

ĐẶC TÍNH SINH LÝ VÀ SINH HOÁ MÁU CỦA LỢN MẮC BỆNH DO *Mycoplasma suis* VÀ ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP NHUỘM GIEMSA TRONG CHẨN ĐOÁN

**Nguyễn Phương Nhung, Bùi Trần Anh Đào, Bùi Thị Tố Nga, Nguyễn Vũ Sơn,
Trần Minh Hải, Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn Thị Lụa, Lại Thị Lan Hương, Phạm Hồng Trang ***

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

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

Ngày nhận bài: 18.04.2025

Ngày chấp nhận đăng: 22.11.2025

TÓM TẮT

Bệnh do *Mycoplasma suis* là một trong những nguyên nhân gây ảnh hưởng lâu dài tới hiệu quả chăn nuôi lợn tại Việt Nam. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích so sánh các chỉ tiêu huyết học giữa lợn bệnh và lợn khỏe, đồng thời áp dụng phương pháp nhuộm Giemsa để xác định sự có mặt của *M. suis* trong mẫu máu lợn. Các chỉ tiêu về chất lượng hồng cầu như RBC, HCT, MCH và MCHC giảm thấp hơn ở nhóm lợn bệnh ($P < 0,05$). Các chỉ số như AST, bilirubin gián tiếp, creatinin ở nhóm lợn bệnh đều cao hơn so với nhóm lợn khỏe ($P < 0,05$). Ngược lại, đường huyết của lợn bệnh giảm thấp hơn so với lợn khỏe ($P < 0,05$). ALT, urea và bilirubin trực tiếp không cho thấy sự khác biệt giữa hai nhóm lợn nghiên cứu ($P > 0,05$). Hình ảnh *M. suis* thu được có dạng tròn hoặc bầu dục, bắt màu tím bám trên bề mặt hồng cầu hoặc rải rác trong huyết tương. Bệnh lý hồng cầu đặc trưng được thể hiện bởi sự thoái hoá và biến dạng hình sao với nhiều mức độ khác nhau. Các chỉ số huyết học không chỉ xác định trạng thái nhiễm *M. suis* ở lợn mà còn có thể giúp khẳng định giai đoạn nhiễm bệnh của lợn. Nhuộm Giemsa với kỹ thuật đơn giản có thể là phương pháp chẩn đoán phù hợp với điều kiện thực tế tại Việt Nam.

Từ khoá: Sinh lý, sinh hoá, máu, *Mycoplasma suis*, Giemsa.

Physiological and Biochemical Characteristics of Blood of Pigs Infected by *Mycoplasma suis* and Application of Giemsa Staining Method in Diagnosis

ABSTRACT

Mycoplasma infectious in pigs causes long-term economical impact for Vietnam's swine husbandry. The present study compared hematological parameters between non- and infected sows complying with blood smear Giemsa staining for pathogen's detection. Physiological indicators for red blood cell qualities such as RBC, HCT, MHC and MCHC were lower in sick group ($P < 0.05$). AST, indirect bilirubin and creatinin of infected pigs were significantly elevated compared to healthy pigs. In contrast, blood glucose was lower than that of healthy oigs ($P < 0.05$). ALT, urea and direct bilirubin showed no significantly difference between two groups. Unique feature of purple round or oval *M. suis* staining with Giemsa were captured on the surface of RBC or scattered in plasma of blood smear. Erythrocytic pathology was characterized by stellate degeneration and deformation at various degrees. Hematological indices in this study not only determine the status of *M. suis* infection but also confirm the stage of infection. Giemsa staining with simple protocol can be a applicable diagnostic method for practical conditions in Vietnam.

Keywords: Physiology, biochemistry, blood, *Mycoplasma suis*, Giemsa.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mycoplasma suis (*M. suis*) là tác nhân chính gây bệnh thiếu máu truyền nhiễm trên lợn (Infectious Anemia in Pig - IAP) với hai thể bệnh chủ yếu là tan máu cấp tính và thiếu máu

mãn tính (Hoelzle & cs., 2014). Bệnh xảy ra trên đàn lợn nuôi tại nhiều châu lục như châu Á (Trung Quốc, Nhật Bản, Nam Hàn), châu Phi (Ghana, Kenya, Nigeria, Nam Phi); Nam Mỹ (Argentina, Brazil); Bắc Mỹ (Canada, Mỹ); châu Âu (Bỉ, Pháp, Brazil, Đức...) với tình hình dịch

khá phức tạp (Ade & cs., 2024). Bệnh đã được phát hiện với tỷ lệ mắc khác nhau tại các quốc gia như 13,9% ở Đức (Ade & cs., 2008) đến 53% tại Pháp (Brissonnier & cs., 2020). Ngoài các giống lợn nuôi, mầm bệnh cũng đã được phát hiện trên các đàn lợn hoang dã tại Đức (Hoelzle & cs., 2010) và Brazil (Dias & cs., 2019).

Mặc dù đã xuất hiện và được nghiên cứu từ hơn 100 năm trước (Ade & cs., 2024), IAP vẫn là mối quan tâm của nhiều nhà nghiên cứu cũng như nhà chăn nuôi. Thứ nhất, bên cạnh các côn trùng hay ký sinh trùng hút máu đã được chứng minh là nguồn lây lan mầm bệnh (Acosta & cs., 2019; Schwarz & cs., 2020; Santana & cs., 2022), bệnh có thể là hệ quả của các hoạt động khám chữa bệnh như dùng chung bơm kim tiêm hoặc các biện pháp kỹ thuật chăn nuôi không thể thiếu như bấm tai, thiến hoặc cắt đuôi (Hoelzle, 2008). Thứ hai, ngược lại với các ca bệnh cấp tính có các biểu hiện lâm sàng đặc trưng, dễ phát hiện như nốt nhạt ở da và niêm mạc kết hợp với sự tím tái ở các vùng ngoại vi như tai, chân, đuôi (Groebel & cs., 2009; Stadler & cs., 2014; Stadler & cs., 2021); Sự tồn tại của mầm bệnh ở lợn con và lợn nái mắc bệnh thể mãn tính không có biểu hiện lâm sàng trở thành mối nguy hiểm tiềm tàng ảnh hưởng lâu dài đến hiệu quả kinh tế (Ritzmann & cs., 2009; Strait & cs., 2012; Hoelzle & cs., 2014; Stadler & cs., 2019). Hơn thế nữa, đặc tính không thể nuôi cấy trong môi trường thí nghiệm đã trở thành một thách thức trong nghiên cứu bệnh học cũng như phát triển các biện pháp phòng và điều trị hiệu quả (Schreiner & cs., 2012; Hoelzle & cs., 2014). Do vậy, IAP vẫn thu hút được sự quan tâm nghiên cứu trên toàn thế giới.

