

ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ HỌC PHÂN TỬ CỦA VIRUS GÂY BỆNH TIÊU CHẢY CẤP Ở LỢN (PORCINE EPIDEMIC DIARRHEA VIRUS-PEDV) TẠI TỈNH BẮC GIANG

Trần Đức Hoàn¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định một số đặc điểm dịch tễ học phân tử của virus gây bệnh tiêu chảy cấp ở lợn. 64 mẫu bệnh phẩm được thu thập từ tháng 9/2018 đến tháng 8/2019 ở 4 huyện thuộc tỉnh Bắc Giang, những mẫu này được kiểm tra bằng phản ứng PCR để xác định sự có mặt của virus PED. Kết quả nghiên cứu cho thấy, 26/64 (40,63%) mẫu dương tính, chủng virus lưu hành trên địa bàn tỉnh Bắc Giang thuộc nhóm G1 thông qua cây phát sinh chủng loại và có độ tương đồng 98-99% so với các chủng đã được công bố ở miền Bắc, Việt Nam. Tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy cấp trên lợn cao nhất ở huyện Tân Yên (33,75%), thấp nhất ở huyện Yên Thế (20,63%). Lợn con ở giai đoạn theo mẹ có tỷ lệ mắc tiêu chảy cấp cao nhất (31,88%), lợn nái có tỷ lệ mắc bệnh thấp nhất (13,75%). Mùa xuân, lợn mắc tiêu chảy cấp cao nhất (63,75%), thấp nhất ở mùa thu (3,75%). Lợn được chăn nuôi theo phương thức nông hộ có tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy cấp cao nhất (40,63%), thấp nhất ở lợn chăn nuôi theo kiểu công nghiệp (34,38%). Nghiên cứu là cơ sở quan trọng cung cấp thông tin phục vụ sản xuất vắc xin phù hợp với điều kiện chăn nuôi lợn trong khu vực.

Từ khóa: Dịch tễ học, lợn, phân tử, tiêu chảy cấp.

1. BẬT VẤN ĐỀ

Dịch tiêu chảy cấp tính trên lợn (Porcine Epidemic Diarrhea- PED) là một bệnh truyền nhiễm cấp tính nguy hiểm do một loại virus thuộc họ *Coronaviridae* gây ra. Dịch PED xảy ra quanh năm nhưng thường phổ biến hơn vào mùa đông và trên 90% ca bệnh xảy ra ở lợn con dưới 7 ngày tuổi. Dịch PED xuất hiện lần đầu tiên ở châu Âu vào năm 1971, sau đó bệnh lây lan ra nhiều quốc gia và vùng lãnh thổ ở châu Á như Trung Quốc, Đài Loan, Nhật, Hàn Quốc, Thái Lan và Việt Nam.

Bệnh xảy ra trên lợn, ở mọi lứa tuổi. Trong nhiều ổ dịch tỷ lệ lợn ốm lên đến 100%, tỷ lệ chết trung bình ở lợn con là 50% nhưng cũng có thể đến 100% (Lee, 2015). Nếu lợn con mắc bệnh ở độ tuổi 0 - 5 ngày tuổi: tỷ lệ chết 100%. Nếu lợn con mắc bệnh ở độ tuổi 6 - 7 ngày tuổi: tỷ lệ chết khoảng 50%. Nếu lợn con mắc bệnh ở độ tuổi > 7 ngày tuổi: tỷ lệ chết khoảng 30%.

Để xác định mối quan hệ giữa các chủng PEDV, các phân tích về cây phả hệ (phylogenetic tree) và đặc điểm di truyền được tiến hành dựa trên các trình tự gen S, M và ORF3 (Song và Park, 2012) đôi khi cả gen E (Park *et al.*, 2011). Nghiên cứu trên một phần

của gen S và toàn bộ gen M đã gợi ý chia PEDV thành 3 nhóm (G1, G2 và G3), mỗi nhóm cũng được chia thành các nhóm nhỏ hơn (G1-1, G1-2 và G1-3) (Park *et al.*, 2007). Phân tích cây phả hệ dựa trên trình tự gen S và M đều chỉ ra rằng các chủng PEDV phân lập được ở Trung Quốc, Hàn Quốc, Thái Lan và Việt Nam có độ tương đồng cao và khác biệt với các chủng PEDV phân lập được từ các quốc gia châu Âu (Park *et al.*, 2007; Puranaveja *et al.*, 2009; Do Tien Duy *et al.*, 2011; Park *et al.*, 2011).

Nghiên cứu này được thực hiện có ý nghĩa vô cùng quan trọng, góp phần trong chẩn đoán bệnh, bổ sung các số liệu khoa học về đặc điểm dịch tễ của bệnh này và các đặc điểm sinh học của virus PED, giúp ích cho việc định hướng sản xuất vắc xin phòng bệnh phù hợp với điều kiện chăn nuôi của khu vực.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Sổ ghi chép, phiếu điều tra thông tin dịch tễ học bệnh PED.

- 64 mẫu phân lợn mắc bệnh PED từ 16 trại và 48 hộ chăn nuôi, được thu thập từ 4 huyện: Việt Yên, Tân Yên, Yên Thế và Lạng Giang.

