

## ỨNG DỤNG NHUỘM HÓA MÔ MIỄN DỊCH PHÁT HIỆN KHÁNG NGUYÊN VIRUS DỊCH TẢ LỢN CHÂU PHI TRÊN LỢN MẮC BỆNH

Nguyễn Thị Hoa<sup>1\*</sup>, Trương Quang Lâm<sup>1</sup>, Hoàng Thị Thu Hiền<sup>1</sup>, Nguyễn Hữu Nam<sup>1</sup>,  
Lại Thị Lan Hương<sup>1</sup>, Bùi Trần Anh Đào<sup>1</sup>, Yamaguchi Ryoji<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Lan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*  
<sup>2</sup>*Đại học Miyazaki, Nhật Bản*

\*Tác giả liên hệ: hoanguyenty@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 30.07.2020

Ngày chấp nhận đăng: 08.09.2020

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phát hiện kháng nguyên virus Dịch tả lợn châu Phi (DTLCP) trong các mô của lợn mắc bệnh, từ đó góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho việc lựa chọn mẫu bệnh phẩm phù hợp cho nghiên cứu và chẩn đoán. Chín cơ quan của 5 lợn dương tính với virus DTLCP đã được thu thập và tiến hành nhuộm hóa mô miễn dịch để phát hiện kháng nguyên vi rút. Kết quả nghiên cứu cho thấy kháng nguyên virus tập trung nhiều nhất ở hạch, lách, tiếp đến là phổi, thận, gan, phân bố ít ở não, tim, ruột và dạ dày. Kháng nguyên được phát hiện ở các tế bào đại thực bào, tế bào đơn nhân lớn ở nhiều cơ quan khác nhau, tế bào gan và tế bào biểu mô ống thận.

Từ khóa: Dịch tả lợn châu Phi, kháng nguyên, hóa mô miễn dịch.

### Application of Immunohistochemistry to Detect Antigen of African Swine Fever Virus in Infected Pigs

### ABSTRACT

The study was conducted to detect antigen of African swine fever virus (ASFV) in the tissues of infected pigs, therefore, contributing to clarifying the pathogenesis of the virus and providing a scientific basis for the selection of disease samples suitable for research and diagnostics. Nine organs of 5 ASFV positive pigs were collected and stained immunohistochemistry to detect viral antigen. Results showed that the ASF virus antigen was highly concentrated in organs such as lymph nodes and spleen, the lungs, liver and kidney; followed by brain, heart, intestines and stomach. Antigen was detected in macrophage cells, mononuclear cells in many different organs, hepatocytes and renal tubular epithelial cells.

Keywords: African swine fever, antigen, immunohistochemistry.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Dịch tả lợn châu Phi (DTLCP) là bệnh gây sốt, xuất huyết nghiêm trọng ở lợn (FAO, 2017). Bệnh do virus là thành viên duy nhất của họ *Asfarviridae* gây ra (Dixon & cs., 2005). Lợn mắc bệnh có tỷ lệ chết rất cao lên đến 100% (Eble & cs., 2019). Thời gian ủ bệnh trong tự nhiên từ 4-19 ngày. Các chủng virus độc lực cao gây sốt cao, bỏ ăn, xuất huyết ở da và các cơ quan nội tạng, chết trong vòng 4-10 ngày, có khi chết quá cấp tính trước khi có dấu hiệu lâm sàng đầu tiên. Các chủng độc lực thấp hơn có

triệu chứng lâm sàng không điển hình như sốt nhẹ, giảm ăn và mệt mỏi dễ bị nhầm lẫn với các bệnh khác ở lợn.

