

NGHIÊN CỨU ĐỘC LỰC TRÊN LỢN CON CỦA CHỦNG VIRUS PRRS HUA 02 ĐƯỢC PHÂN LẬP TẠI MIỀN BẮC VIỆT NAM

Lê Thị Toan¹, Nguyễn Thị Lan^{1*}, Phạm Công Hoat², Nguyễn Thị Ngọc¹, Nguyễn Thị Hoa¹

¹Khoa thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, ²Bộ Khoa học và Công nghệ

Email*: agrivet.bp@gmail.com, nguyenlan@vnua.edu.vn

Ngày gửi bài: 15.12.2016

Ngày chấp nhận: 24.01.2017

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành nghiên cứu độc lực của chủng virus PRRS HUA 02 gây hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản trên lợn 2 tháng tuổi. Lợn thí nghiệm âm tính với kháng thể kháng virus PRRS được gây nhiễm với liều 2 ml/con qua đường mũi với hiệu giá TCID₅₀ 1,74x10⁶/25 µl. Sau gây nhiễm, lợn thí nghiệm được theo dõi về triệu chứng lâm sàng, sự nhân lên của virus trong máu, và các tổn thương đại thể và vi thể ở một số cơ quan trong 21 ngày kể từ ngày gây nhiễm. Kết quả nghiên cứu triệu chứng lâm sàng đã chỉ ra rằng lợn sau gây nhiễm có triệu chứng ủ rũ, mệt mỏi, bỏ ăn, sốt cao, khó thở, tím tái và da phát ban, táo bón. Kết quả phản ứng RT-PCR cho thấy sự hiện diện của chủng virus PRRS HUA 02 trong máu sau 3 ngày gây nhiễm, và trong dịch ngoáy mũi của cơ thể sau 5 ngày gây nhiễm. Ngoài ra, kết quả Realtime PCR cho thấy lượng virus PRRS đạt mức cao nhất trong huyết thanh của lợn thí nghiệm tại 9 ngày sau khi gây nhiễm. Tổn thương đại thể chủ yếu ở lợn được gây nhiễm với chủng virus PRRS HUA 02 là phổi sưng, sung huyết, xuất huyết, viêm phổi kẽ; thận xuất huyết điểm, hạch phổi sưng to, tụ máu và xoang bao tim tích nước. Tổn thương vi thể chủ yếu ở lợn thí nghiệm là phế quản phế viêm ở phổi, xuất huyết cầu thận. Kết quả thí nghiệm cho thấy chủng virus PRRS HUA 02 có khả năng gây bệnh cho lợn thí nghiệm với biểu hiện về triệu chứng lâm sàng, biến đổi bệnh tích đại thể và vi thể giống với lợn mắc chủng virus PRRS độc lực cao gây bệnh tự nhiên được ghi nhận tại miền Bắc Việt Nam.

Từ khóa: Chủng virus PRRS HUA 02, độc lực.

Study on Virulence of PRRS Virus Strain Hua 02 Isolated in North Vietnam in Piglets

ABSTRACT

In this study, we investigated the virulence and pathogenicity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) strain HUA 02 in 8-weeks old PRRSV antibody-negative pigs. Experimental pigs were intranasally inoculated with a dose of TCID₅₀ 1,74x10⁶/25 µl (2 ml/pig). After inoculation, the pigs were recorded for clinical signs, virus replication in the blood, and macroscopic and microscopic lesions of some tissues for 21 days post inoculation. The results demonstrated that pigs infected with PRRS HUA 02 virus strain had clinical signs and symptoms of moodiness, fatigue, anorexia, high fever, rapid breathing, dyspnea, skin rash and constipation. Reverse transcription PCR (RT-PCR) results revealed the presence of PRRS HUA 02 virus strain in the blood and nasal swabs of infected pigs at 3 and 5 days post inoculation, respectively. Similarly, the viral load in serum quantified by Realtime PCR showed that the PRRSV loads were recorded in the serum at 3 days post infection, and reached highest level in all infected pigs at 9 days post infection. Macroscopic lesions consistently observed included lung inflammation, congestion, hemorrhage and interstitial pneumonia and kidneys with spotting hemorrhage. In lung the lymph nodes were characterized by swelling and hematoma, and in pericardium with hydropericarditis of pigs infected with PRRS HUA 02 virus strain. The microscopic lesions were observed mainly in lungs with bronchoalveolar inflammation, haemorrhagic lymph nodes, and hemorrhagic glomeruli. The results of our study showed that the PRRSV HUA 02 is capable of causing severe disease in pigs with clinical signs, symptoms, macroscopic and microscopic lesions similar to those of highly-pathogenic PRRS virus strain observed previously in North Vietnam.

Keywords: PRRS HUA 02 virus strain, virulence.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản ở lợn (*Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome - PRRS*) là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm trên lợn với mọi nòi giống, lứa tuổi (Hill, 1990). PRRS do một loại ARN virus với đích tấn công là các đại thực bào, dẫn đến hiện tượng suy giảm miễn dịch ở lợn, tạo điều kiện cho các virus, vi khuẩn gây bệnh khác tấn công. PRRS gây thiệt hại nặng nề đối với ngành chăn nuôi lợn. Đối với lợn nái, bệnh gây hậu quả nghiêm trọng như: lợn con sơ sinh yếu ớt, giảm số con sơ sinh/ổ, tình trạng bệnh kéo dài âm ỉ, rối loạn sinh sản, động dục kéo dài, chậm động dục trở lại. Đối với đực giống, số lượng tinh dịch giảm, chất lượng tinh dịch kém, ảnh hưởng đến tỷ lệ thụ thai và chất lượng đàn con. Lợn sau cai sữa, lợn choai có biểu hiện lợn sốt cao, bỏ ăn, lông xơ xác, có biểu hiện trên đường hô hấp và giảm tăng trọng (Nguyễn Thị Lan và Dương Thị Minh Huyền, 2012). Bệnh xuất hiện đầu tiên ở Mỹ năm 1987 và lây lan nhanh. Năm 1988, bệnh lan sang Canada và sau đó lan sang các nước Châu Âu. Năm 1991, virus được tìm thấy tại Hà Lan (Terpstra *et al.*, 1991). Năm 1998, bệnh được phát hiện ở Hàn Quốc, Nhật Bản thuộc khu vực Châu Á. Từ năm 2005 trở lại đây, bệnh lây lan khắp các nước trên toàn thế giới.

Trong các nghiên cứu gần đây của Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam đã xác định được một số triệu chứng lâm sàng, đặc điểm bệnh lý của lợn mắc PRRS tự nhiên (Nguyễn Thị Lan và cs., 2010; Tiêu Quang An và Nguyễn Hữu Nam, 2012) và cũng đã phân lập được một số chủng virus PRRS gây bệnh từ đàn lợn nuôi ở một số tỉnh phía Bắc Việt Nam trên môi trường tế bào Marc 145 (Nguyễn Thị Lan và Lương Quốc Hưng, 2012; Nguyễn Bá Hiên và cs., 2015). Tuy nhiên vẫn chưa đánh giá được hết độc lực hay khả năng gây bệnh trên lợn của các chủng virus đã phân lập. Trong các chủng phân lập được, có chủng virus PRRS HUA 02 được phân lập từ lợn có triệu chứng và bệnh tích khá điển hình của lợn mắc PRRS, gây tỷ lệ ốm, tỷ lệ chết cao. Để phục vụ mục đích lựa chọn chủng chế tạo vaccin, đánh giá hiệu quả của vaccin hoặc sản xuất chế phẩm sinh học

phòng trị bệnh cho vật nuôi thì việc nghiên cứu độc lực hay khả năng gây bệnh của các chủng virus phân lập được là vô cùng quan trọng và cấp thiết. Xuất phát từ thực tế trên chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu: “Nghiên cứu độc lực trên lợn con của chủng virus PRRS Hua 02 được phân lập tại miền Bắc Việt Nam”.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

- Động vật: Nghiên cứu được tiến hành trên 2 lô lợn: lô thí nghiệm (5 lợn: TN1, TN2, TN3, TN4, TN5) và lô đối chứng (3 lợn: ĐC1, ĐC2 và ĐC3), tất cả là lợn sau cai sữa thuộc giống Yorkshire, có khối lượng từ 10 - 12 kg/con, chưa tiêm phòng vaccin PRRS. Trước khi tiến hành gây nhiễm, toàn bộ lợn thí nghiệm được lấy máu kiểm tra kháng thể kháng PRRSV bằng phương pháp ELISA và kiểm tra virus PRRS bằng phương pháp RT-PCR. Lợn được chọn làm thí nghiệm phải có kết quả âm tính với kháng thể kháng virus PRRS và âm tính với virus PRRS.

