

SỰ LƯU HÀNH CỦA VIRUS VIÊM NÃO NHẬT BẢN TRÊN HEO Ở MỘT SỐ TỈNH PHÍA NAM

Nguyễn Ngọc Hải^{1,2*}, Võ Tấn Hùng², Nguyễn Trung Quân²

Tóm tắt

Viêm não Nhật Bản là bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, không chỉ gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người, mà còn gây rối loạn sinh sản ở heo nái làm thiệt hại lớn cho ngành chăn nuôi heo. Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá sự lưu hành của virus viêm não Nhật Bản trên heo ở một số tỉnh phía Nam, bao gồm Đồng Nai, Bình Phước, Bình Thuận, Tây Ninh, Bình Dương. Kết quả cho thấy, tỷ lệ các mẫu dương tính với virus viêm não Nhật Bản bằng phương pháp Real-time RT-PCR là 33,3% (8/24 mẫu) và tỷ lệ các mẫu dương tính với kháng thể kháng virus viêm não Nhật Bản bằng phương pháp ELISA là 65% (13/20 mẫu). Nghiên cứu bước đầu cho thấy sự lưu hành đáng lo ngại của JEV trên đàn heo của nhiều tỉnh thành tại Việt Nam. Kết quả nghiên cứu là những thông tin hữu ích, làm cơ sở khoa học cho việc xây dựng các chương trình tầm soát và kiểm soát hiệu quả virus viêm não Nhật Bản, giảm thiệt hại kinh tế cho người chăn nuôi heo và giảm thiểu rủi ro với sức khỏe cộng đồng.

Từ khóa: Viêm não Nhật Bản, heo, Real-time RT-PCR, ELISA.

Abstract

Japanese encephalitis is a dangerous infectious disease that not only seriously affects human health but also causes reproductive disorders in sows, causing great damage to the pig industry. This study aimed to evaluate the circulation of Japanese encephalitis virus in pigs in some Southern provinces, including Dong Nai, Binh Phuoc, Binh Thuan, Tay Ninh, and Binh Duong. The results showed that the rate of samples positive for Japanese encephalitis virus by Real-time RT-PCR method was 33.3% (8/24 samples) and the rate of samples positive for antibodies against Japanese encephalitis virus by ELISA method is 65% (13/20 samples). This preliminary study showed JEV are circulating in pig herds of many provinces in Vietnam. The results of the study provided initial useful information, serving as a scientific data for creating the screening program and effective solutions to prevent and control Japanese encephalitis virus, minimizing the damage to swine production and also the risks to public health.

Keywords: Japanese encephalitis, pig, Real-time RT-PCR, ELISA

Cited as: Nguyen N.H., Vo T.H., Nguyen T.Q. (2025) Circulation of Japanese encephalitis virus in pigs in some Southern provinces. AVS2025 proceedings, Vietnam: 1-5.

Đặt vấn đề

Viêm não Nhật Bản là bệnh truyền nhiễm nguy hiểm lây truyền từ động vật sang người. Ước tính mỗi năm trên thế giới có khoảng 68.000 ca mắc bệnh trên người (Campbell & cs, 2011). Virus viêm não Nhật Bản (Japanese encephalitis virus - JEV) thuộc giống *Flavivirus*, họ *Flaviviridae*, lây truyền qua trung gian truyền bệnh là muỗi *Culex* (Srivastava & cs, 2023). Các loài động vật mang mầm bệnh thường là gia súc như heo, trâu bò, ngựa và chim hoang dã. Muỗi sau khi hút máu từ các loài động vật bị bệnh sẽ bị nhiễm virus viêm não Nhật Bản, sau đó truyền sang người thông qua vết muỗi đốt (Oliveira & cs, 2018). Heo là vật chủ nhân lên quan trọng trong chu trình lây truyền của virus (Ricklin & cs, 2016). Ngoài ra, virus viêm não Nhật Bản còn là nguyên nhân gây ra các rối loạn sinh sản trên heo như sảy thai, thai chết lưu, thai khô, gây ảnh hưởng lớn đến năng suất chăn nuôi (Williams & cs, 2012). JEV lưu hành chủ yếu ở khu vực châu Á – Thái Bình Dương. Tại Việt Nam, nghiên cứu của Nguyễn Thị Lan & cs, (2016) và của Hồ Thị Việt Thu & cs, (2022) đã cho thấy JEV hiện diện trên đàn heo. Nghiên cứu này được thực hiện trên đàn nái sinh sản bằng phương pháp Real-time RT-PCR và ELISA, nhằm đánh giá rõ hơn sự lưu hành JEV trên đàn nái ở một số tỉnh phía Nam Việt Nam, từ đó làm cơ sở cho việc đưa ra các giải pháp kiểm soát hiệu quả virus viêm não Nhật Bản trên heo, góp phần giảm thiệt hại kinh tế cho người chăn nuôi heo và giảm thiểu rủi ro với sức khỏe cộng đồng

