

# XÁC ĐỊNH MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM BỆNH LÝ CỦA LỢN MẮC DỊCH TIÊU CHẢY CẤP DO *PORCINE EPIDEMIC DIARRHEA VIRUS* (PEDV) GÂY RA TRÊN LỢN CON THEO MẸ TẠI CÁC VÙNG SINH THÁI Ở TỈNH THANH HÓA

**Lương Trọng Thắng<sup>1</sup>, Vũ Đức Việt<sup>1\*</sup>, Đặng Lan Anh<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Trường Đại học Nông Lâm Bắc Giang;

<sup>2</sup>Trường Cao đẳng Nông Lâm Thanh Hóa.

\*Tác giả liên hệ: vuducviet1962@gmail.com

*Nhận bài:* 12/11/2019

*Hoàn thành phản biện:* 11/02/2020

*Chấp nhận bài:* 17/04/2020

## TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm xác định sự có mặt của virus PEDV gây bệnh trên đàn lợn con theo mẹ từ đó xác định các đặc điểm bệnh lý của dịch tiêu chảy cấp tại một số địa phương của tỉnh Thanh Hóa. Sáu mươi lợn con theo mẹ từ 1 đến 4 tuần tuổi nghi mắc dịch tiêu chảy cấp tại các trang trại thuộc bốn huyện ở tỉnh Thanh Hóa được thu mẫu để kiểm tra sự có mặt của PEDV bằng phương pháp RT-PCR. Kết quả cho thấy tỷ lệ dương tính với PEDV rất cao: ở mẫu ruột và hạch màng treo ruột là 76,67%, ở mẫu phân là 51,67%. Hồi cứu kết quả RT-PCR để xác định triệu chứng lâm sàng chủ yếu của lợn mắc tiêu chảy cấp cho thấy: lợn tiêu chảy phân lỏng, màu vàng hoặc xám, ủ rũ mệt mỏi, nằm dõn dõng hoặc nằm trên bụng mẹ (100%); lợn gầy sút nhanh (82,60%), uống nhiều nước (60,86%) và thân nhiệt giảm (54,34%); một số con có biểu hiện nôn (54,34%). Các bệnh tích đại thể chủ yếu là xác lợn chết khô gầy, da nhăn, phân màu vàng dính kết ở hậu môn (100%), dạ dày căng phồng, chứa sữa chưa tiêu hoá, chất chứa màu vàng lợn cợn và nhiều bọt, thành ruột mỏng (100%), các cơ quan nội tạng như hạch màng treo ruột xuất huyết (73,91%), gan sưng (58,69%), túi mật căng to (65,21%), phổi sung tụ huyết (71,74%), lách sung xung huyết (63,04%).

**Từ khóa:** Kỹ thuật RT-PCR, Lợn con theo mẹ, PEDV, Tiêu chảy cấp

## DETERMINING PATHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PIGLETS INFECTED WITH *PORCINE EPIDEMIC DIARRHEA VIRUS* (PEDV) IN THANH HOA PROVINCE

**Luong Trong Thang<sup>1</sup>, Vu Duc Viet<sup>1</sup>, Dang Lan Anh<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Bac Giang University of Agriculture and Forestry;

<sup>2</sup>Thanh Hoa College of Agriculture and Forestry.

## ABSTRACT

The study was conducted to determine the presence of PEDV virus in piglets, thereby determining the pathological characteristics of piglets infected with PEDV in some localities of Thanh Hoa province. Sixty piglets from 1 to 4 week old were suspected to have infected with PEDV in Thanh Hoa province. The RT-PCR was used to confirm porcine epidemic diarrhea virus. The research results showed that the proportion of positive samples were high such as 76.67% was in small intestine and mesenteric lymph node and 51.67% was in fecal samples. The main clinical signs of PED included weakness, depression, and loose, fishy and yellow diarrhea; huddling together, laying on the sow (100%), losing weight rapidly (82.60%), drinking plenty of water (60.86%) and hypothermia (54.34%). The autopsies showed skinny dead carcasses, wrinkled skin, and loose, fishy, and yellow diarrhea, sticky anus (100%); stomach containing curd and undigested food (100%), thinness of the wall of small intestine and watery yellow translucent content in small intestine (100.0%), internal organs such as hyperemia and hemorrhage of mesenteric lymph nodes (73.91%), swollen liver (58.69%), gallbladder enlargement (65.21%), pneumonia (71.74%) and splenic congestion (63.04%).

