

# ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÒNG DỊCH TIÊU CHẢY CẤP BẰNG AUTO-VACCINE TRÊN ĐÀN LỢN NUÔI TẠI TỈNH THANH HOÁ

Hoàng Văn Sơn<sup>1</sup>, Hoàng Thị Bích<sup>1</sup>, Lê Thị Lâm<sup>1</sup>, Tống Minh Phương<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng bảo hộ của Auto-Vaccine PED ở đàn lợn tại tỉnh Thanh Hoá. Sử dụng kỹ thuật ELISA để xác định sự hiện diện của kháng thể trong huyết thanh của 60 lợn nái chữa ở tuần thứ 13 sau khi sử dụng Auto-Vaccine PED, đồng thời theo dõi tình hình sức khoẻ đàn lợn con theo mẹ được sinh ra từ những con nái này. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Sau khi sử dụng Auto-Vaccine PED 100% mẫu huyết thanh chứa kháng thể có giá trị OD từ 0,05 - 1,04. Ở thời điểm 14 ngày sau khi làm Auto-Vaccine PED có 78,33% mẫu và ở 21 ngày có 80,00% mẫu hàm lượng kháng thể dương tính (Cut off = 0,21). Kết quả theo dõi lợn con sinh ra từ nái đã được làm Auto-Vaccine PED cho thấy, tỷ lệ mắc bệnh trung bình là 9,93%, tỷ lệ chết là 2,77 %, tỷ lệ tử vong là 27,94%, số ổ mắc bệnh là 21,67%.

**Từ khóa:** Dịch tiêu chảy cấp trên lợn (PED), Auto-Vaccine, kháng thể, Thanh Hoá.

**DOI:** <https://doi.org/10.70117/hdujs.71.2024.707>

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dịch tiêu chảy cấp ở lợn (PED) do virus thuộc nhóm *Coronavirus* gây ra, đây là virus có cấu trúc phức tạp, đa dạng về chủng, dễ đột biến tạo ra các biến thể virus mới, lây lan nhanh và có thể gây tử vong lên tới 100% đàn lợn dưới một tuần tuổi, ít gây hại cho lợn lớn do virus khó thích nghi trên biểu mô ruột lợn trưởng thành [1][2].

Ở Việt Nam, theo Do Tien Duy *et al.*, (2011): bệnh được phát hiện từ năm 2008 ở một số tỉnh phía Nam với tỷ lệ có thể đến 100%, tỷ lệ tử vong cao nhất ở lợn con theo mẹ (50 - 100%). Ở khu vực phía Bắc, tỷ lệ tử vong ở lợn con theo mẹ 68,6% - 100% [3].

Thanh Hoá là tỉnh có số lượng đàn lợn lớn, tình hình bệnh PED đang xảy ra và gây thiệt hại lớn cho người chăn nuôi [4]. Việc sử dụng vaccine phòng PED (sử dụng chủng cổ điển Ia) sản xuất từ một số nước như Nhật Bản, Trung Quốc, Hàn Quốc... cho hiệu quả không cao do xuất hiện các biến chủng mới [5]. Để kiểm soát tình hình dịch thì việc sử dụng Auto-vaccine là một biện pháp khả thi [6][7], đây là phương pháp dùng chất chứa mầm bệnh của lợn mắc bệnh gây nhiễm cho lợn nái mang thai giai đoạn cuối nhằm tạo ra kháng thể chủ động và kháng thể này sẽ được truyền qua lợn con thông qua sữa đầu. Xác định lượng kháng thể trong máu lợn mẹ sau khi sử dụng Auto-vaccine và khả năng bảo hộ đối với đàn lợn con làm cơ sở cho các thực nghiệm và nghiên cứu tiếp theo là rất cần thiết.

<sup>1</sup> Khoa Nông - Lâm - Ngư nghiệp, Trường Đại học Hồng Đức; Email: [hoangvanson@hdu.edu.vn](mailto:hoangvanson@hdu.edu.vn)

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

*Đối tượng nghiên cứu:* Thí nghiệm được thực hiện trên 60 lợn nái mang thai ở tuần thứ 13 có kết quả âm tính với Test kit PED Ag và RT-PCR và đàn lợn được 60 nái này sinh ra đến 21 ngày tuổi.