Nội dung và phương pháp

Mẫu

Tổng cộng 19 mẫu mô (thai sảy, thai khô/ lưu, cuống rốn/ dịch ối, lách, gan, phổi, não, thận) và 5 mẫu máu được lấy ở các trại thuộc các tỉnh Đồng Nai, Bình Phước, Bình Thuận, Tây Ninh, Bình Dương để làm xét nghiệm virus JEV bằng kỹ thuật Real-time RT-PCR; cùng với 20 mẫu máu được lấy từ heo có triệu chứng rối loạn sinh sản ở trại thuộc tỉnh Tây Ninh để làm xét nghiệm kháng thể đặc hiệu JEV bằng kỹ thuật ELISA. Tất cả mẫu được xét nghiệm đều thu từ trại chưa được tiêm vaccine JEV.

Các mẫu được bảo quản mát (2 – 8°C) và gửi về Phòng chẩn đoán xét nghiệm P&Y (công ty TNHH Dịch vụ Chăn Nuôi P&Y) trong vòng 24 giờ để thực hiện các bước phân tích tiếp theo.

Phương pháp Real-time RT-PCR

Các mẫu mô và mẫu máu sau khi xử lý được tách chiết RNA bằng máy tách chiết tự động IndiMag 48s sử dụng bộ kit IndiMag Pathogen IM48 Cartridge (INDICAL BIOSCIENCE, Đức). Quy trình Real-time RT-PCR phát hiện virus JEV được thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit VDX® EMCV/JEV MP qRT-PCR (MEDIAN Diagnostics, Hàn Quốc). Bộ kit này phát hiện đồng thời gene NS2 của virus JEV và gene 3D của virus gây bệnh viêm não cơ tim (Encephalomyocarditis virus - EMCV). Thành phần một phản ứng bao gồm: 10 µl Master Mix (2X) + 5 µl Oligo Mix (4X) + 5 µl mẫu RNA tách chiết hoặc mẫu chứng dương, chứng âm. Chu trình nhiệt gồm các bước: Tổng hợp cDNA ở 50°C trong 30 phút; tiền biến tính ở 95°C trong 2 phút; (biến tính 95°C trong 10 giây, bắt cặp và kéo dài ở 60°C trong 30 giây) lặp lại 40 chu kỳ. Tín hiệu huỳnh quang được thu nhận ở cuối bước kéo dài. Đường ngưỡng được thiết lập ở mức 5% giá trị huỳnh quang cao nhất của đối chứng dương.

Phương pháp ELISA

Các mẫu máu được ly tâm để thu huyết thanh. Kháng thể đặc hiệu với JEV trong các mẫu huyết thanh được phát hiện bằng bộ kit VDPPro®Japanese Encephalitis AB ELISA (MEDIAN Diagnostics, Hàn Quốc). Quy trình thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit: Mẫu huyết thanh được pha loãng 1/100 với Dilution Buffer; thêm 100 µl mẫu huyết thanh đã pha loãng vào giếng có phủ kháng nguyên JEV; thêm 100 µl NC và PC vào các giếng tương ứng; ủ đĩa ở 37°C trong 1 giờ; rửa đĩa với 300 µl Washing buffer lặp lại 3 lần; bổ sung 100 µl HRPO Anti-Swine IgG Conjugate; ủ đĩa ở 37°C trong 1 giờ; rửa đĩa với 300 µl Washing buffer lặp lại 3 lần; thêm 100 µl TMB Substrate; ủ đĩa tránh sáng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút; thêm 50 µl Stop Solution; đo OD đọc kết quả ở bước sóng 450 nm. Tính giá trị S/P của từng mẫu theo công thức: $S/P = OD \text{ mẫu} / OD \text{ PC}$. Mẫu có $S/P \geq 0,25$ là dương tính với kháng thể JEV.