- Chủng giống virus PRRS HUA 02 được phân lập từ hạch phổi của lợn nái có triệu chứng lâm sàng và bệnh tích điển hình của lợn mắc PRRS ở tỉnh Hưng Yên năm 2013. Hiệu giá của chủng virus PRRS HUA 02 đạt $1,74 \times 10^6$ TCID₅₀/25 µl. Chủng virus đang được lưu giữ và bảo quản tại Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ sinh học Thú y, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp RT-PCR

Bao gồm các bước tách chiết RNA của virus và các bước thực hiện kỹ thuật RT-PCR. RNA của virus được tách chiết bằng kit QIAamp của hãng Qiagen (Đức). “Quy trình tách chiết của virus theo hướng dẫn của nhà sản xuất”. Phản ứng RT-PCR được thực hiện theo quy trình của bộ kit:

Cặp mồi được sử dụng là: Cặp mồi ORF5 (mũi xuôi: ATG TTG GGG AAG TGC TTG ACC, mũi ngược: CTA GAG ACG ACC CCA TTG TTC

CGC) (Feng, 2008), cặp mồi này cho phép xác định đoạn gen có kích thước 720 bp trong đó có chứa đoạn gen ORF5 của virus PRRS có kích thước 603 bp. Tiến hành khuếch đại sản phẩm trong máy PCR với chu kỳ nhiệt: 50°C: 30 phút, 95°C: 15 phút; 35 chu kỳ (95°C: 30 giây, 50°C: 30 giây, 72°C: 1 phút); 72°C: 1 phút, 4°C: kết thúc. Điện di kiểm tra kết quả RT-PCR ở hiệu điện thế 100 V trong 30 phút. Quan sát và chụp ảnh kết quả điện di sản phẩm RT-PCR trên máy chụp ảnh gel.

2.2.2. Phương pháp Realtime PCR

Từ mẫu tách chiết RNA, sử dụng RT-PCR kit (Invitrogen superscript IIIqRT-PCR kit (No.11732-020)), các đoạn mồi và Probe (xem bảng dưới)

Chuẩn bị trộn các thành phần cho 1 phản ứng với dung lượng 15 µl gồm có: Nước, 2X reaction, Probe, mồi xuôi, mồi ngược, enzyme và RNA mẫu.

Khuếch đại sản phẩm bằng máy Realtime PCR với chu kỳ nhiệt: 50°C: 15 phút; 95°C: 2 phút; 40 chu kỳ: 95°C: 15 giây; 60°C: 15 giây.

Đọc kết quả: (+) Mẫu dương tính với giá trị $Ct < 35$; (-) Mẫu âm tính với giá trị $Ct \geq 35$ hoặc

giá trị $Ct = N/A$ (Ct – cycle threshold): Chu kỳ ngưỡng được định nghĩa là số chu kỳ PCR mà ở đó tín hiệu huỳnh quang đặc hiệu lớn hơn ngưỡng. Nói khác đi, đó là số chu kỳ của phản ứng realtime PCR ở đó tín hiệu đặc hiệu vượt khỏi tín hiệu nền).

2.2.3. Gây bệnh thực nghiệm

Bố trí thí nghiệm: Lợn thí nghiệm được chia thành 2 lô: Lô thí nghiệm 5 con (kí hiệu từ TN1 đến TN5) và lô đối chứng 3 con (kí hiệu ĐC1, ĐC2 và ĐC3).

Thí nghiệm: Khu thí nghiệm được đảm bảo có độ an toàn sinh học cấp II: Vệ sinh sạch sẽ, thường xuyên phun thuốc sát trùng và vô trùng các dụng cụ sử dụng đúng quy định, có màng lọc không khí không ngăn chặn mầm bệnh từ bên ngoài vào và từ phòng gây nhiễm sang phòng đối chứng. Nhiệt độ phòng duy trì từ 30 - 32°C, độ ẩm không quá 90%, lợn được cho ăn 3 bữa/ngày (sáng, trưa, tối) theo khẩu phần của lợn sau cai sữa bằng thức ăn công nghiệp.

Gây nhiễm cho lợn: Nhóm lợn thí nghiệm được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02 vào cơ thể lợn qua qua đường mũi bằng lọ nhỏ mũi với liều 2 ml/con, hiệu giá $1,74 \times 10^6/25 \mu\text{l}$.

Virus	Primer/Probe	Trình tự (5'-3')	Nhuộm huỳnh quang
Virus PRRS	Probe (FAO)	CGCGTAGAACTGTGACAACAACGCTGA	Hex
	Mồi xuôi (FAO)	CCCAAGCTGATGACACCTTTG	
	Mồi ngược (FAO)	AATCCAGAGGCTCATCCTGGT	



Hình 1. Gây nhiễm virus bằng cách nhỏ qua niêm mạc mũi

Theo dõi lợn sau khi gây nhiễm: thể trạng, tình hình sức khỏe, tình trạng ăn uống bằng quan sát và ghi chép hàng ngày. Theo dõi thân nhiệt của lợn thí nghiệm bằng cách đo nhiệt kế ở hậu môn của lợn 2 lần/ngày vào 9 giờ sáng và 17 giờ chiều. Tiến hành lấy máu ở vịnh tĩnh mạch cổ của lợn và dịch ngoáy xoang mũi vào các thời điểm 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 và 21 ngày sau gây nhiễm để kiểm tra sự có mặt của virus trong cơ thể lợn thí nghiệm. Máu và dịch ngoáy xoang mũi được bảo quản lạnh trong thùng đá và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong ngày.

2.2.4. Xác định bệnh tích đại thể và vi thể

Quy trình mổ khám: Lợn được mổ khám theo tiêu chuẩn TCVN 8402:2010 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2010).

Các lợn thí nghiệm sẽ được mổ khám khi chết trong quá trình theo dõi hoặc sau thời gian theo dõi (21 ngày), ghi chép, chụp ảnh để thu thập thông tin về bệnh tích đại thể. Các mẫu cơ quan từ những lợn mổ khám trên như dạ dày, ruột non, ruột già, hạch lympho, gan, phổi, thận... sẽ cố định trong formol 10% để làm tiêu bản xác định biến đổi vi thể.

Làm tiêu bản vi thể: Bệnh phẩm được cố định bằng formol 10%, đúc parafin bằng hệ thống chuyển đúc mô tự động STP 120. Các tiêu bản được cắt ở độ dày 2 - 7 μ m, sau đó nhuộm bằng phương pháp HE (Haematoxylin Eosin).

2.2.5. Xử lý số liệu

Số liệu thân nhiệt của lợn thí nghiệm trước và sau gây nhiễm, hàm lượng kháng thể của lợn thí nghiệm được phân tích bằng Microsoft Office Excel 2007.

