

# MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ HỌC BỆNH SUYỄN LỢN VÀ ỨNG DỤNG KỸ THUẬT SEMI-NESTED PCR XÁC ĐỊNH *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE*

Lê Văn Lanh<sup>1</sup>, Huỳnh Thị Mỹ Lệ<sup>1,\*</sup>, Trịnh Đình Thâu<sup>1</sup>,  
Đặng Hữu Anh<sup>1</sup>, Đỗ Ngọc Thúy<sup>2</sup>, Nguyễn Bá Hiên<sup>1</sup>  
TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành tại 4 tỉnh/thành phố là Hà Nội, Bắc Ninh, Hưng Yên và Hải Dương nhằm điều tra một số đặc điểm dịch tễ học của bệnh suyễn lợn. Kết quả cho thấy: trên địa bàn cả 4 tỉnh điều tra đều lưu hành bệnh suyễn lợn với tỷ lệ mắc dao động từ 19,92-21,16%. Về lứa tuổi mắc bệnh: giai đoạn lợn từ 9-<14 tuần tuổi mắc cao nhất (36,57%), lợn nái và lợn con theo mẹ có tỷ lệ mắc thấp (0,24-2,73%); Tuy nhiên, lợn con mắc bệnh thường có tỷ lệ tử vong cao, lợn nái mắc bệnh thường ở thể mạn tính và không có tử vong. Đặc biệt không phát hiện được bệnh ở lợn đực giống. Bệnh suyễn có tính chất mùa vụ, xảy ra nhiều vào tháng 2,3,4 và tháng 10, 11 trong năm. Phương thức chăn nuôi không ảnh hưởng tới tỷ lệ mắc bệnh. Ứng dụng kỹ thuật semi-nested PCR đã bước đầu xác định *Mycoplasma hyopneumoniae* trong 10/16 mẫu bệnh phẩm.

*Từ khóa:* Bệnh suyễn lợn, Đặc điểm dịch tễ, Kỹ thuật Semi-nested PCR, *Mycoplasma hyopneumoniae*

## Epidemiology of Enzootic pneumonia and using Semi-nested PCR to detect *Mycoplasma hyopneumoniae*

Le Van Lanh, Huynh Thi My Le, Trinh Dinh Thau,  
Dang Huu Anh, Do Ngoc Thuy, Nguyen Ba Hien  
SUMMARY

Epidemiology of Enzootic pneumonia were investigated in Ha Noi city, Bac Ninh, Hung Yen and Hai Duong provinces. The results showed that the prevalence of the disease in 4 regions were ranging from 19.92-21.16%. These prevalence were different between the age of pigs: the pig at 9-14 week old had the highest morbidity (36.67%); sow and piglet had lowest morbidity (0.24-2.37%), but the mortality of piglet was very high. Enzootic pneumonia annually outbreak in February, March, April and October, November. The method of pig production could not effect the prevalence of disease. *Mycoplasma hyopneumoniae* was detected in 10/ 16 samples by using semi-nested PCR.

*Key words:* Enzootic pneumoniae, Epidemiological characteristics, Semi-nested PCR, *Mycoplasma hyopneumoniae*

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh suyễn lợn (*Enzootic pneumonia*) hay còn gọi là dịch viêm phổi địa phương của lợn là một bệnh truyền nhiễm thường ở thể mạn tính và lưu hành ở một địa phương do *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*- MH) gây ra. Đây là một thuật ngữ được sử dụng nhiều nhất do nó được mô tả theo đặc điểm dịch tễ học của bệnh. Theo Thacker (2006), dịch viêm phổi địa phương là kết quả của sự nhiễm *M. hyopneumoniae* và những vi khuẩn cộng phát khác như *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* hay *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Bệnh do *M. hyopneumoniae* gây ra được coi là nguyên nhân tiên phát gây bệnh đường hô hấp phức hợp ở lợn (Porcine respiratory disease complex - PRDC), gây thiệt hại nặng nề cho ngành chăn nuôi lợn. Lợn bị bệnh chậm lớn, tiêu tốn thức ăn cao, thời gian vỗ béo kéo dài (người ta đã xác định được: so với lợn khỏe lợn bệnh tăng trọng hàng ngày kém ít nhất 16% và tiêu tốn thức ăn cho 1 kg tăng trọng tăng trên 25%). Việc phòng và trị bệnh cũng rất tốn kém. Bệnh có thể được chẩn đoán sơ bộ căn cứ vào một số triệu chứng

