

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 8400-37:2015

Xuất bản lần 1

**BỆNH ĐỘNG VẬT - QUY TRÌNH CHẨN ĐOÁN -
PHẦN 36: BỆNH VIÊM PHỔI ĐỊA PHƯƠNG Ở LỢN**

Animal diseases - Diagnostic procedure - Part 37: Enzootic pneumonia in pigs

HÀ NỘI - 2015

Lời nói đầu

TCVN 8400-37:2015 do Trung tâm Chẩn đoán Thú y Trung ương - Cục Thú y biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ tiêu chuẩn TCVN 8400 *Bệnh động vật - Quy trình chẩn đoán* gồm 38 phần:

- TCVN 8400-1 : 2010, *phần 1: Bệnh lở mồm long móng;*
- TCVN 8400-2 : 2010, *phần 2: Bệnh do vi khuẩn Streptococcus suis gây ra trên lợn;*
- TCVN 8400-3 : 2010, *phần 3: Bệnh giun xoắn;*
- TCVN 8400-4 : 2010, *phần 4: Bệnh Niu Cát Xon;*
- TCVN 8400-5 : 2011, *phần 5: Bệnh tiên mao trùng;*
- TCVN 8400-6 : 2011, *phần 6: Bệnh xuất huyết thỏ;*
- TCVN 8400-7 : 2011, *phần 7: Bệnh đậu cừu và đậu dê;*
- TCVN 8400-8 : 2011, *phần 8: Bệnh nấm phổi do Aspergillus ở gia cầm;*
- TCVN 8400-9 : 2011, *phần 9: Bệnh viêm gan vịt typ I;*
- TCVN 8400-10 : 2011, *phần 10: Bệnh lao bò;*
- TCVN 8400-11 : 2011, *phần 11: Bệnh dịch tả vịt;*
- TCVN 8400-12 : 2011, *phần 12: Bệnh bạch lý và thương hàn ở gà;*
- TCVN 8400-13 : 2011, *phần 13: Bệnh sảy thai truyền nhiễm do Brucella;*
- TCVN 8400-14 : 2011, *phần 14: Bệnh tụ huyết trùng ở trâu bò;*
- TCVN 8400-15 : 2011, *phần 15: Bệnh xoắn khuẩn do Leptospira;*
- TCVN 8400-16 : 2011, *phần 16: Bệnh phù ở lợn do vi khuẩn E.coli;*
- TCVN 8400-17 : 2011, *phần 17: Bệnh do Staphylococcus aureus ở gà;*
- TCVN 8400-18 : 2014, *phần 18: Bệnh phù đầu gà (coryza);*
- TCVN 8400-19 : 2014, *phần 19: Bệnh phó thương hàn lợn;*
- TCVN 8400-20 : 2014, *phần 20: Bệnh đóng dấu lợn;*

TCVN 8400-37 : 2015

- TCVN 8400-21 : 2014, *phần 21: Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRS);*
- TCVN 8400-22 : 2014 *phần 22: Bệnh già đại ở lợn;*
- TCVN 8400-23 : 2014, *phần 23: Bệnh ung khí thán;*
- TCVN 8400-24 : 2014, *phần 24: Bệnh viêm phế quản truyền nhiễm;*
- TCVN 8400-25 : 2014, *phần 25: Bệnh cúm lợn;*
- TCVN 8400-26 : 2014, *phần 26: Bệnh cúm gia cầm H5N1;*
- TCVN 8400-27 : 2014, *phần 27: Bệnh sán lá gan;*
- TCVN 8400-28 : 2014, *phần 28: Bệnh viêm ruột hoại tử do Clostridium perfringens;*
- TCVN 8400-29 : 2015, *phần 29: Bệnh Lympho leuko ở gà;*
- TCVN 8400-30 : 2015, *phần 30: Bệnh Marek ở gà;*
- TCVN 8400-31 : 2015, *phần 31: Bệnh tụ huyết trùng gia cầm;*
- TCVN 8400-32 : 2015, *phần 32: Bệnh gumboro ở gia cầm;*
- TCVN 8400-33 : 2015, *phần 33: Bệnh lê dạng trùng ở trâu bò;*
- TCVN 8400-34 : 2015, *phần 34: Bệnh biên trùng ở trâu bò;*
- TCVN 8400-35 : 2015, *phần 35: Bệnh theileria ở trâu bò;*
- TCVN 8400-36 : 2015, *phần 36: Hội chứng suy mòn ở lợn sau cai sữa do Circo virus typ 2;*
- TCVN 8400-37 : 2015, *phần 37: Bệnh viêm phổi địa phương ở lợn;*
- TCVN 8400-38 : 2015, *phần 38: Bệnh tiêu chảy ở lợn do Corona virus.*