- Các dụng cụ phòng thí nghiệm phục vụ thao tác lấy mẫu: panh, nĩa, dao mổ, khay...

¹ Trường Đại học Nông Lâm Bắc Giang
Email: dr.hoan288@gmail.com

- Hóa chất phục vụ phản ứng PCR, RT-PCR: Oligo-dt tag, mix, ddwater, KIT tách RNA, KIT chuyển cDNA, hóa chất điện di...

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Xác định các type, phân type của PEDV đang lưu hành trên địa bàn tỉnh Bắc Giang.

- Các đặc điểm dịch tễ của bệnh PED thông qua tỷ lệ mắc bệnh trên các đối tượng nghiên cứu: tỷ lệ mắc bệnh theo vùng; tỷ lệ mắc bệnh theo tuổi lợn; tỷ lệ mắc bệnh theo mùa; tỷ lệ mắc bệnh theo phương thức chăn nuôi.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp điều tra dịch tễ học

Áp dụng các phương pháp điều tra dịch tễ học mô tả: phỏng vấn trực tiếp, phát phiếu điều tra, hồi cứu tài liệu lưu trữ.

2.3.2. Phương pháp thu thập mẫu bệnh phẩm, chiết tách RNA và tổng hợp cDNA của virus

Mẫu bệnh phẩm là phân hoặc ruột của lợn nghi nhiễm bệnh tiêu chảy cấp PED từ các trại và các hộ chăn nuôi lợn được thu thập bảo quản trong các ống chứa mẫu đã được vô trùng. Các mẫu bệnh phẩm này sau đó được dùng cho phản ứng RT-PCR với các cặp mồi đặc hiệu để chẩn đoán bệnh PED.

Sự có mặt của virus PEDV trên những lợn có biểu hiện tiêu chảy được xác định bằng kỹ thuật RT-PCR. RNA được chiết tách bằng kit QIAamp Viral RNA Minikit (Hãng Qiagen), cặp mồi đặc hiệu được thiết kế để khuếch đại một phần gen S, sản phẩm khuếch đại có độ dài 651bp (Park et al., 2008). Cặp mồi như sau: PEDVF 5'-TTCTGAGTCACGAACAGCCA - 3' và PEDVR 5'-CATATGCAGCCTGCTCTGAA - 3'

Huỷn dịch mẫu bệnh phẩm 10% được tách ARN tổng số bằng TriZol theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Thực hiện phản ứng PCR với sợi khuôn là cDNA bằng cặp mồi nhân lên đặc hiệu gen ORF3 của PEDV. Chỉ các mẫu dương tính với PEDV mới được lựa chọn cho quá trình nghiên cứu tiếp theo.

2.3.3. Phương pháp PCR và giải trình tự gen (sequencing)

cDNA được tổng hợp ở trên được bổ sung trực tiếp vào ống phản ứng PCR sử dụng Kit AccuPower PCR PreMix (BIONEER). Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose và được gửi sang Công ty

MacroGen của Hàn Quốc để tiến hành giải trình tự gen. Trình tự DNA thu được được phân tích bằng phần mềm BioEdit và DNASTAR.

2.3.4. Phương pháp RT-PCR để chẩn đoán và định type PEDV

RNA sau khi tổng số được tách chiết từ các mẫu bệnh phẩm nghi nhiễm PEDV được bổ sung trực tiếp vào ống phản ứng RT-PCR sử dụng kit Accupower RT-PCR premix (BIONEER, Hàn Quốc). Phản ứng RT-PCR được thực hiện theo chương trình như sau: 42°C trong 30 phút để tạo cDNA, tiếp đến là 5 chu kỳ (94°C trong 30 giây, 55°C trong 30 giây, 72°C trong 30 giây), tiếp theo là 30 chu kỳ (94°C trong 30 giây, 53°C trong 30 giây, 72°C trong 30 giây) và cuối cùng là 72°C trong 8 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose.

2.3.5. Phương pháp xây dựng cây phả hệ

Trên cơ sở trình tự gen của các chủng PEDV lưu hành ở Việt Nam, đã tiến hành xây dựng cây phả hệ bằng phương pháp neighbor-joining algorithm. Lịch sử tiến hóa và mối quan hệ họ hàng của các type PEDV phân lập được xác định bằng phương pháp neighbor-joining. Tree topology được xác định bằng phân tích bootstrap từ dữ liệu neighbor-joining bằng chương trình SEQBOOT and CONSENSE.

2.3.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel trên Office 2010 và SPSS phiên bản 20.0. Sự khác nhau giữa các nhóm chỉ tiêu thí nghiệm được phân tích bằng chương trình one-way ANOVA Duncan test (giá trị $p < 0,05$ thể hiện sự khác nhau về mặt thống kê).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định các type, phân type của PEDV đang lưu hành trên địa bàn tỉnh Bắc Giang

3.1.1. Chẩn đoán virus PED từ các mẫu bệnh phẩm bằng phương pháp RT-PCR

Mẫu bệnh phẩm là ruột và phân của lợn nghi mắc bệnh PED đã được chẩn đoán bằng phương pháp RT-PCR. Kết quả ở bảng 1 cho thấy, có 26/64 (40,63%) mẫu bệnh phẩm thu thập được từ lợn ở 4 huyện của tỉnh Bắc Giang dương tính với PEDV bằng phản ứng RT-PCR.