<sup>1</sup> Khoa Thú y, trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

<sup>2</sup> Viện Thú y quốc gia

và bệnh tích đặc trưng như: Lợn khó thở, thở thê bụng, ngòì thở như chó ngòì, ho nhiều vào sáng sớm hoặc chiều muộn, bệnh tích viêm ðối xứng ở các thùy phổi. Mặc dù vậy, chẩn đoán trong phòng thí nghiệm để xác định *Mycoplasma* mới thực sự có ý nghĩa trong giám sát dịch bệnh.

Bài báo này nhằm cung cấp thông tin về một số đặc ðiểm dịch tễ bệnh suyễn lợn tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam; cùng với kỹ thuật semi-nested PCR giúp chẩn đoán bệnh, góp phần hạn chế thiệt hại do bệnh gây ra.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

- Bảng số liệu ðiều tra tình hình dịch bệnh tại các trại
- Phiếu ðiều tra tình hình dịch bệnh
- Mẫu xét nghiệm gồm phổi, hạch lâm ba, dịch ngoáy mũi hoặc dịch ngoáy hầu họng.
- Nguyên vật liệu và thiết bị trong phòng thí nghiệm dùng cho phản ứng PCR.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp ðiều tra dịch tễ học hồi cứu và ðiều tra dịch tễ học mô tả: sử dụng phiếu ðiều tra và phân tích số liệu dịch tễ theo Toma và cs (1999). ðịnh hướng ðiều tra tại các hộ chăn nuôi nhỏ lẻ (chăn nuôi 1 lợn nái hoặc dưới 5 lợn thịt) và chăn nuôi bán công nghiệp có tổng đàn từ 5 đến 50 con.

- *Phương pháp lấy mẫu*: theo quy trình của FAO (Alton và cs, 1994).

- *Phương pháp Semi-nested PCR* xác ðịnh *M. hyopneumoniae* (theo quy trình của Phòng thí nghiệm vi rút học, Trường ðại học thú y, ðại học quốc gia Seoul như sau:

Bệnh phẩm ðược ðồng nhất bằng cối chà sứ và pha với nước sinh lý thành huyền dịch bệnh phẩm 10%. Ly tâm huyền dịch ở 4000 vòng/phút trong 5 phút. Thu dịch nổi.

\* *Tách chiết ADN*

- Lấy 200 µl cho vào ống Eppendorf sạch
- Thêm vào 500 µl dung dịch ly giải mẫu và 8 µl Proteinase K.
- Ủ 56<sup>0</sup>C trong 90 phút
- Cho vào ống Eppendorf ðựng mẫu ðã ðược dung giải (nói trên) 200 µl dung dịch PCI (Phenol Chloroform Isoamyl).
- Vortex trộn mẫu
- Ly tâm 12000 vòng/phút trong 15 phút ở 4<sup>0</sup>C
- Lấy 450 µl dịch nổi phía trên
- Thêm vào 450 µl isopropanol (tỷ lệ isopropanol: mẫu = 1:1)
- Rửa ADN ở nhiệt ðộ phòng (25<sup>0</sup>C) trong vòng 15 phút
- Thu cặn ADN bằng cách ly tâm 12000 vòng/phút trong 15 phút ở 4<sup>0</sup>C
- ðổ bỏ dung dịch phía trên, giữ cặn sau ly tâm
- Rửa ADN bằng cồn 70%: 1ml/mẫu
- Ly tâm thu cặn ở 12000 vòng/phút trong 15 phút ở 4<sup>0</sup>C
- Loại bỏ hoàn toàn cồn, giữ cặn ADN.
- ðể khô tự nhiên ở nhiệt ðộ phòng/ 15 phút
- Hòa tan ADN thu ðược bằng 30 µl TE buffer.