Bệnh động vật - Quy trình chẩn đoán - Phần 37: Bệnh viêm phổi địa phương ở lợn

Animal diseases - Diagnostic procedure -

Part 37: Enzootic pneumonia in pigs

CẢNH BÁO – Việc áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không thể đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn sức khỏe thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn quy định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định quy trình chẩn đoán bệnh viêm phổi địa phương do *Mycoplasma hyopneumoniae* gây ra ở lợn.

2 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng thuật ngữ và định nghĩa sau:

2.1

Bệnh viêm phổi địa phương ở lợn (Enzootic pneumonia in pigs)

Bệnh suyễn ở lợn

Bệnh do vi khuẩn *Mycoplasma hyopneumoniae* gây ra, tác động chủ yếu lên đường hô hấp, gây viêm phế quản, viêm phổi.

CHÚ THÍCH: *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*): là vi khuẩn hiếu khí, không di động, không sinh nha bào, Gram dương nhưng không bắt màu thuốc nhuộm gram và dễ biến đổi qua từng bước nhuộm. Vi khuẩn có hình thái rất đa dạng (hình thoi, hình gậy ngắn hoặc hình cầu), phụ thuộc vào tuổi của canh trùng nuôi cấy và các yếu tố môi trường. Việc nuôi cấy vi khuẩn này khó, mất nhiều thời gian (từ 3 ngày đến 30 ngày) và ít thành công.

3 Thuốc thử và vật liệu thử

Chỉ sử dụng thuốc thử loại tinh khiết phân tích, sử dụng nước cất, nước khử khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

3.1 Thuốc thử và vật liệu thử dùng cho phương pháp parafin

3.1.1 Formalin, dung dịch 10 % (thể tích)

Chuẩn bị từ dung dịch formaldehyde 38 % (thể tích) và dung dịch muối đệm phosphat (PBS) (xem Phụ lục A) với tỷ lệ 1 : 9.

3.1.2 Etanol 70 % (thể tích), 90 % (thể tích) và etanol tuyệt đối.

3.1.3 Xylen.

3.1.4 Haematoxylin.

3.1.5 Eosin.

3.1.6 Parafin, có độ nóng chảy từ 56 °C đến 60 °C.

3.1.7 Keo dán lamên.

3.2 Thuốc thử và vật liệu thử dùng cho phương pháp realtime PCR (phản ứng chuỗi polymerase theo thời gian thực)

3.2.1 Kít tách chiết ADN (axit deoxyribonucleic).

3.2.2 Kít nhân gen.

3.2.3 Cặp mồi và mẫu dò (primers và probe).

3.2.4 Etanol tuyệt đối, dùng cho tách chiết mẫu ADN.

3.2.5 Dung dịch PBS, pH 7,0 (xem Phụ lục A).

3.2.6 Mẫu ADN kiểm chứng dương, tách chiết từ *Mycoplasma hyopneumoniae*, có giá trị Ct (chu kỳ ngưỡng đã biết trước).

3.2.7 Dung dịch đệm TE (Tris-axit etylendiamintetraaxetic).

3.2.8 Nước, tinh khiết không có nuclease.

3.3 Thuốc thử và vật liệu thử dùng cho phương pháp ELISA (phép thử miễn dịch liên kết enzym)

Hiện nay các kit ELISA thương mại có sẵn trên thị trường dùng để phát hiện kháng thể *Mycoplasma hyopneumoniae*. Khi sử dụng phương pháp ELISA cần theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất

4 Thiết bị và dụng cụ

Sử dụng thiết bị, dụng cụ thông thường của phòng thí nghiệm sinh học và những thiết bị, dụng cụ sau:

