

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ MÔI TRƯỜNG

VIỆN THÚ Y



DƯƠNG NHƯ NGỌC

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM LƯU HÀNH, SINH HỌC PHÂN TỬ
MỘT SỐ LOÀI KÝ SINH TRÙNG ĐƯỜNG MÁU Ở TRÂU, BÒ,
DÊ, NGỰA TẠI BA TỈNH PHÍA BẮC VÀ ĐỀ XUẤT BIỆN PHÁP
PHÒNG BỆNH**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ THÚ Y

HÀ NỘI – 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi và một số thành viên khác, các thành viên này đã đồng ý cho tôi sử dụng các kết quả trong luận án này. Các kết quả nghiên cứu trong luận án này là hoàn toàn trung thực và chưa được công bố trong bất kỳ một luận án nào khác. Mọi thông tin trích dẫn trong luận án đều đã được chỉ rõ nguồn gốc.

Tôi xin cam đoan mọi sự giúp đỡ cho việc thực hiện đề tài nghiên cứu và hoàn thành luận án đều đã được cảm ơn.

TÁC GIẢ



Dương Như Ngọc

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận án này, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:

- **TS. Đào Thị Hà Thanh:** Nghiên cứu viên chính - Bộ môn Ký sinh trùng, Viện Thú Y là người cô, người chị, người đồng nghiệp rất tâm huyết đã tận tình trực tiếp hướng dẫn, định hướng nghiên cứu, đã tạo điều kiện tối đa và truyền dạy kiến thức, kinh nghiệm, động viên và giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- **TS. Nguyễn Thị Bích Thủy:** phó Viện trưởng Viện Thú Y là người cô, người chị đã tận tình chỉ dạy và đồng hướng dẫn khoa học tôi trong thời gian học tập và nghiên cứu.

- Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới lãnh đạo Bộ môn và các anh/chị đồng nghiệp Bộ môn Ký sinh trùng, Viện Thú Y đã nhiệt tình và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi hoàn thành luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn:

- Ban lãnh đạo Viện Thú Y, Phòng Khoa học, Đào tạo và Hợp tác quốc tế - Viện Thú Y cùng các quý thầy, cô đã giảng dạy, giúp đỡ và tạo điều kiện để tôi học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Nhiệm vụ Nghị định thư “**Nghiên cứu dịch tễ học liên quan đến biến đổi khí hậu đối với một số bệnh ký sinh trùng đường máu mới nổi trên động vật nhai lại và ngựa tại miền Bắc Việt Nam**”, mã số: NĐT/HU/22/02 do TS. Đào Thị Hà Thanh làm chủ nhiệm nhiệm vụ cùng các thành viên tham gia thực hiện đề tài đã cho phép tôi thực hiện và sử dụng dữ liệu để phục vụ cho luận án của mình.

Tôi xin cảm ơn các đồng nghiệp đã đóng góp ý kiến và giúp đỡ tôi hoàn thành luận án.

Tôi xin cảm ơn sự ủng hộ, động viên của gia đình, người thân, bạn bè trong suốt thời gian nghiên cứu và thực hiện luận án.

Xin trân trọng cảm ơn./.

Hà Nội, ngày 02 tháng 12 năm 2025

NGHIÊN CỨU SINH

Dương Như Ngọc

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	vii
DANH MỤC BẢNG	viii
DANH MỤC CÁC HÌNH	xi
TRÍCH YẾU LUẬN ÁN	xiii
THÔNG TIN TÓM TẮT NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN ...	xvii
MỞ ĐẦU	1
1. Tính cấp thiết của luận án.....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu.....	3
3. Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của luận án	3
3.1. Ý nghĩa khoa học	3
3.2. Ý nghĩa thực tiễn	4
4. Những đóng góp mới của luận án.....	4
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	5
1.1. Một số đặc điểm hình thái và dịch tễ học của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp.....	5
1.1.1. Một số đặc điểm hình thái của các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp.	5
1.1.2. Vòng đời của các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp., <i>Theileria</i> spp.....	7
1.1.3. Một số đặc điểm dịch tễ của các bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp.....	11
1.1.4. Một số đặc điểm dịch tễ học của ve	16
1.2. Đặc điểm sinh học phân tử của loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp.	18
1.2.1. Đặc điểm sinh học phân tử của loài <i>Anaplasma</i> spp.	18
1.2.2. Đặc điểm sinh học phân tử của loài <i>Babesia</i> spp.	19
1.2.3. Đặc điểm sinh học phân tử của loài <i>Theileria</i> spp.....	21
1.3. Phương pháp chẩn đoán bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp.....	23

1.4. Một số biện pháp phòng bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp.....	25
1.4.1. Phòng bệnh bằng vaccine	25
1.4.2. Phòng bệnh bằng phương pháp kiểm soát và tiêu diệt véc tơ truyền bệnh	26
1.4.3. Quản lý động vật nhập khẩu	27
1.4.4. Phương pháp tiếp cận Một sức khỏe.....	28
1.5. Tình hình nghiên cứu bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. trên thế giới	28
1.6. Tình hình nghiên cứu bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở Việt Nam	32
1.7. Điều kiện tự nhiên của TP. Hà Nội, tỉnh Thái Nguyên, tỉnh Sơn La.....	38
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	41
2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu	41
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	41
2.1.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	41
2.2. Nội dung nghiên cứu.....	41
2.2.1. Nghiên cứu xác định đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc	41
2.2.2. Nghiên cứu xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu và đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp.....	41
2.3. Vật liệu nghiên cứu.....	41
2.4. Phương pháp nghiên cứu	42
2.4.1. Phương pháp nghiên cứu xác định đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc	42
2.4.1.1. Phương pháp xác định sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa theo mùa (xuân, hè, thu, đông)	46

2.4.1.2. Phương pháp nghiên cứu xác định một số đặc điểm sinh học phân tử của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa	53
2.4.2. Phương pháp xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu và đề xuất biện pháp phòng bệnh.....	57
2.4.2.1. Phương pháp xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu.....	57
2.4.2.2. Phương pháp xây dựng đề xuất biện pháp phòng bệnh	58
2.4.3. Phương pháp xử lý số liệu.....	58
2.4.4. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu của luận án	58
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	60
3.1. Nghiên cứu xác định đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc	60
3.1.1. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa theo mùa (xuân, hè, thu, đông)	60
3.1.1.1. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa xuân	60
3.1.1.2. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa hè	66
3.1.1.3. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa thu	73
3.1.1.4. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông	80
3.1.1.5. So sánh tỷ lệ lưu hành của các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa theo mùa	87
3.1.2. Xác định một số đặc điểm sinh học phân tử của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa	99
3.1.2.1. Kết quả định danh các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp., <i>Theileria</i> spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa	99

3.1.2.2. Kết quả xác định đặc điểm gen 16S rDNA hoặc 18S rDNA của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. và vùng ITS2 của <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa	104
3.1.2.3. Kết quả xây dựng và phân tích phả hệ các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp., <i>Theileria</i> spp.....	113
3.2. Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu và đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp	122
3.2.1. Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu	122
3.2.1.1. Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài <i>Anaplasma</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa.....	122
3.2.1.2. Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài <i>Babesia</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa	126
3.2.1.3. Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa	129
3.2.2. Đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp cho 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La).....	133
4.1. Kết luận	141
4.2. Kiến nghị	142
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	145
Phụ lục 1. Bảng câu hỏi thu thập thông tin	170
Phụ lục 2. Kỹ thuật chiết tách DNA tổng số.....	171
Phụ lục 3. Kỹ thuật tinh sạch sản phẩm PCR.....	173
Phụ lục 4. Danh sách định danh các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp.....	174
Phụ lục 5. Danh sách các chuỗi gen tham chiếu trên Genbank.....	180
Phụ lục 6. Hình ảnh chỉnh sửa các chuỗi gen	183
Phụ lục 7. Một số hình ảnh minh họa	187

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

16S rDNA	small-subunit ribosomal deoxyribonucleic acid
18S rDNA	small-subunit ribosomal deoxyribonucleic acid
APHIS - USDA	The Animal and Plant Health Inspection Service - United States Department of Agriculture
CDC	Coding Sequence
CI	Confident Interval - Độ tin cậy
DMSO	Dimethyl Sulfoxide
ECF	East Coast Fever - Bệnh sốt Bờ Đông
EDTA	Axit ethylenediaminetetraacetic - chất chống đông
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay - Phương pháp phép thử miễn dịch liên kết enzym
IFAT	Indirect Fluorescent Antibody Test - Phương pháp kháng thể huỳnh quang gián tiếp
ITS2	Internal Transcript Spacer 2
Mbp	Megabase
MSAs	Merozoite surface antigens
MPSP	Major Piroplasma Surface Protein - Protein bề mặt
NCBI	National Center for Biotechnology Information - Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia
NGS	Next Gene Sequencing
nPCR	Nested Polymerase Chain Reaction
OR	Odd Ratios - Tỉ số chênh
<i>R. (B) microplus</i>	<i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>
TLTK	Tài liệu tham khảo
TP	Thành phố
WOAH	World Organisation for Animal Health - Tổ chức Thú y Thế giới
μ L	Microlitter

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Một số đặc điểm bộ gen của loài <i>Anaplasma</i> spp.	18
Bảng 1.2. Một số nghiên cứu về sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. trên trâu, bò, dê và ngựa.....	30
Bảng 1.3. Một số loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. đã được định danh trên các loài vật nuôi ở Việt Nam	36
Bảng 2.1. Vị trí địa lý (GPS) địa điểm lấy mẫu	44
Bảng 2.2. Chi tiết số lượng mẫu máu trâu, bò, dê và ngựa được thu thập tại ba tỉnh/TP miền Bắc, Việt Nam	46
Bảng 2.3. Số lượng mẫu máu đã thu thập vào mùa xuân	47
Bảng 2.4. Số lượng mẫu máu đã thu thập vào mùa hè	47
Bảng 2.5. Số lượng mẫu máu đã thu thập vào mùa thu.....	48
Bảng 2.6. Số lượng mẫu máu được lấy vào mùa đông.....	48
Bảng 2.7. Tên môi, trình tự môi và độ dài sản phẩm để xác định các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp.	50
Bảng 2.8. Thành phần hỗn hợp của phản ứng nPCR.....	51
Bảng 2.9. Chu trình nhiệt phản ứng nPCR.....	51
Bảng 2.10. Môi và trình tự môi của phản ứng nested PCR nhân gen 16S rDNA hoặc 18S rDNA và vùng ITS2.....	54
Bảng 2.11. Số lượng mẫu gửi giải trình tự gen Sanger	55
Bảng 3.1. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp. ở trâu, bò, dê, và ngựa vào mùa xuân	60
Bảng 3.2. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Babesia</i> spp. trên trâu, bò, dê, ngựa vào mùa xuân	61

Bảng 3.3. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa xuân	62
Bảng 3.4. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa hè	67
Bảng 3.5. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Babesia</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa hè	68
Bảng 3.6. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa hè	69
Bảng 3.7. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa thu	74
Bảng 3.8. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Babesia</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa thu	75
Bảng 3.9. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa thu	76
Bảng 3.10. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp. ở trâu, bò,	81
Bảng 3.11. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Babesia</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông	82
Bảng 3.12. Kết quả xác định sự lưu hành của <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông	83
Bảng 3. 13. Tỷ lệ nhiễm đơn bào, nhiễm ghép trên tất cả vật nuôi tại 3 tỉnh/TP 98	
Bảng 3.14. Kết quả định danh loài <i>Anaplasma</i> spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa	100
Bảng 3. 15. Kết quả định danh loài <i>Theileria</i> spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa	102
Bảng 3. 16. Khoảng cách di truyền gen 16S rDNA của loài <i>A. marginale</i>	104

Bảng 3. 17. Khoảng cách di truyền gen 16S rDNA của <i>Anaplasma</i> spp. (1) ...	105
Bảng 3. 18. Khoảng cách di truyền gen 16S rDNA của <i>Anaplasma</i> spp. (2) ...	106
Bảng 3.19. Khoảng cách di truyền gen 18S rDNA loài <i>Babesia bigemina</i>	107
Bảng 3.20. Khoảng cách di truyền gen 18S rDNA loài <i>Babeisa bovis</i>	107
Bảng 3.21. Khoảng cách di truyền vùng ITS2 loài <i>Babesia bovis</i>	108
Bảng 3. 22. Khoảng cách di truyền gen 18S rDNA của <i>Theileria</i> spp. (1).....	109
Bảng 3. 23. Khoảng cách di truyền gen 18S rDNA của <i>Theileria</i> spp. (2).....	110
Bảng 3.24. Khoảng cách di truyền vùng ITS2 của <i>Theileria</i> spp.	113
Bảng 3.25. Một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài <i>Anaplasma</i> spp.	123
Bảng 3.26. Một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài <i>Babesia</i> spp.	127
Bảng 3.27. Một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài <i>Theileria</i> spp.....	130

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. <i>Anaplasma</i> spp. trong tiêu bản nhuộm giemsa (WOAH, 2024)	5
Hình 1.2. <i>Babesia bigemina</i> trong tiêu bản nhuộm giemsa (WOAH, 2025a)	6
Hình 1.3. <i>Theileria</i> spp. trong tiêu bản nhuộm giemsa (Salih và ctv, 2015)	7
Hình 1.4. Vòng đời <i>A. marginale</i> (Rodríguez và ctv, 2009)	8
Hình 1.5. Vòng đời của <i>Babesia</i> spp. (Schnittger và ctv, 2012)	9
Hình 1.6. Vòng đời của <i>T. annulata</i> (Valente và ctv, 2022)	10
Hình 1.7. Bản đồ phân bố <i>Anaplasma</i> spp. (Paramanandham và ctv, 2019).....	11
Hình 1.8. Bản đồ phân bố <i>Babesia</i> spp. (Jacob và ctv, 2020)	13
Hình 1.9. Bản đồ phân bố <i>T. equi</i> (WOAH, 2025b).....	15
Hình 1.10. Bộ gen của <i>A. marginale</i> (Brayton và ctv, 2005)	19
Hình 1.11. Hình ảnh minh họa kiểu gen của loài <i>Babesia</i> spp. (Wang và ctv, 2023)	20
Hình 1.12. Đặc điểm sinh học phân tử của <i>T. orientalis</i> (Yam và ctv, 2022)	21
Hình 2.1. Bản đồ thể hiện các xã (chấm hình tròn) thu thập mẫu máu trâu, bò, dê và ngựa tại ba tỉnh miền Bắc – Việt Nam.....	45
Hình 2.2. Hình ảnh kết quả điện di sản phẩm phản ứng nested PCR dương tính của loài <i>Theileria</i> spp. bản thạch	52
Hình 2.3. Hình ảnh kết quả điện di sản phẩm phản ứng nested PCR dương tính của loài <i>Babesia</i> spp.	55
Hình 2.4. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu.....	59
Hình 3.1. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu vào mùa xuân	64
Hình 3.2. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu vào mùa hè	71

Hình 3.3. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu vào mùa thu.....	78
Hình 3.4. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông.....	85
Hình 3.5. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. trên trâu theo mùa.....	87
Hình 3.6. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. trên bò theo mùa.....	89
Hình 3.7. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. trên dê theo mùa.....	90
Hình 3.8. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. trên ngựa theo mùa.....	92
Hình 3.9. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành chung các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. theo loài vật nuôi.....	94
Hình 3.10. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành chung các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. trên tất cả các loài vật nuôi theo mùa.....	95
Hình 3.11. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành chung các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. trên các loài vật nuôi theo địa điểm nghiên cứu.....	97
Hình 3.12. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của <i>Anaplasma</i> spp.....	114
Hình 3.13. Cây phả hệ loài thể hiện mối quan hệ loài của <i>Babesia bovis</i>	116
Hình 3.14. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của <i>Babesia bigemina</i>	117
Hình 3.15. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của <i>Babesia bovis</i>	118
Hình 3.16. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của <i>Theileria</i> spp.....	119
Hình 3.17. Cây phả hệ thể hiện quan hệ loài của <i>Theileria</i> spp.....	121

TRÍCH YẾU LUẬN ÁN

1. Tóm tắt mở đầu:

Tên nghiên cứu sinh: Dương Như Ngọc

Tên luận án: “Nghiên cứu đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử một số loài ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc và đề xuất biện pháp phòng bệnh”

Chuyên ngành: Ký sinh trùng và Vi sinh vật học Thú Y **Mã số:** 9640104

Người hướng dẫn khoa học: 1. TS. Đào Thị Hà Thanh

2. TS. Nguyễn Thị Bích Thủy

Tên cơ sở đào tạo: Viện Thú Y

2. Nội dung bản trích yếu:

2.1. Mục đích và đối tượng nghiên cứu:

Mục đích: (1) Xác định đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc (2022–2023); (2) Xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu và (3) Đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp.

Đối tượng nghiên cứu: Các loài ký sinh trùng đường máu *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. ký sinh ở các loài vật nuôi trâu, bò, dê, ngựa và các loài vật nuôi trâu, bò, dê, ngựa.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các phương pháp nghiên cứu được sử dụng trong luận án gồm: (1) Phương pháp nested PCR xác định sự lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu; (2) Phương pháp giải trình tự gen Sanger và phân tích gen (gen 16S rDNA của *Anaplasma* spp.; gen 18S rDNA và vùng ITS2 của *Babesia* spp., *Theileria* spp.); (3) Phương pháp phân tích xác suất thống kê xác định các yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu và (4) Phương pháp tổng hợp tài liệu liên quan các biện pháp phòng bệnh.

2.3. Các kết quả chính và kết luận

Các kết quả chính: Đã xác định được 3 giống ký sinh trùng đường máu lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa tại 3 tỉnh/TP là: *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., và

Theileria spp. với tỷ lệ lưu hành dao động từ 1,1% - 39,8% ở cả 4 mùa (xuân, hè, thu, đông). Trong đó, *Anaplasma* spp. có tỷ lệ lưu hành cao nhất ở tất cả các loài vật nuôi (16,8% - 39,8%), tiếp đến là *Theileria* spp. (7,7% - 19,7%) và thấp nhất là *Babesia* spp. (1,2% - 15,4%). Bò là loài vật nuôi nhiễm ký sinh trùng đường máu với tỷ lệ nhiễm cao nhất (15,% - 39,8%), tiếp đến là trâu (4,2% - 30,4%), ngựa (7,6% - 17,3%) và thấp nhất là dê (1,1% - 16,9%). Các loài ký sinh trùng đường máu lưu hành cao nhất vào mùa hè (44,8%) và thấp nhất vào mùa đông (2,3%).

Đã xác định được 12 loài ký sinh trùng đường máu lưu hành trên trâu, bò, dê và ngựa tại miền Bắc, Việt Nam. Trong đó, 6/12 loài (*A. phagocytophilum*, *A. sinensis*, *A. bovine*, *T. buffeli*, *T. velifera* và *T. equi*) lần đầu được công bố tại miền Bắc, Việt Nam và 5/12 loài (*A. platys*, *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *B. bigemina*, *B. bovis*) là loài truyền lây từ động vật sang người. Tổng cộng 123 chuỗi gen (18S rDNA/16S rDNA và vùng ITS2) của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. đã được ngân hàng gen NCBI kiểm duyệt và cấp mã số lưu hành.

Đã xác định được các yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu trên trâu, bò, dê và ngựa là mùa, loài vật nuôi. Đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp là: Phun thuốc diệt ve. Dùng thuốc điều trị để phòng bệnh. Luân phiên chăn thả. Cách ly vật nuôi nhiễm ve trong quá trình kiểm dịch nhập khẩu gia súc. Tập huấn người chăn nuôi theo hướng tiếp cận Một sức khỏe.

Kết luận: Luận án đã xác định được đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử của 12 loài ký sinh trùng đường máu lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa tại 3 tỉnh/TP. 123 chuỗi gen của các loài này đã được lưu trữ trên ngân hàng gen. Các yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu trên vật nuôi là mùa, loài vật nuôi. Đề xuất được biện pháp phòng bệnh thích hợp.

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

NGHIÊN CỨU SINH



TS. Đào Thị Hà Thanh

TS. Nguyễn Thị Bích Thủy

Dương Như Ngọc

THESIS ABSTRACT

1. Summary

PhD candidate's name: Duong Nhu Ngoc

Thesis title: “Study on prevalent and molecular characteristics of some haemoparasites in buffaloes, cattle, goats and horses in three Northern provinces and propose appropriate prevention measures”.

Major: Veterinary Parasitology and Microbiology **Code:** 964 01 04

Supervisors: 1. Dao Thi Ha Thanh, PhD.

2. Nguyen Thi Bich Thuy, PhD.

Educational organization: National Institute of Veterinary Research

2. Abstract

2.1. Objective and research subjects

Objectives: The study aimed to (1) Investigate infection rates and identify some molecular characteristics of *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. and *Theileria* spp. in buffaloes, cattle, goats, and horses across three Northern provinces (2022-2023); (2) Identify potential risk factors associated with haemoparasite infections in these livestock animals, and (3) Propose appropriate prevention measures.

Research subjects: Haemoparasite species of *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. and *Theileria* spp. in buffaloes, cattle, goats, and horses. Buffaloes, cattle, goats, and horses

2.2. Methodology

Methods were used in this study including: (1) Nested PCR to detect haemoparasites; (2) Sanger DNA sequencing and DNA analyses (16S rDNA gene of *Anaplasma* spp., and the 18S rDNA gene and the ITS2 regions of *Babesia* spp. and *Theileria* spp.); (3) Statistic analyses to identify potential risk factors associated with haemoparasite infections; and (4) Review documents related to prevention measures of haemoparasites.

2.3. Main findings and conclusions

Main findings

Three genus of haemoparasites *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. and *Theileria* spp. exhibited various infection rates among buffaloes, cattle, goats, and horses in the study areas, ranging from 1,1% to 39,8% across four seasons (spring, summer,

autumn, winter). Of these, *Anaplasma* spp. were the highest infection rate in animals (16,8% - 39,8%), followed by *Theileria* spp. (7,7% - 19,7%); and the lowest infection rate was *Babesia* spp. (1,2% - 15,4%). Cattle demonstrated the highest infection rates, ranging from 15,4% - 39,8%, followed by buffaloes (4,2% - 30,4%), horses (7,6% - 17,3%) and goats (1,1% - 16,9%). *Babesia* spp. infections were minimal in buffaloes and goats, while horses exhibited intermediate infection rates. Infection rates of haemoparasite peaked during summer (44,8%) and were lowest in winter (2,3%).

Twelve (12) species of haemoparasites were molecularly identified among buffaloes, cattle, goats, and horses in northern Vietnam. Notably, six (6) species (*A. sinensis*, *A. bovine*, *A. phagocytophilum*, *T. velifera*, *T. buffeli*, *T. equi*) have been reported in northern Vietnam for the first time. Five (*A. platys*, *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *B. bigemina*, *B. bovis*) of the 12 identified species are known to be zoonotic. A total of 123 DNA sequences (16S rDNA/18S rDNA and ITS2 region) of *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. and *Theileria* spp. were deposited to the National Center for Biotechnology Information (NCBI) with the ID sequences.

Risk factors associated with the infection rates are season, livestock species. Based on these research findings, comprehensive disease prevention measures for *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., and *Theileria* spp. in buffaloes, cattle, goats, and horses in Northern Vietnam were proposed.

Conclusions: This study showed findings on prevalent and molecular characteristics 12 species of haemoparasites in buffaloes, cattle, goats and horses in three Northern provinces. 123 DNA sequences (16S rDNA/18S rDNA and ITS2 region) of *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. and *Theileria* spp. were deposited to the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and appropriate prevention measures were proposed.

SUPERVISORS

PHD CANDIDATE

Dao Thi Ha Thanh PhD

Nguyen Thi Bich Thuy PhD

Duong Nhu Ngoc

THÔNG TIN TÓM TẮT NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Luận án: “Nghiên cứu đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử một số loài ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc và đề xuất biện pháp phòng bệnh”.

Chuyên ngành: Ký sinh trùng và Vi sinh vật học Thú y

Mã số: 964 01 04

Họ và tên nghiên cứu sinh: Dương Như Ngọc

Người hướng dẫn khoa học: 1. TS. Đào Thị Hà Thanh

2. TS. Nguyễn Thị Bích Thủy

Tên cơ sở đào tạo: Viện Thú y

NHỮNG KẾT QUẢ MỚI CỦA LUẬN ÁN

Lần đầu tiên, chẩn đoán sinh học phân tử và định danh sinh học phân tử phát hiện cả ba giống ký sinh trùng đường máu trên các loài vật nuôi (trâu, bò, dê, ngựa) tại miền Bắc Việt Nam được thực hiện. Kết quả chẩn đoán và định danh sinh học phân tử đã phát hiện 12 loài ký sinh trùng đường máu đang lưu hành trên vật nuôi tại miền Bắc - Việt Nam. Trong đó, 6/12 loài (*Candidatus Anaplasma boolense*, *Candidatus Anaplasma sinensis*, *A. phagocytophilum*, *T. buffeli*, *T. velifera* và *T. equi*) lần đầu được công bố phát hiện trên vật nuôi tại miền Bắc - Việt Nam. 5/12 loài (*A. platys*, *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *B. bigemina*, *B. bovis*) là loài truyền lây từ động vật sang người. Kết quả của luận án đã cung cấp dữ liệu gen lớn với 123 chuỗi gen (18S rDNA/16S rDNA và vùng ITS2) lưu trữ tại ngân hàng gen.

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

NGHIÊN CỨU SINH



TS. Đào Thị Hà Thanh

TS. Nguyễn Thị Bích Thủy

Dương Như Ngọc

SUMMARY OF NEW CONTRIBUTIONS OF PhD THESIS

Thesis title: “Study on prevalent and molecular characteristics of some haemoparasites in buffaloes, cattle, goats and horses in three Northern provinces and propose appropriate prevention measures”.

Major: Veterinary Microbiology and Parasitology

Code: 964 01 04

PhD Candidate: Duong Nhu Ngoc

Supervisors: 1. Dao Thi Ha Thanh, PhD.

2. Nguyen Thi Bich Thuy, PhD.

Educational Institution: National Institute of Veterinary Research.

THE NEW FINDINGS

This study is the first report for molecular characterizations of three haemoparasite genus in livestock, including buffaloes, cattle, goats and horses in northern Vietnam. In total, twelve (12) species of haemoparasites were molecularly identified. Notably, six (6) species (*Candidatus Anaplasma bovine*, *Candidatus Anaplasma sinensis*, *A. phagocytophilum*, *T. buffeli*, *T. velifera* và *T. equi*) have been reported in northern Vietnam for the first time. Of which, five (5) species (*A. platys*, *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *B. bigemina*, *B. bovis*) are known as zoonotic species. A total of 123 DNA sequences (16S rDNA/18S rDNA and ITS2 region) of *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. and *Theileria* spp. were deposited to the National Center for Biotechnology Information (NCBI).

SUPERVISORS

PHD CANDIDATE



Dao Thi Ha Thanh PhD

Nguyen Thi Bich Thuy PhD

Duong Nhu Ngoc

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Các loài đơn bào đường máu *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. gây bệnh cho nhiều loài vật chủ, bao gồm: động vật nhai lại (trâu, bò và dê) và ngựa; động vật ăn thịt (chó, mèo...). Trong đó, một số loài đã được ghi nhận có khả năng truyền lây từ động vật sang người (Karshima và ctv, 2022b; Rar và ctv, 2021; Schnittger và ctv, 2012). Mầm bệnh *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. truyền từ cá thể bệnh sang cá thể khỏe mạnh bởi các loài véc tơ truyền bệnh (ve, ruồi, mòng) như: *Ixodes* spp., *Dermacentor* spp., *Rhipicephalus* spp., *Hyalomma* spp. và *Haemaphysalis* spp., các loài ruồi hút máu (thuộc họ *Stomoxysidae*), các loài mòng hút máu (thuộc họ *Tabanidae*) (World Organisation for Animal Health - WOAH, 2021; Lakew và ctv, 2021; Karlsen và ctv, 2020; Battilani và ctv, 2017; Atif, 2016).

Bệnh ảnh hưởng đến vật nuôi như làm giảm tốc độ sinh trưởng, giảm sản lượng thịt, sữa hoặc chết, gây ra thiệt hại lớn về kinh tế cho ngành chăn nuôi trên toàn thế giới đặc biệt là các quốc gia thuộc vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới (Gebrekidan và ctv, 2020; Fuente và ctv, 2017; Jabbar và ctv, 2015). Ở Mexico, bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. ở bò là bệnh truyền nhiễm cục bộ, ước tính tổn thất kinh tế do kiểm soát véc tơ truyền bệnh là 573,6 triệu đô la Mỹ mỗi năm (Rodriguez và ctv, 2017).

Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. gây bệnh trên nhiều loài động vật khác nhau và đã lan rộng khắp thế giới với nhiều loài ký sinh trùng đường máu khác nhau. Trong đó, một số loài như *A. phagocytophilum*, *A. marginale*, *A. ovis*, *A. platys*, *B. bovis*, *B. bigemina* và *B. divergens*... đã được thế giới ghi nhận là loài truyền lây từ động vật sang người. Do sự đa dạng lớn các loài vật chủ của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. nên tất cả các động vật có xương sống đều có thể là vật mang mầm bệnh tiềm ẩn, đặc biệt là vật chủ thích hợp cho ve truyền bệnh (Rar và ctv,

2021; Schnittger và ctv, 2012; Penzhorn, 2006). Các loài *Theileria* spp. gây ra bệnh cho các loài động vật có vú có độc lực rất khác nhau, từ các dạng hoàn toàn lành tính, đến gây bệnh nghiêm trọng và dẫn đến chết. Trong đó, loài *T. parva* gây bệnh sốt Bờ Đông (East Coast fever/corridor disease) phân bố ở 13 quốc gia ở Châu Phi, cận Sahara và loài *T. annulata* gây ra bệnh Theileriosis nhiệt đới, đã được ghi nhận là 2 loài *Theileria* spp. có độc lực cao, gây thiệt hại kinh tế nghiêm trọng nhất cho ngành chăn nuôi bò tại Châu Âu, Châu Phi, Trung Đông, Viễn Đông và Châu Á (WOAH, 2020; Spickler, 2019; Bishop và ctv, 2004).