Xử lý số liệu

Các số liệu trong nghiên cứu được tính toán và trình bày bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

Kết quả và thảo luận

Kết quả Real-time RT-PCR

Kết quả thể hiện ở Bảng 1 cho thấy, trong số 24 mẫu xét nghiệm virus JEV bằng phương pháp Real-time RT-PCR, phát hiện 8 mẫu dương tính ở các trại ở Đồng Nai (2/2 mẫu dương), Bình Phước (3/4 mẫu dương), Bình Thuận (2/2 mẫu dương), Tây Ninh (1/11 mẫu dương). Trại ở Bình Dương không phát hiện mẫu dương. Tỷ lệ mẫu dương tính với virus JEV bằng phương pháp Real-time RT-PCR là 33,3% (8/24 mẫu). Các mẫu dương phát hiện được ở các loại mẫu thai sảy, thai khô/lưu và mẫu mô; không phát hiện mẫu dương ở mẫu máu. Ngoài ra, 24 mẫu xét nghiệm đều âm tính với virus gây bệnh viêm não cơ tim EMCV (dữ liệu không được trình bày).

Bảng 1: Kết quả Real-time RT-PCR phát hiện virus JEV ở các trại

STT	Vị trí trại	Kí hiệu mẫu	Loại mẫu	Kết quả	Ct
1	Đồng Nai	TS4	Thai sảy	Dương tính	29.71
2		TS6	Thai sảy	Dương tính	33.61
3	Bình Phước	1	Thai sảy	Dương tính	36.95
4		2	Thai sảy	Dương tính	19.27
5		3	Thai sảy	Dương tính	19.52
6		4	Mẫu kháng đông	Âm tính	-
7	Bình Thuận	P5	Lách, gan, phổi, não, thận	Dương tính	21.46
8		P6	Lách, gan, phổi, não, thận	Dương tính	22.72
9	Tây Ninh	G1	Mẫu đông	Âm tính	-
10		G2	Mẫu đông	Âm tính	-
11		G3	Mẫu đông	Âm tính	-
12		G4	Mẫu đông	Âm tính	-
13		5393-1	Cuống rốn/dịch ối	Âm tính	-
14		5393-2	Cuống rốn/dịch ối	Âm tính	-
15		5393-3	Thai khô/ lưu	Dương tính	15.61
16		5393-4	Thai khô/ lưu	Âm tính	-
17		5393-5	Thai khô/ lưu	Âm tính	-
18		5393-6	Thai khô/ lưu	Âm tính	-
19		5393-7	Thai khô/ lưu	Âm tính	-
20	Bình Dương	CT1	Lách, gan, phổi, não, thận	Âm tính	-
21		CT2	Lách, gan, phổi, não, thận	Âm tính	-

22	CT3	Lách, gan, phổi, não, thận	Âm tính	-
23	SL1	Lách, gan, phổi, não, thận	Âm tính	-
24	SL2	Lách, gan, phổi, não, thận	Âm tính	-

Kết quả ELISA

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ tiến hành lấy mẫu xét nghiệm ELISA tìm kháng thể kháng virus JEV đối với trại ở Tây Ninh. Kết quả thể hiện ở Bảng 2 cho thấy, 13/20 mẫu huyết thanh có kháng thể kháng virus JEV, tỷ lệ dương tính là 65%. Cần lưu ý rằng trại này chưa tiêm phòng vaccine JEV và mẫu được lấy trên đối tượng heo nái viêm nang lông/ sùi bọt, có triệu chứng rối loạn sinh sản. Ngoài ra, khi gộp 20 mẫu này thành 4 mẫu gộp kiểm tra virus JEV bằng phương pháp Real-time RT-PCR thì không phát hiện virus JEV (mẫu G1 đến G4 ở Bảng 1). Ở trại này còn phát hiện 1 mẫu thai khô dương tính với virus JEV (mẫu 5393-3 ở Bảng 1). Như vậy có thể thấy trại đã từng bị nhiễm virus JEV và vấn đề rối loạn sinh sản ở trại có thể do virus JEV gây ra.

