

# **SINH BỆNH HỌC CỦA VIRUS PRRS CHỦNG ĐỘC LỰC CAO TRÊN HEO RỪNG LAI QUA GÂY BỆNH THỰC NGHIỆM**

**Đỗ Tiến Duy\*, Nguyễn Phạm Huỳnh**

*Khoa Chăn nuôi Thú y, Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh*

*\*Tác giả liên hệ: duy.dotien@hcmuaf.edu.vn*

Ngày nhận bài: 23.11.2018

Ngày chấp nhận đăng: 05.03.2019

## **TÓM TẮT**

Nghiên cứu này nhằm xác định khả năng gây bệnh của virus (tên đầy đủ) (PRRSV) chủng độc lực cao (HP-PRRSV) trên heo rừng lai qua gây bệnh thực nghiệm. Tổng cộng 28 heo rừng lai 42-49 ngày tuổi khỏe mạnh có nguồn gốc từ trại heo rừng âm tính với PRRSV và dịch tả heo được phân chia ngẫu nhiên vào hai lô thí nghiệm. Kết quả đánh giá dấu hiệu lâm sàng và bệnh lý cho thấy giai đoạn cấp tính của bệnh diễn ra từ ngày 5 đến 14 sau gây nhiễm. Các biểu hiện lâm sàng chính gồm sốt, bỏ ăn, rối loạn hô hấp, mắt sưng-chảy ghèn, run giật, chết. Viêm phổi kẽ nặng trên tất cả heo gây nhiễm; phổi viêm kẽ kèm theo xuất huyết xảy ra trên heo chết bệnh. Các chỉ tiêu cận lâm sàng (hàm lượng virus ở máu, mô; điểm kháng nguyên qua IHC, kháng thể, IL-1 $\beta$ ) tương ứng với các triệu chứng và bệnh lý lâm sàng giai đoạn cấp tính trên heo sau gây nhiễm. Sự phân bố kháng nguyên ở mô giao động khác nhau qua các thời điểm sau gây nhiễm. Virus lần đầu tiên được ghi nhận nhiễm ở tế bào biểu mô tiểu phế quản, dạ dày, thận, ống dẫn mật và tế bào gan. Kết quả nghiên cứu chứng minh rằng HP-PRRSV có thể gây bệnh lý nặng, nhiễm trên nhiều cơ quan nội tạng và có thể gây chết trên heo rừng.

Từ khóa: Sinh bệnh học, HP-PRRSV, heo rừng lai, gây bệnh.

## **Pathogenesis of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in Crossbred Wild Pigs through Experimental Innoculation**

### **ABSTRACT**

The objective of this study was to examine the pathogenesis of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus (HP-PRRSV) in crossbred wild pigs through experimental infection. Twenty eight healthy crossbred-wild pigs, 42-49 day-old, originated from CSFV-PRRSV-negative farms were allocated in two experimental groups. The findings in clinical signs and pathology showed that the acute phase of infection took place from 5 to 14 days post infection. The major manifestations were fever, anorexia, respiratory failure, eye discharge and swelling, shivering and death. Severe interstitial pneumonia happened in all infected animals and interstitial pneumonia accompanied with hemorrhage recorded in died pigs. The laboratory indicators (viremia in the blood/tissues, IHC score, IgG antibodies, IL-1 $\beta$ ) were in homology with clinical pathology in acute phase of the disease. There were variations of the antigen distribution in various tissues over time-points post infection. This virus was first detected in the epithelial cells of bronchioles, stomach, kidney, bile duct and hepatic cells. The study results demonstrated that HP-PRRSV might cause severe pathology, wide antigenic distribution in visceral organs and could be fatal in crossbred-wild pigs.

Keywords: Pathogenesis, HP-PRRSV, crossbred wild pigs.

### **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (PRRS) là bệnh truyền nhiễm phổ biến gây ra bởi virus PRRS (porcine reproductive and respiratory syndrome virus) (Zimmerman *et al.*, 2006). Biến

chủng virus PRRS mới là chủng độc lực cao (HP-PRRSV) xảy ra đầu tiên ở Trung Quốc (2006), sau đó lây lan nhanh chóng và gây thiệt hại kinh tế nặng nề cho các nước láng giềng như Việt Nam (2007), Thái Lan (2010), Phillipines (2010), Lào, Campuchia (2010), Myanmar (2011), Nga và Ấn

Độ (2013) (Tian *et al.*, 2007; Helen *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2010).