*Địa điểm nghiên cứu:* Các xét nghiệm ELISA và RT-PCR được thực hiện tại Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ sinh học Thú y - Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Thí nghiệm được thực hiện và theo dõi tại các trang trại lợn ở tỉnh Thanh Hoá.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.1.1. Phương pháp xác định lợn mắc bệnh PED

Lợn mắc bệnh có biểu hiện lâm sàng điển hình theo công bố của Hoàng Văn Sơn và cộng sự (2019): Lợn ủ rũ, mệt mỏi; ỉa chảy phân màu vàng xám, nhiều nước và lợn gầy sút nhanh; nằm chồng lên nhau; bỏ bú, bỏ ăn; nôn mửa [8].

Tiến hành chẩn đoán nhanh bằng Test kit PED Ag và phản ứng RT-PCR theo quy trình chẩn đoán bệnh tiêu chảy ở lợn do Coronavirus trong TCVN 8400-38-2015, được công nhận phù hợp ISO/IEC 17025:2005 để xác định chính xác bệnh.

#### 2.1.2. Phương pháp chế Auto-Vaccine

Lấy 1 bộ ruột của lợn con mắc PED dưới 1 tuần tuổi và dung dịch nước muối sinh lý vào với tỷ lệ 1/5 (1 phần ruột, 5 phần nước muối sinh lý) xay nhuyễn.

Trộn Amoxicillin và Colistin 10% liều 300 ppm được chế phẩm Auto-Vaccine PED. Đựng chế phẩm vào dụng cụ vô trùng và bảo quản ở nhiệt độ 2°C - 8°C.

#### 2.1.3. Quy trình sử dụng

Thí nghiệm được thực hiện trên 60 lợn nái mang thai ở tuần thứ 13 có kết quả âm tính với Test kit PED Ag và RT-PCR với PED. Cụ thể như sau:

Vật tư	Liều lượng	Cách dùng
Auto-Vaccine PED	15ml/lần	- Trộn 15ml chế phẩm Auto-Vaccine PED với 50g thức ăn và cho ăn trước bữa ăn để lợn ăn hết. - Cho lợn nái ăn đến khi có biểu hiện tiêu chảy, sau 7 ngày không tiêu chảy thì dừng.
TĂ tổng hợp	50 gram	

#### 2.1.4. Phương pháp xác định kháng thể sau khi sử dụng chế phẩm Auto-Vaccine

Máu được lấy ở tĩnh mạch cổ của lợn nái sau khi sử dụng Auto-Vaccine PED sau 14 và 21 ngày để kiểm tra kháng thể dịch thể trong huyết thanh. Máu được lấy vào sáng sớm trước khi cho ăn. Sử dụng xilanh 5ml, lấy 3ml máu sau đó kéo hết pitông cho không khí vào xilanh và để nghiêng xilanh góc 45°, để máu đông trong khoảng 15 - 30 phút chắt lấy huyết thanh. Nếu xét nghiệm trong khoảng 5 ngày thì bảo quản ở nhiệt độ từ 2°C - 8°C, nếu cần lưu mẫu lâu hơn phải bảo quản ở -20°C.

Xác định kháng thể trong huyết thanh lợn nái đã được dùng Auto-Vaccine PED bằng phương pháp test ELISA theo ISO/IEC 17025:2005 để. Kết quả được thể hiện qua chỉ số OD, nếu  $OD \geq \text{Cut off}$ : Dương tính. Cut off có giá trị = 0,21.

#### 2.1.5. Phương pháp theo dõi khả năng bảo hộ

Theo dõi tỷ lệ mắc bệnh ở đàn lợn con của những nái được sử dụng Auto-Vaccine PED từ sơ sinh đến 21 ngày tuổi.

$$\text{Tỷ lệ mắc bệnh (\%)} = \frac{\text{Số con mắc bệnh}}{\text{Tổng số con theo dõi}} \times 100$$

#### 2.1.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng chương trình thống kê Minitab 16, chi bình phương ( $\chi^2$ ).