4.1 Thiết bị và dụng cụ sử dụng chung

4.1.1 Tủ lạnh âm sâu, có thể duy trì nhiệt độ từ âm 20 °C đến âm 80 °C.

4.1.2 Tủ lạnh, có thể duy trì nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

4.1.3 Máy lắc trộn vortex, có thể hoạt động với tốc độ 200 r/min đến 2 500 r/min.

4.2 Thiết bị và dụng cụ dùng cho phương pháp parafin

4.2.1 Khuôn nhựa, loại chuyên dụng cho làm tiêu bản vi thể.

4.2.2 Máy xử lý mẫu mô tự động.

4.2.3 Nồi đun parafin, có thể duy trì nhiệt độ từ 56 °C đến 65 °C.

4.2.4 Khay sắt, loại chuyên dụng cho làm tiêu bản vi thể.

4.2.5 Máy làm lạnh, có thể duy trì nhiệt độ từ âm 10 °C đến 4 °C.

4.2.6 Máy cắt tiêu bản, cắt ở độ mỏng từ 3 µm đến 5 µm.

4.2.7 Nồi dẫn tiêu bản, có thể duy trì nước ở nhiệt độ từ 35 °C đến 65 °C.

4.2.8 Phiến kính, vô trùng.

4.2.9 Lamen, vô trùng.

4.2.10 Bộ cốc nhuộm tiêu bản.

4.2.11 Kính hiển vi quang học, vật kính 4 X, 10 X, 20 X, 40 X, 60 X.

4.3 Thiết bị và dụng cụ dùng cho phương pháp realtime PCR

4.3.1. Máy nhân gen, (realtime PCR).

4.3.2. Máy ly tâm, có thể tạo gia tốc ly tâm 3 000 g, 6 000 g và 20 000 g.

4.3.3. Cối chày sứ, vô trùng.

4.3.4. Máy spindown.

4.4 Thiết bị, dụng cụ dùng cho phương pháp ELISA

4.4.1. Máy đọc ELISA, có thể đọc được bước sóng 650 nm.

5 Chẩn đoán lâm sàng

5.1 Đặc điểm dịch tễ

- Lợn ở tất cả các lứa tuổi đều mắc cảm nhưng triệu chứng viêm phổi thường thấy ở lợn trên 6 tuần tuổi. Lợn nái mang thai ở kỳ 2, lợn mẹ nuôi con. Lợn nuôi trong điều kiện vệ sinh chuồng trại và dinh dưỡng kém rất mắc cảm với bệnh;
- Bệnh thường xảy ra trong những điều kiện sức đề kháng của lợn giảm sút;
- Bệnh xảy ra quanh năm nhưng trầm trọng nhất là trời lạnh và ẩm. Mùa xuân và mùa đông dễ mắc bệnh hơn các mùa khác;
- Tỷ lệ mắc bệnh cao, tỷ lệ chết thấp khoảng 10 %;
- Đường lây lan: chủ yếu qua đường hô hấp, ngoài ra bệnh có thể truyền qua bào thai. Việc lây truyền vi khuẩn chủ yếu trực tiếp từ lợn ốm, lợn mang trùng sang lợn khỏe, từ lợn mẹ sang lợn con;
- Thời gian ủ bệnh từ 7 ngày đến 14 ngày;
- Thường kể phát các vi khuẩn khác như *Pasteurella multocida*, *Streptococcus pyogenes*, *Diplococcus pneumoniae*, *Salmonella*...

5.2 Triệu chứng lâm sàng

5.2.1 Thể á cấp tính

- Lúc đầu triệu chứng rất nhẹ, khó phát hiện;
- Lợn bệnh thường tách đàn nằm ở góc chuồng, ăn ít, da nhợt nhạt, sốt nhẹ (từ 39 °C đến 39,5 °C);
- Lúc đầu hắt hơi từng hồi, chảy nước mũi, vài ngày sau con vật ho, ho liên tiếp từ 1 tuần đến 3 tuần. Bệnh thường chuyển sang thể mạn tính.

5.2.2 Thể mạn tính

- Lợn ho dai dẳng, ho khan, thường lúc sáng sớm, buổi tối, hay sau khi ăn xong. Con vật khó thở, thở nhanh, há mồm ra để thở, tư thế ngồi thờ như chó ngồi để thở, đặc biệt là sau khi bị xua đuổi;
- Lợn chậm lớn, còi cọc; lông xù, cứng;