**Keywords:** Diarrhea, PEDV, Piglet, RT-PCR technology

## 1. MỞ ĐẦU

Dịch tiêu chảy cấp trên lợn hay còn gọi là PED (*Porcine Epidemic Diarrhea*) do một loại virus thuộc họ *Coronavirus* gây ra. Đây là bệnh truyền nhiễm có tốc độ lây lan nhanh và gây thiệt hại lớn cho chăn nuôi lợn sinh sản với tỷ lệ chết cao, có thể lên đến 100% (Nguyễn Thị Thơm và cs., 2018). Ở Việt Nam, bệnh được công bố lần đầu tiên tại một số tỉnh phía Nam cuối năm 2008, đầu năm 2009 (Do Tien Duy và cs., 2011; Nguyễn Tất Toàn và cs., 2012). Sau đó, lây lan nhanh ra khắp cả nước gây thiệt hại lớn cho ngành chăn nuôi lợn. Việc phân lập và xác định các đặc điểm sinh học của các chủng PEDV lưu hành trên thế giới và ở Việt Nam đã được tiến hành bằng nhiều phương pháp khác nhau nhằm nghiên cứu sản xuất ra vaccine phòng bệnh (Kusanagi và cs., 1992; Chung và cs., 2015; Nguyễn Trung Tiến và cs., 2015; Nguyễn Tất Toàn và cs., 2012; Nguyễn Thị Hoa và cs., 2018; Nguyễn Thị Thơm và cs., 2018).

Tại Thanh Hóa, những thiệt hại do dịch tiêu chảy cấp gây ra đã được ghi nhận tại các huyện có tổng đàn lợn lớn như Yên Định, Hoằng Hóa, Vĩnh Lộc, Nông Công. Tuy nhiên, chủ yếu xác định dựa trên các triệu chứng lâm sàng của hội chứng tiêu chảy nói chung mà chưa có nghiên cứu nào xác định chính xác sự có mặt của virus *Porcine Epidemic Diarrhea* (PEDV) gây bệnh trên đàn lợn.

Mục tiêu của nghiên cứu là áp dụng kỹ thuật RT-PCR để xác định sự có mặt của PEDV gây bệnh trên đàn lợn con theo mẹ từ đó xác định các đặc điểm bệnh lý của dịch tiêu chảy cấp tại một số địa phương của tỉnh Thanh Hóa.

## 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Mẫu bệnh phẩm

Sáu mươi lợn con theo mẹ từ 1 đến 4 tuần tuổi nghi mắc dịch tiêu chảy cấp tại các trang trại ở các vùng sinh thái thuộc 4 huyện Yên Định, Như Thanh, Nông Công và Hoằng Hoá, tỉnh Thanh Hóa được sử