Virus có đường kính lớn khoảng 200nm chứa 2 sợi DNA kích thước 170-193kb mã hóa cho khoảng 150 đến 167 protein gồm 24 genotype khác nhau. Trong số này có khoảng 54 protein cấu trúc và khoảng 100 protein trực tiếp liên quan tới quá trình xâm nhiễm của virus (Sánchez-Vizcaíno & cs., 2012). Do đó, lợn nhiễm bệnh gây ra đáp ứng miễn dịch thể dịch mạnh mẽ tồn tại trong thời gian dài. Tuy nhiên, các kháng thể được sinh ra không có

khả năng trung hoà virus một cách có hiệu quả (Neilan & cs., 2004) và không thể phân loại theo type huyết thanh (serotype). Thay vào đó, phân loại được dựa trên việc phân tích trình tự một số vùng trên gen, như vùng C-terminal của gen mã hóa protein p72 (Bastos & cs., 2003). Dựa vào sự sai khác quan sát ở vùng gen này, các chủng virus DTLCP hiện hành được phân thành 24 genotype khác nhau (Quembo & cs., 2018). Bệnh xuất hiện lần đầu ở Kenya vào năm 1921 (Montgomery, 1921), sau đó vaccin phòng bệnh bắt đầu được phát triển vào những năm 1960. Cho đến thời điểm hiện tại, đã có rất nhiều hướng tiếp cận trong việc nghiên cứu vaccin phòng bệnh như: vaccin vô hoạt, vaccin tái tổ hợp, vaccin nhược độc... Tuy nhiên, vẫn chưa có một loại vaccin thương mại nào được chính thức công nhận (Arias & cs., 2017). Thêm vào đó, do đặc tính phức tạp về cấu trúc khiến cho hiểu biết về virus vẫn còn hạn chế trên thế giới (O'Donnell & cs., 2016). Tại Việt Nam bệnh DTLCP được công bố lần đầu tiên vào tháng 2 năm 2019 (Le Van Phan & cs., 2019). Do đây là dịch bệnh mới nổi ở Việt Nam nên rất cần các nghiên cứu về dịch tễ, bệnh lý, phương pháp chẩn đoán và vắc xin phòng. Vì vậy để góp phần tăng cường hiểu biết về sự phân bố kháng nguyên của virus trên các cơ quan tổ chức của lợn mắc bệnh thì nghiên cứu này là rất cần thiết.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Mẫu bệnh phẩm được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm các mô hạch, lách, phổi, gan, thận... của lợn mắc DTLCP.

- Vật tư, hóa chất: bao gồm hệ thống máy móc và vật tư phục vụ làm tiêu bản bệnh lý và nhuộm hóa mô miễn dịch như: máy đúc mẫu tự động, máy cắt tiêu bản Microm, phiến nhiệt làm khô tiêu bản, nồi hấp ước, kính hiển vi quang học, bộ nhuộm tiêu bản, phiến kính cho hóa mô miễn dịch, kháng thể sơ cấp kháng virus DTLCP (ASFV11-S, Anpha Diagnostic International, Mỹ), kháng thể thứ cấp (Histofine MAX-PO Multi, Nichirei Bioscience, Nhật), cồn, parafin, PBS, xylen, thuốc nhuộm HE...

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Cố định mẫu bệnh phẩm

Tiến hành thu mẫu mô theo quy trình của Bộ môn Bệnh lý Thú y, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Các mẫu mô được cắt với kích thước 2cm × 2cm × 2cm sao cho đảm bảo có đủ các vùng đặc trưng của mỗi cơ quan. Cố định mẫu trong formol 10% trung tính với thể tích gấp 10-20 lần thể tích mẫu và thay formol sau 24 giờ ngâm. Mẫu mô được cố định trong formol từ 3-5 ngày thì tiến hành sửa mẫu bằng việc cắt thành các miếng có kích thước 1cm × 0,5cm × 0,3cm và đặt trong casset, tiếp tục cố định mẫu trong formol cho đến khi chuyển đục. Mẫu mô làm hóa mô miễn dịch cố định trong formol tối thiểu 1 tuần và tối đa 2 tuần thì chuyển đục vào parafin.

#### 2.2.2. Chuyển đục và cắt dán mảnh

Mẫu mô được cố định trong formol theo quy trình của Bộ môn bệnh lý Thú y đủ thời gian được rửa nước chảy nhẹ 1 giờ. Sau đó chuyển qua hệ thống cồn 70°: 15 phút, cồn 70°: 2 giờ, cồn 80°: 2 giờ, cồn 90°: 2 giờ, cồn 100°: 2 giờ, cồn 100°: qua đêm. Khử cồn qua hệ thống xylen: xylen 1: 1,5 giờ, xylen 2: 1,5 giờ, xylen 3: 1,5 giờ, cuối cùng cho mẫu vào paraffin 1: 1,5 giờ, paraffin 2: 2 giờ và chuyển đục block. Cắt mô với độ dày 3µm. Dẫn mảnh qua 2 bình nước, bình nước lạnh (nước cất 2 lần ở nhiệt độ phòng) và bình nước ấm (45°C). Thu mẫu mô lên phiến kính làm hóa mô miễn dịch và để cố định trên phiến nhiệt làm khô tiêu bản.