Việt Nam là quốc gia nông nghiệp với chăn nuôi gia súc đóng vai trò quan trọng, người dân ở nông thôn vẫn chăn nuôi theo hình thức nhỏ lẻ. Động vật nuôi chủ yếu trong nông hộ là trâu, bò, dê, ngựa, lợn, gà, chó, mèo... Tính đến năm 2023, cả nước có 2.136.009 con trâu, 6.331.895 con bò, 2.835.846 con dê và 51.055 con ngựa... (Tổng cục thống kê, 2024). Một số nghiên cứu đã chỉ ra sự tồn tại của các loài ký sinh trùng đường máu *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, ngựa từ những năm 1973, gây thiệt hại đáng kể cho ngành chăn nuôi. Các nghiên cứu này sử dụng phương pháp chẩn đoán hình thái học và huyết thanh học (Sivakumar và ctv, 2013; Altangerel và ctv, 2011; Geurden và ctv, 2008; Phùng Quang Trường và ctv, 2008; Hạ Thúy Hạnh, 1999; Hồ Thị Thuận và ctv, 1983; (Phạm Sỹ Lăng, 1977;1973)).

Bệnh ký sinh trùng đường máu trên vật nuôi ở nước ta trong những năm gần đây gần như bị lãng quên với số lượng công bố hạn chế (chỉ có 5 công bố trong giai đoạn 2015 - 2020). Gebrekidan và ctv (2017) công bố về một ổ dịch *Theileria* spp. trên đàn bò sữa nhập từ Úc tại Việt Nam, với tỷ lệ nhiễm bệnh lên đến 77,6%. Nhóm nghiên cứu của Trường Đại học Huế (2018) cho biết, bò nhiễm hai loài *Babesia* spp. là *B. bovis* và *B. bigemina* với tỷ lệ tương ứng là 15,8% và 30,7% (Sivakumar và ctv, 2018). Năm 2019, hai loài ký sinh trùng đường máu truyền lây sang người là *A. marginale* và *A. platys* được phát hiện trên bò sữa, bò bản địa và chó tại Hà Nội dựa trên việc giải trình tự và phân tích gen 16S rDNA (Nguyen và ctv, 2019). Từ năm 2021 trở lại đây, một số ổ dịch ký sinh trùng đường máu được

ghi nhận từ việc nhập động vật sống ở miền Trung và Nam, đây cũng là lần đầu tiên một số loài như: *A. platys*, *A. phagocytophilum*, *A. marginale*, *B. vogeli*, *T. sinensis* và *T. orientalis* được báo cáo trên véc tơ truyền bệnh (ve) tại Việt Nam (Huynh và ctv, 2021). Thêm vào đó, chưa có nghiên cứu tổng thể và chuyên sâu nào về nhóm bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên các loài vật nuôi được thực hiện; việc ứng dụng các phương pháp chẩn đoán sinh học phân tử với độ nhạy và độ đặc hiệu vượt trội vào chẩn đoán bệnh vẫn bỏ ngỏ. Trong khi đó, việc xác định được chính xác tỷ lệ nhiễm, loài gây bệnh, đặc điểm gen của ký sinh trùng đường máu đang lưu hành ở động vật nhiễm bệnh cùng các yếu tố nguy cơ liên quan đến con đường truyền lây bệnh đóng vai trò then chốt trong phòng bệnh một cách chủ động và hiệu quả, giúp giảm thiểu thiệt hại kinh tế của bệnh gây ra với vật nuôi.

Xuất phát từ thực tế trên, chúng tôi tiến hành thực hiện luận án: “**Nghiên cứu đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử một số loài ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc và đề xuất biện pháp phòng bệnh**”.

2. Mục tiêu nghiên cứu

1. Xác định đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) năm 2022 – 2023.

2. Xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu và đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp.

3. Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của luận án

3.1. Ý nghĩa khoa học

Kết quả nghiên cứu của luận án đã định loài được 12 loài ký sinh trùng đường máu lưu hành ở trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/ TP miền Bắc – Việt Nam. Trong đó, 6 loài (*A. phagocytophilum*, *Candidatus Anaplasma boolense*, *Candidatus Anaplasma sinensis*, *T. buffeli*, *T. velifera* và *T. equi*) lần đầu được công bố tại

miền Bắc - Việt Nam; 5 loài (*A. platys*, *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *B. bovis*, *B. bigemina*) đã được thế giới xác nhận là loài truyền lây từ động vật sang người. Đồng thời, một lượng lớn dữ liệu về trình tự gen của các loài ký sinh trùng đường máu này đã được lưu trữ trên ngân hàng gen thế giới. Đây là những tài liệu khoa học cho học tập và nghiên cứu về bệnh, đặc biệt là dịch tễ học và dịch tễ học phân tử của bệnh, cũng như mở ra hướng nghiên cứu về các loài ký sinh trùng đường máu truyền lây còn đang bị bỏ ngỏ tại nước ta.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

Các kết quả nghiên cứu này là cơ sở khoa học cho các chương trình điều tra quốc gia về bệnh ký sinh trùng đường máu tại Việt Nam, không chỉ đối với vật nuôi, véc tơ truyền bệnh và cả với con người. Từ đó, có những biện pháp và chiến lược phòng chống sự truyền lây của bệnh, đảm bảo sức khoẻ cho vật nuôi và sức khoẻ cộng đồng.

4. Những đóng góp mới của luận án

Lần đầu tiên, chẩn đoán sinh học phân tử và định danh sinh học phân tử phát hiện cả ba ký sinh trùng đường máu trên các loài vật nuôi (trâu, bò, dê, ngựa) tại ba tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) được thực hiện. Kết quả chẩn đoán và định danh sinh học phân tử đã phát hiện 12 loài ký sinh trùng đường máu đang lưu hành trên vật nuôi tại ba tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La). Trong đó, 6/12 loài *A. phagocytophilum*, *Candidatus Anaplasma bovine*, *Candidatus Anaplasma sinensis*, *T. buffeli*, *T. velifera* và *T. equi* lần đầu được công bố phát hiện trên vật nuôi tại ba tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La).

Kết quả của luận án đã cung cấp dữ liệu gen lớn, gồm 123 chuỗi gen của các đoạn gen: 16 Small - Subunit ribosomal deoxyribonucleic acid (16S rDNA), 18 Small - Subunit ribosomal deoxyribonucleic acid (18S rDNA) và vùng giao gen Internal Transcript Spacer 2 (ITS2) của các loài ký sinh trùng đường máu này đã được nộp, xét duyệt và lưu trữ lên ngân hàng gen của thế giới.

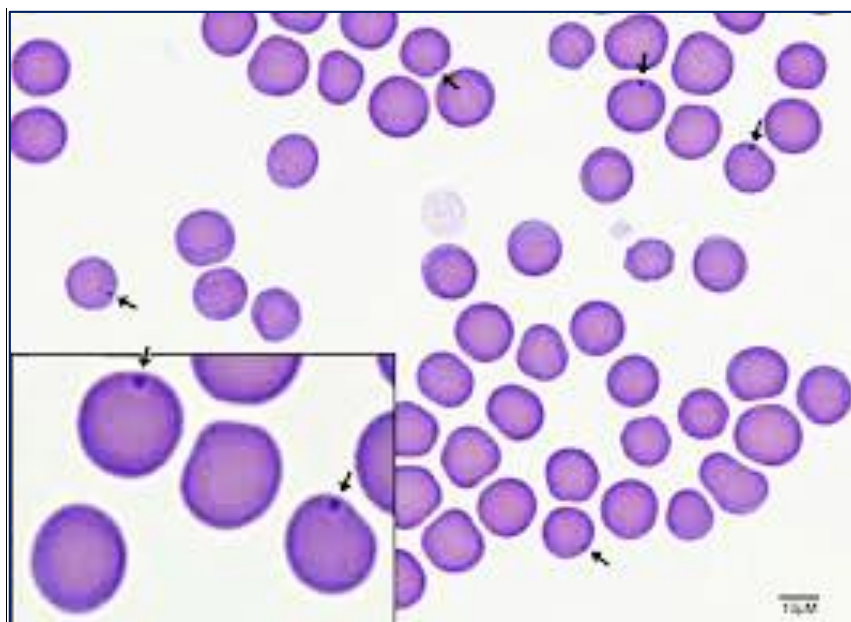
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Một số đặc điểm hình thái và dịch tễ học của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp.

1.1.1. Một số đặc điểm hình thái của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp.

* Một số đặc điểm hình thái của loài *Anaplasma* spp.

Hình thái của *Anaplasma* spp. (Hình 1.1) là các hạt màu đen, có đường kính 0,2 - 0,4 μm , nằm bên trong các tế bào hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu ở tiêu bản máu nhuộm giemsa. Loài *A. marginale* là các thể đặc, tròn và đậm màu có đường kính khoảng 0,3 - 1,0 μm nằm trong hồng cầu (trên hoặc gần rìa hồng cầu). Loài *A. phagocytophilum* nằm ở các bạch cầu trung tính (WOAH, 2024).

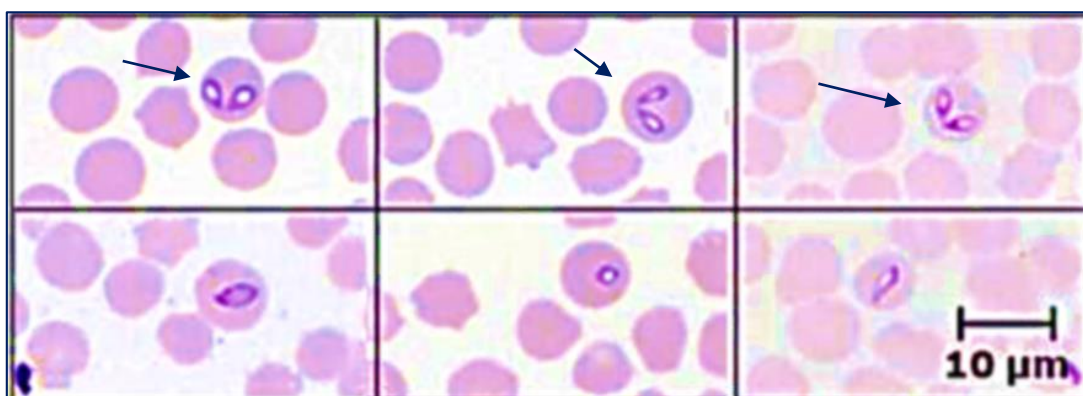


Hình 1.1. *Anaplasma* spp. trong tiêu bản nhuộm giemsa (WOAH, 2024)

Cho đến nay, 8 loài *Anaplasma* spp. đã được ghi nhận lưu hành trên thế giới, bao gồm: *A. phagocytophilum*, *A. bovis*, *A. centrale*, *A. marginale*, *A. ovis*, *A. platys*, *A. capra* và *A. odocoilei*. Trong đó, 2 loài là *A. capra*, *A. odocoilei* mới được xác định và 4 loài: *A. phagocytophilum*, *A. marginale*, *A. ovis* và *A. platys* có khả năng gây bệnh cho người (Rar và ctv, 2021).

*** Một số đặc điểm hình thái của loài *Babesia* spp.**

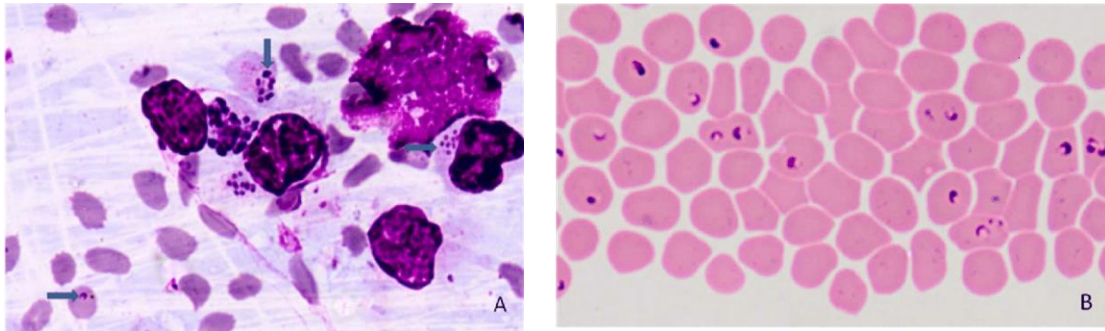
Dựa trên hình thái học, *Babesia* spp. được chia thành hai nhóm *Babesia* spp. nhỏ và *Babesia* spp. lớn. Trong đó, *Babesia* spp. nhỏ có chiều dài 1,0 - 2,5 μm , gồm: *B. bovis*, *B. gibsoni*, *B. microti*, *B. rodhaini*... và *Babesia* spp. lớn có chiều dài 2,5 - 5,0 μm , gồm: *B. bigemina*, *B. caballi*, *B. canis*... ký sinh trong hồng cầu, có dạng đặc trưng là hình quả lê hoặc hình tròn, hình ô van, các hình dạng khác thường khác. *B. bovis* - dạng nhỏ, có chiều dài 2,0 $\mu\text{m} \times 1,5 \mu\text{m}$. *B. ovis* - dạng nhỏ có chiều dài 1,0 - 2,5 μm , hình tròn, nằm ở rìa hồng cầu. *B. bigemina* - dạng lớn, chiều dài 4,5 $\mu\text{m} \times 2,0 \mu\text{m}$ (Hình 1.2) (WOAH 2025a; Laha và ctv, 2015).



Hình 1.2. *Babesia bigemina* trong tiêu bản nhuộm giemsa (WOAH, 2025a)

*** Một số đặc điểm hình thái của loài *Theileria* spp.**

Theileria spp. là những loài ký sinh trùng đường máu ký sinh ở hồng cầu và bạch cầu của động vật, có kích thước 2,0 - 2,5 x 0,3 - 1,5 μm , có hình phẩy, hình lê đơn nhỏ hoặc hình chữ thập trong tiêu bản nhuộm giemsa (Hình 1.3). Trong mỗi hồng cầu có từ 1 - 5 đơn bào *Theileria* spp. có hình thái như trên và trong mỗi bạch cầu có dạng một nang chứa khoảng 8 - 12 bào tử trùng (sporozoite) nằm trong nguyên sinh chất của bạch cầu, nhuộm giemsa bắt màu đỏ tím, có hình phẩy được gọi là “thể Koch”. Đây là dạng đặc biệt có thể căn cứ vào đó để phân biệt với các đơn bào đường máu khác (Salih và ctv, 2015).



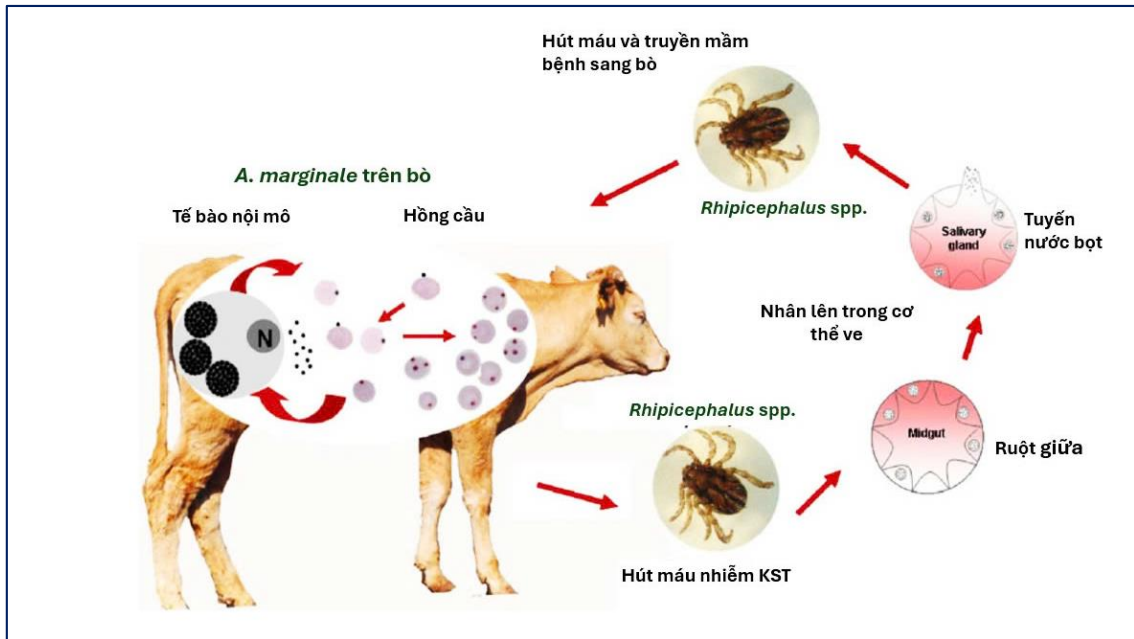
Hình 1.3. *Theileria* spp. trong tiêu bản nhuộm giemsa (Salih và ctv, 2015)

1.1.2. Vòng đời của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp.

*** Vòng đời của loài *Anaplasma* spp.**

Vòng đời của *Anaplasma* spp. bao gồm: giai đoạn sinh sản (vô tính và hữu tính) ở cả động vật có xương sống và trong cơ thể ve cứng *Ixodidae* như: *Ixodes* spp., *Dermacentor* spp., *Rhipicephalus* spp., *Hyalomma* spp. và *Haemaphysalis* spp. (Karlsen và ctv, 2020). Sinh sản vô tính trong hồng cầu vật chủ, *Anaplasma* spp. nhân lên bằng cách phân chia trực tiếp. Sinh sản hữu tính xảy ra trong cơ thể ve. Sau khi xâm nhập vào ve, *Anaplasma* spp. phát triển qua một số giai đoạn ở vách tiêu hóa và hệ bạch huyết của ve, sau đó thành dạng bào tử thể (sporozoite). Bào tử thể lên tuyến nước bọt và vào buồng trứng của ve, khi ve hút máu sẽ truyền bệnh sang cho vật chủ mới. Ve bị nhiễm bệnh khi hút máu động vật bị nhiễm bệnh và chúng có thể truyền tác nhân gây bệnh sang các động vật khác ở giai đoạn tiếp theo (Hình 1.4). Ngoài ra, *Anaplasma* spp. được truyền cơ học qua các véc tơ truyền bệnh khác như các loài ruồi hút máu (thuộc họ *Stomoxysidae*), mòng hút máu (thuộc họ *Tabanidae*) và muỗi (Battilani và ctv, 2017; Atif, 2016; Guo và ctv, 2016; Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015).

Ở Trung Quốc, một số loài *Anaplasma* spp. đã được tìm thấy trong trứng muỗi, ấu trùng, nhộng và muỗi trưởng thành như: *Anopheles sinensis*, *Armigeres subalbatus*, *Aedes albopictus*, *Culex quinquefasciatus* và *Culex tritaeniorhynchus* (Guo và ctv, 2016). Tuy nhiên, tầm quan trọng của muỗi trong quá trình truyền bệnh *Anaplasma* spp. cần được nghiên cứu thêm.



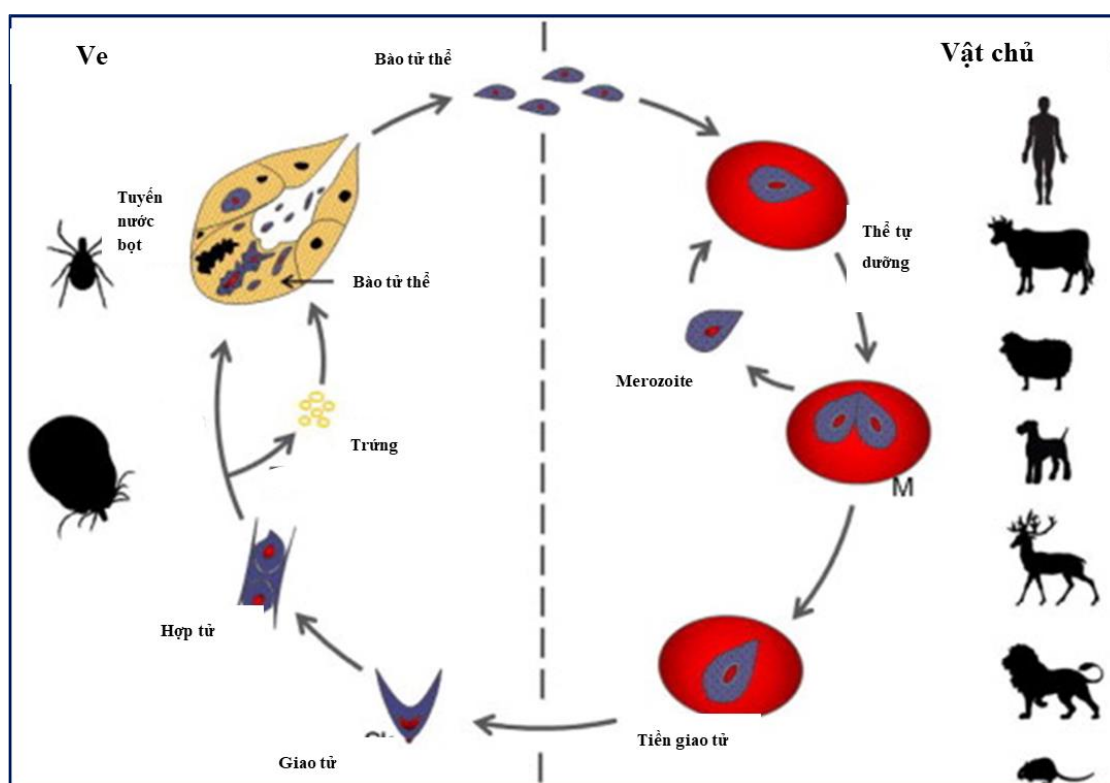
Hình 1.4. Vòng đời *A. marginale* (Rodríguez và ctv, 2009)

*** Vòng đời của loài *Babesia* spp.**

Vòng đời của *Babesia* spp. bao gồm sự sinh sản vô tính ở hồng cầu gia súc, và tuyến nước bọt của ve (*Ixodes* spp., *Dermacentor* spp., *Rhipicephalus* spp., *Hyalomma* spp., và *Haemaphysalis* spp.); sinh sản hữu tính trong cơ thể của ve (Bonnet và Nadal, 2021). Trong hồng cầu, *Babesia* spp. sinh sản vô tính từ một *Babesia* spp. trưởng thành mọc nhánh thành hai *Babesia* spp. và cứ sinh sản như vậy nên *Babesia* spp. thường ghép lại thành đôi thành hình quả lê hoặc hình bầu dục, hình cầu. Khi đó, hồng cầu bị ký sinh trùng phá hủy và giải phóng hai *Babesia* spp. non trôi nổi trong huyết tương, sau một thời gian *Babesia* spp. non lại xâm nhập vào hồng cầu lành, sau vài giờ chúng lớn dần thành dạng trưởng thành rồi thực hiện phân đôi liên tiếp 5 đến 6 lần. Sau một tuần, số lượng đã tăng lên hàng trăm lần. *Babesia* spp. nằm trong các tế bào hồng cầu, tạo thành một cấu trúc đặc biệt gọi là "Maltese Cross" gồm bốn merozoite (Schnittger và ctv, 2012).

Giai đoạn hữu tính xảy ra trong cơ thể một số loài ve cứng và phát triển hết sức phức tạp từ 20 - 30 ngày. Ve hút máu trâu, bò nhiễm *Babesia* spp. khi tới dạ dày ve, hồng cầu được tiêu hóa và giải phóng các *Babesia* spp. Khi đó 2 giao tử đực và cái có bề ngoài giống nhau kết hợp lại, hình thành những trứng trần (không

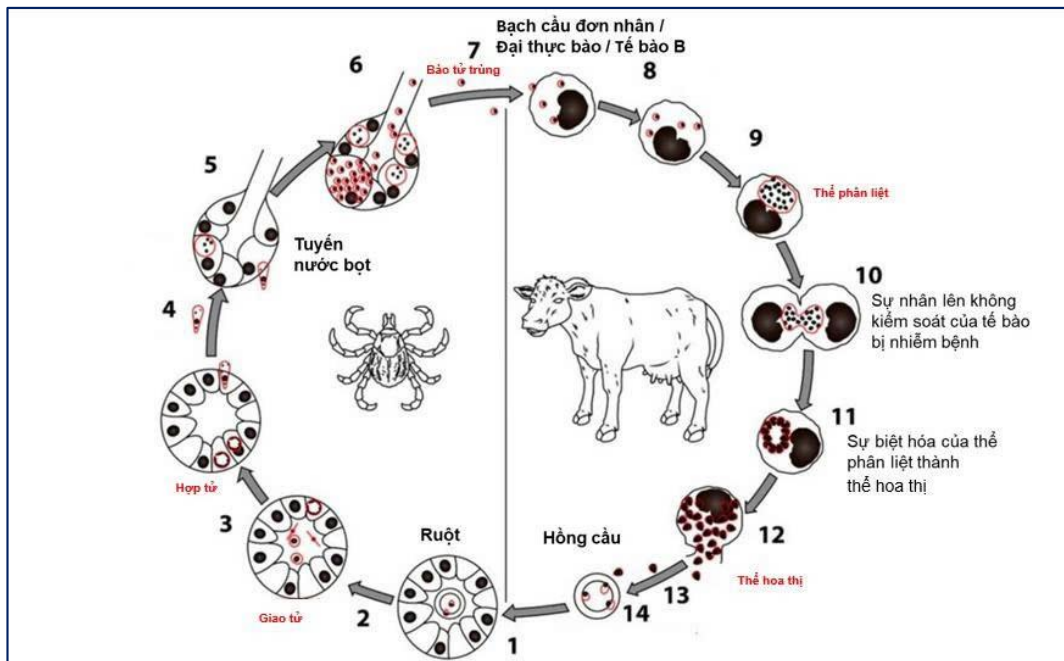
có vỏ bọc) và có khả năng di động, chúng xâm nhập vào vách dạ dày ve rồi lớn lên qua nhiều lần phân chia, cuối cùng tạo ra hàng trăm bào tử thể (sporozoite) hình đinh ghim. Các bào tử thể phá vỡ tế bào vách dạ dày của ve giải phóng các bào tử thể di chuyển tới miệng ve. Ve khi hút máu bò khỏe sẽ truyền bào tử thể (sporozoite) vào máu, các bào tử thể này xâm nhập vào hồng cầu tiếp tục phát triển tới dạng trưởng thành. Một số bào tử thể (sporozoite) đi qua vách dạ dày vào buồng trứng của ve cái nên trứng ve đẻ ra đã nhiễm *Babesia* spp. Trong quá trình phát dục của trứng ve thành ấu trùng, thiếu trùng và ve trưởng thành đời sau thì *Babesia* spp. cũng tiến triển song song theo các giai đoạn của ve và đều tạo ra hàng trăm bào tử thể (sporozoite) tiến lên miệng ve và được truyền cho bò khi chúng hút máu bò. Tùy theo sự phát dục dài hay ngắn của từng loài mà ve có thể truyền bệnh tại tất cả các giai đoạn ấu trùng, thiếu trùng và trưởng thành hoặc chỉ giai đoạn ve trưởng thành mới truyền bệnh. Như vậy, sự truyền bệnh của ve có tính di truyền cao cho thế hệ đời sau (Hình 1.5) (Nguyễn Văn Thọ và ctv, 2019; Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015; Bock và ctv, 2004).



Hình 1.5. Vòng đời của *Babesia* spp. (Schnittger và ctv, 2012)

*** Vòng đời của loài *Theileria* spp.**

Vòng đời của loài *Theileria* spp. được hoàn thành trong hai giai đoạn sinh sản vô tính ở vật chủ có xương sống và sinh sản hữu tính ở véc tơ truyền bệnh (ve) 2 vật chủ hoặc 3 vật chủ như: *Amblyomma* spp., *Haemaphysalis* spp., *Hyalomma* spp., *Ixodes* spp., *Dermacentor* spp. và *Rhipicephalus* spp. (Almazán và ctv, 2022; Valente và ctv, 2022; Mans và ctv, 2015). Vòng đời của *Theileria* spp. bắt đầu khi ve hút máu từ vật chủ có chứa *Theileria* spp. Vào đến ống tiêu hoá ve, hồng cầu được tiêu hoá, giải phóng ra các phối tử. Những phối tử này tạo ra trứng trần tiến sâu vào vách dạ dày, trứng trần sinh ra hàng trăm bào tử thể (sporozoite). Sau đó, các bào tử thể được giải phóng, chúng đi vào tuyến nước bọt và miệng ve. Sau khi bị ve hút máu, các bào tử lây nhiễm có trong nước bọt của ve xâm nhập vào bạch cầu đơn nhân của vật chủ, nơi các thể phân liệt hình thành. Sau khi sinh sản phân liệt, các thể phân bào được giải phóng vào máu và lần lượt xâm nhập vào hồng cầu vật chủ, tạo ra nhiều thể phân bào và thể tự dưỡng (Mans và ctv, 2015; McKeever, 2009). Ngoài ra, *Theileria* spp. được truyền cơ học qua các véc tơ truyền bệnh khác như ruồi *Stomoxys* spp., mòng *Tabanus* spp. và rận (Lakew và ctv, 2021).

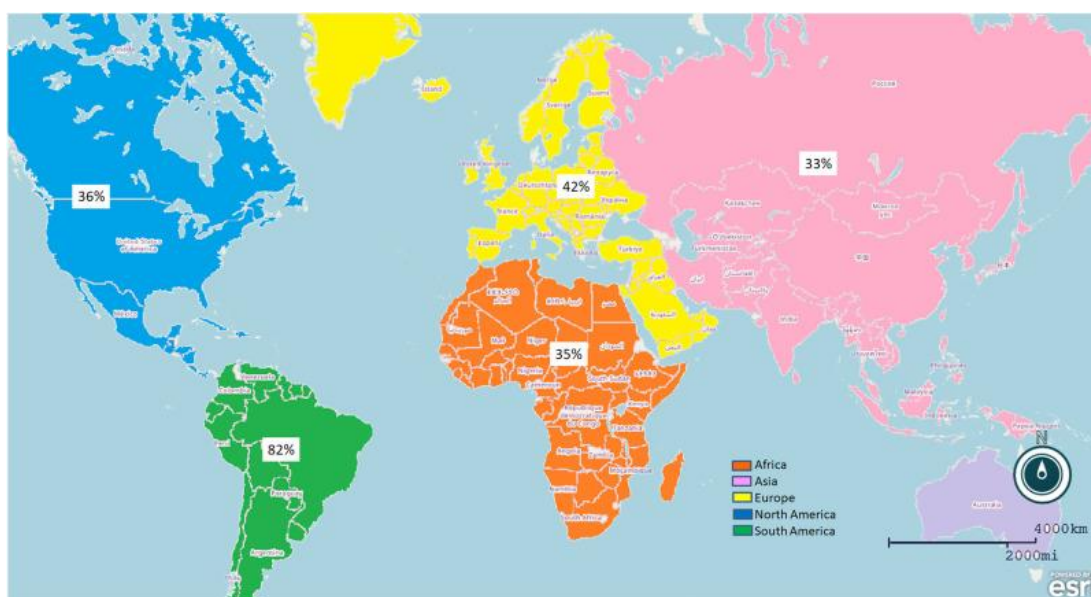


Hình 1.6. Vòng đời của *T. annulata* (Valente và ctv, 2022)
(1-7: giai đoạn sinh sản hữu tính ở ve, 8-14: giai đoạn sinh sản vô tính ở bò)

1.1.3. Một số đặc điểm dịch tễ của các bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp.

* Một số đặc điểm dịch tễ của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp.

Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. trên các loài vật nuôi phân bố rộng khắp thế giới với tỷ lệ lưu hành chung là 39% (Hình 1.7) và xảy ra ở quanh năm do *Anaplasma* spp. lây truyền cơ học và sinh học qua các loài véc tơ truyền bệnh (Paramanandham và ctv, 2019; Atif, 2015). Tuy nhiên, tỷ lệ lưu hành và các yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. ở các loài vật nuôi là khác nhau tùy theo vị trí địa lý, tuổi của vật chủ, tính biệt, giống vật nuôi, phương pháp chẩn đoán, véc tơ truyền bệnh (ve), mùa và hình thức chăn thả (Abdoli và ctv, 2025; Zhou và ctv, 2023; Zeb và ctv, 2020; Farooqi và ctv, 2018). Vật nuôi nhiễm *Anaplasma* spp. có tỷ lệ nhiễm bệnh cao nhất vào mùa hè trong năm (Okafor và ctv, 2018; Atif và ctv, 2013). Theo Atif và ctv (2021) vật nuôi nhiễm *Anaplasma* spp. cao nhất vào mùa hè (58,33%), tiếp theo là mùa xuân (35,42%), mùa thu (31,25%) và thấp nhất là mùa đông (23,96%). Ngoài ra, những tháng có độ ẩm cao sẽ làm vật nuôi có tỷ lệ nhiễm bệnh và nhiễm ve trên cơ thể cao hơn những tháng còn lại trong năm (Roy và ctv, 2018).



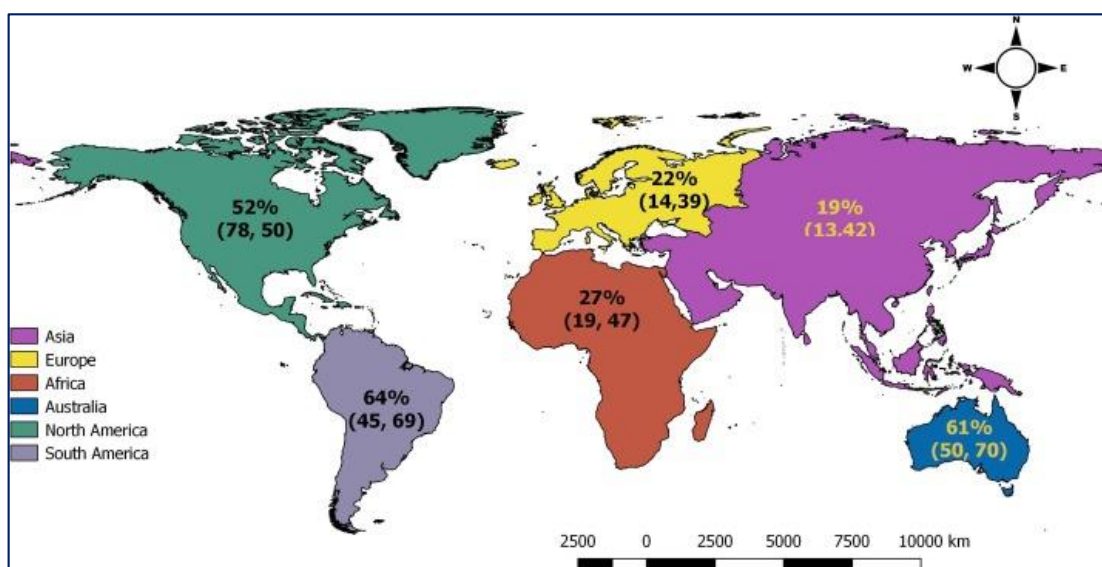
Hình 1.7. Bản đồ phân bố *Anaplasma* spp. (Paramanandham và ctv, 2019)

Động vật nhai lại là vật chủ của ít nhất 5 loài *Anaplasma* spp. (*A. bovis*, *A. platys*, *A. marginale*, *A. centrale* và *A. phagocytophilum*) và vật chủ có thể nhiễm đơn nhiễm một loài hoặc đa nhiễm nhiều loài *Anaplasma* spp. trong cùng một thời gian nhiễm bệnh. Sự phân bố của bệnh phụ thuộc vào mật độ quần thể của ve, vật chủ. Vật nuôi nhiễm bệnh ở thể cấp tính hay mãn tính phụ thuộc vào đặc tính gây bệnh của từng loài *Anaplasma* spp. và tính nhạy cảm của vật chủ khi nhiễm bệnh. Bệnh ở thể cấp tính có xu hướng tiến triển nặng và dẫn đến chết. Bò ở mọi lứa tuổi đều có thể bị nhiễm *A. marginale*, tuy nhiên mức độ nghiêm trọng của bệnh phụ thuộc vào độ tuổi của bò. Bê dưới 6 tháng tuổi ít bị thể lâm sàng hơn. Động vật từ 6 tháng đến 1 tuổi thường mắc bệnh nhẹ. Động vật từ 1 đến 2 tuổi mắc bệnh cấp tính nhưng hiếm khi chết. Động vật trên 2 tuổi nhiễm bệnh thường ở thể cấp tính và tỷ lệ chết từ 29% đến 49% (Battilani và ctv, 2017; Stuen và ctv, 2013; Kocan và ctv, 2003).

Trên thế giới, loài *A. phagocytophilum* là loài truyền lây từ động vật sang người với tỷ lệ nhiễm chung là 16,2%. Vật chủ của loài *A. phagocytophilum* là con người, các loài động vật có vú và ve ở Châu Âu, Châu Mỹ, Châu Á (Pakistan, Ấn Độ, Hàn Quốc và Nhật Bản) và Châu Phi (Senegal) (Karshima và ctv, 2022a; M'ghirbi và ctv, 2016; Stuen và ctv, 2013; Kang và ctv, 2013; Djiba và ctv, 2013; Kawahara và ctv, 2006). Abdoli và ctv (2025) cho biết, *A. phagocytophilum* lưu hành ở bò trên toàn cầu với tỷ lệ nhiễm chung là 8,5% và cao nhất vào mùa hè ở vùng Địa Trung Hải (13,7%). Trong đó, Mông Cổ và Guatemala là những quốc gia có tỷ lệ lưu hành loài *A. phagocytophilum* ở bò cao nhất trên thế giới (51,9%; 51%). Ở Trung Quốc, *A. phagocytophilum* lưu hành trên dê với tỷ lệ nhiễm chung là 71,6%. Trong đó, dê nhiễm *A. phagocytophilum* cao nhất vào mùa hè (86,6%), thấp nhất vào mùa đông (48,4%) và tỷ lệ nhiễm này cao hơn so với các nghiên cứu trước đây được ghi nhận ở Trung Quốc (2,1% - 28,8%) (Wang và ctv, 2021; Zhou và ctv, 2019; Yang và ctv, 2017; Zhang và ctv, 2016) và ở Ý (10,4%) (Morganti và ctv, 2017). *A. platys* là tác nhân gây bệnh giảm tiêu cầu theo chu kỳ ở chó, trâu, bò, dê, ngựa và ở trên người đã được ghi nhận ở Hàn Quốc, Venezuela, Chicago và Nam Phi (Battilani và ctv, 2017; Lee và ctv, 2017; Dyachenko và ctv, 2012).

*** Một số đặc điểm dịch tễ của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp.**

Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. còn được gọi là bệnh sốt Texas (châu Mỹ), bệnh do ve *Ixodidae* truyền (châu Úc) hay sốt do ve hoặc sốt nước tiểu đỏ (châu Phi) trên trâu, bò, dê, cừu... ở mọi lứa tuổi và phân bố rộng ở khắp các châu lục trên thế giới (Vannier và ctv, 2015). Theo Jacob và ctv (2020) tỷ lệ lưu hành chung của *Babesia* spp. ở bò trên toàn cầu là 29%. Trong đó, *Babesia* spp. lưu hành ở bò cao nhất là Nam Mỹ (64%) và thấp nhất là ở Châu Á (19%). Bản đồ phân bố *Babesia* spp. được thể hiện ở hình 1.8.



Hình 1.8. Bản đồ phân bố *Babesia* spp. (Jacob và ctv, 2020)

Cho đến nay có hơn 100 loài *Babesia* spp. gây bệnh cho động vật và con người. Trong đó, 08 loài *Babesia* spp. gồm: *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. crassa-like*, *B. divergens*, *B. duncani*, *B. microti*, *B. odocoilei* và *B. venatorum* đã được báo cáo ở người từ các khu vực khác nhau trên thế giới. Trong đó, tỷ lệ lưu hành chung của *Babesia* spp. ở người là 2,23% (Karshima và ctv, 2022b). Loài *B. bovis* đã được định danh lưu hành trên ngựa tại Tây Ban Nha và trên bò, người ở Colombia (Gonzalez và ctv, 2018; Criado và ctv, 2006). Ở một số nước trong khu vực Đông Nam Á, 5 loài *Babesia* spp. bao gồm: *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. ovata*, *Babesia* sp. Hue và *Babesia* sp. Mymensingh đã được báo cáo lưu hành ở trâu và bò (Galon và

ctv, 2022b). Trong số các loài *Babesia* spp. lây nhiễm cho động vật 2 loài *B. bovis* và *B. bigemina* được quan tâm nhiều hơn vì chúng gây ra thiệt hại kinh tế đáng kể cho ngành chăn nuôi gia súc trên toàn thế giới. Loài *B. bigemina* ít gây bệnh và tồn tại trong máu vật nuôi lâu hơn loài *B. bovis*, do đó vật nuôi có tỷ lệ nhiễm *B. bigemina* cao hơn *B. bovis* ở những khu vực, vùng có cả hai loài *Babesia* spp. gây bệnh trên vật nuôi (Bock và ctv, 2004).

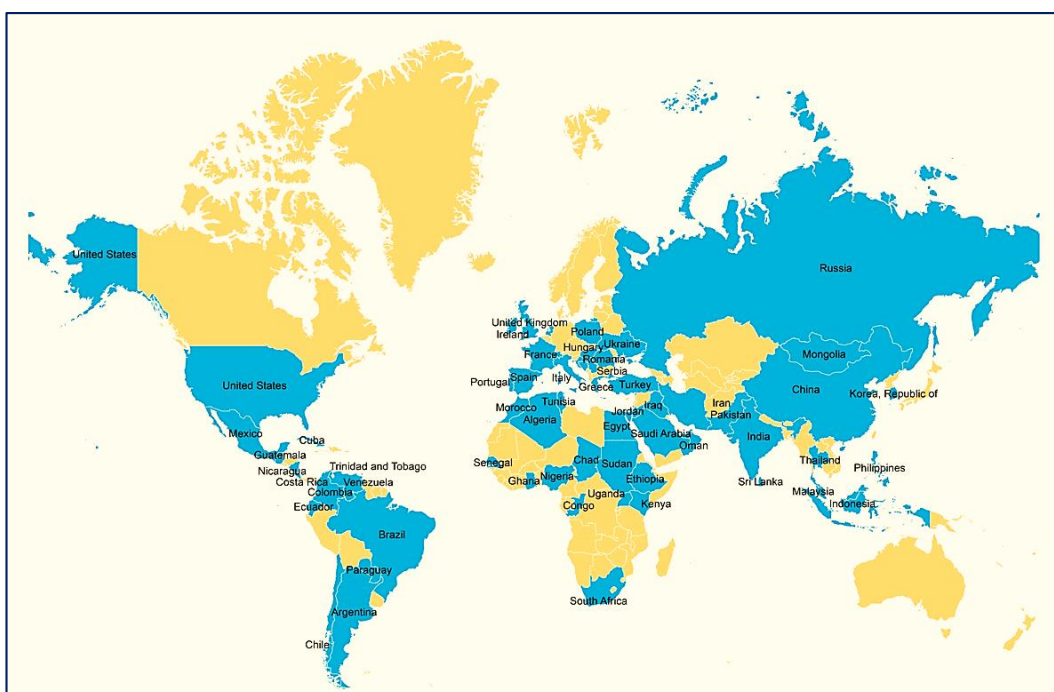
Các yếu tố bao gồm: giống vật nuôi, tuổi, mùa, sự nhiễm ve trên cơ thể vật nuôi và hình thức chăn thả đã được xác định là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. ở Pakistan, Indonesia, Myanmar (Khan và ctv, 2024; Guswanto và ctv, 2017; Bawm và ctv, 2016). Bê, nghé theo mẹ tiếp xúc với bệnh ngay từ khi còn nhỏ lúc này chúng có khả năng miễn dịch mạnh hơn thông qua kháng thể của mẹ và khả năng miễn dịch bẩm sinh mạnh, giúp chúng có được khả năng bảo vệ tự nhiên chống lại các bệnh nhiễm trùng sau đó (Bock và ctv, 2004). Hệ thống kiểm dịch, quản lý mở rộng có thể làm tăng tỷ lệ nhiễm bệnh ký sinh trùng đường máu đối với động vật và các loài véc tơ truyền bệnh (Galon và ctv, 2022b).

Jaimes và ctv (2018) cho biết, sử dụng kỹ thuật Nested polymerase chain reaction (nPCR) nhân gen 18S để chẩn đoán phát hiện loài *Babesia* spp. trên bò, trâu và ve *R. (B) microplus* ở Colombia. Kết quả cho thấy, *Babesia* spp. lưu hành ở bò, trâu và ve *R. (B) microplus* với tỷ lệ nhiễm từ 4,3% đến 31,6%, Trong đó, tỷ lệ lưu hành của loài *B. bovis* ở bò cao hơn trâu. Mùa, loài vật và vật nuôi nhiễm ve là các yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm bệnh ký sinh trùng gây ra bởi loài *Babesia* spp. trên vật nuôi.

*** Một số đặc điểm dịch tễ của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp.**

Đơn bào đường máu *Theileria* spp. được lây truyền qua các loài ve họ *Ixodidae* như *Ixodes* spp., *Amblyomma* spp., *Haemaphysalis* spp., *Hyalomma* spp., *Rhipicephalus* spp. và gây bệnh cho các loài động vật có vú (Bishop và ctv, 2004). Vật nuôi nhiễm bệnh ở thể cấp tính có các triệu chứng như: sốt, ngừng nhai lại,

sung hạch bạch huyết, tiêu chảy, vàng da, xuất huyết và tỷ lệ chết cao (46% - 100%). Loài *T. orientalis* gây bệnh trên các loài vật nuôi lây lan trên toàn cầu nhưng các quốc gia bị ảnh hưởng bởi bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *T. orientalis* là Úc, New Zealand, Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc và Việt Nam. Nhóm *T. orientalis/T. buffeli* phân bố rộng rãi, đã gây ra một số đợt bùng phát dịch trên bò ở New Zealand, Úc và các quốc gia khác kể từ năm 2010 (WOAH, 2020; Spickler, 2019; Bishop và ctv, 2004). Loài *T. equi* lưu hành ở ngựa phân bố trên toàn thế giới. Chỉ một số ít quốc gia, bao gồm: Nhật Bản, Hoa Kỳ, Canada, Vương quốc Anh, Bắc Âu, Iceland, Greenland, New Zealand và Úc, không có bệnh này lưu hành ở ngựa (Hình 1.9) (WOAH, 2025b).



Hình 1.9. Bản đồ phân bố *T. equi* (WOAH, 2025b)
(Vùng màu xanh lam là vùng loài *T. equi* đang lưu hành)

Odongo và ctv (2010) cho biết, *T. parva* lưu hành ở bò với tỷ lệ nhiễm từ 37% đến 42% tại các vùng lưu hành bệnh sốt Bờ Đông. *T. annulata* lưu hành ở bò với tỷ lệ nhiễm lên đến 50% ở một số nước như: Hy Lạp, Thổ Nhĩ Kỳ, Pakistan, Ethiopia, Nam Sudan, Sudan, Bangladesh, Ai Cập và Tunisia (Valente và ctv, 2022). Các vùng dịch tễ của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *T. annulata* và *T. parva* trên vật nuôi không chồng chéo nhau (Pienaar và ctv, 2011).

Một số yếu tố nguy cơ bao gồm: giống, độ tuổi, tính biệt, vật chủ nhiễm ve/không nhiễm ve, mùa, vị trí địa lý và các biện pháp quản lý đã được xác định là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. trên vật nuôi ở một số nước như: Hy Lạp, Thổ Nhĩ Kỳ, Pakistan... (Atif và ctv, 2022; Ghafar và Amer, 2019; Kouam và ctv, 2010; Balkaya và ctv, 2010). Ở Pakistan, tỷ lệ lưu hành của loài *T. annulata* ở trâu và bò cao nhất vào mùa hè (26,4%) và thấp nhất vào mùa đông (2,1%). Trâu và bò nhiễm ve trên cơ thể (18,8%; 22,8%) nhiễm ký sinh trùng đường máu cao hơn so với trâu và bò không nhiễm ve trên cơ thể (5,2%; 5,9%) (Atif và ctv, 2023). Động vật nuôi bằng hình thức chăn thả hoàn toàn có tỷ lệ nhiễm bệnh cao hơn (15,6%) so với hình thức bán chăn thả (5,0%) hoặc hình thức nuôi nhốt (2,6%). Vật nuôi nhiễm ve có tỷ lệ mắc bệnh cao hơn (21,7%) so với vật nuôi không nhiễm ve (1,7%) ($p < 0,001$) (Khan và ctv, 2024; Niaz và ctv, 2021).

1.1.4. Một số đặc điểm dịch tễ học của ve

Ve có hai loại ve là ve cứng (*Ixodidae*) chiếm 80% và ve mềm (*Argasidae*) chiếm 20% số lượng phân bố, 884 loài ve đã được tìm thấy. Ve ký sinh chủ yếu trên động vật máu nóng, tuy nhiên cũng được báo cáo trên cả các loài bò sát như tê tê (Dao và ctv, 2024; Getahun và ctv, 2016). Ve cứng đóng vai trò quan trọng trong việc truyền lây các loài đơn bào ký sinh, vi khuẩn và virus lây qua đường máu. Ve cứng có 6 giống ve gồm: *Hyalomma* spp., *Haemaphysalis* spp., *Rhipicephalus* spp., *Amblyomma* spp., *Dermacentor* spp. và *Ixodes* spp... Các loài ve cứng đều trải qua 4 giai đoạn khác nhau trong vòng đời gồm trứng, ấu trùng, thiếu trùng và ve trưởng thành. Ve cứng có thể là ve 1 vật chủ như ve *R. (B) microplus*, ve 2 vật chủ hoặc ve 3 vật chủ (CDC, 2017).

Các tác giả (Đặng Tuấn Đạt và Nguyễn Văn Châu, 2007; Phan Trọng Cung, 2001) cho biết, Việt Nam có 8 giống ve cứng gồm: *Amblyomma* spp., *Aponomma* spp., *Boophilus* spp., *Dermacentor* spp., *Haemaphysalis* spp., *Ixodes* spp., *Rhipicephalus* spp., *Hyalomma* spp. và 62 loài ve đã được định loại bằng hình thái học. Theo Phạm Sỹ Lăng và ctv (2015), các loài ve còn truyền một số bệnh quan

trọng cho trâu, bò, cũng như động vật nhai lại khác như: bệnh lê dạng trùng (Babesiosis), bệnh biên trùng (Anaplasmosis) và bệnh thê lê trùng (Theileriosis). Nghiên cứu về đặc tính của ve cho thấy, phần lớn ve hoạt động mạnh khi thời tiết ẩm áp, độ ẩm cao trong năm và chuyển ngủ đông khi thời tiết lạnh. Để hoàn thiện vòng đời, ve có thể bò lên cây cỏ đợi vật chủ đi qua để bám vào, như các giống ve: *Rhipicephalus* spp., *Haemaphysalis* spp. và *Ixodes* spp. hoặc ve chủ động tìm kiếm vật chủ ở xung quanh hoặc gần đó như giống ve *Amblyomma* spp. (Walker, 2003).

Ve *R. (B) microplus* là ve một vật chủ, chiếm > 84% tổng số các loài ve và đã được ghi nhận là truyền cả *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. (Hornok và ctv, 2024; Spickler, 2007). Ve có thể hoàn thành vòng đời trong vòng 3 – 4 tuần và thường nhiễm với cường độ cao trên các loài vật nuôi, đặc biệt là bò - vật chủ ưa thích của ve *R. (B) microplus*. Ve phát triển, hoàn thành vòng đời với số lượng cao nhất vào mùa hè. Trứng và ấu trùng có thể bị gió thổi sang các khu vực khác. *Babesia* spp. đã được báo cáo lây truyền qua trứng ve *R. (B) microplus* nên khi ve phát triển từ giai đoạn trứng đến ấu trùng, thiếu trùng, các giai đoạn này đều có thể truyền bệnh. Từ đó, ve vừa là véc tơ truyền bệnh, vừa tác nhân gây bệnh ở ngoài môi trường (Bock và ctv, 2004; Walker, 2003; Nithikathkul và ctv, 2002).

Mùa phát triển của ve ảnh hưởng đến mùa lây lan của bệnh. Ở các khu vực có ve hoạt động mạnh, tỷ lệ bò bị nhiễm *Babesia* spp. cao và gây nhiều thiệt hại kinh tế cho ngành chăn nuôi bò sữa (Springer và ctv, 2024). Vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể đã được ghi nhận là một trong các yếu tố nguy cơ liên quan đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. ở vật nuôi trên thế giới (Khan và ctv, 2024; Niaz và ctv, 2021). Ở Pakistan, Farooqi và ctv (2017) cho biết, bò nhiễm ve có nguy cơ nhiễm loài *T. annulata* cao hơn 2,5 lần so với ở bò không bị nhiễm ve. Hosseini và ctv (2014) cho biết, *Anaplasma* spp. lưu hành trên ve *Rh. sanguineus* với tỷ lệ nhiễm 68,75% và lưu hành trên người ở độ tuổi 15 - 78 tuổi với tỷ lệ nhiễm là 25%. Kết quả giải trình tự gen 16S rDNA cho thấy *A. ovis*, *A. bovis* lưu hành ở trên ve và *A. ovis* lưu hành trên người tại Iran.

1.2. Đặc điểm sinh học phân tử của loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp.

1.2.1. Đặc điểm sinh học phân tử của loài *Anaplasma* spp.

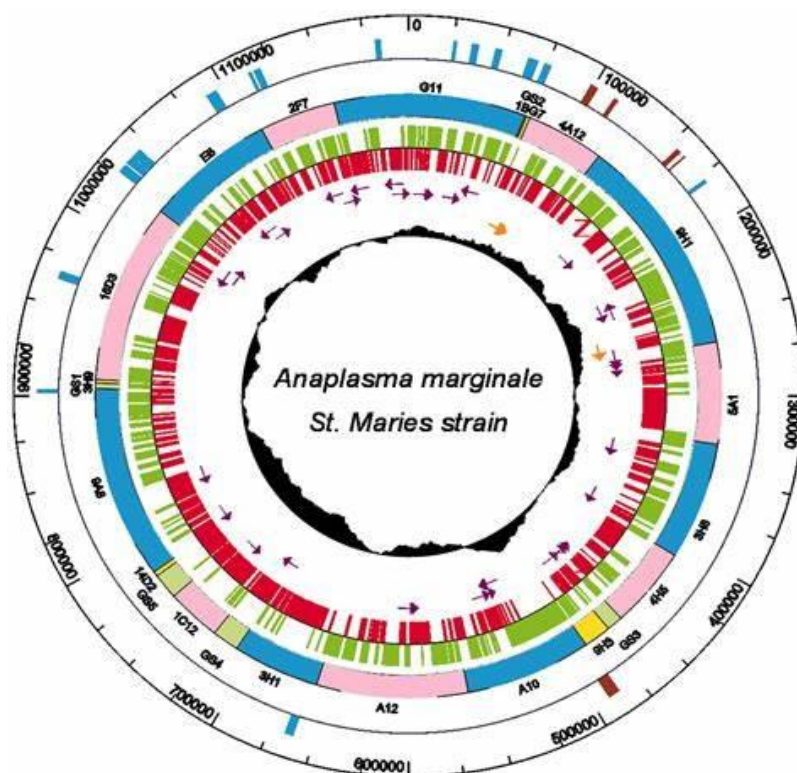
Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia ở Mỹ (NCBI) cho biết, đến nay cơ sở dữ liệu có tổng cộng 12.176 trình tự nucleotide gen 16S rRNA của loài *Anaplasma* spp. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) tính đến ngày 09/08/2024. Tính đến năm 2021, 31 và 23 bộ gen hoàn chỉnh của 2 loài *A. phagocytophilum* và *A. marginale* đã lưu trữ trên Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>). Ngoài ra, một bộ gen hoàn chỉnh của ba loài *A. centrale*, *A. ovis* và *A. platys* đã được xác định. Bộ gen hoàn chỉnh của loài *A. bovis*, *A. capra* và *A. odocoilei* vẫn chưa được giải trình tự. Các gen thường được sử dụng để xác định thành phần loài *Anaplasma* spp. gồm: 16S rRNA, *glfA*, *groEL* và *msp4*. Trong đó, gen 16S rRNA là tốt nhất vì sự biến đổi cao và bộ dữ liệu tích lũy giữa các loài để so sánh phân tích phả hệ và quan hệ về loài (Zhang và ctv, 2020). Một số đặc điểm chung của bộ gen *Anaplasma* spp. được tổng hợp ở bảng 1.1 (Liu và ctv, 2019).

Bảng 1.1. Một số đặc điểm bộ gen của loài *Anaplasma* spp.

Loài	<i>A. ovis</i> Str Haibei	<i>A. marginale</i> Str St. Maries	<i>A. centrale</i> Str Israel	<i>A. phagocytophilum</i> Str HZ
Tổng bazo	1.214.674	1.197.687	1.206.810	1.471.282
CDS Số lượng	933	949	925	1.066
tRNAs	37	37	37	37
nc RNAs	3	3	3	3
rRNAs	3	3	3	3
tmRNA	1	1	1	1
Pseudogenes	44	20	24	111
Functional pseudogenes	15	14	16	75
Mã hóa %	83	85,4	84,4	68,2
GC %	49	49,9	50	42,6

Bộ gen đầu tiên của *A. marginale* được công bố vào năm 2005 (Hình 1.10) cho thấy, lớp vỏ bề mặt được cấu tạo bởi nhiều protein bề mặt, gồm một số protein

màng ngoài, hai bộ gen mã hóa các protein chiếm ưu thế miễn dịch, protein bề mặt chính 1 (*msp1*) và các siêu protein bề mặt 2 (*msp2*). Bộ gen hình tròn của *A. marginale* St. Maries chứa 1.197.687 bp và có hàm lượng G+C là 49,8% gần với mức được xác định trước đó bằng phân tích quang phổ (56 mol%) (Brayton và ctv, 2005).



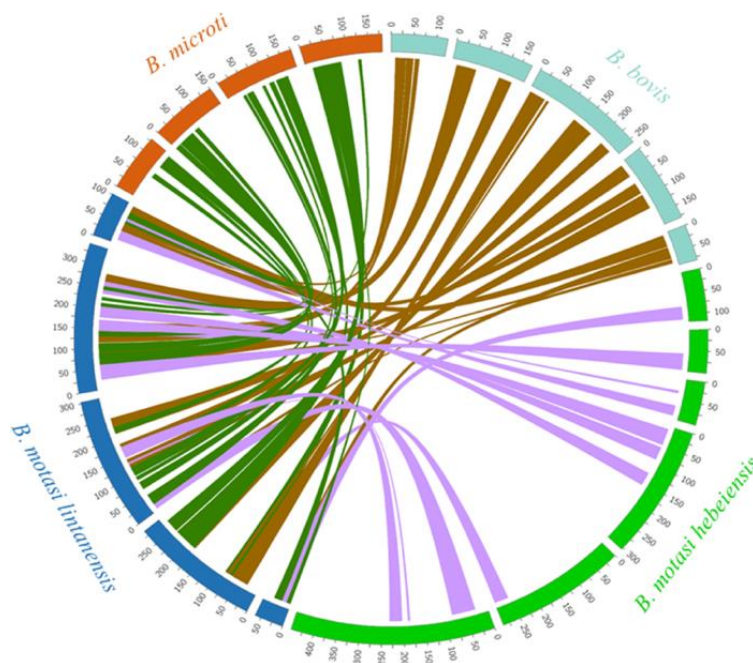
Hình 1.10. Bộ gen của *A. marginale* (Brayton và ctv, 2005)

Nair và ctv (2013) cho biết, sử dụng phương pháp PCR nhân gen *msp5* để định danh *A. marginale* với cặp mồi đặc hiệu cho độ dài sản phẩm là 457 bp và sử dụng phương pháp nested PCR nhân gen 16S rDNA để định danh *A. bovis* với cặp mồi đặc hiệu cho độ dài sản phẩm lần lượt là 1500 bp (vòng 1) và 551bp (vòng 2). Bộ gen của *A. phagocytophilum* là nhiễm sắc thể vòng một sợi kép, bộ gen hoàn chỉnh ước lượng khoảng 1,47 megabase (Mbp) chứa 41,63% hàm lượng G + C gồm 1369 đoạn mở và 458 protein nhưng không có bất kỳ plasmid liên quan nào.

1.2.2. Đặc điểm sinh học phân tử của loài Babesia spp.

Theo Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia ở Mỹ (NCBI) thì trong cơ sở dữ liệu có tổng số 5334 trình tự nucleotide gen 18S rRNA của *Babesia* spp. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) cho đến ngày 09/08/2024. Các gen mã hóa

protein rRNA PCG hoặc 18S đơn hoặc gen ghép nối hoặc kết hợp đều được sử dụng trong phân tích phân loài, quan hệ về loài của các loài và nguồn gốc xuất xứ. Hình ảnh minh họa kiểu gen của loài *Babesia* spp. thể hiện ở hình 1.11 (Wang và ctv, 2023).