\* *Thực hiện phản ứng PCR*

Thành phần phản ứng semi-nested PCR:

- Phản ứng PCR vòng ngoài:

<i>Sinh phẩm/hóa chất</i>	<i>Thể tích (µl)</i>
i-Star master mix solution	17
MHP950-1L (10pmol/ul)	1
MHP950-1R (10pmol/ul)	1

Sợi khuôn ADN	1
<b>Tổng thể tích</b>	<b>20</b>
- Phản ứng PCR vòng trong:	
<i>Sinh phẩm/hóa chất</i>	<i>Thể tích (μl)</i>
i-Star master mix solution	17
MHP950-1L (10pmol/ul)	1
<b>MHP950-2R</b> (10pmol/ul)	1
Sản phẩm PCR vòng ngoài	1
<b>Tổng thể tích</b>	<b>20</b>

- Chu trình nhiệt phản ứng PCR vòng ngoài, PCR vòng trong				
<i>Giai đoạn</i>	<i>Bước</i>	<i>Nhiệt độ (°C)</i>	<i>Thời gian (giây)</i>	<i>Số vòng phản ứng</i>
Biến tính		94	300	1
		94	30	
PCR	Bắt mồi	52	30	35
	Kéo dài	72	90	
Kéo dài cuối cùng		72	600	1
Giữ		4	Cho đến khi dừng	

*\* Kiểm tra kết quả phản ứng*

Sản phẩm phản ứng PCR (vòng ngoài và vòng trong) được điện di trên thạch agarose 1% (pha trong dung dịch TBE 1X), trong vòng 30 phút ở hiệu điện thế 100V. Xác định vạch đặc hiệu trên hộp đèn tử ngoại (dựa vào kích thước vạch được nhân lên so với kích thước thiết kế).

- Phương pháp xử lý số liệu: phương pháp thống kê sinh học, sử dụng phần mềm Excel 2007, WinEpiscope 2.0 và Minitab 14.

### 2.3. Địa điểm nghiên cứu

Điều tra tình hình dịch tễ bệnh suyễn lợn tại một số trại lợn thuộc địa bàn bốn tỉnh/thành phố đồng bằng sông Hồng là: Hà Nội, Bắc Ninh, Hưng Yên và Hải Dương.

Mẫu xét nghiệm được thực hiện tại Bộ môn Vi sinh vật - truyền nhiễm, Khoa Thú y, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Một số đặc điểm dịch tễ bệnh suyễn lợn

Để nghiên cứu đặc điểm dịch tễ bệnh suyễn ở đàn lợn, chúng tôi tiến hành điều tra bằng các phiếu điều tra và chẩn đoán bệnh suyễn lợn dựa vào triệu chứng lâm sàng, bệnh tích đặc trưng. Kết quả được thể hiện ở hình 1.



**Hình 1. Triệu chứng và bệnh tích đặc trưng của lợn nghi mắc suyễn lợn**

Triệu chứng lâm sàng của lợn nghi mắc suyễn lợn bao gồm: (1) Hắt hơi, ho khan, hay ho khi vận động, thường ho vào buổi sáng sớm và chiều tối hay khi trời lạnh. (2) Thở khó, thở khò khè và thở thê bụng. (3) Sốt, kém ăn, lông xù.

Bệnh tích đặc trưng tập trung ở bộ máy hô hấp và hạch phổi: Viêm phổi thùy, từ thùy tim sang thùy nhọn, từ thùy đỉnh sang thùy sau, thường viêm ở phần rìa thấp của phổi, viêm đối xứng các thùy với nhau ở hai lá phổi. Phổi xuất hiện những chấm đỏ hoặc xám bằng hạt đậu xanh, to dần rồi tập trung thành từng vùng rộng. Chỗ phổi có thể viêm cứng lại, màu xám nhạt hay đỏ như màu mận chín, mặt phổi bằng láng, bên trong có chứa chất keo nên gọi là viêm phổi kính. Khi bị viêm nặng, phổi cứng, đặc lại như bị gan hóa, lúc này khi cắt phổi chỉ còn một ít dịch trắng xám lẫn bọt. Phổi bị nhục hóa, đục màu tro, chắc khi biểu hiện gan hóa, lúc này cắt miếng phổi thả xuống nước thấy miếng phổi chìm.

