

# Nghiên cứu khoa học

## VIRUS DỊCH TẢ HEO CHÂU PHI TRÊN THAI HEO SẢY VÀ KẾT QUẢ ÂM TÍNH GIẢ CỦA REALTIME-PCR

*Nguyễn Ngọc Hải<sup>1,2</sup>, Nguyễn Thị Ngọc<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Kim Yến<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Phương Bình<sup>2</sup>, Trần Hoàng Anh Thu<sup>2</sup>, Nguyễn Trung Quân<sup>3,2</sup>*

### TÓM TẮT

Bệnh dịch tả heo châu Phi xuất hiện ở Việt Nam từ tháng 2/2019 và đã gây thiệt hại kinh tế rất lớn cho ngành chăn nuôi heo. Dịch bệnh tạm thời đã qua đi, nhưng trên thực tế virus DTHCP vẫn còn tồn tại trên đàn heo nuôi, nhất là đàn heo sinh sản tại các trại đã từng bị mắc bệnh DTHCP. Heo nái không có biểu hiện lâm sàng bất thường cho đến khi bị sảy thai. Các xét nghiệm RT-PCR đối với virus PRRS, dịch tả heo cổ điển, và PCR đối với Parvovirus và Aujeszky's trên thai sảy đều cho kết quả âm tính. Tuy nhiên, xét nghiệm virus DTHCP trên 5 mẫu thai sảy từ các heo nái khác nhau bằng quy trình PCR thông thường (OIE) trong nghiên cứu này đều cho kết quả dương tính, trong khi xét nghiệm song song theo quy trình realtime-PCR (OIE) cho kết quả âm tính. Kết quả nghiên cứu đã cho phép khẳng định virus DTHCP đang lưu hành trên đàn heo nái ở Việt Nam, đồng thời ghi nhận kết quả âm tính giả của quy trình realtime-PCR (OIE) trong xét nghiệm virus DTHCP trên thai sảy.

*Từ khoá:* Virus DTHCP, thai heo sảy, PCR thông thường, realtime-PCR, âm tính giả.

### African swine fever virus on abortus and false negative result of realtime-PCR

*Nguyen Ngoc Hai, Nguyen Thi Ngoc, Nguyen Thi Kim Yen, Nguyen Thi Phuong Binh, Tran Hoang Anh Thu, Nguyen Trung Quan*

### SUMMARY

African swine fever (ASF) has appeared in Viet Nam since February, 2019 and caused the huge economic losses for the sector of pig husbandry. Up to now, the ASF epidemic has temporarily passed, but ASF virus is still remaining in the pig herds, especially in the sow farms where the ASF epidemic has happened. The sows did not show any specific clinic signs until miscarriage/abortion. The result of RT-PCR tests for PRRS virus, classical swine fever virus, and PCR tests for Parvovirus and Aujeszky's virus on the foetus of abortion were all negative. However, the result of testing ASF virus on 5 abortus samples from the different sows by conventional PCR procedure (OIE) in the study were positive, while the result of parallel test for ASF virus according to the realtime-PCR (OIE) procedure was negative. The research results allow us to confirm that ASF virus is circulating in the sows in Viet Nam, and the false negative results of realtime-PCR test by (OIE) procedure for ASF virus in the foetus of abortion samples were recorded.

*Keywords:* African swine fever virus, pig foetus of abortion, conventional PCR, realtime-PCR, false negative.

<sup>1</sup> Bộ môn Bệnh truyền nhiễm và thú y cộng đồng, Khoa Chăn nuôi - Thú y, ĐH Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup> Phòng Chẩn đoán - Xét nghiệm thú y Hàn Việt, Khoa Chăn nuôi - Thú y, ĐH Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