Bệnh do *M. suis* đã trở thành một thách thức đối với ngành chăn nuôi lợn tại Việt Nam. Tại nước ta, quy mô chăn nuôi nhỏ lẻ vẫn còn phổ biến và được thực hiện bởi người chăn nuôi chưa qua đào tạo (Sharifuzzaman & cs., 2024) dẫn tới hiệu quả an toàn vệ sinh trong thực hành kỹ thuật chăn nuôi không được đảm bảo. Bên cạnh đó, kháng sinh được sử dụng thường xuyên trong chăn nuôi với nhiều mục đích khác nhau dẫn tới việc phát hiện bệnh do *M. suis* đặc biệt là thể không có triệu chứng lâm sàng càng trở nên khó khăn hơn (Nguyễn Ngọc Hải & cs.,

2021). Hiện nay, hiệu quả chẩn đoán *M. suis* bằng các kỹ thuật phát triển từ phương pháp PCR đã được chứng minh bởi nhiều nhà nghiên cứu trên thế giới (Yuan & cs., 2008; Dietz & cs., 2014; Normand & cs., 2020); Ngoài ra, *M. suis* cũng có thể được chẩn đoán ngay tại thực địa bằng phương pháp nhuộm Giemsa với các bước thực hiện đơn giản, cho kết quả chẩn đoán nhanh cũng như không đòi hỏi chi phí đầu tư cao cho thiết bị và dụng cụ (Normand & cs., 2020; Stadler & cs., 2021).

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Ba mươi mẫu máu của lợn nái ra giống lợn lai F1 (Yorkshire × Landrace). Trong đó sử dụng phương pháp Realtime PCR xác định 15 mẫu lợn bệnh (dương tính với *M. suis*) và 15 mẫu lợn khoẻ (âm tính với *M. suis*) được sử dụng làm đối chứng. Mỗi mẫu máu được chia đều vào 2 ống chứa EDTA và heparin, vận chuyển lạnh về Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ sinh học, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam trong vòng 24 giờ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp Realtime PCR xác định sự có mặt của *M. suis*

DNA được tách chiết bằng kit MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification trên hệ thống máy tách chiết tự động KingFisher™ Duo Prime Purification của hãng Thermo Fisher Scientific, các bước tiến hành được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Phản ứng Realtime PCR xác định sự có mặt của *M. suis* trong mẫu máu lợn sử dụng cặp mồi và đoạn dò theo Guimaraes & cs. (2011) để xác định gene 16S rRNA của *M. suis*.

Hỗn hợp phản ứng được chi tiết trong bảng 2.

Thực hiện phản ứng theo chu trình nhiệt ở bảng 3.

Đọc kết quả: Mẫu dương tính khi có Ct ≤ 35, mẫu âm tính nếu không có Ct, mẫu nghi ngờ nếu 40 > Ct > 35, trường hợp nghi ngờ cần tách chiết và chạy Realtime PCR lại hoặc dùng phương pháp khác để khẳng định.

Bảng 1. Trình tự mỗi và đoạn dò

Tên	Trình tự (5'- 3')	Nguồn
Mỗi xuôi	CCCTGATTGTACTAATTGAATAAG	Guimaraes & cs. (2011)
Mỗi ngược	GCGAACACTTGTTAAGCAAG	
Đoạn dò	FAM-TGRATACACAYTTCAG-MGBNFQ	

Bảng 2. Thành phần hỗn hợp phản ứng

Thành phần phản ứng	Thể tích cần lấy (μ l)
Platinum SuperMix UDG	12,5
Mỗi xuôi (10 μ M)	1
Mỗi ngược (10 μ M)	1
Đoạn dò (10 μ M)	0,5
Nước (xử lý DEPC)	5
Mẫu DNA	5
Tổng thể tích	25

Bảng 3. Chu trình nhiệt phản ứng Realtime PCR

Giai đoạn	Bước tổng hợp	Nhiệt độ ($^{\circ}$ C)	Thời gian	Chu kỳ
1	Duỗi mạch	50	2 phút	1
		95	3 phút	
2	Duỗi mạch	95	15 giây	40
	Gắn mỗi	60	30 giây	

2.2.2. Phương pháp xác định các chỉ số sinh lý, sinh hoá máu

Các chỉ số sinh lý máu được xét nghiệm từ mẫu chống đông trong ống EDTA sử dụng máy xét nghiệm tự động BC-2800Vet (Mindray, Trung Quốc) bao gồm số lượng hồng cầu - RBC (Red Blood Cell count, Tera/l); Hàm lượng huyết sắc tố - HGB (Hemoglobin concentration, g/l); Tỷ lệ hồng cầu - HCT (Hematocrit, %); Thể tích trung bình hồng cầu - MCV (Mean Corpuscular Volume, %); Lượng huyết sắc tố trung bình trong hồng cầu - MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin, Pg); Nồng độ huyết sắc tố trung bình trong hồng cầu - MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration, g/l); Số lượng bạch cầu - WBC (White Blood Cell, nghìn/mm³).