### 3.1.1. Tỷ lệ mắc bệnh suyễn lợn trên địa bàn nghiên cứu

Kết quả xem bảng 1.

**Bảng 1. Kết quả điều tra tỷ lệ lợn nghi mắc bệnh suyễn theo địa phương**

Địa phương	Số lợn được điều tra	Số lợn nghi mắc bệnh	Tỷ lệ mắc (%)	Số lợn tử vong	Tỷ lệ tử vong (%)
Hà Nội	5326	1127	21.16	144	12.78
Bắc Ninh	4873	978	20.07	103	10.53
Hung Yên	5044	1005	19.92	114	11.34
Hải Dương	4770	958	20.08	126	13.15
<b>Tổng hợp</b>	<b>20013</b>	<b>4068</b>	<b>20.33</b>	<b>487</b>	<b>11.97</b>

Bảng 1 cho thấy, qua điều tra, theo dõi tổng số 20.013 con lợn tại 4 tỉnh, thành phố thì tỷ lệ nghi mắc Suyễn lợn trung bình là 20,33%, tỷ lệ này không có sự chênh lệch đáng kể ( $P > 0,05$ ) giữa các tỉnh/thành phố do các tỉnh, thành phố có điều kiện về khí hậu, thời tiết, đặc điểm về chăn nuôi - thú y có nhiều sự tương đồng: Hưng Yên có tỷ lệ mắc thấp nhất với 19,92%, trong khi đó TP Hà Nội có tỷ lệ mắc cao nhất là 21,16%.

### 3.1.2. Tỷ lệ lợn mắc bệnh suyễn theo lứa tuổi

Bệnh suyễn lợn thường diễn biến rất khác nhau ở các lứa tuổi, xuất phát từ đặc điểm dịch tể đó, chúng tôi có tiến hành điều tra tỷ lệ mắc bệnh ở các giai đoạn tuổi: 0 - < 3 tuần tuổi, 3 - < 9 tuần tuổi, lợn choai từ 9 - < 14 tuần tuổi, lợn thịt từ 14 - < 19 tuần tuổi, lợn hậu bị, lợn nái sinh sản và lợn đực giống.

Kết quả điều tra được thể hiện ở bảng 2 .

**Bảng 2. Kết quả điều tra tỷ lệ lợn nghi mắc bệnh suyễn theo lứa tuổi**

Lứa tuổi lợn	Số lợn được điều tra	Số lợn nghi mắc bệnh	Tỷ lệ mắc (%)	Số lợn tử vong	Tỷ lệ tử vong (%)
Lợn con theo mẹ (0- < 3 tuần)	4977	136	2.73	35	25.74
Lợn sau cai sữa (3- < 9 tuần)	5648	1108	19.62	187	16.88
Lợn choai (9- < 14 tuần)	3785	1384	36.57	196	14.16
Lợn thịt (14-19 tuần)	3236	1140	35.23	57	5.00
Lợn hậu bị	1437	298	20.74	12	4.03
Lợn nái sinh sản	836	2	0.24	0	0.00
Lợn đực giống	94	0	0.00	0	0.00
<b>Tổng hợp</b>	<b>20013</b>	<b>4068</b>	<b>20.33</b>	<b>487</b>	<b>11.97</b>

Qua bảng 2. ta thấy, ở giai đoạn lợn choai và lợn thịt (từ 9-19 tuần tuổi) có tỷ lệ mắc

cao, từ 35,23-36,57%, giai đoạn có tỷ lệ mắc thấp là lợn nái sinh sản 0,24% và lợn con theo mẹ (0- < 3 tuần tuổi) 2,73%, riêng lợn đực giống không phát hiện bị mắc bệnh suyễn. Tuy nhiên, tỷ lệ tử vong ở giai đoạn lợn con theo mẹ lại chiếm tỷ lệ cao nhất 25,74% và tỷ lệ này giảm dần theo lứa tuổi: lợn sau cai sữa (3- < 9 tuần) tỷ lệ tử vong 16,88%, lợn choai (9- < 14 tuần) 14,16% và không phát hiện ở giai đoạn lợn nái sinh sản và lợn đực giống có hiện tượng tử vong do bị mắc bệnh suyễn.