<sup>3</sup> Khoa Chăn nuôi - Thú y, ĐH Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dịch tả heo châu Phi (DTHCP) là bệnh truyền nhiễm rất nguy hiểm trên heo do virus thuộc họ *Asfarviridae*, giống *Asfivirus* gây ra. Ở Việt Nam, 3 ổ dịch đầu tiên của bệnh dịch tả heo châu Phi trên đàn heo nuôi ở Hưng Yên và Thái Bình đã được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn thông báo chính thức vào ngày 20/2/2019 và chỉ trong thời gian ngắn, bệnh đã xuất hiện trên toàn bộ 63 tỉnh/thành của Việt Nam. Các biện pháp kiểm soát dịch bệnh nghiêm ngặt đã được áp dụng để ngăn chặn và loại trừ bệnh, tuy nhiên cho đến nay bệnh vẫn còn xảy ra tại nhiều địa phương. Theo những diễn tiến ghi nhận trong thực tế chăn nuôi heo hiện nay, virus DTHCP đang lưu nhiễm trên đàn heo, cùng với thể bệnh cấp tính, gây bệnh mạn tính dẫn đến thiệt hại kinh tế nghiêm trọng cho người chăn nuôi. Một trong những bệnh lý quan trọng do virus DTHCP là gây sảy thai ở các giai đoạn tuổi thai khác nhau trên nái nhiễm virus mạn tính (Beltrán-Alcrudo và ctv, 2017; Schlafer DH và ctv, 1987). Hiện nay, hiện tượng sảy thai ở nái gia tăng đáng báo động ở rất nhiều trại chăn nuôi heo tại Việt Nam, nhưng xét nghiệm xác định các tác nhân phổ biến liên quan đến rối loạn sinh sản ở nái (PRRSV, virus dịch tả heo cổ điển, virus Aujeszky's...) đều cho kết quả âm tính. Trước tình hình dịch tễ phức tạp của bệnh DTHCP ở Việt Nam, virus DTHCP cũng nên được xem là tác nhân cần được đánh giá. Mặt khác, đã xuất hiện các trường hợp nghi ngờ bỏ sót virus DTHCP khi xét nghiệm bằng kỹ thuật realtime-PCR theo quy trình của OIE (Ha Thi Thanh Tran và ctv, 2020), nhất là trong các trường hợp mạn tính (CISA-INIA, 2017). Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định nguy cơ virus DTHCP liên quan đến tình trạng gia tăng sảy thai trên nái, nhất là ở những trại heo đã từng có lịch sử nhiễm bệnh này; cũng như nguy cơ âm tính giả của kỹ thuật realtime-PCR theo quy trình của OIE trong xét nghiệm virus DTHCP trên thai sảy.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Vật liệu, hoá chất dùng cho phản ứng PCR: GeneJET Viral DNA/RNA purification kit (Thermo, Mỹ), GoTaq G2 Green Master Mix (Promega, Mỹ), tinh sạch ADN từ gel sau khi điện di bằng bộ kit GeneJET gel extraction and DNA micro kit (Thermo, Mỹ).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tổng cộng 5 mẫu thai heo sảy, thai heo lưu ở các giai đoạn mang thai, từ 5 nái khác nhau được thu thập ở 2 trại heo có tiền sử bệnh DTHCP, xét nghiệm âm tính với virus PRRS, dịch tả heo cổ điển, Parvovirus và Aujeszky's được sử dụng để thực hiện xét nghiệm PCR với cặp mồi PPA1: 5'-AGTTATGGGAAACCCGACCC-3' và PPA2: 5'-CCCTGAATCGGAGCATCCT-3', nhân bản đoạn ADN kích thước 257bp, trên gen VP73 (p72) (Augero và ctv, 2003) theo quy trình khuyến cáo của OIE (2019). Mẫu xét nghiệm là phổi, gan, lách của thai sảy. Phản ứng PCR được thực hiện tại phòng Chẩn đoán - Xét nghiệm thú y Hàn Việt, Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh và gửi đi xét nghiệm đối chứng bằng kỹ thuật realtime-PCR theo quy trình của OIE tại 2 phòng xét nghiệm khác tại Tp. Hồ Chí Minh.

Vị trí bắt cặp của cặp mồi theo Augero và ctv (2003) nhân bản đoạn ADN virus DTHCP được xác định và so sánh bằng phần mềm SnapGene 5.2.

Trình tự nucleotide đoạn ADN nhân bản được xử lý bằng phần mềm Sequencher 5.4.6 (Genecodes) và so sánh trình tự nucleotide với các trình tự ASF tham khảo (bảng 1) bằng phần mềm BioEdit 7.2.6. Cây di truyền được xây dựng theo phương pháp Neighbor-Joining bằng phần mềm MEGA 10.1.8.