Tỷ lệ nhiễm (dương tính) qua kết quả chẩn đoán bằng phản ứng RT-PCR có khác nhau giữa các huyện trong tỉnh Bắc Giang tại bảng 1 cho thấy sự khác nhau giữa các huyện trong tỉnh. Tỷ lệ dương tính cao

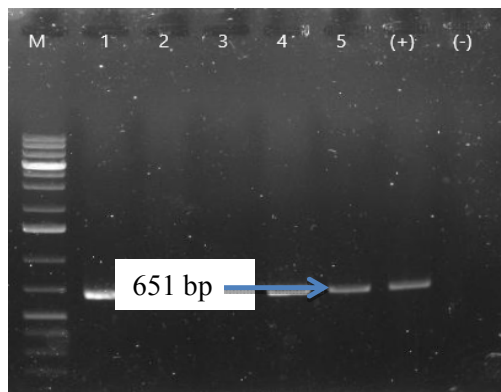
nhất tại huyện Lạng Giang (50,00%), tiếp đến là huyện Việt Yên và Tân Yên và thấp nhất là huyện Yên Thế (31,25%).

Bảng 1. Kết quả chẩn đoán PEDV trong các mẫu bệnh phẩm

Địa phương (huyện)	Số mẫu chẩn đoán	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Việt Yên	16	7	43,75 ^b
Tân Yên	16	6	37,50 ^c
Yên Thế	16	5	31,25 ^d
Lạng Giang	16	8	50,00 ^a
Tính chung	64	26	40,63

Ghi chú: Các tỷ lệ mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$

Kết quả điện di sản phẩm RT-PCR để chẩn đoán bệnh PED được minh họa tại hình 1.



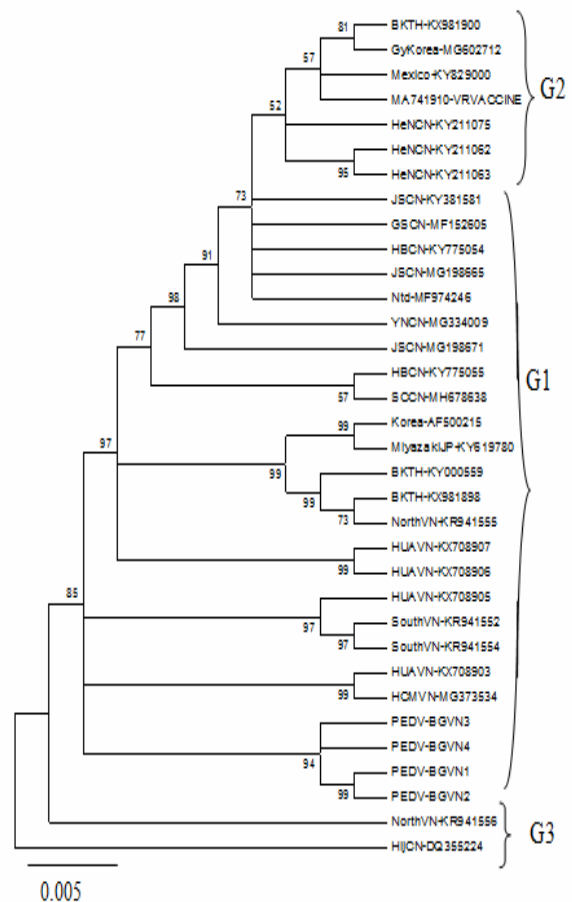
Hình 1. Kết quả chạy điện di kiểm tra sản phẩm PCR

Ghi chú: M: Marker DNA (1 kb Plus DNA Ladder, Invitrogen); Các mẫu bệnh phẩm tương ứng: Giếng 1: VYBG-PED1; Giếng 2: TYBG-PED2; Giếng 3, 5: YTBG-PED3; Giếng 4: LGBG-PED4; Giếng 6: Đối chứng dương; Giếng 7: Đối chứng âm.

3.1.2. Kết quả xây dựng cây phát sinh chủng loại

Các nghiên cứu trước đây về cây phả hệ cho thấy virus PED được phân thành 3 nhóm (group) lớn gồm G1, G2, G3 trong đó G1 được chia thành 3 nhóm phụ bao gồm G1-1, G1-2, G1-3 (Park et al., 2007). Trong nghiên cứu này các chủng virus PED thu thập được từ 4 huyện của tỉnh Bắc Giang năm 2018 đều thuộc nhóm phụ G1-1 (Hình 2), các chủng virus PED thu thập được trong nghiên cứu này có mối quan hệ gần gũi với các chủng virus PED phân lập được ở miền Bắc và miền Nam, Việt Nam trước đây và nằm trong cùng 1 nhánh, có 1 chủng