Theo nhận định của chúng tôi về tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong với bệnh suyễn ở các lứa tuổi như sau: Ở giai đoạn lợn con theo mẹ (0- < 3 tuần) có tỷ lệ mắc thấp là do ở giai đoạn này lợn con tiếp xúc với môi trường bên ngoài còn ít, kháng thể do lợn mẹ truyền sang lợn con vẫn có khả năng chống lại được với bệnh trong một khoảng thời gian xác định. Tuy nhiên, ở giai đoạn này lợn con gặp phải rất nhiều điều kiện bất lợi (thích nghi với môi trường mới, dinh dưỡng, môi trường, khí hậu...) nên những con lợn đã bị mắc bệnh thì khả năng tử vong là rất lớn (25,74%). Những giai đoạn về sau, từ 3 - 19 tuần do lợn được tiếp xúc nhiều với môi trường bên ngoài, đặc biệt là trong điều kiện chuồng trại mất vệ sinh, điều kiện chăm sóc không đảm bảo hoặc do môi trường chuồng nuôi đã có bệnh nên giai đoạn này lợn rất dễ mắc cảm với bệnh. Tuy nhiên, giai đoạn này sức đề kháng cũng đã được tích lũy, thích nghi dần với môi trường sống bên ngoài nên tỷ lệ tử vong giảm từ 16,88% ở giai đoạn 3 - < 9 tuần xuống còn 5% ở giai đoạn 14-19 tuần tuổi và càng về sau, giai đoạn lợn nái sinh sản và lợn đực giống tỷ lệ này giảm dần, một số con tạo ra kháng thể tự nhiên chống lại được bệnh. Kết quả điều tra của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu đã công bố của Cù Hữu Phú và cộng sự (2005).

### 3.1.3. Tỷ lệ mắc bệnh suyễn theo thời gian điều tra

Trong thời gian nghiên cứu đề tài, chúng tôi chia thời gian theo dõi tình hình bệnh từ tháng 1 đến tháng 12, từ đó có thể đánh giá được dịch bệnh thường xảy ra vào thời điểm nào trong năm. Dựa trên công thức tính chỉ số mắc bệnh trung bình ngày/ tháng, chúng tôi xác định được dịch xảy ra lẻ tẻ trong năm hay dịch xảy ra được coi là tháng dịch hay thành từng đợt dịch khác nhau (mùa dịch). Kết quả điều tra được thể hiện qua bảng 3

**Bảng.3. Kết quả xác định tỷ lệ lợn nghi mắc bệnh suyễn theo tháng điều tra**

Tháng	Số lợn điều tra	Số lợn nghi mắc	Tỷ lệ mắc (%)	Số lợn tử vong	Tỷ lệ tử vong	Hệ số tháng dịch	Ghi chú
1	1152	308	26.74	45	14.61	0.891458	
2	1880	588	31.28	93	15.82	<b>1.884218</b>	Tháng dịch
3	1867	557	29.83	98	17.59	<b>1.61215</b>	Tháng dịch
4	2015	584	28.98	91	15.58	<b>1.74664</b>	Tháng dịch
5	1067	120	11.25	7	5.83	0.347321	
6	1589	162	10.20	6	3.70	0.484513	
7	1697	298	17.56	13	4.36	0.862515	
8	1735	237	13.66	14	5.91	0.68596	
9	1566	191	12.20	13	6.81	0.571247	
10	2034	375	18.44	34	9.07	<b>1.085379</b>	Tháng dịch
11	1987	367	18.47	38	10.35	<b>1.097632</b>	Tháng dịch
12	1424	281	19.73	35	12.46	0.813311	
<b>Tổng hợp</b>	<b>20013</b>	<b>4068</b>	<b>20.33</b>	<b>487</b>	<b>11.97</b>		

