

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG GÂY BỆNH CỦA CHỦNG VIRUS DỊCH TẢ LỢN CHÂU PHI VNUA/HY-ASF1 QUA ĐƯỜNG TIÊM BẮP Ở LỢN THÍ NGHIỆM

Nguyễn Thị Thu Huyền^{1,2}, Nguyễn Thế Việt Hoàng¹, Lê Văn Phan^{1*}

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Khoa Chăn nuôi - Thú y, Trường Đại học Nông lâm Bắc Giang

*Tác giả liên hệ: letranphan@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 09.01.2025

Ngày chấp nhận đăng: 19.02.2025

TÓM TẮT

Bệnh dịch tả lợn châu Phi là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm ở lợn với tỷ lệ tử vong lên đến 100%, gây thiệt hại lớn cho ngành chăn nuôi. Nghiên cứu này đánh giá khả năng gây bệnh của chủng virus dịch tả lợn châu Phi VNUA/HY/ASF1 qua đường tiêm bắp trên lợn 8 tuần tuổi. Lợn thí nghiệm được chia thành ba nhóm (TN1, TN2, TN3) với các liều nhiễm virus lần lượt là 10^2 , 10^3 và 10^4 HAD₅₀/lợn, cùng một nhóm đối chứng không nhiễm virus. Kết quả cho thấy toàn bộ lợn ở các nhóm gây nhiễm đều chết trong khoảng 5-13 ngày sau khi nhiễm. Thời gian chết trung bình của TN1, TN2 và TN3 lần lượt là $11,2 \pm 1,3$ ngày; $7,4 \pm 1,8$ ngày và $7,2 \pm 1,8$ ngày. Các triệu chứng lâm sàng điển hình như sốt cao, bỏ ăn, mệt mỏi và giảm vận động xuất hiện ở tất cả lợn nhiễm virus. Nhóm nhiễm liều virus cao biểu hiện triệu chứng sớm hơn, phản ánh tốc độ tiến triển bệnh nhanh. Tuy nhiên, tổn thương xuất huyết đa cơ quan, đặc biệt ở lách, hạch lympho và thận, lại nghiêm trọng hơn ở nhóm nhiễm liều virus thấp do thời gian tiến triển bệnh kéo dài. Nghiên cứu này khẳng định độc lực cao của chủng VNUA/HY/ASF1.

Từ khóa: Dịch tả lợn châu Phi, liều nhiễm, triệu chứng lâm sàng, bệnh lý.

Study on the Pathogenicity of the African Swine Fever Virus Strain VNUA/HY-ASF1 Via Intramuscular Injection in Experimental Pigs

ABSTRACT

African swine fever (ASF) is a highly infectious disease in pigs caused by virus with mortality rate of up to 100%. This study evaluated the pathogenicity of the VNUA/HY/ASF1 virus strain via intramuscular injection in 8-week-old pigs. The pigs were divided into three experimental groups (TN1, TN2, TN3) with respective virus doses of 10^2 , 10^3 , and 10^4 HAD₅₀/pig, along with a control group that was not exposed to the virus. Results showed that all pigs in the three infected groups died within 5 to 13 days post-injection. The mean time to death for the TN1, TN2, and TN3 groups was 11.2 ± 1.3 days, 7.4 ± 1.8 days and 7.2 ± 1.8 days, respectively. Typical clinical symptoms, including high fever, anorexia, lethargy, and reduced activity, were observed in all infected pigs. Pigs exposed to higher virus doses exhibited earlier symptoms, reflecting a faster disease progression. However, multi-organ hemorrhagic lesions, particularly in the spleen, lymph nodes, and kidneys were more severe in pigs infected with lower virus doses due to the prolonged disease course. This study confirms the high virulence of the VNUA/HY/ASF1 strain.

Keywords: African swine fever, infection dose, clinical symptoms, pathology.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dịch tả lợn châu Phi (DTLCP) là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, có tỷ lệ tử vong lên tới 100% ở cả lợn nhà và lợn rừng. Bệnh đặc trưng

bởi các triệu chứng sốt cao, xuất huyết nội tạng và tỷ lệ chết cao (Sanchez-Vizcaino & cs., 2015). Tác nhân gây bệnh là virus DTLCP, thuộc chi *Asfivirus*, họ *Asfarviridae*, với bộ gen ADN phức tạp. Mặc dù chỉ có một serotype, virus này lại

được phân thành 24 genotypes với độc lực khác nhau, gây khó khăn trong công tác kiểm soát dịch bệnh (Dixon & cs., 2004; Gallardo & cs., 2015; Quembo & cs., 2018). Dịch tả lợn châu Phi lần đầu tiên được báo cáo tại Việt Nam vào tháng 2 năm 2019 tại tỉnh Hưng Yên và nhanh chóng lan rộng trên toàn quốc. Tác nhân gây bệnh được xác định là một chủng virus DTLCP VNUA-HY/ASF1 (GenBank MK554698) có độc lực cao thuộc p72 genotype II (Le & cs., 2019). Các nghiên cứu gần đây cho thấy tình hình DTLCP tại Việt Nam ngày càng phức tạp và khó kiểm soát do sự xuất hiện của nhiều chủng virus với độc lực khác nhau. Ngoài chủng virus DTLCP có độc lực cao thuộc p72 genotype II, còn có các chủng virus xóa gen độc lực thấp thuộc p72 genotype II (Ambagala & cs., 2024), cũng như các chủng virus tái tổ hợp gen mang thông tin di truyền của cả p72 genotype II và genotype I (rASFV I/II), được phát hiện trên đàn lợn tại Việt Nam (Le & cs., 2024). Các chủng rASFV I/II này cho thấy độc lực cao và khả năng kháng lại hai loại vaccin do công ty Navetco và Avac sản xuất và đã được cấp phép và lưu hành tại Việt Nam (Diep & cs., 2024). Cho đến nay, các biện pháp an toàn sinh học và phát hiện sớm các ổ dịch là yếu tố then chốt trong công tác kiểm soát dịch (Liu & cs., 2021).