**Bảng 1. Danh sách 5 chủng trong nghiên cứu và các chủng tham khảo trong cây di truyền virus DTHCP**

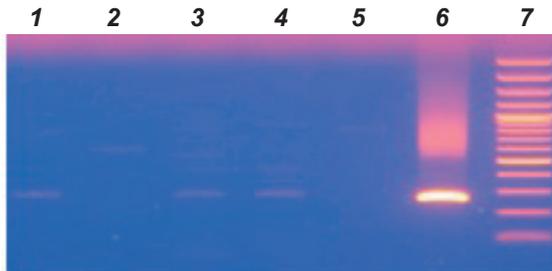
STT	Tên chủng	Nơi phân lập	Năm	Mã số truy cập Ngân hàng Gen	Genotype
1	VN/HV1/2019	Việt Nam	2019	MW648548	II
2	VN/HV2/2020	Việt Nam	2020	MW648549	II
3	VN/HV3/2020	Việt Nam	2020	MW648550	II
4	VN/HV4/2020	Việt Nam	2020	MW648551	II
5	VN/HV5/2020	Việt Nam	2020	MW648552	II
6	E75	Tây Ban Nha		FN557520	I
7	L60	Bồ Đào Nha	1960	KM262844	I
8	47/Ss/2008	Italy	2008	KX354450	I
9	26544/OG10	Italy	2010	KM102979	I
10	Benin 97/1	Benin		AM712239	I
11	VNUA/TB-ASF1	Việt Nam	2019	MN793051	II
12	VNUA/HY-ASF1	Việt Nam	2019	MK554698	II
13	SY18	Trung Quốc	2018	MH713612	II
14	AnhuiXCGQ	Trung Quốc	2018	MK128995	II
15	CAS19-01/2019	Trung Quốc	2019	MN172368	II
16	ASFV/NgheAn/2019	Việt Nam	2019	MT180393	II
17	ASFV/Hanoi/2019	Việt Nam	2019	MT180392	II
18	DB/LN/2018	Trung Quốc	2018	MK333181	II
19	Georgia 2008/1	Mỹ	2008	MH910495	II
20	Belgium/Etalle/wb/2018	Bỉ	2018	MK543947	II
21	Estonia/2014	Estonia	2014	LS478113	II
22	Warmbaths	Nam Phi	1987	AY261365	III
23	N10	Uganda	2015	MH025919	IX
24	Ken06.Bus	Kenya	2006	KM111295	IX
25	Kenya 1950	Kenya	1950	AY261360	X
26	RSA_2_2008	Nam Phi	2008	MN336500	XXII
27	ETH/1	Ethiopia	2011	KT795354	XXIII

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả PCR xét nghiệm virus DTHCP được minh họa qua hình 1.

Hình 1 cho thấy mẫu xét nghiệm có đoạn ADN tương ứng với kích thước của mẫu đối chứng dương (257bp) của virus DTHCP. Tuy nhiên, có thể nhận thấy các vạch ADN của

mẫu bệnh phẩm mờ hơn rất nhiều so với vạch đối chứng dương. Điều này có lẽ là do lượng virus DTHCP trong mẫu rất ít so với mẫu đối chứng nên lượng bản sao đoạn ADN đích không nhiều. Nguyên nhân khác cũng không loại trừ đó là sản phẩm dương tính giả do sự bắt cặp không đặc hiệu của primer sử dụng trong nghiên cứu.



**Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR xét nghiệm virus dịch tả heo châu Phi trong thai heo sảy**

Giếng 1 - 4: Mẫu T1 – T4

Giếng 5: Đối chứng âm

Giếng 6: Đối chứng dương ASFV (257 bp)

Giếng 7: Thang trọng lượng chuẩn, 100 bp

Để kiểm chứng giá thiết kết quả dương tính giả của quy trình PCR trong nghiên cứu, 5 mẫu ADN được sử dụng trong phản ứng PCR được gửi đến Chi cục Thú y vùng VI và một phòng thí nghiệm thứ 2, xét nghiệm đối chứng bằng kỹ thuật realtime-PCR (OIE, 2019). Kết quả cả 5 mẫu đều cho kết quả âm tính (bảng 2).