Hình 1.11. Hình ảnh minh họa kiểu gen của loài *Babesia* spp. (Wang và ctv, 2023)

Gen 18S rRNA được sử dụng trong chẩn đoán sinh học phân tử *Babesia* spp., *Theileria* spp. với độ dài sản phẩm của *Babesia* spp. là gần 400 bp (393 - 408 bp) và độ dài sản phẩm của *Theileria* spp. là hơn 400 bp (418 - 424 bp). Phương pháp PCR nhân gen 18S rRNA chẩn đoán nhanh, đặc hiệu, tiết kiệm chi phí và có độ nhạy cao để sàng lọc ban đầu các loài ký sinh trùng đường máu lây nhiễm cho động vật, cho phép phát hiện trong DNA tổng số được tách từ mẫu máu chống đông của động vật ở nồng độ thấp tới 39 picogram (pg) DNA và thường được sử dụng cho các nghiên cứu dịch tễ học quy mô lớn (Nehra và ctv, 2022).

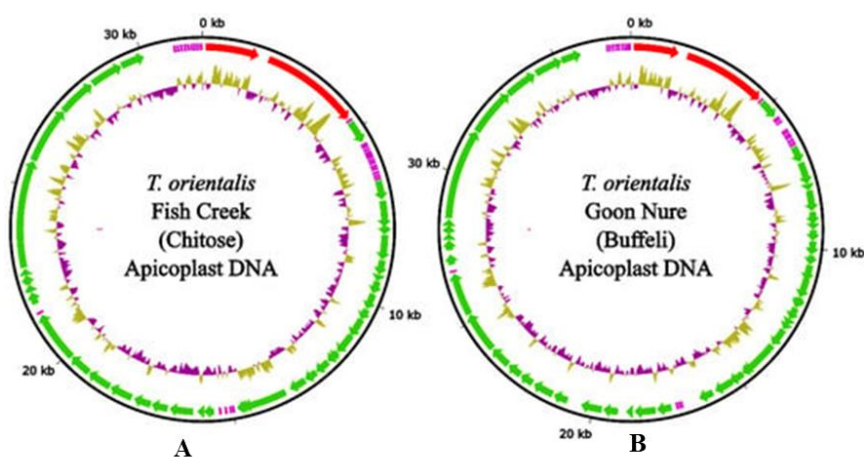
Ở Thái Lan, nhóm nghiên cứu sử dụng phương pháp PCR nhân gen ITS1-5.8S phát hiện *Babesia* spp. trên bò. Kết quả cho thấy, loài *B. bovis*, *B. bigemina* có tỷ lệ lưu hành ở bò lần lượt là 11,1% và 12,5%. Phương pháp PCR nhân gen *B. bovis* - ITS và *B. bigemina* - ITS đã được sử dụng để giải trình tự gen và phân tích phát sinh loài *Babesia* spp. trên bò (Jirapattharasate và ctv, 2017).

1.2.3. Đặc điểm sinh học phân tử của loài *Theileria* spp.

Theo Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia ở Mỹ (NCBI), trong cơ sở dữ liệu có tổng số 3843 trình tự nucleotide gen 18S rRNA của loài *Theileria* spp. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) tính đến ngày 09/08/2024.

Các phương pháp nhân gen gồm: RNA ribosome 23S, RNA ribosome 18S và gen protein bề mặt piroplasma chính (Major Piroplasma Surface Protein - MPSP) thường sử dụng để xác định thành phần loài và phân tích phát sinh loài của các loài *Theileria* spp. Các loài *Theileria* spp. gây ra bệnh trên bò gồm: *T. annulata*, *T. parva*, *T. mutans*, phức hợp *T. orientalis* (*orientalis/sergenti/buffeli*), *T. velifera*, *T. tarurotragi*, *T. sinensis* (8 - 13). *Theileria* spp. có kích thước bộ gen tương đối nhỏ như: *T. annulata* (chủng Ankara, 8,36 Mbp); *T. orientalis* (chủng Shintoku, 9,01 Mbp); *T. equi* (chủng WA; 11,67 Mbp); *T. parva* (10 - 12 Mbp) (Nene và ctv, 1998).

Kết quả giải trình tự gen 18S rRNA của *T. orientalis* cho thấy, các chuỗi nucleotide này có kích thước từ 1437 đến 1468 bp. Các chuỗi gen 18S rRNA của loài *T. orientalis* có độ dài chuỗi nucleotide hoàn chỉnh hoặc một phần chủ yếu được báo cáo ở các nước Châu Á (Myanmar), Úc, New Zealand, Brazil và ít thấy ở Châu Âu, Bắc Mỹ và Châu Phi (Bawm và ctv, 2021; Bhoora và ctv, 2009). Loài *T. orientalis* có 11 kiểu gen đã được xác định là: chitose hoặc loài 1, ikeda hoặc loài 2, buffeli hoặc loài 3, loài 4 đến 8 và N1 đến N3) (hình 1.12). Trong đó, *T. orientalis* kiểu gen chitose và ikeda gây nên thể bệnh nặng (Yam và ctv, 2022).



Hình 1.12. Đặc điểm sinh học phân tử của *T. orientalis* (Yam và ctv, 2022)
(A: kiểu gen chitose hoặc loài 1; B: kiểu gen buffeli hoặc loài 3)

Ola-Fadunsin và ctv (2021) cho biết, sử dụng phương pháp PCR nhân gen MPSP (protein bề mặt piroplasma chính) để chẩn đoán phát hiện *Theileria* spp. trên bò. Kết quả cho thấy, *T. orientalis* lưu hành ở bò với tỷ lệ nhiễm là 36,5% và giải trình tự gen MPSP cho thấy *T. orientalis* phân lập từ bò gồm 8 loại MPSP: 1, 2, 3, 4, 5, 7, N1 và N2. Đây là báo cáo đầu tiên về kiểu gen MPSP mới của loài *T. orientalis* là N1 và N2 ở bò tại Trung Quốc.

Trong 312 trình tự gen của loài *T. annulata* có 70 trình tự gen gần như hoàn chỉnh (> 1.527 bp) đã lưu trữ trên ngân hàng gen thế giới được sử dụng để chỉnh sửa nhiều trình tự gen. Trong đó, trình tự gen 18S rRNA của loài *T. annulata* và *T. orientalis* ở mức độ bảo tồn trình tự cao cho kết quả chính xác cao, hoàn chỉnh và không bị nhầm giữa các loài *Theileria* spp. với nhau (Nehra và ctv, 2022).

Kết quả giải trình tự gen 18S rRNA của loài *T. annulata* đã được báo cáo ở một số nước như Ấn Độ, Pakistan và Ả Rập Xê Út (Alanazi và ctv, 2021; George và ctv, 2015; Khan và ctv, 2013). Trong đó, kết quả giải trình tự gen 18S rRNA của *T. annulata* ở bò (LC439356, Ấn Độ) có 100% tính đồng nhất và tương đồng với trình tự của các loài *T. annulata* phân lập từ Ấn Độ, Myanmar, Malaysia, Indonesia và Trung Quốc (Hossain và ctv, 2023).

Ở Pakistan, Khan và ctv (2013) cho biết, đặc điểm sinh học phân tử của gen 18S rRNA và vùng ITS của loài *T. annulata* lần đầu tiên được xác định lưu hành ở trâu và bò. So sánh 54 trình tự gen 18S rRNA của loài *T. annulata* có nguồn gốc từ các nước như Ấn Độ, Trung Quốc, Thổ Nhĩ Kỳ và Iran bao gồm cả chủng vaccine S15 của Iran (KF429795) cho thấy, tính đồng nhất nucleotide nội loài của *T. annulata* là 98,8% - 100%. So với các kiểu gen của các loài *Theileria* spp. khác lây nhiễm cho động vật nhai lại thì kiểu gen của loài *T. annulata* có tính đồng nhất nucleotide cao nhất (98,8% - 99,6%) (Nehra và ctv, 2022).

Kết quả giải trình tự gen 18S rDNA cho thấy, *T. equi* chia thành 5 nhánh khác nhau (nhánh A, B, C, D và E) thể hiện sự đa dạng di truyền của loài này (WOAH, 2025b; Tirosh và ctv, 2020). Một số kiểu gen của *T. equi* chỉ được tìm thấy trên ngựa vằn và linh dương và không được tìm thấy trên ngựa bản địa. Nhiều kiểu gen của *T. equi* thường xuất hiện ở các vùng địa lý đặc trưng, khiến cho việc

đánh giá độc lực của từng chủng *T. equi* trở nên khó khăn, với giả định chung rằng tất cả các kiểu gen (chủng) đều có độc lực và bệnh lý tương tự nhau (Bishop và ctv, 2020; Mans và ctv, 2015). Trong tổng số 14792 trình tự nucleotide của loài *T. equi* trên GenBank, có 736 trình tự gen của loài *T. equi* chứa vùng V4 hoàn chỉnh của gen 18S rRNA (>207 bp) đã được sử dụng nhiều trong chỉnh sửa gen. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *T. equi* cho thấy, tất cả các trình tự gen tạo thành 4 nhánh (A, B, C và D) với giá trị bootstrap cao, thể hiện sự đa dạng di truyền của loài này. Trong 04 kiểu gen của loài *T. equi* thì *T. equi* B là kiểu gen chiếm ưu thế nhất (52,85%), tiếp theo là *T. equi* A (27,58%), *T. equi* C (9,78%) và *T. equi* D (9,78%). Kiểu gen *T. equi* C biểu hiện sự đa dạng di truyền cao hơn (91,1% - 100%), tiếp theo là *T. equi* A (93,2% - 99,5%) và *T. equi* B, *T. equi* D (95,7% - 100%). Kiểu gen *T. equi* A và C phân bố ở 31 và 13 quốc gia của Châu Á, Châu Phi, Châu Âu, Bắc Mỹ và Nam Mỹ. Ngược lại, kiểu gen *T. equi* B và D phân bố ở 21 và 12 quốc gia của châu Á, châu Phi và châu Âu. Kiểu gen *T. equi* A và C chỉ được báo cáo từ hai châu lục là Bắc Mỹ và Nam Mỹ (Nehra và ctv, 2024).

Phương pháp định danh sinh học phân tử nhân gen ITS1 và ITS2 đã được sử dụng để phân biệt chủng và xác định thành phần loài ở các chủng khác nhau, có giá trị tin cậy trong việc phân tách phát sinh loài rời rạc hơn giữa các loài có liên quan chặt chẽ, nhận biết loài mới, xác định tính đặc hiệu giữa các chủng phân lập, phân biệt trong một loài *Theileria* spp. và phân biệt giữa các loài *Theileria* spp. với nhau. Sử dụng phương pháp PCR nhân gen vùng giao gen ITS2 để phân biệt 2 loài *Theileria ikeda* (133bp) với *Theileria buffeli/chitose* (139bp). Phương pháp nhân gen ITS1 và ITS2 là phương pháp có độ nhạy và độ đặc hiệu cao trong phân tích dịch tễ học (Kamau và ctv, 2011).

1.3. Phương pháp chẩn đoán bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp.

Theo Tiêu chuẩn Quốc gia (2015), quy trình chẩn đoán bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên động vật gồm: nhuộm giemsa, phương pháp ELISA (phép thử miễn dịch liên kết enzym), phương pháp kháng thể huỳnh quang gián tiếp (IFAT), phương pháp PCR.

*** Phương pháp nhuộm giemsa**

Chẩn đoán bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên động vật bằng phương pháp nhuộm giemsa được thực hiện như sau: Làm tiêu bản máu giọt đặc hoặc dàn mỏng, cố định tiêu bản máu bằng cồn methanol, nhuộm giemsa, nhỏ 1 giọt dầu vào tiêu bản và xem bằng kính hiển vi quan sát dựa vào đặc điểm hình thái học của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trong hồng cầu, bạch cầu để chẩn đoán. Hiện nay phương pháp nhuộm soi vẫn là một kỹ thuật truyền thống và được áp dụng rộng rãi để chẩn đoán bệnh trên thế giới.

*** Phương pháp kháng thể huỳnh quang gián tiếp IFAT**

Trong nhiều trường hợp, để phát hiện phức hợp kháng nguyên - kháng thể, cần phải sử dụng một số kỹ thuật miễn dịch mới nhìn thấy được. Phương pháp kháng thể huỳnh quang gián tiếp IFAT dùng kháng kháng thể đã được nhuộm chất phát huỳnh quang để phát hiện kháng nguyên cần chẩn đoán. Trong phương pháp này có ba thành phần tham gia là kháng nguyên cần chẩn đoán, kháng thể đặc hiệu và kháng kháng thể đã gắn chất phát huỳnh quang. Do đó, phương pháp này còn được gọi là phương pháp hai lớp.

*** Phương pháp phép thử miễn dịch liên kết enzym (ELISA)**

Phương pháp ELISA là một trong những phương pháp hiện đại được ứng dụng để chẩn đoán bệnh ký sinh trùng đường máu trên vật nuôi và đang được sử dụng rộng rãi ở các nước trên thế giới. Trong phương pháp này, người ta dùng kháng thể hoặc kháng thể kháng globulin (kháng kháng thể) có mang một enzyme (phosphatase hoặc peroxydase) được gắn lên mảnh Fc, cho kết hợp trực tiếp hoặc gián tiếp với kháng nguyên. Sau đó, cho cơ chất sinh màu vào, cơ chất sẽ kết hợp với enzyme và bị phân hủy tạo nên màu. So sánh với màu của quang phổ kế sẽ định lượng được mức độ của phản ứng.

*** Phương pháp phát hiện DNA của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. bằng kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction)**

Các kỹ thuật PCR, Realtime - PCR, multiplex - PCR... đã được nhiều tác giả trên thế giới phát triển và ứng dụng vào chẩn đoán bệnh trên động vật, đáp ứng

được nhu cầu chẩn đoán nhanh, chính xác bệnh cũng như định loài được mầm bệnh. Tuy nhiên, nhược điểm của kỹ thuật PCR là sự tạp nhiễm trong quá trình khuếch đại có thể dẫn đến sự khuếch đại sai lệch sản phẩm, làm sai lệch kết quả chẩn đoán. Từ đó, kỹ thuật nested PCR (PCR lồng/PCR hai vòng) được cải tiến từ kỹ thuật PCR thông thường để giúp giảm thiểu sự tạp nhiễm sản phẩm khuếch đại. Nguyên lý của phản ứng nested PCR (nPCR) bao gồm một quy trình hai bước phản ứng, sử dụng hai cặp mồi riêng biệt. Mồi ngoài (outer-primer) dùng cho pre-PCR (PCR vòng ngoài), khuếch đại toàn bộ trình tự đích để thu được amplicon chính. Trong lần khuếch đại thứ 2 (PCR vòng trong), một cặp mồi bên trong (inner primer) được sử dụng để khuếch đại trình tự đích bên trong amplicon chính. Sản phẩm khuếch đại của PCR vòng ngoài được dùng làm khuôn cho phản ứng PCR vòng trong. Phản ứng nPCR được thiết kế với mục đích gia tăng độ nhạy và độ đặc hiệu của phản ứng PCR. Kỹ thuật nPCR gia tăng độ nhạy của phản ứng nhờ tổng số chu kỳ được thực hiện nhiều hơn. Độ nhạy của nPCR có thể cao hơn hàng ngàn lần so với độ nhạy của kỹ thuật PCR thông thường. Điều này đặc biệt hữu ích cho việc lựa chọn kỹ thuật xét nghiệm, chẩn đoán xác định tác nhân gây bệnh hiện diện trong mẫu với số lượng thấp (Green và Sambrook, 2019).

1.4. Một số biện pháp phòng bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp.

1.4.1. Phòng bệnh bằng vaccine

+ Vaccine phòng bệnh do *Anaplasma* spp. và *Babesia* spp. gây ra.

Phòng bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. và *Babesia* spp. trên các loài vật nuôi chủ yếu là sử dụng vaccine. Vaccine *A. centrale* sống được sử dụng rộng rãi nhất do khả năng miễn dịch kéo dài trong nhiều năm sau một lần tiêm vaccine này. Các quốc gia gồm: Úc và một số quốc gia ở Nam Mỹ, Đông Nam Á và Trung Đông thường sử dụng *A. centrale* làm vaccine chống lại *A. marginale* để phòng bệnh cho vật nuôi (WOAH, 2024).

Vaccine phòng bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. trên vật nuôi bao gồm các chủng *B. bovis*, *B. bigemina* hoặc *B. divergens* sống, giảm độc lực được sản xuất từ máu của động vật hiến tặng bị nhiễm bệnh hoặc

bằng cách nuôi cấy trong ống nghiệm tại một số quốc gia. Đối với vaccine sản xuất từ chủng *Babesia* spp. sống nên hạn chế sử dụng cho bê dưới một tuổi, vì những con vật này có khả năng miễn dịch không đặc hiệu. Khả năng miễn dịch phát triển trong 3 - 4 tuần. Một lần tiêm vaccine thường cung cấp khả năng miễn dịch suốt đời. Tổ chức Thú y thế giới (WOAH) khuyến cáo nên sử dụng từng loại vaccine phòng ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. và *Anaplasma* spp. cho vật nuôi để tăng hiệu quả của vaccine (WOAH, 2021).

Hiện nay, chưa có vaccine phòng ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. cho vật nuôi. Do đó, Tổ chức Thú y Thế giới (WOAH, 2020) khuyến cáo nên sử dụng thuốc xua đuổi hóa học và quản lý môi trường sống, các biện pháp phòng ngừa và kiểm soát dựa trên cá nhân và môi trường, lựa chọn vật chủ có khả năng kháng ve tốt hơn và vaccine để kiểm soát, tiêu diệt ve. Để chống lại các loài ve - vừa là ký sinh trùng hút máu, vừa là véc tơ truyền bệnh, các nhà khoa học đã nghiên cứu và chế tạo vaccine tái tổ hợp. Hiện nay, vaccine kháng nguyên Bm86 GAVAC® đang được bán trên thị trường, dưới dạng nhũ tương kếp cho gia súc, sử dụng lặp lại ba lần kết quả cho thấy số lượng ve giảm 97% (Fuente và ctv, 2007).

1.4.2. Phòng bệnh bằng phương pháp kiểm soát và tiêu diệt véc tơ truyền bệnh

Theo Vivas và ctv (2017), ở Mexico thường sử dụng kết hợp các loại thuốc diệt ve khác nhau như flumethrin với cyfluthrin, chlorpyrifos với permethrin và cypermethrin với cymiazole đã có sẵn trên thị trường để kiểm soát ve. Ở Uganda, tất cả các loại thuốc diệt ve được sử dụng để kiểm soát và diệt ve, 37% các chế phẩm có thành phần là amitraz (Vudriko và ctv, 2016). Amitraz có hiệu quả trong việc kiểm soát ve, tuy nhiên khả năng kháng amitraz đã được phát hiện ở ve *R. (B) microplus* và các loài *Rhipicephalus* spp. khác ở Úc, Nam Mỹ (Vudriko và ctv, 2016; Jonsson và Hope, 2007).

Hóa dược pyrethrin và pyrethroid có tác dụng diệt trừ ve và côn trùng phổ rộng và đặc biệt là các loại ruồi, ve, rận, bọ chét trên vật nuôi. Nồng độ pyrethrin trong các sản phẩm diệt côn trùng dạng tấm, xịt trực tiếp thường nằm trong khoảng 0,05 đến 0,2. Đối với các sản phẩm đậm đặc kèm chỉ định pha loãng trước khi sử dụng thì nồng độ hoạt chất cũng không được vượt quá 2%. Các sản phẩm diệt ve

và côn trùng gốc pyrethrin thường được kết hợp với hoạt chất nhóm pyrethroid tổng hợp nhằm tăng hiệu quả và kéo dài thời gian hiệu lực (permethrin, resmethrin, sumithrin, d-trans-allevethrin). Trong đó, permethrin là hóa dược được sử dụng rộng rãi nhất. Hóa dược permethrin 5% và 10% có hiệu quả trong diệt ve ở ngựa (Bhoora và ctv, 2009). Tuy nhiên, tình trạng kháng thuốc ở các loài *Rhipicephalus* spp. đã được ghi nhận tại 11 nước ở khu vực Đông Nam Á, gây nên những rủi ro tiềm ẩn liên quan. Việc sử dụng quá mức các hóa chất này đã khiến quần thể ve phát triển khả năng kháng với các loại hóa chất diệt ve. Do đó, việc áp dụng các phương pháp kiểm soát ve thay thế gồm luân phiên thuốc diệt ve, luân phiên đồng cỏ, vaccine phòng chống ve, phát triển khả năng kháng ve của vật chủ và sử dụng hóa dược chiết xuất thực vật nên được phát triển ở khu vực Đông Nam Á (Tan và ctv, 2021).

Ở Mexico, ve *R. (B) microplus* đang phát triển các mức độ kháng ivermectin khác nhau, phương pháp điều trị sử dụng ivermectin, một loại thuốc ký sinh trùng phổ biến đang trở nên kém hiệu quả hơn qua từng năm (Fernández và ctv, 2012).

Bên cạnh, việc sử dụng hóa dược để kiểm soát ve, diệt ve trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu tiến hành tìm kiếm, phát triển các loài thiên địch diệt ve như nấm... Tinh dầu chiết xuất từ cây tỏi (*Allium sativum*) có hiệu quả 90% - 100% trong việc tiêu diệt ấu trùng *R. (B) microplus* (Martinez - Velazquez và ctv, 2011). Nấm *Endophytic* có thể sử dụng để kiểm soát sự phát triển của ve bò *R. (B) microplus* (Campos và ctv, 2010). Ngoài ra, việc kiểm tra cẩn thận vật nuôi để tìm ve bám vào, bắt và diệt ve trên cơ thể vật nuôi là một phương pháp kiểm soát ve đơn giản nhưng hiệu quả (Fernández và ctv, 2012).

1.4.3. Quản lý động vật nhập khẩu

Tổ chức Thú y Thế giới (WOAH) cho biết, bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. và *T. equi* đã được đưa vào danh sách các bệnh ký sinh trùng đường máu ở bò, ngựa bắt buộc phải khai báo. Để nhập khẩu gia súc từ một vùng có dịch bệnh, cần phải có giấy chứng nhận sức khỏe để ngăn chặn sự di chuyển chéo của ve và các bệnh ký sinh trùng đường máu do ve gây ra (WOAH, 2025b; WOAH, 2024). Điều này dẫn đến các hạn chế di chuyển trong nước và quốc tế. Bệnh ký sinh trùng đường máu ở ngựa gây ra bởi loài *T. equi* có tác động

lớn đến quá trình vận chuyển ngựa ở các nước trên thế giới, ngựa có huyết thanh dương tính với *T. equi* khi xét nghiệm không thể nhập cảnh vào các quốc gia không có bệnh (Santos và ctv, 2019). Một số quốc gia không có sự lưu hành bệnh ký sinh trùng đường máu ở ngựa (Hoa Kỳ, Úc và Nhật Bản) không nhập khẩu, xuất khẩu ngựa và cách ly đối với động vật dương tính trong nước khi xét nghiệm. Ngoài việc cách ly, ngựa được vận chuyển từ vùng có sự lưu hành của bệnh sang vùng không có sự lưu hành của bệnh thường được điều trị bằng thuốc diệt ve để ngăn ngừa sự xâm nhập của ve (Tirosh và ctv, 2020).

1.4.4. Phương pháp tiếp cận Một sức khỏe

Một số nước trên thế giới đã áp dụng phương pháp tiếp cận một sức khỏe, như Châu Phi, Ai Cập... thực hiện các nghiên cứu dịch tễ học toàn diện về bệnh truyền lây qua ve, đánh giá tất cả các loài vật chủ gồm: động vật, con người và động vật hoang dã và các loài véc tơ truyền bệnh (ve) trong cùng một vùng sinh thái bằng cách nâng cao năng lực chẩn đoán xét nghiệm ở các cơ sở. Nghiên cứu chuyên sâu sử dụng phương pháp chẩn đoán bằng kỹ thuật sinh học phân tử, đặc biệt là Next Generation Sequencing (NGS) sẽ cho phép phát hiện đồng thời các mầm bệnh mới và đã biết khác nhau (Abdelbaset và ctv, 2022).

Karshima và ctv (2022b) cho biết, để kiểm soát xu hướng gia tăng của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên vật nuôi và con người, cần kiểm soát ve ở các khu vực định cư của con người, sử dụng quần áo bảo hộ cho những người chăn nuôi ở các quốc gia lưu hành bệnh ký sinh trùng đường máu trên vật nuôi và con người.

1.5. Tình hình nghiên cứu bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên thế giới

Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. trên nhiều loài động vật đã lan rộng khắp thế giới với nhiều loài *Anaplasma* spp. khác nhau lưu hành trên nhiều loài động vật với tỷ lệ từ 1,09% đến 97,9%. Tỷ lệ lưu hành của loài *Anaplasma* spp. trên các loài vật nuôi khác nhau tùy thuộc vị trí địa lý (Rar và ctv, 2021). Loài *A. phagocytophilum* là loài được báo cáo nhiều nhất trong tất cả các loài *Anaplasma* spp. do khả năng lây truyền bệnh của loài *A. phagocytophilum*

ở tất cả các loài động vật và con người (Karlsen và ctv, 2020). Ở Thái Lan, *A. platys* và *A. marginale* là 2 loài truyền lây từ động vật sang người đã được ghi nhận lưu hành ở bò với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 3,2%; 17,6% (Seerintra và ctv, 2023).

Các loài *A. marginale*, *Babesia* spp., *T. annulata* lưu hành trên trâu, bò ở Ấn Độ với tỷ lệ nhiễm từ 1,90% đến 23,70% (Fatima và ctv, 2024). Ở Philippines, *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. đã được báo cáo lưu hành trên dê với tỷ lệ nhiễm từ 38,64% đến 77,02% (Galon và ctv, 2022a).

Babesia spp. đã được ghi nhận lưu hành ở trâu và bò tại một số nước trong khu vực Đông Nam Á với nhiều loài *Babesia* spp. khác nhau. Trâu ở các nước Đông Nam Á (Việt Nam, Philippines, Thái Lan và Indonesia) chủ yếu nhiễm *B. bovis* và *B. bigemina* với tỷ lệ dao động từ 2,3% - 32,70%. Trong đó, trâu nhiễm *B. bovis* với tỷ lệ cao nhất là 32,70% (PCR) ở Việt Nam. Trâu nhiễm *B. bigemina* với tỷ lệ cao nhất ở Indonesia (17,50%, cPCR), thấp nhất ở Thái Lan (3,60%, nPCR). Bò ở các nước Đông Nam Á (Indonesia, Malaysia, Myanmar, Philippines, Thái Lan và Việt Nam) chủ yếu đều nhiễm 2 loài *B. bovis* và *B. bigemina* với tỷ lệ nhiễm dao động từ 1,4% - 61,70%. Trong đó, bò nhiễm *B. bigemina* cao nhất ở Philippines (61,70%, PCR) và bò nhiễm *B. bovis* cao nhất ở Indonesia (50,70%, nPCR) (Galon và ctv, 2022b).

Theileria spp. lưu hành ở trâu, bò, hươu, nai, dê, cừu. Loài *T. orientalis* là loài lây lan trên toàn cầu. Các quốc gia bị ảnh hưởng nhiều bởi bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *T. orientalis* trên động vật là Úc, New Zealand, Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc và Việt Nam. Loài *T. orientalis* (còn gọi là *T. buffeli* và *T. sergenti*) là loài *Theileria* spp. phổ biến nhất ở động vật nhai lại do ve *Rhipicephalus* spp. truyền ở Campuchia, Việt Nam và phần lớn khu vực Đông Nam Á. Ở Malaysia, bò nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ lưu hành 68% - 72% (Haron và ctv, 2015).

Theileria spp. lưu hành trên dê với tỷ lệ nhiễm là 5,0% ở 5 đảo của vùng Caribe. Kết quả giải trình tự gen 18S rRNA của *Theileria* spp. cho thấy, *T. equi* lưu hành trên dê (Zhang và ctv, 2015). Tirosh và ctv (2020) cho biết, *T. equi* lưu hành ở ngựa trên toàn cầu với tỷ lệ nhiễm là 34,55% ($p < 0,001$). Trong đó, tỷ lệ lưu hành của *T. equi* ở ngựa cao nhất ở Nam Mỹ và Châu Phi (56,92%; 38,02%), tiếp theo là Châu Á (29,43%) và Châu Âu (22,26%). Ở Trung Quốc, *Theileria* spp. lưu hành

trên dê, ngựa và bò với tỷ lệ nhiễm từ là 9% đến 100%. Đây là lần đầu tiên, *T. sinensis* và *T. equi* báo cáo lưu hành ở bò và ngựa (Ma và ctv, 2024). Loài *Theileria* spp. và *T. orientalis* lưu hành trên trâu, bò với tỷ lệ nhiễm dao động từ 11,8% đến 44,62% ở Thái Lan và Myanmar (Rakwong và ctv, 2022; Bawm và ctv, 2021).

Một số kết quả nghiên cứu về sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên các loài vật nuôi trong 5 năm từ năm 2020 đến 2025 được tổng hợp và thể hiện ở bảng 1.2.