KR941556 phân lập được ở miền Bắc, Việt Nam thuộc nhánh khác, tất cả các chủng tham chiếu đã công bố trên ngân hàng gen từ các nước Trung Quốc, Thái Lan, Nhật Bản, Hàn Quốc đều thuộc các nhánh khác so với chủng nghiên cứu. Như vậy, dịch PED lưu hành tại miền Bắc có thể tồn tại ít nhất 2 biến chủng thuộc nhóm phụ G1-1. Nghiên cứu của Nguyễn Trung Tiến và cs. (2015) về một số đặc điểm sinh học phân tử và sự lưu hành của virus PED tại một số tỉnh phía Bắc và Trung bộ, Việt Nam cũng xác định các chủng virus PED lưu hành tại miền Bắc, Việt Nam thuộc nhóm G1, nhóm phụ G1-1 và đều có sự tương đồng rất cao giữa các chủng phân lập được tại một số tỉnh phía Bắc.



Hình 2. Mối quan hệ di truyền giữa các chủng virus PED trong nghiên cứu này với nhau và với các chủng virus PED tham chiếu khác

Kết quả phân tích cây phả hệ cho thấy tất cả các chủng virus PED trong nghiên cứu này đều thuộc nhóm phụ G1-1, có cùng nhánh với các chủng virus PED đang lưu hành phổ biến ở các nước thuộc

khu vực Đông Nam Á và Đông Á. Nghiên cứu này một lần nữa khẳng định mối quan hệ gần gũi của các chủng virus PED ở Việt Nam với các nước trong khu vực (Đỗ Tiến Duy và cs., 2011; Nguyễn Tất Toàn và Đỗ Tiến Duy, 2012; Nguyễn Trung Tiến và cs., 2015). Chủng virus PED được phân lập ở tỉnh Bắc Giang có mối quan hệ gần gũi với nhau và với các chủng virus phân lập được trong nước trước đây (đại diện là chủng VN/JFP1013-1/2013/Vinh An/Vietnam, mã số truy cập ngân hàng GenBank là KJ960178, chủng HUA-PED111/2015/Thai Nguyen/Vietnam, mã số truy cập KX708903 và chủng VL2-PED/2017/Southern/Vietnam, mã số truy cập MG373534) cũng như với chủng virus PED phân lập được ở Trung Quốc năm 2012 (chủng AJ1102, mã số truy cập trên ngân hàng GenBank là JX188454).

Các chủng virus PED gây ra các đợt dịch gần đây ở Mỹ và Hàn Quốc được cho là có nguồn gốc từ các chủng virus lưu hành tại Trung Quốc (Chen *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2015). Do sự gần gũi về mặt địa

lý, các biến chủng virus PED mới xuất hiện ở Việt Nam có thể có nguồn gốc trực tiếp từ Trung Quốc. Việc chưa phát hiện các biến chủng mới tại tỉnh Bắc Giang so với các nghiên cứu trước đó có thể do số lượng mẫu trong nghiên cứu này chưa mang tính đại diện, cũng như thiếu các nghiên cứu, điều tra đầy đủ về đặc điểm dịch tễ học phân tử của các chủng virus PED đang lưu hành tại Việt Nam. Kết quả phân tích một phần gene S mã hóa protein S cho thấy có ít nhất 2 biến chủng lưu hành tại miền Bắc tương tự với nghiên cứu của Kim *et al.* (2015).

3.2. Đặc điểm dịch tễ của bệnh PED thông qua tỷ lệ mắc bệnh trên các đối tượng nghiên cứu

3.2.1. Tỷ lệ mắc bệnh theo vùng

Để đánh giá mức độ mắc tiêu chảy ở lợn do virus PED gây ra tại tỉnh Bắc Giang đã tiến hành điều tra 640 mẫu tại các trại, cơ sở chăn nuôi ở 4 huyện Việt Yên, Tân Yên, Yên Thế và Lạng Giang. Kết quả được thể hiện tại bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ mắc, tỷ lệ chết ở lợn do virus (PED) tại tỉnh Bắc Giang

Địa phương (huyện)	Số lợn theo dõi (con)	Số mắc bệnh (con)	Tỷ lệ mắc (%)	Số chết (con)	Tỷ lệ chết (%)
Việt Yên	160	47	29,38 ^b	26	55,32 ^b
Yên Thế	160	33	20,63 ^c	15	45,45 ^d
Tân Yên	160	54	33,75 ^a	29	53,70 ^c
Lạng Giang	160	45	28,13 ^b	26	57,78 ^a
Tính chung	640	179	27,97	96	53,63

Ghi chú: Các tỷ lệ mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$

Qua bảng 2 cho thấy tỷ lệ mắc tiêu chảy ở lợn do virus PED nuôi tại tỉnh Bắc Giang khá cao (27,97%). Trong các huyện được điều tra, lợn nuôi tại huyện Tân Yên có tỷ lệ mắc cao nhất 33,75%; ở Việt Yên và Lạng Giang có tỷ lệ mắc bệnh PED tương ứng là 29,38 và 28,13%; huyện Yên Thế có tỷ lệ mắc bệnh thấp nhất (20,63%). Tỷ lệ lợn chết do bệnh PED ở các huyện tương ứng, cao nhất là Lạng Giang với 57,78%; tiếp đến Việt Yên 55,32%; Tân Yên 53,70% và thấp nhất là Yên Thế 45,45%.