dụng để nghiên cứu (Bảng 1); thu thập 5 mẫu từ 5 con ở mỗi trang trại. Mẫu sử dụng cho phản ứng RT-PCR được lấy ở ba đoạn của ruột non gồm tá tràng, không tràng và hồi tràng (mỗi đoạn 1-1,5 cm). Đồng thời, hạch màng treo ruột của lợn bệnh cũng được lấy để kiểm tra. Ngoài ra, mẫu phân được lấy bằng cách dùng tăm bông ngoáy vào hậu môn lợn bị tiêu chảy bảo quản trong ống Eppendorf có chứa PBS. Mẫu được bảo quản trong hộp đá (4-6°C) trong quá trình vận chuyển và lưu trữ ở tủ lạnh -20°C tại phòng thí nghiệm.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp xác định sự có mặt của virus PED ở lợn có biểu hiện tiêu chảy, chưa được tiêm vaccin phòng PED bằng RT-PCR. Ruột non, hạch màng treo ruột và phân được đồng nhất hóa (nghiền ruột, hạch hoặc khuấy phân) và pha loãng với dung dịch đệm thành huyền dịch. RNA được chiết tách bằng bộ kit QIAamp Viral RNA Minikit (hãng Qiagen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Cặp mồi đặc hiệu được thiết kế để khuếch đại một phần gen S, là kháng nguyên trên bề mặt virus với các vùng quyết định kháng nguyên kích thích tạo kháng thể trung hòa của vật chủ trong tự nhiên (Chang và cs., 2002). Cặp mồi được sử dụng gồm mồi xuôi: 5'-TTCTGAGTCACGAACAGCCA-3' và mồi ngược 5'-CATATGCAGCCTGCTCTGAA-3' nhằm khuếch đại một đoạn gen của virus. Sản phẩm khuếch đại có kích thước 715 bp (Park và cs., 2007). Đây cũng là cặp mồi được sử dụng phổ biến trong chẩn đoán PEDV trên lợn hiện nay.

- Phương pháp chẩn đoán các biểu hiện lâm sàng được theo dõi bằng phương pháp quan sát qua camera gắn trong chuồng. Theo dõi các biểu hiện, hành vi của lợn như: uống nhiều nước, nằm đờn đờng, phân lỏng, màu vàng hoặc xám. Lợn được đánh số tai trong quá trình theo dõi thí nghiệm. Triệu chứng lâm sàng của lợn dương tính với phản ứng RT-PCR được xác định là các triệu chứng của PED.

Những lợn này sau đó được mổ khám đánh giá bệnh tích đại thể.

- Phương pháp mổ khám bệnh tích đại thể. Sau khi thực hiện phản ứng RT-PCR và có kết quả, chúng tôi hồi cứu, tổng

hợp lại những triệu chứng lâm sàng chủ yếu đã được ghi chép từ trước. Lợn được mổ khám theo TCVN 8402:2010 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2010).

**Bảng 1.** Hồ sơ các mẫu lợn mắc tiêu chảy tại các huyện nghiên cứu

Yên Định		Nông Cống		Hoàng Hóa		Nhu Thanh	
Tên xã	Số mẫu	Tên xã	Số mẫu	Tên xã	Số mẫu	Tên xã	Số mẫu
Định Long	5	Tê Thắng	5	Hoàng Hải	5	Mậu Lâm	5
Định Tường	5	Tân Phúc	5	Hoàng Minh	5	Cán Khê	5
Quý Lộc	5	Minh Khôi	5	Hoàng Quang	5	Phượng Nghi	5
<b>Tổng</b>	<b>15</b>	<b>Tổng</b>	<b>15</b>	<b>Tổng</b>	<b>15</b>	<b>Tổng</b>	<b>15</b>

Tất cả lợn được lấy mẫu đều chưa được tiêm phòng PED

**2.3. Xử lý số liệu**

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và phần mềm thống kê EpiTools Epidemiological Calculators (Ausvet, Australia).

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Chẩn đoán gen của virus gây bệnh PED bằng phương pháp RT-PCR**

Kết quả phản ứng RT-PCR để xác định sự có mặt gen của virus PED (PEDV) trên các mẫu thí nghiệm được thể hiện trong Bảng 2. Kết quả cho thấy: các mẫu nghiên cứu cho kết quả dương tính với PEDV rất cao, ở mẫu ruột và hạch màng treo ruột là 76,67% (66,67-86,67%), trong khi ở mẫu phân sự có mặt của PEDV thấp hơn là 51,67% (46,67-60,00%).