Nhiều nghiên cứu gần đây cho thấy khả năng gây bệnh của virus DTLCP có thể biểu hiện với nhiều thể bệnh khác nhau, từ quá cấp tính đến mạn tính. Sự khác biệt này phụ thuộc vào độc lực của virus, liều lượng nhiễm, đường lây truyền và khả năng đề kháng của vật chủ (Sanchez-Vizcaino & cs., 2015). Các nghiên cứu thực nghiệm sử dụng các đường gây nhiễm khác nhau, bao gồm tiêm bắp, tiêm tĩnh mạch và tiếp xúc trực tiếp, đã chỉ ra sự khác biệt về thời gian ủ bệnh, triệu chứng lâm sàng và tỷ lệ tử vong (Yamada & cs., 2021; Cho & cs., 2024). Ở Việt Nam, những nghiên cứu thực nghiệm về độc lực của virus DTLCP trên lợn thí nghiệm qua đường tiêm bắp còn hạn chế. Đến nay, chỉ có một số ít nghiên cứu được công bố về việc gây bệnh cho lợn thí nghiệm qua đường tiêm bắp với liều 10^3 HAD₅₀/lợn (Lee & cs., 2021; Tran & cs., 2022). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm

đánh giá khả năng gây bệnh của chủng virus VNUA-HY/ASF1 trên lợn khi gây nhiễm qua đường tiêm bắp với các liều lượng khác nhau.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Tế bào và chủng virus DTLCP

Chủng virus VNUA-HY/ASF1 (GenBank MK554698) (Le & cs., 2019) sử dụng trong nghiên cứu này được nuôi cấy trên tế bào đại thực bào phế nang phổi của lợn (Porcine alveolar macrophage - PAM). Quy trình thu nhận tế bào PAM từ lợn được thực hiện theo phương pháp đã được mô tả trước đây (Ngọc & cs., 2020). Môi trường nuôi cấy PAM bao gồm môi trường RPMI-1640 (Gibco) bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò (FBS, Gibco) và 1% hỗn hợp kháng sinh (streptomycin, penicillin) cùng chất kháng nấm (antifungal). Tế bào PAM được nuôi cấy ở 37°C trong môi trường 5% CO₂, sử dụng đĩa nuôi cấy 96 giếng với mật độ khoảng 4×10^5 tế bào/giếng. Sau 48 giờ nhiễm virus DTLCP, 20μl dung dịch hồng cầu lợn 1% trong môi trường RPMI được thêm vào mỗi giếng chứa tế bào PAM. Hiện tượng hấp phụ hồng cầu (Hemadsorption - HAD) trên các tế bào PAM bị nhiễm DTLCP được quan sát hàng ngày trong 5 ngày liên tục dưới kính hiển vi soi ngược. Hiệu giá virus (HAD₅₀) được xác định bằng phương pháp Reed và Muench như đã được mô tả trước đây (Malmquist & Hay, 1960).

2.2. Phương pháp gây nhiễm virus cho lợn thí nghiệm

Trong nghiên cứu này, lợn lai (giống Yorkshire - Landrace - Duroc), 8 tuần tuổi, khỏe mạnh, được sử dụng để thu tế bào PAM và thực hiện thí nghiệm. Tất cả lợn đều được xác nhận âm tính với virus gây DTLCP và một số virus khác, bao gồm dịch tả lợn cổ điển (CSF), lở mồm long móng (FMD), hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản ở lợn (PRRS) và PCV2 (Porcine Circovirus Type 2), bằng phương pháp realtime PCR (Median Diagnostics Inc., Hàn Quốc). Đồng thời, lợn cũng được kiểm tra âm tính với kháng thể chống lại virus DTLCP bằng bộ kit ELISA (VDPro ASFV Ab i-ELISA ver 2.0, Median Diagnostics Inc., Hàn Quốc). Để tiến hành thí

nghiệm gây nhiễm virus DTLCP, 20 con lợn được chia ngẫu nhiên thành 4 nhóm (5 con mỗi nhóm) và nuôi tách biệt trong 4 phòng riêng biệt nhằm ngăn ngừa lây nhiễm chéo. Ba nhóm lợn thí nghiệm (nhóm 1, 2 và 3) được tiêm bắp chủng virus VNUA-HY/ASF1 với các liều tương ứng 10^2 , 10^3 và 10^4 HAD₅₀/ml/con. Nhóm đối chứng không được tiêm virus. Nhiệt độ cơ thể của lợn thí nghiệm được theo dõi hàng ngày bằng nhiệt kế điện tử, thông qua đo trực tràng hai lần vào lúc 8 giờ và 17 giờ. Nhiệt độ trung bình trong ngày được tính toán để đánh giá sự biến động thân nhiệt. Các triệu chứng lâm sàng được quan sát, ghi nhận đầy đủ theo tiêu chuẩn đã được công bố trước đó (Galindo-Cardiel & cs., 2013). Thí nghiệm được thực hiện vào đầu năm 2020 tại nhà động vật thí nghiệm an toàn sinh học cấp III, thuộc Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.3. Thu thập mẫu bệnh phẩm

