

## SỰ ĐỒNG NHIỄM CÁC MÀM BỆNH TRONG CÁC CA BỆNH RỐI LOẠN SINH SẢN Ở HEO NÁI

Đỗ Tiến Duy<sup>1\*</sup>, Ngô Thị Ngọc Trâm<sup>1</sup>, Đỗ Thị Thùy Dung<sup>1,2</sup>,  
Đặng Hoàng Kim<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Nam<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Thu Năm<sup>1</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 nhằm xác định sự lưu hành và đồng nhiễm của các mầm bệnh quan trọng ở heo nái có biểu hiện rối loạn sinh sản. Mẫu được thu thập trên heo nái, thai sảy (thai khô, thai chết lưu) và heo con yếu từ 9 trại được khảo sát. Bốn mầm bệnh bao gồm *Mycoplasma suis* (*M. suis*), porcine circovirus type 3 (PCV3), porcine circovirus type 2 (PCV2) và porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) đã được phát hiện ở các ca rối loạn sinh sản với tỷ lệ khác nhau ( $P < 0,01$ ), chủ yếu ở dạng đồng nhiễm. Trong đó, *M. suis* và PCV3 là hai mầm bệnh có tỷ lệ lưu hành cao nhất lần lượt là 100% và 55,56% theo trại; và 85,65% và 39,35% theo cá thể heo nái khảo sát. *M. suis* và PCV3 hiện diện ở cả máu heo nái, thai sảy và heo con yếu, trong đó phổ biến nhất ở heo con yếu và thai chết lưu. Tương tự, đồng nhiễm *M. suis* và PCV3 được phát hiện ở mô của heo con yếu chiếm tỷ lệ cao nhất (64,0%), tiếp theo là máu heo nái (32,09%), thai chết lưu (19,35%) và cuối cùng là thai khô (15,38%);  $P < 0,001$ . Các mầm bệnh virus gây rối loạn sinh sản khác như ASFV, CSFV, PPV và PRV không phát hiện thấy trong nghiên cứu này. Nghiên cứu đã xác định được các mầm bệnh hiện diện ở các ca rối loạn sinh sản trên heo nái.

*Từ khóa:* Đồng nhiễm, mầm bệnh quan trọng, rối loạn sinh sản, heo.

### Co-infection of important pathogens in reproductive disorders cases in sow farms

Do Tien Duy, Ngo Thi Ngoc Tram, Do Thi Thuy Dung,  
Dang Hoang Kim, Nguyen Minh Nam, Nguyen Thi Thu Nam, Nguyen Tat Toan

### SUMMARY

The objective of this study was to determine the co-infection of the important pathogens in reproductive disorder cases in the sow farms. The samples were collected from the sows, fetuses (mummified, stillborn) and the weak-born piglets from 9 farms. Four pathogens, such as: *Mycoplasma suis* (*M. suis*), porcine circovirus type 3 (PCV3), porcine circovirus type 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) were detected in the reproductive disorder cases ( $P < 0.01$ ), mainly in the co-infection. Among them, *M. suis* and PCV3 were the two pathogens detected in sows with the highest infection rates of 100% and 55.56% by farms, 85.65% and 39.35% by samples, respectively. *M. suis* and PCV3 were present in the blood of sows, fetuses (mummified, stillborn) and weak-born piglets, of which the most common were in the weak-born piglets and stillborn. Similarly, co-infection of *M. suis* and PCV3 was detected in the tissues of weak-born piglets with the highest proportion (64.0%), followed by the blood of sows (32.09%), stillborn (19.35%) and mummified (15.38%),  $P < 0.001$ . Other reproductive disorder viral pathogens, such as: ASFV, CSFV, PPV, and PRV were not found in this study. This study identified the important pathogens presenting in the reproductive disorder cases of in the sow farms.

*Keywords:* Co-infection, important pathogens, reproductive disorders, pigs.

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

<sup>2</sup> Công ty NAVETCO

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

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn sinh sản (RLSS) ở heo nái là một yếu tố quan trọng làm tăng chi phí chăn nuôi, đặc biệt là ở những khu vực chăn nuôi tập trung cùng với các trại heo lớn mật độ cao. Cùng với sự phát triển quy mô lớn và chuyên sâu của chăn nuôi heo hiện đại, tình trạng nhiễm ghép nhiều mầm bệnh ngày càng trở nên phổ biến trong chăn nuôi heo (Cao và ctv, 2005; Arce và ctv, 2009). Hội chứng RLSS có thể do nguyên nhân truyền nhiễm và không truyền nhiễm, làm ảnh hưởng trực tiếp không chỉ đến năng suất trên heo nái mà còn đến các chỉ tiêu chất lượng heo con giống và sức khỏe của heo con đến xuất thịt. RLSS ở đàn heo ảnh hưởng đáng kể đến lợi nhuận chăn nuôi, do đó giảm thiểu tác động mà chúng gây ra là việc quan trọng (Martinez và ctv, 2008; de Jong và ctv, 2013; Knox và ctv, 2014). RLSS biểu hiện theo nhiều lâm sàng khác nhau bao gồm giảm tỷ lệ thụ thai, số heo sơ sinh thấp, thai khô, thai lưu, sảy thai, đẻ non, heo con sinh ra yếu,... Trong các bệnh do virus gây ra, PRRSV, CSFV, PCV2, PRV, PPV và virus viêm não Nhật Bản (JEV) là những mầm bệnh chính gây rối loạn sinh sản ở heo và gây thiệt hại kinh tế lớn cho ngành chăn nuôi heo (Chamberlain và ctv, 1988; Zeng và ctv, 2014). Trong đó, năm loại virus (PRV, PPV, PCV2, PRRSV và CSFV) có thể gây tổn thương hệ thống miễn dịch của heo ở các mức độ khác nhau và làm giảm khả năng miễn dịch (Chen và ctv, 2010), khiến heo nhiễm dễ cảm nhiễm thứ cấp với các mầm bệnh khác. Ngoài ra, một số mầm bệnh virus mới được ghi nhận ở các ca bệnh rối loạn sinh sản bất thường tại các nước chăn nuôi heo phát triển như PCV3, Atypical porcine pestivirus (APPV) (Chen và ctv, 2017) và Encephalomyocarditis virus (EMCV) (Phan và ctv, 2016).