Bảng 2: Kết quả ELISA phát hiện kháng thể virus JEV

STT	Vị trí trại	Kí hiệu mẫu	Ghi chú	Loại mẫu	Kết quả	S/P
1	Tây Ninh	1	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Âm tính	0.011
2		2	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Âm tính	0.102
3		3	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.45
4		4	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.47
5		5	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	0.96
6		6	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Âm tính	0.038
7		7	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.148
8		8	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.093
9		9	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Âm tính	0.025
10		10	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.379
11		11	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.495
12		12	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.574
13		13	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Âm tính	0.094
14		14	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.428
15		15	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Âm tính	0.06
16		16	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.443
17		17	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Âm tính	0.056
18		18	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.374
19		19	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	0.838
20		20	Heo nái viêm nang lông/sùi bọt	Huyết thanh	Dương tính	1.272

Rối loạn sinh sản ở heo là một trong những mối quan tâm hàng đầu đối với ngành chăn nuôi. Các virus gây rối loạn sinh sản ở heo có thể kể đến như virus gây bệnh giả dại ở heo (ADV), parvovirus (PPV), virus gây bệnh viêm não cơ tim (EMCV), virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở heo (PRRSV),... và đặc biệt là virus viêm não Nhật Bản (JEV) (Shin & cs, 2024). Việc đánh giá sự lưu hành của virus JEV ở heo rất cần thiết, do heo là vật chủ nhân lên quan trọng trong chu trình lây nhiễm của virus. Trên thế giới cũng đã có các nghiên cứu đánh giá về tỷ lệ nhiễm của virus JEV trên heo. Nghiên cứu của Dhanze & cs, (2020) khảo sát trên 3027 mẫu huyết thanh heo ở Ấn Độ. Kết quả cho thấy tỷ lệ mẫu dương tính với kháng thể JEV đạt 16,12% (488/3027 mẫu). Nghiên cứu của Tang & cs, (2022) cho thấy có 19,27% (583/3026) mẫu huyết thanh dương tính với kháng thể virus JEV và 10,99% (42/382) mẫu mô dương tính với virus JEV từ các mẫu heo ở tỉnh Hồ Nam, Trung Quốc thu thập từ năm 2019 đến 2021. Ở Việt Nam, nghiên cứu của Nguyễn Thị Lan & cs,

(2016) về sự lưu hành của virus JEV ở heo nuôi tại huyện Gia Lâm, TP. Hà Nội cho thấy tỷ lệ mẫu huyết thanh dương tính với viêm não Nhật Bản là 6,25% (5/80 mẫu). Theo nghiên cứu của Hồ Thị Việt Thu & cs, (2022) có 17,46% (11/63 mẫu) các mẫu dịch xoang ngực thai và huyết thanh dương tính với kháng thể JEV, 100% (2/2) mẫu thai sẩy và chỉ có 4,08% (2/49) mẫu thai chết dương tính với JEV qua xét nghiệm RT-PCR. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ các mẫu dương tính với virus JEV bằng phương pháp Real-time RT-PCR là 33,3% (8/24 mẫu), trong đó 100% (5/5) thai sẩy và 20% (1/5) thai khô. Kết quả này cho thấy mẫu thai sẩy nên là mẫu được xem xét lấy để làm xét nghiệm phát hiện sự lưu hành JEV trên đàn heo sinh sản. Tỷ lệ dương tính với kháng thể JEV bằng phương pháp ELISA là 65% (13/20 mẫu), cao hơn nhiều so với kết quả Real-time RT-PCR. Điều này cũng được ghi nhận tương tự như trong nghiên cứu của Ho Viet Thu & cs, (2022). Như vậy, xét nghiệm ELISA phát hiện kháng thể đặc hiệu với JEV sẽ phù hợp cho chương trình tầm soát nhiễm JEV ở các đàn nái không có biểu hiện lâm sàng rõ ràng.

Kết quả của nghiên cứu cho thấy tình trạng nhiễm virus JEV ở heo đang có xu hướng ngày càng gia tăng. Đây là vấn đề cần được các nhà chăn nuôi chú ý quan tâm và đưa ra các biện pháp kiểm soát bởi virus viêm não Nhật Bản không chỉ làm giảm năng suất sinh sản của đàn heo mà còn là mối đe dọa nghiêm trọng đến sức khỏe của con người.