Trong đánh giá so sánh giữa 2 quy trình realtime-PCR và PCR thông thường của OIE, Gallardo C. và ctv (2015) khi xét nghiệm 785 mẫu thực địa đã ghi nhận tỷ lệ phát hiện mẫu dương tính với virus DTHCP tương đương giữa 2 kỹ thuật. Kỹ thuật realtime-PCR được chỉ định trong các xét nghiệm virus DTHCP của OIE, vì thế kết quả trên sẽ có thể kết luận mẫu âm tính.

Tuy nhiên, theo báo cáo của CISA-INIA (2017), quy trình xét nghiệm realtime-PCR của OIE cho kết quả âm tính giả từ 15 - 21% so với 2 quy trình xét nghiệm realtime-PCR khác. Đặc biệt, trong các trường hợp nhiễm virus DTHCP mạn tính hoặc nhiễm cận lâm sàng, hàm lượng virus trong mẫu thấp ( $Ct \geq 35$ ) thì quy trình realtime-PCR của OIE cho kết quả âm tính giả hơn 50%. Trong nghiên cứu này, 5 mẫu thai sảy đều được lấy từ những nái có vẻ ngoài bình thường và không có biểu hiện lâm sàng đặc biệt nào khác trừ việc sảy thai. Theo Beltrán-Alcrudo và ctv (2017), biểu hiện lâm sàng ở heo bệnh do virus DTHCP có thể thay đổi theo 5 thể: từ thể quá cấp, cấp, dưới cấp, mạn và không biểu hiện lâm sàng. Mức độ biểu hiện lâm sàng thay đổi tùy theo độc lực của chủng virus DTHCP mà heo nhiễm. Hàm lượng virus huyết của virus DTHCP độc lực thấp thấp hơn rất nhiều so với virus DTHCP độc lực cao. Nghiên cứu của Borca MV và ctv (2020) ghi nhận hàm lượng virus huyết ở heo vào ngày thứ tư sau gây nhiễm của chủng virus DTHCP độc lực cao đạt mức  $10^{7.5}$  đến  $10^{8.5}$  HAD<sub>50</sub>/ml, so với  $10^{1.8}$  đến  $10^{2.3}$  HAD<sub>50</sub>/ml của chủng virus DTHCP độc lực thấp. Thậm chí, heo cũng chỉ có biểu hiện sốt nhẹ (khoảng 39°C) khi bị gây nhiễm qua đường tiêm bắp với liều  $10^6$  chủng virus độc lực thấp. Như vậy, nái sảy thai trong nghiên cứu có thể đã nhiễm chủng virus DTHCP độc lực thấp, hoặc là chủng thực địa, hoặc cũng có thể là chủng virus vacxin không phép, chưa được đánh giá đầy đủ về độ an toàn.

**Bảng 2. Kết quả xét nghiệm virus dịch tả heo châu Phi bằng kỹ thuật PCR và realtime-PCR**

Mẫu	Kết quả Hàn-Việt (PCR, OIE)	Kết quả xét nghiệm - phòng thí nghiệm 1 (Realtime-PCR, OIE)	Kết quả xét nghiệm - phòng thí nghiệm 2 (Realtime-PCR, OIE)
1	Dương tính	Âm tính	Âm tính
2	Dương tính	Âm tính	Âm tính
3	Dương tính	Âm tính	Âm tính
4	Dương tính	Âm tính	Âm tính
5	Dương tính	Âm tính	Âm tính

Tương tự, kết quả âm tính giả của quy trình realtime-PCR (OIE) xét nghiệm virus DTHCP cũng đã được công bố bởi A. D. Truong và ctv (2020), Ha Thi Thanh Tran và ctv (2020). Theo các nghiên cứu này, kết quả âm tính giả là do virus DTHCP thực