Các tài liệu tham khảo trong bài báo được trích dẫn bằng phần mềm EndNote X7.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả kiểm tra sự xuất hiện và bài thải virus

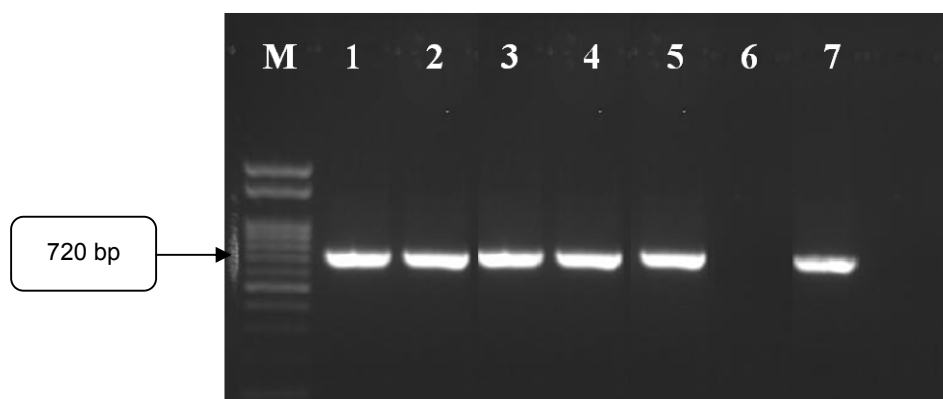
Sự xuất hiện virus trong máu, dịch ngoáy xoang mũi sau khi gây nhiễm được xác định bằng phương pháp RT-PCR, kết quả được trình bày ở bảng 1 và hình 2.

Qua bảng 1 và hình 2 chúng tôi thấy các lợn thí nghiệm được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02 sau ngày gây nhiễm thứ 3 đã có sự xuất hiện của virus PRRS trong máu, đến ngày thứ 5

Bảng 1. Kết quả xét nghiệm sự có mặt của virus PRRS bằng phương pháp RT-PCR

Ngày gây nhiễm	Lô TN gây nhiễm chủng PRRS HUA 02		Lô đối chứng	
	Máu (Số mẫu (+)/số mẫu kiểm tra)	Dịch ngoáy mũi (Số mẫu (+)/số mẫu kiểm tra)	Máu (Số mẫu (+)/số mẫu kiểm tra)	Dịch ngoáy mũi (Số mẫu (+)/số mẫu kiểm tra)
1	0/5	0/5	0/3	0/3
3	4/5	0/5	0/3	0/3
5	5/5	4/5	0/3	0/3
7	5/5	5/5	0/3	0/3
9	5/5	5/5	0/3	0/3
11	5/5	5/5	0/3	0/3
13	5/5	5/5	0/3	0/3
15	4/4	4/4	0/3	0/3
17	4/4	4/4	0/3	0/3
19	4/4	4/4	0/3	0/3
21	4/4	4/4	0/3	0/3

Ghi chú: Lô TN: Lô lợn thí nghiệm; (+) Dương tính



Hình 2. Kết quả phản ứng RT-PCR với mỗi khuếch đại đoạn gen ORF5 sau 7 ngày gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02

Ghi chú: Thang chuẩn M 100 bp; giếng từ 1 - 5 là mẫu máu của 5 lợn gây nhiễm chủng PRRS HUA 02 sau 5 ngày, giếng 6 là đối chứng âm (nước tinh khiết không chứa RNA và DNA); giếng 7 là đối chứng dương (RNA của vacxin PRRS). Với kích thước vạch DNA là 720 bp.

sau gây nhiễm thì thấy virus xuất hiện ở cả dịch ngoáy mũi. Trong khi đó, lợn đối chứng cho kết quả âm tính và hoàn toàn khỏe mạnh. Chứng tỏ chúng tôi đã gây nhiễm thành công cho lợn. Ở ngày thứ 14 sau gây nhiễm, lợn TN3 ở lô gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02 đã chết với triệu chứng lâm sàng và bệnh tích điển hình của lợn bị mắc PRRS. Lợn còn lại đều có biểu hiện

lâm sàng đặc trưng của lợn mắc virus PRRS và vẫn được lấy máu và dịch ngoáy mũi để xét nghiệm sự có mặt của virus và kết quả đều dương tính với virus PRRS đến hết thời gian theo dõi (21 ngày sau gây nhiễm). Lợn thí nghiệm được gây nhiễm virus PRRS chết được tiến hành mổ khám và lấy mẫu để chẩn đoán bằng phương pháp RT-PCR. Kết quả đã chỉ ra

Bảng 2. Kết quả xác định hàm lượng của virus PRRS trong máu bằng phương pháp Realtime-PCR

Ngày	Lô gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02		Lô đối chứng	
	Ct _{tb}	Kết quả	Ct _{tb}	Kết quả
1	41,23 ± 0,31	-	N/A	-
3	27,27 ± 0,22	+	N/A	-
5	18,24 ± 0,34	+	N/A	-
7	16,87 ± 0,27	+	N/A	-
9	16,11 ± 0,25	+	N/A	-
11	18,85 ± 0,16	+	N/A	-
13	20,52 ± 0,31	+	N/A	-
15	20,57 ± 0,34	+	N/A	-
17	25,65 ± 0,37	+	N/A	-
19	26,57 ± 0,12	+	N/A	-
21	28,38 ± 0,21	+	N/A	-

Ghi chú: Ct_{tb}: Giá trị Ct trung bình của các lợn thí nghiệm; (+) Mẫu dương tính; (-) Mẫu âm tính

các lợn chết trong thí nghiệm này đều dương tính với virus PRRS. Dựa vào triệu chứng lâm sàng, bệnh tích đại thể và kết quả chẩn đoán bằng RT-PCR đã chỉ ra lợn TN3 chết do virus PRRS gây ra.

Bên cạnh việc chẩn đoán bằng phương pháp RT-PCR để xác định sự có mặt của virus PRRS, chúng tôi còn sử dụng phương pháp Realtime PCR để xác định hàm lượng virus PRRS trong máu của các lợn thí nghiệm. Kết quả được biểu diễn ở bảng 2.

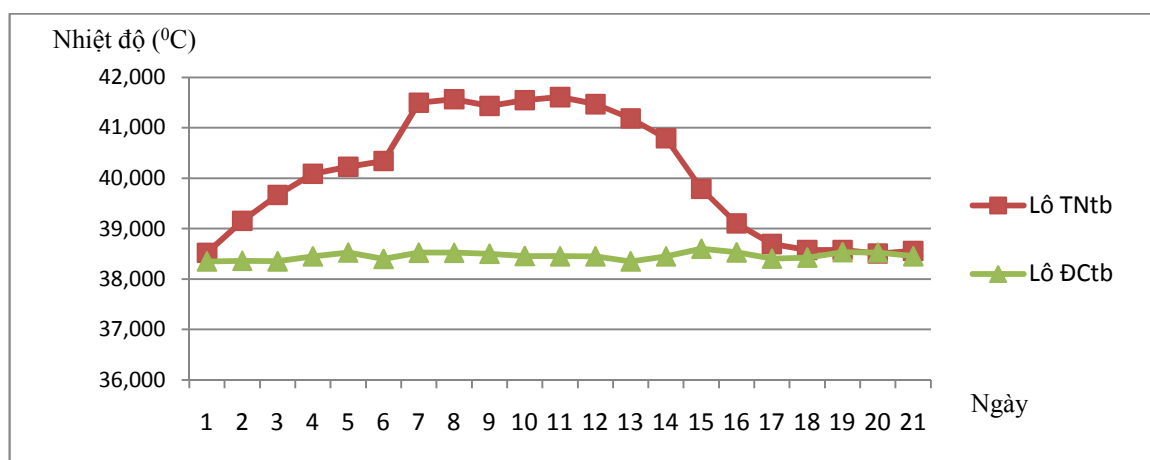
Qua bảng 2 có thể thấy kết quả Realtime PCR rất phù hợp với kết quả RT-PCR ở trên. Ngày thứ 3 sau gây nhiễm, virus xuất hiện trong máu của các lợn thí nghiệm được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02 với giá trị $C_t = 27,27 \pm 0,22$. Sau đó virus tiếp tục nhân lên trong máu làm cho hàm lượng virus trong máu của các lợn thí nghiệm tăng lên và đạt giá trị cao nhất ở ngày số 9 với giá trị $C_{tb} = 16,11 \pm 0,25$. Ở các ngày tiếp theo, hàm lượng virus trong máu của các lợn thí nghiệm vẫn giữ ở mức khá cao, nhưng có xu hướng giảm dần đến ngày theo dõi số 21 (mổ khám các lợn thí nghiệm còn lại) thể hiện ở giá trị C_{tb} tăng dần. Giá trị C_t càng tăng cao đồng nghĩa với hàm lượng virus càng giảm và ngược lại. Ở lô đối chứng, tất cả các ngày theo dõi và lấy máu đều không thấy xuất hiện virus trong máu, thể hiện ở giá trị C_t không được xác định ($C_t = N/A$).