Ở khía cạnh dịch tễ học, heo rừng được xem là nguồn lưu trữ nhiều mầm bệnh truyền nhiễm như virus dịch tả heo, virus gây hội chứng còi trên heo, virus cúm heo và virus Parvo gây rối loạn sinh sản trên heo (Meng *et al.*, 2009). Sự lưu hành PRRSV trên heo rừng được khảo sát ở nhiều quốc gia (Bonilauri *et al.*, 2006; Ruiz-Fons *et al.*, 2008; Choi *et al.*, 2012; Roic *et al.*, 2012). Tỷ lệ lưu hành PRRSV trên heo rừng châu Âu và châu Mỹ tương ứng khoảng 6,2% và 14,2% (Saliki *et al.*, 1998; Zupancic *et al.*, 2002; Plagemann, 2003; Ruiz-Fons *et al.*, 2006; Hammer *et al.*, 2012). Ở châu Á, 4/267 (kháng thể dương tính) và 8/246 (kháng nguyên dương tính) trong một khảo sát ở Hàn Quốc (Choi *et al.*, 2012). Tỷ lệ lưu hành PRRSV 24% trong khảo sát trên heo rừng Thái Lan (Wiratsudakul *et al.*, 2013).

Heo rừng được thuần hóa và nuôi phổ biến ở nhiều quốc gia châu Á trong đó có Việt Nam do nhu cầu về thực phẩm và cải thiện thu nhập cho người nông dân (Larson *et al.*, 2005). Mặc dù vậy, khả năng PRRSV gây bệnh trên heo rừng hay vai trò heo rừng là nguồn chứa PRRSV vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ (Meng *et al.*, 2009). Mục đích của nghiên cứu này nhằm xác định khả năng gây bệnh của HP-PRRSV trên heo rừng lai qua gây bệnh thực nghiệm.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Bố trí thí nghiệm

Tổng cộng 28 heo rừng lai 42-49 ngày tuổi khỏe mạnh có nguồn gốc từ trại heo rừng âm tính với virus PRRS và dịch tả heo qua đánh giá kháng thể (ELISA) và kháng nguyên (RT-PCR), được phân chia ngẫu nhiên vào hai lô thí nghiệm: 21 heo ở lô B (có gây nhiễm) và 7 heo ở lô A (không gây nhiễm). Heo ở 2 lô được nuôi nhốt tách biệt nhau tại thời điểm gây nhiễm. Virus PRRS chủng độc lực cao được phân lập thực địa (Bệnh viện Thú y, Trường đại học Nông Lâm TPHCM) và giải trình tự ở ba phân đoạn gen *NSP2*, *ORF5* và *ORF7*. *NSP2* có đặc điểm

đột biến mất đoạn không liên tục 30 axit amin (kết quả không trình bày) và *ORF5* và *ORF7* có sự tương đồng cao với chủng JXA1 (Trung Quốc), 07QN và SR07 (Việt Nam). Heo được gây nhiễm HP-PRRSV với 3 mL huyền dịch tế bào MARC-145 ở nồng độ  $10^{5,5}/TCID_{50}$ , tiêm bắp. Heo thí nghiệm gây nhiễm và heo đối chứng được nhốt ở heo ô chuồng tách biệt thuộc khu nuôi thú thí nghiệm thuộc Khoa chăn nuôi thú y, Trường đại học Nông Lâm TPHCM.

Sau gây nhiễm, heo thí nghiệm được theo dõi thân nhiệt, triệu chứng lâm sàng hằng ngày cho đến 28 ngày sau gây nhiễm. Ba heo ở lô B, 1 heo ở lô A được chọn ngẫu nhiên để mổ khám toàn diện đánh giá các chỉ tiêu cận lâm sàng như bệnh lý phổi, miễn dịch, virus huyết, kháng nguyên hiện diện vào ngày 3, 5, 7, 10, 14, 21 và 28 sau gây nhiễm.

### 2.2. Theo dõi thân nhiệt, triệu chứng và bệnh tích lâm sàng

Heo ở 2 lô thí nghiệm được theo dõi thân nhiệt bởi nhiệt kế điện tử (Microlife MT200, Thụy Sĩ) 2 lần/ngày theo hướng dẫn của nghiên cứu trước đây (Thoresen *et al.*, 2001). Dấu hiệu lâm sàng đồng thời được ghi nhận cùng thời điểm đo thân nhiệt. Điểm hô hấp lâm sàng được đánh giá dựa theo thang điểm từ 0 (bình thường), 1, 2, 3 và 4 (hiệu chỉnh từ mô tả của Halbur *et al.*, 1995).