Qua bảng 3 cho thấy, dịch bệnh xảy ra nhiều nhất vào thời điểm tháng 2 với tỷ lệ mắc 31,28%, thời điểm tháng 3, 4, 10 và tháng 11 cũng mắc với tỷ lệ khá cao, lần lượt là 29,83%; 28,98%; 18,47% và 19,73% và cùng có các tháng liên tiếp có hệ số tháng dịch > 1, như vậy chúng tôi coi đây là các mùa dịch trong năm. Theo nhận định của chúng tôi, vào thời điểm từ tháng 2 đến tháng 4 đang là mùa đông, thời tiết lạnh kéo dài kèm theo các đợt gió mùa đông bắc dễ gây tổn thương cho phổi, tạo điều kiện cho vi khuẩn gây viêm, mặt khác thời tiết lạnh cũng thích hợp cho các loại virus, vi khuẩn tồn tại và phát triển, đặc biệt là *Mycoplasma*.

Ngược lại với khoảng thời gian trên, dịch bệnh xảy ra ít nhất vào thời điểm tháng 6 với tỷ lệ mắc là 10,20%, tỷ lệ tử vong 3,70% và cũng vào khoảng thời gian từ tháng 5-9, dịch bệnh xảy ra với tỷ lệ thấp từ 10,20% đến 17,56%, với tỷ lệ tử vong từ 3,7% đến 6,8%. Theo chúng tôi, vào khoảng thời gian này, thời tiết nắng nóng đã tạo điều kiện bất lợi cho sự lây lan và phát triển của vi khuẩn, mặt khác sức đề kháng của lợn tốt do vậy lợn ít cảm nhiễm với bệnh, khoảng thời gian này đều có hệ số tháng dịch < 1, chúng tôi coi đây là các đợt dịch lẻ tẻ trong năm.

### 3.1.4. Tỷ lệ mắc bệnh suyễn theo phương thức chăn nuôi

Trên cơ sở định hướng, quy mô của đề tài, chúng tôi tập trung vào điều tra các hộ chăn nuôi theo hai phương thức là chăn nuôi nhỏ lẻ và chăn nuôi bán công nghiệp, đây là hai phương thức chăn nuôi đang tồn tại phổ biến ở Việt Nam nói chung và tại các nơi thực hiện đề tài nói riêng. Kết quả được thể hiện ở bảng 4

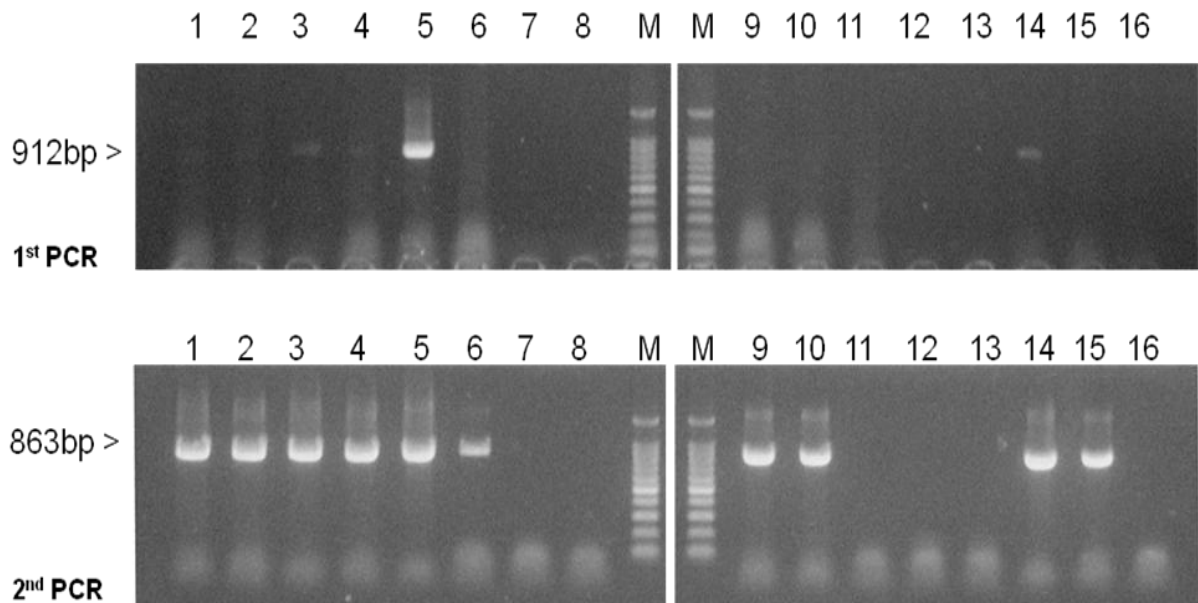
**Bảng 4. Kết quả điều tra tỷ lệ lợn nghi mắc bệnh suyễn theo phương thức chăn nuôi**