3.2. Kết quả triệu chứng lâm sàng chủ yếu của lợn được gây nhiễm

3.2.1. Thân nhiệt của lợn được gây bệnh thực nghiệm với chủng PRRS HUA 02

Sau khi gây bệnh, chúng tôi tiến hành đo thân nhiệt hằng ngày của lợn vào thời điểm cố định là 9 giờ sáng và 17 giờ chiều. Sau đó ghi chép lại, xử lý số liệu qua Excel và được thể hiện ở hình 3. Lợn sốt nếu thân nhiệt lớn hơn $39,5^{\circ}\text{C}$. Qua hình 3 có thể thấy các lợn thí nghiệm đều có biểu hiện sốt cao.

Lợn thí nghiệm được gây nhiễm sau 2 ngày, nhiệt độ dao động trong phạm vi sinh lý bình thường, sau 3 - 4 ngày gây bệnh, lợn bắt đầu có biểu hiện sốt và các lợn giữ thân nhiệt ở mức cao từ ngày số 7 đến ngày số 14 sau gây nhiễm. Lợn có hiện tượng sốt là do virus tấn công vào cơ thể, phá huỷ tế bào và sản sinh các chất độc, kích thích vào trung khu điều hoà nhiệt, làm rối loạn trung khu điều hoà nhiệt, gây hiện tượng sốt cao, kèm theo đó là hiện tượng mệt mỏi, giảm ăn hoặc bỏ ăn. Lợn đối chứng có nhiệt độ dao động trong phạm vi sinh lý bình thường. Theo nghiên cứu của Ishibata *et al.* (2000), lợn bắt đầu sốt vào ngày 2 - 3 sau gây nhiễm virus PRRS, thân nhiệt của lợn đạt mức cao nhất sau gây nhiễm ở ngày thứ 5 và 9, tình trạng sốt kéo dài khoảng 15 - 16 ngày và trở về ngưỡng sinh lý bình thường. Tương tự như nghiên cứu của Li *et al.*,



Hình 3. Thân nhiệt trung bình của lợn sau khi gây bệnh thực nghiệm với chủng virus PRRS HUA 02 ($^{\circ}\text{C}$)

(2014), lợn thí nghiệm sau khi gây nhiễm chủng cường độc WUH2 được phân lập tại Trung Quốc, cũng cho thấy hiện tượng sốt từ ngày thứ 2 sau gây nhiễm và thân nhiệt đạt mức cao nhất ở ngày thứ 10 với thân nhiệt trung bình của lợn thí nghiệm khoảng 41,7°C. Như vậy, kết quả diễn biến thân nhiệt của lợn thí nghiệm được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02 tương tự với một số chủng cường độc của các nghiên cứu Ishibata *et al.* (2000) và Li *et al.* (2014), Nguyễn Thị Lan và cs. (2014).

3.2.2. Triệu chứng lâm sàng chủ yếu của lợn được gây nhiễm với chủng virus PRRS HUA 02

Lợn thí nghiệm và lợn đối chứng đều được theo dõi triệu chứng lâm sàng sau 21 ngày, kết quả theo dõi được ghi chép lại theo từng ngày và tổng hợp ở bảng 3.

Qua bảng 3 chúng tôi thấy 100% các lợn ở lô thí nghiệm đều có biểu hiện triệu chứng của PRRS sau gây nhiễm và có 1/5 lợn thí nghiệm bị chết vào ngày số 14, chiếm tỉ lệ 20% tổng số động vật ở lô thí nghiệm. Triệu chứng lâm sàng chủ yếu của lợn được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02 là: sốt cao, giảm ăn, bỏ ăn, ho khó thở, thở thở chó ngồi (Hình 7), tím tai, mắt có dử, chảy nước mắt, nước mũi (Hình 6), táo

bón, tiêu chảy và có các nốt ban trên cơ thể lợn thí nghiệm (Hình 5). Mức độ nặng nhẹ của triệu chứng gần như giống nhau ở các lợn thí nghiệm. Trong khi đó lợn đối chứng vẫn ăn uống và khỏe mạnh bình thường.

Trong nghiên cứu thực nghiệm bằng gây nhiễm chủng virus PRRS HuN4 cho lợn, tác giả Liu *et al.* (2010) đã mô tả tiến trình phát bệnh như sau, đầu tiên lợn có biểu hiện giảm tính thèm ăn, giảm tăng trọng, tăng thân nhiệt và tiếp đến là các triệu chứng của hệ hô hấp như: khó thở, ho, chảy nhiều dịch mũi đặc giống đờm. Từ 10 - 21 ngày gây nhiễm nhiều lợn thí nghiệm có biểu hiện liệt 2 chân sau, run cơ, tiêu chảy nặng, đỏ vùng da mỏng, cạnh tai chuyển dần sang màu xanh. Kết quả nghiên cứu triệu chứng lâm sàng của lợn thí nghiệm sau khi gây nhiễm PRRS HUA 02 tương đối giống với kết quả nghiên cứu của Liu *et al.* (2010) về các triệu chứng của lợn trên đường hô hấp, tuy nhiên có điểm khác biệt đó là 5 lợn trong nghiên cứu này đều không có biểu hiện liệt chân và run cơ như nghiên cứu của Liu *et al.* (2010). Ngoài ra, kết quả về triệu chứng của lợn thí nghiệm được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02 tương tự với công bố của Halbur *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 2015; Leng *et al.*, 2012 và Park *et al.*, 2014.

Bảng 3. Triệu chứng của lợn được gây nhiễm với chủng virus PRRS HUA 02

Lô thí nghiệm	Lợn thí nghiệm	Triệu chứng lâm sàng	Ghi chú
Lô TN	TN1	Giảm, bỏ ăn, sốt cao, khó thở, ho, mắt nhiều dử, phát ban, tím tai, táo bón sau đó tiêu chảy	Mổ khám sau 21 ngày theo dõi
	TN2	Giảm ăn, bỏ ăn, sốt cao, khó thở, tím tai, ho, phát ban, sưng mí mắt, chảy nước mũi	Mổ khám sau 21 ngày theo dõi
	TN3	Giảm ăn, bỏ ăn, lông xù, da khô, mắt, mũi nhiều dử và chảy nhiều nước mũi, khó thở nặng, ho, tím tái vùng tai và da mỏng, táo bón rồi tiêu chảy	Chết sau 14 ngày sau gây nhiễm
	TN4	Giảm ăn, sốt cao, chảy nước mũi, khó thở	Mổ khám sau 21 ngày theo dõi
	TN5	Giảm ăn, sốt cao, chảy nước mũi, khó thở, lông khô	Mổ khám sau 21 ngày theo dõi
Lô đối chứng	3 lợn đối chứng	Lợn khỏe mạnh, ăn uống bình thường	Không chết

Ghi chú: TN1 - TN5: 5 lợn thí nghiệm được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02



Hình 4. Lợn mệt mỏi lười vận động



Hình 5. Lợn xuất huyết



Hình 6. Mí mắt sưng, có nhiều dử mắt



Hình 7. Lợn thở như chó ngồi

3.3. Nghiên cứu biến đổi bệnh lý của lợn thực nghiệm

3.3.1. Kết quả bệnh tích đại thể của lợn được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02

Sau khi gây nhiễm virus PRRS, các lợn bị chết sẽ được tiến hành mổ khám ngay để quan sát bệnh tích và những lợn còn lại cũng được mổ khám ở ngày 21 (sau khi kết thúc thí nghiệm) để quan sát, ghi chép lại bệnh tích đại thể. Bệnh tích đại thể trên các cơ quan của lợn thí nghiệm được trình bày trong bảng 4.