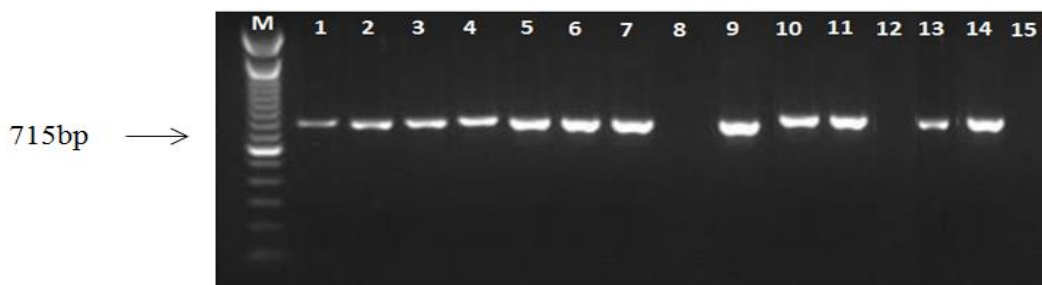
**Bảng 2.** Kết quả phản ứng RT-PCR chẩn đoán gen của virus gây bệnh PED của lợn tại Thanh Hóa

Địa điểm	Số mẫu (n)	Mẫu	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Yên Định	15	Ruột	12	80,00
		Phân	8	53,33
		Hạch màng treo ruột	12	80,00
Nông Cống	15	Ruột	11	73,33
		Phân	9	60,00
		Hạch màng treo ruột	11	73,33
Hoàng Hóa	15	Ruột	13	86,67
		Phân	7	46,67
		Hạch màng treo ruột	13	86,67
Nhu Thanh	15	Ruột	10	66,67
		Phân	7	46,67
		Hạch màng treo ruột	10	66,67
Tổng hợp	60	Ruột	46	76,67
		Phân	31	51,67
		Hạch màng treo ruột	46	76,67

Kết quả này tương đương với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Thơm và cs. (2018) trên lợn rừng ở Hà Giang. Các tác giả cho biết: tỷ lệ dương tính với PEDV ở ruột và hạch màng treo ruột là 74,3% và ở phân là 54,3%. Khi so sánh với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Tất Toàn (2012) về chẩn đoán PED trên lợn Landrace nuôi tại các tỉnh Đông Nam Bộ cho thấy tỷ lệ dương tính với mẫu ruột là 58,14% và ở mẫu phân là 16,96% thì kết quả nghiên cứu này cao hơn. Theo Nguyễn

Văn Điệp (2014), tỷ lệ nhiễm PEDV trên lợn Landrace nuôi ở một số tỉnh phía Bắc là 83,9%, cao hơn so với kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Mặt khác, tỷ lệ dương tính với PEDV có sự khác nhau ở các địa phương nghiên cứu trong tỉnh Thanh Hóa. Tỷ lệ dương tính với PEDV cao nhất ở huyện Hoàng Hóa (đồng bằng) với tỷ lệ nhiễm là 86,67% và thấp nhất ở huyện Nhu Thanh (miền núi) là 66,67%.



**Hình 1.** Kết quả điện di kiểm tra sự có mặt của PEDV trên mẫu ruột thu được từ huyện Yên Định

Như vậy, từ kết quả trên có thể thấy: tỷ lệ nhiễm PEDV tại một số huyện của tỉnh Thanh Hóa là rất cao, tập trung chủ yếu ở các địa phương có quy mô chăn nuôi lớn nên việc thực hiện các biện pháp phòng bệnh là rất cần thiết để tránh gây thiệt hại lớn cho người chăn nuôi.

### 3.2. Xác định các triệu chứng lâm sàng chủ yếu

Các triệu chứng lâm sàng của lợn dương tính với PEDV được thể hiện ở Bảng 3 với các biểu hiện điển hình là tiêu chảy với phân lỏng màu vàng hoặc xám, ủ rũ mệt mỏi, nằm dòn đống hoặc nằm trên bụng mẹ để ổn định thân nhiệt (100%); do lợn tiêu chảy mất nước nên lợn gầy sút nhanh (82%), uống nhiều nước (60,86%) và thân nhiệt giảm (54,34%); một số con có biểu hiện nôn (54,34%).