#### 2.2.3. Hóa mô miễn dịch

Phương pháp nhuộm hoá mô miễn dịch (immunohistochemistry - IHC) được thực hiện theo quy trình của Bộ môn Bệnh lý Thú y gồm các bước cơ bản sau: chuyển mẫu mô đã được cắt dán mảnh vào 3 bình xylen mỗi bình 10 phút. Khử xylen bằng chuyển tiêu bản lần lượt qua hệ thống cồn 100°, 95°, 90°, 80° mỗi nồng độ cồn 30 giây. Rửa nước tiêu bản 10 phút dưới vòi nước chảy. Hoạt hóa enzym bằng cách ngâm ngập tiêu bản trong Citrat bufer pH = 6, hấp ở 105°C/10 phút. Rửa tiêu bản bằng dung dịch PBS 1X, lặp lại 3 lần mỗi lần 5 phút. Khử peroxydase nội sinh bằng ngâm ngập trong dung môi bao gồm Methanol và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, tỉ lệ 9:1 trong 30 phút.

Rửa tiêu bản bằng PBS 1X, lặp lại 3 lần mỗi lần 5 phút. Nhỏ kháng thể sơ cấp kháng virus DTLCP được pha loãng theo tỉ lệ 1:2500 lên tiêu bản, để ủ ấm 37°C trong 1 giờ. Rửa tiêu bản bằng PBS 1X, lặp lại 3 lần, mỗi lần 5 phút. Nhỏ kháng thể thứ cấp lên tiêu bản, để ủ ấm 37°C trong 1 giờ. Rửa tiêu bản bằng PBS 1X, lặp lại 3 lần, mỗi lần 5 phút. Ngâm ngập tiêu bản trong dung dịch DAB để trong 5-7 phút. Kiểm tra dưới kính hiển vi quang học, nếu thấy xuất hiện màu vàng nâu ở các tế bào của mẫu mô có thể dừng phản ứng bằng nước cất. Nếu chưa thấy thì để thêm 1-3 phút nhưng không quá 10 phút. Nhuộm nhân tế bào bằng Haematoxylin trong 30 giây, làm sạch, gắn baume canada và quan sát bằng kính hiển vi quang học. Nếu tiêu bản có tế bào bắt màu vàng nâu là dương tính, tiêu bản không có tế bào bắt màu vàng nâu là âm tính. Các mẫu mô được lấy từ lợn khỏe mạnh ở trang trại chưa có dịch DTLCP được sử dụng làm đối chứng âm tính. Đánh giá mức độ phân bố kháng

nguyên dựa trên số lượng tế bào dương tính trên 3 vi trường có độ phóng đại 400 lần trong đó: +: ít (có từ 1-10 tế bào dương tính) “++”: trung bình (có từ 11-50 tế bào dương tính), “+++”: nhiều (có trên 50 tế bào dương tính).

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

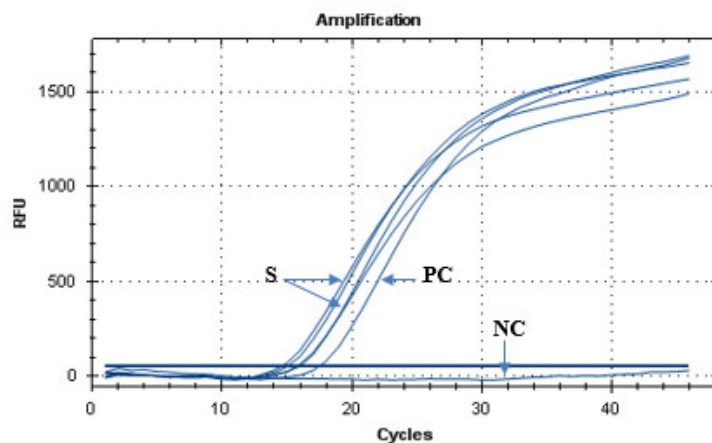
#### 3.1. Lựa chọn mẫu phục vụ nghiên cứu