Từ bảng 4 chúng tôi thấy khi mổ khám các lợn thí nghiệm ở lô được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02 có biểu hiện bệnh tích đại thể ở phổi, hạch lympho chiếm tỷ lệ cao nhất.

Bệnh tích ở phổi: Phổi xuất huyết tạo ra các đám, các mảng loang lổ, hình dạng phổi bẹp áp sát vào khung sườn, bề mặt phổi, rìa phổi có dịch nhầy đặc, mặt cắt phổi có mủ, một số lợn bệnh có bệnh tích viêm phổi dính sườn. Phổi của lợn mắc PRRS bị thủy thũng, sưng to làm cho bề mặt phổi căng lên bóng láng, viêm kẽ phổi điển hình. Nghiên cứu về bệnh tích của lợn mắc PRRS. XiaoLei *et al.* (2009) ở trường Đại học Nông nghiệp Shandong Trung Quốc (2009) đã gây nhiễm nhân tạo chủng virus PRRS (VR-2332) cho lợn thí nghiệm và quan sát thấy triệu chứng phổi nhục hóa rất nghiêm trọng.

Hạch lympho: Các lợn thí nghiệm đều có biểu hiện bệnh tích ở các hạch lympho, đặc biệt là hạch phổi, hạch amidan, hạch dưới hàm, hạch

Bảng 4. Bệnh tích đại thể của lợn thí nghiệm gây nhiễm chủng PRRS HUA 02

Cơ quan	Bệnh tích các cơ quan	Gây nhiễm PRRS HUA 02					Đối chứng		
		TN1	TN2	TN3	TN4	TN5	ĐC1	ĐC2	ĐC3
Hạch lympho	Sưng	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
	Xuất huyết	++	++	++	+++	+++	-	-	-
Phổi	Viêm	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
	Xuất huyết	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-
	Mặt cắt phổi nhót	++	++	++	+	++	-	-	-
Tim	Tích nước xoang bao tim	++	-	++	+	-	-	-	-
	Cơ tim nhão	+	++	++	+	-	-	-	-
Lách	Sưng	+++	++	+	+	++	-	-	-
	Nhồi huyết	++	++	++	+	-	-	-	-
Ruột	Điểm hoại tử	+	++	+	-	-	-	-	-
	Sung huyết	++	++	++	+	+	-	-	-
	Bị bào mòn	+	++	++	+	-	-	-	-
	Xuất huyết	++	++	++	-	-	-	-	-
Thận	Xuất huyết điểm	+++	-	++	+++	++	-	-	-
	Sung huyết	++	-	+	++	++	-	-	-
Dạ dày	Xuất huyết	+	++	++	-	-	-	-	-
Não	Sung huyết	+	++	+	-	-	-	-	-
Gan	Sưng	+	+	++	-	-	-	-	-
	Sung huyết	++	+	+	-	-	-	-	-
	Điểm thoái hoá, hoại tử	++	-	+	-	-	-	-	-

Ghi chú: (+++): Nặng, (++) : Trung bình, (+): Nhẹ, (-): Không biểu hiện; TN1 - TN5: 5 lợn thí nghiệm được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02; ĐC1, ĐC2, ĐC3: Lợn đối chứng 1, lợn đối chứng 2 và lợn đối chứng 3.

bẹn nông đều sưng to và xuất huyết. Các hạch lympho tụ máu sưng to, tụ máu nhất là các hạch lympho vùng phổi. Quan sát các hạch này đều thấy hạch to hơn bình thường 3 - 5 lần, màu đỏ thẫm, có trường hợp xuất huyết, cắt đôi hạch có dịch màu hồng chảy ra. Tác giả Li *et al.* (2010) thuộc trường Đại học Nông nghiệp Mongolia cho biết, khi lợn mắc PRRS thì hạch màng treo ruột xuất huyết rất nặng. Tổn thương ở hệ thống hạch phổi, hạch amidan, hạch màng treo ruột cũng được khẳng định qua nghiên cứu của Ding *et al.* (2005).

Bệnh tích ở tim: Màng bao tim có hiện tượng viêm dính, xoang ngực có chứa nhiều dịch trắng đục. Cơ tim thường nhạt màu, nhão, mất đi độ rắn chắc. Nguyên nhân là do quá trình viêm ở phổi làm cho lợn mắc PRRS khó thở và để đáp ứng nhu cầu oxy cho hô hấp thì tim phải tăng

cường hoạt động bù và khi hoạt động quá mức cơ tim bị thoái hoá là điều không tránh khỏi.

Bệnh tích ở thận: Thận xuất huyết lấm chấm giống đầu đinh ghim, khi bổ đôi thận thấy các bề thận xuất huyết rất nặng. Nếu chỉ quan sát bệnh tích ở lách, thận và hạch màng treo thì chúng ta sẽ nhầm với bệnh dịch tả lợn. Nghi ngờ điều này, chúng tôi chẩn đoán sự có mặt của virus dịch tả lợn, tuy nhiên các mẫu nghi đều cho kết quả âm tính. Thận xuất huyết điểm là bệnh tích chủ yếu ở thận. Có nhiều điểm xuất huyết trên bề mặt thận và cả trong mô thận. Ngoài ra, còn thấy hiện tượng tụ huyết ở thận, nhưng biến đổi này rất ít.

Bệnh tích ở gan: Nhiều con có biểu hiện gan khác thường, hơi sưng, trên bề mặt có các mảng đen hoại tử, bệnh tích này chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ.

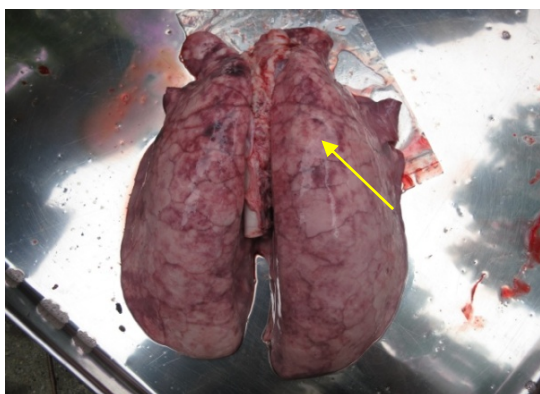
Bệnh tích ở dạ dày, ruột: Bệnh tích ở dạ dày và ruột của lợn thí nghiệm được gây bệnh thực

nghiệm không phải là bệnh tích chủ yếu. Tuy nhiên, chúng tôi đã quan sát được ở một số lợn có biểu hiện dạ dày xuất huyết, ruột xuất huyết ở nhiều đoạn khác nhau, tuy nhiên bệnh tích nặng nhất là ở hạch màng treo ruột.