Ở mỗi thời điểm khảo sát, 3 heo ở lô B và 1 heo ở lô A được chọn ngẫu nhiên để mổ khám nhằm đánh giá bệnh lý phổi và các cơ quan nội tạng khác. Bệnh tích viêm kẽ phổi đại thể được đánh giá theo thang điểm 0-100, theo tỷ lệ% diện tích bề mặt các thùy phổi trong tổng bề mặt phổi (Halbur *et al.*, 1995). Sau đó, 3 vị trí mô phổi ở ba thùy (đỉnh, giữa, đuôi) được cắt, cố định trong formalin 10% đậm và xử lý mô để làm tiêu bản vi thể đánh giá bệnh lý viêm kẽ vi thể với thang điểm từ 1 đến 4 (Halbur *et al.*, 1995).

### 2.3. Đánh giá các chỉ tiêu cận lâm sàng

#### 2.3.1. Lượng virus trong huyết thanh và phổi

Lượng virus huyết (huyết thanh) và phổi được xác định qua các thời điểm -3, 0, 3, 5, 7, 10,

14, 21 và 28 ngày gây nhiễm. Tổng 500  $\mu$ l huyết thanh (500 g phổi) được tách chiết RNA tổng số bằng dung dịch TRIzol<sup>®</sup> Reagent (Ambion - Mỹ). ARN tách chiết (2  $\mu$ l) được tổng hợp sang cDNA cùng với 18  $\mu$ l Master-mix (Topscript<sup>™</sup> RT DryMIX dT18 plus; Enzymomics, Daejeon - Hàn Quốc), ở phản ứng nhiệt 50°C trong 1 giờ và 95°C trong 5 phút. cDNA được bảo quản ở -20°C sẵn sàng cho xác định lượng virus huyết bởi SYBR<sup>®</sup>Green real-time PCR. Đoạn mỗi đặc hiệu cho HP-PRRSV: F-5'-CTT GAC ACA GTT GGT CTG GTT ACT-3' và R-5'-GTT CTT CGC AAG CCT AAT AAC G-3' được sử dụng để nhân bản sản phẩm với kích thước 187 bp; kết quả được đọc và phân tích bởi phần mềm PikoReal<sup>™</sup> 2.2.

### 2.3.2. Hàm lượng kháng thể IgG và IL-1 $\beta$ trong máu

Hàm lượng kháng thể được xác định bằng phương pháp ELISA theo hướng dẫn của bộ kit thương mại (PRRS ELISA SK103, Biocheck, Hà Lan). Thời điểm thu mẫu huyết thanh tương tự như phần đánh giá hàm lượng virus huyết. Kháng thể dương tính khi chỉ số S/P  $\geq$  0,4 và ước lượng sự đáp ứng kháng thể trên heo thí nghiệm qua chỉ số trung bình S/P  $\pm$  SD.

Hàm lượng IL-1 $\beta$  được xác định bằng phương pháp ELISA theo hướng dẫn của bộ kit thương mại (IL-1 beta Pig ELISA Kit, Abcam, Hàn Quốc).

### 2.3.3. Xác định kháng nguyên tại mô

Sự phân bố kháng nguyên virus gây nhiễm được xác định tại tất cả cơ quan nội tạng của heo thí nghiệm vào các thời điểm mổ khám bởi kỹ thuật hóa mô miễn dịch (IHC). Kháng thể đặc hiệu sử dụng cho IHC tại mô là kháng thể đơn dòng SR30 (Rural Technologies Inc., Mỹ). Kháng thể đơn dòng SR30 có thể gắn đặc hiệu với protein N của virus PRRS.

Điểm phân bố kháng nguyên virus trên một đơn vị diện tích nhất định của mô phổi, hạch và tuyến ức sau gây nhiễm được đánh giá qua kỹ thuật hóa mô miễn dịch. Sự định lượng được tính toán dựa trên diện tích vi trường trên kính hiển vi (0,95 mm<sup>2</sup>); ở vi trường đó, số lượng tế bào dương tính tại phổi được xác định và cho

điểm từ 0 đến 4 (Halbur *et al.*, 1996), trong đó: 0 = không có tế bào dương tính tại mô; 1 = có 1-10 tế bào dương tính; 2 = có từ 11-30 tế bào dương tính; 3 = có từ 30-60 tế bào dương tính và 4 = có lớn hơn 60 tế bào dương tính.