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Thời gian xuất hiện biểu hiện lâm sàng sau khi sử dụng Auto-Vaccine PED

Khi sử dụng Auto-Vaccine PED cho 60 lợn nái mang thai ở tuần thứ 13, thời gian lợn xuất hiện triệu chứng lâm sàng (tiêu chảy) chủ yếu là ngày thứ 3 và thứ 4, số còn lại xuất hiện triệu chứng lâm sàng ở ngày thứ 5 và thứ 6. Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian lợn xuất hiện triệu chứng lâm sàng trung bình là 3,42 ngày. Đây là khoảng thời gian nung bệnh để virus tăng lên về số lượng bằng cả hai phương thức là nhân lên trong tế bào vật chủ và bội nhiễm ở những liều sử dụng Auto-Vaccine tiếp theo. Theo Albert Rovira (2013) thì thời gian nung bệnh PED từ 1 đến 2 ngày. Theo Zhang et al., (2019), khi nhiễm virus PED vào ngày thứ 3-5 thì lợn xuất hiện các dấu hiệu lâm sàng, xảy ra quá trình viêm - hoại tử cấp tính trong mô ruột, phá hủy và bong vảy của biểu mô của ruột non. Theo Thai Swine Veterinary Association, (2015) thì virus PED xuất hiện cao nhất sau khi lợn bị nhiễm bệnh 4 - 5 ngày.

**Bảng 1. Thời gian sử dụng Auto-Vaccine PED trên lợn nái mang thai tuần thứ 13**

Số lợn theo dõi (con)	Thời gian có biểu hiện tiêu chảy (ngày)	Số lợn có biểu hiện tiêu chảy (con)	Tổng số thời gian (ngày)
60	1	0	0
	2	7	14
	3	27	81
	4	21	84
	5	4	20
	6	1	6
	7	0	0
Trung bình (ngày)			3,42 ± 0,85

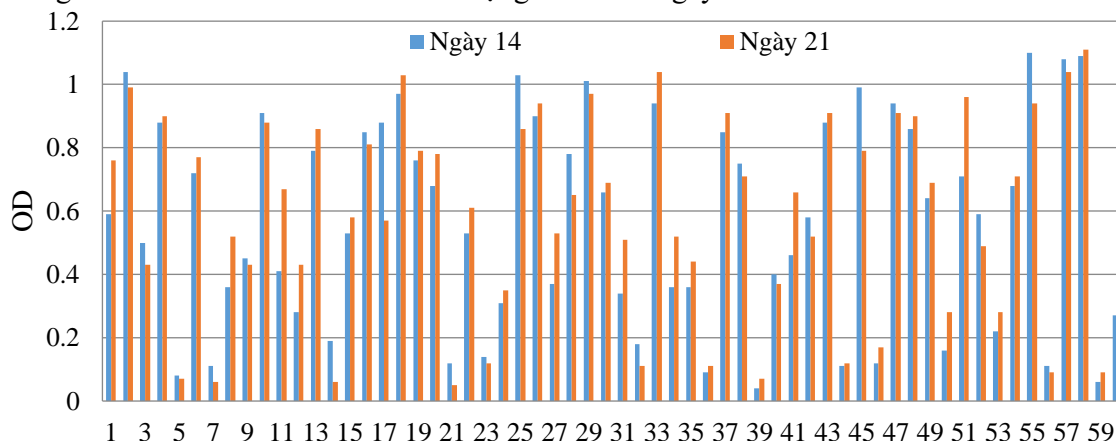
#### 3.2. Kết quả định lượng kháng thể trên lợn nái

Tiến hành lấy máu của lợn nái sau khi sử dụng Auto-Vaccine PED ngày thứ 14 và ngày thứ 21 để xác định kháng thể. Kết quả được thể hiện tại bảng 2 và hình 1.