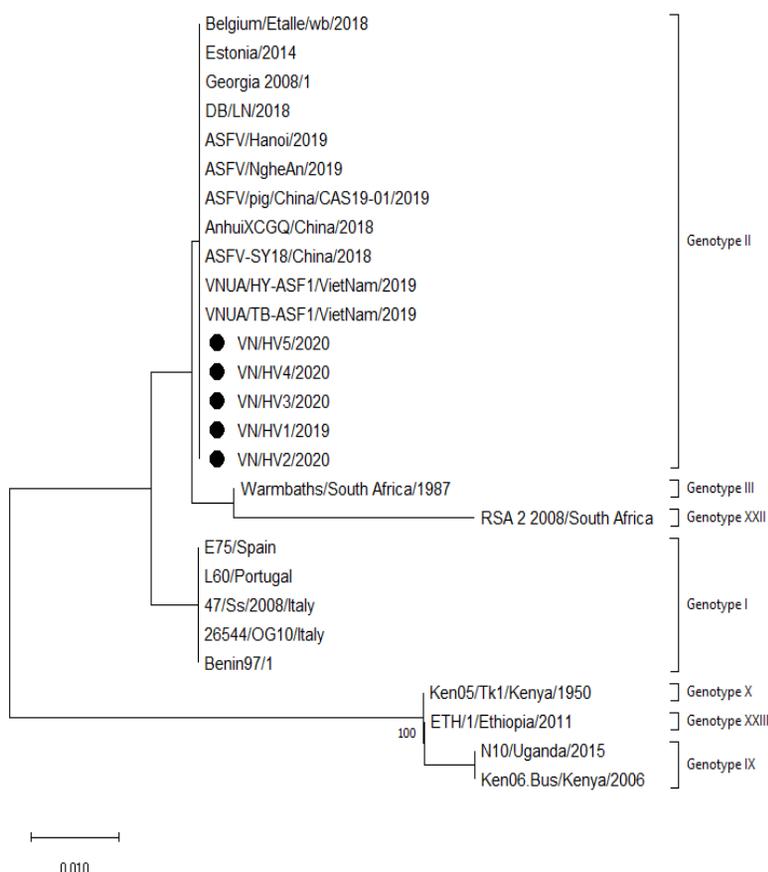
địa đã có đột biến điểm tại vị trí gắn của đoạn dò (probe) trong quy trình realtime-PCR của OIE. Ha Thi Thanh Tran và ctv (2020) cho biết sau khi đoạn dò (probe) được điều chỉnh từ OIE probe sang NIVR probe, các mẫu heo bệnh thực địa trước đó có kết

quả xét nghiệm virus DTHCP âm tính theo quy trình realtime-PCR của OIE đã cho kết quả dương tính. Kết quả của Ha Thi Thanh Tran và ctv (2020) cũng ghi nhận chỉ số Ct ở các mẫu này cao hơn rất nhiều (33,12 – 35,78 so với 22,18 – 25,08). Điều này có nghĩa là hàm lượng virus DTHCP trong các mẫu này thấp hơn rất nhiều so với các mẫu cho kết quả dương tính trong quy trình realtime-PCR của OIE.

Dựa trên các dấu hiệu nghi ngờ lâm sàng, kết quả xét nghiệm âm tính các tác nhân gây rối loạn sinh sản trên nái khác như PRRSV, dịch tả heo cổ điển, Parvovirus, virus Aujeszky's, và báo cáo của CISA-INIA (2017), để tăng thêm độ tin cậy của kết quả PCR xét nghiệm virus DTHCP trong nghiên cứu, có thể sử dụng 1 phương pháp có độ tin cậy cao hơn, đó là giải trình tự nucleotide sản phẩm PCR, so sánh tương đồng với trình tự tham chiếu trên GenBank đã được sử dụng. Kết quả so

sánh trình tự nucleotide được thể hiện qua bảng 3. Trình tự nucleotide của 5 chủng trong nghiên cứu đã được đăng ký trên Ngân hàng Gen với các mã số: MW648548, MW648549, MW648550, MW648551 và MW648552.

Theo kết quả trên bảng 3, tương đồng trình tự nucleotide của mẫu virus DTHCP trong nghiên cứu ở mức 92,4 – 100% với các chủng virus DTHCP tham khảo trên GenBank, trong đó tương đồng 100% với các chủng virus DTHCP tham khảo thuộc genotype II, kể cả với 4 chủng virus DTHCP của Việt Nam được công bố năm 2019. Tỷ lệ tương đồng trình tự nucleotide rất cao này cho phép nghiên cứu khẳng định kết quả xét nghiệm virus DTHCP trên thai heo sảy bằng phương pháp PCR là hoàn toàn chính xác. Ngoài ra, cây di truyền của 5 chủng với các chủng tham khảo đã được thực hiện (hình 2).