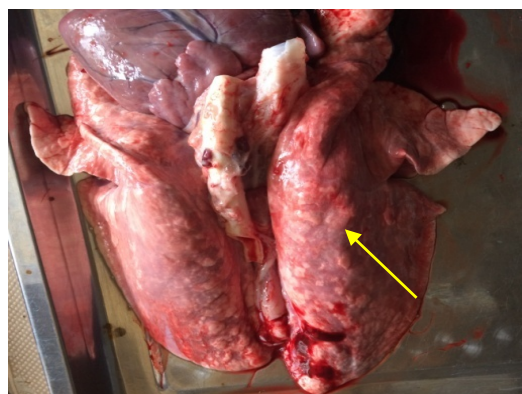
Bệnh tích ở lách: Lách lợn thí nghiệm thường sẫm sù. Lách nhồi huyết cũng là biểu hiện mà chúng tôi quan sát được, tuy nhiên hiện tượng nhồi huyết không đặc trưng chỉ thấy toàn bộ lách của lợn mắc PRRS tụ máu làm cho lách to hơn bình thường, có trường hợp lách tím lại do tụ máu. Năm 2009, khi gây bệnh thực nghiệm cho lợn với chủng virus cường độc VR 2332, XiaoLei *et al.* (2009) đã mô tả bệnh tích lách viêm, xuất huyết kèm theo

hiện tượng nhồi huyết vùng rìa lách. Qua quan sát bệnh tích của lách lợn thí nghiệm chúng tôi thấy có nhiều nét tương đồng với các nghiên cứu trên

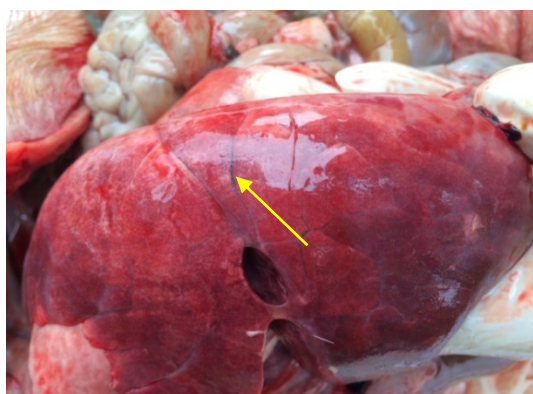
Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Lan và cs. (2014) sau khi gây nhiễm thực nghiệm chủng virus cường độc BN-10 cho lợn thí nghiệm cũng chỉ ra bệnh tích đại thể tập trung chủ yếu ở phổi, hạch lympho, thận, lách, kết quả này phù hợp với nhận định của nhiều tác giả trong các nghiên cứu của (Phạm Ngọc Thạch và Đàm Văn Phải, 2007) và (Nguyễn Thị Lan và cs., 2010). Có thể kết luận chủng virus PRRS HUA 02 là chủng virus có khả năng gây bệnh tương đương với các chủng virus cường độc.



Hình 8. Viêm kê phổi



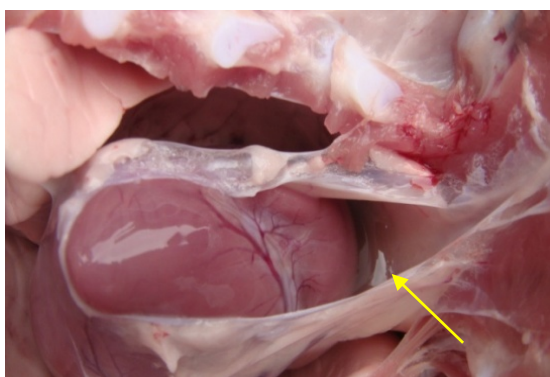
Hình 9. Phổi viêm, xuất huyết



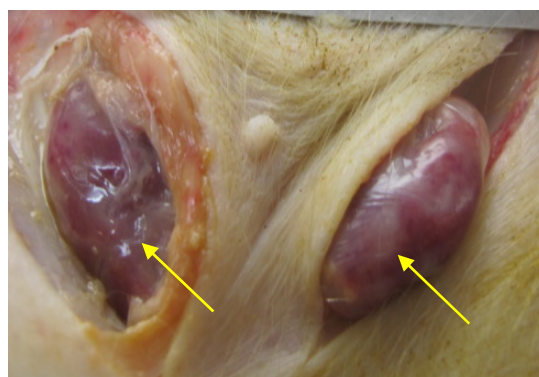
Hình 10. Phổi viêm, bề mặt phổi căng bóng



Hình 11. Hạch màng treo ruột tụ máu



Hình 12. Xoang bao tim tích nước



Hình 13. Hạch bẹn nông xuất huyết

3.3.2. Kết quả bệnh tích vi thể của lợn được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02

Với lợn thí nghiệm sau khi mổ khám quan sát bệnh tích đại thể, chúng tôi tiến hành lấy mẫu các bộ phận như: Gan, thận, lách, phổi, hạch lympho, tim, ruột, dạ dày, não ngâm bảo quản bằng formol 10%, rồi làm tiêu bản vi thể. Bệnh tích vi thể của lợn thí nghiệm được trình bày ở bảng 5.

Nhận xét: Qua kết quả nghiên cứu về đặc điểm bệnh tích vi thể của lợn được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02 đều cho kết quả bệnh tích vi thể tương tự nhau và rất phù hợp với bệnh tích đại thể của các lợn đã nghiên cứu ở trên.

Bệnh tích vi thể ở phổi: Kết quả cho thấy phổi của tất cả lợn bệnh đều có bệnh tích vi thể chủ yếu là thâm nhiễm viêm, trong lòng các phế nang chứa đầy dịch rỉ viêm, tế bào viêm, các phế nang bị nhàn, hình thành các tế bào khổng lồ nhiều nhân và các đại thực bào bị phân hủy trong phế nang. Qua nghiên cứu chúng tôi thấy bệnh tích vi thể đáng chú ý nhất của các lợn thí nghiệm là những biến đổi ở phổi. Lợn thí nghiệm có hiện tượng viêm kẽ phổi tăng sinh. Cận tế bào đại thực bào và tế bào lympho nằm trong kẽ phổi đồng thời phổi xuất hiện tế bào xơ. Mức độ xơ hóa cũng không đồng đều ở các con mà tùy thuộc vào tiến triển của bệnh. Virus xâm nhiễm và phá hủy các đại thực bào phế nang. Lòng phế nang tràn dịch và xâm nhiễm tế bào viêm như tế bào đơn nhân lớn, bạch cầu đa nhân trung tính (BCĐNTT), lympho bào.

Trong các tiêu bản bệnh phẩm xuất hiện vùng phế quản - phế viêm, vùng tổn thương xen kẽ vùng lành. Vùng trung tâm là một phế quản viêm nặng còn xung quanh là các phế nang viêm ở các mức độ khác nhau, nặng nhất là các phế nang tiếp giáp với phế quản, các phế nang càng xa phế quản thì viêm càng nhẹ. Trong lòng phế quản chứa đầy BCĐNTT thoái hóa hoặc không thoái hóa, tế bào biểu mô long ra. Vách phế quản xung huyết đôi khi bị phù, thâm nhiễm BCĐNTT có khi tập trung thành từng đám lớn che khuất cả cấu trúc phế quản. Ngoài ra chúng tôi còn tìm thấy thể vùi trong nguyên sinh chất những tế bào bị virus phá hủy. Những biến đổi này cũng thấy trong báo cáo kết quả của Li *et al.* (2007) khi nghiên cứu về virus chủng độc lực cao tại miền Trung của Trung Quốc.

Phổi xuất huyết giữa lòng phế quản và phế nang chứa đầy hồng cầu màu đỏ tươi. Nhiều tế bào phổi bị hoại tử và có huyết khối nhỏ trong lòng mạch quản do các thành phần máu tách ra và đông lại. Kết quả bệnh tích ở phổi cho thấy sự tương đồng với kết quả nghiên cứu của Tiêu Quang An và Nguyễn Hữu Nam (2011).