### 2.4. Xử lý số liệu

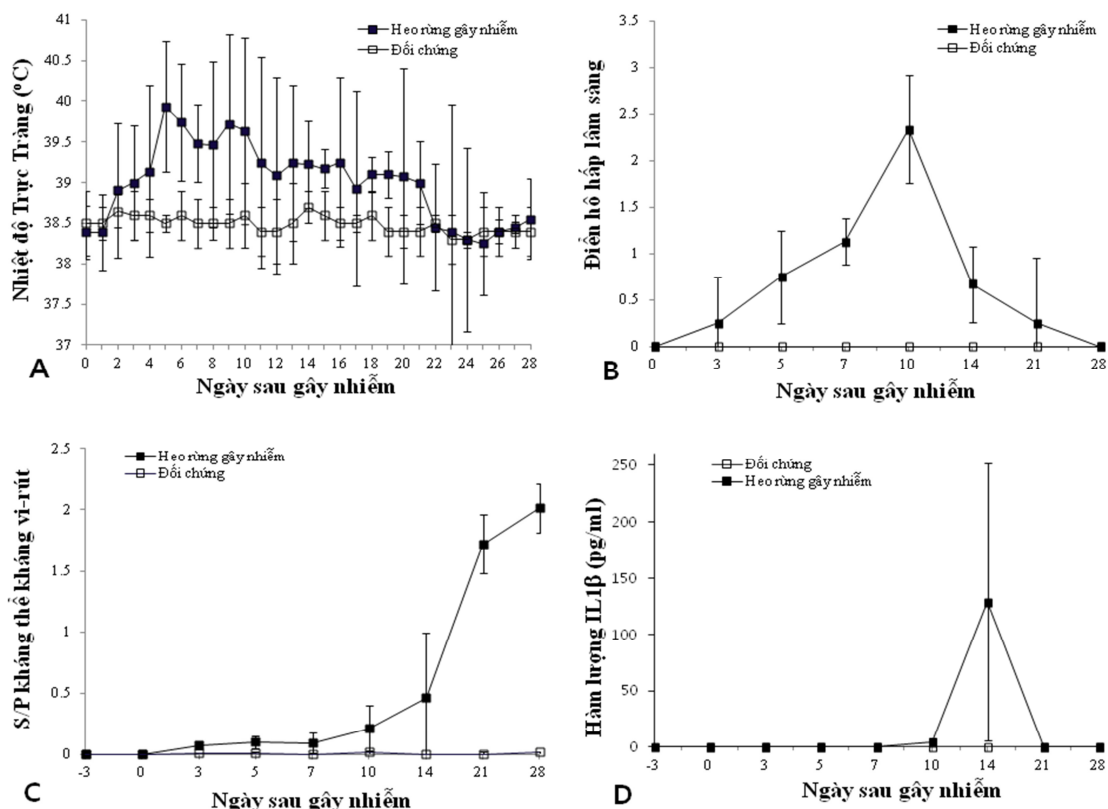
Nhiệt độ trực tràng, điểm hô hấp lâm sàng, kháng thể, virus huyết được so sánh giữa hai thí nghiệm bởi Pair-wise test (SPSS software). Không so sánh thống kê bệnh tích đại thể, vi thể và điểm phân bố kháng nguyên do số heo đối chứng nhỏ trong mỗi lần mổ khám.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Thân nhiệt, triệu chứng lâm sàng và bệnh tích đại thể

Heo gây nhiễm tăng thân nhiệt từ ngày thứ 2 sau gây nhiễm. Trung bình nhiệt độ trực tràng cao hơn có ý nghĩa ( $P < 0,01$ ) so với heo không gây nhiễm từ ngày 4 đến 19 (Hình 1A). Triệu chứng lâm sàng xuất hiện trên heo gây nhiễm gồm sốt cao  $\geq 39,5^\circ\text{C}$  (từ ngày 5 đến 10 sau gây nhiễm), bỏ ăn, sưng mắt - chảy ghèn, ho/thở khó/hắt hơi (Hình 1B), miễn cưỡng di chuyển và run giật. Triệu chứng lâm sàng tập trung vào ngày 5, 7, 10 và 14 sau gây nhiễm. 5/21 heo chết vào ngày 11 và 13 sau gây nhiễm. 2/21 heo gây nhiễm giảm thân nhiệt và triệu chứng từ ngày 21 và sống đến cuối thí nghiệm. Heo đối chứng (không gây nhiễm) có thân nhiệt và triệu chứng bình thường trong thí nghiệm.

Bệnh tích quan sát trên phổi heo được gây nhiễm đặc trưng bởi viêm kê nặng, lan tỏa và kèm theo sung huyết và xuất huyết trên một số heo ở ngày 10 đến 14 sau gây nhiễm (Hình 3B). Viêm phổi kê làm dày vách phế nang do sự tăng sinh mạnh mẽ tế bào biểu mô phế nang type-2 (pneumocyte type 2) và sự xâm nhập bởi nhiều bạch cầu đơn nhân. Điểm bệnh tích đại thể và vi thể phổi tăng cao nhất vào ngày 10 sau gây nhiễm (Hình 2A, B). Ngoài ra, heo chết bệnh có các bệnh tích toàn thân khác như sưng lớn-sung huyết hạch toàn thân, xuất huyết biểu mô dạ dày (Hình 3C), sung huyết lách và xuất huyết võ-tủy thận.