**Bảng 3.** Triệu chứng lâm sàng chủ yếu của lợn nuôi dương tính với PEDV (n = 46)

Triệu chứng	Số lợn biểu hiện (con)	Tỷ lệ(%)
Tiêu chảy phân lỏng màu vàng xám	46	100,00
Ủ rũ, mệt mỏi	46	100,00
Gầy sút	38	82,60
Nằm trên bụng mẹ, nằm dòn đống	46	100,00
Nôn	20	43,47
Thân nhiệt giảm	25	54,34
Uống nhiều nước	28	60,86

Theo Chu Đức Thắng và cs. (2011), lợn mắc viêm ruột tiêu chảy cũng có biểu hiện đặc trưng: lợn gầy sút, mệt mỏi, ủ rũ, bỏ ăn, uống nhiều nước và nằm dòn đống; Phân có thể màu xám, hoặc xám vàng; Do đó, cần tiến hành mổ khám bệnh tích đại thể của lợn mắc bệnh để phân biệt rõ hơn bệnh tiêu chảy do PEDV hay là tiêu chảy do các nguyên nhân khác.

Theo Nguyễn Thị Thơm và cs. (2018), các triệu chứng lâm sàng chủ yếu của lợn rừng dương tính với PDEV là ủ rũ mệt mỏi, phân lỏng, tanh có màu vàng (100%); nằm dòn đống, nằm trên bụng mẹ (76,9%), uống nhiều nước (69,2%), thân nhiệt giảm (53,8%), nôn mửa (46,2%). Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Tất Toàn và cs. (2012) trên lợn Landrace nuôi ở miền Đông Nam Bộ cho thấy: khi lợn mắc PEDV lợn bị tiêu chảy, mất nước nặng và chết nhanh. Lợn mắc PEDV mất nhiều nước nên lợn gầy sút rất nhanh, lợn con một tuần tuổi có thể chết sau 2-3 ngày mắc bệnh, tỷ lệ chết trung bình khoảng 50%, thậm chí 90% do rối loạn chuyển hóa các chất trong cơ thể, khả năng tiêu hóa và hấp thu kém (Pensaer, 1992).

### 3.3. Bệnh tích đại thể của lợn bệnh

Do lợn bị mất nước nhiều nên xác lợn chết khô gầy, da nhăn nheo, phân màu vàng dính bết ở hậu môn (100%), khả năng tiêu hóa giảm do rối loạn chuyển hóa các chất nên dạ dày căng phồng, chứa sữa chưa tiêu, chất chứa màu vàng lợn cợn và nhiều bọt, thành ruột mỏng (100%). Mặt khác, sự thoái hóa và hoại tử các lớp tế bào biểu mô thành ruột nên thành ruột mỏng (100%). Đây chính là