Các chỉ số sinh hoá máu được xét nghiệm từ huyết thanh được tách từ mẫu chống đông trong ống Heparin, ly tâm 15 phút tốc độ 3.000

vòng/phút, phân tích bằng máy bán tự động Genrui WP21B Vet (Trung Quốc). Đọc kết quả sau 15 phút. Các chỉ số nghiên cứu bao gồm AST (Aspartate Aminotransferase, U/l); ALT (Alanine Aminotransferase, U/l); Ure (Mmol/l); Creatinin (Umol/l); Calcium (Mmol/l); Glucose (Mmol/l); Amylase (IU/l), Bil T μ mol/l); Bil D (Mg/dl).

2.2.3. Phương pháp nhuộm tiêu bản máu sử dụng thuốc nhuộm Giemsa

Thực hiện phiết tiêu bản máu sử dụng mẫu chống đông trong ống EDTA theo phương pháp thường quy, lựa chọn tiêu bản có các tế bào máu được dàn đều một lớp và để khô tự nhiên trước khi tiến hành nhuộm.

Phương pháp nhuộm Giemsa theo hướng dẫn của CDC (2016) được thực hiện theo quy trình (có chỉnh sửa) sau: Chuẩn bị dung dịch Giemsa 10% theo hướng dẫn của nhà sản xuất, lọc cặn (nếu có) bằng giấy lọc. Thuốc nhuộm pha

để sử dụng trong ngày, không sử dụng thuốc nhuộm cũ. Cố định tiêu bản máu bằng Methanol 100% trong 1-2 phút; Để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng; Nhuộm tiêu bản trong dung dịch Giemsa 10% trong 10 phút, đảm bảo lượng thuốc nhuộm trong khay nhuộm phủ kín toàn bộ tiêu bản; Rửa tiêu bản dưới vòi nước lọc (qua lõi lọc), chảy tràn trên bề mặt tiêu bản trong 1-2 phút; Để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng.

Tiêu bản được kiểm tra sử dụng kính hiển vi quang học Carl Zeiss Axio Lab.A1 (Carl Zeiss, Đức) vật kính dầu với độ phóng đại 1.000 lần. Kết quả dương tính được xác định với sự có mặt của *M. suis* hình tròn hoặc bầu dục, bắt màu xanh tím, bám trên bề mặt hồng cầu hoặc nằm tự do trong tiêu bản. Hồng cầu có thể bị biến dạng (Hình sao) ở nhiều mức độ khác nhau.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng kiểm định t trong phần mềm Microsoft Excel 2021 với $P < 0,05$ được coi là sự sai khác có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả xác định *M. suis* sử dụng phương pháp Realtime PCR

Mẫu máu từ lợn dương tính với *M. suis* thu được có giá trị Ct giao động từ 18.53 đến 31.05 (không trình bày trong bài báo này).

Căn cứ kết quả Realtime PCR để lựa chọn 15 mẫu máu lợn dương tính với *M. suis* và 15

mẫu máu lợn âm tính với *M. suis* phục vụ cho nghiên cứu xác định các chỉ tiêu huyết học và ứng dụng phương pháp nhuộm Giemsa.

3.2. Kết quả đánh giá các chỉ tiêu máu của lợn mắc bệnh do *M. suis*

3.2.1. Kết quả đánh giá các chỉ tiêu sinh lý máu

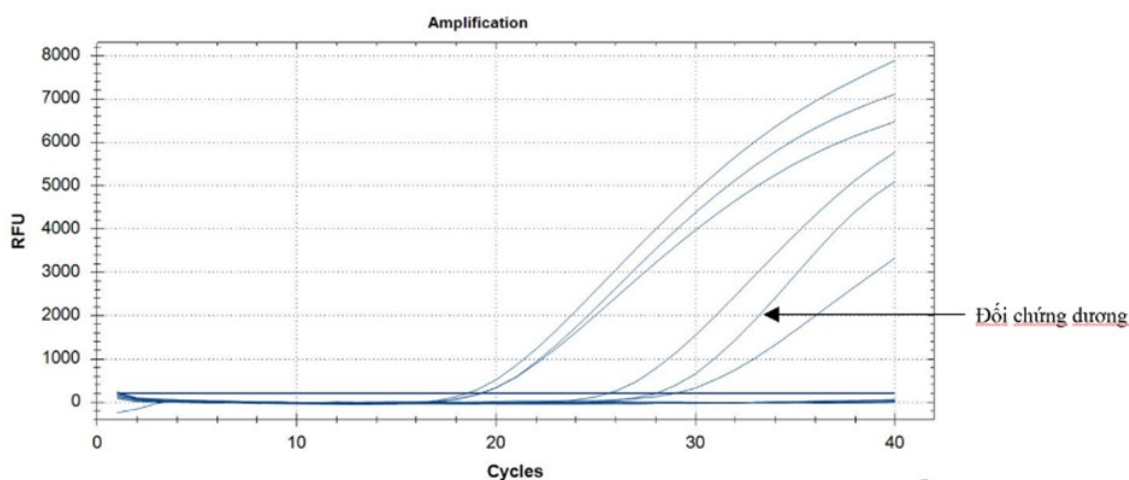
Bảy chỉ tiêu sinh lý máu bao gồm hồng cầu (6 chỉ tiêu) và 1 chỉ tiêu bạch cầu so sánh giữa lợn bệnh và lợn đối chứng được trình bày trong bảng 4.

Đối với các chỉ tiêu về hồng cầu, chỉ có chỉ tiêu về thể tích hồng cầu (MCV) là không có sự sai khác ($P > 0,05$) giữa lợn bệnh và lợn đối chứng. Các chỉ tiêu bao gồm RBC, HGB, HCT, MCH và MCHC của lợn mắc bệnh do *M. suis* đều thấp hơn so với lợn khoẻ ($P < 0,05$).

