ ). Tỷ lệ nhiễm PCV2 và PCV3 lần lượt ở mẫu mô là 58,14% và 27,78% trong những ca bệnh rối loạn hô hấp ( $P<0,05$ ). PCV3 hiện diện trong mẫu thai sảy/chết lưu cao nhất (43,33%) và PCV2 hiện diện trong mẫu mô cao nhất (58,14%). PCV2d là kiểu genotype chiếm ưu thế (83,33%) trong các ca bệnh rối loạn hô hấp và mức tương đồng của các chủng nghiên cứu dao động từ 93,38 đến 100%. Bộ gen PCV3 hoàn chỉnh trong những ca rối loạn sinh sản thuộc nhóm PCV3b. Kết quả của nghiên cứu này cung cấp thông tin khoa học về sự lưu hành và sự liên quan của PCV3 2b ở những ca rối loạn sinh sản trên heo nái giống.

*Từ khóa:* Đồng nhiễm, đặc trưng kiểu gen, PCV2, PCV3, heo.

## The co-infection and genetic characterization of porcine circovirus type 2 and 3 in pigs having the signs of reproductive and respiratory disorders

*Do Tien Duy, Dang Hoang Kim, Ngo Thi Ngoc Tram, Dinh Xuan Phat, Nguyen Thi Thu Nam, Nguyen Thi Phuong Trang, Nguyen Minh Nam, Nguyen Tat Toan*

## SUMMARY

The objective of this study was to determine the co-infection and genetic characterizations of porcine circovirus (PCV) type 2 and 3 in pigs having the signs of reproductive and respiratory disorders. Tissue, blood, and body fluids samples were collected in the pigs showing clinical signs of the disease from 25 different farms in many provinces/cities. The studied results showed that the infection rate of pig with PCV2 and PCV3 was 51.52% and 44%, respectively; while the co-infection rate of pig with PCV2 and PCV3 was 16 % according to the surveyed farms. PCV3 was detected mainly in cases of reproductive disorders in the sows and PCV2 was in cases of respiratory disorders in the post-weaning piglets ( $P<0.05$ ). The prevalence of PCV2 and PCV3 infection in the tissue samples was 58.14% and 27.78%, respectively, with  $P<0.05$ . Concurrent, PCV3 infection rate was highest presenting in the sample of miscarriage/stillbirth (43.33%), and PCV2 was detected with the highest rate in tissue samples of the respiratory failure cases (58.14%). PCV2d was the predominant genotype (83.33%) in the respiratory disorders, and the identity of the current strains ranged from 93.38% to 100%. The complete PCV3 genome in the reproductive disorder cases belonged to the PCV3b group. The studied result provides scientific information on the prevalence and association of PCV3 2b in reproductive disorders in sows.

*Keywords:* Co-infection, genetic characterization, PCV2, PCV3, pigs.

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

<sup>2</sup>. Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm, Tp. HCM

<sup>3</sup>. Trường Đại học Y dược, Đại học Quốc gia Tp. HCM

## I. MỞ ĐẦU

Porcine circovirus disease (PCVD) là một trong những bệnh truyền nhiễm trên heo gây ra bởi porcine circoviruses (PCVs) và hiện diện hầu hết ở các trang trại heo trên thế giới (Niu và ctv, 2022). PCV là virus DNA sợi đơn, nhỏ, hình tròn, thuộc họ Circoviridae, giống Circovirus. Hiện nay, trên thế giới phát hiện 4 loài PCV bao gồm Porcine circovirus type 1, 2, 3 và 4 (PCV1, PCV2, PCV3 và PCV4) (Opriessnig và ctv, 2020). PCV1 lần đầu tiên được xác định sự hiện diện ở dòng tế bào thận heo PK-15 và sau đó được xác nhận rằng không gây bệnh cho heo. PCV2 là tác nhân gây bệnh phổ biến trên đàn heo, bao gồm hội chứng còi cọc sau cai sữa (PMWS), hội chứng viêm da và bệnh thận (PDNS), rối loạn sinh sản và bệnh hô hấp phức hợp (Darwich và ctv, 2004). Từ 2015, PCV3 được phát hiện đầu tiên ở Mỹ với lâm sàng giống PDNS và rối loạn sinh sản trên heo (Palinski và ctv, 2017); trong khi PCV4 cũng được phát hiện sau đó nhưng chưa được chứng minh vai trò gây bệnh trên heo (Zhang và ctv, 2020).