Nguyên nhân chủ yếu dẫn đến tỷ lệ mắc, tỷ lệ chết ở lợn nuôi tại các tỉnh có sự biến động là do tập quán chăn nuôi và tình trạng vệ sinh thú y. Ở Tân Yên có tỷ lệ mắc cao nhất so với các huyện khác là do hầu hết lợn được nuôi tại các hộ chăn nuôi nhỏ lẻ trong khu dân cư, thức ăn tận dụng, chuồng nuôi và điều kiện vệ sinh thú y không đảm bảo dẫn đến

mức độ mắc bệnh, tỷ lệ chết và tỷ lệ tử vong cao. Ngoài ra, tiêu chảy do Coronavirus gây ra hiện nay vẫn chưa có thuốc đặc trị. Đây chính là nguyên nhân làm cho tỷ lệ mắc, tỷ lệ chết cao.

Thực tế cho thấy tình trạng chăn nuôi như trên vẫn thấy rải rác ở các huyện trong tỉnh nên tỷ lệ mắc tiêu chảy ở lợn do virus (PED) vẫn còn khá phổ biến. Trong những năm gần đây, hầu hết chăn nuôi ở các trang trại lớn, người dân đã biết áp dụng khoa học kỹ thuật vào chăn nuôi, chuồng trại hiện đại và chú ý đến công tác vệ sinh thú y trong chăn nuôi lợn nái và lợn con, vì vậy tỷ lệ mắc, tỷ lệ chết và tỷ lệ tử vong thấp nhất.

Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Lecce (1976); Radostits (1994), theo đó bệnh tiêu chảy xảy ra ở mọi nơi, mọi lúc trên thế giới. Trịnh Văn Thịnh (1985); Đào Trọng

Đạt và cs. (1995) cho rằng, trong quy trình kỹ thuật chăm sóc, nuôi dưỡng lợn thì công tác chăm sóc, nuôi dưỡng lợn con và lợn mẹ đúng kỹ thuật phù hợp với lứa tuổi là yếu tố quan trọng quyết định đến tỷ lệ mắc tiêu chảy cao hay thấp, trong thành phần và sự cân đối các chất dinh dưỡng trong khẩu phần đóng vai trò quan trọng. Vì vậy, trong quá trình chăm sóc nuôi dưỡng, cần cho lợn nái ăn thức ăn giàu đạm, vitamin và đủ nguyên tố vi lượng. Khi lợn con mới sinh cần cho bú sữa đầu, sau đó tập ăn sớm

cho lợn, sau cai sữa cần phải cho lợn ăn thức ăn đủ số lượng và chất lượng phù hợp với đặc điểm sinh lý lứa tuổi.

3.2.2. Tỷ lệ mắc bệnh theo tuổi lợn

Để đánh giá mức độ mắc tiêu chảy ở lợn do virus PED gây ra, đã tiến hành theo dõi trên những đàn lợn ở các lứa tuổi khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ mắc, tỷ lệ chết ở lợn do virus (PED) theo lứa tuổi

Tuổi của lợn	Số lợn theo dõi (con)	Số mắc bệnh (con)	Tỷ lệ mắc (%)	Số chết (con)	Tỷ lệ chết (%)
Lợn con theo mẹ	124	51	31,88 ^a	38	74,51 ^a
Sau cai sữa (1 - 2 tháng tuổi)	124	42	26,25 ^b	25	59,52 ^b
Lợn choai (3 - 4 tháng tuổi)	124	35	21,88 ^c	18	51,43 ^c
Lợn thịt (5 - 6 tháng tuổi)	124	29	18,13 ^d	12	41,38 ^d
Lợn nái	124	22	13,75 ^e	3	13,64 ^e
Tính chung	640	179	27,97	96	53,63

Ghi chú: Các tỷ lệ mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$

Qua bảng 3 lợn con ở giai đoạn theo mẹ có tỷ lệ mắc bệnh PED cao nhất 31,88%, do trong thời kỳ này tốc độ sinh trưởng và phát dục tăng lên nhanh, lúc này chất dinh dưỡng từ sữa mẹ cung cấp không đáp ứng đủ nhu cầu của cơ thể, khả năng điều tiết thân nhiệt kém do lớp mỡ dưới da còn mỏng, nên lợn con dễ bị tác động bởi yếu tố nhiệt độ và ẩm độ; lợn con giai đoạn này đã cứng cáp hơn, hoạt động nhanh nhẹn, bắt đầu liếm láp thức ăn rơi vãi... Đây là điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật từ môi trường bên ngoài xâm nhập vào đường tiêu hóa của lợn con, làm giảm sức đề kháng, tạo điều kiện cho virus xâm nhập và dễ gây bệnh. Mặt khác, do ở thời kỳ này hệ thống các cơ quan chưa hoàn thiện, nhất là cơ quan miễn dịch của lợn chưa đủ khả năng sản sinh ra kháng thể để chống lại những tác nhân gây bệnh từ môi trường. Chính điều này cũng làm cho sức đề kháng của lợn bị giảm sút, sự chống chịu với bệnh tật của cơ thể kém, làm cho lợn dễ bị mắc bệnh. Ở giai đoạn tuổi này tỷ lệ chết cũng cao nhất, chiếm tới 74,51%.