Bảng 1.2. Một số nghiên cứu về sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên trâu, bò, dê và ngựa

TT	Tác nhân gây bệnh	Phương pháp	Tỷ lệ lưu hành	Vật chủ	Nước
1	<i>Anaplasma</i> spp.	PCR	<i>A. bovis</i> (17,4%) <i>A. platys</i> (16,9%) <i>A. marginale</i> (0,6%)	Bò	Kenya (Okal và ctv, 2020)
2		PCR	<i>A. phagocytophilum</i> (10,9%) <i>A. ovis</i> (5,5%)	Dê	Uganda (Tumwebaze và ctv, 2020)
3		PCR	<i>A. marginale</i> (39,5%)	Dê	Brazil (Barbosa và ctv, 2021)
4		PCR	<i>A. phagocytophilum</i> (21,1%) <i>A. bovis</i> (7,3%)	Bò; dê	Hàn Quốc (Miranda và ctv, 2021)
5		PCR	<i>A. marginale</i> (34,15%) <i>B. bovis</i> (1,22%)	Bò	Thái Lan (Koonyosying và ctv, 2022)
6		PCR	<i>A. marginale</i> (10,0%) <i>A. ovis</i> (49,0%)	Cừu; dê	Pakistan (Atif và ctv, 2023)
7		PCR	<i>A. phagocytophilum</i> (13,8%; 6,3%) <i>A. bovis</i> (22,7%; 11,4)	Dê, bò	Trung Quốc (Zhou và ctv, 2023)
8		PCR	<i>A. marginale</i> (12,72%)	Bò	Thái Lan (Arjentinia và ctv, 2024)

9	<i>Babesia</i> spp.	nPCR	<i>B. bovis</i> (27,3%) <i>B. bigemina</i> (54,7%)	Bò	Argentina (Ganzinelli và ctv, 2020)
10		PCR	<i>B. bigemina</i> (34%; 15,2%; 9%) <i>B. bovis</i> (34%; 20,3%; 16%)	Bò, dê, cừu	Brazil (Moura và ctv, 2024).
11		PCR	<i>Babesia</i> spp. (4,7%)	Bò	Bangladesh (Hossain và ctv, 2023)
12		PCR	<i>B. bovis</i> (3,40%) <i>B. bigemina</i> (4,53%)	Bò	Thái Lan (Adjou Moumouni và ctv, 2023)
13		PCR	<i>B. bovis</i> (7,4%) <i>B. bigemina</i> (39,0%)	Bò	Paraguay (Rojas và ctv, 2025)
14	<i>Theileria</i> spp.	PCR	<i>T. velifera</i> (40,0%) <i>T. mutans</i> (25,7%)	Bò	Kenya (Okal và ctv, 2020)
15		PCR	<i>Theileria</i> spp. (13,4%)	Dê	Uganda (Tumwebaze và ctv, 2020)
16		PCR	<i>T. equi</i> (87,4%)	Ngựa	Trung Quốc (Chen và ctv, 2022)
17		PCR	<i>T. orientalis</i> (36,50%)	Bò	Thái Lan (Koonosying và ctv, 2022)
18		PCR	<i>Theileria</i> spp. (12,2%)	Bò	Bangladesh (Hossain và ctv, 2023)
19		PCR	<i>T. orientalis</i> (23,40%)	Bò	Thái Lan (Adjou và ctv, 2023)
20		PCR	<i>T. orientalis</i> (20,0%)	Bò	Hàn Quốc (Espiritu và ctv, 2024)

1.6. Tình hình nghiên cứu bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* ở Việt Nam

Một số nghiên cứu đã chỉ ra sự tồn tại của các loài ký sinh trùng đường máu *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* ở trâu, bò, ngựa từ những năm 1973, các nghiên cứu này sử dụng phương pháp chẩn đoán hình thái học và huyết thanh học (Sivakumar và ctv, 2013; Altangerel và ctv, 2011; Geurden và ctv, 2008; Phùng Quang Trường và ctv, 2008; Hạ Thúy Hạnh, 1999; Hồ Thị Thuận và ctv, 1983; Phạm Sỹ Lăng (1977; 1973)). Tuy nhiên, những nghiên cứu về bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* ở động vật nhai lại (trâu, bò, dê và ngựa) tại Việt Nam trên các tạp chí trong nước và quốc tế còn ít dữ liệu, chủ yếu là nghiên cứu đơn lẻ.

Theo tác giả Phạm Sỹ Lăng (1977; 1973) cho biết, các loài ký sinh trùng đường máu gồm *A. marginale*, *T. annulata*, *T. mutans*, *B. bigemina*, *B. bovis* đã được ghi nhận lưu hành ở trên bò, trâu với tỷ lệ nhiễm cao. Bò nội Việt Nam là vật mang trùng và lây bệnh ký sinh trùng đường máu cho các bò nhập nội. Trâu và bò tại các tỉnh phía Bắc nhiễm bệnh ký sinh trùng đường máu với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 13,33% và 26,13% (Phan Dịch Lân, 1974). Tại các tỉnh phía Nam - Việt Nam các loài *A. marginale*, *A. centrale*, *B. bigemina*, *B. divergen* lưu hành ở trên bò với tỷ lệ nhiễm từ 30% đến 60% và không phát hiện thấy *Theileria spp.* lưu hành trên bò (Hồ Thị Thuận 1983).

Tại tỉnh An Giang, bò nhiễm ký sinh trùng đường máu với tỷ lệ nhiễm chung là 18,28%. Bò ở tất cả các lứa tuổi đều nhiễm ký sinh trùng đường máu, với tỷ lệ nhiễm tăng lần lượt 9,59%; 11,24%; 21,47%; 32,37% trên các nhóm tuổi tương ứng <1; 1 - 2; 2 - 3; >3 năm tuổi. Bò lai Sind nhiễm ký sinh trùng đường máu cao hơn bò nội với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 25% và 11,56%. Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường máu *A. marginale*, *A. central* và *B. bigemina* ở bò lần lượt là 10,47%, 2,81% và 6,88%. 04 loài véc tơ truyền bệnh đã được định danh gồm ve *R. (B) microplus*, *R. sanguineus*, mòng *Tabanus spp.*, ruồi trâu *Stomoxys calcitrans* ở trên bò và khu vực chuồng nuôi (Nguyễn Hữu Hưng và ctv, 2014).

Theo Nguyễn Thị Hồng Chiên (2021), tỉ lệ bò nhiễm *Anaplasma* spp. cao nhất vào mùa hè (43,53%), thứ đến là mùa thu (37,73%), mùa xuân và mùa đông tỉ lệ nhiễm giảm tương ứng còn 13,12% và 11,42%.

Năm 2021, các loài ký sinh trùng đường máu *A. platys*, *A. phagocytophilum*, *A. marginale*, *B. vogeli*, *T. sinensis* và *T. orientalis* đã được ghi nhận lưu hành trên ve ở Việt Nam. Trong đó, các loài *A. phagocytophilum*, *A. marginale*, *T. sinensis* và *T. orientalis* lưu hành ở ve với tỷ lệ nhiễm từ 1% - 6,1%. Đây là lần đầu tiên loài *A. phagocytophilum*, *T. sinensis* lưu hành ở ve *R. (B) microplus* và *A. platys*, *A. marginale* lưu hành ở ve *R. sanguineus* bằng phương pháp sinh học phân tử tại Việt Nam (Huỳnh và ctv, 2021).

Ở Việt Nam, bệnh lê dạng trùng có thể lây nhiễm quanh năm ở các vùng dịch tễ thuộc các tỉnh trung du và miền núi, nhưng bệnh lây lan mạnh vào mùa hè và mùa thu từ tháng 4 đến tháng 9. Thời gian chuyển từ thu sang đông, thời tiết lạnh, thức ăn xanh thiếu, ngựa giảm sức đề kháng và bệnh sẽ phát ra nặng, làm cho con ngựa bị chết với tỷ lệ cao. Trâu, bò, ngựa, lừa, la đều bị bệnh lê dạng trùng. Trong tự nhiên, trâu, bò, ngựa, hươu, nai, bò rừng nhiễm *Babesia* spp. không có biểu hiện lâm sàng (mang trùng), là nguồn tàng trữ và lây lan bệnh trong tự nhiên. Bò nhiễm lê dạng trùng là chủ yếu. Trâu cũng nhiễm lê dạng trùng nhưng rất ít, chủ yếu ở trâu sữa cao sản Murrah. Các giống bò sữa nhập nội ở Việt Nam chưa thích nghi với điều kiện sinh thái, sức đề kháng giảm và thường ở thể bệnh cấp tính, tỷ lệ chết cao. Bò ở các lứa tuổi đều nhiễm lê dạng trùng nhưng phổ biến từ 5 tháng đến 3 năm tuổi. Ngựa non dưới 1 năm tuổi thường bị nặng hơn ngựa trưởng thành (Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015; Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2008).

Năm 2013, các loài ký sinh trùng đường máu gồm: *B. bovis*, *B. bigemina*, *T. annulata*, *T. orientalis*, *T. evansi* và *T. theileri* đã được xác định lưu hành trên trâu và bò ở Việt Nam. Trong đó, loài *B. bovis*, *B. bigemina* và *T. orientalis* lưu hành ở bò với tỷ lệ nhiễm từ 0,9% đến 8,9%. Tỷ lệ lưu hành ký sinh trùng đường máu ở bò tại tỉnh Thừa Thiên Huế (15,6%) cao hơn so với TP. Hà Nội (2,8%). Loài *B. bovis* lưu hành ở trâu với tỷ lệ nhiễm là 9,3% (Sivakumar và ctv, 2013).

5 loài *Babesia* spp. lưu hành trên trâu, bò và dê ở miền Trung - Việt Nam gồm: *B. bigemina*, *B. bovis*, *Babesia* sp. Hue, *B. ovtari* và *Babesia* sp. Mymensingh. Hai loài *B. bovis* và *B. bigemina* gây bệnh trên bò với các biểu hiện lâm sàng rõ rệt, trong khi trâu thường nhiễm *B. bovis* ở thể mạn tính và chỉ có biểu hiện lâm sàng rõ rệt khi nhiễm *B. bigemina* và *B. bigemina* chỉ lưu hành trên dê (Yokoyama và ctv, 2015; Sivakumar và ctv, 2013). Trong đó, loài *B. bovis* phân lập từ trâu và bò ở Huế có quan hệ loài gần gũi với các chủng *B. bovis* phân lập từ trâu và bò ở Philippines và Sri Lanka khi phân tích gen merozoite surface antigens - MSA (MSA-1); có quan hệ gần gũi với các chủng *B. bovis* phân lập từ trâu, bò ở Mexico, Philippines, Israel, Úc, Mỹ, Thái Lan, Mông Cổ và Sri Lanka khi phân tích gen MSA-2b (Liyanagunawardena và ctv, 2016; Yokoyama và ctv, 2015).

Sivakumar và ctv (2018) cho biết, *B. bovis* và *B. bigemina* lưu hành trên bò vàng Việt Nam và bò nhập khẩu từ Thái Lan với tỷ lệ nhiễm dao động từ 5,6% đến 30,7%. Trong đó, *B. bovis* và *B. bigemina* lưu hành trên bò vàng Việt Nam và bò nhập khẩu từ Thái Lan với tỷ lệ nhiễm tương ứng là 15,8%; 5,6% và 30,7%; 7,4%.

Đinh Thị Bích Liên và ctv (2020) cho biết, đã tạo dòng và biểu hiện thành công đoạn gene mã hóa kháng nguyên Rhoptry - Associated Protein (RAP-1) của *B. bovis* phân lập từ bò tại tỉnh Thừa Thiên Huế. Kết quả cho thấy, đoạn gene mã hóa kháng nguyên RAP-1 có chiều dài 300 bp, mã hóa chuỗi polypeptide dài 100 axit amin, tương đồng 99% so với đoạn gene mã hóa cho RAP-1 đã được công bố trên GenBank (LC157851). Protein dung hợp GST-RAP-1 có khối lượng phân tử khoảng 38 kDa.

Theileria spp. đã được ghi nhận lưu hành ở bò với tỷ lệ nhiễm là 27,5% trong năm 2001 (Inoue và ctv, 2001). Tại Thừa Thiên Huế (Khukhuu và ctv, 2011) cho biết, loài *T. orientalis* lưu hành ở bò, trâu, cừu và ve với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 13,8%, 25,6%, 4,8%, 10,6%. Trong đó, nhóm nghiên cứu đã sử dụng phương pháp PCR nhân gen MPSP để xác định thành phần loài. Kết quả cho thấy, loài *T. orientalis* có 7 kiểu gen trong đó, có 4 kiểu gen đã được phân loại trước đó (kiểu 1, 3, 5 và 7) và 3 kiểu gen mới (kiểu N-1, N-2 và N-3).

Gebrekidan và ctv (2017) cho biết, khảo sát 112 bò nhập từ Úc về Việt Nam cho thấy bò nhiễm *T. orientalis* với tỷ lệ lưu hành là 72,3%. Sử dụng phương pháp PCR nhân gen MSP4 và ITS1 định danh gen là loài *T. orientalis* kiểu gen chitose và ikeda. Trong đó, loài *T. orientalis* kiểu gen chitose và ikeda đã được ghi nhận là kiểu gen gây nên thể bệnh nặng (Yam và ctv, 2022).

Tại Ba Vì, TP. Hà Nội, ve *R. (B) microplus* và *R. annulatus* đã được định loại và ký sinh ở trên bò với tỷ lệ nhiễm chung là 33,02%. Trong đó, bò nhiễm ve nhiều nhất là vào mùa hè (59,26%) và nhiễm thấp nhất vào mùa đông (7,01%) (Nguyễn Thị Hồng Chiên và ctv, 2018).

Nguyễn Thị Hồng Chiên và ctv (2023) cho biết, bò sữa giống HF ở tỉnh Hà Nam nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ là 13,68%, từ đó cho thấy mầm bệnh *Theileria* spp. luôn tồn tại và là mối nguy cơ tiềm ẩn lây lan *Theileria* spp. trong chăn nuôi bò. Bởi vì bệnh ký sinh trùng đường máu ở bò tại Việt Nam thường tồn tại ở thể ẩn, có khi bùng phát nhanh thành dịch, đặc biệt với các đàn bò nhập ngoại thì khả năng bùng phát bệnh ký sinh trùng đường máu tăng cao do đàn bò nhập ngoại chưa thích nghi kịp thời với khí hậu và chưa có miễn dịch với bệnh (Phạm Sỹ Lăng, 2006; Phạm Sỹ Lăng và Lê Văn Tạo, 2002).

Một số kết quả nghiên cứu về định danh thành phần loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên một số loài vật chủ, véc tơ truyền bệnh ở Việt Nam đã được lưu trữ trên ngân hàng gen được thể hiện ở bảng 1.3 dưới đây.

Bảng 1.3. Một số loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. đã được định danh trên các loài vật nuôi ở Việt Nam

TT	Tên loài	ID Genbank	Vật chủ/ Ký chủ	Phương pháp	Tỉnh/TP	TLTK
1	<i>A. marginale</i> <i>A. platys</i>	MH686041, MH686046, MH686049, MH686050	Bò, chó	nPCR	TP Hà Nội, Hải Dương	(Nguyen và ctv, 2019)
2	<i>A. phagocytophilum</i> <i>A. platys</i> <i>A. marginale</i> <i>B. vogeli</i> <i>T. sinensis</i> <i>T. orientalis</i>	CP015376, CP046391, CP023731, MN067709, KF559355, MG599099	Ve	qPCR	Nghệ An, Quảng Nam, Bình Định, Khánh Hòa	(Huynh và ctv, 2021)
3	<i>B. bovis</i>	LC004335, LC004336 LC004298, LC004306	Trâu, bò	MSAs	Huế	(Yokoyama và ctv, 2015)
4	<i>B. bovis</i> <i>B. bigemina</i> <i>T. orientalis</i>	AB786920, AB 786924, AB742543, AB742555, AB742556, AB742557	Trâu, bò, dê	PCR- MSAs; PCR - MPSP	Huế, TP Hà Nội	(Sivakumar và ctv, 2013)
5	<i>T. orientalis</i> (Types 1, 3, 5, 7, N-1, N-2 N-3)	AB560830, AB560823, AB560822, AB571884, AB560833, AB571885	Trâu, bò, cừu, ve	MPSP - PCR	Huế	(Khukhuu và ctv, 2011)
6	<i>T. orientalis</i> (chitose và ikeda)	KY077631, KY077633	Bò	MPSP - PCR	-	(Gebrekidan và ctv, 2017)

*** Các biện pháp phòng bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* trên các loài vật nuôi ở Việt Nam**

Các biện pháp phòng bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* trên các loài vật nuôi ở Việt Nam bao gồm nhưng biện pháp tổng hợp như sau:

Theo Phạm Sỹ Lăng và ctv (2015), để phòng bệnh ký sinh trùng đường máu cho các loài vật nuôi cần kiểm tra ký sinh trùng đường máu định kỳ để phát hiện sớm và có những biện pháp phòng trị kịp thời. Chăn thả vật nuôi ở đồng cỏ không có ve, nuôi nhốt gia súc. Chủ yếu là diệt ve ký sinh ở cơ thể bò, có thể phòng bệnh cho bò bằng cách tiêm máu bò bị nhiễm loài biên trùng độc lực thấp như *A. centrale* sau khi đã được tiêm truyền qua cừu.

Các biện pháp tổng hợp phòng bệnh ký sinh trùng đường máu ở bò như sau: Ở các vùng có lưu hành bệnh cần định kỳ kiểm tra máu của đàn bò 4 tháng/lần để phát hiện ký sinh trùng đường máu và điều trị kịp thời. Tổ chức tiêm thuốc phòng nhiễm cho đàn bò ở khu vực bệnh thường xảy ra. Tiêm Acriflavin hoặc Berenyl và nên tiêm vào tháng 9 hoặc tháng 10, trước khi thay đổi thời tiết từ mùa thu sang mùa đông, lúc đó bò sức khỏe giảm sút, dễ phát bệnh. Tổ chức diệt ve truyền bệnh. Định kỳ sử dụng các loại thuốc diệt ve như: Hantox spray, Tactic, Hectomin... (Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015).

Sử dụng thuốc điều trị để phòng bệnh ký sinh trùng đường máu cho vật nuôi: Phòng bệnh cho đàn bò với liều tiêm phòng cho đàn bò khi phát hiện có mầm bệnh bằng thuốc có hoạt chất Diminazene Aceturate 1gam/150 kgTT thì tỷ lệ không phát bệnh sau 3 tháng tiêm từ 92% đến 100%. Với liều tiêm phòng cho đàn bò không mang mầm bệnh bằng thuốc Berenil 1gam/150 kgTT, sau 3 tháng tiêm chưa thấy bò phát bệnh. Bệnh thường xảy ra tập trung từ tháng 4 đến tháng 6 hàng năm. Những bò đã phát bệnh dùng thuốc có hoạt chất Diminazene Aceturate điều trị với liều 1gam/100 kgTT, tỷ lệ khỏi bệnh đạt từ 40,0% đến 82,6% (Phùng Quang Trường và ctv, 2008). Ngoài ra, hóa dược permethrin 5% sử dụng để diệt ve cho vật nuôi, chuồng nuôi và khu vực chăn nuôi xung quanh có hiệu quả cao (Nguyễn Thị Hồng Chiên, 2021).

Kiểm dịch chặt chẽ, đối với động vật nhập khẩu đặc biệt là bò yêu cầu xét nghiệm kiểm tra đối với các bệnh ký sinh trùng đường máu theo Thông tư số 25/2016/TT-BNN&PTNT ngày 30 tháng 6 năm 2016 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn là một trong những biện pháp phòng bệnh ký sinh trùng đường máu ở vật nuôi.

1.7. Điều kiện tự nhiên của TP. Hà Nội, tỉnh Thái Nguyên, tỉnh Sơn La

+ Thành phố Hà Nội - đại diện khu vực đồng bằng Châu thổ Sông Hồng: Địa hình tương đối bằng phẳng với hệ thống sông ngòi dày đặc bao quanh. Thành phố Hà Nội nằm ở vị trí trung tâm của đồng bằng sông Hồng. Địa hình Hà Nội khá đa dạng với núi thấp, đồi và đồng bằng với vị trí địa lý cao hơn mực nước biển < 100m; phần lớn diện tích là vùng đồng bằng, thấp dần từ Tây Bắc xuống Đông Nam theo hướng dòng chảy của sông Hồng. Hà Nội có tổng diện tích đất tự nhiên 92.097 ha, trong đó, diện tích đất nông nghiệp chiếm 47,4%. Khu hệ thực vật, động vật trong các hệ sinh thái đặc trưng của Hà Nội khá phong phú và đa dạng. Cho đến nay, TP Hà Nội là địa phương có tổng đàn gia súc, gia cầm đứng trong top đầu cả nước. Đây cũng là ngành hàng chủ lực trong phát triển kinh tế nông nghiệp của Thủ đô. Số lượng đàn trâu hiện có là 29.266 con, bò là 127.118 con... (Cổng thông tin điện tử Thành phố Hà Nội). Do đó, chúng tôi chọn TP. Hà Nội đại diện cho vùng đồng bằng sông Hồng.

+ Tỉnh Thái Nguyên - đại diện khu vực Đông Bắc Bộ: Nằm trong vùng núi và trung du Bắc Bộ, vùng Đông Bắc có địa hình không cao so với vùng Tây Bắc, phía Tây có những dãy núi chạy theo hướng Tây Bắc - Đông Nam, trong đó có dãy Phanxippan cao hơn 3000 m. Phía Đông của vùng có nhiều dãy núi cao hình cánh cung. Vùng này có đặc điểm địa hình tương đối bằng phẳng (đồng bằng Bắc Bộ) và thấp. Phía bắc có các dãy núi không cao lắm (1000 m ÷ < 3000 m), Thái Nguyên là một tỉnh miền núi có độ cao trung bình so với mặt biển khoảng 200 - 300 mét, thấp dần từ Bắc xuống Nam và từ Tây sang Đông. Tỉnh Thái Nguyên có nhiều dãy núi cao chạy theo hướng Bắc - Nam và thấp dần xuống phía Nam. Tỉnh Thái Nguyên có khí hậu cận nhiệt đới, ẩm quanh năm với 4 mùa rõ rệt. Địa hình không phức tạp lắm so với các tỉnh trung du, miền núi khác đây là một thuận lợi của Thái

Nguyên cho canh tác nông lâm nghiệp và phát triển kinh tế xã hội nói chung so với các tỉnh trung du miền núi khác. Diện tích rừng tự nhiên của tỉnh là 102.190 ha, diện tích rừng trồng khoảng 44.450 ha. Diện tích đất nông nghiệp toàn tỉnh chiếm 23% diện tích tự nhiên, cây hàng năm chủ yếu là cây chè. Ngoài sản xuất lương thực, tỉnh còn có diện tích tương đối lớn để quy hoạch các đồng cỏ, phát triển mạnh chăn nuôi đại gia súc (41.393 trâu, 47.484 bò...). Toàn tỉnh hiện có hơn 1.600 trang trại chăn nuôi; chất lượng đàn gia súc, gia cầm từng bước được nâng lên, tỷ lệ giống lai, giống năng suất cao ngày càng tăng. Tuy nhiên, tình hình dịch bệnh trên đàn vật nuôi vẫn tiềm ẩn nhiều nguy cơ. Lượng mưa trung bình hàng năm khoảng 2.000 đến 2.500 mm; cao nhất vào tháng 8 và thấp nhất vào tháng 1. Mùa đông được chia thành 3 vùng rõ rệt: Vùng lạnh nhiều nằm ở phía bắc huyện Võ Nhai. Vùng lạnh vừa gồm các huyện: Định Hóa, Phú Lương và phía nam huyện Võ Nhai; Vùng ấm gồm các huyện, thành: Đại Từ, TP. Thái Nguyên, Đông Hỷ, Phú Bình, TP. Phổ Yên và Thị xã Sông Công. Nhiệt độ chênh lệch giữa tháng nóng nhất (tháng 6: 28,9 °C) với tháng lạnh nhất (tháng 1: 15,2 °C) là 13,7 °C. Tổng số giờ nắng trong năm dao động từ 1.300 đến 1.750 giờ và phân phối tương đối đều cho các tháng trong năm. Nhìn chung, khí hậu tỉnh Thái Nguyên thuận lợi cho phát triển ngành nông, lâm nghiệp (Công thông tin điện tử tỉnh Thái Nguyên).

+ Tỉnh Sơn La - đại diện khu vực Tây Bắc Bộ: Vùng Tây Bắc là vùng miền núi phía tây của miền Bắc Việt Nam, có chung đường biên giới với Lào và Trung Quốc. Địa hình Tây Bắc hiểm trở, có nhiều khối núi và dãy núi cao chạy theo hướng Tây Bắc - Đông Nam. Dãy Hoàng Liên Sơn dài tới 180 km với một số đỉnh núi cao trên từ 2800 đến 3000 m. Dãy núi Sông Mã dài 500 km, có những đỉnh cao trên 1800 m. Tỉnh Sơn La ở trung tâm vùng Tây Bắc là tỉnh có diện tích lớn thứ 3 của cả nước chiếm 39% diện tích vùng Tây Bắc. Địa hình Sơn La chiếm trên 85% diện tích là đồi núi. Đồi núi ở Sơn La chủ yếu có độ cao từ 600 đến 700m. Tỉnh Sơn La có vị trí nằm trong khu vực thuộc đới gió mùa chí tuyến của miền khí hậu phía bắc, nên khí hậu mang sắc thái nhiệt đới, ẩm, gió mùa, có mùa đông lạnh với những nét đặc trưng riêng. Khí hậu Sơn La được hình thành dưới tác động của chế độ bức xạ mặt trời vùng nhiệt đới, điều kiện hoàn lưu khí quyển nhiệt đới, gió mùa

và địa hình núi, cao nguyên do đó nền nhiệt ở Sơn La khá cao. Nhiệt độ trung bình năm trên 20 °C, nhưng có sự phân hóa rõ nét giữa các khu vực. Ở những vùng thấp của tỉnh Sơn La (độ cao < 200m), nhiệt độ trung bình năm xấp xỉ 23 °C; riêng khu vực lòng hồ phía đông tỉnh chịu ảnh hưởng của gió mùa đông bắc lạnh, theo thung lũng sông Đà tràn lên, nên nhiệt độ trung bình năm thấp hơn chỉ khoảng 20,8 °C. Khu vực địa hình từ 300 - 700 m, nhiệt độ trung bình năm khoảng 21 - 22,5 °C. Khu vực có địa hình cao 700 - 1.000 m, nhiệt độ trung bình năm khoảng 19 - 21 °C. Đây là điều kiện thuận lợi để phát triển thảm thực vật rừng đa dạng, phong phú và phát triển nông nghiệp nhiệt đới; do đó chúng tôi chọn tỉnh Sơn La đại diện cho vùng Tây Bắc Bộ. Do đặc điểm địa hình, khí hậu và đất đai có sự phân hóa nên Sơn La có các khu hệ sinh thái khác nhau rõ rệt. Thảm thực vật tự nhiên của tỉnh Sơn La khá phong phú. Hệ thực vật ở Sơn La có 19 họ có từ 10 loài trở lên tại các khu bảo tồn trên địa bàn tỉnh. Động vật phong phú về chủng loại và đa dạng về thành phần loài. Toàn tỉnh có 774 loài động vật khác nhau (111.657 trâu, 394.219 bò...), trên 200 loài chim khác nhau, có 20 loài động vật quý và các nhóm côn trùng. Chăn nuôi là ngành sản xuất chủ yếu của các hộ nông dân, tuy nhiên mang tính tự phát, quy mô nhỏ, ít được đầu tư về kỹ thuật và kiểm soát dịch bệnh (Cổng thông tin điện tử tỉnh Sơn La).

* **Nhận xét:** các loài ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê và ngựa rất đa dạng về loài vật chủ, véc tơ truyền bệnh. Ở Việt Nam, nhiều công trình nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò cao. Mặc dù 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) có điều kiện tự nhiên, thực vật phong phú và đa dạng, khí hậu, vị trí địa lý đặc trưng cho 3 vùng miền, đồng thời 3 tỉnh/ TP có nghề chăn nuôi trâu, bò, dê và ngựa phát triển. Tuy nhiên, trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/ TP vẫn được nuôi theo phương thức nuôi thả hoặc bán thả, chủ yếu tận dụng điều kiện tự nhiên, quy mô nhỏ, phân tán, nguy cơ nhiễm các loài ký sinh trùng đường máu là cao. Cho đến nay chưa có công trình nào nghiên cứu về bệnh các loài ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên vật nuôi tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La).

Chương 2: ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Các loài ký sinh trùng đường máu *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. ký sinh ở các loài vật nuôi trâu, bò, dê, ngựa. Các loài vật nuôi trâu, bò, dê, ngựa.

2.1.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 01/2022 đến tháng 12/2024.

- Địa điểm nghiên cứu:

Vùng chăn nuôi của huyện Ba Vì, Gia Lâm, Đông Anh thuộc TP. Hà Nội. Vùng chăn nuôi của huyện Định Hóa, Đại Từ, Võ Nhai và Phú Lương thuộc tỉnh Thái Nguyên. Vùng chăn nuôi của huyện Sông Mã và Vân Hồ thuộc tỉnh Sơn La.

- Địa điểm phân tích mẫu: Phòng thí nghiệm Bộ môn Ký sinh trùng, Viện Thú y; Công ty Macrogen - Hàn Quốc.

2.2. Nội dung nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu xác định đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc

- Xác định sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa theo mùa (xuân, hè, thu, đông).

- Xác định một số đặc điểm sinh học phân tử của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa.

2.2.2. Nghiên cứu xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu và đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp

- Xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê, ngựa.

- Đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp.

2.3. Vật liệu nghiên cứu

- Vật liệu nghiên cứu là mẫu máu chống đông của trâu, bò, dê, ngựa đã được thu thập ở 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La). Mẫu máu sau khi thu thập được bảo quản ở nhiệt độ 4 °C trong 48 giờ; sau đó mẫu máu chống đông được

chiết tách DNA tổng số tại phòng thí nghiệm Viện Thú Y và được bảo quản ở tủ âm (-30 °C) đến khi sử dụng nghiên cứu.

- Dụng cụ, máy móc và hóa chất nghiên cứu.

+ Các thiết bị: Máy nhân gen: 02 block nhiệt Mastercycle Nexus GX2 (Xuất xứ: Đức). Tủ an toàn sinh học cấp II: Telstar Bio - II - A (Xuất xứ: Tây Ban Nha). Máy điện di ngang: Cleaver CS 300V (Xuất xứ: Anh). Máy đọc gel: Uvitec Fire-Reader V4 (Xuất xứ: Pháp). Tủ lạnh âm sâu -30 °C: Sanyo (Xuất xứ: Nhật Bản). Máy lắc mẫu: Vortex Genie 2 (Xuất xứ: Mỹ). Máy khuấy từ và thanh từ: Dvantec SR300 (Xuất xứ: Nhật Bản). Máy ly tâm ống eppendorf: Eppendorf Centrifuge 5415D (Xuất xứ: Đức). Máy Water bath, Tủ lạnh...

+ Dụng cụ thí nghiệm: Xi lanh 5 ml, mũi kim 20G, đá khô, thùng bảo quản mẫu, ống lấy máu có chứa EDTA, ống eppendorf 2 ml, bộ micropipet, đầu tuýp các loại...

+ Hóa chất sử dụng: Bộ Kit chiết tách DNA (QIAamp DNA Blood Kits, Qiagen - Mỹ); kit PCR Master Mix 2x thông thường (Biobasic - Canada); agarose (Biobasic - Canada); thang DNA chuẩn DNA ladder 100 bp (Thermo Fisher-Mỹ); thuốc nhuộm DNA Syber safe (Thermo Fisher - Mỹ); môi; bộ kit tinh sạch sản phẩm PCR; ethanol 100% (Merk, Đức); Dimethyl Sulfoxide DMSO safe (Thermo Fisher-Mỹ), dung dịch đệm TBE (Thermo Fisher - Mỹ); hoá chất loading mẫu Loading dye (Thermo Fisher - Mỹ)...