Hình 1. A. Nhiệt độ trực tràng, B. Điểm hô hấp lâm sàng, C. Kháng thể đáp ứng, D. hàm lượng IL-1 $\beta$  trên heo thí nghiệm

### 3.2. Chỉ tiêu cận lâm sàng

#### 3.2.1. Hàm lượng kháng thể IgG và IL-1 $\beta$ trong máu

Kháng thể dương tính (S/P  $\geq 0,4$ ) chỉ được tìm thấy trên heo gây nhiễm từ ngày 14 (Hình 1C). Kháng thể tăng rất cao ở ngày 21 (S/P = 1,72) và 28 (2,02). Sự khác biệt có ý nghĩa giữa heo gây nhiễm và không gây nhiễm ở ngày 5, 7, 10 ( $P < 0,05$ ), 14 ( $P < 0,01$ ) và 21, 28 ( $P < 0,001$ ).

Hàm lượng IL-1 $\beta$  (pg/mL) trong máu tăng cao trong 5 heo chết bệnh với biểu hiện lâm sàng và bệnh lý toàn thân (kết quả tính theo trung bình ở ngày mổ khám 14; Hình 1D). Heo đối chứng có hàm lượng kháng thể và IL-1 $\beta$  âm tính trong suốt thí nghiệm.

#### 3.2.2. Hàm lượng virus ở huyết thanh và phổi

Tại thời điểm trước gây nhiễm không có virus trong máu ở hai nhóm heo thí nghiệm.

Sau gây nhiễm, virus huyết được xác định vào ngày thứ 3 và tăng cao nhất ở ngày 10 (8,2 log<sub>10</sub> copies); trong khi hàm lượng virus tại phổi tăng cao nhất vào ngày 14 (7,3 log<sub>10</sub> copies) sau gây nhiễm. Kết thúc thí nghiệm (28 ngày), virus vẫn hiện diện trong máu và mô phổi heo gây nhiễm (Hình 2C).

#### 3.2.3. Xác định kháng nguyên tại mô

Kháng nguyên được tìm thấy tại phổi và các nội quan khác trên heo sau gây nhiễm từ ngày 3 đến hết thí nghiệm (Bảng 1), không phát hiện virus ở tim, não và biểu mô ruột. Kháng nguyên virus chủ yếu tìm thấy ở tế bào chất của đại thực bào tại mô (phổi, hạch, lách, tuyến ức, gan, thận, mảng Peyer's ruột). Đặc biệt, virus còn được xác định ở biểu mô tiểu phế quản hô hấp, biểu mô dạ dày, biểu mô ống thận, biểu mô ống mật và tế bào gan (Hình 3D, E, F).

Điểm phân bố kháng nguyên giao động khác nhau giữa tuyến ức, hạch bạch huyết và

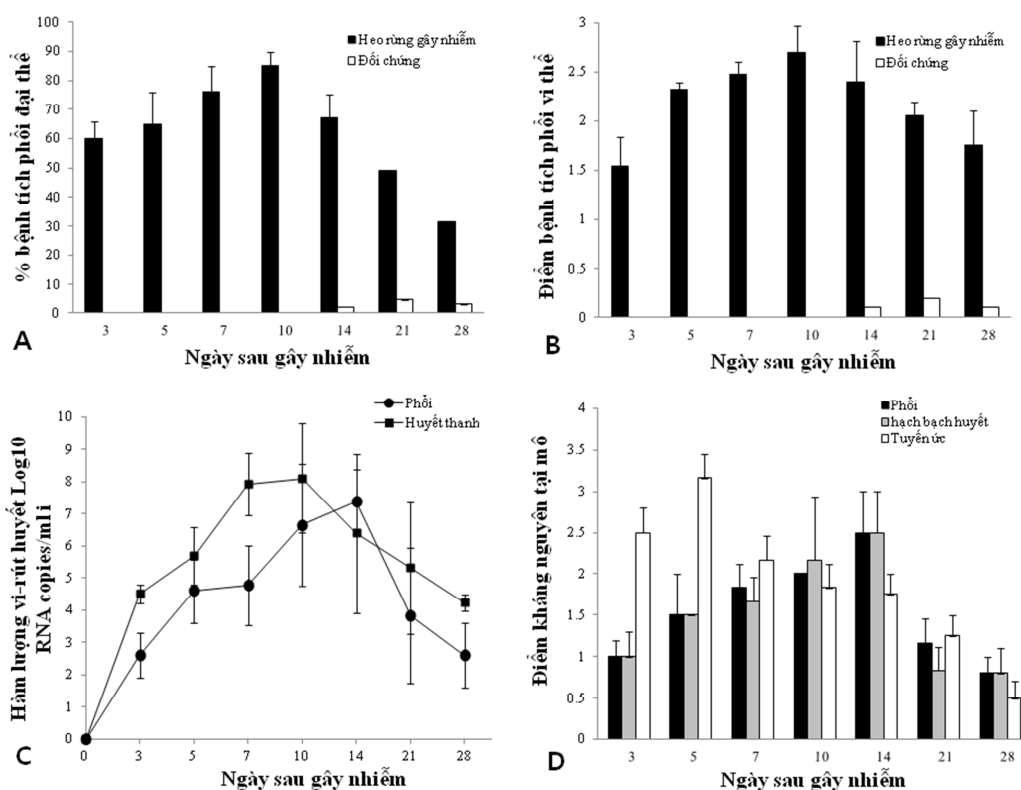
phổi (Hình 2D). Sau gây nhiễm, virus hiện diện ở tuyến ức rất cao vào ngày 3 và 5; trong khi virus tập trung cao nhất ở phổi và hạch vào ngày 14 sau gây nhiễm. Virus vẫn còn tồn tại ở tuyến ức, hạch bạch huyết và phổi cho đến cuối thí nghiệm.