Bệnh tích vi thể ở hạch lympho: Quan sát cho thấy đa số các hạch đều bị xuất huyết. Hạch bị thoái hóa, hoại tử và thâm nhiễm tế bào viêm như đại thực bào, bạch cầu đa nhân trung tính, lympho bào...

Bệnh tích vi thể ở lách: Lách sung huyết, thoái hóa và hoại tử. Trên tiêu bản lách thấy

Bảng 5. Bệnh tích vi thể chủ yếu của lợn được gây bệnh thực nghiệm chủng virus PRRS HUA 02

Cơ quan	Bệnh tích cơ quan	Lô gây nhiễm virus PRRS HUA 02					Đối chứng		
		TN1	TN2	TN3	TN4	TN5	ĐC1	ĐC2	ĐC3
Phổi	Xuất huyết	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
	Sung huyết	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
	Thâm nhiễm tế bào viêm	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
	Phế quản- phế viêm	+++	+++	+++	++	+++	-	-	-
Hạch lympho	Xuất huyết	+++	+++	+++	++	+++	-	-	-
	Sung huyết	++	++	+++	++	+++	-	-	-
	Tăng sinh nang lympho	++	++	++	++	++	-	-	-
Gan	Sung huyết	++	+	++	+	+	-	-	-
	Thoái hóa tế bào	++	-	+	-	-	-	-	-
Lách	Xuất huyết	++	-	++	++	++	-	-	-
	Thoái hóa tế bào	+	+	++	-	-	-	-	-
Thận	Viêm kẽ thận	++	++	++	++	++	-	-	-
	Sung huyết	+++	+++	++	+++	+++	-	-	-
	Xuất huyết	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-
Ruột	Thâm nhiễm tế bào viêm	++	++	++	+	+	-	-	-
	Sung huyết	+	+	-	+	-	-	-	-
	Xuất huyết	++	++	++	+	+	-	-	-
Não	Sung huyết	+	++	+	-	-	-	-	-
Dạ dày	Xuất huyết	+	++	++	-	-	-	-	-
Tim	Thâm nhiễm tế bào viêm	+	+	+	-	-	-	-	-
	Thoái hóa tế bào	-	+	+	-	-	-	-	-
	Xuất huyết	++	-	++	+	-	-	-	-

Ghi chú: (+++): Nặng, (++) : Trung bình, (+): Nhẹ, (-): Không biểu hiện; TN1 - TN5: 5 lợn thí nghiệm được gây nhiễm chủng virus PRRS HUA 02 ; ĐC1, ĐC2, ĐC3: Lợn đối chứng 1, lợn đối chứng 2 và lợn đối chứng 3.

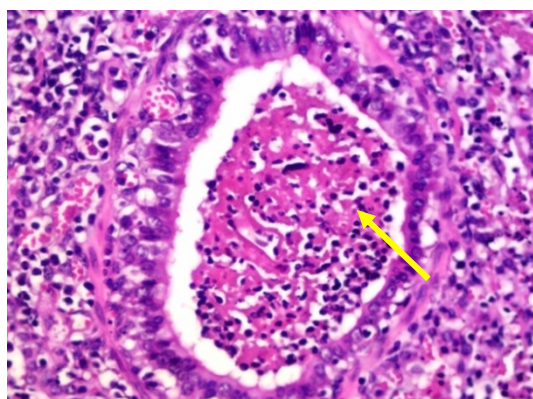
vách đứt nát, các tế bào thoái hoá xen kẽ với các tế bào lành, thâm nhiễm hồng cầu lan tràn trong nhu mô lách. Lách có hiện tượng nhồi huyết, thâm nhiễm tế bào viêm ở cả vùng tủy trắng và tủy đỏ.

Bệnh tích vi thể ở thận: Bệnh tích vi thể ở thận chủ yếu là biểu hiện viêm kẽ thận. Ngoài ra còn quan sát thấy những biến đổi bệnh lý như thâm nhiễm tế bào viêm thì còn có những biến đổi ở kẽ thận như xuất huyết

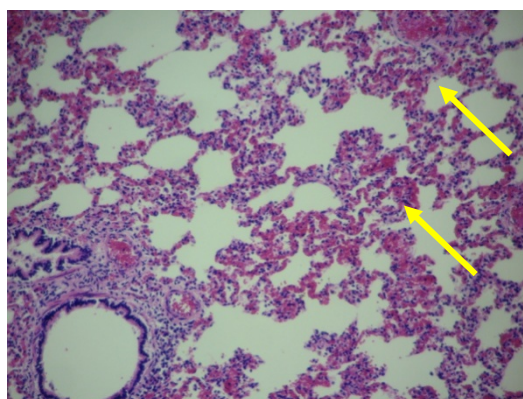
Bên cạnh những biến đổi vi thể đã nêu ở trên, trong quá trình nghiên cứu chúng tôi còn phát hiện thêm một số biến đổi khác như: Lớp lông nhung và lớp niêm mạc ruột bị bong tróc ra

trên tiêu bản vi thể ruột, niêm mạc ruột xuất huyết, thâm nhiễm tế bào viêm. Não bị sung huyết, hồng cầu tràn ngập trong lòng mạch quản. Gan có hiện tượng sung huyết, hồng cầu xâm lấn. Dạ dày và tim xuất huyết và thâm nhiễm các tế bào viêm.

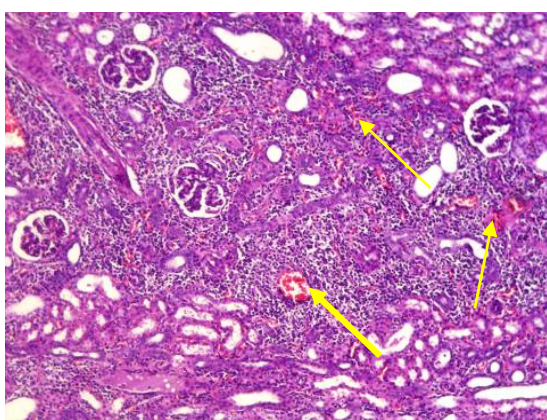
Qua kết quả biến đổi bệnh tích vi thể của lợn được gây nhiễm thực nghiệm chủng virus PRRS HUA 02 kết hợp với việc so sánh bệnh tích vi thể được gây ra bởi các chủng virus cường độc trong các nghiên cứu khác, chúng tôi thấy rằng chủng virus PRRS HUA 02 có khả năng gây bệnh tích vi thể tương tự các chủng cường độc cao.



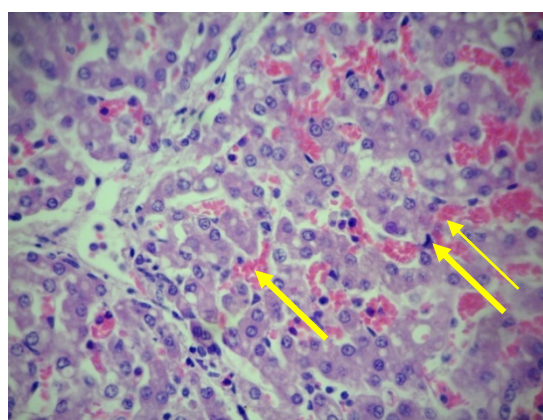
Hình 14. Phế quản có dịch viêm (HE. 40X)



Hình 15. Viêm kẽ phổi (HE. 10X)



**Hình 16. Xuất huyết kẽ thận,
tế bào viêm tăng sinh (HE. 10X)**



Hình 17. Gan sung huyết (HE. 40X)

4. KẾT LUẬN

Chủng virus PRRS HUA 02 có độc lực và khả năng gây Hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản (PRRS) trên lợn thí nghiệm tương đương với chủng virus cường độc, với triệu chứng và bệnh tích rất điển hình của lợn mắc PRRS. Triệu chứng lâm sàng chủ yếu của lợn được gây nhiễm là: sốt, ho, khó thở, giảm ăn, phát ban, sưng phù mí mắt.