Phương pháp thu thập mẫu bệnh phẩm và mổ khám lợn thí nghiệm được thực hiện theo Quy chuẩn Việt Nam (QCVN 01-83:2011/BNNT). Cụ thể, để phân tích virus huyết (viremia) sau khi gây nhiễm virus DTLCP, mẫu máu được lấy từ tĩnh mạch cảnh của từng con lợn vào buổi sáng trước khi cho ăn và vào các ngày 0, 3, 6 và 9 sau khi gây nhiễm. Mẫu máu được thu thập trong các ống chứa dung dịch chống đông (EDTA) để bảo quản và phân tích. Mẫu dịch miệng được thu thập bằng cách cho lợn nhai dây thừng bông. Quá trình này kéo dài khoảng 30 đến 45 phút cho đến khi dây thừng đủ ướt. Sau đó, dây thừng ướt được vắt vào túi nhựa để thu dịch và khoảng 2,5ml dịch miệng được chuyển vào ống 15ml để tiến hành phân tích. Đối với lợn chết trong quá trình thí nghiệm, mổ khám được thực hiện ngay lập tức. Các tổn thương ở cơ quan nội tạng được quan sát, ghi chép chi tiết để phục vụ phân tích và đánh giá mức độ tác động của virus DTLCP.

2.4. Tách chiết ADN và phương pháp real-time PCR

DNA của virus DTLCP được tách chiết từ mẫu máu toàn phần và dịch miệng bằng bộ kit QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Đức) theo đúng

hướng dẫn của nhà sản xuất. Bộ kit realtime PCR thương mại (Median Diagnostics, Hàn Quốc) đã được sử dụng để chẩn đoán virus DTLCP. Các bước của phản ứng realtime PCR được tiến hành theo quy trình chuẩn của nhà sản xuất và thực hiện trên hệ thống CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories Ltd., Hercules, CA, Hoa Kỳ). Mẫu bệnh phẩm được xác định là dương tính nếu giá trị Ct của phản ứng realtime PCR nhỏ hơn 40.

2.5. Phân tích số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Excel và phần mềm Prism 8.4.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả theo dõi triệu chứng lâm sàng

Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng khả năng gây bệnh của virus DTLCP phụ thuộc vào nhiều yếu tố như độc lực của virus, liều lượng gây nhiễm, đường lây truyền và khả năng đề kháng của vật chủ. Các đường gây nhiễm khác nhau cho thấy sự khác biệt rõ rệt về thời gian ủ bệnh, triệu chứng lâm sàng và tỷ lệ tử vong (Sanchez-Vizcaino & cs., 2015; Yamada & cs., 2021; Cho & cs., 2024). Trong nghiên cứu này, kết quả theo dõi các triệu chứng lâm sàng của lợn thí nghiệm sau khi gây nhiễm chủng virus DTLCP VNUA-HY/ASF1 cho thấy thời gian xuất hiện triệu chứng có sự khác biệt đáng kể giữa các lô thí nghiệm (Bảng 1). Lô TN3 (10^4 HAD₅₀/con): Sốt xuất hiện sớm ở 2/5 lợn sau 24 giờ gây nhiễm. Đến ngày thứ 3, toàn bộ lợn (5/5) đều sốt. Các triệu chứng khác như bỏ ăn, mệt mỏi, ít vận động xuất hiện từ ngày thứ 2 và ngày thứ 3 ở cả 5/5 lợn. Một lợn có dấu hiệu ho vào ngày thứ 5 và 3/5 lợn bị tiêu chảy vào ngày thứ 3-4. Lô TN2 (10^3 HAD₅₀/con): Một lợn có triệu chứng mệt mỏi và ít vận động vào ngày thứ 3 sau gây nhiễm. Đến ngày thứ 4-5, toàn bộ lợn (5/5) có các triệu chứng sốt, bỏ ăn, mệt mỏi. Ho và tiêu chảy xuất hiện ở 3/5 lợn, trong khi 2/5 lợn có xuất huyết da vào ngày thứ 8. Lô TN1 (10^2 HAD₅₀/con): Triệu chứng xuất hiện muộn hơn, bắt đầu từ ngày thứ 5. Bốn lợn (4/5) sốt vào ngày thứ 5 và toàn bộ lợn (5/5) đều sốt vào ngày thứ 6. Các triệu chứng bỏ ăn, mệt mỏi, ít vận động xuất hiện ở tất cả lợn vào

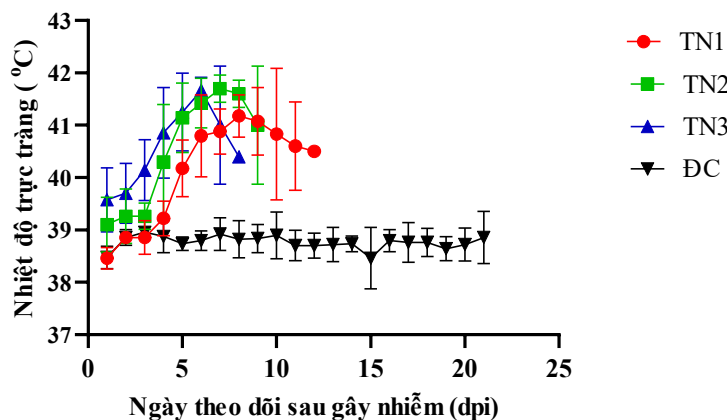
ngày thứ 7. Tiêu chảy được ghi nhận ở 2/5 lợn vào ngày thứ 5-6 và ho cùng xuất huyết ngoài da xuất hiện ở 2/5 lợn vào ngày thứ 8-9. Tất cả các lợn thí nghiệm (100%) trong ba lô nhiễm đều có các triệu chứng lâm sàng như sốt, mệt mỏi, giảm vận động và bỏ ăn. Tuy nhiên, thời điểm khởi phát các triệu chứng này phụ thuộc vào liều lượng virus. Những kết quả này phù hợp với các công bố trước đây mô tả triệu chứng lâm sàng khi lợn nhiễm bệnh DTLCP tự nhiên (Nga & cs., 2020; Izzati & cs., 2021) hoặc khi gây bệnh thực nghiệm trong phòng thí nghiệm (Lee & cs., 2021).