Theo các công bố khoa học gần đây, PCV3 được cho là liên quan đến hội chứng RLSS trên heo (Chen và ctv, 2017; Faccini và ctv, 2017). PCV3 đã được tìm thấy trong các cơ quan sinh sản như buồng trứng, ống dẫn trứng, sừng tử cung và hạch bạch huyết ở buồng trứng của heo nái sảy thai trong giai đoạn đầu của thai kỳ (Sirisereewan và ctv, 2022). Đáng chú ý, các báo cáo trong nước ghi nhận sự

hiện diện của PCV3 trên heo nái, thai khô, thai sảy trong các ca bệnh RLSS, heo sau cai sữa và tỷ lệ nhiễm PCV3 có xu hướng gia tăng trong đàn heo (Trinh và ctv, 2020). Các trường hợp đồng nhiễm PCV3 và nhiều mầm bệnh ở heo đã được báo cáo phổ biến trên thực địa. Nghiên cứu gần đây báo cáo rằng đồng nhiễm PCV3 và các mầm bệnh khác như PCV2, PRRSV, PPV, PEDV và CSFV ảnh hưởng về mặt kinh tế (Kroeger và ctv, 2022). *Mycoplasma suis* (*M. suis*) được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1932 tại Mỹ (Doyle và ctv, 1932), và sự hiện diện *M. suis* được ghi nhận trên hầu hết các quốc gia trên thế giới (Thongmeese và ctv, 2022). *M. suis*, trước đây gọi là *Eperythrozoon suis* là loại vi khuẩn gây bệnh thiếu máu truyền nhiễm ở heo (Hoelzle và ctv, 2014). Hậu quả của việc nhiễm *M. suis* có thể rất đáng kể, đặc biệt đối với đàn heo giống trong giai đoạn đẻ (Biondo và ctv, 2009; Strait và ctv, 2012; Hoelzle và ctv, 2014; Stadler và ctv, 2014; Stadler và ctv, 2019). Tuy nhiên, ở Việt Nam hiện nay nhiều trại mắc RLSS bất thường nhưng nguyên nhân chưa được khảo sát đầy đủ. Chính vì thế, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định sự lưu hành của các mầm bệnh quan trọng trên heo nái sinh sản có biểu hiện RLSS.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Thu thập và xử lý mẫu

Tổng số 216 mẫu được thu thập từ 9 trại khảo sát có dấu hiệu lâm sàng RLSS. Các trang trại được đưa vào nghiên cứu này khi có xuất hiện các ca bệnh lâm sàng RLSS dựa theo biểu hiện sảy thai, thai khô, thai chết lưu, heo con sơ sinh yếu và nái viêm da. Các dấu hiệu lâm sàng được ghi nhận theo số nái có biểu hiện lâm sàng trên tổng đàn nái sinh sản hiện diện trong trại. Heo nái ở các trại khảo sát đã được tiêm vacxin phòng bệnh PRRSV, CSFV, PPV, PRV, FMDV, PCV2. Mẫu máu kháng đông được lấy trên heo nái, và mẫu mô các cơ quan nội tạng của thai khô, thai chết lưu và heo con yếu (nếu có) bao gồm: phổi, tim, gan, lách, thận, hạch. Toàn bộ mẫu thu thập được bảo quản lạnh và vận chuyển về Phòng thí nghiệm nghiên cứu của Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường đại học Nông Lâm TP. HCM để thực hiện các xét nghiệm.

## 2.2. Tách chiết DNA/RNA

Mẫu mô được nghiền nát và xử lý với dung dịch PBS 1X, thu được huyền dịch 10%, ly tâm huyền dịch thu phần dịch nổi. Mẫu máu kháng đông sử dụng trực tiếp để tách chiết DNA/RNA. Quy trình tách chiết DNA/RNA được thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit thương mại (GeneJET Genomic DNA/RNA Purification của Thermo Scientific, Lithuania). Sản phẩm RNA sau khi tách chiết sẽ chuyển sang cDNA theo quy trình bộ kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis (Thermo Scientific, Lithuania) cho các phản ứng RT-PCR.

## 2.3. Các kỹ thuật PCR/RT-PCR

Các kỹ thuật chẩn đoán sinh học phân tử PCR/RT-PCR được sử dụng trong nghiên

cứu này. Phương pháp realtime-PCR dựa trên p72 được sử dụng để phát hiện ASFV và phương pháp PCR dùng để xác định PCV2, PCV3, PRV, PPV và *M. suis*. Đối với PRRSV và CSFV sử dụng kỹ thuật RT-PCR. Các cặp mồi đặc hiệu, thành phần phản ứng và chu trình luân nhiệt được tham khảo dựa trên các nghiên cứu trước đây (bảng 1).