PCV2 được phát hiện lần đầu tiên ở heo có liên quan đến PMWS ở Bắc Mỹ và châu Âu vào năm 1998 với kiểu gen PCV2a và sau đó lưu hành trên toàn thế giới (Meehan và ctv, 1998). Bộ gen của PCV2 có chiều dài 1.767-1.768 nucleotide (nt), với cấu trúc dạng vòng sợi đơn. Chúng chứa 2 khung đọc mở chính (ORF) được mã hóa theo hướng ngược chiều nhau. ORF1 mã hóa cho protein nhân lên của virus (Rep) và ORF2 mã hóa cho protein capsid (Ostanello và ctv, 2005), chứa các epitope kháng nguyên với vai trò đáp ứng miễn dịch (Meehan và ctv, 1997; Cheung, 2003). Virus này được chia thành 8 subtype (PCV2a-PCV2h) dựa trên trình tự ORF2 mã hóa protein capsid (Franzo và ctv, 2018). Những nghiên cứu hiện nay cho thấy PCV2d có khuynh hướng tăng cao lưu hành phổ biến trên thế giới và thay thế dần PCV2a và PCV2b (Franzo và ctv, 2018). Sự dịch chuyển kiểu gen sang PCV2d dường như có liên quan đến sự tăng độc lực của mầm bệnh và kéo theo ảnh hưởng đến miễn dịch phòng bệnh các chủng

vacxin cổ điển khi có sự tương đồng thấp hơn với chủng thực địa (Xiao và ctv, 2016). Ở Việt Nam, lưu hành kiểu gen PCV2d đã được báo cáo là chiếm ưu thế (Dinh và ctv, 2021).

Sự đồng nhiễm PCV2 và PCV3 được cáo cáo ở một số nước, tuy nhiên các thông tin đầy đủ về đồng nhiễm của PCV2 và PCV3 trên heo ở Việt Nam chưa được nghiên cứu đầy đủ. Sự dao động tỷ lệ đồng nhiễm PCV2 và PCV3 trên heo có sự khác nhau ở các khảo sát là 100% (Duy và ctv, 2019); 7,4% (Dinh và ctv, 2021) và 0,0% (Nguyen và ctv, 2023). Kể từ khi PCV3 được phát hiện ở Mỹ, virus này đã được ghi nhận ở Hàn Quốc, Trung Quốc, Thái Lan, Brazil, Ý, Tây Ban Nha, Thụy Điển, Đức, Ba Lan và Việt Nam. Các nghiên cứu trước đây phân chia PCV3 thành ba phân nhóm kiểu gen là PCV3a, PCV3b và PCV3c dựa theo phân tích phát sinh loài ở gen Cap. Tốc độ tiến hóa nhanh của PCV3 được ước tính tương đồng với PCV2, nhưng cũng có nghiên cứu cho rằng PCV3 có tốc độ chậm ở khoảng  $10^{-5}$  substitution/vị trí/năm (Franzo và ctv, 2019). Ở Việt Nam, một số công trình nghiên cứu đa dạng kiểu gen PCV3 đã được công bố. Năm 2018, công bố của một nghiên cứu 5 chủng PCV3 ở miền Bắc thuộc phân nhóm PCV3a-1 (Nguyen và ctv, 2018); sau đó, một số chủng PCV3 thu thập từ ba tỉnh phía Nam được tìm thấy thuộc phân nhóm PCV3b (Nguyen và ctv, 2021). Gần đây, ở nghiên cứu của Phat và ctv (2023) các chủng PCV3 ở Việt Nam có sự đa dạng cao gồm các phân nhóm PCV3a, 3b và 3c.

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định sự lưu hành đồng nhiễm PCV2 và PCV3 ở các ca bệnh rối loạn sinh sản và rối loạn hô hấp trên heo của các trại và đánh giá sự đa dạng kiểu gen của các chủng PCV type 2 và 3 hiện nay qua giải trình tự toàn bộ đoạn gen.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Thu thập và xử lý mẫu

Mẫu được thu thập từ 63 heo sau cai sữa (4 đến 10 tuần tuổi) có dấu hiệu lâm sàng hô hấp phức hợp và 69 heo nái rối loạn sinh sản từ 25

trại khảo sát ở nhiều tỉnh/thành trong cả nước. Ở mỗi trại, từ 1 đến 5 ca bệnh được thu thập theo biểu hiện lâm sàng rối loạn sinh sản trên heo nái hay rối loạn hô hấp trên heo sau cai sữa. Trên heo cai sữa mắc bệnh, mẫu máu kháng đông (EDTA) và mô nội tạng được thu thập qua việc mổ khám thường quy; và trên heo nái mắc bệnh, máu kháng đông (EDTA), thai sẩy/chết lưu và dịch phết âm đạo, sữa đầu được thu thập. Kỹ thuật PCR được sử dụng xét nghiệm PCV2 và PCV3 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. Tách chiết DNA

Mẫu mô được xử lý với dung dịch PBS 1X tạo thành huyền dịch 10%. Ly tâm huyền dịch để thu phần dịch nổi cho tách chiết DNA theo quy trình của bộ kit thương mại (GeneJET Genomic DNA Purification Kit của Thermo Scientific, Lithuania). DNA sau khi tách chiết bảo quản -20°C cho đến khi sử dụng.