Ở lợn mắc bệnh do *M. suis*, số lượng bạch cầu không có sự sai khác ($P > 0,05$) so với lợn khoẻ.

3.2.2. Kết quả đánh giá các chỉ tiêu sinh hoá máu

Các chỉ số sinh hoá cho phép đánh giá hoạt động chức năng của các cơ quan trong cơ thể. Để có thể xác định tác động của *M. suis* lên cơ thể lợn bệnh, chúng tôi tiến hành đánh giá các chỉ tiêu đánh giá chức năng gan bao gồm AST, ALT và bilirubin; chức năng thận bao gồm các chỉ tiêu ure, creatinin và calcium; chức năng tụy bao gồm glucose và amylase.



Hình 1. Hình ảnh đồ thị Realtime PCR xác định sự có mặt của *M. suis*

Bảng 4. Kết quả so sánh các chỉ tiêu sinh lý máu

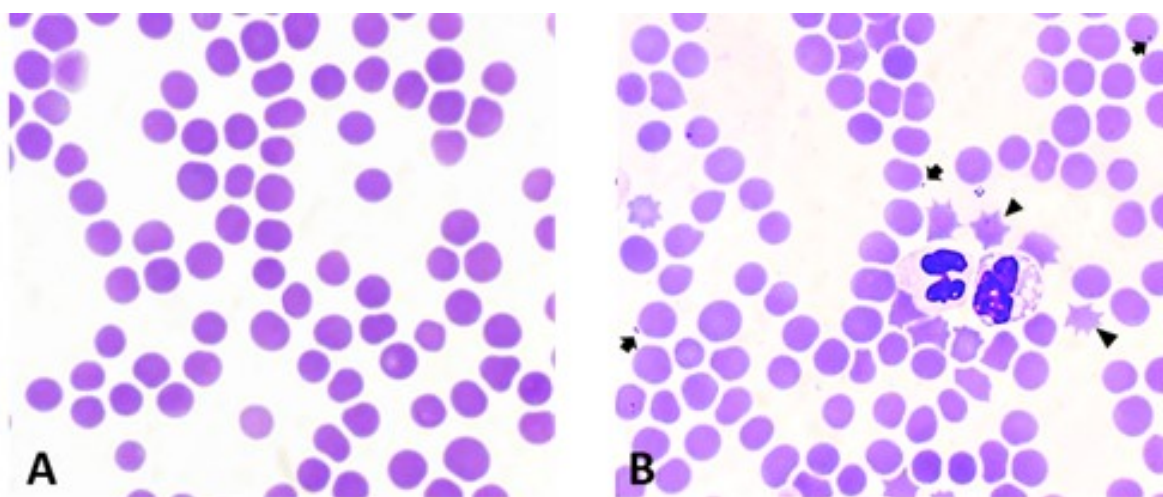
Chỉ tiêu	Đơn vị	Lợn mắc bệnh do <i>M. suis</i> (n = 15, Mean $\pm$ SE)	Lợn khỏe (n = 15, Mean $\pm$ SE)
RBC	Tera/l	5,24 ^a $\pm$ 0,61	6,45 ^b $\pm$ 0,46
HGB	g/l	101,20 ^a $\pm$ 22,38	123 ^b $\pm$ 15,26
HCT	%	35,70 ^a $\pm$ 1,44	42 ^b $\pm$ 2,13
MCV	%	66,04 $\pm$ 7,11	68 $\pm$ 2,31
MCH	Pg	18,48 ^a $\pm$ 1,32	22 ^b $\pm$ 1,56
MCHC	g/l	281,8 ^a $\pm$ 21,5	340 ^b $\pm$ 12,08
WBC	Nghìn/mm ³	16,52 $\pm$ 3,4	12,34 $\pm$ 2,56

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một hàng mang các chữ cái khác nhau (^{a, b}) thì sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

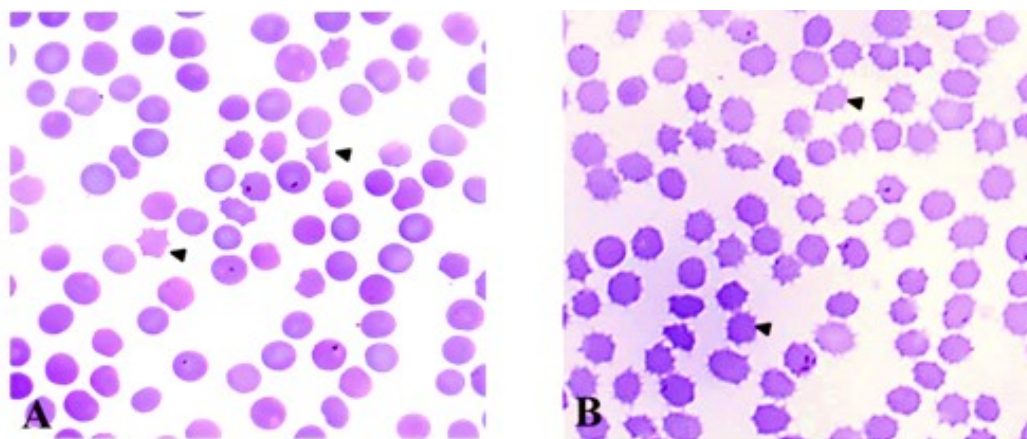
Bảng 5. Kết quả so sánh các chỉ tiêu sinh hoá máu