Sản phẩm PCR (3 ml) được trộn với thuốc nhuộm DNA Gel-Red DNA stain (Merck, Đức) và sau đó được phân tích bằng điện di trong gel agarose 1,5% trong dung dịch đệm Tris-borate-EDTA (TBE) 1X. Thang DNA 100bp (HyperLadder™ 100bp, Meridian, Boline, Anh) được sử dụng làm chất đánh dấu trọng lượng phân tử để ước tính kích thước của các sản phẩm PCR.

**Bảng 1. Thông tin các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu**

| Tên mồi        | Trình tự nucleotide (5'-3')                | Kích thước sản phẩm (bp) | Nguồn                 |
|----------------|--|--------------------------|-----------------------|
| ASFV           | F: CTGCTCATGGTATCAATCTTATCG-A              | 250                      | King và ctv (2003)    |
|                | R: GATACCACAAGATC(AG)GCCGT                 |                          |                       |
|                | FAM: 5'-CCACGGGAGGAATACCAACCCAGTG-3'-TAMRA |                          |                       |
| PRRSV          | ORF5-F: GGCAATGTGTCAGGCA TC                | 826                      | Do và ctv (2016)      |
|                | ORF5-R: CTGGAGCCGTGCTATCAT                 |                          |                       |
| CSFV           | F: AGRCCAGACTGGTGGCCNTAYGA                 | 671                      | Lowings và ctv (1996) |
|                | R: TTY ACC ACT TCT GTT CTC A               |                          |                       |
| PCV2           | F: ATGACGTATCCAAGGAGGCG                    | 702                      | Dinh và ctv (2021)    |
|                | R: TTAAGGGTTAAGTGGGGGGTC                   |                          |                       |
| PRV            | F: GGGGTTGGACAGGAAGGACACCA                 | 198                      | Xu và ctv (2012)      |
|                | R: AACCAGCTGCACGCGCTCAA                    |                          |                       |
| PPV            | F: AGTTAGAATAGGATGCGAGGAA                  | 265                      |                       |
|                | R: AGAGTCTGTTGGTGTATTTATTGG                |                          |                       |
| PCV3           | F: TTC CGG GAC ATAAAT GCT                  | 267                      | Chen và ctv (2017)    |
|                | R: GGG CAC ACA GCC ATA GAT                 |                          |                       |
| <i>M. suis</i> | F: GCATTGCCAGTCCCCAAGGA                    | 782                      | Hoelzle và ctv (2003) |
|                | R: TGCGGGGAGTACGTGGGAAGG                   |                          |                       |

## 2.4. Xử lý số liệu

Các kết quả tỷ lệ nhiễm mầm bệnh được

tính ở dạng phần trăm (%), so sánh Chi-Square ( $\chi^2$ ) trên phần mềm thống kê Minitab 17.

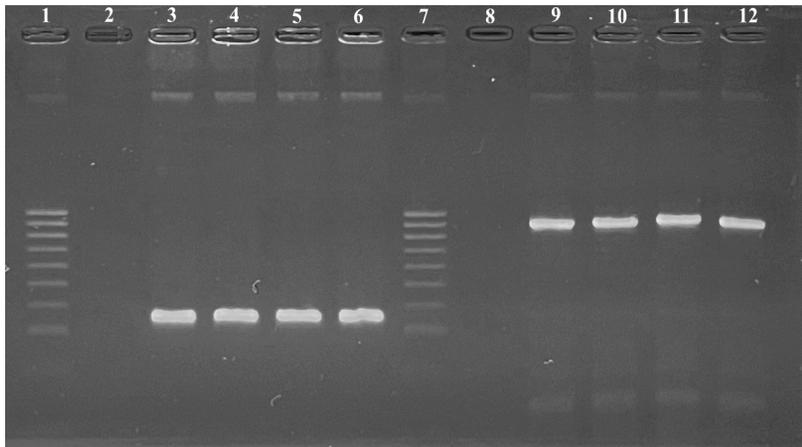
### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Tỷ lệ nhiễm chung các mầm bệnh trong khảo sát

Tổng số 9 trại heo sinh sản mắc RLSS được khảo sát, tỷ lệ biểu hiện lâm sàng khác nhau được mô tả ở bảng 2.

**Bảng 2. Tỷ lệ (%) dấu hiệu lâm sàng xuất hiện ở trại mắc RLSS**

| Trại        | Tổng đàn (Nái) | % dấu hiệu lâm sàng ở trại RLSS |             |              |             | Kết quả xét nghiệm (RT-PCR/PCR) |            |            |            |
|-------------|----------------|---------------------------------|-------------|--------------|-------------|---------------------------------|------------|------------|------------|
|             |                | Sảy thai                        | Thai khô    | Chết lưu     | Nái viêm da | <i>M. suis</i>                  | PCV3       | PCV2       | PRRSV      |
| A           | 2.400          | 2,00                            | 5,00        | 10,0         | 0,00        | +                               | +          | -          | -          |
| B           | 2.339          | 0,00                            | 8,00        | 17,0         | 0,00        | +                               | -          | -          | -          |
| C           | 230            | 0,00                            | 0,80        | 1,50         | 0,00        | +                               | +          | -          | -          |
| D           | 2.400          | 0,00                            | 3,13        | 6,81         | 0,00        | +                               | -          | -          | +          |
| E           | 2.400          | 0,00                            | 8,29        | 17,50        | 22          | +                               | +          | +          | -          |
| F           | 596            | 0,00                            | 2,54        | 5,04         | 0,00        | +                               | -          | -          | +          |
| G           | 4.234          | 1,70                            | 2,60        | 4,30         | 0,00        | +                               | +          | +          | -          |
| H           | 1.350          | 0,00                            | 5,40        | 9,50         | 0,00        | +                               | -          | -          | +          |
| I           | 2.269          | 0,00                            | 26,57       | 22,31        | 0,00        | +                               | +          | -          | -          |
| <b>Tổng</b> | <b>18.218</b>  | <b>0,41</b>                     | <b>6,50</b> | <b>13,50</b> | <b>2,44</b> | <b>9/9</b>                      | <b>5/9</b> | <b>2/9</b> | <b>3/9</b> |