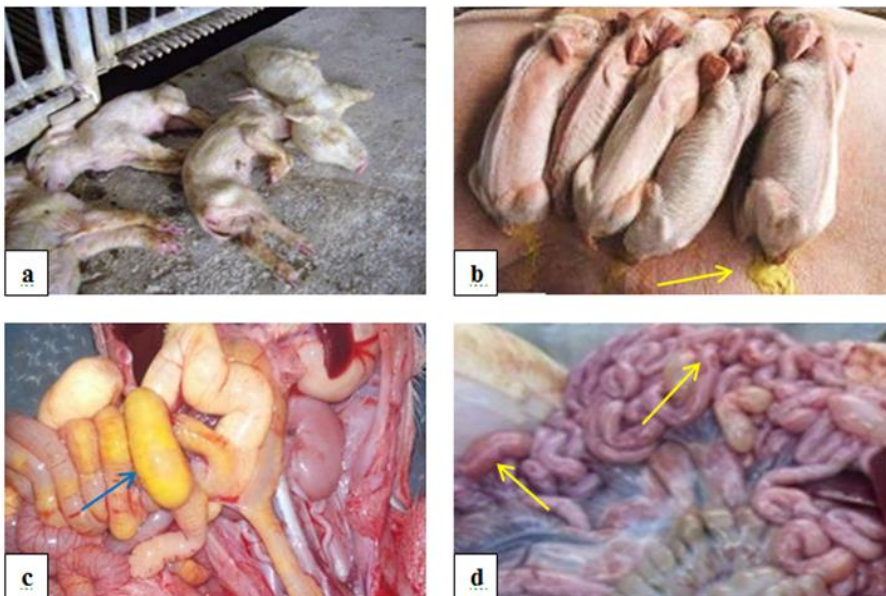
những biểu hiện bệnh tích điển hình nhất của lợn mắc tiêu chảy do PEDV (Sueyoshi và cs., 1995; Nguyễn Thị Thơm và cs., 2018).

**Bảng 4.** Kết quả xác định bệnh tích đại thể của lợn mắc bệnh PED (n = 46)

Bệnh tích	Số lợn biểu hiện (con)	Tỷ lệ(%)
Xác gầy, da khô, nhẵn nheo	46	100,00
Dạ dày căng phồng, chứa sữa chưa tiêu	46	100,00
Ruột non căng phồng, xuất huyết, sung huyết, thành ruột mỏng, chất chứa màu vàng lợn cợn và nhiều bọt	46	100,00
Hạch màng treo ruột xuất huyết	34	73,91
Gan sưng	27	58,69
Túi mật căng to	30	65,21
Hậu môn dính bết phân màu vàng	46	100,00
Phổi sưng, tụ huyết, có bọt ở phế quản	33	71,74
Lách sưng, sung huyết	29	63,04

Các cơ quan nội tạng như hạch màng treo ruột xuất huyết (73,91%), gan sưng (58,69%), túi mật căng to (65,21%), phổi sưng tụ huyết (71,74%), lách sưng,

sung huyết (63,04%). Đây chính là các biểu hiện bệnh tích của các bệnh lý do tiêu chảy mất nước (Bảng 4).



**Hình 2.** a. Lợn con mắc bệnh PED xác chết gầy; b. Nằm trên bụng mẹ, phân màu vàng dính bết vào hậu môn; c. Ruột căng phồng chứa sữa chưa tiêu; d. Ruột xung huyết, xuất huyết

**4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ**

Kết quả kiểm tra sự hiện diện của virus gây bệnh PED trên các lợn có biểu hiện triệu chứng lâm sàng ở các vùng sinh thái trong tỉnh Thanh Hóa cao, ở mẫu ruột và hạch màng treo ruột là 76,67%, ở mẫu phân là 51,67%.

Triệu chứng lâm sàng chủ yếu của lợn mắc PED là tiêu chảy phân lỏng màu vàng hoặc xám, ủ rũ mệt mỏi, nằm đờn

đờn hoặc nằm trên bụng mẹ (100%); lợn gầy sút nhanh (82,60%), uống nhiều nước (60,86%) và thân nhiệt giảm (54,34%); một số con có biểu hiện nôn (54,34%).

Các bệnh tích đại thể chủ yếu là xác lợn chết khô gầy, da nhẵn nheo, phân màu vàng dính bết ở hậu môn (100%), dạ dày căng phồng, chứa sữa chưa tiêu, chất chứa màu vàng lợn cợn và nhiều bọt, thành ruột mỏng (100%), các cơ quan nội tạng như

hạch màng treo ruột xuất huyết (73,91%), gan sưng (58,69%), túi mật căng to (65,21%), phổi sưng tụ huyết (71,74%), lách sưng sưng huyết (63,04%).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### 1. Tài liệu tiếng Việt