Trong giai đoạn đầu, khi bệnh DTLCP mới xuất hiện tại Việt Nam, chúng tôi đã tiến hành thu mẫu của lợn nghi mắc bệnh ở các địa phương phía bắc Việt Nam dưới sự cho phép của cơ quan thú y địa phương và chủ trang trại. Mẫu bệnh phẩm phục vụ nghiên cứu phát hiện kháng nguyên virus được cố định ngay khi lấy mẫu trong formol 10% trung tính, mẫu bệnh phẩm sử dụng cho chẩn đoán được lấy riêng từng cơ quan và bảo quản trong điều kiện -80°C. Kết quả thu thập và sàng lọc mẫu cho nghiên cứu được tổng hợp tại bảng 1 và hình 1.

**Bảng 1. Nguồn gốc các lợn sử dụng trong nghiên cứu**

Kí hiệu lợn	Địa phương lấy mẫu	Giá trị Ct	Dấu hiệu lâm sàng
Con 1	Hà Nội	14,51	Sốt cao, xuất huyết ngoài da, triệu chứng thần kinh
Con 2	Hà Nam	15,68	Sốt cao chảy máu hậu môn, khó thở
Con 3	Nam Định	14,99	Sốt cao, xuất huyết ngoài da, khó thở,
Con 4	Hưng Yên	17,43	Sốt cao, xuất huyết ngoài da
Con 5	Thái Bình	15,90	Sốt cao, xuất huyết ngoài da, triệu chứng thần kinh

Ghi chú: Ct: cycle threshold - chu kỳ ngưỡng.



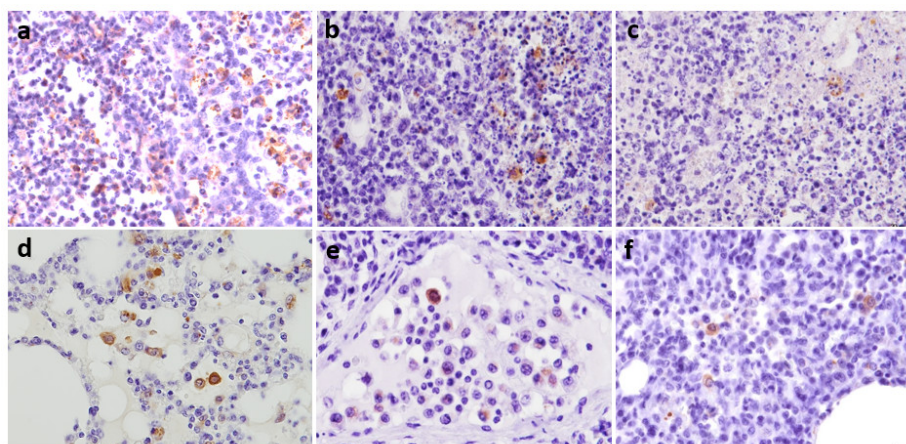
Ghi chú: S là mẫu của lợn được lấy để phát hiện virus DTLCP. NC là đối chứng âm tính. PC là đối chứng dương tính. Ct ≤40 là dương tính.

**Hình 1. Hình ảnh kết quả Realtime PCR phát hiện virus DTLCP**

**Bảng 2. Kết quả phát hiện kháng nguyên virus DTLCP bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch**

Cơ quan	Kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch				
	Con 1	Con 2	Con 3	Con 4	Con 5
Hạch	+++	+++	+++	+++	+++
Lách	+++	++	++	+++	+++
Phổi	+++	++	++	++	+++
Thận	++	++	++	++	++
Gan	++	++	++	+	++
Não	-	++	+	-	+
Tim	-	+	-	+	+
Ruột	+	-	+	-	-
Dạ dày	+	-	-	+	+

Ghi chú: “-”: Không có tế bào dương tính, “+”: có ít tế bào dương tính, “++”: có trung bình tế bào dương tính, “+++”: có nhiều tế bào dương tính.