Kết luận

Nghiên cứu bước đầu đưa ra một số thông tin về sự lưu hành của virus viêm não Nhật Bản trên đàn heo ở một số tỉnh phía Nam. Tỷ lệ các mẫu dương tính với Real-time RT-PCR là 33,3% (8/24 mẫu); dương tính với ELISA là 65% (13/20 mẫu) và có xu hướng tăng hơn so với các nghiên cứu trước đó. Đây là cơ sở khoa học cho việc triển khai chương trình tầm soát JEV nhằm đưa ra các giải pháp phòng ngừa và kiểm soát hiệu quả bệnh viêm não Nhật Bản.

Lời cảm ơn

Thông tin tác giả

Sự đóng góp của tác giả

Cam kết của tác giả

Tài liệu tham khảo

1. Campbell G.L., Hills S.L., Fischer M., Jacobson J.A., Hoke C.H., Hombach J.M., Marfin A.A., Solomon T., Tsai T.F., Tsu V.D., Ginsburg A.S. (2011) Estimated global incidence of Japanese encephalitis: a systematic review. *Bulletin of the World Health Organization*, 89(10): 766-774E.
2. Dhanze H., Kumar M.S., Singh V., Gupta M., Bhilegaonkar K.N., Kumar A., Mishra B.P., Singh R.K. (2022) Detection of recent infection of Japanese encephalitis virus in swine population using IgM ELISA: A suitable sentinel to predict infection in humans. *J. Immunol. Methods*. 486:112848.
3. Ho T.V.T., Huynh N.T., Nguyen D.H. (2022) Detection of Japanese encephalitis virus and its specific antibody in abnormal swine litters in Vietnam. *Veterinary Integrative Sciences*, 20(3): 739-750.
4. Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Hữu Nam, Nguyễn Thị Thu Hằng, Lê Thị Dung, Nguyễn Hồng Thái, Hoàng Cảnh Lâm, Trần Thị Vân Anh (2016) Giám sát sự lưu hành của virus viêm não Nhật Bản ở heo nuôi tại huyện Gia Lâm, Thành phố Hà Nội. *Tạp chí KHKT Thú y* 23(2): 5-13.
5. Oliveira A.R.S., Strathe E., Etcheverry L., Cohnstaedt L.W., Mcvey D.S., Piaggio J., Cernicchiaro N. (2018) Assessment of data on vector and host competence for Japanese encephalitis virus: A systematic review of the literature. *Prev. Vet. Med.* 154: 71-89.
6. Ricklin M.E., García-Nicolás O., Brechbühl D., Python S., Zumkehr B., Nougaiere A., Charrel R.N., Posthaus H., Oevermann A., Summerfield A. (2016) Vector-free transmission and persistence of Japanese encephalitis virus in pigs. *Nat. Commun.* 7: 10832.
7. Shin G.E., Lee K.K., Ku B.K., Oh S.H., Jang S.H., Kang B., Jeoung H.Y. (2024) Prevalence of viral agents causing swine reproductive failure in Korea and the development of multiplex real-time PCR and RT-PCR assays. *Biologicals*. 86: 101763.
8. Srivastava K.S., Jeswani V., Pal N., Bohra B., Vishwakarma V., Bapat A.A., Patnaik Y.P., Khanna N., Shukla R. (2023) Japanese Encephalitis Virus: An Update on the Potential Antivirals and Vaccines. *Vaccines*, 11(4), 742.
9. Tang Q., Deng Z., Tan S., Song G., Zhang H., Ge L. (2022) Prevalence and Genetic Characteristics of Japanese Encephalitis Virus among Mosquitoes and Pigs in Hunan Province, China from 2019 to 2021. *J. Microbiol. Biotechnol.* 32(9): 1120-1125.
10. Williams D.T., Mackenzie J.S., Daniels P.W. (2012) Flaviviruses. In: *Diseases of Swine*, 10th Edition, Zimmerman J.J., Karriker L., Ramirez A., Schwartz K., Stevenson G., eds. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA: 528-537.