**Bảng 2. Kết quả định lượng kháng thể PED trong huyết thanh lợn thí nghiệm**

Thời điểm lấy huyết thanh	Số lợn thí nghiệm (con)	Số lợn có kháng thể đạt ngưỡng bảo hộ (OD $\geq$ 0,21) (con)	Tỷ lệ bảo hộ (%)
Ngày thứ 14	60	47	78,33
Ngày thứ 21	60	48	80

Kết quả định lượng kháng thể PED qua Hình 1 cho thấy, 120 mẫu huyết thanh của lợn nái sau khi sử dụng Auto-Vaccine PED có biểu hiện lâm sàng có xuất hiện kháng thể. Ở 60 mẫu xét nghiệm ngày thứ 14 có 47/60 mẫu (78,33%) có chỉ số OD  $\geq$  Cut off (Cut off = 0,21), 21,67% số mẫu còn lại có chỉ số OD từ 0,08 - 0,20. Ở ngày thứ 21, số lợn nái có hàm lượng kháng thể đạt chỉ số OD  $\geq$  Cut off là 80%, các lợn nái còn lại còn lại (20%) có chỉ số OD từ 0,04 - 0,20. Theo kết quả nghiên cứu của Song *et al.*, (2007), khi cho lợn nái chữa ở tuần thứ 12 uống virus PED thì sau 2 tuần xuất hiện kháng thể và có chỉ số OD trung bình là 0,515. Chang *et al.*, (1999) đã ghi nhận kết quả phản ứng miễn dịch ELISA tăng lên ở lợn nái mang thai tuần thứ 11 - 12 sau khi sử dụng virus PED gây nhiễm.

**Hình 1. Lượng kháng thể ở lợn nái sau khi sử dụng Auto-Vaccine PED**

### 3.3. Khả năng bảo hộ lợn con sinh ra từ nái được sử dụng Auto-Vaccine PED

Theo dõi tình hình mắc dịch tiêu chảy cấp ở đàn lợn con được sinh ra từ 60 nái sử dụng Auto-Vaccine tại các trại ở 6 huyện của tỉnh Thanh Hoá, kết quả được thể hiện tại bảng 3 và bảng 4.

**Bảng 3. Kết quả phòng bệnh PED bằng Auto-Vaccine**

Địa điểm	Số đàn theo dõi	Số con theo dõi	Số con mắc (con)	Số con chết (con)	Tỷ lệ mắc (%)	Tỷ lệ chết (%)	Tỷ lệ tử vong (%)
Hoàng Hoá	11	131	12	4	9,16	3,05	33,33
Nghi Sơn	8	92	9	3	9,78	3,26	33,33
Nông Công	10	115	12	3	10,43	2,61	25,00
Như Thanh	8	88	9	2	10,23	2,27	22,22
Thạch Thành	13	143	14	4	9,79	2,80	28,57
Yên Định	10	116	12	3	10,34	2,59	25,00
Tổng	60	685	68	19			
Trung bình					9,93	2,77	27,94

**Bảng 4. Kết quả theo dõi khả năng bảo hộ của Auto-Vaccine trên ô**

Địa điểm	Số nái theo dõi	Số con mắc bệnh/sinh ra													$\frac{\sum \text{ô mắc bệnh}}{\sum \text{ô theo dõi}}$	Tỷ lệ các ô mắc bệnh (%)
		Ô 1	Ô 2	Ô 3	Ô 4	Ô 5	Ô 6	Ô 7	Ô 8	Ô 9	Ô 10	Ô 11	Ô 12	Ô 13		
Hoàng Hoá	11	5/14	0/9	0/14	0/11	0/15	0/14	0/7	0/12	0/11	0/12	7/12			2/11	18,18
Nghi Sơn	8	5/13	0/12	0/12	0/12	4/13	0/11	0/11	0/8						2/8	25,00
Nông Công	10	0/12	0/12	5/11	0/13	0/9	7/13	0/10	0/9	0/12	0/14				2/10	20,00
Như Thanh	8	0/10	0/11	0/12	0/8	0/10	4/12	5/13	0/12						2/8	25,00
Thạch Thành	13	0/9	0/13	4/10	0/12	5/12	0/9	0/12	0/11	0/12	0/9	0/12	5/12	0/10	3/13	23,08
Yên Định	10	0/11	5/12	0/13	0/9	0/10	0/12	0/11	0/13	0/12	7/13				2/10	20,00
Tổng	60														13/60	21,67