Ghi chú: “+++”: hình a và hình d, “++”: hình b và hình e, “+”: hình c và hình f

**Hình 2. Đánh giá mức độ phân bố kháng nguyên virus DTLCP trên mẫu mô dương tính (IHC400X)**

Để phục vụ nghiên cứu phát hiện kháng nguyên virus trên lợn mắc bệnh, chúng tôi đã lựa chọn 5 ca bệnh của lợn được thu thập tại 5 tỉnh phía Bắc Việt Nam với các biểu hiện lâm sàng, tổn thương đại thể đặc trưng của DTLCP và mẫu máu của lợn được sử dụng để chẩn đoán phát hiện bệnh bằng kỹ thuật Realtime PCR. Kết quả chẩn đoán Realtime PCR dương tính được minh họa ở hình 1. Bên cạnh đó các mẫu virus được thu thập từ 5 ca bệnh này đã được giải trình tự gen P72 và xác định tất cả các virus này đều thuộc genotype II (kết quả không trình bày trong nghiên cứu này).

### 3.2. Kết quả phát hiện kháng nguyên virus DTLCP bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch

Từ 5 ca bệnh điển hình các mẫu lách, hạch, phổi, gan, thận, não, tim, dạ dày, ruột được tiến hành nhuộm hóa mô miễn dịch để xác định sự có mặt của kháng nguyên virus tại các tổ chức. Mẫu mô dương tính khi xuất hiện màu nâu vàng trên lát cắt tổ chức (màu của DAB) khi soi dưới kính hiển vi. Kết quả phát hiện kháng nguyên virus DTLCP tại các mô lợn mắc bệnh được trình bày trong bảng 2.

Kết quả bảng 2 cho thấy cả 9 cơ quan nghiên cứu đều dương tính với virus DTLCP thể

hiện bằng sự xuất hiện của các đám màu nâu vàng trên tiêu bản, tuy nhiên sự phân bố kháng nguyên virus lại khác nhau trên các cơ quan. Trong đó hạch và lách là cơ quan có sự phân bố kháng nguyên virus nhiều nhất, thể hiện bằng sự xuất hiện các đám màu vàng nâu với mật độ cao và lan tràn khắp tiêu bản, tiếp theo là phổi, gan và thận kháng nguyên virus phân bố ít hơn hạch và lách. Các mô não, tim, ruột và dạ dày tùy từng ca bệnh có thể phát hiện hay không phát hiện được kháng nguyên vi rút. Quan sát trên các tiêu bản nhuộm hóa mô miễn dịch dương tính để xác định các tế bào dương tính với kháng nguyên virus được chúng tôi tổng hợp ở bảng 3 và hình 3 và 4.

Ở hạch và lách, kháng nguyên virus tập trung trong các tế bào đơn nhân lớn. Ở phổi, gan, tim, kháng nguyên virus tập trung chủ yếu tại các đại thực bào. Ở thận tìm thấy kháng nguyên virus trong tế bào biểu mô ống thận, các tế bào đại thực bào và tế bào đơn nhân trong các mao mạch của cầu thận. Fernandez & cs. (1992) đã phát hiện kháng nguyên virus ở bạch cầu đơn nhân, đại thực bào, tế bào gan, tế bào nội mô, bạch cầu trung tính trong khi đó Gomez & cs. (1995) cho rằng virus nhân lên trong tế bào thực bào đơn nhân lớn, đại thực bào và đi khắp cơ thể thông qua mạch máu và hệ lympho. Virus cũng có thể nhân lên ở tế bào nội mô, tế bào gan,

tế bào biểu mô ống thận. Kết quả nghiên cứu phát hiện kháng nguyên virus DTLCP của chúng tôi là hoàn toàn tương đồng với Gomez & cs. (1995) và Fernandez & cs. (1992). Nghiên cứu này cũng không phát hiện được kháng nguyên virus ở các tế bào lympho. Minguez & cs. (1988) cũng đã báo cáo virus không nhiễm vào tế bào lympho B và T.