## 2.3. Môi và PCR xét nghiệm PCV2 và PCV3

Đoạn môi sử dụng để phát hiện PCV2 và PCV3 là PCV2-F: ATG ACG TAT CCA AGG AGG CG; PCV2-R: TTA AGG GTT AAG TGG GGG GTC và PCV3-F: TTC CGG GAC ATA AAT GCT; PCV3-R: GGG CAC ACA GCC ATA GAT tương ứng, tham khảo từ các nghiên cứu trước đây (Chen và ctv, 2017; Dinh và ctv, 2021).

Thành phần phản ứng PCR được thực hiện với tổng phản ứng là 20 $\mu$ l và chu trình luân nhiệt được tham khảo và hiệu chỉnh từ các nghiên cứu trước (Dinh và ctv, 2021; Kedkovid và ctv, 2018).

## 2.4. Giải trình tự toàn bộ gen của PCV2 và PCV3

Để đánh giá sự đa dạng gen của virus, mẫu được chọn giải trình tự có địa bàn thu thập các tỉnh thành khác nhau. Bộ gen PCV2 hoàn chỉnh được khuếch đại bởi 2 cặp môi CV1: AGGGCTGTGGCCTTTGTTAC; CV2: TCTTCCAATCACGCTTCTGC và CV3: TGGTGACCGTTG CAGA GCAG; CV4:

TGGGCGGTGGACATGATGAG (Fenaux và ctv, 2000). Bộ gen hoàn chỉnh của PCV3 được khuếch đại sử dụng 2 cặp môi PCV3-74F: CACCGTGTG AGTGGGA TATAC; PCV3-1144R: CACCCAACGCAATAATTGTA và PCV3-2F: TTGCACTTGTGTACAATTATTGCG; PCV3-2R: ATCTTCAGGACACTCGTAGCACCAC (Ku và ctv, 2017).

Sản phẩm PCR được tinh sạch và sau đó được gửi đi giải trình tự bằng phương pháp Sanger (Macrogen, Hàn Quốc). Các chủng tham khảo theo phân nhóm kiểu gen được lấy từ Ngân hàng Gen NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) và có nguồn gốc từ các xuất bản ở các nguyên cứu trước đây. Sử dụng phần mềm ClustalW – để so sánh dòng các chủng trong nghiên cứu. Sự tương đồng và cây sinh dòng giữa chủng nghiên cứu với các chủng tham khảo được thực hiện trên phần mềm MEGA-X theo phương pháp Neighbor-joining, giá trị bootstrap lặp lại 1.000 lần.

## 2.5. Xử lý số liệu

Tỷ lệ (%) được tính giá trị trên phần mềm Excel và các giá trị so sánh thống kê các tỷ lệ nhiễm theo phương pháp chi-square ( $\chi^2$ ) bởi phần mềm R. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $P < 0,05$ .

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tỷ lệ nhiễm và đồng nhiễm PCV2, PCV3

#### 3.1.1. Tỷ lệ nhiễm, đồng nhiễm PCV2 và PCV3 theo trại, ca bệnh

Theo trại khảo sát, tỷ lệ nhiễm PCV2 và PCV3 được xác định lần lượt là 51,52% (17/33) và 44,00% (11/25). Tỷ lệ đồng nhiễm theo trại khảo sát của PCV2 và PCV3 là 16,00% (4/25). Tỷ lệ hiện diện PCV3 ở các trại có dấu hiệu lâm sàng rối loạn sinh sản (54,55%) cao hơn khác biệt ( $P < 0,05$ ) so PCV2 (18,18%); nhưng tỷ lệ hiện diện PCV2 ở trại heo có rối loạn hô hấp (72,73%) cao hơn khác biệt ( $P < 0,05$ ) so với PCV3 (bảng 1).

**Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm PCV2 và PCV3 theo trại khảo sát**

Mầm bệnh	Rối loạn sinh sản		Rối loạn hô hấp		Tổng	
	n/N	Tỷ lệ (%)	n/N	Tỷ lệ (%)	n/N	Tỷ lệ (%)
PCV2	2/11	18,18 <sup>a</sup>	16/22	72,73 <sup>a</sup>	17/33	51,52
PCV3	6/11	54,55 <sup>b</sup>	5/15	33,33 <sup>b</sup>	11/25	44,00
PCV2 và PCV3	1/11	9,09	3/15	20,00	4/25	16,00

Ghi chú: n: mẫu dương tính; N: trại xét nghiệm; ký hiệu a,b thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

Ở mức độ ca bệnh, sự hiện diện của PCV3 ở các ca bệnh rối loạn sinh sản có tỷ lệ 18,88%; cao hơn và khác biệt so với tỷ lệ nhiễm PCV2 (1,40%) ( $P<0,001$ ). Tuy nhiên, trên heo sau cai sữa có rối

loạn hô hấp tỷ lệ nhiễm PCV2 (28,00%) cao hơn và có khác biệt ( $P<0,001$ ) so với tỷ lệ nhiễm PCV3 (10,00%) (bảng 2). Tỷ lệ đồng nhiễm PCV2 và PCV3 khá thấp (1,65%) ở các ca bệnh khảo sát.

**Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm PCV2 và PCV3 theo ca bệnh khảo sát**

Mầm bệnh	Rối loạn sinh sản		Rối loạn hô hấp		Tổng	
	n/N	Tỷ lệ (%)	n/N	Tỷ lệ (%)	n/N	Tỷ lệ (%)
PCV2	2/143	1,40 <sup>a</sup>	28/100	28,00 <sup>a</sup>	30/243	12,35
PCV3	27/143	18,88 <sup>b</sup>	10/100	10,00 <sup>b</sup>	37/243	15,23
PCV2 và PCV3	1/143	0,70	3/100	3,00	4/243	1,65

Ghi chú: n: mẫu dương tính; N: trại xét nghiệm; ký hiệu a,b thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

### 3.1.2. Tỷ lệ nhiễm, đồng nhiễm PCV2 và PCV3 theo các loại mẫu

Kết quả theo ca bệnh rối loạn hô hấp trên heo sau cai sữa, trong 63 mẫu máu thu thập phát hiện 3,13 % dương tính với PCV2 và không phát hiện

PCV3. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P<0,001$ ) về tỷ lệ nhiễm PCV2 và PCV3 tương tự ở mẫu mô là 58,14% và 27,78 % (bảng 3). Bên cạnh đó, sự hiện diện đồng nhiễm PCV2 và PCV3 được phát hiện trong mẫu mô với tỷ lệ 8,33 %.

**Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm PCV2 và PCV3 trong ca bệnh rối loạn hô hấp**

Mầm bệnh	Máu		Mô	
	n/N	Tỷ lệ (%)	n/N	Tỷ lệ (%)
PCV2	2/63	3,13	25/43	58,14 <sup>a</sup>
PCV3	0/63	0,00	10/36	27,78 <sup>b</sup>
PCV2 và PCV3	0/63	0,00	3/36	8,33

Ghi chú: n: mẫu dương tính; N: trại xét nghiệm; ký hiệu a,b thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

Kết quả ở bảng 4 cho thấy rằng PCV2 được phát hiện với tỷ lệ thấp ở máu (4,35%), không được phát hiện ở mẫu thai sẩy/chết lưu và các mẫu khác; trong khi đó tỷ lệ dương tính với PCV3 khá cao lần lượt ở thai sẩy/chết lưu (43,33

%), mẫu khác (16,67 %) và máu (1,45 %). Có sự khác biệt thống kê ( $P<0,001$ ) giữa tỷ lệ nhiễm của PCV3 và PCV2 trong mẫu thai sẩy/chết lưu và các mẫu khác (sữa đầu, dịch phết âm đạo, xoang miệng).

**Bảng 4. Tỷ lệ nhiễm PCV2 và PCV3 trong ca bệnh rối loạn sinh sản**

Mầm bệnh	Máu		Thai sảy/chết lưu		Mẫu khác*	
	n/N	Tỷ lệ (%)	n/N	Tỷ lệ (%)	n/N	Tỷ lệ (%)
PCV2	3/69	4,35	0/30	0,00 <sup>a</sup>	0/36	0,00 <sup>a</sup>
PCV3	1/69	1,45	13/30	43,33 <sup>b</sup>	6/36	16,67 <sup>b</sup>
PCV2 và PCV3	1/69	1,45	0/30	0,00	0/36	0,00

Ghi chú: \*: sữa đầu, dịch phết âm đạo, xoang miệng; n: mẫu dương tính; N: mẫu xét nghiệm; ký hiệu a, b thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

PCV2 gây ra thiệt hại kinh tế đáng kể cùng với sự xuất hiện PCV3 đã thu hút sự quan tâm lớn trong ngành chăn nuôi heo. Kết quả nghiên cứu này cho thấy PCV2 hiện diện cao ở các trại (72,73%) và ca bệnh (25,93%) có rối loạn hô hấp trên heo nuôi thịt. PCV2 được xác định là mầm bệnh gây rối loạn sinh sản trên heo nái. Tuy nhiên, trong khảo sát này ở ca rối loạn sinh sản, chúng tôi tìm thấy tỷ lệ nhiễm PCV3 cao hơn đáng kể so với PCV2, cho thấy rằng PCV3 có thể là căn nguyên liên quan đến hội chứng rối loạn sinh sản ở các trại chăn nuôi heo. Nghiên cứu của Vargas-Bermudez và ctv (2022) cho kết quả tỷ lệ nhiễm PCV3 là 43,5% ở huyết thanh và 52,6% trong các mô sinh sản (thai sảy, chết lưu, thai khô). Tỷ lệ nhiễm PCV3 cao trong các mẫu mô có nguồn gốc rối loạn sinh sản của nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu trước đây (Mora-Díaz và ctv, 2020). Sự vắng mặt PCV2 trong mô rối loạn sinh sản có thể được giải thích do việc áp dụng quy trình tiêm phòng thường quy cho nái đang mang thai, tạo ra kháng thể bảo vệ với sự nhiễm trùng sinh sản (Vargas-Bermudez và ctv, 2018).