**Hình 2. Cây di truyền dựa trên trình tự nucleotide gen B646L (p72) của virus DTHCP**  
 Cây di truyền được xây dựng theo phương pháp Neighbor-Joining bằng phần mềm MEGA 10.1.8  
 Các con số ở mỗi nhánh đại diện cho phần trăm giá trị bootstrap với 1000 lần lặp lại (Giá trị <70  
 không được trình bày). ● Các chủng virus DTHCP khảo sát.

**Bảng 3. Tương đồng nucleotide (trên đường chéo) và amino acid (dưới đường chéo) trên gen B646L (p72) của 5 chủng virus DTHCP khảo sát và các chủng tham khảo**

Chủng ASFV	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1 VNHV1/2019	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
2 VNHV2/2020	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
3 VNHV3/2020	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
4 VNHV4/2020	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
5 VNHV5/2020	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
6 EFS/Spain	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.3%	92.4%	92.4%	93.5%	96.2%	93.5%
7 L60/Portugal	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.3%	92.4%	92.4%	93.5%	96.2%	93.5%
8 47/S/2008/Italy	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.3%	92.4%	92.4%	93.5%	96.2%	93.5%
9 26544/OG10/Italy	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.9%	98.3%	92.4%	92.4%	93.5%	96.2%	93.5%
10 Benin/71	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.3%	92.4%	92.4%	93.5%	96.2%	93.5%
11 VNU/ATB-ASF1/VietNam/2019	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
12 VNU/AHY-ASF1/VietNam/2019	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
13 ASFV-SY18/China/2018	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
14 AnhuiXCQ/China/2018	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
15 ASFV/jg/China/CASI9-01/2019	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
16 ASFV/NghieAn/2019	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
17 ASFV/Hanoi/2019	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
18 DBLN/2018	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
19 Georgia/2008/1	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
20 Belgium/Fraille/wb/2018	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
21 Estonia/2014	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
22 Warmbats/South Africa/1987	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	99.4%	92.4%	92.4%	93.5%	96.7%	93.5%
23 N10/Uganda/2015	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	91.9%	91.9%	93.0%	97.3%	93.0%
24 Kenya/Bibi/Kenya/2006	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	95.1%	100.0%	100.0%	98.9%	98.9%	
25 Kenya/TK1/Kenya/1950	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	98.3%	98.3%	90.8%	100.0%	
26 RSA_2_2008/South Africa	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	93.5%	88.7%	88.7%	90.3%	90.8%	
27 ETH1/Ethiopia/2011	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	96.7%	98.3%	98.3%	100.0%	90.3%	

Dựa trên cây di truyền có thể thấy 5 chủng virus DTHCP trong nghiên cứu thuộc genotype II và cùng nhóm với 4 chủng virus DTHCP của Việt Nam đã được công bố năm 2019 (MN793051, MK554698, MT180393 và MT180392).

Một trong những bệnh lý do virus DTHCP gây ra trên nái là sảy thai ở mọi giai đoạn (Beltrán-Alcrudo và ctv, 2017; Schlafer DH và ctv, 1987). Beltrán-Alcrudo và ctv (2017) đã gây nhiễm thực nghiệm trên nái đang mang thai từ 38 - 92 ngày với chủng virus DTHCP độc lực thấp và ghi nhận sự sảy thai ở 11/13 nái đồng thời đã phân lập được virus từ mô

của thai sảy. Điều này hoàn toàn phù hợp với các trường hợp sảy thai mà nghiên cứu này ghi nhận và lấy mẫu (hình 3). Đặc biệt, những heo nái được lấy mẫu thai sảy trong nghiên cứu đều không có biểu hiện nhiễm virus DTHCP máu như sốt cao, bỏ ăn... cho thấy nái nhiễm virus DTHCP ở thể cận lâm sàng. Ở thể bệnh này, xét nghiệm virus DTHCP theo quy trình realtime-PCR của OIE có thể cho kết quả âm tính giả hơn 50% (CISA-INIA, 2017). Theo thông tin trên Pig Progress (2021), việc sử dụng các vaccin DTHCP sống, chưa được cấp phép đã gây nên hậu quả nghiêm trọng trên đàn nái với biểu hiện tương tự như của hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp trên heo.