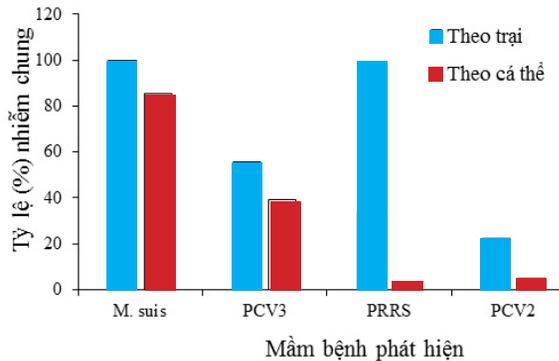
**Hình 1. Hình ảnh sản phẩm PCR dương tính PCV3 có kích thước 267bp và sản phẩm PCR dương tính *M. suis* có kích thước ~782bp**

Giếng 1, 7: Thang chuẩn 100bp; giếng 2, 8: đối chứng âm lần lượt của PCV3 và *M. suis*; giếng 6, 12: đối chứng dương lần lượt của PCV3 và *M. suis*; giếng 3-5, 9-11: các mẫu xét nghiệm.

Kết quả xét nghiệm mầm bệnh cho thấy tất cả các trại RLSS đều dương tính *M. suis*. Trong đó, 1 trại phát hiện duy nhất *M. suis*, và các trại còn lại nhiễm ghép với các mầm bệnh khác như PCV3, PCV2 và PRRSV.

*M. suis* có tỷ lệ trại nhiễm cao nhất 100% (9/9), tiếp đến là PCV3 với 5/9 trại (55,56%), và theo sau là PRRSV và PCV2 với tỷ lệ lần lượt 33,33% (3/9) và 22,22% (2/9). Không phát hiện sự hiện diện ASFV,

PPV, PRV và CSFV. Tỷ lệ nhiễm theo cá thể cao nhất với *M. suis* với 85,65% (185/216), kể đến là PCV3 là 39,35% (85/216) và PCV2 là 5,09% (11/216). PRRS chiếm tỷ lệ nhiễm thấp 3,24% (7/216). Sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm của các mầm bệnh theo trại và theo cá thể có ý nghĩa thống kê tương ứng với  $P < 0,01$  và  $P < 0,001$  (hình 2).



**Hình 2. Tỷ lệ (%) nhiễm chung các mầm bệnh RLSS theo trại và theo cá thể**

Dữ liệu về sự lưu hành của *M. suis* rất ít và sự lưu hành *M. suis* có thể chưa được quan tâm đầy đủ hiện nay. Tỷ lệ nhiễm *M. suis* tần suất cao ở các trại RLSS là điều đáng lưu ý trong khảo sát này. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu gần đây, tỷ lệ dương tính *M. suis* trên mẫu máu nai dao động từ 5-95% và được phát hiện trên tất cả 10 trại khảo sát (Brissonnier và ctv, 2020). Một nghiên cứu khác của Stalder và ctv (2019) cho thấy ở mức độ trại có đến 76,2% trại có ít nhất một mẫu

nai nhiễm *M. suis* và 40,7% trại nhiễm tại một khảo sát ở Brazil (Bordin và ctv, 2021). Trong nghiên cứu này, kết quả tìm thấy sự hiện diện PCV3 với tỷ lệ khá cao (39,35%) và cao hơn tỷ lệ phát hiện PCV2 và PRRSV. Mặc dù chưa thể chứng minh PCV3 là căn nguyên gây rối loạn sinh sản ở các trại heo có sự hiện diện của chúng, bởi vì ngoài chúng còn có một tỷ lệ đáng kể mầm bệnh khác có thể gây ra rối loạn sinh sản (Stadler và ctv, 2019; Brissonnier và ctv, 2020; Bordin và ctv, 2021). Kết quả trong các nghiên cứu hiện tại cung cấp thêm dữ liệu khoa học về khả năng của PCV3 gây ra các vấn đề về sinh sản, như được đề xuất ở nghiên cứu khác (Arruda và ctv, 2019; Mora-Díaz và ctv, 2020; Temeeyasen và ctv, 2021). Việc không phát hiện CSFV, PPV, PRV trong nghiên cứu này có thể được giải thích bằng việc sử dụng rộng rãi vaccin có hiệu quả phòng bệnh.

**3.2. Tỷ lệ nhiễm đơn và đồng nhiễm theo lâm sàng các mầm bệnh**

Ở mức độ trại, 8/9 trại có sự nhiễm ghép *M. suis* với các mầm bệnh khác. PCV3 và PRRS hiện diện đồng thời với *M. suis* lần lượt 3/9 (33,33%) và 3/9 (33,33%) theo trại. Trong khảo sát này, nhiễm ghép 3 mầm bệnh PCV3, PCV2 và *M. suis* được phát hiện 2/9 (22,22%) trại. Tỷ lệ nhiễm đơn mầm bệnh theo cá thể với 99/216 (45,83%) dương tính *M. suis*, kể đến là PCV3 12/216 (5,56%) và không có sự hiện diện đơn lẻ mầm bệnh nào khác (bảng 3).

**Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm đơn và đồng nhiễm các mầm bệnh theo trại và theo cá thể**

| Mầm bệnh                     | Trại (N=9) |           | Cá thể (N=216) |           |
|------------------------------|------------|-----------|----------------|-----------|
|                              | Mẫu dương  | Tỷ lệ (%) | Mẫu dương      | Tỷ lệ (%) |
| <i>M. suis</i>               | 1          | 11,11     | 99             | 45,83     |
| PCV3                         | 0          | 0,00      | 12             | 5,56      |
| PCV3 + <i>M. suis</i>        | 3          | 33,33     | 69             | 31,94     |
| <i>M. suis</i> + PRRSV       | 3          | 33,33     | 7              | 3,24      |
| <i>M. suis</i> + PCV2        | 0          | 0,00      | 7              | 3,24      |
| PCV2 + PCV3                  | 0          | 0,00      | 1              | 0,46      |
| <i>M. suis</i> + PCV3 + PCV2 | 2          | 22,22     | 3              | 1,39      |

Trại nhiễm 2 mầm bệnh có tỷ lệ cao nhất (33,33%; 3/9) và trong đó tỷ lệ nhiễm ghép PCV3 và *M. suis* theo cá thể là 31,94% (69/216) (bảng 3), kể đến là đồng nhiễm *M. suis* và PCV2 và *M. suis* với PRRSV tỷ lệ không đáng kể (<5%). Hai trại trong khảo sát nhiễm đồng thời 3 mầm bệnh (PCV3 + PCV2 + *M. suis*), có tỷ lệ nhiễm 1,39% (3/216) theo cá thể.

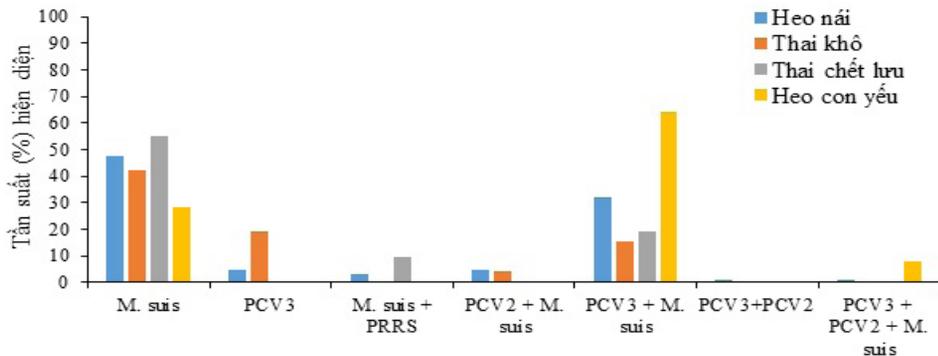
Sự đồng nhiễm PCV3 với các mầm bệnh virus khác ở heo đã được báo cáo (Phan và ctv, 2016; Palinski và ctv, 2017; Zhai và ctv, 2017; Ku và ctv, 2017; Chen và ctv, 2017; Fu và ctv, 2018; Wen và ctv, 2018; Zheng và ctv, 2018). Tỷ lệ đồng nhiễm PCV3 và PCV2 dao động từ 1,9% đến 78,3% (Saporiti và ctv, 2021). Tỷ lệ đồng nhiễm PRRSV và PCV3 dao động từ 0,67% đến 61,54% (Kim và ctv, 2018; Chen và ctv, 2019; Sukmak và ctv, 2019; Zheng và ctv, 2020). Tuy nhiên, ở nghiên cứu chúng tôi chỉ tìm thấy sự nhiễm ghép cao (31,94%) PCV3 và *M. suis*. Kết quả nghiên cứu này cho thấy sự kết hợp PCV3 và *M. suis* có vai trò nguyên nhân chính gây ra các ca rối loạn sinh sản như hiện nay. Những kết quả này góp phần mở rộng các nghiên cứu chuyên sâu bệnh học để đánh giá vai trò gây bệnh thực sự của 2 mầm bệnh này ở Việt Nam.

### 3.3. Tỷ lệ nhiễm các mầm bệnh theo đối tượng và loại mẫu thu thập

Trong các mầm bệnh PRRSV, PCV3, PCV2 và *M. suis* nhiễm tại các trại khảo sát, tần suất dương tính mầm bệnh theo đối tượng mẫu gồm máu nái, thai khô, thai chết lưu, và mô heo con yếu cũng được xác định. Tỷ lệ nhiễm đơn *M. suis* trên mẫu mô heo con yếu, thai chết lưu, thai khô và máu nái lần lượt là 54,84%; 47,76%; 42,31% và 28% ( $P > 0,05$ ). PCV3 cũng được phát hiện ở mẫu thai khô 19,23% kể đến là máu heo nái (hình 3). Tần suất nhiễm PCV3 và *M. suis* chiếm tỷ lệ cao 64% (16/25) trên mẫu mô heo con yếu so với mẫu máu heo nái 32,09% (43/134), thai chết lưu 19,35% (6/31) và sau cùng là thai khô 4/26 (15,38%) ( $P < 0,001$ ). Ngoài ra, tần suất nhiễm *M. suis* với PRRS hoặc *M. suis* với PCV2 cũng được tìm thấy nhưng với tỷ lệ thấp lần lượt là

2,99% (4/134) và 4,48% (6/134) trên mẫu máu heo nái. Tần suất nhiễm thấp (9,68%) giữa *M. suis* và PRRS ở trong mô thai chết lưu. Sự hiện diện cả ba mầm bệnh (PCV3, PCV2 và *M. suis*) chiếm tỷ lệ khá thấp với 8% (2/25) ở heo con yếu, 0,75% (1/134) ở heo nái. Sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm đơn và đồng nhiễm các mầm bệnh trên các loại mẫu khác nhau có sự rất khác biệt tương ứng với  $P < 0,01$  và  $P < 0,001$ .