### 3.3. Kết quả so sánh tương quan phân bố kháng nguyên virus DTLCP bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch và Realtime PCR

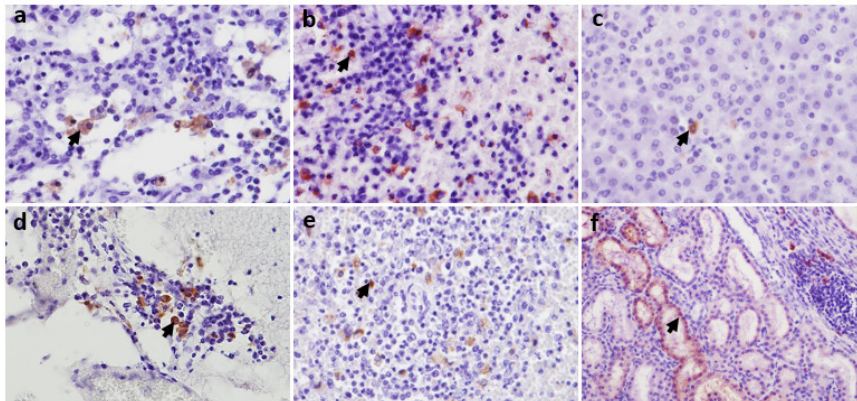
Để đánh giá tương quan sự phân bố kháng nguyên virus DTLCP và kết quả phát hiện virus DTLCP bằng phương pháp Realtime PCR, từ các mẫu mô của 5 ca bệnh dương tính với virus (mỗi loại mẫu mô được lấy riêng rẽ ngay từ khi thu mẫu và lựa chọn vùng tổn thương đặc trưng, mẫu được nghiền trong máy đồng nhất mẫu), 100mg mẫu được đưa vào tách chiết DNA và xác định lượng virus bằng phương pháp Realtime PCR. Thông qua giá trị Ct có thể xác định hàm lượng virus ở các cơ quan khác nhau. Giá trị Ct càng thấp thể hiện hàm lượng virus càng cao. Kết quả so sánh tương quan phân bố kháng nguyên virus bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch và Realtime PCR được thể hiện tại bảng 4.

**Bảng 3. Kết quả phát hiện tế bào dương tính với kháng nguyên virus DTLCP**

Cơ quan	Tế bào dương tính	Con 1	Con 2	Con 3	Con 4	Con 5
Hạch	Tế bào đơn nhân	+	+	+	+	+
Lách	Tế bào đơn nhân	+	+	+	+	+
Phổi	Đại thực bào	+	+	+	+	+
Thận	Đại thực bào	+	-	+	-	+
	Tế bào biểu mô	+	+	+	+	+
Gan	Đại thực bào	-	+	+	-	+
	Tế bào gan	+	-	+	+	-
Não	Đại thực bào	-	+	+	-	+
Tim	Đại thực bào	-	+	-	+	+
Ruột	Đại thực bào	+	-	+	-	-
Dạ dày	Đại thực bào	+	-	-	-	+

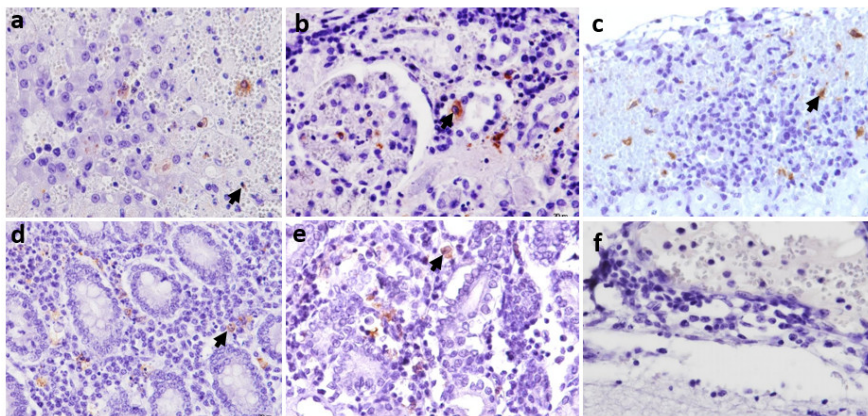
Ghi chú: “-”: Không có tế bào dương tính “+”: có tế bào dương tính





Ghi chú: Kháng nguyên virus DTLCP được phát hiện trong các tế bào đại thực bào mô phổi và não (a, d), tế bào đơn nhân mô hạch và lách (b, e), tế bào gan và tế bào biểu mô ống thận (c, f).