Kết quả tại bảng số liệu 3 và 4 cho thấy, sau khi tiến hành quy trình sử dụng Auto-Vaccine để phòng bệnh PED cho đàn lợn đã thu được kết quả khả quan, cả 3 chỉ tiêu: tỷ lệ mắc bệnh, tỷ lệ chết và tỷ lệ tử vong trên đàn lợn con theo mẹ đã giảm rõ rệt. Tỷ lệ mắc bệnh trung bình chỉ còn 9,93%, tỷ lệ chết là 2,77% và tỷ lệ tử vong là 27,94%, số ô mắc bệnh là 21,67%. Các chỉ số này ở đàn lợn chưa được sử dụng Auto-Vaccine là: tỷ lệ mắc bệnh trung bình là 22,01%, tỷ lệ chết là 15,99% và tỷ lệ tử vong là 72,63%[4]. Taiki et al., (2021) khi thử nghiệm phương pháp phòng bệnh bằng Auto-Vaccine trên đàn lợn tại Nhật Bản thì tỷ lệ ô mắc bệnh là 31%. Kết quả nghiên cứu của Song et al., (2015) cho biết, đàn lợn nái trong trang trại được ăn ruột chứa phân từ lợn con bị mắc bệnh PED trong 18 giờ sẽ kích thích miễn dịch niêm mạc ở ruột và đáp ứng nhanh sau khi gây nhiễm. Đặc biệt, đàn lợn được sinh ra từ các lợn nái này sẽ được bảo vệ trong giai đoạn đầu nhờ kháng thể thụ động được truyền từ mẹ sang con qua sữa. Theo Saif *et al.*, (2012), các kháng thể IgA đặc hiệu cho PEDV trong sữa non và sữa được tạo ra bởi tác động của các tế bào lympho B hoặc tế bào chất di chuyển từ GALT của ruột bị nhiễm PEDV đến tuyến vú và được gọi là là trực đường ruột - tuyến vú – IgA. Đây là miễn dịch thụ động quan trọng giúp lợn con chống lại sự xâm nhiễm của PEDV. Clement *et al.*, (2016) khẳng định sau khi sử dụng Auto-Vaccine thì các kháng thể trung hòa được phát hiện trong các mẫu huyết thanh lợn nái trong vòng 5 tuần, đồng thời kháng thể trung hòa cũng được phát hiện trong sữa của lợn nái sử dụng Auto-Vaccine.

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc phòng dịch tiêu chảy cấp PED cho đàn lợn con theo mẹ thông qua việc sử dụng Auto-Vaccine cho lợn nái mang thai ở tuần thứ 13 cho hiệu quả khả quan. 100% mẫu huyết thanh của đàn lợn nái sau 14 và 21 ngày sử dụng Auto-Vaccine có xuất hiện kháng thể PED, trong đó có 80,00% mẫu có khả năng bảo hộ. Đàn lợn con sinh ra từ những nái mang thai ở tuần thứ 13 được sử dụng Auto-Vaccine PED có tỷ lệ mắc bệnh, tỷ lệ chết và tỷ lệ tử vong trên đàn lợn con theo mẹ đã giảm rõ rệt so với đàn lợn không được sử dụng Auto-Vaccine PED.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Song D. & Park B. (2012), *Porcine epidemic diarrhea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines*, Virus Genes. 44: 167-175.
- [2] Huang Y.W., A.W. Dickerman, P. Piñeyro, L. Li, L. Fang, R. Kiehne, T. Opriessnig, X.J. Meng (2013), *Origin, evolution, and genotyping of emergent porcine epidemic diarrhea virus strains in the United States*, Journal of Microbiology & Biology Education, 4, e00737-00713.
- [3] Do Tien Duy, Nguyen Tat Toan, P. Suphasawatt, T. Roongroje (2011), *Genetic Characterization of Porcine Epidemic Diarrhea Virus (PEDV) Isolates from Southern Vietnam during 2009-2010 outbreaks*. Thai Journal of Veterinary Medicine; 41(1): 55-64.
- [4] Hoàng Văn Sơn, Phạm Ngọc Thạch, Nguyễn Thị Lan (2020), *Tình hình dịch tiêu chảy cấp (Porcine Epidemic Diarrhea - PED) và xác định kháng thể PED sau khi sử dụng phương pháp “Gut feedback” ở đàn lợn tại tỉnh Thanh Hoá*. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Tập 18, số 8-2020: 599-606.
- [5] Chao L.V., Xiao Y., Li X., Tian K. (2016), *Porcine epidemic diarrhea virus: current insights*, Virus Adaptation and Treatment, 8: 1-12.
- [6] Thai Swine Veterinary Association (2015), *Clinical Practice Guideline (CPG) for PED in Thailand: 1st Edition*, 27.
- [7] Sato T., Oroku K., Ohshima Y., Furuya Y. & Sasakawa C (2018), *Efficacy of genogroup 1 based porcine epidemic diarrhea live vaccine against genogroup 2 field strain in Japan*. Virology Journal. 2018; 15(1):28.
- [8] Hoàng Văn Sơn, Phạm Ngọc Thạch, Nguyễn Thị Lan (2019), *Triệu chứng lâm sàng và các chỉ tiêu sinh lý máu của lợn mắc dịch tiêu chảy cấp (Porcine Epidemic Diarrhea - PED) nuôi tại tỉnh Thanh Hoá*. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y, Tập 26, số 5-2019: 14-21.
- [9] Albert Rovira (2013), *Diagnosing Porcine Epidemic Diarrhea (PED) Virus*. University of Minnesota Veterinary Diagnostic Laboratory, St. Paul, MN|Jul 01, 2013
- [10] Zhang J., Wu Z., Yang H. (2019). *Aminopeptidase N knockout pigs are not resistant to porcine epidemic diarrhea virus infection*. Virol. Sin. 34(5): 592-595.