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh sự hiện diện PCV3, PCV2, PRRS và *M. suis* trên heo các lứa tuổi (Duinhof và ctv, 2011; Stadler và ctv, 2019; Wang và ctv, 2020; Bordin và ctv, 2021; Yang và ctv, 2022). Trong nghiên cứu này, chúng tôi tìm thấy sự hiện diện các mầm bệnh trên các loại mẫu ở các đối tượng khác nhau (nái, thai sảy, thai khô, chết lưu, heo con yếu) trong trại có lâm sàng RLSS. Mô heo con yếu, các loại thai sảy (thai chết lưu, thai khô) và máu nái đều phát hiện PCV3 và *M. suis*. Stadler và ctv (2019) cũng báo cáo rằng các trang trại dương tính với *M. suis* có tỷ lệ thai chết lưu trên mỗi ổ đẻ nhiều hơn đáng kể so với các trại âm tính. Tương tự, Brissonnier và ctv (2020) đã quan sát thấy sự gia tăng tỷ lệ thai chết lưu ở heo nái hậu bị dương tính với *M. suis*. Tuy nhiên, sự xuất hiện của thai khô, thai chết lưu và heo con sinh ra yếu ở các trang trại dương tính với *M. suis* cần được giải thích một cách thận trọng khi các yếu tố lây nhiễm cũng xuất hiện trong nghiên cứu này. Kết quả cho thấy rằng sự nhiễm đơn hoặc nhiễm ghép PCV3 và *M. suis* có liên quan đến rối loạn sinh sản ở các trại heo ở Việt Nam. Ngoài ra, nhiễm đơn và nhiễm ghép giữa các mầm bệnh quan trọng như PRRSV, PCV2 với tỷ lệ khá thấp (<10%) và không có trường hợp nhiễm ASFV, CSFV, PPV và PRV. *M. suis* được phát hiện ở tất cả các trang trại và nhiễm ghép PCV3 với tỷ lệ cao trên mẫu máu nái và mô thai nhưng vai trò gây rối loạn sinh sản khi nhiễm ghép PCV3 và *M. suis* cho đến nay chưa có khảo sát nào đề cập đến. Thêm vào đó, hiện nay chưa có vacxin phòng bệnh cho hai mầm bệnh này.



Nhiễm đơn và đồng nhiễm các mầm bệnh

**Hình 3. Tỷ lệ nhiễm đơn và đồng nhiễm các mầm bệnh theo các đối tượng ở các ca rối loạn sinh sản**

#### IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định tỷ lệ các mầm bệnh hiện diện ở các ca RLSS trên heo giống theo thứ tự giảm dần ở mức độ trại và mẫu gồm *M. suis* (100% và 85,65%), PCV3 (55,56% và 39,35%), PRRSV (33,33% và 3,24%) và PCV2 (22,22% và 5,09%). Sự lưu hành của các mầm bệnh chủ yếu ở dạng đồng nhiễm, với tổ hợp nhiễm ghép giữa PCV3 + *M. suis* chiếm tỷ lệ cao nhất (31,94%). Các mầm bệnh chủ yếu được phát hiện tại mô của heo con yếu, tiếp theo là máu heo nái, thai chết lưu và cuối cùng là thai khô.

**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, Khoa Chăn nuôi Thú y và các hệ thống trang trại chăn nuôi heo đã hỗ trợ thực hiện nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Arce, H.D.D., Pérez, L.J., Frías, M.T., Rosell, R., Tarradas, J., Núñez, J.I., Ganges, L., 2009. A multiplex RT-PCR assay for the rapid and differential diagnosis of classical swine fever and other pestivirus infections. *Vet. Microbiol.* 139, 245–252.
- Arruda, B., Piñeyro, P., Derscheid, R., Hause, B., Byers, E., Dion, K., Long, D., Sievers, C., Tangen, J., Williams, T., Schwartz, K., 2019. PCV3-associated disease in the United States swine herd. *Emerg Microbes Infect.* 8(1):684-698. doi: 10.1080/22221751.2019.1613176.
- Biondo, A. W., Dos Santos, A. P., Guimarães, A. M. S., Vieira, R. F d C., Vidotto, O., Macieira, D d B., Almosny, N. R. P., Molento, M. B., Timenetsky, J., de Moraes H. A., González, F. H. D., Messick, J. B., 2009. A review of the occurrence of hemoplasmas (hemotrophic mycoplasmas) in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet Braz J Vet.*18:1–7
- Bordin, L. C., Gava, D., Sonalio, K., Mechler-Dreibi, M. L., Zanella, J. R. C., Morés, N., de Oliveira, L. G., Vaz, E. K., 2021. Investigation of hemotropic Mycoplasmas in fetuses and sows with reproductive failure. *Vet Anim Sci.* 12:100175. doi: 10.1016/j.vas.2021.100175.
- Brissonnier, M., Normand, V., Leuret, A., Moalic, P. Y., Guyomard, A. S., Bachy, V., Berton, P., Auvigne, V., Bouchet, F., Boulbria, G., 2020. Frequency of infection with *Mycoplasma suis* in gestating sows using qPCR on ten commercial French herds, and impact of the infection on clinical, haematological and biochemical parameters. *Porcine Health Manag.* 6:13. doi: 10.1186/s40813-020-00152-4.
- Cao, S., Chen, H., Zhao, J., Lü, J., Xiao, S., Jin, M., Guo, A., Wu, B., He, Q., 2005. Detection of porcine circovirus type 2, porcine parvovirus and porcine pseudorabies virus from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome by multiplex PCR. *Vet Res Commun.* 29, 263–269.
- 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.
- Chen, H. Y., Wei, Z. Y., Zhang, H. Y., Lv, X. L., Zheng, L. L., Cui, B. A., Liu, J. P., Zhu, Q. L., Wang, Z. X., 2010. Use of a multiplex RT-PCR assay for simultaneous detection of the North American