Đối với lợn con ở giai đoạn sau cai sữa, tỷ lệ mắc bệnh là 26,25%; tỷ lệ chết là 59,52%. Ở giai đoạn tuổi này, lợn con đã bắt đầu biết ăn, sự thiếu hụt chất dinh dưỡng dần được bù đắp, hệ thần kinh phát triển hơn, điều hòa được thân nhiệt và sự tác động của các yếu tố stress bất lợi từ môi trường, hệ tiêu hóa cũng hoạt động mạnh hơn, chính vì thế tỷ

lệ mắc bệnh đã giảm xuống. Mặt khác, do cơ thể đã hoàn thiện, đặc biệt là hệ thống miễn dịch, lúc này cơ thể ở trạng thái tốt nhất nên con vật có khả năng chống được sự tấn công của virus, cũng như sự tác động không tốt từ ngoại cảnh. Hơn nữa, lợn cũng đã quen thức ăn, chế độ chăm sóc, quản lý..., nên phát triển khỏe mạnh, không bị stress, con vật có sức đề kháng cao với tác nhân gây bệnh.

Các giai đoạn tiếp theo tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ chết giảm dần. Tỷ lệ mắc bệnh PED và tỷ lệ chết do bệnh ở các giai đoạn lợn choai, lợn thịt và lợn nái lần lượt là 21,88 : 51,43; 18,13: 41,38 và 13,75 : 13,64%.

Như vậy, lợn ở các lứa tuổi khác nhau thì tỷ lệ mắc, tỷ lệ chết khác nhau. Bởi vì, ở các giai đoạn sinh trưởng và phát triển, vật nuôi có những đặc điểm giải phẫu, sinh lý khác nhau, sự đáp ứng của cơ thể với các yếu tố stress khác nhau.

Hoàng Văn Tuấn và cs. (1998) cho rằng bệnh tiêu chảy xảy ra ở mọi lứa tuổi, từ sơ sinh cho đến độ tuổi sinh sản, nhưng trầm trọng nhất là ở lợn sơ sinh đến cai sữa. Nguyễn Thị Kim Lan và cs. (2006) cho rằng tỷ lệ lợn tiêu chảy giảm theo tuổi; bệnh tiêu chảy chịu ảnh hưởng rõ rệt của lứa tuổi mắc bệnh, mùa vụ trong năm, các loại thức ăn, nền chuồng và vệ sinh thú y. Kết quả nghiên cứu phù hợp với nghiên cứu trên. Do đó, để hạn chế được tỷ

lệ mắc bệnh cần phải kết hợp nhiều biện pháp. Tuy nhiên, quan trọng nhất là chú ý đến vệ sinh thú y, chuồng nuôi có không khí thuận lợi. Đặc biệt là quan tâm chăm sóc lợn ở giai đoạn theo mẹ, kết hợp với các biện pháp tổng hợp nhằm hạn chế dịch bệnh PED.

3.2.3. Tỷ lệ mắc bệnh theo mùa

Kết quả nghiên cứu tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ chết ở lợn do virus PED theo các mùa khác nhau được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Tỷ lệ mắc, tỷ lệ chết ở lợn do virus PED theo mùa

Mùa	Số lợn theo dõi (con)	Số mắc bệnh (con)	Tỷ lệ mắc (%)	Số chết (con)	Tỷ lệ chết (%)
Xuân	160	102	63,75 ^a	68	66,67 ^a
Hạ	160	50	31,25 ^b	19	38,00 ^b
Thu	160	6	3,75 ^d	1	16,67 ^c
Đông	160	21	13,13 ^c	8	38,10 ^b
Tính chung	640	179	27,97	96	53,63

Ghi chú: Các tỷ lệ mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$

Qua bảng 4 nhận thấy tỷ lệ tỷ lệ mắc bệnh PED và tỷ lệ chết ở lợn có sự khác nhau giữa các mùa theo dõi. Trong đó lợn mắc bệnh PED cao nhất ở mùa xuân 63,75%; tiếp đó là mùa hè 31,25%; mùa đông có tỷ lệ mắc 13,13%; thấp nhất là mùa thu với 3,75%. So sánh tỷ lệ mắc của các mùa khác nhau có sự khác nhau rõ rệt ($P < 0,05$).

Sở dĩ mùa xuân có tỷ lệ mắc bệnh PED cao hơn các mùa khác là do thời tiết có nhiều biến động đột ngột, mưa nhiều hơn, độ ẩm không khí cao trung bình 80 – 85%, nhiệt độ không khí lúc nóng, lúc lạnh dao động trong khoảng từ 18 – 30°C. Đây là điều kiện thuận lợi cho các loài vi sinh vật gây bệnh phát triển. Mặt khác, thực tế điều tra cho thấy hầu hết chuồng trại ở những địa phương này không đảm bảo

vệ sinh thú y, điều kiện chăm sóc nuôi dưỡng chưa được tốt làm cho sức đề kháng của lợn giảm, cũng là một trong những nguyên nhân tạo điều kiện thuận lợi cho virus phát triển, xâm nhập và gây bệnh. Mùa hè thời tiết vẫn nóng ẩm, mưa nhiều hơn song biến động về thời tiết không nhiều nên tỷ lệ mắc bệnh PED thấp hơn mùa xuân. Như vậy, nhiệt độ và ẩm độ cao là điều kiện thuận lợi cho virus PED phát triển, nhiệt độ càng giảm thì tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ chết do bệnh PED cũng giảm. Mặt khác, sự dao động mạnh về nhiệt độ cũng làm tăng tỷ lệ mắc bệnh.