Báo cáo khoa học gần đây (Jiang và ctv, 2019) cũng chỉ ra rằng PCV3 có thể được phát hiện từ các mô và dịch cơ thể khác nhau. Kết quả nghiên cứu này đã cho thấy PCV3 xuất hiện chủ yếu ở thai sảy/chết lưu, mẫu dịch tiết cơ thể (sữa đầu, dịch phết âm đạo, xoang miệng) nhưng rất thấp trong máu; các vấn đề đặt ra ở đây là cơ chế nhiễm trùng PCV3 có khuynh hướng tập trung ở các mô sinh sản hay tải lượng virus huyết đã giảm thấp dưới ngưỡng phát hiện của xét nghiệm. Có thể ở một trong hai trường

hợp trên, nhưng với kết quả khảo sát này có thể xác định nhau thai khá nhạy cảm với PCV3 và sự truyền từ mẹ sang con qua dịch tiết cơ thể là đáng quan ngại.

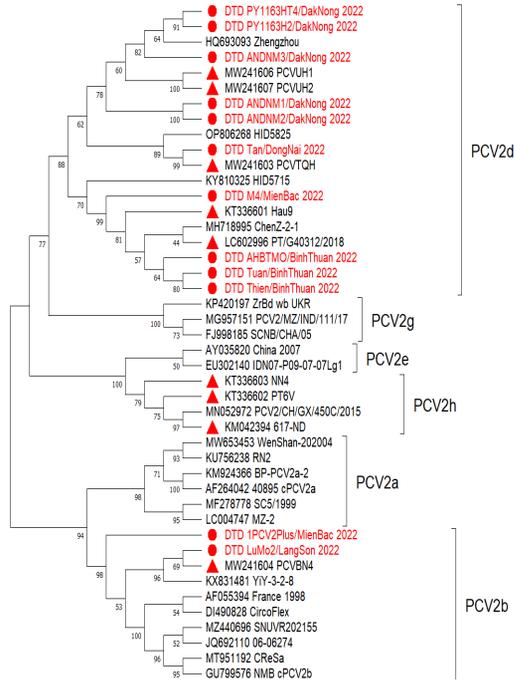
Đồng nhiễm PCV2 và PCV3 được phát hiện thấp theo trại cũng như ca bệnh khảo sát. Kết quả này có sự tương đồng với các nghiên cứu trước đây về sự đồng nhiễm PCV3 và PCV2 với tỷ lệ thấp 5,4% (Wang và ctv, 2020), 3,4 – 8% (Jiang và ctv, 2019); 8% (Dinh và ctv, 2021), 11% và 6,4% trong 2 đợt khảo sát (Vargas-Bermudez và ctv, 2022); tuy nhiên, số ít nghiên cứu có kết quả đồng nhiễm cao (70%) giữa hai mầm bệnh này (Guo và ctv, 2020). Đến nay, sự tương tác về cơ chế gây bệnh của PCV2 và PCV3 trong các rối loạn lâm sàng trên đàn heo vẫn chưa được làm sáng tỏ.

### 3.2. Đặc trưng gen PCV2 và PCV3 thu thập trên heo khảo sát

#### 3.2.1. Đặc trưng gen các chủng PCV2

Tổng số 12 chủng PCV2 được giải trình tự toàn bộ gen từ 9 mẫu mô và 3 mẫu máu. Trình tự toàn bộ gen PCV2 của 12 chủng cho thấy mức độ tương đồng dao động khoảng 93,38 - 100%. Chúng được phân vào 2 nhóm trên cây sinh dòng (hình 1) gồm PCV2d với 10/12 chủng chiếm 83,33 % và PCV2b có 2/12 chủng chiếm 16,67%. Kết quả này cho thấy PCV2d là kiểu genotype chiếm ưu thế trong các ca bệnh rối loạn hô hấp ở nghiên cứu này. Kết quả này khác biệt với nghiên cứu của Huỳnh Thị Mỹ Lệ và ctv (2012), PCV2b chiếm ưu thế trong sự lưu hành trên đàn heo nuôi tại các tỉnh phía Bắc thu thập trong năm 2011 –

2012. Tuy nhiên, các nghiên cứu từ 2017 trở lại đây (Phạm Hồng Quân và ctv, 2017; Doan và ctv, 2022; Dinh và ctv, 2023) đều kết luận rằng các chủng PCV2d ở Việt Nam chiếm ưu thế hơn so với PCV2b. Hiện tại trên thế giới, PCV2d lưu hành khá phổ biến và thậm chí trở nên vượt trội hơn so với PCV2b.