Phương thức chăn nuôi	Số lợn được điều tra	Số lợn nghi mắc	Tỷ lệ mắc (%)	Số lợn tử vong	Tỷ lệ tử vong(%)
Chăn nuôi nhỏ lẻ	3578	558	15.60	79	14.16
Chăn nuôi bán công nghiệp	16435	3510	21.36	408	11.62
<b>Tổng hợp</b>	<b>20013</b>	<b>4068</b>	<b>20.33</b>	<b>487</b>	<b>11.97</b>

Qua bảng 4 cho thấy, đối với phương thức chăn nuôi bán công nghiệp có tỷ lệ mắc 21,36%, cao hơn so với phương thức chăn nuôi nhỏ lẻ (15,6%). Phương thức chăn nuôi bán công nghiệp có tỷ lệ mắc cao là do có chuồng trại kín, chật, thấp, môi trường tiểu khí hậu chuồng nuôi bị ô nhiễm, không có sự lưu thông không khí nên lượng khí thải tồn tại nhiều trong chuồng, đây là nguyên nhân lớn gây tổn thương phổi cũng như đường hô hấp, từ đó tạo điều kiện cho vi khuẩn *Mycoplasma* gây bệnh và một số vi khuẩn khác xâm nhập vào cơ thể lợn, gây nên hiện tượng viêm phổi. Ngược lại với phương thức chăn nuôi quy mô nhỏ, lẻ (quy mô hộ gia đình chăn nuôi 1 lợn nái hoặc 3-5 con lợn thịt) do chuồng trại thông thoáng, mật độ nuôi thường thưa hơn nên có tỷ lệ mắc thấp. Tỷ lệ tử vong của phương thức chăn nuôi nhỏ lẻ là 14,16% so với phương thức chăn nuôi bán công nghiệp (11,62%). Tuy nhiên, qua kết quả tính tỷ suất chênh giữa hai phương thức chăn nuôi (OR = 0,68) chúng tôi kết luận không có sự sai khác về tỷ lệ mắc bệnh giữa phương thức chăn nuôi nhỏ lẻ và phương thức chăn nuôi công nghiệp với P < 0,001.