Sốt là triệu chứng lâm sàng điển hình ở lợn sau khi gây nhiễm virus DTLCP. Thời gian trung bình xuất hiện triệu chứng sốt đầu tiên của lợn trong các lô thí nghiệm tương ứng với liều virus 10^2 HAD₅₀ (TN1), 10^3 HAD₅₀ (TN2) và 10^4 HAD₅₀ (TN3) lần lượt là $5,2 \pm 0,45$; $4,6 \pm 0,55$ và $1,8 \pm 0,84$ ngày (Bảng 1). Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây (Lee & cs., 2021; Cho & cs., 2024). Theo dõi thân nhiệt của lợn trong nghiên cứu cho thấy lợn ở lô đối chứng không nhiễm virus duy trì nhiệt độ dao động từ 38°C đến dưới 39°C trong suốt thời gian thí nghiệm. Trong khi đó, toàn bộ lợn ở ba lô thí nghiệm gây nhiễm virus đều biểu hiện sốt ($\geq 41^\circ\text{C}$). Tuy nhiên, thời gian xuất hiện và kéo

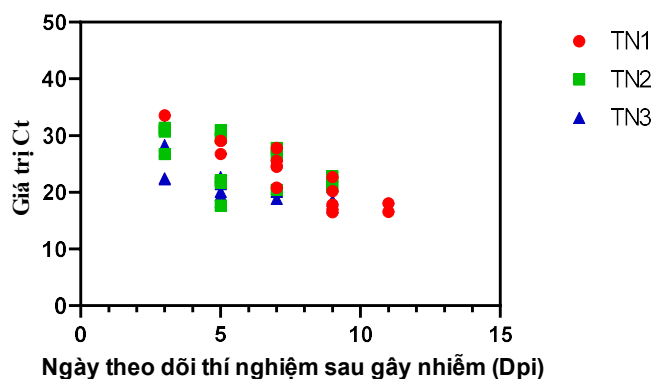
dài tình trạng sốt khác nhau giữa các lô thí nghiệm. Lô TN1 (10^2 HAD₅₀/con): Sốt xuất hiện muộn hơn so với lô TN2 và TN3. Đến ngày thứ 5, 4/5 lợn trong lô TN1 có triệu chứng sốt ($40,1^\circ\text{C} \pm 0,54$), và nhiệt độ trung bình cao nhất ghi nhận vào ngày thứ 8 ($41,2^\circ\text{C} \pm 0,40$), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng ($P < 0,05$). Lô TN2 (10^3 HAD₅₀/con): Sốt xuất hiện ở 2/5 lợn vào ngày thứ 4, với nhiệt độ trung bình đạt đỉnh vào ngày thứ 7 sau khi gây nhiễm. Trong 3 ngày đầu, nhiệt độ trung bình dao động trong phạm vi sinh lý bình thường và không có sự khác biệt đáng kể so với lô đối chứng ($P > 0,05$). Triệu chứng sốt kéo dài từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 8, và các lợn chết trước khi kết thúc thí nghiệm đều duy trì nhiệt độ ở mức cao ($40,2^\circ\text{C}$ - $41,8^\circ\text{C}$). Lô TN3 (10^4 HAD₅₀/con): Sốt xuất hiện sớm nhất, ngay từ ngày đầu tiên ở 2/5 lợn thí nghiệm, với nhiệt độ trung bình khoảng $39,5^\circ\text{C} \pm 0,64$. Nhiệt độ trực tràng trung bình cao nhất ghi nhận vào ngày thứ 6 sau gây nhiễm (Hình 1). Kết quả nghiên cứu khẳng định mối tương quan giữa liều nhiễm virus và thời gian khởi phát các triệu chứng lâm sàng, bao gồm sốt, bỏ ăn, giảm ăn, mệt mỏi và giảm vận động. Đồng thời, nghiên cứu cung cấp dữ liệu quan trọng phục vụ đánh giá độc lực của virus DTLCP.

Bảng 1. Kết quả theo dõi triệu chứng lâm sàng của lợn sau khi gây nhiễm với chủng virus VNUA-HY/ASF1

Lô TN	Lợn TN	Ngày xuất hiện triệu chứng lâm sàng đầu tiên							
		Sốt	Bỏ ăn, giảm ăn	Mệt mỏi, ít vận động	Tiêu chảy	Ho	Xuất huyết da	Chết	Virus huyết
TN1 (10^2 HAD ₅₀)	1	5	6	6	5	8	8	13	5
	2	5	6	6	-	-	-	10	5
	3	5	7	6	6	8	9	12	7
	4	5	7	6	-	-	-	11	6
	5	6	6	5	-	-	-	10	3
TN2 (10^3 HAD ₅₀)	6	5	4	3	4	-	-	5	3
	7	4	4	4	5	4	-	8	3
	8	5	5	5	-	6	8	9	3
	9	5	4	4	5	-	-	6	3
	10	4	6	4	-	7	8	9	5
TN3 (10^4 HAD ₅₀)	11	3	2	2	-	-	-	5	3
	12	1	3	3	4	-	-	7	3
	13	2	3	4	4	5	-	9	3
	14	2	2	3	-	-	-	6	3
	15	1	3	3	3	-	-	9	3



Hình 1. Diễn biến thân nhiệt của lợn thí nghiệm sau khi gây nhiễm với chủng virus VNUA-HY/ASF1