Chỉ tiêu	Đơn vị	Lợn mắc bệnh do <i>M. suis</i> (n = 15, Mean $\pm$ SE)	Lợn khỏe (n = 15, Mean $\pm$ SE)
AST	U/l	80,75 ^a $\pm$ 32,12	45,26 ^b $\pm$ 12,17
ALT	U/l	57,00 $\pm$ 19,01	65,00 $\pm$ 21,35
URE	Mmol/l	6,88 $\pm$ 0,6	5,38 $\pm$ 0,56
Creatinin	Umol/l	213,84 ^a $\pm$ 26,97	97,24 ^b $\pm$ 25,17
Calcium	Mmol/l	2,13 $\pm$ 0,49	2,23 $\pm$ 0,19
Glucose	Mmol/l	4,20 ^a $\pm$ 2,79	5,6 ^b $\pm$ 2,8
Amylase	IU/l	1191,87 $\pm$ 196,8	899,23 $\pm$ 156,7
BIL T	μ mol/l	15,96 ^a $\pm$ 0,61	9,2 ^b $\pm$ 0,51
BIL D	Mg/dl	5.30 $\pm$ 3,9	6.15 $\pm$ 2,56

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một hàng mang các chữ cái khác nhau (^{a, b}) thì sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 2. Hồng cầu lợn khỏe (A) và lợn mắc *M. suis* (B) với sự xuất hiện của *M. suis* (mũi tên) có dạng hình tròn màu xanh tím trên bề mặt hồng cầu hoặc nằm tự do (Hình ảnh hồng cầu biến dạng hình sao (đầu mũi tên) ở nhiều mức độ khác nhau (Giemsa, 100X))



Hình 3. Hình ảnh hồng cầu biến dạng hình sao (dấu mũi tên) ở nhiều mức độ khác nhau: rải rác (A) và biến dạng hầu hết toàn bộ (B) (Giemsa, 100X)

Kết quả đánh giá và so sánh được thể hiện trong bảng 5.

Theo số liệu thu được, lợn mắc bệnh do *M. suis* có các chỉ số AST, creatinin và bilirubin T lần lượt là 80,75 (U/l), 57 (U/l) và 15,96 ($\mu\text{mol/L}$) cao hơn so với lợn khỏe ($P < 0,05$). Ngược lại, lợn khỏe có chỉ số đường huyết cao hơn so với lợn bệnh (5,6 so với 4,2 mmol/l) và sự sai khác này là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Các chỉ số bao gồm ALT, ure, calcium, amylase và bilirubin D không thể hiện sự khác biệt giữa hai nhóm lợn nghiên cứu ($P > 0,05$).

3.3. Kết quả xác định *M. suis* trong mẫu máu sử dụng thuốc nhuộm Giemsa

M. suis xuất hiện trong tất cả các mẫu máu của lợn bệnh với dạng hình tròn hoặc bầu dục, nhuộm màu xanh tím. Chúng có thể bám trên bề mặt hồng cầu hoặc nằm tự do trong tiêu bản. Mật độ của *M. suis* có thể khác nhau giữa các tiêu bản, từ thưa thớt, rải rác cho tới tụ tập với nhau thành từng đám.

Trong các mẫu máu của lợn mắc bệnh do *M. suis* thể hiện cấp độ tổn thương hồng cầu khác nhau. Sự thoái hoá của hồng cầu được ghi nhận từ tất cả các mẫu bao gồm biến dạng hình sao, bắt màu nhạt với thuốc nhuộm. Bên cạnh một số mẫu ghi nhận sự xuất hiện rải rác của hồng cầu bị thoái hoá, thì một số mẫu máu ghi nhận mức độ tổn thương rất nặng với hầu hết toàn bộ hồng cầu bị biến dạng (Hình 3).

4. THẢO LUẬN

Hiện nay, Realtime PCR là phương pháp được sử dụng phổ biến trong chẩn đoán và nghiên cứu *Mycoplasma*. Rất nhiều quy trình phản ứng đã được các nhà khoa học trên thế giới công bố để có thể xác định *Mycoplasma* trong máu lợn mắc bệnh (Ade & cs., 2008; Watanabe & cs., 2012; Fu & cs., 2017). Hơn thế nữa, nhiều quy trình Realtime PCR đã được cải tiến, sử dụng các đoạn dò chuyên biệt để có thể xác định chính xác sự có mặt của *M. suis* mà không cần sử dụng quy trình giải trình tự sau đó (Hoelzle & cs., 2007; Gattinger & cs., 2008; Guimaraes & cs., 2011). Đặc tính không thể nuôi cấy của *Mycoplasma* dẫn đến sự phát triển tất yếu của các phương pháp chẩn đoán phân tử. Ngoài khả năng xác định sự xuất hiện của từng loại *Mycoplasma*, các phương pháp này còn cho phép xác định cường độ nhiễm, khắc phục được nhược điểm của các phương pháp chẩn đoán tế bào đã được sử dụng trước đó (Ritzmann & cs., 2009; Normand & cs., 2020).

Do cơ chế gây bệnh trên hồng cầu của *M. suis* chưa thực sự được làm sáng tỏ bởi đặc tính không thể nuôi cấy *in vitro* (Hoelzle & cs., 2014; Ade & cs., 2024). Vì vậy, các nghiên cứu huyết học chủ yếu tập trung đánh giá các chỉ tiêu chất lượng của hồng cầu. Sự giảm thấp các chỉ tiêu về chất lượng hồng cầu như số lượng (RBC), hàm lượng huyết sắc tố (HGB), tỷ lệ hồng cầu (HCT), lượng huyết sắc tố trung bình

hồng cầu (MCH) và nồng độ huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCHC) đã được ghi nhận bởi nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước (Brissonnier & cs., 2020; Stadler & cs., 2021; Nguyễn Ngọc Hải & cs., 2021). Hiện tượng thiếu máu tan huyết ở lợn mắc *M. suis* được giải thích thông qua hai cơ chế là trực tiếp và gián tiếp (Hoelzle & cs., 2014). *M. suis* có khả năng bám dính lên bề mặt hồng cầu, sau đó xâm nhập vào bên trong hồng cầu (Groebel & cs., 2008; Felder & cs., 2011; Schreiner & cs., 2012; Hoelzle & cs., 2014). Ngoài ra, việc *M. suis* cạnh tranh dinh dưỡng như glucose, amino acids, nicotinamide adenine dinucleotide (NADH)/nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) (Guimaraes & cs., 2011) được cho rằng là nguyên nhân dẫn tới giảm năng lượng, stress oxy hoá và giảm tuổi thọ hồng cầu từ đó làm giảm lượng hồng cầu tuần hoàn (Hoelzle & cs., 2014). Đối với cơ chế gây thiếu máu tan huyết gián tiếp được cho là do nhiễm khuẩn dẫn tới kích thích cơ chế phòng vệ tự nhiên của cơ thể, tiêu huỷ tế bào hồng cầu được thực hiện bởi IgG và IgM (Felder & cs., 2010). Vì vậy, ở lợn mắc *M. suis*, các chỉ tiêu sinh lý máu liên quan đến số lượng và chất lượng hồng cầu đều sụt giảm.