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp nghiên cứu xác định đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử của Anaplasma spp., Babesia spp. và Theileria spp. ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc

* Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả tiến cứu được tiến hành kéo dài dựa vào thời gian thực 4 mùa trong năm (xuân, hè, thu đông) được thực hiện tại 3 tỉnh/TP là: TP. Hà Nội, tỉnh Thái Nguyên, tỉnh Sơn La, đại diện cho 3 vùng là vùng Đồng bằng Châu thổ Sông Hồng, vùng Đông Bắc Bộ và vùng Tây Bắc Bộ.

* Cỡ mẫu nghiên cứu

- Số lượng mẫu thu thập được tính theo công thức (Thrusfield, 2005).

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó: n là cỡ mẫu nghiên cứu, p là tỉ lệ ước tính của quần thể, Z là khoảng tin cậy, α là mức ý nghĩa thống kê, d là khoảng sai lệch.

Áp dụng công thức tính ước lượng tỉ lệ cho quần thể, tính cỡ mẫu trong đó khoảng tin cậy $Z^2(1-\alpha/2) = 1,96$ (tương ứng $\alpha = 0,05$), d là sai số tuyệt đối 0,05%, p tỷ lệ nhiễm tham chiếu là 41,0% (Phùng Quang Trường và ctv, 2008). Theo đó, số lượng mẫu cần lấy là: $n = 0,41 (1 - 0,41) 1,96^2 / 0,05^2 = 372$ mẫu. Từ số mẫu cần thu thập tham chiếu, số lượng mẫu máu từ các loài trâu, bò, dê, ngựa đã được thu thập theo từng mùa (xuân, hè, thu, đông) tại ba tỉnh/TP (TP Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) là 600 mẫu/ mùa và không lấy trùng lặp vật nuôi đã lấy mẫu máu.

+ Tại mỗi tỉnh/TP đã chọn ra ít nhất 2 vùng chăn nuôi (2 xã) đáp ứng được các tiêu chí: (1) chăn nuôi đa dạng các loài gia súc trâu, bò, dê và ngựa; (2) là xã vùng núi cao thuộc vùng Tây Bắc Bộ (Sơn La); là xã vùng trung du thuộc vùng núi Đông Bắc Bộ (Thái Nguyên) và xã là vùng đồng bằng hoặc bán sơn địa đối với vùng đồng bằng châu thổ Sông Hồng (Hà Nội).

+ Từ mỗi xã, chọn các hộ chăn nuôi quy mô vừa theo hình thức chọn ngẫu nhiên từ danh sách được cung cấp. Mẫu máu trâu, bò, dê và ngựa được lấy ngẫu nhiên 01 mẫu máu /01 loài gia súc/01 hộ. Nếu hộ được chọn không có loài gia súc nào thì loài gia súc đó được lấy ở hộ lân cận hoặc các hộ/trang trại trong vùng đến khi đủ số lượng mẫu máu cần lấy.

- Mẫu máu trâu, bò, dê, ngựa đã được thu thập 01 lần/1 mùa tại mỗi tỉnh/TP: Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La vào 4 mùa (xuân, hè, thu, đông), trong khoảng thời gian từ tháng 6/2022 đến tháng 5/2023. Các địa điểm (xã) thu thập mẫu ở 3 tỉnh/TP được thể hiện ở bản đồ bảng 2.1 và hình 2.1.

- Thời gian lấy mẫu:

+ Mùa xuân: Lấy mẫu 01 lần vào khoảng thời gian từ tháng 03 đến hết tháng 05.

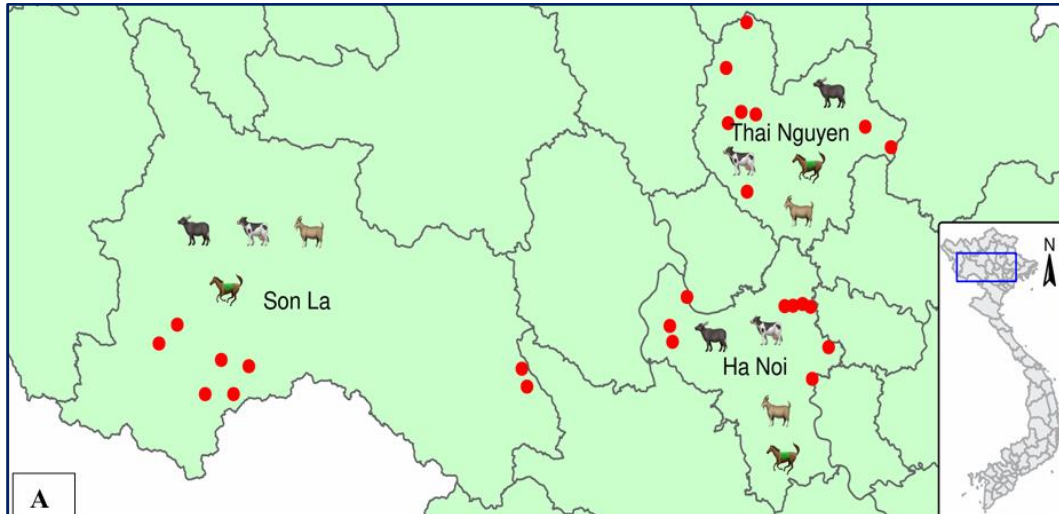
+ Mùa hè: Lấy mẫu 01 lần vào khoảng thời gian từ tháng 06 đến hết tháng 08.

+ Mùa thu: Lấy mẫu 01 lần vào khoảng thời gian từ tháng 09 đến hết tháng 11.

+ Mùa đông: Lấy mẫu 01 lần vào khoảng thời gian từ tháng 12 đến hết tháng 02.

Bảng 2.1. Vị trí địa lý (GPS) địa điểm lấy mẫu

TT	Tỉnh/TP	Huyện	Xã	Tọa độ
1	Hà Nội	Ba Vì	Tản Lĩnh	21°7'14"B 105°23'56"Đ
2	Hà Nội	Ba Vì	Vân Hòa	21°8'15"B 105°42'58"Đ
3	Hà Nội	Ba Vì	Minh Châu	21°04'0"B 105°20'5"Đ
4	Hà Nội	Gia Lâm	Phù Đổng	21°3'25"B 105°57'46"Đ
5	Hà Nội	Gia Lâm	Kim Lan	20°57'45"B 105°54'5"Đ
6	Hà Nội	Đông Anh	Xuân Nộn	21°10'52"B 105°51'54"Đ
7	Hà Nội	Đông Anh	Thụy Lâm	21°10'10"B 105°53'43"Đ
8	Hà Nội	Đông Anh	Bắc Hồng	21°10'39"B 105°48'11"Đ
9	Hà Nội	Đông Anh	Nguyên Khê	21°10'42"B 105°50'12"Đ
10	Thái Nguyên	Định Hóa	Linh Thông	22°1'7"B 105°40'0"Đ
11	Thái Nguyên	Định Hóa	Đông Thịnh	21°52'35"B 105°35'48"Đ
12	Thái Nguyên	Đại Từ	Đức Lương	21°43'19"B 105°36'28"Đ
13	Thái Nguyên	Đại Từ	Cát Nê	21°31'15"B 105°40'5"Đ
14	Thái Nguyên	Võ Nhai	Tràng Xá	21°42'6"B 106°5'48"Đ
15	Thái Nguyên	Võ Nhai	Bình Long	21°39'08"B 106°10'40"Đ
16	Thái Nguyên	Phú Lương	Hợp Thành	21°41'52"B 105°26'27"Đ
17	Thái Nguyên	Phú Lương	Động Đạt	21°10'39"B 105°48'11"Đ
18	Sơn La	Vân Hồ	Song Khủa	20°47'9"B 104°44'13"Đ
19	Sơn La	Vân Hồ	Liên Hòa	20°59'2"B 104°52'31"Đ
20	Sơn La	Sông Mã	Chiềng Cang	20°59'56"B 103°53'28"Đ
21	Sơn La	Sông Mã	Mường Cai	20°54'42"B 103°44'11"Đ
22	Sơn La	Sông Mã	Chiềng Khoong	21°00'43"B 103°48'7"Đ
23	Sơn La	Sông Mã	Mường Hung	20°55'11"B 103°50'51"Đ
24	Sơn La	Sông Mã	Nậm Mần	23°3'41"B 103°35'11"Đ
25	Sơn La	Sông Mã	Chiềng Sơ	21°38'7"B 103°27'38"Đ



Hình 2.1. Bản đồ thể hiện các xã (chấm hình tròn) thu thập mẫu máu trâu, bò, dê và ngựa tại ba tỉnh miền Bắc – Việt Nam

* Biến số và các chỉ số nghiên cứu

Tên biến số	Kỹ thuật, phương pháp sử dụng	Chỉ số
Tỷ lệ lưu hành của <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa theo mùa (xuân, hè, thu, đông). Loài vật nuôi (trâu, bò, dê, ngựa), tỉnh/TP, tính biệt, tuổi	Lấy mẫu máu vật nuôi (trâu, bò, dê và ngựa) và thu thập thông tin qua bảng hỏi (phụ lục 1) sử dụng các xét nghiệm chiết tách DNA, kỹ thuật nPCR	Tỷ lệ nhiễm <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. trên loài vật nuôi, tỉnh/ TP, tuổi, tính biệt theo mùa (xuân, hè, thu, đông)
Thành phần loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa	Giải trình tự bằng phương pháp Sanger, phân tích bằng phần mềm BioEdit	Xác định thành phần loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp. ở trâu, bò, dê và ngựa
Cây phả hệ	Sử dụng các phần mềm sinh tin học để xây dựng cây phả hệ, đánh giá sự khác biệt về nucleotid để xác định thành phần loài ký sinh trùng đường máu ký sinh	So sự tiến hoá với các loài trong nước, khu vực và trên thế giới

2.4.1.1. Phương pháp xác định sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa theo mùa (xuân, hè, thu, đông)

* Kỹ thuật thu thập mẫu máu theo QCVN 01-83:2011/BNN&PTNT

- Lấy mẫu: Trâu, bò, dê, ngựa dùng xylanh 5 ml và kim tiêm (20G) vô trùng lấy từ 1,5 - 2 ml máu ở tĩnh mạch cổ của con vật. Máu sau khi lấy được cho vào ống chứa chuyên dụng có chất chống đông EDTA và ghi ký hiệu mẫu lên thành ống theo số ký hiệu trong danh sách lấy mẫu (Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia, 2011).

- Bảo quản mẫu: Tất cả các mẫu máu chống đông được bảo quản trong thùng lạnh hoặc tủ lạnh (nhiệt độ 4 °C) tại địa phương và vận chuyển mẫu bằng thùng bảo quản mẫu có đá khô kèm theo để đảm bảo nhiệt độ lạnh về phòng thí nghiệm Bộ môn Ký sinh trùng, Viện Thú Y. Tại phòng thí nghiệm Bộ môn Ký sinh trùng, Viện Thú Y, mẫu được bảo quản ở -30 °C đến khi sử dụng (Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia, 2011).

Chi tiết về số lượng mẫu máu đã thu thập của từng loại vật nuôi (trâu, bò, dê và ngựa) ở mỗi tỉnh/TP sử dụng cho nghiên cứu.

Bảng 2.2. Chi tiết số lượng mẫu máu trâu, bò, dê và ngựa được thu thập tại ba tỉnh/TP miền Bắc, Việt Nam

Chỉ tiêu theo dõi	Trâu (con)	Bò (con)	Dê (con)	Ngựa (con)	Tổng (n)
Tỉnh/TP	596	651	598	555	2.400
Hà Nội	200	223	187	190	800
Sơn La	187	225	210	178	800
Thái Nguyên	209	203	201	187	800
Giới tính	596	651	598	555	2.400
Đực	195	140	133	207	675
Cái	401	511	465	348	1.725
Nhóm tuổi	596	651	598	555	2.400
< 1 tuổi	18	29	165	3	215
1-5 tuổi	143	516	418	414	1.761
> 5 tuổi	165	106	15	138	424

Trong đó, lượng mẫu thu thập theo từng mùa xuân, hè, thu, đông được thể hiện chi tiết tại các bảng 2.3, 2.4, 2.5 và 2.6.

Bảng 2.3. Số lượng mẫu máu đã thu thập vào mùa xuân

Chỉ tiêu theo dõi	Trâu (con)	Bò (con)	Đê (con)	Ngựa (con)	Tổng (n)
Tỉnh/TP	147	163	156	134	600
Hà Nội	51	59	46	44	200
Thái Nguyên	55	46	50	49	200
Sơn La	41	58	60	51	200
Tính biệt	147	163	156	134	600
Đực	30	32	23	29	114
Cái	117	131	133	105	486
Nhóm tuổi	147	163	156	134	600
< 1 tuổi	1	2	27	0	30
1-5 tuổi	86	105	128	82	401
> 5 tuổi	60	56	1	52	169

Bảng 2.4. Số lượng mẫu máu đã thu thập vào mùa hè

Chỉ tiêu theo dõi	Trâu (con)	Bò (con)	Đê (con)	Ngựa (con)	Tổng (n)
Tỉnh/TP	150	150	150	150	600
Hà Nội	50	50	50	50	200
Thái Nguyên	50	50	50	50	200
Sơn La	50	50	50	50	200
Tính biệt	150	150	150	150	600
Đực	37	35	23	95	190
Cái	113	115	127	55	410
Nhóm tuổi	150	150	150	150	600
< 1 tuổi	14	15	35	2	66
1-5 tuổi	89	118	108	105	420
> 5 tuổi	47	17	7	43	114

Bảng 2.5. Số lượng mẫu máu đã thu thập vào mùa thu

Chỉ tiêu theo dõi	Trâu (con)	Bò (con)	Đê (con)	Ngựa (con)	Tổng (n)
Tỉnh/TP	150	150	150	150	600
Hà Nội	50	50	50	50	200
Thái Nguyên	50	50	50	50	200
Sơn La	50	50	50	50	200
Tính biệt	150	150	150	150	600
Đực	56	33	41	33	183
Cái	94	117	109	97	417
Nhóm tuổi	150	150	150	150	600
< 1 tuổi	5	14	57	1	77
1-5 tuổi	57	51	37	46	191
> 5 tuổi	88	85	56	103	332

Bảng 2.6. Số lượng mẫu máu được lấy vào mùa đông

Chỉ tiêu theo dõi	Trâu (con)	Bò (con)	Đê (con)	Ngựa (con)	Tổng (n)
Tỉnh/TP	149	188	142	121	600
Hà Nội	49	64	41	46	200
Thái Nguyên	54	57	51	38	200
Sơn La	46	67	50	37	200
Tính biệt	149	188	142	121	600
Đực	72	40	46	30	188
Cái	77	148	96	91	412
Nhóm tuổi	149	188	142	121	600
< 1 tuổi	0	0	48	0	48
1-5 tuổi	84	122	88	63	357
> 5 tuổi	65	66	6	58	195

Nhận xét chung: 2.400 mẫu máu chống đông của các loài vật nuôi: trâu, bò, dê và ngựa đã được thu thập từ 25 xã, thuộc 10 huyện của 3 tỉnh/TP là TP. Hà Nội, tỉnh Thái Nguyên và tỉnh Sơn La. Số lượng mẫu máu đã thu thập ở mỗi tỉnh/TP là 800 mẫu, ở mỗi mùa là 600 mẫu/mùa và mỗi loài vật nuôi trâu, bò, dê, ngựa tương ứng là 596 con trâu, 651 con bò, 598 con dê và 555 con ngựa. Trong đó, tính biệt của các loài vật nuôi tại 3 tỉnh/TP được lấy mẫu chủ yếu là cái, do mục đích chăn nuôi của người dân chủ yếu hướng đến chăn nuôi vật nuôi sinh sản để phát triển kinh tế trong nông hộ và phần lớn (70%) số gia súc trong độ tuổi sinh sản tốt (nhóm tuổi 1 - 5 tuổi; 420/600 vật nuôi).

* Chuẩn bị mẫu trước khi chiết tách DNA tổng số

Lấy mẫu máu chống đông bảo quản trong tủ lạnh âm sâu (-30 °C), rã đông ở nhiệt độ phòng từ 30 phút đến 60 phút. Sau đó, mẫu máu được trộn đều sử dụng máy Vortex Genie 2 ở tốc độ 5.000 vòng/15 giây trước khi thực hiện quy trình chiết tách DNA.

* Kỹ thuật chiết tách DNA tổng số

DNA tổng số đã được chiết tách từ mẫu máu chống đông trâu, bò, dê và ngựa theo quy trình chiết tách DNA của nhà sản xuất (Phụ lục 2).

* Phương pháp nhân gen nested - PCR (nPCR)

+ Tên mồi (mồi xuôi, mồi ngược) để chẩn đoán phát hiện, xác định từng loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. cụ thể ở bảng 2.7 dưới đây.

Bảng 2.7. Tên mồi, trình tự mồi và độ dài sản phẩm để xác định các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp.

Tác nhân gây bệnh	Phương pháp	Tên mồi	Trình tự mồi (5' – 3')	Gen đích	Độ dài sản phẩm (bp)	TLTK
<i>Anaplasma</i> spp.	PCR vòng 1	Ehr1	GAACGAACGCT GGCGGCAAGC	16S	510	(Hosseini - Vasoukolaei và ctv, 2014)
		Ehr2	AGTA[T/C]CG[A/G]ACCAGATAGCCGC			
	PCR vòng 2	Ehr3	TGCATAGGAATCTACCTAGTAG		524	
		Ehr4	CTAGGAATTCCGCTATCC TCT			
<i>Babesia</i> spp.	PCR vòng 1	RLB-F2	GTCTTGTAATTGGAATGATGG	18S	420	(Liu và ctv, 2017)
		RLB-R2	TAGTTTATGGTTAGGACTACG			
	PCR vòng 2	RLB-FINT	GTCTTGTAATTGGAATGATGG		440	
		RLB-R2	TAGTTTATGGTTAGGACTACG			
<i>Theileria</i> spp.	PCR vòng 1	Theil-F1	CACAGGGAGGTAGTGACAAG	18S	778	(Cao và ctv, 2013)
		Theil-R1	AAGAATTTACCTCTGACAG			
	PCR vòng 2	Theil-F2	CACAGGGAGGTAGTGACAAG		581	
		Theil-R2	ATTGCTTGTGTCCCT CCG			

- Thành phần hỗn hợp phản ứng nPCR bao gồm: kit PCR Master Mix 2x thông thường (Biobasic, Canada); Nước Free DNA; DMSO; môi xuôi và môi ngược; và DNA khuôn: DNA khuôn tổng số (đối với PCR vòng 1), hoặc sản phẩm PCR vòng 1 (đối với PCR vòng 2). Tổng thể tích cho 1 phản ứng PCR là 50 μ L và số lượng cho 1 phản ứng nPCR thể hiện ở bảng 2.8.

Bảng 2.8. Thành phần hỗn hợp của phản ứng nPCR

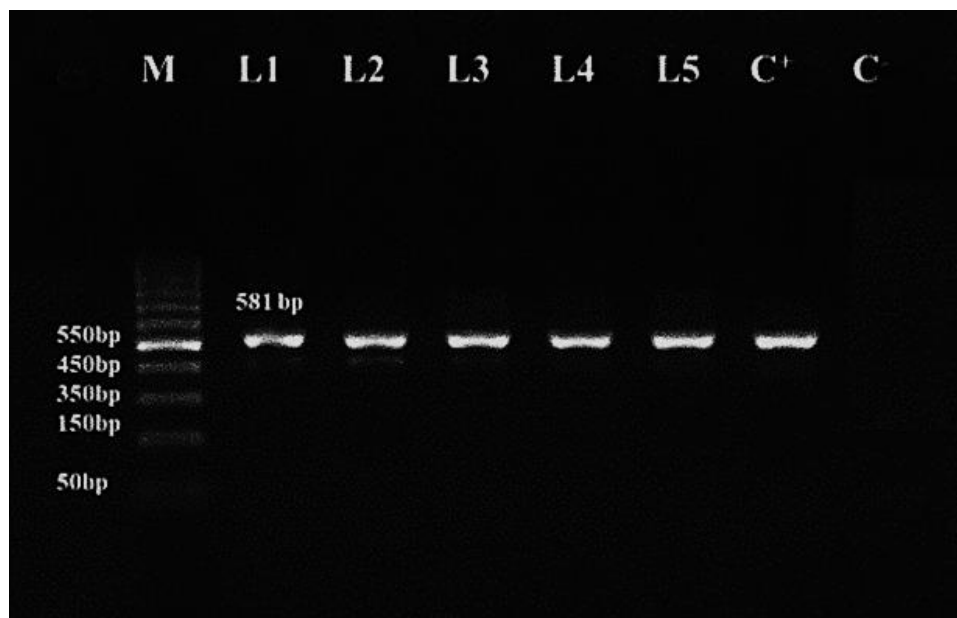
TT	PCR vòng 1	Số lượng	PCR vòng 2	Số lượng
1	PCR Master Mix	25 μ L	PCR Master Mix	25 μ L
2	Môi xuôi	2 μ L	Môi xuôi	2 μ L
3	Môi ngược	2 μ L	Môi ngược	2 μ L
4	DNA khuôn mẫu	5 μ L	Sản phẩm PCR vòng 1	5 μ L
5	Nước không chứa DNA	14 μ L	Nước không chứa DNA	14 μ L
6	DMSO	2 μ L	DMSO	2 μ L

Mỗi một phản ứng PCR thể tích 50 μ L, chu trình nhiệt trong bảng 2.9. Sản phẩm PCR/nPCR được trộn với Loading dye (Thermo Fisher - Mỹ), chạy điện di trên bản thạch Agarose (Biobasic - Canada), DNA ladder 100 bp (Thermo Fisher - Mỹ) nhuộm Syber Safe (Thermo Fisher - Mỹ) ở 100V trong thời gian 30 phút và đọc kết quả dưới máy đọc gel.

Bảng 2.9. Chu trình nhiệt phản ứng nPCR

Phản ứng PCR vòng 1		Phản ứng PCR vòng 2	
95 °C/ 5 phút		95 °C/ 5 phút	
95 °C/30 giây	35 vòng	95 °C/30 giây	40 vòng
57 °C/45 giây		56 °C/45 giây	
72 °C/1,5 phút		72 °C/1,5 phút	
72 °C/10 phút		72 °C/10 phút	

+ Mẫu máu chẩn đoán được xác nhận là nhiễm bệnh khi cho kết quả nhân gen ở phản ứng nested PCR là một vạch đơn sáng rõ trên gel, có kích thước đoạn gen trùng với kết quả của mẫu dương chuẩn tương ứng.



Hình 2.2. Hình ảnh kết quả điện di sản phẩm phản ứng nested PCR dương tính của loài *Theileria* spp. bản thạch

**Ghi chú:* M = marker (thang DNA chuẩn 100 + 50 bp, vạch hiển thị sáng nhất trên gel là 550 bp); C+ = dương chuẩn; C- = âm chuẩn; L1 – L5 là các mẫu bò nhân gen 18S rDNA để chẩn đoán phát hiện loài *Theileria* spp. Kết quả sản phẩm của phản ứng nested PCR cho thấy, mẫu dương tính thể hiện là một băng đơn sáng đậm trên bản thạch với kích thước khoảng 581bp.

* Phương pháp phân tích kết quả

Kết quả được tính theo từng mùa:

- + Tỷ lệ nhiễm đơn loài = Tổng số mẫu máu nhiễm/Tổng số mẫu máu kiểm tra.
- + Tỷ lệ nhiễm chung = Tổng số mẫu máu nhiễm/Tổng số mẫu máu kiểm tra.
- + Tỷ lệ nhiễm của từng loài vật chủ = Tổng số mẫu máu nhiễm bệnh của một loài vật chủ/Tổng số mẫu máu kiểm tra của loài vật chủ đó.
- + Tỷ lệ nhiễm của từng tỉnh/TP = Tổng số mẫu máu nhiễm bệnh của một tỉnh/TP/Tổng số mẫu máu kiểm tra của tỉnh/TP đó.

2.4.1.2. Phương pháp nghiên cứu xác định một số đặc điểm sinh học phân tử của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa

Sau khi có kết quả chẩn đoán ban đầu đã được thực hiện bằng phương pháp 2.4.1.1, chúng tôi tiến hành chọn lọc DNA tổng số từ một số mẫu dương tính với *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. theo mùa, theo loài vật và theo địa điểm nghiên cứu (tỉnh/TP) để nhân gen nPCR.

* Phương pháp nhân gen nested - PCR (nPCR)

- Chọn mẫu dương tính với *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp.:

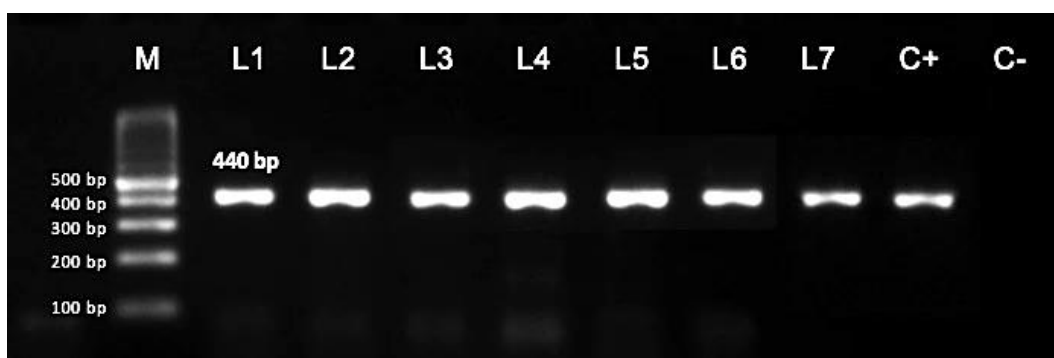
Từ các mẫu DNA có phát hiện mầm bệnh nói trên, các mẫu đã được chọn (là những mẫu cho băng đơn sáng đậm nhất trên bản thạch) để nhân gen đoạn gen 16S rDNA đối với loài *Anaplasma* spp.; đoạn gen 18S rDNA và vùng ITS2 đối với loài *Babesia* spp., *Theileria* spp.

- Thành phần và số lượng hỗn hợp phản ứng PCR được thể hiện ở bảng 2.8 và chạy gia nhiệt với chu trình nhiệt ở bảng 2.9. Sản phẩm PCR/nPCR được trộn với Loading dye (Thermo Fisher - Mỹ), chạy điện di trên bản thạch Agarose (Biobasic Canada), DNA ladder 100 bp (Thermo Fisher - Mỹ) nhuộm Sybr Safe (Thermo Fisher - Mỹ) và đọc kết quả dưới máy đọc gel. Cặp mồi sử dụng nhân gen thể hiện ở bảng 2.10.

1 **Bảng 2.10.** Mồi và trình tự mồi của phản ứng nested PCR nhân gen 16S rDNA hoặc 18S rDNA và vùng ITS2

Tác nhân gây bệnh	Phương pháp	Tên mồi	Trình tự mồi (5' – 3')	Gen đích	Độ dài sản phẩm (bp)	TLTK
<i>Anaplasma</i> spp.	PCR vòng 1	Ehr1	GAACGAACGCT GGCGGCAAGC	16S	510	(Hosseini-Vasoukolaei và ctv, 2014)
		Ehr2	AGTA [T/C]CG[A/G]ACCAGATAGCCGC		524	
	PCR vòng 2	Ehr3	TGCATAGGAATCTACCTAGTAG			
		Ehr4	CTAGGAATTCCGCTATCC TCT			
<i>Babesia</i> spp.	PCR vòng 1	RLB-F2	GTCTTGTAATTGGAATGATGG	18S	420	(Liu và ctv, 2017)
		RLB-R2	TAGTTTATGGTTAGGACTACG			
	PCR vòng 2	RLB-FINT	GTCTTGTAATTGGAATGATGG		440	
		RLB-R2	TAGTTTATGGTTAGGACTACG			
<i>Theileria</i> spp.	PCR vòng 1	Theil-F1	CACAGGGAGGTAGTGACAAG	18S	778	(Cao và ctv, 2013)
		Theil -R1	AAGAATTTACCTCTGACAG			
	PCR vòng 2	Theil-F2	CACAGGGAGGTAGTGACAAG		581	
		Theil-R2	ATTGCTTGTGTCCCT CCG			
<i>Babesia</i> spp.	PCR vòng 1	bov-ITS-F	CGTCCCTGCCCTTTGTA	ITS2	815	(Guswanto và ctv, 2017)
		bov-ITS-R	TATTTTCTTTTCTGCCGCTT			
	PCR vòng 2	bov-ITS-nF	CACCACCAGTGGAAGCAC		545	
		bov-ITS-nR	TTGTGCCCCATGGACACT			
<i>Theileria</i> spp.	PCR vòng 1 và 2	ITS2Theil-F ITS2Theil-R	GCTTGTTGAGAGGATGCCT GTTCACTGAAATGGGAGTAC	ITS2	776	(Kamau và ctv, 2011)

2



Hình 2.3. Hình ảnh kết quả điện di sản phẩm phản ứng nested PCR dương tính của loài *Babesia* spp.

**Ghi chú:* Kết quả sản phẩm của phản ứng nPCR cho thấy, mẫu dương tính thể hiện là một băng đơn sáng đậm trên bản thạch với kích thước khoảng 440 bp. Các mẫu được chọn gửi đi giải trình tự gen đều là các mẫu có chất lượng DNA tốt.

* Phương pháp giải trình tự gen Sanger

Sản phẩm nPCR đạt yêu cầu (có vạch sáng rõ trên bản thạch) được tinh sạch khỏi dung dịch TBE sử dụng kit tinh sạch GenCatch™ Advanced PCR Cleanup Kit (Epoch Life Science-Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất (quy trình tinh sạch sản phẩm nPCR được trình bày ở phụ lục 3), sau đó gửi đi giải trình tự gen.

Tổng cộng 480 sản phẩm nPCR của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. đã được tinh sạch và gửi đi giải trình tự gen Sanger tại công ty Macrogen Hàn Quốc (<https://dna.macrogen.com/>). Thông tin chi tiết thể hiện tại Bảng 2.11.

Bảng 2.11. Số lượng mẫu gửi giải trình tự gen Sanger

TT	Loài	Tên đoạn gen		Tổng số mẫu
		16S/18S	ITS2	
1	<i>Anaplasma</i> spp.	200	-	200
2	<i>Babesia</i> spp.	80	20	100
3	<i>Theileria</i> spp.	152	28	180
Tổng chuỗi gen		432	48	480

* Phương pháp định loài và đăng ký trình tự chuỗi gen lên ngân hàng gen

- Trình tự gen đoạn gen 16S rDNA, 18S rDNA và vùng ITS2 được sửa chữa và hoàn thiện trên phần mềm BioEdit 7.2, sau đó blast lên ngân hàng gen (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) để định loài.