3.2.4. Tỷ lệ mắc bệnh theo phương thức chăn nuôi

Kết quả được trình bày tại bảng 5.

Bảng 5. Tỷ lệ mắc, tỷ lệ chết ở lợn do virus (PED) theo phương thức chăn nuôi

Phương thức chăn nuôi	Số lợn theo dõi (con)	Số mắc bệnh (con)	Tỷ lệ mắc (%)	Số chết (con)	Tỷ lệ chết (%)
Nông hộ	210	65	40,63 ^a	41	63,08 ^a
Bán công nghiệp (kết hợp thức ăn tận dụng với cám công nghiệp)	210	59	36,88 ^b	34	57,63 ^b
Công nghiệp (trang trại)	220	55	34,38 ^b	21	38,18 ^c
Tính chung	640	179	27,97	96	53,63

Ghi chú: Các tỷ lệ mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$

Qua bảng 5 cho thấy, với cả 3 phương thức chăn nuôi khác nhau có sự khác nhau về tỷ lệ mắc bệnh, đặc biệt là tỷ lệ chết có sự khác nhau rõ rệt. Với kiểu chăn nuôi nông hộ có tỷ lệ mắc bệnh PED cao nhất 40,63%; tiếp đến là kiểu chăn nuôi bán công nghiệp 36,88% và chăn nuôi công nghiệp có tỷ

lệ thấp nhất 34,38%. Tỷ lệ lợn chết do bệnh PED cũng cao nhất ở kiểu chăn nuôi nông hộ và thấp nhất ở kiểu chăn nuôi công nghiệp.

Trên thực tế, với những trang trại chăn nuôi theo kiểu nông hộ chuồng hở, điều kiện vệ sinh thú y kém, không đảm bảo môi trường tốt cho lợn phát

triển. Mặt khác, theo điều tra thực tế những hộ chăn nuôi theo kiểu chuồng hở thì trình độ thú y còn hạn chế, không áp dụng khoa học kỹ thuật nhiều trong chăn nuôi, không thường xuyên dọn dẹp vệ sinh chuồng nuôi, dụng cụ chăn nuôi, không hạn chế được các động vật trung gian như chuột, gián,... tất cả những vấn đề này làm bệnh PED xảy ra thường xuyên hơn, có tính lây lan mạnh hơn. Với những kiểu công nghiệp chuồng kín đáp ứng được quy chuẩn về quy mô trang trại, có quạt thông gió, hệ thống làm lạnh, hệ thống điều chỉnh nhiệt độ chuồng nuôi, hệ thống làm mát bằng nước,... thức ăn, nước uống, dụng cụ chăn nuôi đều được vệ sinh nên hạn chế dịch bệnh PED.

4. KẾT LUẬN

Phương pháp RT-PCR đã được sử dụng để chẩn đoán virus gây ra dịch tiêu chảy cấp tính trên lợn (Porcine Epidemic Diarrhea - PED) tại tỉnh Bắc Giang. Kết quả chẩn đoán cho thấy 26/64 (40,63%) mẫu bệnh phẩm dương tính với virus PED.

Trình tự nucleotide của gene S (spike gene) cho thấy các chủng virus PED trong nghiên cứu này có tỷ lệ tương đồng từ 98 - 99% khi so sánh với các chủng virus PED tham chiếu khác trước đây của Việt Nam. Phân tích cây phả hệ cho thấy các chủng virus PED trong nghiên cứu này thuộc nhóm G1-1.