Bệnh tích viêm phổi kẽ nặng cho thấy HP-PRRSV có độc lực cao trên heo rừng lai. Khả năng gây bệnh tích phổi khác nhau trên các giống heo khác nhau được ghi nhận ở các nghiên cứu trước đây (Halbur *et al.*, 1998). Hàm lượng virus huyết, virus tại mô phổi cao tương quan với bệnh lí viêm phổi kẽ trên heo gây nhiễm qua một thí nghiệm trước đây (Han *et al.*, 2013).

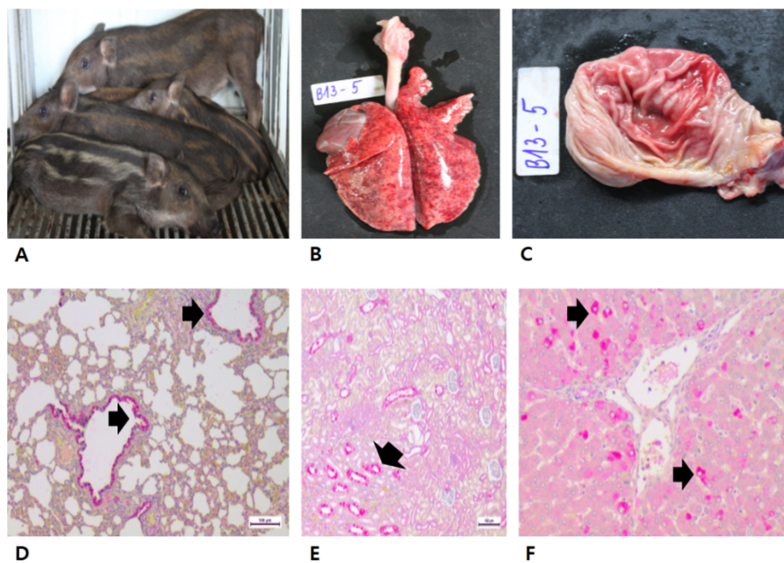
Sự phát hiện đầu tiên PRRSV nhiễm ở biểu mô tiểu phế quản hô hấp và tế bào gan được xác định bởi hóa mô miễn dịch. Ở các nghiên cứu trước, HP-PRRSV được phát hiện ở biểu mô dạ dày, ống lượn thận (Li *et al.*, 2012). Chưa có nghiên cứu nào báo cáo sự nhiễm PRRSV tại tế bào biểu mô tiểu phế quản và tế bào gan.

PRRSV có các thụ thể nhận diện ở đại thực bào (CD169, CD163, CD151 và heparan sulphate) (Delputte *et al.*, 2002; Vanderheijden *et al.*, 2003; Calvet *et al.*, 2007). Kết quả nghiên cứu này gợi ý loại thụ thể khác hiện diện ở biểu mô tiểu phế quản và tế bào gan. Biểu mô tiểu phế quản có vai trò quan trọng trong thanh thải mầm bệnh; khi mầm bệnh tấn công và gây hư hại sẽ tạo điều kiện cho mầm bệnh kế phát gây bệnh phức hợp ở mô phổi.

Nhiều nghiên cứu sinh bệnh học do PRRSV trên các giống heo như Large White, Landrace, Hampshire, Duroc và Meishan đã được thực hiện nhưng chưa thấy nghiên cứu trên heo rừng hoặc heo rừng lai cả trong và ngoài nước được thực hiện để có thể so sánh các đặc điểm bệnh lý (Halbur *et al.*, 1998, Meng *et al.*, 2009). Do đó, để xác định sâu hơn về đặc điểm gây bệnh, đáp ứng miễn dịch và vai trò của heo rừng trong dịch tễ học của HP-PRRSV cần có các nghiên cứu tiếp theo sau này.