- genotype porcine reproductive and respiratory syndrome virus, swine influenza virus and Japanese encephalitis virus. *Sci Agric Sin.* 9, 1050–1057.
9. Chen, N., Li, S., Ye, M., Huang, Y., Huang, Y., Xiao, Y., Yu, X., Dong, J., Tian, K., Zhu, J., 2019b. A novel NADC30-like porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) plays a limited role in the pathogenicity of porcine circoviruses (PCV2 and PCV3) and PRRSV co-infection. *Transbound Emerg Dis.* 66 (1), 28–34
  10. de Jong, E., Laanen, M., Dewulf, J., Jourquin, J., de Kruif, A., Maes, D., 2013. Management factors associated with sow reproductive performance after weaning. *Reprod Domest Anim.* 48(3):435-40. doi: 10.1111/rda.12093.s
  11. Doyle, L. P., 1932. A rickettsia-like or Anaplasmosis-like disease in swine. *J Am Vet Med Assoc.* 81:668–71.
  12. 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.
  13. Do, D. T., Park, C., Choi, K., Jeong, J., Nguyen, T. T., Le, D. T., Vo, K. M., Chae, C., 2016. Nucleotide sequence analysis of Vietnamese highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus from 2013 to 2014 based on the NSP2 and ORF5 coding regions. *Arch Virol.* 161(3):669-75. doi: 10.1007/s00705-015-2699-1.
  14. Duinhof, T. F., van Schaik, G., van Esch, E. J., Wellenberg, G. J., 2011. Detection of PRRSV circulation in herds without clinical signs of PRRS: comparison of five age groups to assess the preferred age group and sample size. *Vet Microbiol.* 150(1-2):180-4.
  15. Faccini, S., Barbieri, I., Gilioli, A., Sala, G., Gibelli, L. R., Moreno, A., Sacchi, C., Rosignoli, C., Franzini G., Nigrelli, A., 2017. Detection and genetic characterization of Porcine circovirus type 3 in Italy. *Transbound Emerg Dis.* 64:1661–1664.
  16. Fu, X., Fang, B., Ma, J., Liu, Y., Bu, D., Zhou, P., Wang, H., Jia, K., Zhang, G., 2018. Insights into the epidemic characteristics and evolutionary history of the novel porcine circovirus type 3 in southern China. *Transbound Emerg Dis.* 65: e296–303,
  17. Hoelzle, L. E., Adelt, D., Hoelzle, K., Heinritz, K., Wittenbrink, M. M., 2003. Development of a diagnostic PCR assay based on novel DNA sequences for the detection of *Mycoplasma suis* (Eperythrozoon suis) in porcine blood. *Vet Microbiol.* 93(3):185-96, doi: 10.1016/s0378-1135(03)00040-3.
  18. Hoelzle, L. E., Zeder, M., Felder, K. M., Hoelzle, K., 2014. Pathobiology of *mycoplasma suis*. *Vet J.* 202(1):20–5.
  19. Kim, S. C., Nazki, S., Kwon, S., Juhng, J. H., Mun, K. H., Jeon, D. Y., Jeong, C. G., Khatun, A., Kang, S. J., Kim, W. I., 2018b. The prevalence and genetic characteristics of porcine circovirus type 2 and 3 in Korea. *BMC Vet Res.* 14 (1), 294.
  20. King, D. P., Reid, S. M., Hutchings, G. H., Grierson, S. S., Wilkinson, P. J., Dixon, L. K., Bastos, A. D., Drew, T. W., 2003. Development of a TaqMan PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *J Virol Methods.* 107(1):53-61. doi: 10.1016/s0166-0934(02)00189-1.
  21. Knox, R. V., 2014. Impact of swine reproductive technologies on pig and global food production. *Adv Exp Med Biol.* 752:131-60. doi: 10.1007/978-1-4614-8887-3\_7.
  22. Kroeger, M., Temeeyasen, G., Piñeyro, P. E., 2022. Five years of porcine circovirus 3: What have we learned about the clinical disease, immune pathogenesis, and diagnosis. *Virus Res.* 314:198764. doi: 10.1016/j.virusres.2022.198764.
  23. 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.
  24. Lowings, P., Iyata, G., Needham, J., Paton, D., 1996. Classical swine fever virus diversity and evolution. *J Gen Virol.* 77 ( Pt 6):1311-21. doi: 10.1099/0022-1317-77-6-1311.
  25. Martinez, T. A., Nevel, A., Twomey, D. F., McGowan, M. R., 2008. Poor reproductive performance in pigs—a case series study. *Pig Journal,* 61.
  26. 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(2):219. doi: 10.3390/v12020219.
  27. 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.
  28. Phan, T. G., Giannitti, F., Rossow, S., Marthaler, D., Knutson, T. P., Li, L., Deng, X., Resende, T., Vannucci, F., Delwart, E., 2016. Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation. *Virol J.* 13:184, 7.