- Bộ Khoa học và Công nghệ. (2010). Tiêu chuẩn TCVN 8402:2010 - Bệnh động vật, Quy trình mô khám, ban hành theo quyết định 2339/QĐ-BKHCN. Khai thác từ <https://vanbanphapluat.co/tcvn-8402-2010-benh-dong-vat-quy-trinh-mo-kham>
- Chu Đức Thắng, Nguyễn Văn Minh và Đinh Phương Nam. (2011). Theo dõi một số chỉ tiêu lâm sàng, sinh lý máu trong bệnh viêm ruột cấp và mãn tính ở lợn con sau cai sữa. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, 3, 61-66.
- 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.
- Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn Thị Lan, Trương Quang Lâm, Trịnh Đình Thâu và Ngô Thị Hạnh. (2018). Nghiên cứu phân lập và xác định một số đặc điểm sinh học của virus PED (*Porcine Epidemic Diarrhea Virus*). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 16(3), 257-267.
- Nguyễn Thị Thom, Nguyễn Vũ Sơn, Phạm Hồng Ngân, Nguyễn Hữu Nam. (2018). Một số đặc điểm bệnh lý của lợn rừng nuôi mắc dịch tiêu chảy cấp do virus PED (*Porcine Epidemic Diarrhea*). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 16(3), 223-231.
- Nguyễn Trung Tiến, Vũ Thị Thu Hằng, Huỳnh Thị Mỹ Lê, Nguyễn Bá Hiên, 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(7), 1089 – 1100.
- Nguyễn Văn Điệp, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Thị Hoa và Yamaguchi. (2014). Một số đặc điểm dịch tễ và bệnh lý của bệnh tiêu chảy

thành dịch trên lợn ở một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, 21(2), 43-55.

### 2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Chang, S. H., Bae, J. L., Kang, T. J., Kim, J., Chung, G. H., Lim, C.W., Laude, H., Yang, M. S., & Jang, Y. S. (2002). Identification of the epitope region capable of inducing neutralizing antibodies against the porcine epidemic diarrhea virus. *Molecules and Cells*, 14(3), 295-299.
- Chung, H. C., Van Giap Nguyen., Lee. H. J. M., Park. J.H., Lee. S.J., Kim. G. E., Noh. H. K., Lee. Y. S., Goede. C. H., & Park, B.K. (2015). Isolation of porcine epidemic diarrhea virus during outbreaks in South Korea, 2013-2014. *Emerging infectious diseases*, 21, 2238.
- Do Tien Duy, Nguyen Tat Toan, Suphasawatt Puranaveja, Roongroje Thanawongnuwech. (2011). Genetic Characterization of Porcine Epidemic Diarrhea Virus (PEDV) isolates from southern Vietnam during 2009 - 2010 outbreaks. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 41(2), 55-64.
- Kusanagi, K. I., Kuwahara. H., Katoh. T., Nunoya. T., Ishikawa. Y., Samejima. T., & Tajima. M. (1992). Isolation and serial propagation of porcine epidemic diarrhea virus in cell cultures and partial characterization of the isolate. *Journal of Veterinary Medical Science*, 54, 313-318.
- Park, S. J., Moon, H. J., Yang, J. S., Lee, C.S., Song, D. S., Kang, B. K., & Park, B. K. (2007). Sequence analysis of the partial spike glycoprotein gene of porcine epidemic diarrhea viruses isolated in Korea. *Virus genes*, 35, 321-332.
- Pensaert M. B. (1992). *Porcine Epidemic Diarrhea. Diseases of Swine*. Iowa: State University Press, Ames.
- Sueyoshi, M., Tsuda. T., Yamazaki. K., Yoshida. K., Nakazawa. M., Sato. K., Minami. T., Iwashita. K., Wantanabe. M., & Suzuki. Y. (1995). An immunohistochemical investigation of porcine epidemic diarrhoea. *Journal of comparative Pathology*, 113(1), 59-67.