Hình 2. A. Bệnh tích phổi đại thể, B. Bệnh tích phổi vi thể  
C. Lượng virus trong máu và phổi, D. Điểm kháng nguyên ở các tuyến ức, hạch và phổi



**Hình 3. A. Heo thí nghiệm, B. Phổi viêm kê-xuất huyết, C. Niêm mạc dạ dày xuất huyết, D. Biểu mô tiểu phế quản dương tính với SR30, IHC, 10X, E. biểu mô ống lượn thận dương tính với SR30, IHC, 10X; F. tế bào gan dương tính với SR30, IHC, 20X**

**Bảng 1. Sự phân bố kháng nguyên sau gây nhiễm heo thí nghiệm (A, không gây nhiễm; B, gây nhiễm)**

Nội tạng	Lô	Ngày sau nhiễm						
		3	5	7	10	14	21	28
Phổi	B	++	++	+++	+++	+++	++	++
	A	-	-	-	-	-	-	-
Tim	B	-	-	-	-	-	-	-
	A	-	-	-	-	-	-	-
Não	B	-	-	-	-	-	-	-
	A	-	-	-	-	-	-	-
Tuyến ức	B	+++	+++	+++	++	++	++	++
	A	-	-	-	-	-	-	-
Hạch amidan	B	+	+	++	++	+	+	-
	A	-	-	-	-	-	-	-
Hạch phổi, bẹn cạn và hạch màng treo ruột	B	++	++	+++	+++	+++	++	++
	A	-	-	-	-	-	-	-
Gan	B	-	+	++	++	++	-	-
	A	-	-	-	-	-	-	-
Thận	B	-	+	++	++	++	-	-
	A	-	-	-	-	-	-	-
Lách	B	++	++	+++	+++	+++	+	-
	A	-	-	-	-	-	-	-
Dạ dày	B	-	-	-	+	++	-	-
	A	-	-	-	-	-	-	-
Hồi tràng	B	-	-	-	++	++	-	-
	A	-	-	-	-	-	-	-

Ghi chú: Mật độ dương tính: -: âm tính; +: thấp, ++: trung bình; +++: cao

#### 4. KẾT LUẬN

HP-PRRSV gây bệnh lý nặng và có thể gây chết trên heo rừng lai qua gây bệnh thực nghiệm. Sự phân bố kháng nguyên ở máu và trên nhiều cơ quan nội tạng đã gây bệnh lý toàn thân trên heo sau nhiễm virus.

Sự phát hiện virus nhiễm ở tế bào biểu mô tiểu phế quản, dạ dày, thận, ống dẫn mật và tế bào gan cho thấy sự đa dạng tính hướng mô của virus, do đó nghiên cứu xác định cơ chế gây nhiễm trên các tế bào này sẽ giúp hiểu rõ hơn về cơ chế sinh bệnh của HP-PRRSV.