- Các chuỗi gen 16S rDNA, 18S rDNA và ITS2 hoàn chỉnh và tên loài đã định danh được nộp lên Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> - ngân hàng gen) để kiểm duyệt và được cấp mã số chuỗi gen.

* Phương pháp tính khoảng cách di truyền giữa các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. dựa trên chuỗi nucleotide.

- Khoảng cách truyền được tính là số lượng nucleotide hoặc axit amin khác biệt giữa hai tập hợp các kết quả của hai đối tượng so sánh được tính bằng một tỷ lệ phần trăm (%). Khoảng cách di truyền bằng 0 có nghĩa là không có sự khác biệt về các kết quả so sánh. Nếu tỷ lệ tiếp cận càng gần 0 (0%) thì chúng có quan hệ họ hàng càng gần, nếu thì lệ tiếp cận càng gần 1 (100%) thì chúng có quan hệ họ hàng càng xa (Kalinowski, 2002).

- Chuỗi nucleotide thu được sau khi giải trình tự gen được biên tập (editing) cuối cùng để xác định gen, phân tích cấu trúc chuỗi gen, sắp xếp gen sử dụng phần mềm BioEdit để xác định khoảng cách di truyền. Việc tính toán khoảng cách di truyền (genetic distance) được thực hiện bằng cách so sánh từng cặp trình tự 16S rDNA giữa các chủng của từng loài *Anaplasma* spp., từng cặp trình tự 18S rDNA và ITS2 giữa các chủng của từng loài *Babesia* spp., *Theileria* spp. với các trình tự gen 16S, 18S và ITS2 của một số loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. đã công bố, lưu trữ trên Genbank (phụ lục 4).

* Phương pháp xây dựng và phân tích phả hệ của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa

- Cây phả hệ được xây dựng trên phần mềm MEGA 6, sử dụng phương pháp “tiếp cận cực đại” (Maximum Likelihood method) với độ tin cậy (Bootstrap Value) 1000 lần lặp lại (Tamura và ctv, 2013).

2.4.2. Phương pháp xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu và đề xuất biện pháp phòng bệnh

* Biến số, kỹ thuật, phương pháp và các chỉ số trong nghiên cứu

Tên biến số	Kỹ thuật, phương pháp	Chỉ số nghiên cứu
Tỷ lệ lưu hành của các loài <i>Anaplasma</i> spp., <i>Babesia</i> spp. và <i>Theileria</i> spp.	Kết quả xác định tỷ lệ lưu hành từ nội dung 1 và thu thập thông tin qua bảng hỏi (phụ lục 1), sử dụng bằng các phép phân tích đơn biến và đa biến, sử dụng phép thử Khi bình phương (Chi square Test) và hàm hồi quy tuyến tính Logistic regression.	Tỉ số chênh OR (Odd Ratios), (OR >1: thì nguy cơ cao hơn và OR <1 thì nguy cơ thấp hơn). Các yếu tố nguy cơ được xác định là có liên quan đến dịch tễ học của bệnh khi có giá trị $p < 0,05$.
Các yếu tố nguy cơ gồm vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể, vị trí địa lý (tỉnh/TP), mùa, loài vật nuôi, tính biệt (đực/cái), giống vật nuôi (bản địa/lai/nhập khẩu), lứa tuổi (năm), hình thức chăn thả (nuôi nhốt/bán chăn thả/chăn thả hoàn toàn).		

2.4.2.1. Phương pháp xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu

Khi thu thập mẫu máu tại Nội dung 1, các dữ liệu thông tin về vị trí địa lý (GPS) địa điểm lấy mẫu, thời điểm lấy mẫu (theo mùa), loài vật nuôi (trâu, bò, dê, ngựa), vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể, tính biệt (đực/cái), giống vật nuôi (bản địa/lai/nhập khẩu), lứa tuổi (năm), hình thức chăn thả (nuôi nhốt/bán chăn thả/chăn thả hoàn toàn) được hỏi, quan sát và ghi chép vào phiếu ghi thông tin (Phụ lục 1).

Kết quả phát hiện *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa và các thông tin liên quan đến mẫu được nhập vào trang Excel. Tỷ lệ lưu hành của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. và một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu được xác định bằng các phép phân tích đơn biến và đa biến, sử dụng phép thử Khi bình phương (Chi square Test) và hàm hồi quy tuyến tính Logistic regression. Các yếu tố nguy cơ được xác định là

có liên quan đến dịch tễ học của bệnh khi có giá trị $p < 0,05$ và mức độ liên quan dịch tễ học của các yếu tố nguy cơ được đánh giá bằng tỉ số chênh OR.

2.4.2.2. Phương pháp xây dựng đề xuất biện pháp phòng bệnh

* Phương pháp tổng hợp và phân tích số liệu từ kết quả nghiên cứu trên thế giới

Phương pháp tổng hợp và phân tích các dữ liệu liên quan đến các bệnh và phòng bệnh ký sinh trùng đường máu trong và ngoài nước đã xuất bản: Một số bài báo, kết quả nghiên cứu tiêu biểu liên quan trong 5 năm gần đây được lựa chọn và tổng hợp các số liệu liên quan đến bệnh (tỷ lệ nhiễm, các yếu tố truyền lây) và biện pháp phòng bệnh áp dụng (bao gồm cả các báo cáo về các loại thuốc điều trị sử dụng và kháng thuốc (nếu có); các loại thuốc diệt ve và côn trùng...).

* Phương pháp tổng hợp và phân tích số liệu từ kết quả nghiên cứu của luận án

Phương pháp phân tích và tổng hợp các kết quả nghiên cứu của luận án: phân tích và so sánh tình hình nhiễm bệnh và các yếu tố truyền lây theo (mùa), loài vật nuôi (trâu, bò, dê, ngựa), vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể, tính biệt (đực/cái), giống vật nuôi (bản địa/lai/nhập khẩu), lứa tuổi (năm), hình thức chăn thả (nuôi nhốt/bán chăn thả/chăn thả hoàn toàn).

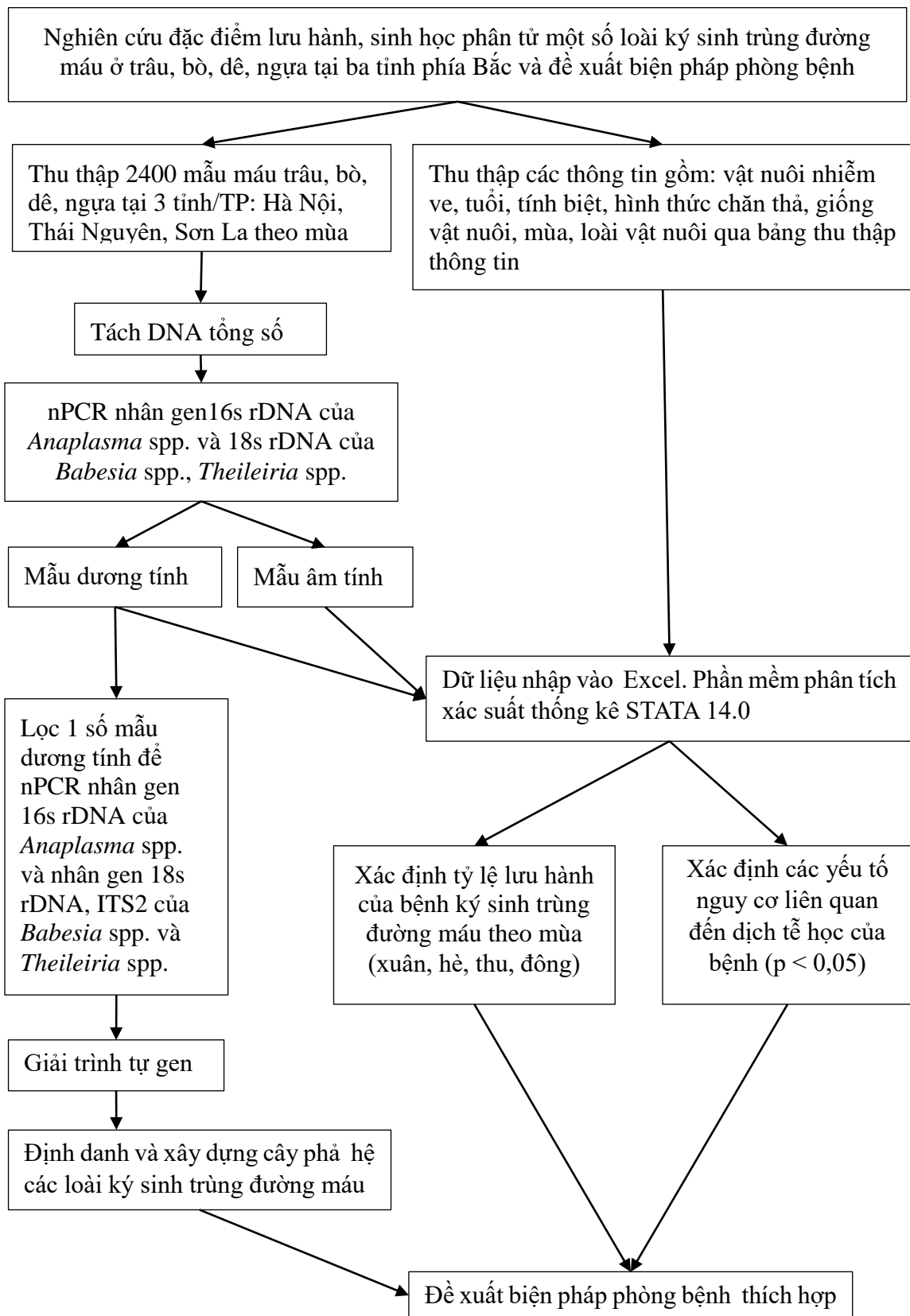
* Đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp

Từ kết quả nghiên cứu của luận án để đề xuất biện pháp phòng bệnh phù hợp tại 3 tỉnh/TP thực hiện nghiên cứu.

2.4.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý trên phần mềm tin - sinh học trong nghiên cứu, bao gồm: các phần mềm Excel, Stata 14.0, Bio Edit, MEGA 6.0 để thu nhận, xử lý, phân tích mô tả, phân tích hồi quy tuyến tính đối với các chỉ tiêu theo dõi, phân tích các chuỗi nucleotide và xây dựng mối quan hệ phả hệ xác định nguồn gốc chủng loài.

2.4.4. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu của luận án



Hình 2.4. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu xác định đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc

3.1.1. Kết quả xác định sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa theo mùa (xuân, hè, thu, đông)

3.1.1.1. Kết quả xác định sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa xuân

Sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa xuân được thể hiện ở các bảng 3.1, 3.2 và 3.3.

Bảng 3.1. Kết quả xác định sự lưu hành của *Anaplasma* spp. ở trâu, bò, dê, và ngựa vào mùa xuân

Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n =600)
Loài vật	600	75	12,50	10,0 - 15,4	<0,0001
Trâu	147	10	6,8	2,7 - 10,9	
Bò	163	43	26,4	19,6 - 33,2	
Dê	156	11	7,1	3,0 - 11,1	
Ngựa	134	11	8,2	3,5 - 12,9	
Tỉnh/TP	600	75	12,50	10,0 - 15,4	<0,0001
Hà Nội	200	18	9,0	5,0 - 13,0	
Thái Nguyên	200	15	7,5	3,8 - 11,2	
Sơn La	200	42	21,0	15,3 - 26,7	
Tính biệt	600	75	12,50	10,0 - 15,4	>0,05
Đực	114	18	15,8	9,1 - 22,5	
Cái	486	57	11,7	8,9 - 14,6	
Nhóm tuổi	600	75	12,50	10,0 - 15,4	>0,05
< 1 tuổi	30	4	1,3	0,9 - 2,5	
1-5 tuổi	401	50	12,4	9,2 - 15,7	
> 5 tuổi	169	47	12,4	7,4 - 17,2	

Bảng 3.1 cho thấy, *Anaplasma* spp. lưu hành trên các loài vật nuôi trâu, bò, dê và ngựa vào mùa xuân với tỷ lệ nhiễm chung là 12,5% (95%CI: 10,0 - 15,4). Trong đó, tỷ lệ lưu hành của loài *Anaplasma* spp. cao nhất ở bò (26,4%; $p < 0,0001$) và thấp nhất ở trâu (6,8%). *Anaplasma* spp. lưu hành trên các loài vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP, cao nhất ở tỉnh Sơn La (21,0%; $p < 0,0001$), và thấp nhất ở tỉnh Thái Nguyên (7,5%). Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ là 15,8% và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 11,7%. Trâu, bò, dê và ngựa nhiễm *Anaplasma* spp. ở tất cả các lứa tuổi, chủ yếu ở nhóm tuổi từ 1 - 5 tuổi và trên 5 tuổi (12,4%), nhóm <1 tuổi nhiễm thấp nhất (1,3%).

Bảng 3.2. Kết quả xác định sự lưu hành của *Babesia* spp. trên trâu, bò, dê, ngựa vào mùa xuân

Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n = 600)
Loài vật	600	18	3,0	1,8 - 4,7	<0,001
Trâu	147	1	0,7	0,6 - 2,0	
Bò	163	9	5,5	2,0 - 9,0	
Dê	156	0	0	0	
Ngựa	134	8	6,0	1,9 - 10,0	
Tỉnh/TP	600	18	3,0	1,8 - 4,7	>0,05
Hà Nội	200	10	5,0	2,0 - 8,0	
Thái Nguyên	200	5	2,5	0,3 - 3,2	
Sơn La	200	2	1,5	0,2 - 3,2	
Tính biệt	600	18	3,0	1,8 - 4,7	>0,05
Đực	114	2	1,8	0,7 - 4,2	
Cái	486	16	3,3	0,2 - 4,9	
Nhóm tuổi	600	18	3,0	1,8 - 4,7	>0,05
< 1 tuổi	30	0	0	0	
1-5 tuổi	401	11	2,7	1,1 - 4,3	
> 5 tuổi	169	7	4,1	1,1 - 7,2	

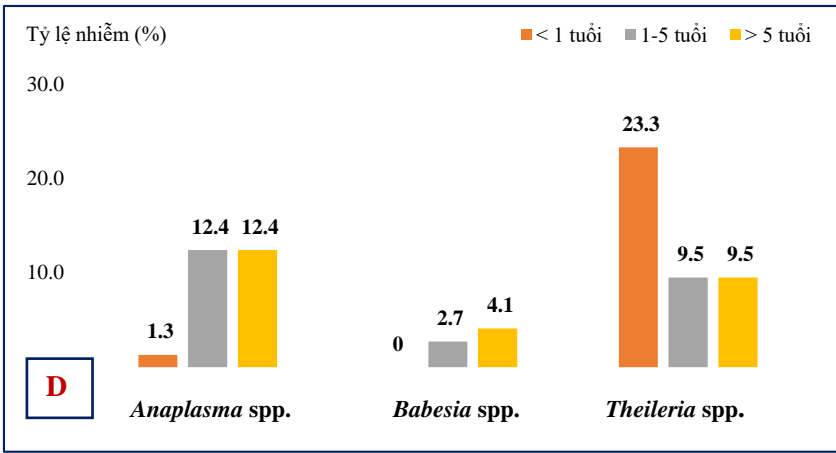
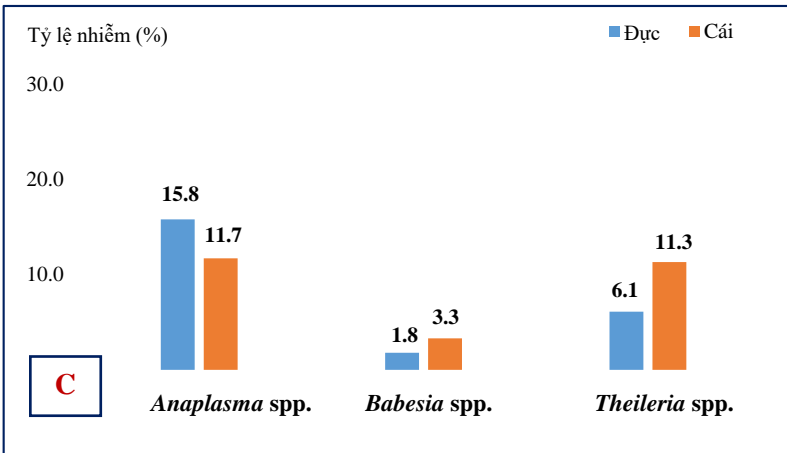
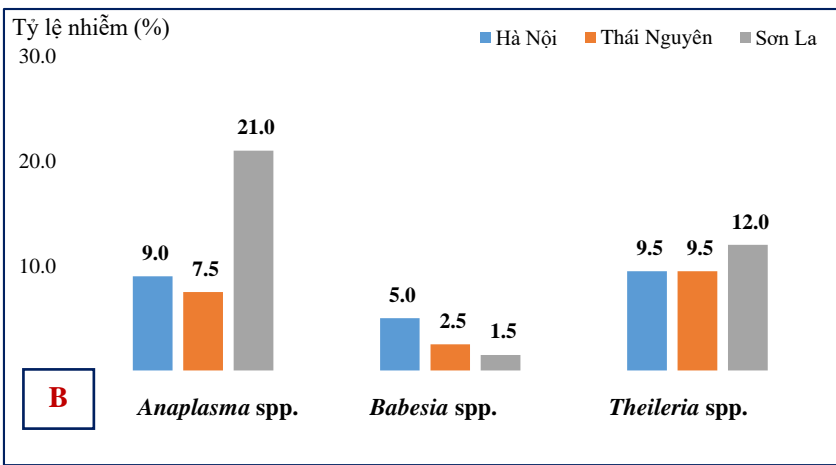
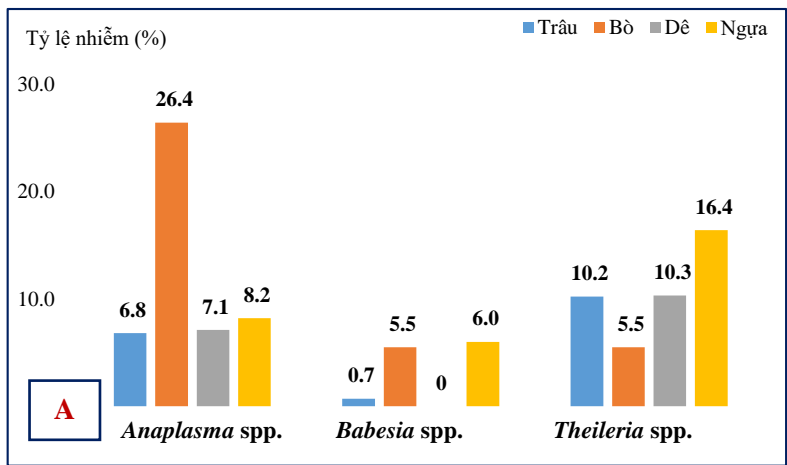
Bảng 3.2 cho thấy, vào mùa xuân *Babesia* spp. lưu hành trên các loài vật nuôi trâu, bò, dê và ngựa với tỷ lệ nhiễm chung là 3,0% (95%CI: 1,8 - 4,7) và không lưu hành trên dê. Trong đó, tỷ lệ lưu hành của loài *Babesia* spp. cao nhất ở ngựa (6,0%); tiếp đến là bò (5,5%); trâu (0,7%), và thấp nhất ở dê (0%), sự sai khác này mang ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). Vật nuôi ở cả ba tỉnh/TP đều nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ dao động từ 1,5% - 5,0%. Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ là 1,8% (95%CI: 0,7 - 4,2); và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 3,3% (95%CI: 0,2 - 4,9). Vật nuôi trong nhóm tuổi >5 tuổi nhiễm *Babesia* spp. là chủ yếu (4,1%), tiếp đến là vật nuôi trong nhóm tuổi 1 - 5 tuổi (2,7%) và vật nuôi trong nhóm tuổi <1 tuổi không nhiễm *Babesia* spp.

Bảng 3.3. Kết quả xác định sự lưu hành của *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa xuân

Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n = 600)
Loài vật	600	62	10,3	8,0 - 13,1	<0,01
Trâu	147	15	10,2	5,3 - 15,1	
Bò	163	9	5,5	2,0 - 9,0	
Dê	156	16	10,3	5,5 - 15,0	
Ngựa	134	22	16,4	10,1 - 22,7	
Tỉnh/TP	600	62	10,3	8,0 - 13,1	>0,05
Hà Nội	200	19	9,5	5,4 - 13,6	
Thái Nguyên	200	19	9,5	5,4 - 13,6	
Sơn La	200	24	12,0	7,5 - 16,5	
Tính biệt	600	62	10,3	8,0 - 13,1	<0,05
Đực	114	7	6,1	1,7 - 10,6	
Cái	486	55	11,3	8,5 - 14,1	
Nhóm tuổi	600	62	10,3	8,0 - 13,1	>0,05
< 1 tuổi	30	7	23,3	7,9 - 38,8	
1-5 tuổi	401	39	9,5	6,8 - 12,6	
> 5 tuổi	169	16	9,5	5,0 - 13,9	

Bảng 3.3 cho thấy, tỷ lệ lưu hành chung của *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa xuân là 10,3% (95%CI: 8,0 - 13,1). Trong đó, tỷ lệ lưu hành *Theileria* spp. ở trâu là 10,2%; ở bò là 5,5%; ở dê là 10,3% và ngựa là 16,4%. Trâu, bò, dê và ngựa ở 3 tỉnh/TP đều nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ dao động từ 9,5% - 12,0%. Vật nuôi ở tỉnh Sơn La nhiễm *Theileria* spp. cao nhất (12,0%). Vật nuôi ở TP. Hà Nội và tỉnh Thái Nguyên đều nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ là 9,5%. Trâu, bò, dê và ngựa có tính biệt đực nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ là 6,1% (95%CI: 1,7 - 10,6); và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 11,3% (95%CI: 8,5 - 14,1). Vật nuôi trong nhóm tuổi <1 tuổi nhiễm *Theileria* spp. là chủ yếu (23,3%), tiếp đến là vật nuôi trong nhóm tuổi 1-5 tuổi và vật nuôi trong nhóm tuổi >5 tuổi nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ là 9,5%.

Kết quả ở bảng 3.1, 3.2 và 3.3 cho thấy, mùa xuân có tỷ lệ lưu hành bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi *Anaplasma* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa cao nhất (12,50%), tiếp đến là *Theileria* spp. (10,3%) và thấp nhất là *Babesia* spp. (3,0%). Để nhìn rõ hơn sự biến động tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa xuân, chúng tôi tiến hành so sánh tỷ lệ nhiễm của các loài ký sinh trùng đường máu theo loài vật nuôi, theo địa điểm nghiên cứu (tỉnh/TP), theo tính biệt và theo nhóm tuổi. Kết quả được thể hiện ở biểu đồ hình 3.1 dưới đây.



Hình 3.1. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu vào mùa xuân (3.1A: theo loài vật; 3.1B: theo địa điểm nghiên cứu; 3.1C: theo tính biệt; 3.1D: theo nhóm tuổi)

Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu theo loài vật vào mùa xuân (hình 3.1A) cho thấy: trâu, bò, dê và ngựa tại ba tỉnh/TP đều nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. với tỷ lệ dao động từ 0 đến 26,4%. Trong đó, tỷ lệ lưu hành bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. cao nhất ở bò (26,4%), tiếp đến là *Theileria* spp. cao nhất ở ngựa (16,4%) và *Babesia* spp. cao nhất ở ngựa (6,0%). *Anaplasma* spp. là loài ký sinh trùng đường máu lưu hành cao nhất trên bò (26,4%), do bò là vật chủ ưa thích của ve *R. (B) microplus* loài ve đã được xác định là véc tơ truyền bệnh của *Anaplasma* spp. (Atif, 2015).

Ngựa nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ cao nhất so với các loài vật nuôi còn lại do ngoài ve là véc tơ truyền bệnh, *Theileria* spp. còn truyền cơ học qua véc tơ truyền bệnh là ruồi trâu *Stomoxys calcitrans* và ruồi ngựa *Haematobia irritans* (Showler, 2014). Trâu, bò, dê và ngựa nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ từ 0 - 6,0%. Trong đó, *Babesia* spp. lưu hành ở bò với tỷ lệ nhiễm là 5,5%. Kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Hữu Hưng và ctv (2014). Tác giả này cho rằng, bò nhiễm *B. bigemina* ở mức thấp (6,88%). *Babesia* spp. sinh sản hữu tính trong cơ thể một số loài ve cứng và phát triển hết sức phức tạp, thời gian để hoàn thiện vòng đời từ 20 - 30 ngày (Nguyễn Văn Thọ và ctv, 2019; Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015; Bock và ctv, 2004). Do đó, trâu, bò, dê và ngựa nhiễm *Babesia* spp. thấp nhất trong ba loài ký sinh trùng đường máu.

Qua theo dõi các chỉ số khí hậu các tháng vào thời điểm nồm ẩm vào mùa xuân, nền độ ẩm của TP. Hà Nội và tỉnh Thái Nguyên tăng cao (lên gần 90%) ruồi, mòng chậm phát triển thì nền độ ẩm của tỉnh Sơn La lại giảm hơn, ở mức chỉ gần 70%, thuận lợi cho ruồi trâu *Stomoxys calcitrans* và ruồi ngựa *Haematobia irritans* phát triển, là những véc tơ truyền bệnh của *Anaplasma* spp. và *Theileria* spp. (Bautista-Garfias và ctv, 2021; Battilani và ctv, 2017; Atif, 2016). Do đó, vật nuôi ở ba tỉnh/TP thực hiện nghiên cứu có tỷ lệ nhiễm của các loài ký sinh trùng đường máu khác nhau. Trong đó, vật nuôi ở tỉnh Sơn La có tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp. (21%) và *Theileria* spp. (12%) cao nhất trong ba tỉnh/TP nghiên cứu (Hình 3.1B).

Loài *Babesia* spp. có tỷ lệ lưu hành thấp nhất ở vật nuôi trong ba loài ký sinh trùng đường máu nghiên cứu tại ba tỉnh/TP, do loài *Babesia* spp. chỉ truyền qua ve, còn loài *Anaplasma* spp. và *Theileria* spp. truyền cả cơ học và sinh học qua ve, ruồi (ruồi trâu *Stomoxys calcitrans* và ruồi ngựa *Haematobia irritans*) và mòng *Tabanus* spp. (Battilani và ctv, 2017; Atif, 2016) nên vật nuôi tại ba tỉnh/TP nhiễm *Anaplasma* spp. và *Theileria* spp. cao hơn so với vật nuôi nhiễm *Babesia* spp.

Cả trâu, bò, dê và ngựa đực và cái đều nhiễm bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. Trong đó, vật nuôi có tính biệt đực có tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. dao động từ 1,8% - 15,8%; và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm từ 3,3% - 11,7% (hình 3.1C).

Biểu đồ hình 3.1D cho thấy, trâu, bò, dê và ngựa ở mọi lứa tuổi đều nhiễm bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. với tỷ lệ dao động từ 0% - 23,3%. Đối với loài *Anaplasma* spp. có tỷ lệ lưu hành ở trâu, bò, dê và ngựa với tỷ lệ nhiễm từ 1,3% đến 12,4% nhưng chủ yếu ở nhóm tuổi từ 1 - 5 tuổi và trên 5 tuổi (12,4%); thấp nhất ở nhóm tuổi <1 tuổi. *Babesia* spp. có tỷ lệ lưu hành ở trâu, bò, dê và ngựa với tỷ lệ nhiễm là 0% - 4,1%. Trong đó, vật nuôi nhiễm cao nhất ở trên 5 tuổi (4,1%), tiếp đến là nhóm tuổi từ 1 - 5 tuổi (2,7%) và thấp nhất ở nhóm tuổi <1 tuổi (0%). *Theileria* spp. có tỷ lệ lưu hành ở trâu, bò, dê và ngựa từ 9,5% - 23,3%. Theo các tác giả (M'ghirbi và ctv, 2016; Nguyễn Hữu Hưng và ctv, 2014; Phạm Sỹ Lăng, 2006) cho biết, tất cả các lứa tuổi của gia súc đều nhiễm bệnh ký sinh trùng đường máu, bò trưởng thành đã nuôi thuần hóa, thích nghi với điều kiện sinh thái ít thấy phát bệnh thể cấp tính. Bò càng lớn thì thời gian tiếp xúc với các loài ve và côn trùng môi giới mang mầm bệnh càng cao, nên khả năng bị nhiễm bệnh tăng dần theo lứa tuổi. Kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với nhận định của các tác giả trên.

3.1.1.2. Kết quả xác định sự lưu hành của Anaplasma spp., Babesia spp. và Theileria spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa hè

Sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa hè được thể hiện trong các bảng 3.4, 3.5 và 3.6.

Bảng 3.4. Kết quả xác định sự lưu hành của *Anaplasma* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa hè

Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n = 600)
Loài vật	600	268	44,7	40,6 - 48,7	< 0,0001
Trâu	150	84	56,0	48,0 - 64,0	
Bò	150	110	73,3	66,2 - 80,4	
Dê	150	47	31,3	23,9 - 38,8	
Ngựa	150	27	18,0	11,8 - 24,2	
Tỉnh/TP	600	268	44,7	40,6 - 48,7	>0,05
Hà Nội	200	96	48,0	41,0 - 55,0	
Thái Nguyên	200	86	43,0	36,1 - 49,9	
Son La	200	86	43,0	36,1 - 49,9	
Tính biệt	600	268	44,7	40,6 - 48,7	< 0,0001
Đực	190	64	33,7	26,9 - 40,4	
Cái	410	204	49,8	44,9 - 54,6	
Nhóm tuổi	600	268	44,7	40,6 - 48,7	>0,05
< 1 tuổi	66	27	40,9	28,9 - 52,9	
1-5 tuổi	420	194	46,2	41,2 - 60,0	
> 5 tuổi	114	47	41,2	32,1 - 50,3	

Bảng 3.4 cho thấy, *Anaplasma* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa tại 3 tỉnh/TP vào mùa hè với tỷ lệ là 44,7% (95%CI: 40,6 - 48,7). Trong đó, vật nuôi tại TP. Hà Nội có tỷ lệ nhiễm cao nhất (48%), vật nuôi tại tỉnh Thái Nguyên và Sơn La cùng có tỷ lệ nhiễm là 43%. Tỷ lệ lưu hành của *Anaplasma* spp. trên trâu, bò, dê và ngựa lần lượt là 56,0%; 73,3%; 31,3% và 18,0%. Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ là 33,7% (95%CI: 26,9 - 40,4); và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 49,8% (95%CI: 44,9 - 54,6). Vật nuôi ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Anaplasma* spp. Trong đó, vật nuôi trong nhóm < 1 năm tuổi, nhóm 1 - 5 tuổi và nhóm > 5 tuổi có tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp. lần lượt là 40,9%; 46,2%; 41,2%.