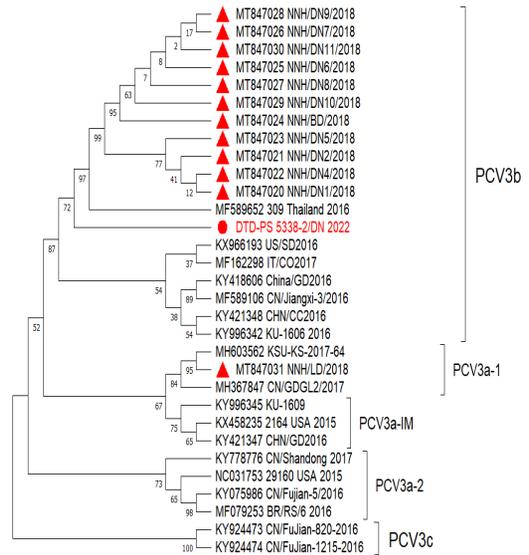
**Hình 1. Cây sinh dòng dựa trên trình tự bộ gen PCV2 hoàn chỉnh của các chủng thu thập từ nghiên cứu này và trình tự các chủng PCV2 tham khảo (GenBank, NCBI). Các chủng từ nghiên cứu này được tô màu đỏ.**

**3.2.2. Sự đa dạng gen các chủng PCV3 trong nghiên cứu**

Trong nghiên cứu hiện tại, mặc dù tỷ lệ dương tính PCV cao nhưng tải lượng virus thấp trong mẫu nên kết quả khuếch đại thành công chỉ có 1 bộ gen PCV3 hoàn chỉnh trên ca bệnh rối loạn sinh sản. Trình tự bộ gen hoàn chỉnh của chủng DTD-PS5338-2/DongNai\_2022 thuộc nhóm PCV3b (hình 2) đã đăng trên Genbank (NCBI) với mã số OR059205. Độ tương đồng trình tự với các trình tự PCV3 tham chiếu dao động từ 97,85% đến 99,35%; và tương đồng 98,85% với chủng khác của Việt Nam (NNH/DN8/2018;

MT847027) đã được báo cáo trước đây.

Theo khảo sát của Phạm Hồng Quân và ctv (2017), PCV3a là kiểu gen phổ biến lưu hành ở đàn heo tại miền Bắc. Tương tự, Trinh và ctv (2020) đã báo cáo kiểu gen PCV3a đang lưu hành ở đàn heo ở miền Trung và miền Nam. Đến năm 2021, bộ gen PCV3 hoàn chỉnh đã được phân tích và được báo cáo đầu tiên về sự hiện diện chủng PCV3b tại Việt Nam (Nguyen và ctv, 2021). Mới đây, Dinh và ctv (2023) đã giải trình tự phân đoạn ORF2 của 29 chủng PCV3, trong đó 23/29 chủng thuộc kiểu gen PCV3b, 5/29 thuộc kiểu gen PCV3a, và lần đầu tiên PCV3c được ghi nhận xuất hiện (1/29). Sự tổng hợp kết quả các báo cáo trên cùng với nghiên cứu của chúng tôi có thể thấy rằng PCV3 có tính đa dạng cao lưu hành trong đàn heo Việt Nam gồm cả chủng PCV3a, PCV3b, và PCV3c; trong đó PCV3b đang là kiểu gen phổ biến nhất.



**Hình 2. Cây sinh dòng dựa trên trình tự bộ gen PCV3 hoàn chỉnh của các chủng thu thập từ nghiên cứu này và các trình tự được tham khảo (GenBank, NCBI). Các chủng từ nghiên cứu này được tô màu đỏ.**

**IV. KẾT LUẬN**

Trong nghiên cứu này, PCV3 được phát hiện chủ yếu trong ca rối loạn sinh sản trên heo nái và tỷ lệ phát hiện PCV2 chủ yếu trong ca bệnh

rối loạn hô hấp trên heo sau cai sữa. Tỷ lệ đồng nhiễm PCV2 và PCV3 ở mức thấp trong khảo sát. PCV2b và PCV2d là kiểu gen được xác định trong đó PCV2d chiếm ưu thế lưu hành ở đàn heo và chủng PCV3 trong ca rối loạn sinh sản thuộc kiểu gen PCV3b. Nghiên cứu cung cấp thông tin khoa học về sự lưu hành và sự liên quan của PCV3 ở các ca rối loạn sinh sản trên heo nái giống.