**Hình 3. (A): Thai sảy thời kỳ đầu, (B): Thai chết lưu toàn ổ, (C): Thai sảy thời kỳ cuối**

#### IV. KẾT LUẬN

Kết quả xét nghiệm virus DTHCP trong nghiên cứu cho phép khẳng định virus DTHCP đang hiện diện trên đàn heo nái của Việt Nam, và có thể là nguyên nhân gây nên sảy thai ở nái nhiễm virus DTHCP ở thể cận lâm sàng. Quy trình realtime-PCR xét nghiệm virus DTHCP của OIE có thể cho kết quả âm tính giả trên các mẫu thai sảy ở heo nái nhiễm virus DTHCP thể cận lâm sàng. Cần có những nghiên cứu thêm để đánh giá chính xác tình hình lưu hành virus DTHCP trên đàn heo ở Việt Nam, quy trình realtime-PCR xét nghiệm virus DTHCP của OIE; qua đó có những chỉ dẫn xét nghiệm phù hợp, nâng cao hiệu quả công tác phòng chống bệnh do virus DTHCP trên đàn heo tại Việt Nam.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Schlafer D. H, Mebus C. A, 1987. Abortion in sows experimentally infected with African swine fever virus: pathogenesis studies. *Am. J. Vet. Res.*;48(2):246-54. PMID: 3826864.
- 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)*. 88 pages.
- CISA-INIA, 2017. Evaluation of the PCR kit for African swine fever virus (ASFV) genome detection. Report performed in

- Valdeolmos (Madrid) at 8 th May 2017. Centro de Investigación en Sanidad Animal, European Union reference laboratory for ASF.
4. OIE Terrestrial manual, 2019. *Chapter 3.8.1 African swine fever (infection with African swine fever virus)*.
  5. M. Agüero, J. Fernandez, L. Romero, C. Sanchez Mascaraque, M. Arias, and J. M. Sanchez-Vizcaíno, 2003. Highly sensitive PCR assay for the routine diagnosis of African swine fever virus in clinical samples. *J. Clin. Microbiol.*,41, 4431–4434.
  6. Gallardo C, Nieto R, Soler A, Pelayo V, Fernández-Pinero J, Markowska-Daniel I, Pridotkas G, Nurmoja I, Granta R, Simón A, Pérez C, Martín E, Fernández-Pacheco P, Arias M., 2015. Assessment of African swine fever diagnostic techniques as a response to the epidemic outbreaks in eastern European Union countries: how to improve surveillance and control programs. *J. Clin. Microbiol.* 53:2555–2565.
  7. Ha Thi Thanh Tran, Anh Kieu Dang, Duc Viet Ly, Hao Thi Vu, Tuan Van Hoang, Chinh Thi Nguyen, Nhu Thi Chu, Vinh The Nguyen, Huyen Thi Nguyen, Anh Duc Truong, Ngoc Thi Pham, and Hoang Vu Dang, 2020. An improvement of real-time polymerase chain reaction system based on probe modification is required for accurate detection of African swine fever virus in clinical samples in Vietnam. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 33:1683-1690.
  8. Anh Duc Truong, Duc Viet Ly, Thi Hao Vu, Van Tuan Hoang, Thi Chinh Nguyen, Thi Nhu Chu, Huyen Thi Nguyen, The Vinh Nguyen, Ngoc Thi Pham, Ha Thi Thanh Tran and Hoang Vu Dang, 2020. Unexpected cases in field diagnosis of African swine fever virus in Vietnam: The needs consideration when performing molecular diagnostic tests. *Open Veterinary Journal*, Vol. 10 (2):189–197.
  9. Borca MV, Ramirez-Medina E, Silva E, Vuono E, Rai A, Pruitt S, Holinka LG, VelazquezSalinas L, Zhu J, Gladue DP., 2020. Development of a highly effective African swine fever virus vaccine by deletion of the I177L gene results in sterile immunity against the current epidemic Eurasia strain. *J. Virol.* 94:e02017-19.
  10. Pig Progress, 2021. ASFv mutation in China: What does it mean on-farm?<https://www.pigprogress.net/2-2021>.
- Ngày nhận 19-1-2021  
 Ngày phản biện 21-2-2021  
 Ngày đăng 1-7-2021