Việc đánh giá các chỉ tiêu sinh hoá máu của lợn mắc *M. suis* chủ yếu để nghiên cứu ảnh hưởng của nhiễm trùng tới hoạt động chức năng của các cơ quan. Hạ đường huyết và tăng hàm lượng bilirubin ở lợn mắc *M. suis* đã được ghi nhận ở cả lợn mắc bệnh trong tự nhiên (Brissonnier & cs., 2020) và trong gây bệnh thực nghiệm (Stadler & cs., 2021). Đây là hệ quả của việc sử dụng dinh dưỡng của *M. suis* trong máu cũng như quá trình tan huyết gây ra bởi *M. suis* như đã giải thích trên đây dẫn tới nồng độ glucose trong máu giảm.

Khi đánh giá hoạt động chức năng gan giữa hai nhóm lợn, các chỉ số sinh hoá máu đều cho thấy hiện tượng quá tải hoạt động của gan. Sự tăng bilirubin gián tiếp ($P < 0,05$) không đi kèm với sự tăng bilirubin trực tiếp ($P > 0,05$) cho thấy sự quá tải hoạt động chuyển hoá sản phẩm tan huyết - nhân hem - tại gan. Bilirubin gián tiếp không được chuyển hoá toàn bộ thành bilirubin trực tiếp, sẽ được vận chuyển tới mô liên kết,

giải thích cho hiện tượng vàng da ở lợn bệnh (Stadler & cs., 2021). Hơn thế nữa, sự tăng của AST ($P < 0,05$) không đi kèm với tăng ALT ($P > 0,05$) cho thấy sự tăng hoạt động của tế bào gan bởi kích thích bệnh lý từ các cơ quan khác ngoài gan mà không liên quan đến hiện tượng viêm của tế bào gan.

Các chỉ số urea và creatinin huyết trong nghiên cứu này cho thấy đa phần lợn mắc bệnh ở giai đoạn muộn. Bởi theo Stadler & cs. (2021), tăng ure huyết do *Mycoplasma* thường được ghi nhận trong các ca bệnh cấp tính, chủ yếu là do sốt cấp tính dẫn tới giảm hàm lượng nước mà không liên quan đến chức năng thận. Hơn thế nữa, tình trạng thiếu oxy ở lợn mắc *Mycoplasma* được cho là hệ quả của thiếu máu hoặc đông máu nội mạch rải rác (DIC - Disseminated intravascular coagulation) (Plank & Heinritz, 1990). Tuy nhiên, DIC ở thận đã không được ghi nhận là một trạng thái bệnh lý phổ biến ở lợn mắc *M. suis* (Stadler & cs., 2021). Do vậy, hiện tượng tăng creatinin huyết ở lợn bệnh trong nghiên cứu này có thể được giải thích là do quá trình suy nhược, mất nước và thiếu oxy kéo dài dẫn tới suy giảm chức năng thận.

Trước khi có sự phát triển và áp dụng của kỹ thuật chẩn đoán gen thì nhuộm tiêu bản máu là phương pháp được ưu tiên lựa chọn trong chẩn đoán *Mycoplasma*. Các phương pháp nhuộm đã được áp dụng như Hematoxylin - Eosin, Giemsa (Normand & cs., 2020; Stadler & cs., 2021) xác định *Mycoplasma* như những chấm đỏ có màu từ đỏ nhạt đến đỏ tía hoặc màu tím, nằm bám trên bề mặt màng hồng cầu hoặc rải rác trong huyết tương. Hoặc các kỹ thuật nhuộm đã được cải tiến như hiển vi huỳnh quang cho thấy các “đốm” *Mycoplasma* màu vàng cam trên màng hồng cầu nhuộm màu xanh lục (Ritzmann & cs., 2009; Hoelzle, 2009; Ligasová & cs., 2019). Mặc dù các kỹ thuật nhuộm *Mycoplasma* đã được nhiều nhà nghiên cứu cải tiến, hàm lượng vi khuẩn trong máu cũng như khả năng lưu trú của *Mycoplasma* trong tế bào hồng cầu... vẫn được cho là những nguyên nhân làm giảm độ nhạy cũng như độ đặc hiệu của phương pháp chẩn đoán này (Ade & cs., 2024). Do phương pháp nhuộm giemsa

không thể cho kết quả đặc hiệu để phân biệt giữa *M. suis* với *M. parvum* hay *candidatus M. haemosuis*, việc sử dụng kết hợp với các xét nghiệm sinh học phân tử như Realtime PCR là cần thiết.