Hình 2. Thời điểm xác định virus huyết của lợn sau gây nhiễm ở các lô thí nghiệm

Trong nghiên cứu này, mẫu máu được thu thập và kiểm tra tình trạng virus huyết để xác định thời điểm virus xuất hiện sớm trong máu. Để giảm thiểu căng thẳng ảnh hưởng đến lợn thí nghiệm, thay vì lấy máu hàng ngày, các mẫu máu toàn phần được thu thập tại các thời điểm 0, 3, 6 và 9 ngày sau khi gây nhiễm virus. Kết quả chẩn đoán bằng phương pháp Real-time PCR cho thấy tất cả lợn thuộc các lô thí nghiệm gây nhiễm với chủng virus VNUA-HY/ASF1 đều cho kết quả dương tính với virus DTLCP, với giá trị Ct dao động từ 16,48 đến 33,56 (Hình 2). Tuy nhiên, số lượng lợn dương tính và thời điểm phát hiện virus huyết khác nhau giữa các lô gây nhiễm với liều virus khác nhau. Cụ thể, kết quả chẩn đoán bằng Real-time PCR từ mẫu máu thu thập ngày thứ 3 cho thấy Lô TN1 (liều gây nhiễm 10^2 HAD₅₀/con) có 1/5 lợn dương tính, Lô TN2 (liều gây nhiễm 10^3 HAD₅₀/con) có 4/5 lợn dương

tính và Lô TN3 (liều gây nhiễm 10^4 HAD₅₀/con) có 5/5 lợn dương tính. Các kết quả này được trình bày chi tiết trong bảng 1 và hình 2.

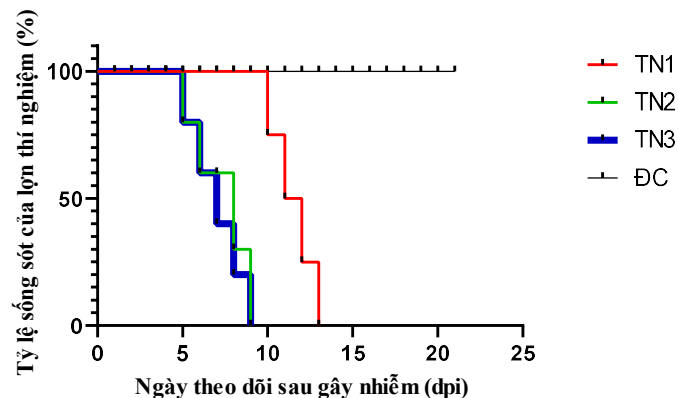
Một số nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng, với cùng chủng virus và liều lượng 10^3 HAD₅₀, thời gian trung bình đến khi lợn chết sau khi nhiễm qua đường tiêm bắp là $7,0 \pm 1,2$ ngày, trong khi qua đường miệng là $19,8 \pm 4,66$ ngày (Lee & cs., 2021; Nguyen & cs., 2023). Kết quả nghiên cứu về tỷ lệ sống và chết của lợn sau khi gây nhiễm chủng virus VNUA-HY/ASF1 cho thấy 100% lợn thí nghiệm ở cả ba lô đều chết, với dạng bệnh cấp tính và á cấp tính. Thời gian chết dao động từ 5 đến 13 ngày sau khi gây nhiễm. Cụ thể ở lô TN1 (10^2 HAD₅₀), thời gian lợn chết dao động từ 10 đến 13 ngày, với thời gian chết trung bình là $11,2 \pm 1,3$ ngày. Lô TN2 (10^3 HAD₅₀): Thời gian lợn chết dao động từ 5 đến 9 ngày, với thời

gian chết trung bình là $7,4 \pm 1,8$ ngày. Lô TN3 (10^4 HAD₅₀): Thời gian lợn chết dao động từ 5 đến 9 ngày, với thời gian chết trung bình là $7,2 \pm 1,8$ ngày (Bảng 1 và Hình 3). Những kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây tại Việt Nam, mô tả các trường hợp mắc DTLCP tự nhiên ở dạng cấp tính và á cấp tính (Nga & cs., 2020; Izzati & cs., 2021; Lee & cs., 2021).

3.2. Kết quả kiểm tra bệnh tích đại thể của lợn thí nghiệm

Lợn thí nghiệm sau khi chết được tiến hành mổ khám ngay lập tức và kết quả được mô tả chi tiết trong bảng 2 và hình 4. Kết quả thu được cho thấy hầu hết các cơ quan nội tạng của lợn đều bị sưng và xuất huyết. Tuy nhiên, mức độ tổn thương ở các cơ quan này có sự khác biệt tùy thuộc vào liều lượng chủng virus VNUA-HY/ASF1 được sử dụng để gây nhiễm. Đáng chú ý, mức độ tổn thương ở các cơ quan nội tạng lợn gây nhiễm với liều virus thấp có xu hướng nghiêm trọng hơn so với lợn ở lô gây nhiễm virus với liều cao. Cụ thể, tất cả (100%) lợn thí nghiệm ở cả ba lô đều có lách sưng và xuất huyết (Hình 4A - mũi tên xanh và Hình 4E - mũi tên xanh). Phần lớn các hạch lympho (hạch bẹn, hạch dưới hàm, hạch trung thất, hạch màng treo ruột, hạch phổi,...) đều sưng và xuất huyết nặng (Hình 4B - mũi tên đen và Hình 4F - mũi tên đen). Tuy nhiên, ở lô TN3 (10^4 HAD₅₀/con), chỉ 1/5 lợn có hiện tượng xuất huyết hạch amidan, trong khi ở lô TN2 (10^3 HAD₅₀/con) và TN1 (10^2 HAD₅₀/con), tỷ lệ này là 3/5 lợn (Hình 4D - mũi tên đen). Hiện tượng