29. Saporiti, V., Valls, L., Maldonado, J., Perez, M., Correa-Fiz, F., Segalés, J., Sibila, M., 2021. Porcine Circovirus 3 Detection in Aborted Fetuses and Stillborn Piglets from Swine Reproductive Failure Cases. *Viruses*. 13(2):264. doi: 10.3390/v13020264.
30. Sirisereewan, C., Thanawongnuwech, R., Kedkovid, R., 2022. Current Understanding of the Pathogenesis of Porcine Circovirus 3. *Pathogens*.11(1):64. doi: 10.3390/pathogens11010064.
31. Stadler, J., Willi, S., Ritzmann, M., Eddicks, M., Ade, J., Hoelzle, K., Hoelzle, L. E., 2019. Detection of *Mycoplasma suis* in pre-suckling piglets indicates a vertical transmission. *BMC Vet Res*. 15(1):252. doi: 10.1186/s12917-019-2001-y.
32. Stadler, J., Jannasch, C., Mack, S. L., Dietz, S., Zöls, S., Ritzmann, M., Hoelzle, K., Hoelzle, L. E., 2014a. Clinical and haematological characterisation of *Mycoplasma suis* infections in splenectomised and non-splenectomised pigs. *Vet Microbiol*. 172:294–300. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.05.012>.
33. Strait, E. L., Hawkins, P. A., Wilson, W. D., 2012. Dysgalactia associated with *Mycoplasma suis* infection in a sow herd. *J Am Vet Med Assoc*. 241:1666–7. <https://doi.org/10.2460/javma.241.12.1666>.
34. Sukmak, M., Thanantong, N., Poolperm, P., Boonsoongnern, A., Ratanavanichrojn, N., Jirawattanapong, P., Woonwong, Y., Soda, N., Kaminonsakul, T., Phuttapatimok, S., Wajjwalku, W., 2019. The retrospective identification and molecular epidemiology of porcine circovirus type 3 (PCV3) in swine in Thailand from 2006 to 2017. *Transbound Emerg Dis*. 66 (1), 611–616.
35. Temeeyasen, G., Lierman, S., Arruda, B. L., Main, R., Vannucci, F., Gimenez-Lirola, L. G., Piñeyro, P. E., 2021. Pathogenicity and immune response against porcine circovirus type 3 infection in caesarean-derived, colostrum-deprived pigs. *J Gen Virol*. 102(1). doi: 10.1099/jgv.0.001502.
36. Thongmeesee, K., Kamkong, P., Thanee, S., Wattanapansak, S., Kaewthamasorn, M., Tiawsirisup, S., 2022. Molecular detection and genetic analysis of porcine haemoplasmas in commercial pig farms from Thailand reveal a putative novel species. *Transbound Emerg Dis*. 69(5):e2028-e2040. doi: 10.1111/tbed.14537.
37. 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.
38. Truyen, U., Streck, A. F., 2019. Parvoviruses. In *Diseases of Swine*; pp: 611–621.
39. 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(3):1284-1294.
40. Wen, S., Sun, W., Li, Z., Zhuang, X., Zhao, G., Xie, C., Zheng, M., Jing, J., Xiao, P., Wang, M., Han, J., Ren, J., Liu, H., Lu, H., Jin, N., 2018. The detection of porcine circovirus 3 in Guangxi, China. *Transbound Emerg Dis*. 65(1):27-31. doi: 10.1111/tbed.12754.
41. Xu, X. G., Chen, G. D., Huang, Y., Ding, L., Li, Z. C., Chang, C. D., Wang, C. Y., Tong, D. W., Liu, H. J., 2012. Development of multiplex PCR for simultaneous detection of six swine DNA and RNA viruses. *J Virol Methods*. 183(1):69-74.
42. Yang, Z., Marthaler, D. G., Rovira, A., 2022. Frequency of porcine circovirus 3 detection and histologic lesions in clinical samples from swine in the United States. *J Vet Diagn Invest*. 34(4):602-611. doi: 10.1177/10406387221099538.
43. Zeng, Z., Liu, Z., Wang, W., Tang, D., Liang, H., Liu, Z., 2014. Establishment and application of a multiplex PCR for rapid and simultaneous detection of six viruses in swine. *J Virol Methods*. 208:102-6. doi: 10.1016/j.jviromet.2014.08.001.”
44. Zhai, S. L., Zhou, X., Zhang, H., Hause, B. M., Lin, T., Liu, R., Chen, Q. L., Wei, W. K., Lv, D. H., Wen, X. H., Li F., Wang, D., 2017. Comparative epidemiology of porcine circovirus type 3 in pigs with different clinical presentations. *Virol J*. 14(1):222. doi: 10.1186/s12985-017-0892-4.
45. 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. *Transbound Emerg Dis*. 67(3):1057-1061.
46. Zheng, S., Shi, J., Wu, X., Peng, Z., Xin, C., Zhang, L., Liu, Y., Gao, M., Xu, S., Han, H., Yu, J., Sun, W., Cong, X., Li, J., Wang, J., 2018. Presence of Torque teno sus virus 1 and 2 in porcine circovirus 3-positive pigs. *Transbound Emerg Dis*. 65(2):327-330. doi: 10.1111/tbed.12792.
47. Zheng, L. L., Chai, L. Y., Tian, R. B., Zhao, Y., Chen, H. Y., Wang, Z. Y., 2020b. Simultaneous detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 3 by SYBR Green I-based duplex real-time PCR. *Mol Cell Probes*. 49:101474. doi: 10.1016/j.mcp.2019.101474.

Ngày nhận: 23-10-2023

Ngày phản biện: 25-10-2023

Ngày đăng: 1-3-2024