**Lời cảm ơn:** Đề tài được thực hiện bởi sự tài trợ kinh phí của Bộ Giáo dục và Đào tạo, có mã số B2023 – NLS – 04. Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Bộ Giáo dục và Đào tạo, Trường đại học Nông Lâm TP. HCM đã hỗ trợ thực hiện nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chen, G., Mai, K., Zhou, L., Wu, R., Tang, X., Wu, J., He, L., Lan, T., Xie, Q., Sun, Y., 2017. Detection and genome sequencing of porcine circovirus 3 in neonatal pigs with congenital tremors in South China. *Transboundary and Emerging Diseases* 64, 1650-1654.
- Cheung, Andrew K., 2003. Transcriptional analysis of porcine circovirus type 2. *Virology* 305(1): 168-180.
- Darwich, L., Segales, J., Mateu, E., 2004. Pathogenesis of postweaning multisystemic wasting syndrome caused by porcine circovirus 2: An immune riddle. *Archives of Virology*, 149, 857-874.
- Dinh, P.X., Nguyen, H.N., Lai, D.C., Nguyen, T.T., Nguyen, N.M., Do, D.T., 2023. Genetic diversity in the capsid protein gene of porcine circovirus type 3 in Vietnam from 2018 to 2019. *Archives of Virology*, 168(1):30.
- Dinh, P.X., Nguyen, M.N., Nguyen, H.T., Tran, V.H., Tran, Q.D., Dang, K.H., Vo, D.T., Le, H.T., Nguyen, N.T.T., Nguyen, T.T., 2021. Porcine circovirus genotypes and their copathogens in pigs with respiratory disease in southern provinces of Vietnam. *Archives of Virology*, 166, 403-411.
- Dinh, X.P., Nguyen, T.T.T., Vu, L.X.H., Tran, K.T., 2021. Identification of porcine circovirus type 2 (PCV2), type 3 (PCV3) and porcine parvovirus (PPV) in swine by multiplex PCR test. *The Journal of Agriculture and Development*, 20(3), Article 3.
- Đỗ Tiến Duy, Nguyễn Thế Hiền, Đinh Xuân Phát, Nguyễn Văn Nhã và Nguyễn Tất Toàn, 2019. Quan điểm của phát hiện Porcine Circovirus type 3 và một số mầm bệnh khác trong các ca bệnh hô hấp phức hợp. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, tập XXVI, số 6, 24-33.
- Doan, H.T.T., Do, R.T., Thao, P.T.P., Le, X.T.K., Nguyen, K.T., Hien, N.T.T., Duc, L.M., Pham, L.T.K., Le, T.H., 2022. Molecular genotypic analysis of porcine circovirus type 2 reveals the predominance of PCV2d in Vietnam (2018–2020) and the association between PCV2h, the recombinant forms, and Vietnamese vaccines. *Archives of Virology*, 167, 2011-2026.
- Fenaux, M., Halbur, P.G., Gill, M., Toth, T.E., Meng, X.J., 2000. Genetic characterization of type 2 porcine circovirus (PCV-2) from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome in different geographic regions of North America and development of a differential PCR-restriction fragment length polymorphism assay to detect and differentiate between infections with PCV-1 and PCV-2. *J Clin Microbiol.* 38(7):2494-503.
- Franzo, G., He, W.T., Correa-Fiz, F., Li, G.R., Legnardi, M., Su, S., Segales, J., 2019. A shift in porcine circovirus 3 (PCV-3) history paradigm: Phylodynamic analyses reveal an ancient origin and prolonged undetected circulation in the worldwide swine population. *Advanced Sciences*, 6, 1901001.
- Franzo, G., Segalés, J., 2018. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology. *PLoS One.* 13(12): e0208585.
- Guo, Z., Ruan, H., Qiao, S., Deng, R., Zhang, G., 2020. Co-infection status of porcine circoviruses (PCV2 and PCV3) and porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in pigs with watery diarrhea in Henan province, central China. *Microb Pathog.* 142, 104047.
- Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Nguyễn Văn Giáp, Đặng Hữu Anh, Trần Thị Hương Giang, Mai Thị Ngân, Vũ Thị Ngọc, Lê Văn Trường, Ngô Minh Hà và Bong Kyun Park., 2012. Ứng dụng kỹ thuật nested-PCR phát hiện và định type Porcine circovirus type 2 (PCV2) ở đàn lợn nuôi tại một số tỉnh miền Bắc. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, tập XIX, số 5, 18-25.
- Jiang, H., Wang, D., Wang, J., Zhu, S., She, R., Ren, X., Tian, J., Quan, R., Hou, L., Li, Z., Chu, J., Guo, Y., Xi, Y., Song, H., Yuan, F., Wei, L., Liu, J., 2019. Induction of Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome in Piglets by Infection with Porcine Circovirus Type 3. *J Virol.* 93(4): e02045-18.
- Kedkovid, R., Woonwong, Y., Arunorat, J., Sirisereewan, C., Sangpratum, N., Lumyai, M., Kesdangsakonwut, S., Teankum, K., Jittimane, S., Thanawongnuwech, R., 2018. Porcine circovirus type 3 (PCV3) infection in grower pigs from a Thai farm