5. KẾT LUẬN

Kết quả so sánh các chỉ tiêu sinh lý và sinh hoá máu của lợn mắc bệnh do *M. suis* có thể là những chỉ tiêu quan trọng xác định thể bệnh. Giảm các chỉ số chất lượng hồng cầu giữa lợn khoẻ và lợn bệnh như RBC (giảm khoảng 1,21 tera/l); HGB (giảm khoảng 22 g/l); HCT (giảm khoảng 6,3 %); MCH (giảm khoảng 3,5 Pg) và MCHC (giảm khoảng 58,2 g/l); giảm glucose huyết (khoảng 1,4 Mmol/l), tăng AST (khoảng 35,4 U/l) không kèm tăng ALT; tăng bilirubin gián tiếp (khoảng 6,7 μ mol/l) không kèm tăng bilirubin trực tiếp có thể là những chỉ tiêu khẳng định các trường hợp mắc *M. suis* mãn tính. Hình ảnh thoái hoá, biến dạng hồng cầu hình sao kết hợp với sự xuất hiện của *M. suis* hình cầu nhuộm màu tím trên bề mặt hồng cầu hoặc rải rác trong huyết tương khẳng định trạng thái nhiễm *M. suis*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Acosta D.B., Ruiz M. & Sanchez J.P. (2019). First molecular detection of *Mycoplasma suis* in the pig louse *Haematopinus suis* (Phthiraptera: Anoplura) from Argentina. *Acta Trop.* 194: 165-168.
- Ade J., Eddicks M., Ritzmann M., Hoelzle K., Hoelzle L. & Stadler J. (2024). Hemotrophic Mycoplasmas infecting pigs: A review of the current knowledge. *Microorganisms* 12(7): 1267; <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071267>.
- CDC. (2016). Quy trình nhuộm tiêu bản máu bằng thuốc nhuộm Giemsa. Truy cập từ <https://www.cdc.gov/dpdx/diagnosticprocedures/blood/staining.html#print> ngày 20/01/2025.
- Cong L. Yuan, Ai B. Liang, Cong B. Yao, Zhi B. Yang, Jian G. Zhu, Li Cui, Fei Yu, Ning Y. Zhu, Xiao W. Yang & Xiu G. Hua. (2008). Prevalence of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) infection in swine and swine-farm workers in Shanghai, China. *American Journal of Veterinary Research*. 70(7): 890-894.
- Dias G.B., do Amaral R.B., Gatto I.R.H., Lopera I.M., de Oliveira L.G., Lux Hoppe E.G., Machado R.Z. & André M.R. (2019). Molecular detection of *Mycoplasma suis* in captive white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*) and wild boars (*Sus scrofa*) in Brazil. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 63: 94-96.
- Felder K.M., Hoelzle K., Heinritzi K., Ritzmann M. & Hoelzle L.E. (2010). Antibodies to actin in autoimmune haemolytic anaemia. *BMC Vet. Res.* 6: 1-9.
- Felder K.M., Hoelzle K., Ritzmann M., Kilchling T., Schiele D., Heinritzi K., Groebel K. & Hoelzle L.E. (2011). Hemotrophic mycoplasmas induce programmed cell death in red blood cells. *Cell. Physiol. Biochem.* 27: 557-564.
- Fu Y., Shi T., Xu L., Wei W., Lu F., Zhang X., Yuan X., Li J., Lv J. & Fang W. (2017). Identification of a novel *Hemoplasma* species from pigs in Zhejiang province, China. *J. Vet. Med. Sci.* 79: 864-870.
- Gattinger B., Spargser J., Wille-Piazza W., Kolodziejek J., Tichy A. & Joachim A. (2008). Detection of *Mycoplasma (Eperythrozoon) suis* by real-time PCR. *Wien. Tierarztl. Monatsschrift.* 95(22).
- Groebel K., Hoelzle K., Wittenbrink M., Ziegler U. & Hoelzle L. (2008). *Mycoplasma suis* invades porcine erythrocytes. *Infect. Immun.* 77(2): 576-584.
- Guimaraes A.M., Vieira R.F., Poletto R., Vemulapalli R., Santos A.P., de Moraes W., Cubas Z.S., Santos L.C., Marchant-Forde J.N., Timenetsky J., Biondo A.W. & Messick J.B.. (2011). A quantitative TaqMan PCR assay for the detection of *Mycoplasma suis*. *J. Appl. Microbiol.* 111(2): 417-425.
- Hoelzle K., Engels M., Kramer M.M., Wittenbrink M.M., Dieckmann S.M. & Hoelzle L.E. (2010). Occurrence of *Mycoplasma suis* in wild boars (*Sus scrofa* L.). *Vet. Microbiol.* 143: 405-409.
- Hoelzle L.E. (2008). *Haemotrophic mycoplasmas*: recent advances in *Mycoplasma suis*. *Vet Microbiol.* 130(3-4): 215-26. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.12.023.
- Hoelzle L.E., Helbling M., Hoelzle K., Ritzmann M., Heinritzi K. & Wittenbrink M.M. (2007). First LightCycler real-time PCR assay for the quantitative detection of *Mycoplasma suis* in clinical samples. *J. Microbiol. Methods.* 70: 346-354.
- Hoelzle L.E., Zeder M., Felder K.M. & Hoelzle K. (2014). Pathobiology of *Mycoplasma suis*. *Vet. J. Lond. Engl.* 197(202):20-25. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.07.023.
- Ligasová A., Vydržalová M., Buriánová R., Brůčková L., Večeřová R., Janošťáková A. & Koberna K. (2019). A New Sensitive Method for the Detection of Mycoplasmas Using Fluorescence Microscopy. *Cells.* 8(12): 1510.
- Ludwig E Hoelzle, Katharina Hoelzle, Marianne Helbling, Heike Aupperle, Heinz A Schoon, Mathias Ritzmann, Karl Heinritzi, Kathrin M