Chỉ tiêu virus huyết: sau khi gây nhiễm 3 ngày thì xuất hiện virus PRRS trong máu và sau 5 ngày thì thấy virus xuất hiện cả ở dịch ngoáy mũi, virus kéo dài trong máu đến hết thời gian theo dõi thí nghiệm (21 ngày).

Bệnh tích đại thể chủ yếu của các lợn thí nghiệm mắc PRRS tập trung ở phổi, phổi viêm, xuất huyết, phổi bị nhục hóa. Hạch lympho sưng,

tụ máu, xuất huyết. Thận xuất huyết điểm. Lách nhồi huyết. Não sung huyết, xuất huyết. Ruột, dạ dày sung huyết hoặc xuất huyết.

Bệnh tích vi thể chủ yếu của lợn mắc PRRS ở thí nghiệm: Phổi xuất huyết, phế quản - phế viêm, tế bào viêm tràn lan trong phổi. Hạch lympho xuất huyết, thâm nhiễm tế bào viêm, các nang lympho thoái hóa. Thận có hiện tượng viêm kẽ thận, thâm nhiễm tế bào viêm. Não sung huyết.

Dựa vào các kết quả trên, chủng virus PRRS HUA 02 có thể được lựa chọn để tiến hành nghiên cứu sâu hơn phục vụ cho các nghiên cứu chọn chủng virus tiềm năng để sản xuất vaccin, thử độc lực của vaccin hoặc sản xuất các chế phẩm sinh học phục vụ cho chẩn đoán, phòng và trị PRRS.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ding B.-l., C.-l. Sang, M.-h. Yan, X.-l. Li, Y.-z. Wang and J.-h. Huang (2005). Pathological Changes in Piglets Infected with SJ Strain of PRRSV [J]. Chinese Journal of Veterinary, 5: 002
- Done S., D. Paton and M. White (1996). Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): a review, with emphasis on pathological, virological and diagnostic aspects. British veterinary journal, 152(2): 153-174.
- Feng Y., T. Zhao, T. Nguyen, K. Inui, Y. Ma, T. H. Nguyen, V. C. Nguyen, D. Liu, Q. A. Bui and L. T. To (2008). Porcine respiratory and reproductive syndrome virus variants, Vietnam and China, 2007. Emerg Infect Dis., 14(11): 1774-6.
- Halbur P., P. S. Paul, M. Frey, J. Landgraf, K. Eernisse, X.-J. Meng, M. Lum, J. Andrews and J. Rathje (1995). Comparison of the pathogenicity of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. Veterinary Pathology Online, 32(6): 648-660.
- Hill, H. (1990). Overview and history of mystery swine disease (swine infertility and respiratory syndrome). In: Proceedings of the Mystery Swine Disease Communication Meeting. Denver, CO, pp. 29-31.
- Ishibata s., M. MORI and h. SYAZAWA (2000). Experimental reinfection with homologous porcine reproductive and respiratory syndrome virus in SPF pigs. Journal of Veterinary Medical Science, 62(1): 105-108.
- Kim T., C. Park, K. Choi, J. Jeong, I. Kang, S.-J. Park and C. Chae (2015). Comparison of two commercial type 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) modified live vaccines against heterologous type 1 and type 2 PRRSV challenge in growing pigs. Clinical and Vaccine Immunology, 22(6): 631-640.
- Leng X., Z. Li, M. Xia, Y. He and H. Wu (2012). Evaluation of the efficacy of an attenuated live vaccine against highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus in young pigs. Clinical and Vaccine Immunology, 19(8): 1199-1206.
- Li B., L. Fang, Y. J. S. Liu and H. Chen and S. Xiao (2014). The genomic and pathogenic characteristics of the highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate WUH2. ISRN Virology.
- Li Y., X. Wang, K. Bo, X. Wang, B. Tang, B. Yang, W. Jiang and P. Jiang (2007). Emergence of a highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the Mid-Eastern region of China. The Veterinary Journal, 174(3): 577-584.
- Liu Y., W. Shi, E. Zhou, S. Wang, S. Hu, X. Cai, F. Rong, J. Wu, M. Xu and M. Xu (2010). Dynamic changes in inflammatory cytokines in pigs infected with highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Clinical and Vaccine Immunology. 17(9): 1439-1445.
- Nguyễn Bá Hiên, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Hữu Nam, Trịnh Đình Thâu, Phạm Hồng Ngân, Phạm Ngọc Thạch, Lê Huỳnh Thanh Phương, Chu Đức Thắng, Huỳnh Thị Mỹ Lệ và Nguyễn Bá Tiếp (2015). Nghiên cứu công nghệ sản xuất vaccin vô hoạt phòng hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản ở lợn. Đề tài cấp Nhà nước.
- Nguyễn Thị Lan và Dương Thị Minh Huyền (2012a). Đặc điểm bệnh lý hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (PRRS) ở lợn con sau cai sữa và lợn choai và xác định bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang. Tạp chí khoa học Kỹ thuật thú y, XIX(3): 18-25.
- Nguyễn Thị Lan và Lương Quốc Hưng (2012b). Nghiên cứu một số đặc tính sinh học của virus gây hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản (PRRS) phân lập được trên đàn lợn nuôi tại một số tỉnh phía Bắc, Việt Nam. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, kỳ 2 tháng 7, tr 82 - 87.
- Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Hữu Nam, Bùi Trần Anh Đào, Trần Quốc Tuấn và Phạm Văn Sơn (2014). Nghiên cứu khả năng gây bệnh thực nghiệm trên lợn của virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (PRRS) chủng BN-10 phân lập được tại Việt Nam. Tạp chí khoa học Kỹ thuật thú y, XXI(5): 5-13.
- Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Thị Hoa, Bùi Tố Nga, Nguyễn Thị Thanh Nhân và Lê Huỳnh Thanh Phương (2010). Một số đặc điểm bệnh lý của lợn nái mắc hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản. Tạp chí Khoa học và Phát triển, 8(1): 68-75.
- Nodelijk G., M. Nielen, M. De Jong and J. Verheijden (2003). A review of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Dutch breeding herds: population dynamics and clinical relevance. Preventive veterinary medicine, 60(1): 37-52.
- Park C., H. W. Seo, I. Kang, J. Jeong, K. Choi and C. Chae (2014). A New Modified Live Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Vaccine Improves Growth Performance in Pigs under Field Conditions. Clinical and Vaccine Immunology, 21 (9): 1350-1356.
- Phạm Ngọc Thạch và Đàm Văn Phái (2007). Một số chỉ tiêu lâm sàng, chỉ tiêu máu ở lợn mắc hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (bệnh tai xanh) trên một số đàn lợn tại tỉnh Hải Dương và Hưng Yên. Hội thảo Hội chứng rối loạn hô hấp - sinh sản và bệnh liên cầu khuẩn ở lợn, ngày 11/10/2007, Đại học Nông nghiệp Hà Nội.

Terpstra C., G. Wensvoort and J. Pol (1991). Experimental reproduction of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (mystery swine disease) by infection with Lelystad virus: Koch's postulates fulfilled. *Veterinary Quarterly*, 13(3): 131-136.

Tiêu Quang An và Nguyễn Hữu Nam (2011). Một số đặc điểm bệnh lý đại thể và vi thể ở lợn bị hội chứng

rối loạn hô hấp và sinh sản (PRRS). *Tạp chí khoa học Kỹ thuật thú y*, XVIII (6): 24-30.

XiaoLei G., L. SiDang, L. ZhongZi and W. TianHu (2009). Comparative pathology of piglets naturally infected with high-pathogenic PRRSV and artificially infected with American strains PRRSV (VR-2332). *Chinese Journal of Veterinary Science*, 29(4): 451-455.