- suffering from porcine respiratory disease complex (PRDC). *Vet Microbiol*, 215:71-76.
16. Ku, X., Chen, F., Li, P., Wang, Y., Yu, X., Fan, S., Qian, P., Wu, M., He, Q., 2017. Identification and genetic characterization of porcine circovirus type 3 in China. *Transbound. Emerg. Dis.* 64, 703-708.
  17. Meehan, B.M., Creelan, J.L., McNulty, M.S., Todd, D., 1997. Sequence of porcine circovirus DNA: affinities with plant circoviruses. *J Gen Virol*, 78 (Pt 1):221-7.
  18. Meehan, B.M., McNeilly, F., Todd, D., Kennedy, S., Jewhurst, V.A., Ellis, J.A., Hassard, L.E., Clark, E.G., Haines, D.M., Allan, G.M., 1998. Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *J. Gen. Virol*, 2171-2179.
  19. Mora-Díaz, J., Piñeyro, P., Shen, H., Schwartz, K., Vannucci, F., Li, G., Arruda, B., Giménez-Lirola, L., 2020. Isolation of PCV3 from Perinatal and Reproductive Cases of PCV3-Associated Disease and In Vivo Characterization of PCV3 Replication in CD/CD Growing Pigs. *Viruses*, 12, 219.
  20. Nguyen, N.H., Do T.D., Nguyen, T.Q., Nguyen, T.T., Nguyen, M.N., 2021. Identification and whole-genome characterization of a novel Porcine Circovirus 3 subtype b strain from swine populations in Vietnam. *Virus Genes*. 57(4):385-389.
  21. Nguyen, T. N., Le, H. T. T., Vu, H. L. X., Dinh, P. X., 2023. Differential diagnosis of DNA viruses related to reproductive disorder on sows by multiplex-PCR technique. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1155(1), 012034.
  22. Niu, G., Chen, S., Li, X., Zhang, L., Ren, L., 2022. Advances in Crosstalk between Porcine Circoviruses and Host. *Viruses*. 14, 1419.
  23. Opriessnig, T., Karuppannan, A.K., Castro, A.M.M.G., Xiao, C.T., 2020. Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges. *Virus Res.* 2020 Sep; 286:198044.
  24. Ostanello, F., Caprioli, A., Di Francesco, A., Battilani, M., Sala, G., Sarli, G., Mandrioli, L., McNeilly, F., Allan, G. M., Prosperi, S., 2005. Experimental infection of 3-week-old conventional colostrum-fed pigs with porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus. *Vet Microbiol*. 108(3-4):179-86.
  25. Palinski, R., Piñeyro, P., Shang, P., Yuan, F., Guo, R., Fang, Y., Byers, E., Hause, B.M., 2017. A Novel Porcine Circovirus Distantly Related to Known Circoviruses Is Associated with Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome and Reproductive Failure. *J Virol*. 91(1): e01879-16.
  26. Phạm Hồng Quân, Nguyễn Văn Giáp, Nguyễn Thị Thanh Thúy, Phạm Công Hoạt và Huỳnh Thị Mỹ Lệ., 2017. Nghiên cứu sự lưu hành của loài virus mới (Porcine circovirus 3 - PCV3) ở đàn lợn nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 15(11): 1520-1528.
  27. Phạm Hồng Quân, Phạm Công Hoạt và Huỳnh Thị Mỹ Lệ, 2017. Đặc điểm dịch tễ học phân tử theo không gian và thời gian của Porcine Circovirus Genotype 2D (PCV2D) lưu hành ở Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam* 15(5): 553-564.
  28. Prinz, C., Stillfried, M., Neubert, L.K., Denner, J., 2019. Detection of PCV3 in German wild boars. *Virol J.* 16:25.
  29. Stadejek, T., Wozniak, A., Milek, D., Biernacka, K., 2017. First detection of porcine circovirus type 3 on commercial pig farms in Poland. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64, 1350-1353.
  30. Trinh, G.N.P., Nguyen, T.N., Dinh, P.X., Nguyen, T.T., 2020. The presence and genetic characteristics of porcine circovirus 3 from pigs in Southern and Central provinces of Vietnam. *The Journal of Agriculture and Development*, 19(6), 26-3.
  31. Vargas-Bermudez, D.S., Díaz, A., Mogollón, J.D., Jaime, J., 2018. Longitudinal comparison of the humoral immune response and viral load of Porcine Circovirus Type 2 in pigs with different vaccination schemes under field conditions. *F1000Research*, 7, 42.
  32. Vargas-Bermudez, D.S., Mogollón, J.D., Jaime, J., 2022. The Prevalence and Genetic Diversity of PCV3 and PCV2 in Colombia and PCV4 Survey during 2015-2016 and 2018-2019. *Pathogens*, 11, 633.
  33. Wang, Y., Noll, L., Lu, N., Porter, E., Stoy, C., Zheng, W., Liu, X., Peddireddi, L., Niederwerder, M., Bai, J., 2020. Genetic diversity and prevalence of porcine circovirus type 3 (PCV3) and type 2 (PCV2) in the Midwest of the USA during 2016-2018. *Transbound. Emerg. Dis*, 67, 1284-1294.
  34. Xiao, C.T., Harmon, K.M., Halbur, P.G., Opriessnig, T., 2016. PCV2d-2 is the predominant type of PCV2 DNA in pig samples collected in the US during 2014-2016. *Veterinary Microbiology*, 197, 72-77.
  35. Zhang, H.H., Hu, W.Q., Li, J.Y., Liu, T.N., Zhou, J.Y., Opriessnig, T., Xiao, C.T., 2020. Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as Porcine circovirus 4, Hunan province, China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(3), 1057-1061. <https://doi.org/10.1111/tbed.13446>.

Ngày nhận: 1-8-2023

Ngày phản biện: 3-8-2023

Ngày đăng: 1-1-2024