- Felder & Max M Wittenbrink (2007). MSG1, a surface-localised protein of *Mycoplasma suis* is involved in the adhesion to erythrocytes. *Microbes and Infection*. 9(4): 466-474
- Ludwig E. Hoelzle, Michael Zeder, Kathrin M. Felder & Katharina Hoelzle (2014). Pathobiology of *Mycoplasma suis*. *The Veterinary Journal*. 202(1): 20-25
- Mathieu Brissonnier, Valérie Normand, Arnaud Lebret, Pierre-Yves Moalic, Anne-Sophie Guyomard, Véronique Bachy, Pauline Berton, Vincent Auvigne, Franck Bouchet, Gwenaël Boulbria (2020). Frequency of infection with *Mycoplasma suis* in gestating sows using qPCR on ten commercial French herds, and impact of the infection on clinical, haematological and biochemical parameters. *Porcine Health Management*. 6:13. doi: 10.1186/s40813-020-00152-4.
- Nguyễn Ngọc Hải, Bùi Thị Diệu Mai, & Diệp An Thành Long (2021). Hiệu quả điều trị *Mycoplasma suis* của một số loại kháng sinh thông qua các chỉ tiêu sinh hóa máu và tình trạng sức khỏe trên heo con cai sữa. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Chăn nuôi*. 265.
- Normand V., Boulbria G., Brissonnier M., Bachy V., Moalic P., Berton P., Bouchet F. & Lebret A. (2020). Comparison of qPCR and blood smear microscopy for the diagnosis of *Mycoplasma suis* in a French veterinary practice. *Porc. Health Manag.* 6: 4-7.
- Plank G. & Heinritzi K. (1990). Disseminated intravascular coagulation in eperythrozoonosis of swine. *Berl Much Tierarztl Wochenschr.* 103(1): 13-18.
- Ritzmann M., Grimm J., Heinritzi K., Hoelzle K. & Hoelzle L.E. (2009). Prevalence of *Mycoplasma suis* in slaughter pigs, with correlation of PCR results to hematological findings. *Vet Microbiol.* 133: 84-91.
- Santana M.d.S., Hoppe E.G.L., Carraro P.E., Calchi A.C., de Oliveira L.B., do Amaral R.B., Mongruel A.C.B., Machado D.M.R., Burger K.P. & Barros-Batestti D.M. (2022). Molecular detection of vector-borne agents in wild boars (*Sus scrofa*) and associated ticks from Brazil, with evidence of putative new genotypes of Ehrlichia, Anaplasma, and haemoplasmas. *Transbound. Emerg. Dis.* 69: 2808-2831.
- Schreiner S.A., Hoelzle K., Hofmann-Lehmann R., Hamburger A., Wittenbrink M.M., Kramer M.M., Sokoli A., Felder K.M., Groebel K. & Hoelzle L.E. (2012). Nanotransformation of the haemotrophic *Mycoplasma suis* during *in vitro* cultivation attempts using modified cell free Mycoplasma media. *Vet. Microbiol.* 160: 227-232.
- Schreiner S.A., Sokoli A., Felder K.M., Wittenbrink M.M., Schwarzenbach S., Guhl B., Hoelzle K. & Hoelzle L.E. (2012). The surfacelocalised α -enolase of *Mycoplasma suis* is an adhesion protein. *Vet. Microbiol.* 156: 88-95.
- Schwarz L., Strauss A., Loncaric I., Spargser J., Auer A., Rümenapf T. & Ladinig A. (2020) The Stable Fly (*Stomoxys calcitrans*) as a Possible Vector Transmitting Pathogens in Austrian Pig Farms. *Microorganisms*. 8: 1476.
- Sharifuzzaman M., Hong-Seok Mun, Keiven Mark B. Ampode, Eddiemar B. Laguna, Hae-Rang Park, Young-Hwa Kim, Md Kamrul Hasan and Chul-Ju Yang. (2024). Smart pig farming - a journey ahead of Vietnam. *Agriculture*. 14,555
- Stadler J., Ritzmann M., Heinritzi K., Wittenbrink M.M. and Hoelzle K. (2008). Investigation of the distribution of *Mycoplasma suis* in Germany by realtime PCR. *Tierärztliche Umschau*. 63. 21-25
- Stadler J., Ade J., Hermanns W., Ritzmann M., Wentzel S., Hoelzle K. & Hoelzle L.E. (2021). Clinical, haematological and pathomorphological findings in *Mycoplasma suis* infected pigs. *BMC Vet. Res.* 17: 214.
- Stadler J., Jannasch C., Mack S.L., Dietz S., Zöls S., Ritzmann M., Hoelzle K. & Hoelzle L.E. (2014). Clinical and haematological characterisation of *Mycoplasma suis* infections in splenectomised and non-splenectomised pigs. *Vet. Microbiol.* 172: 294-300.
- Stadler J., Willi S., Ritzmann M., Eddicks M., Ade J., Hoelzle K. & Hoelzle L.E. (2019). Detection of *Mycoplasma suis* in pre-suckling piglets indicates a vertical transmission. *BMC Vet Res.* 15: 252. doi: 10.1186/s12917-019-2001-y.
- Stefanie Dietz, SarahLena Mack, Katharina Hoelzle, Katja Becker, Carolin Jannasch, Julia Stadler, Mathias Ritzmann & Ludwig E. Hoelzle. (2014). Quantitative PCR analysis of *Mycoplasma suis* shedding patterns during experimental infection. *Veterinary Microbiology*. 172 (3-4): 581-585.
- Strait E.L., Hawkins P.A. & Wilson W.D. (2012). Dysgalactia associated with *Mycoplasma suis* infection in a sow herd. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 241: 1666-1667.
- Valérie Normand, Gwenaël Boulbria, Mathieu Brissonnier, Véronique Bachy, Pierre-Yves Moalic, Pauline Berton, Franck Bouchet & Arnaud Lebret. (2020). Comparison of qPCR and blood smear microscopy for the diagnosis of *Mycoplasma suis* in a French veterinary practice. *Porcine Health Management*. <https://doi.org/10.1186/s40813-019-0143-8>
- Watanabe Y., Fujihara M., Suzuki J., Sasaoka F., Nagai K. & Harasawa R. (2012). Prevalence of swine hemoplasmas revealed by real-time PCR using 16S rRNA gene primers. *J. Vet. Med. Sci.* 74: 1315-1318.