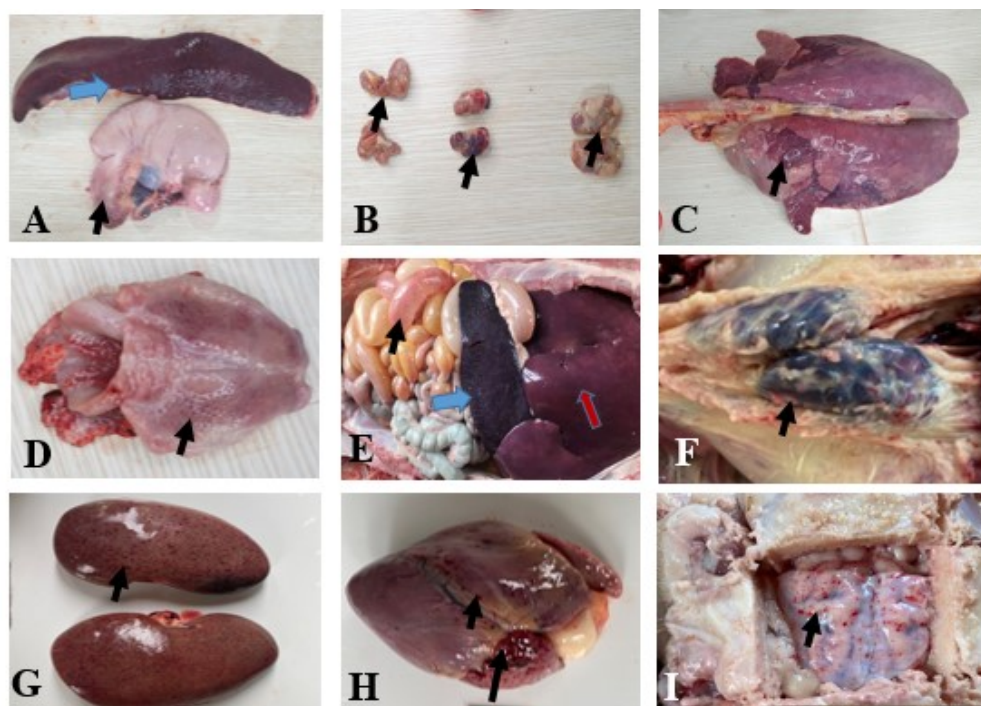
xuất huyết điểm ở thận được quan sát thấy ở 3/5 lợn thuộc lô TN1 và TN2, trong khi ở lô TN3 chỉ ghi nhận 2/5 lợn bị tổn thương (Hình 4G - mũi tên đen). Xuất huyết não được ghi nhận ở 100% lợn thuộc lô TN1 và TN2, trong khi ở lô TN3, tỷ lệ này giảm xuống còn 3/5 lợn (Hình 4I - mũi tên đen). Hiện tượng gan sưng được quan sát ở 100% lợn thuộc lô TN1 và TN2, nhưng ở lô TN3 chỉ có 3/5 lợn có hiện tượng này (Hình 4E - mũi tên đỏ). Một số lợn ở lô TN1 và TN2 có hiện tượng xuất huyết tại cơ tim (Hình 4H - mũi tên đen), gan (Hình 4E - mũi tên đỏ), trong khi không ghi nhận trường hợp nào ở lô TN3 có các tổn thương này. Tất cả (100%) lợn ở cả ba lô thí nghiệm đều có hiện tượng xuất huyết phổi (Hình 4C - mũi tên đen). Tuy nhiên, hiện tượng viêm kẽ phổi được quan sát ở 2/5 lợn thuộc lô TN1, trong khi ở lô TN2 và TN3 tỷ lệ này là 1/5 lợn. Bên cạnh đó, tổn thương ở các cơ quan như lách, hệ thống hạch, thận, não... ở những lợn chết sau ngày thứ 10 (lô gây nhiễm với 10^2 HAD₅₀/con) có mức độ tổn thương nghiêm trọng hơn của lợn chết ngày thứ 5 sau gây nhiễm (ở các lô gây nhiễm 10^3 HAD₅₀/ml và 10^4 HAD₅₀/con) trên cùng một cơ quan. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây cho thấy tổn thương phù nề và xuất huyết ở lợn mắc bệnh DTLCP thể á cấp tính nghiêm trọng hơn so với thể cấp tính (Gomez-Villamandos & cs., 2013; Nga & cs., 2020; Izzati & cs., 2021). Kết quả nghiên cứu khẳng định lợn thí nghiệm nhiễm virus ở cả thể cấp tính và á cấp tính, phù hợp với các kết quả nghiên cứu trong nước và quốc tế (Galindo-Cardiel & cs., 2013; Nga & cs., 2020; Izzati & cs., 2021; Lee & cs., 2021).



Hình 3. Tỷ lệ sống sót của lợn thí nghiệm sau khi gây nhiễm với chủng virus VNUA-HY/ASF1

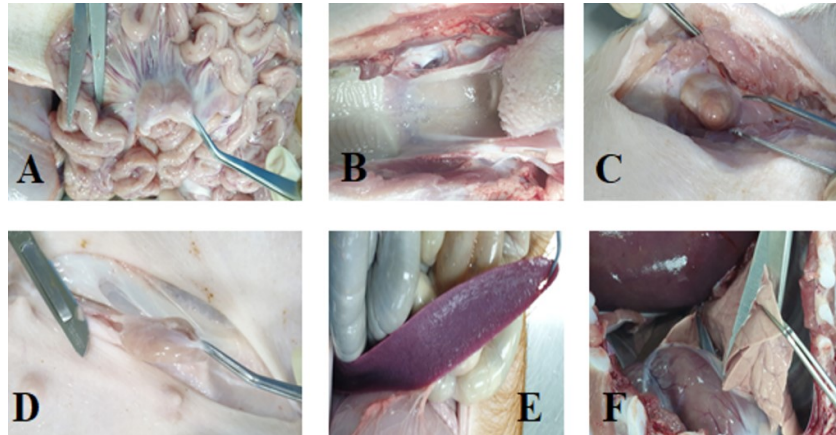
Bảng 2. Một số tổn thương đại thể ở cơ quan của lợn thí nghiệm