#### LỜI CẢM ƠN

Tác giả chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của Bộ môn Bệnh truyền nhiễm và Thú y cộng đồng, BVTY - Trường ĐHNH TP.HCM, Phòng chẩn đoán xét nghiệm - Cơ quan thú y vùng VI TP. HCM và Bộ môn Bệnh lý thú y - Trường đại học quốc gia Seoul, Hàn Quốc.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bonilauri P., Meriardi G., Dottori M. & Barbieri I. (2006). Presence of PRRSV in wild boar in Italy. *Veterinary Record*. 21: 107-108.
- Calvert J.G., Slade D.E., Shields S.L., Jolie R., Mannan R.M., Ankenbauer R.G. & Welch S.K. (2007). CD163 expression confers susceptibility to porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *Journal of Virology*. 81: 7371-7379.
- Choi E.J., Lee C.H., Hyun B.H., Kim, J.J., Lim S.I., Song J.Y. & Shin Y.K. (2012). A survey of porcine reproductive and respiratory syndrome among wild boar populations in Korea. *Journal of Veterinary Sciences*. 13: 377-383.
- Delputte P.L., Vanderheijden N., Nauwynck H.J. & Pensaert M.B. (2002). Involvement of the matrix protein in attachment of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to a heparinlike receptor on porcine alveolar macrophages. *Journal of Virology*. 76: 4312-4320.
- Halbur P.G., Paul P.S., Frey M.L., Landgraf J., Eernisse K., Meng X-J., Lum M.A., Andrews J.J. & Rathje J.A. (1995). Comparison of the pathogenicity of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. *Veterinary Pathology*. 32: 648-660.
- Halbur P.G., Rothschild M.F., Thacker B.J., Meng X.J., Paul P.S. & Bruna J.D. (1998). Differences in susceptibility of Duroc, Hampshire and Meishan pigs to infection with a high virulence strain (VR2385) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 115: 181-189.
- Han K., Seo H.W., Park C., Oh Y., Kang I. & Chae C. (2013). Comparative pathogenesis of type 1 (European genotype) and type 2 (North American genotype) porcine reproductive and respiratory syndrome virus in infected boar. *Virology Journal*. 10: 1-9.
- Hammer R., Ritzmann M., Palzer A., Lang C., Hammer B., Pesch S. & Ladinig A. (2012). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 infections in wild boar (*Sus scrofa*) in southwestern Germany. *Journal of Wildlife Diseases*. 48: 87-94.
- Helen R, Papadopoulou C, Drew T, Gresham A. & Sabirovic M. (2009). Highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome. *Int Dis Monit Situa Assess* 23: 1-10.
- Larson G., Dobney K., Albarella U., Fang M., Matisoo-Smith E., Robins J., Lowden S., Finlayson H., Brand T., Willerslev E., Rowley-Conwy P., Andersson L. & Cooper A. (2005). Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centers of pig domestication. *Science*. 307: 1618-1621.
- Li L., Zhao Q., Ge X., Teng K., Kuang Y., Chen Y., Guo X. & Yang H. (2012). Chinese highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus exhibits more extensive tissue tropism for pigs. *Virology Journal*. 9: 203-209.
- Meng X.J., Lindsay D.S. & Sriranganathan N. (2009). Wild boars as sources for infectious diseases in livestock and humans. *Philosophical Transactions of The Royal Society B*. 364: 2697-2707.
- Roic B., Jemersic L., Terzoc S., Keros T., Balatinec J. & Florijancic T. (2012). Prevalence of antibodies to selected viral pathogens in wild boars (*Sus scrofa*) in Croatia in 2005-06 and 2009-10. *Journal of Wildlife Diseases*. 48: 131-137.
- Ruiz-Fons F., Segalés J. & Gortázar C. (2008). A review of viral diseases of the European wild boar: Effects of population dynamics and reservoir role. *The Veterinary Journal*. 176: 158-169.
- Ruiz-Fons F., Vicente J., Vidal D., Höfle U., Villanúa D., Gauss C., Segalés J., Almería S., Montoro V. & Gortázar C. (2006). Seroprevalence of six reproductive pathogens in European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: The effect on wild boar female reproductive performance. *Theriogenology*. 65: 731-743.
- Plagemann P.G.W. (2003). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus: Origin Hypothesis. *Emerging Infectious Diseases*. 9: 903-908.

- Saliki J.T., Rodgers S.J. & Eskew G. (1998). Serosurvey of selected viral and bacterial diseases in wild swine from Oklahoma. *Journal of Wildlife Diseases*. 34: 834-838.
- Tian K., Yu X., Zhao T., Feng Y., Cao Z., Wang C., Hu Y., Chen X., Hu D., Tian X., Liu D., Wang X., Jin P., Wang S., Kitamura Y., Yan J. & Gao G.F. (2007). Emergence of fatal PRRSV variants: unparalleled outbreaks of atypical PRRS in China and molecular dissection of the unique hallmark. *PLoS One*. 2007(2): e526.
- Vanderheijden N., Delputte P.L., Favoreel H.W., Vandekerckhove J., Van Damme J., van Woensel P.A. & Nauwynck H.J. (2003). Involvement of sialoadhesin in entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages. *Journal of Virology*. 77: 8207-8215.
- Wiratsudakul A., Prompiram P., Pholtep K., Tantawet S., Surarungchai D., Sedwisai P., Sangkachai N. & Ratanakorn P. (2013). A Cross-Sectional Study of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus and *Mycoplasma hyopneumoniae* in Wild Boars Reared in Different Types of Captive Setting in Thailand. *Journal Veterinary Science and Technology*. 4: 1-4.
- Zimmerman J.J., Benfield. D.A., Murtaugh M.P., Osorio F., Stevenson G.W. & Torremorell M. (2006). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (porcine arterivirus). *In: Straw B.E., Zimmerman J.J., D'Allaire S., Taylor D.J. (Eds). Diseases of Swine*. Blackwell Publishing, Ames. pp. 387-417.
- Zhou L. & Yang H. (2010). Porcine reproductive and respiratory syndrome in China. *Virus Research*. 154: 31-37.
- Zupancic Z., Jukic B., Lojkic M., Cac Z., Jemersic L. & Staresina V. (2002). Prevalence of antibodies to classical swine fever, Aujeszky's disease, porcine reproductive and respiratory syndrome, and bovine viral diarrhea viruses in wild boars in Croatia. *Journal of Veterinary Medicine Series B*. 49: 253-256.