**Hình 3. Hình ảnh các tế bào dương tính với kháng nguyên virus DTLCP (IHC400X)**



Ghi chú: kháng nguyên virus DTLCP được phát hiện trong đại thực bào ở một số cơ quan theo thứ tự a, b, c, d, e là gan, thận, tim, ruột, dạ dày, đối chứng âm f là não.

**Hình 4. Hình ảnh tế bào đại thực bào dương tính với kháng nguyên virus DTLCP ở một số cơ quan (IHC 400X)**

Bảng 4 cho thấy mô hạch và lách của 5 lợn nghiên cứu có giá trị Ct thấp nhất trong các mẫu mô nghiên cứu, cụ thể giá trị Ct của các mẫu hạch và lách của 5 lợn nghiên cứu dao động khoảng từ 15,43-20,06; tiếp đến là mẫu phổi, thận và gan giá trị Ct dao động trong khoảng từ 18,34-25,09 và cuối cùng là các mô não, tim, ruột và dạ dày giá trị Ct dao động trong khoảng từ 24,27-38,45. Tương tự, kết quả xác định sự phân bố kháng nguyên virus bằng phương pháp hóa mô miễn dịch cho thấy, các mẫu hạch và lách có mức độ phân bố kháng nguyên virus cao (từ ++ đến ++++) và đều có giá trị Ct thấp và ngược lại. Một số cơ quan như não, tim, ruột, dạ dày ở một số ca bệnh không phát hiện thấy kháng nguyên

virus bằng phương pháp hóa mô miễn dịch nhưng kết quả kiểm tra virus bằng phương pháp Realtime PCR vẫn cho kết quả dương tính, điều này có thể lý giải do độ nhạy của phương pháp Realtime PCR và phương pháp hóa mô miễn dịch khác nhau hoặc do trên cùng một mô bệnh phẩm nhưng các vị trí lấy mẫu khác nhau cũng cho kết quả xác định virus khác nhau, nhất là các mô bệnh phẩm có hàm lượng kháng nguyên virus không cao. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với khuyến cáo của OIE trong việc lựa chọn mẫu bệnh phẩm phù hợp để phát hiện kháng nguyên virus DTLCP trong đó hạch, lách, phổi và thận là các mẫu bệnh phẩm ưu tiên cho việc phát hiện virus (OIE, 2019).

**Bảng 4. Kết quả so sánh tương quan phân bố kháng nguyên virus DTLCP bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch và Realtime PCR**

Cơ quan	Con 1		Con 2		Con 3		Con 4		Con 5	
	IHC	Ct	IHC	Ct	IHC	Ct	IHC	Ct	IHC	Ct
Hạch	+++	17,29	+++	19,12	+++	19,58	+++	16,28	+++	18,46
Lách	+++	16,62	++	20,06	++	20,00	+++	15,43	+++	17,23
Phổi	+++	18,43	++	20,24	++	22,13	++	20,81	+++	19,12
Thận	++	21,08	++	24,07	++	24,44	++	23,81	++	20,37
Gan	++	20,66	++	22,93	++	22,08	+	25,09	++	24,30
Não	-	24,27	++	25,37	+	28,63	-	29,78	+	26,42
Tim	-	27,72	+	28,60	-	27,00	+	30,15	+	28,13
Ruột	+	25,38	-	27,50	+	26,38	-	29,19	-	25,19
Dạ dày	+	35,84	-	38,45	-	NA	-	NA	+	37,63

Ghi chú: Ct (cycle threshold - chu kỳ ngưỡng) Ct ≤ 40 là dương tính. NA: âm tính.