Tỷ lệ mắc bệnh PED ở lợn có sự khác nhau giữa các địa phương, khác nhau theo tuổi, mùa và phương thức chăn nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Do Tien Duy, Nguyen Tat Toan, S. Puranaveja and R. Thanawongnuwech (2011). Genetic characterization of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) isolates from southern Vietnam during 2009-2010 outbreaks. *Thai Journal of Veterinary Medicine*. 41: 55-64.
2. Đào Trọng Đạt, Phan Thanh Phụng, Lê Ngọc Mỹ và Huỳnh Văn Kháng (1996). Bệnh ở lợn nái và lợn con. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
3. Chen. Q., G. Li, J. Stasko, J. T. Thomas, W. R. Stensland, A. E. Pillatzki, P. C. Gauger, K. J. Schwartz, D. Madson, K. J. Yoon, G. W. Stevenson, E. R. Burrough, K. M. Harmon, R. G. Main and J. Zhang (2014). Isolation and characterization of porcine epidemic diarrhea viruses associated with the 2013 disease outbreak among swine in the United States. *J Clin Microbiol*. 52: 234-243.
4. Hoàng Văn Tuấn, Lê Văn Tạo và Trần Thị Hạnh (1998). Kết quả điều tra tình hình bệnh tiêu chảy ở lợn trong một số trang trại lợn giống hướng nạc. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*. 5 (4): 61-64.
5. Kim. S. H., I. J. Kim, H. M. Pyo, D. S. Tark, J. Y. Song and B. H. Hyun (2015). Multiplex real-time RT-PCR for the simultaneous detection and quantification of transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus. *J Virol Methods*. 146: 172-177.
6. Lecce J. G., M. W. Kihl and R. Mock (1976). Rotavirus - like agent associated with fatal diarrhoea in neonatal pigs. *Infect. Immun*: 816-825.
7. Lee. C. (2015). Porcine epidemic diarrhea virus: An emerging and re-emerging epizootic swine virus. *Virol J*. 12: 193.
8. Lee. D. H., Y. S. Jeon, C. K. Park, S. J. Kim, D. S. Lee and C. Lee (2015). Immunoprophylactic effect of chicken egg yolk antibody (IgY) against a recombinant S1 domain of the porcine epidemic diarrhea virus spike protein in piglets. *Arch Virol*. 160(9): 2197-2207.
9. Nguyễn Tất Toàn, Nguyễn Đình Quát, Trịnh Thị Thanh Huyền, Đỗ Tiến Duy, Trần Thị Dân, Nguyễn Thị Phước Ninh và Nguyễn Thị Thu Năm (2012). Phát hiện virus gây bệnh tiêu chảy cấp (PEDV) trên heo ở các tỉnh miền Đông Nam bộ. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*. 19 (5): 26-30.
10. Nguyễn Thị Kim Lan, Nguyễn Thị Ngân và Lê Minh (2006). Vai trò của ký sinh trùng đường tiêu hóa trong tiêu chảy ở lợn con sau cai sữa tại Thái Nguyên. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*. 13 (3): 36-40.
11. Nguyễn Trung Tiến, Vũ Thị Thu Hằng, Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Nguyễn Bá Hiên và Lê Văn Phan (2015). Một số đặc điểm sinh học phân tử của virus gây ra dịch tiêu chảy cấp ở lợn (Porcine Epidemic Diarrhea- PED) tại Quảng Trị, Thái Nguyên và Thái Bình từ năm 2013- 2014. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 13: 1089-1100.
12. Park. S. J., H. K. Kim, D. S. Song, H. J. Moon and B. K. Park (2011). Molecular characterization and phylogenetic analysis of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) field isolates in Korea. *Arch Virol*. 156: 577-585.
13. Park. S. J., H. J. Moon, J. S. Yang, C. S. Lee,

D. S. Song, B. K. Kang and B. K. Park (2007). Sequence analysis of the partial spike glycoprotein gene of porcine epidemic diarrhea viruses isolated in Korea. *Virus Genes*. 35: 321-332.

14. Puranaveja, S., P. Poolperm, P. Lertwatcharasarakul, S. Kesdaengsakonwut, A. Boonsoongnern, K. Urairong, P. Kitikoon, P. Choojai, R. Kedkovid, K. Teankum and R. Thanawongnuwech (2009). Chinese-like strain of

porcine epidemic diarrhea virus, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 15: 1112-1115.

15. Song, D. and B. Park (2012). Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. *Virus Genes*. 44 (2): 167-175.

16. Trịnh Văn Thịnh (1985). Bệnh lợn ở Việt Nam. NXB Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.

MOLECULAR EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF VIRUS CAUSE ACUTE DIARRHEA (PORCINE EPIDEMIC DIARRHEA VIRUS-PEDV) AT BAC GIANG PROVINCE

Tran Duc Hoan¹

¹*Bac Giang Agriculture and Forestry University*

Email: dr.hoan288@gmail.com

Summary

The study aimed to determine some molecular epidemiological characteristics of virus cause porcine epidemic diarrhea. Sixty four samples were collected from september, 2018 to august, 2019 at four districts in Bac Giang province, all samples were identified by PCR assay to determine the prevalence of PEDV. The results demonstrated that, 26/64 (40.63%) samples were positive, through out the phylogenetic tree, the virus strain was prevalent under group G1 and homology 98-99% as compare with published one at the Northern of Vietnam. Pigs raised at Tan Yen district showed highest morbidity rate (33.75%) and lowest at Yen The district. The morbidity rate of epidemic diarrhea was highest at the period of nursery pig (31.88%) and lowest in sow. In spring, pigs showed highest morbidity rate (63.75%) and lowest in autumn (3.75%). Pigs raised in the households showed highest morbidity rate (40.63%), lowest in commercial pig farm (34.38%). This study supplied the important information for produciton of vaccine suitable with pig production condition in this area.

Keywords: *Epidemiology, porcine, molecular, PED- Porcine Epidemic Diarrhea, Vietnam.*

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Thị Kim Lan

Ngày nhận bài: 21/8/2020

Ngày thông qua phản biện: 22/9/2020

Ngày duyệt đăng: 29/9/2020