Cơ quan	Tổn thương	Số con tổn thương (con)			
		TN1	TN2	TN3	ĐC
Lách	Sưng, xuất huyết	5/5	5/5	5/5	0/5
Hạch lympho	Sưng	5/5	5/5	5/5	
	Xuất huyết	5/5	3/5	3/5	
Hạch amidan	Xuất huyết	3/5	3/5	1/5	
Gan	Sưng	5/5	5/5	3/5	
	Xuất huyết	2/5	0/5	0/5	
Phổi	Xuất huyết	5/5	5/5	5/5	
	Viêm phổi kẽ	2/5	1/5	1/5	
Tim	Xuất huyết cơ tim	2/5	1/5	0/5	
	Dịch trong xoang bao tim	5/5	5/5	5/5	
Thận	Xuất huyết điểm	3/5	3/5	2/5	
Ruột	Xuất huyết	3/5	2/5	2/5	
Não	Xuất huyết	5/5	5/5	3/5	
Túi mật	Xuất huyết	3/5	2/5	0/5	
Dạ dày	Xuất huyết	3/5	2/5	1/5	



Ghi chú: A: Lách sưng to và xuất huyết (mũi tên xanh); B: Hạch lympho (hạch bên, hạch trung thất) sưng và xuất huyết (mũi tên đen); C: Phổi có hiện tượng xuất huyết rõ rệt (mũi tên đen); D: Hạch amidan xuất huyết (mũi tên đen); E: Ruột xuất huyết (mũi tên đen); F: Hạch bên sưng to và xuất huyết (mũi tên đen); G: Thận với các điểm xuất huyết rõ rệt (mũi tên đen); H: Tim xuất huyết (mũi tên đen); I: Não xuất huyết (mũi tên đen).

Hình 4. Một số hình ảnh tổn thương đại thể ở lợn sau khi gây nhiễm với chủng virus VNUA-HY/ASF1



Ghi chú: A: Hạch màng treo ruột; B: Hạch amidan; C: Hạch hàm; D: Hạch bẹn; E: Lách; F: Tim và phổi.

Hình 5. Một số hình ảnh đại thể của lợn lô đối chứng không gây nhiễm với chủng virus VNUA-HY/ASF1

Ngoài việc mổ khám lợn thí nghiệm gây nhiễm với chủng virus VNUA-HY/ASF1, lợn ở lô đối chứng (không gây nhiễm virus) cũng được mổ khám trước khi kết thúc thí nghiệm. Kết quả cho thấy các cơ quan như tim, phổi, hạch và lách của lợn đều bình thường, không có dấu hiệu sung huyết hay xuất huyết. Một số hình ảnh mổ khám lợn lô đối chứng được trình bày trong hình 5.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã đánh giá khả năng gây bệnh của chủng virus DTLCP VNUA-HY/ASF1 trên lợn qua đường tiêm bắp với các liều nhiễm 10^2 , 10^3 , và 10^4 HAD₅₀/lợn. Kết quả cho thấy chủng virus này có độc lực cao, gây bệnh ở cả thể cấp tính và á cấp tính với tỷ lệ chết 100% trong vòng 5-13 ngày sau khi gây nhiễm. Thời gian ủ bệnh và mức độ tiến triển bệnh khác nhau tùy thuộc vào liều virus, với các triệu chứng lâm sàng đặc trưng bao gồm sốt, bỏ ăn, giảm ăn, mệt mỏi và ít vận động. Kết quả mổ khám cho thấy, tổn thương điển hình bao gồm xuất huyết da cơ quan, đặc biệt ở lách, hạch lympho, gan và tim. Đáng chú ý, mức độ tổn thương nghiêm trọng hơn được quan sát ở các lợn gây nhiễm với liều virus thấp, do thời gian tiến triển bệnh kéo dài. Virus huyết được phát hiện từ ngày thứ 3 sau gây nhiễm ở cả ba nhóm thí nghiệm. Các kết quả này khẳng định khả

năng gây bệnh mạnh mẽ của chủng virus VNUA-HY/ASF1, đồng thời cung cấp dữ liệu quan trọng hỗ trợ cho việc nghiên cứu và phát triển các biện pháp phòng chống dịch tả lợn châu Phi trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ambagala A., Goonewardene K., Kanoa I.E., Than T.T., Nguyen V.T., Lai T.N.H., Nguyen T.L., Erdelyan C.N.G., Robert E., Tailor N., Onyilagha C., Lamboo L., Handel K., Nebroski M., Vernygora O., Lung O. & Le V.P. (2024). Characterization of an African Swine Fever Virus Field Isolate from Vietnam with Deletions in the Left Variable Multigene Family Region. *Viruses*. 16(4).
- Cho K.H., Hong S.K., Kim D.Y., Sohn H.J., Yoo D.S., Kang H.E. & Kim Y.H. (2024). Disease Course of Korean African Swine Fever Virus in Domestic Pigs Exposed Intraorally, Intranasally, Intramuscularly, and by Direct Contact with Infected Pigs. *Viruses*. 16(3).
- Diep N.V., Duc N.V., Ngoc N.T., Dang V.X., Tiep T.N., Nguyen V.D., Than T.T., Maydaniuk D., Goonewardene K., Ambagala A. & Le V.P. (2024). Genotype II Live-Attenuated ASFV Vaccine Strains Unable to Completely Protect Pigs against the Emerging Recombinant ASFV Genotype I/II Strain in Vietnam. *Vaccines (Basel)*. 12(10).
- Dixon L.K., Abrams C.C., Bowick G., Goatley L.C., Kay-Jackson P.C., Chapman D., Liverani E., Nix R., Silk R. & Zhang F. (2004). African swine fever virus proteins involved in evading host