### 3.2. Kết quả xét nghiệm PCR với một số mẫu bệnh phẩm nghi mắc bệnh suyễn lợn

Chúng tôi lấy một số mẫu phổi lợn có biểu hiện bệnh tích đại thể đặc trưng của lợn bị mắc suyễn và tiến hành chẩn đoán xác định sự có mặt của *Mycoplasma hyopneumoniae* bằng kỹ thuật semi-nested PCR. Kết quả trình bày ở hình 2 cho thấy có 10/16 mẫu dương tính, chiếm tỷ lệ 62,5%. Mặc dù phản ứng PCR có độ nhạy và độ chính xác cao trong chẩn đoán bệnh, tuy nhiên việc thực hiện phản ứng PCR thông thường để xác định MH là tương đối khó khăn. Theo chúng tôi nguyên nhân một phần do trong quá trình lợn bị bệnh suyễn đã được người chăn nuôi điều trị với nhiều phác đồ khác nhau. Quá trình điều trị này dẫn đến việc giết chết một lượng lớn MH ở ngoại bào. Hệ quả là lượng MH được đưa vào phản ứng PCR rất ít và với một phản ứng PCR thông thường sẽ khó phát hiện được MH. Quy trình semi - nested PCR được thực hiện với 2 vòng chính là để khắc phục nhược điểm này. Theo quy trình, ADN của MH ban đầu được nhân lên bằng PCR vòng ngoài (PCR thông thường) nhưng chưa thể quan sát được do có ít bản khuôn. PCR vòng trong (semi-nested PCR) được thực hiện với ADN khuôn chính là sản phẩm của PCR vòng ngoài. Độ nhạy của phản ứng nested PCR đã được chứng minh là gấp hàng ngàn lần so với PCR thông thường và kết quả mang tính chính xác cao.



**Hình 2: Kết quả xác định *Mycoplasma hyopneumoniae* ở phổi lợn nghi suyễn**

Ghi chú: Hình trên: PCR vòng ngoài; Hình dưới: PCR vòng trong (semi-nested)

M: 100bp DNA marker 1: S1, 2: S2, 3: S3, 4: S4, 5: S5, 6: S6, 7: S7, 8: S8

9: S9, 10: S10, 11: S11, 12: S12, 13: S13, 14: S14, 15: S15, 16: S16

#### IV. KẾT LUẬN

- Về một số đặc điểm dịch tễ bệnh suyễn lợn:

+ Trên địa bàn bốn tỉnh/thành phố điều tra đều lưu hành bệnh suyễn lợn, với tỷ lệ mắc dao động từ 19,92-21,16%.

+ Trong các giai đoạn sinh trưởng của lợn thì giai đoạn lợn từ 9-<14 tuần tuổi mắc cao nhất (36,57%), lợn nái và lợn con theo mẹ có tỷ lệ mắc thấp (0,24-2,73%). Tuy nhiên, ở lợn con mắc bệnh thường có tỷ lệ tử vong cao, lợn nái mắc bệnh thường ở thể mạn tính và không có tử vong. Đặc biệt không phát hiện được bệnh ở lợn đực giống.

+ Bệnh suyễn có tính chất mùa vụ, xảy ra nhiều vào tháng 2,3,4 và tháng 10, 11 trong năm.

+ Phương thức chăn nuôi không ảnh hưởng tới tỷ lệ mắc bệnh.

- Ứng dụng kỹ thuật semi-nested PCR đã xác định được sự có mặt của MH trong bệnh phẩm của lợn, giúp chẩn đoán khẳng định và đề xuất biện pháp phòng trị bệnh có hiệu quả.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cù Hữu Phú, Nguyễn Ngọc Nhiên, Nguyễn Thu Hằng, Âu Xuân Tuấn, Nguyễn Bích Thủy, Vũ Ngọc Quý (2005). Xác định nguyên nhân gây bệnh đường hô hấp của lợn nuôi tại một số tỉnh phía Bắc. *Tạp chí KHKT thú y*, 7(4).
2. Alton G.G, G.R. Carter, A.C. Kibor và L. Pesti (1994). Chẩn đoán vi khuẩn học thú y: sổ tay chẩn đoán phòng thí nghiệm một số bệnh chọn lọc ở vật nuôi (FAO - Lê Đình Chi và Trần Minh Châu dịch). Nhà xuất bản Nông nghiệp. tr. 104-141.
3. Thacker E., 2006. Mycoplasmal diseases of swine (Eds: Straw B. E., Zimmerman J. J., D'Allaire S., and Taylor D.J.) 9<sup>th</sup> edition. Blacwell Publishing Ltd., Oxford, UK., pp 701-717.
4. Toma B., B.Dufour, M. Sanaa, J. J. Bénet, F. Moutou, A. Louzã and P. Ellis (1999). Applied veterinary epidemiology and the control of disease in populations. Copyright by AEEMA, 7 avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France.