- [11] Song D.S., J.S. Oh, B.K. Kang, J.S. Yang, H.J. Moon, H.S. Yoo, Y.S. Jang, B.K. Park (2007). *Oral efficacy of Vero cell attenuated porcine epidemic diarrhea virus DR13 strain*. Research in Veterinary Science; 82(1): 134-140.
- [12] Chang H.K, Byung J. K., Jae G.L, Geon O.K, Yung B.K (1999). *Derivation of attenuated porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) as vaccine candidate*. Vaccine. 1999 Jun 4; 17(20): 2546-2553.
- [13] Taiki Y., Takeshi M., Haruya T., Satoshi S., Yosuke S., Masuo S., Kohei M. (2021), *Analysis of the effect of feedback feeding on the farm-level occurrence of porcine epidemic diarrhea in Kagoshima and Miyazaki Prefectures, Japan*, The Journal of Veterinary Medicine Science; 83(11): 1772-1781, Published online 2021 Oct 6. doi: 10.1292/jvms.21-0343
- [14] Song D., Moon H., Kang B. (2015), Porcine epidemic diarrhea: a review of current epidemiology and available vaccines, *Clinical and Experimental Vaccine Research*, 4(2):166-176. doi:10.7774/cevr.2015.4.2.166.
- [15] Saif L.J., Pensaert M.B., Sestak K., Yeo S.G., Jung K. (2012), *Coronaviruses Diseases of Swine (Tenth Ed.)*. Wiley-Blackwell, Iowa State University, Ames, IA, USA, 501-524.

## ASSESSING THE POSSIBILITY OF PORCINE EPIDEMIC DIARRHEA (PED) PREVENTION WITH AUTO-VACCINE IN THANH HOA PROVINCE

Hoang Van Son, Hoang Thi Bich, Le Thi Lam, Tong Minh Phuong

### ABSTRACT

*The study aimed to assess the protective ability of Auto-Vaccine PED in pig herds in Thanh Hoa province. Using ELISA technique to determine the presence of antibodies in the serum of 60 pregnant sows at 13 weeks after using Auto-Vaccine PED, and at the same time monitoring the health of the piglets together with their mother pigs. Research results show that: After using Auto-Vaccine PED, 100% of serum samples contained antibodies with OD values from 0.05 - 1.04. At 14 days after Auto-Vaccine PED, 78.33% of samples and at 21 days 80.00% of samples were with positive antibody content (Cut off = 0.21). Results of monitoring piglets born from the sows that have received Auto-Vaccine PED show that the average disease rate is 9.93%, mortality rate is 2.77%, fatality rate is 27.94%, the number of infected herds is 21.67%.*

**Keywords:** Porcine Epidemic Diarrhea (PED), Auto-Vaccine, antibody, Thanh Hoa.

\* Ngày nộp bài: 29/6/2023; Ngày gửi phản biện: 6/7/2023; Ngày duyệt đăng: 4/10/2024