#### 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kháng nguyên virus DTLCP được phát hiện ở hầu hết các cơ quan của lợn mắc bệnh bằng nhuộm hóa mô miễn dịch. Kháng nguyên virus tập trung nhiều nhất ở hạch, lách, tiếp đến là phổi, thận, gan, phân bố ít ở não, tim, ruột và dạ dày. Kháng nguyên được phát hiện ở các tế bào đại thực bào, tế bào đơn nhân lớn ở nhiều cơ quan khác nhau, tế bào gan và tế bào biểu mô ống thận. So sánh tương quan phân bố kháng nguyên virus DTLCP bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch và Realtime PCR cho thấy các cơ quan có sự phân bố kháng nguyên càng cao thì giá trị Ct càng thấp và ngược lại.

Có thể lựa chọn các cơ quan có sự phân bố kháng nguyên virus cao để phục vụ công tác chẩn đoán cũng như các nghiên cứu chuyên sâu khác về virus.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Arias M., De la Torre A., Dixon L., Gallardo C., Jori F., Laddomada A., Martins C., Parkhouse R.M., Revilla Y. & Rodriguez F. (2017). Approaches and perspectives for development of African swine fever virus vaccines. *Vaccines*. 5(4): 35.
- Bastos A.D., Penrith M.L., Cruciere C., Edrich J.L., Hutchings G., Roger F., Couacy-Hymann E.G.R.T. & Thomson G.R. (2003). Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterisation. *Archives of virology*. 148(4): 693-706.
- Dixon L.K., Escribano J.M., Martins C., Rock D.L., Salas M.L. & Wilkinson P.J. (2005). *Virus Taxonomy: eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press, London, United Kingdom. pp. 135-43
- Eblé P.L., Hagensars T.J., Weesendorp E., Quak S., Moonen-Leusen H.W. & Loeffen W. (2019). Transmission of African Swine Fever Virus via carrier (survivor) pigs does occur. *Veterinary microbiology*. 237: 108-345.
- Fernandez A., Perez J., Carrasco L., Bautista M.J., Sanchez-Vizcaino J.M. & Sierra M.A. (1992). Distribution of ASFV antigens in pig tissues experimentally infected with two different Spanish virus isolates. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 39(1-10): 393-402.
- Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO). (2017). *African swine fever: detection and diagnosis – a manual for veterinarians*. FAO Animal Product Health Manual. 19: 1-92.
- Gómez-Villamandos J.C., Hervás J., Méndez A., Carrasco L., de las Mulas J.M., Villeda C.J., Wilkinson P.J. & Sierra M.A. (1995). Experimental African swine fever: apoptosis of lymphocytes and virus replication in other cells. *Journal of General Virology*. 76(9): 2399-2405.
- Neilan J.G., Zsak L., Lu Z., Burrage T.G., Kutish G.F. & Rock D.L. (2004). Neutralizing antibodies to African swine fever virus proteins p30, p54, and p72 are not sufficient for antibody-mediated protection. *Virology*. 319(2): 337-342.
- Mínguez I., Rueda A., Domínguez J., Sánchez-Vizcaino J.M. (1988). Double labeling

- immunohistological study of African swine fever virus-infected spleen and lymph nodes. *Veterinary Pathology*. 25(3):193-198
- Montgomery R.E. (1921). On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony). *Journal of comparative pathology and therapeutics*. 34: 159-191.
- O'Donnell V., Holinka L.G., Sanford B., Krug P.W., Carlson J., Pacheco J.M., Reese B., Risatti G.R., Gladue D.P. and Borca M.V. (2016). African swine fever virus Georgia isolate harboring deletions of 9GL and MGF360/505 genes is highly attenuated in swine but does not confer protection against parental virus challenge. *Virus research*. 221: 8-14.
- OIE terrestrial manual (2019). Section 3.8, Chapter 3.8.1. African swine fever virus (Infection with African swine fever virus. Retrieved from [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.08.01\\_ASF.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.01_ASF.pdf), on May 16, 2020.
- 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. *Transboundary and emerging diseases*. 65(2): 420-431.
- Sánchez-Vizcaíno J.M., Arias M. (2012). African swine fever. In: *Diseases of Swine*, 10th Ed, John Wiley & Sons, Ames. pp. 396-404.
- Van Phan Le ., D.G.J., 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. (2019). Outbreak of African swine fever, Vietnam, 2019. *Emerging Infectious Diseases*. 25(7): 1433.