- defence systems. *Vet Immunol Immunopathol.* 100(3-4): 117-34.
- Galindo-Cardiel I., Ballester M., Solanes D., Nofrarias M., Lopez-Soria S., Argilaguet J. M., Lacasta A., Accensi F., Rodriguez F. & Segales J. (2013). Standardization of pathological investigations in the framework of experimental ASFV infections. *Virus Res.* 173(1): 180-90.
- Gallardo C., Soler A., Nieto R., Sanchez M.A., Martins C., Pelayo V., Carrascosa A., Revilla Y., Simon A., Briones V., Sanchez-Vizcaino J.M. & Arias M. (2015). Experimental Transmission of African Swine Fever (ASF) Low Virulent Isolate NH/P68 by Surviving Pigs. *Transbound Emerg Dis.* 62(6): 612-22.
- Gomez-Villamandos J.C., Bautista M.J., Sanchez-Cordon P.J. & Carrasco L. (2013). Pathology of African swine fever: the role of monocyte-macrophage. *Virus Res.* 173(1): 140-9.
- Izzati U.Z., Inanaga M., Hoa N.T., Nueangphuet P., Myint O., Truong Q.L., Lan N.T., Norimine J., Hirai T. & Yamaguchi R. (2021). Pathological investigation and viral antigen distribution of emerging African swine fever in Vietnam. *Transbound Emerg Dis.* 68(4): 2039-2050.
- Le V.P., Jeong D.G., Yoon S.W., Kwon H.M., Trinh T.B.N., Nguyen T.L., Bui T.T.N., Oh J., Kim J.B., Cheong K.M., Van Tuyen N., Bae E., Vu T.T.H., Yeom M., Na W. & Song D. (2019). Outbreak of African Swine Fever, Vietnam, 2019. *Emerg Infect Dis.* 25(7): 1433-1435.
- Le V.P., Nguyen V.T., Le T.B., Mai N.T.A., Nguyen V.D., Than T.T., Lai T.N.H., Cho K.H., Hong S.K., Kim Y.H., Bui T.A.D., Nguyen T.L., Song D. & Ambagala A. (2024). Detection of Recombinant African Swine Fever Virus Strains of p72 Genotypes I and II in Domestic Pigs, Vietnam, 2023. *Emerg Infect Dis.* 30(5): 991-994.
- Lee H.S., Bui V.N., Dao D.T., Bui N.A., Le T.D., Kieu M.A., Nguyen Q.H., Tran L.H., Roh J.H., So K.M., Hur T.Y. & Oh S.I. (2021). Pathogenicity of an African swine fever virus strain isolated in Vietnam and alternative diagnostic specimens for early detection of viral infection. *Porcine Health Manag.* 7(1): 36.
- Liu Y., Zhang X., Qi W., Yang Y., Liu Z., An T., Wu X. & Chen J. (2021). Prevention and Control Strategies of African Swine Fever and Progress on Pig Farm Repopulation in China. *Viruses.* 13(12).
- Malmquist W.A. & Hay D. (1960). Hemadsorption and cytopathic effect produced by African Swine Fever virus in swine bone marrow and buffy coat cultures. *Am J Vet Res.* 21: 104-8.
- Nga B.T.T., Tran Anh Dao B., Nguyen Thi L., Osaki M., Kawashima K., Song D., Salguero F.J. & Le V.P. (2020). Clinical and Pathological Study of the First Outbreak Cases of African Swine Fever in Vietnam, 2019. *Front Vet Sci.* 7: 392.
- Nguyen T.T.H., Nguyen V.T., Le P.N., Mai N.T.A., Dong V.H., Bui T.A.D., Nguyen T.L., Ambagala A. & Le V.P. (2023). Pathological Characteristics of Domestic Pigs Orally Infected with the Virus Strain Causing the First Reported African Swine Fever Outbreaks in Vietnam. *Pathogens.* 12(3).
- Quembo C. J., Jori F., Vosloo W. & Heath L. (2018). Genetic characterization of African swine fever virus isolates from soft ticks at the wildlife/domestic interface in Mozambique and identification of a novel genotype. *Transbound Emerg Dis.* 65(2): 420-431.
- Sanchez-Vizcaino J.M., Mur L., Gomez-Villamandos J.C. & Carrasco L. (2015). An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *J Comp Pathol.* 152(1): 9-21.
- Trịnh Thị Bích Ngọc, Nguyễn Văn Tâm, Nguyễn Thị Thu Huyền, Vũ Xuân Đăng & Lê Văn Phan (2020). Đặc tính sinh học và sinh học phân tử của chủng virus dịch tả lợn châu phi phân lập được tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam* 18(10): 803-11.
- Tran X.H., Le T.T.P., Nguyen Q.H., Do T.T., Nguyen V.D., Gay C.G., Borca M.V. & Gladue D.P. (2022). African swine fever virus vaccine candidate ASFV-G-DeltaI177L efficiently protects European and native pig breeds against circulating Vietnamese field strain. *Transbound Emerg Dis.* 69: e497-e504
- Yamada M., Masujin K., Kameyama K.I., Yamazoe R., Kubo T., Iwata K., Tamura A., Hibi H., Shiratori T., Koizumi S., Ohashi K., Ikezawa M., Kokuho T. & Yamakawa M. (2021). Experimental infection of pigs with different doses of the African swine fever virus Armenia 07 strain by intramuscular injection and direct contact. *J Vet Med Sci.* 82(12): 1835-1845.