Bảng 3.5. Kết quả xác định sự lưu hành của *Babesia* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa hè

Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n = 600)
Loài vật	600	73	12,2	9,7 - 15,1	< 0,0001
Trâu	150	13	8,7	4,1 - 13,2	
Bò	150	35	23,3	16,5 - 30,1	
Dê	150	4	2,7	0,7 - 5,3	
Ngựa	150	21	14,0	8,4 - 19,6	
Tỉnh/TP	600	73	12,2	9,7 - 15,1	< 0,0001
Hà Nội	200	26	13,0	8,3 - 17,7	
Thái Nguyên	200	40	20,0	14,4 - 25,6	
Son La	200	7	3,5	0,9 - 6,1	
Tính biệt	600	73	12,2	9,7 - 15,1	>0,05
Đực	190	26	13,7	8,8 - 18,6	
Cái	410	47	11,5	8,4 - 14,6	
Nhóm tuổi	600	73	12,2	9,7 - 15,1	>0,05
< 1 tuổi	66	7	10,6	3,1 - 18,1	
1-5 tuổi	420	48	11,4	8,4 - 14,5	
> 5 tuổi	114	18	15,8	9,1 - 22,5	

Kết quả bảng 3.5 cho thấy, vào mùa hè loài *Babesia* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh/TP miền Bắc, Việt Nam với tỷ lệ nhiễm chung là 12,2% (95%CI: 9,7 - 15,1). Trong đó, tỷ lệ nhiễm *Babesia* spp. trên trâu, bò, dê và ngựa lần lượt là: 8,7%; 23,3%; 2,7% và 14,0%, cao nhất ở loài vật chủ là bò (23,3%; $p < 0,0001$). Vật nuôi cả 3 tỉnh/TP đều nhiễm *Babesia* spp.; trong đó, tỷ lệ nhiễm *Babesia* spp. cao nhất ở các loài vật nuôi tại tỉnh Thái Nguyên (20,0%) và thấp nhất ở các loài vật nuôi tại tỉnh Sơn La (3,5%). Trâu, bò, dê và ngựa có tính biệt đực nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ là 13,7% (95%CI: 8,8 - 18,6); và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 11,5% (95%CI: 8,4 - 14,6). Tỷ lệ nhiễm *Babesia* spp. có khuynh hướng tăng dần từ nhóm tuổi dưới 1 năm tuổi đến nhóm >5 năm tuổi (10,6% - 15,8%).

Bảng 3.6. Kết quả xác định sự lưu hành của *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa hè

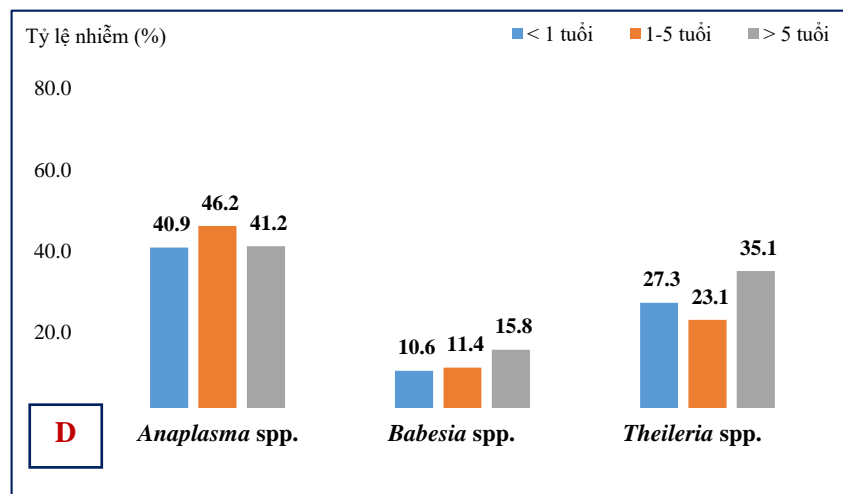
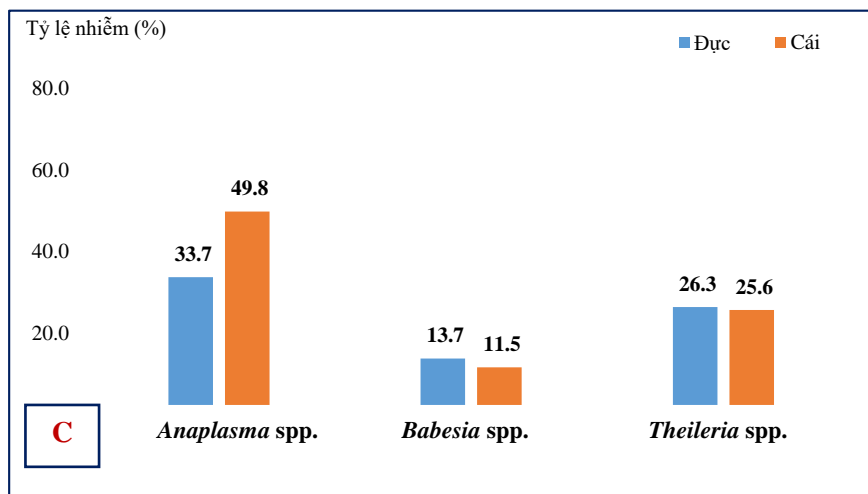
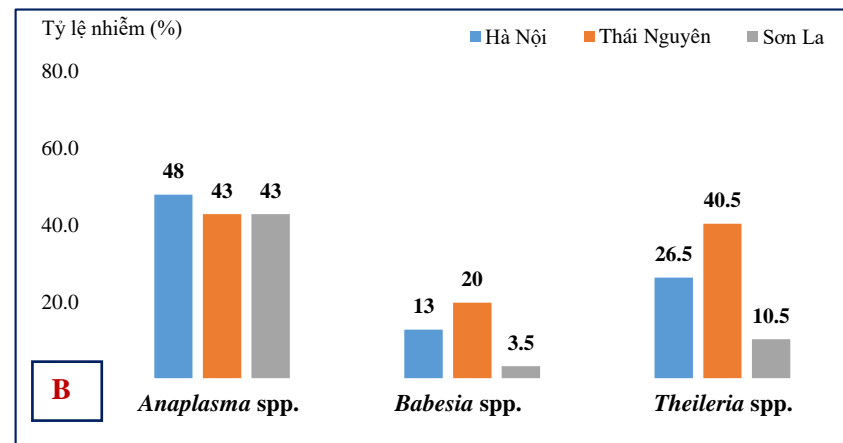
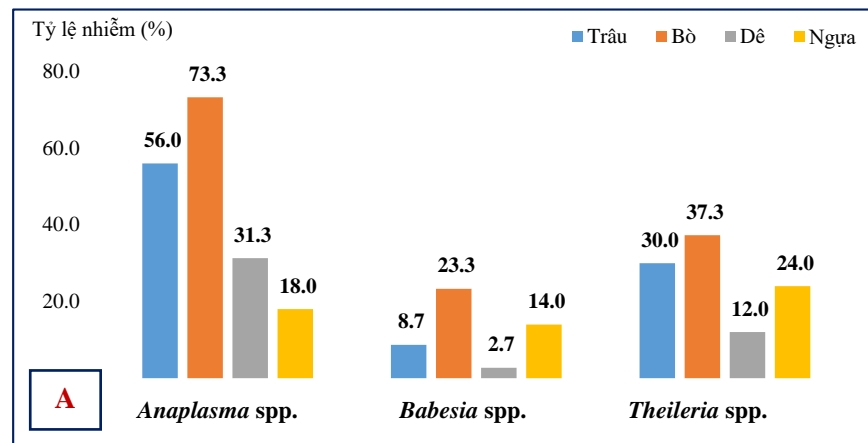
Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n = 600)
Loài vật	600	155	25,8	22,4 - 29,5	<0,0001
Trâu	150	45	30,0	22,6 - 37,4	
Bò	150	56	37,3	29,6 - 45,1	
Dê	150	18	12,0	6,8 - 17,2	
Ngựa	150	36	24,0	17,1 - 30,9	
Tỉnh/TP	600	155	25,8	22,4 - 29,5	<0,0001
Hà Nội	200	53	26,5	20,4 - 32,6	
Thái Nguyên	200	81	40,5	33,7 - 47,3	
Sơn La	200	21	10,5	6,2 - 14,7	
Tính biệt	600	155	25,8	22,4 - 29,5	>0,05
Đực	190	50	26,3	20,0 - 32,6	
Cái	410	105	25,6	21,4 - 29,8	
Nhóm tuổi	600	155	25,8	22,4 - 29,5	<0,05
< 1 tuổi	66	18	27,3	16,4 - 38,1	
1-5 tuổi	420	97	23,1	19,1 - 27,1	
> 5 tuổi	114	40	35,1	26,3 - 43,9	

Kết quả bảng 3.6 cho thấy, vào mùa hè *Theileria* spp. lưu hành trên các loài vật nuôi với tỷ lệ là 25,8% (95%CI: 22,4 - 29,5). Vật nuôi có tỷ lệ lưu hành lần lượt là: trâu (30%); bò (37,3%); dê (12,0%) và ngựa (24%). Trong đó, bò có tỷ lệ lưu hành cao nhất (37,3%) và dê có tỷ lệ lưu hành thấp nhất (12,0%). Tất cả các loài vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP đều nhiễm *Theileria* spp.; trong đó, vật nuôi ở tỉnh Thái Nguyên nhiễm *Theileria* spp. cao nhất (40,5%) và vật nuôi ở tỉnh Sơn La nhiễm *Theileria* spp. thấp nhất (10,5%). Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ là 26,3% (95%CI: 20,0 - 32,5); và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 25,6% (95%CI: 21,4 - 29,8). Trâu, bò, dê và ngựa ở mọi lứa tuổi đều nhiễm

Theileria spp., tuy nhiên các nhóm tuổi khác nhau có tỷ lệ lưu hành khác nhau. Vật nuôi trong nhóm tuổi > 5 tuổi có tỷ lệ nhiễm cao nhất (35,2%), tiếp đến là nhóm < 1 tuổi (27,3%) và thấp nhất là nhóm 1 - 5 tuổi (23,1%).

Qua kết quả ở bảng 3.4, 3.5 và 3.6 cho thấy, vào mùa hè tỷ lệ lưu hành các bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) cao hơn so với mùa xuân. Trong đó, vật nuôi tại 3 tỉnh/TP có tỷ lệ lưu hành *Anaplasma* spp. cao nhất (44,7%), tiếp đến là *Theileria* spp. (25,8%) và thấp nhất là *Babesia* spp. (12,2%).

Để thấy được sự biến động tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu trên trâu, bò, dê và ngựa vào mùa hè một cách rõ nét hơn, chúng tôi tiến hành so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu theo loài vật nuôi, theo địa điểm nghiên cứu, theo tính biệt và theo nhóm tuổi. Kết quả được thể hiện ở biểu đồ hình 3.2.



Hình 3.2. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu vào mùa hè (3.2A: theo loài vật nuôi; 3.2B: theo địa điểm nghiên cứu; 3.2C: theo tính biệt; 3.2D: theo nhóm tuổi)

Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành chung của các loài ký sinh trùng đường máu trên các loài vật nuôi vào mùa hè được thể hiện ở hình 3.2 cho thấy: các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ dao động từ 2,7% - 73,3% (hình 3.2A). Trong đó, *Anaplasma* spp. là loài ký sinh trùng đường máu lưu hành cao nhất ở các loài vật nuôi, với tỷ lệ nhiễm từ 18,0% đến 73,3%. Loài *Anaplasma* spp. lưu hành cao hơn các loài ký sinh trùng đường máu còn lại, do ngoài ve là véc tơ truyền bệnh thì *Anaplasma* spp. còn được lây truyền cơ học bởi các loài véc tơ truyền bệnh khác như: ruồi *Stomoxys* spp., mòng *Tabanus* spp. và muỗi (Bautista-Garfias và ctv, 2021; Battilani và ctv, 2017; Atif, 2016; Guo và ctv, 2016). Bò là loài vật nuôi nhiễm cao nhất đối với tất cả các loại ký sinh trùng đường máu được kiểm tra và dê ít cảm nhiễm nhất đối với loài *Babesia* spp. do bò là vật chủ ưa thích của ve *R. (B) microplus* - ve một vật chủ, đã được ghi nhận là truyền cả *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. (Hornok và ctv, 2024; Spickler, 2007).

Tác giả Nguyễn Thị Hồng Chiên (2021) và Phùng Quang Trường và ctv (2008) cho biết, bò tại Ba Vì, Hà Nội nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ lần lượt là 43,53% vào mùa hè và 41,0% trong thời gian từ 7/2006 đến 7/2008. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cao hơn kết quả nghiên cứu trên, do trong nghiên cứu này của chúng tôi, mầm bệnh được chẩn đoán phát hiện bằng phương pháp sinh học phân tử (nested PCR) có độ nhạy và độ đặc hiệu vượt trội so với các phương pháp chẩn đoán mầm bệnh truyền thống mà các nghiên cứu trước đây sử dụng (Green và Sambrook, 2019) và khác nhau ở vị trí địa lý, điều kiện chăn nuôi, yếu tố sinh thái. Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện tại 3 địa điểm nghiên cứu (TP Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La). Nhóm tác giả trên sử dụng kỹ thuật nhuộm giemsa để chẩn đoán phát hiện ký sinh trùng đường máu ở bò tại Ba Vì, Hà Nội.

Vật nuôi tại 3 tỉnh/TP đều nhiễm cả 3 loại ký sinh trùng đường máu (hình 3.2B). Vật nuôi ở TP. Hà Nội có tỷ lệ nhiễm dao động từ 13% - 48%; vật nuôi ở tỉnh Thái Nguyên có tỷ lệ nhiễm dao động từ 20,0% - 43,0% và vật nuôi ở tỉnh Sơn La có tỷ lệ nhiễm dao động từ 3,5% - 43,0%. Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP đều có

tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp. cao nhất (43% - 48%) trong 3 loại ký sinh trùng, tiếp đến là *Theileria* spp. (10,5% - 40,5%) và thấp nhất là *Babesia* spp. (3,5% - 20%).

Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. với tỷ lệ từ 13,7% - 33,7% và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm từ 11,5% - 49,8% (hình 3.2C). Vật nuôi ở tất cả các lứa tuổi đều nhiễm cả 03 loại ký sinh trùng đường máu có tỷ lệ nhiễm dao động từ 10,6% - 46,2% (hình 3.2D). Trong đó, vật nuôi nhóm <1 tuổi có tỷ lệ nhiễm từ 10,6% - 40,9%; nhóm 1 - 5 tuổi có tỷ lệ nhiễm từ 11,4% đến 46,2%; nhóm >5 tuổi có tỷ lệ nhiễm từ 15,8% đến 41,2%. Theo chúng tôi, có thể do vật nuôi tuổi càng cao thì thời gian tiếp xúc với các loài ve, ruồi, mòng, muỗi mang mầm bệnh càng cao nên nguy cơ gặp các giai đoạn của ve mang mầm bệnh càng nhiều; vì vậy khả năng bị nhiễm bệnh tăng dần theo lứa tuổi. Do đó, tỷ lệ nhiễm của vật nuôi > 5 năm tuổi và 1 - 5 năm tuổi nhiễm cao hơn. Vật nuôi <1 năm tuổi cơ hội tiếp xúc mầm bệnh ít hơn nên tỷ lệ nhiễm thấp hơn. Điều này dẫn đến sự lây lan *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. và gây bệnh trên vật nuôi ở lứa tuổi này cao hơn so với vật nuôi < 1 năm tuổi. Nguyễn Hữu Hưng và ctv (2014) cho biết, bò ở tất cả các lứa tuổi đều nhiễm ký sinh trùng đường máu và tỷ lệ nhiễm tăng dần theo nhóm tuổi. Bò càng lớn thì thời gian tiếp xúc với các loài véc tơ truyền bệnh mang mầm bệnh càng cao, nên khả năng bị nhiễm bệnh tăng dần theo lứa tuổi. Theo Phùng Quang Trường và ctv (2008), nghiên cứu tình hình nhiễm ký sinh trùng đường máu tại Ba Vì, Hà Nội cho biết, bò trong độ tuổi sinh sản có tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường máu cao hơn bò trong độ tuổi bê con.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nhận định trước đây của các tác giả Nguyễn Hữu Hưng và ctv (2014), Phùng Quang Trường và ctv (2008).

3.1.1.3. Kết quả xác định sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa thu

Sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa thu được thể hiện trong các bảng 3.7, 3.8 và 3.9.

Bảng 3.7. Kết quả xác định sự lưu hành của *Anaplasma* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa thu

Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n = 600)
Loài vật	600	228	38,0	34,1 - 42,0	< 0,0001
Trâu	150	70	46,7	38,6 - 54,7	
Bò	150	82	54,7	46,7 - 62,7	
Dê	150	35	23,3	16,5 - 30,1	
Ngựa	150	41	27,3	20,2 - 34,5	
Tỉnh/TP	600	228	38,0	34,1 - 42,0	> 0,05
Hà Nội	200	84	42,0	32,1 - 48,9	
Thái Nguyên	200	72	36,0	29,3 - 42,7	
Sơn La	200	72	36,0	29,3 - 42,7	
Tính biệt	600	228	38,0	34,1 - 42,0	< 0,05
Đực	183	58	31,7	24,9 - 38,5	
Cái	417	170	40,7	36,0 - 45,5	
Nhóm tuổi	600	228	38,0	34,1 - 42,0	> 0,05
< 1 tuổi	77	23	29,9	19,6 - 40,2	
1-5 tuổi	191	81	42,4	35,4 - 49,5	
> 5 tuổi	332	124	37,3	32,1 - 42,6	

Bảng 3.7 cho thấy, vào mùa thu *Anaplasma* spp. lưu hành trên các loài vật chủ trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ nhiễm chung là 38,0% (95%CI: 34,1 - 42,0). Trong đó, tỷ lệ lưu hành của loài *Anaplasma* spp. cao nhất ở bò (54,7%; $p < 0,0001$), thấp nhất ở dê (23,3%). Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP đều nhiễm *Anaplasma* spp. tỷ lệ dao động từ 36% - 42%. Trâu, bò, dê và ngựa có tính biệt đực nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ 31,7% (95%CI: 24,9 - 38,5); và tính biệt cái có tỷ lệ là 40,7% (95%CI: 36,0 - 45,5). Vật nuôi ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ nhiễm từ 29,9% đến 42,2%.

Bảng 3.8. Kết quả xác định sự lưu hành của *Babesia* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa thu

Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n =600)
Loài vật	600	68	11,3	8,9 - 14,1	< 0,0001
Trâu	150	11	7,3	3,1 - 11,5	
Bò	150	45	30,0	22,6 - 37,3	
Dê	150	3	2,0	0 - 4,3	
Ngựa	150	9	6,0	2,2 - 9,8	
Tỉnh/TP	600	68	11,3	8,9 - 14,1	> 0,05
Hà Nội	200	19	9,5	5,4 - 13,6	
Thái Nguyên	200	25	12,5	7,9 - 17,1	
Sơn La	200	24	12,0	7,5 - 16,5	
Tính biệt	600	68	11,3	8,9 - 14,1	> 0,05
Đực	183	16	8,7	4,6 - 12,9	
Cái	417	52	12,5	9,3 - 15,7	
Nhóm tuổi	600	68	11,3	8,9 - 14,1	> 0,05
< 1 tuổi	77	6	7,8	1,8 - 13,8	
1-5 tuổi	191	30	15,7	10,5 - 20,9	
> 5 tuổi	332	32	9,6	6,5 - 12,8	

Kết quả xác định sự lưu hành của *Babesia* spp. trên các loài vật chủ trâu, bò, dê và ngựa vào mùa thu thể hiện ở bảng 3.8 cho thấy, *Babesia* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ nhiễm là 11,3% (95%CI: 8,9 - 14,1). Trong đó, tỷ lệ lưu hành của loài *Babesia* spp. cao nhất ở bò (30,0%; $p < 0,0001$) và thấp nhất ở dê (2,0%). Vật nuôi ở tỉnh Thái Nguyên có tỷ lệ lưu hành của loài *Babesia* spp. cao nhất (12,5%) và tại TP. Hà Nội có tỷ lệ lưu hành thấp nhất (9,5%). Vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ là 8,7% (95%CI: 4,6 - 12,9); và tính biệt

cái có tỷ lệ nhiễm là 12,5% (95%CI: 9,3 - 15,7). Trâu, bò, dê và ngựa ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ dao động từ 7,8% - 15,7%.

Bảng 3.9. Kết quả xác định sự lưu hành của *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa thu

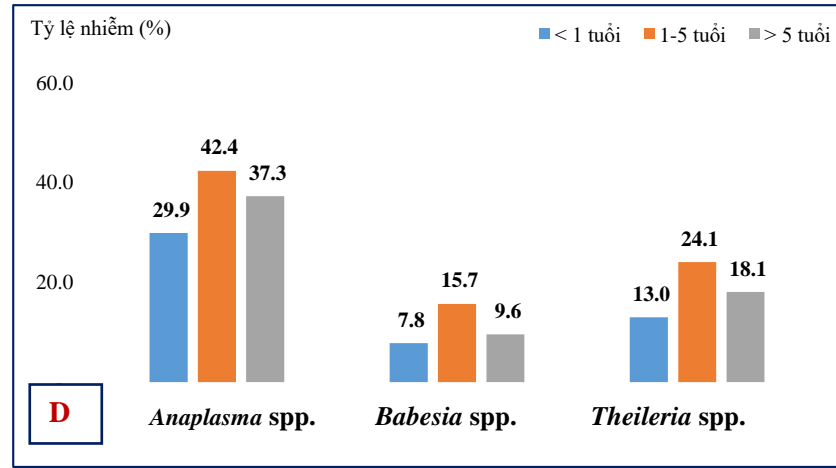
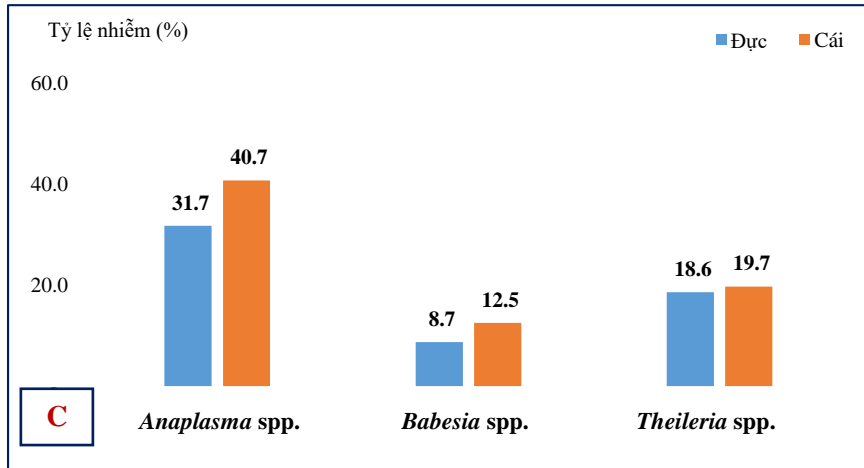
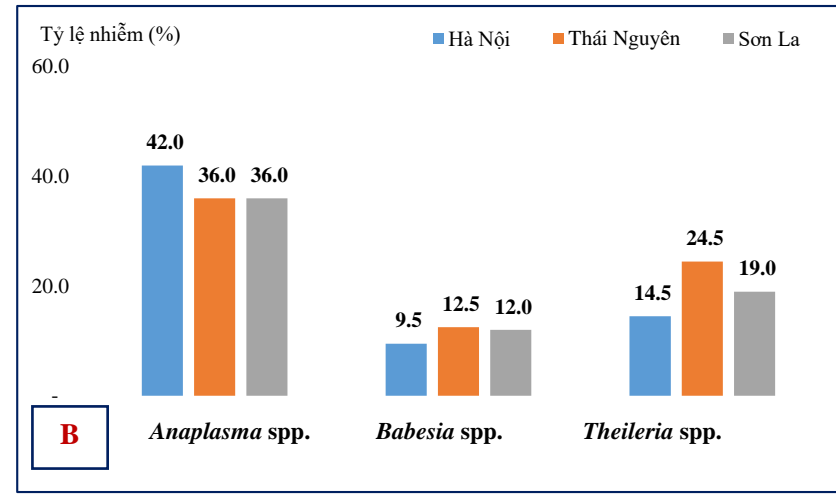
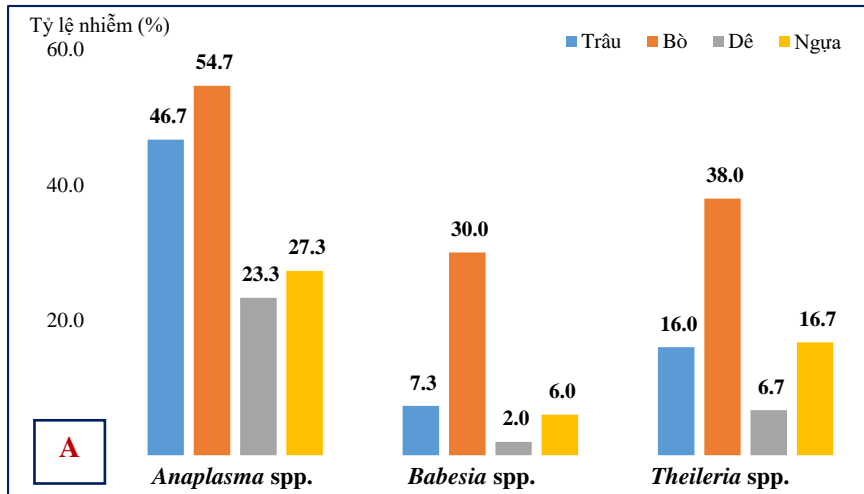
Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n = 600)
Loài vật	600	116	19,3	16,2 - 22,7	< 0,0001
Trâu	150	24	16,0	10,1 - 21,9	
Bò	150	57	38,0	30,2 - 45,8	
Dê	150	10	6,7	2,6 - 10,7	
Ngựa	150	25	16,7	10,7 - 22,7	
Tỉnh/TP	600	116	19,3	16,2 - 22,7	< 0,05
Hà Nội	200	29	14,5	9,6 - 19,4	
Thái Nguyên	200	49	24,5	18,5 - 30,5	
Sơn La	200	38	19	13,5 - 24,5	
Tính biệt	600	116	19,3	16,2 - 22,7	> 0,05
Đực	183	34	18,6	12,9 - 24,2	
Cái	417	82	19,7	15,8 - 23,5	
Nhóm tuổi	600	116	19,3	16,2 - 22,7	> 0,05
< 1 tuổi	77	10	13,0	5,4 - 20,6	
1-5 tuổi	191	46	24,1	18,2 - 30,8	
> 5 tuổi	332	60	18,1	13,9 - 22,2	

Kết quả xác định sự lưu hành của *Theileria* spp. vào mùa thu ở trâu, bò, dê, ngựa thể hiện ở bảng 3.9 cho thấy, *Theileria* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ nhiễm là 19,3% (95%CI: 16,2 - 22,7). Trong đó, tỷ lệ lưu hành *Theileria* spp. cao nhất ở bò (38,0%), tiếp đến là ngựa (16,7%), trâu (16,0%) và thấp nhất là dê (6,7%). Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP (TP. Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La) đều nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ dao động từ 19,0% - 24,5%. Trong đó, tỷ lệ lưu hành

Theileria spp. cao nhất ở tỉnh Thái Nguyên (24,5%), tiếp đến là TP. Hà Nội (14,5%) và thấp nhất là ở tỉnh Sơn La (19,0%). Trâu, bò, dê và ngựa có tính biệt đực nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ là 18,6% (95%CI: 12,9 - 24,2); và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 19,7%. Tất cả các loài vật nuôi ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Theileria* spp. Nhóm vật nuôi từ 1 - 5 tuổi có tỷ lệ nhiễm cao nhất (24,1%, 95%CI: 18,2 - 30,8), tiếp đến là nhóm vật nuôi trên 5 tuổi (18,1%; 95%CI: 13,9 - 22,2) và thấp nhất là vật nuôi dưới 1 năm tuổi (13,0%; 95%CI: 5,4 - 20,6).

Kết quả bảng 3.7, 3.8 và 3.9 cho thấy, vào mùa thu tỷ lệ lưu hành các bệnh ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê, ngựa có xu hướng cao hơn mùa xuân và thấp hơn mùa hè. Vật nuôi tại 3 tỉnh/TP có tỷ lệ lưu hành bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. cao nhất (38,0%), tiếp theo là loài *Theileria* spp. (19,3%) và thấp nhất là loài *Babesia* spp. (11,3%).

Để nhìn rõ hơn sự biến động tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu trên các loài vật nuôi (trâu, bò, dê và ngựa) vào mùa thu, chúng tôi tiến hành so sánh tỷ lệ lưu hành này theo loài vật nuôi, theo địa điểm nghiên cứu (tỉnh/TP), theo tính biệt và theo nhóm tuổi. Kết quả được thể hiện ở biểu đồ hình 3.3.



Hình 3.3. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu vào mùa thu (3.3A: theo loài vật nuôi; 3.3B: địa điểm nghiên cứu; 3.3C: tính biệt; 3.3 D: nhóm tuổi)

Biểu đồ hình 3.3A cho thấy vào mùa thu, trâu, bò, dê và ngựa đều nhiễm ba loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. với tỷ lệ từ 9,5% (*Babesia* spp.) đến 42,2% (*Anaplasma* spp.). Trong đó, *Anaplasma* spp. lưu hành trên tất cả các loài vật nuôi (trâu, bò, dê, ngựa) với tỷ lệ nhiễm từ 23,3% đến 54,7% và cao nhất ở bò (54,7%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nhận định của Phạm Sỹ Lăng và ctv (2006) khi tác giả này cho biết, *Anaplasma* spp. gây bệnh phổ biến nhất trên bò. Tuy nhiên, tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp. trên bò trong nghiên cứu này là 54,7%, cao hơn kết quả nghiên cứu của (Nguyễn Thị Hồng Chiên, 2021). Tác giả cho biết, tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp. trên bò vào mùa thu tại Ba Vì, Hà Nội là 37,73%. Sở dĩ như vậy là do địa điểm nghiên cứu và phương pháp chẩn đoán giữa các nghiên cứu khác nhau. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chẩn đoán phát hiện mầm bệnh bằng phương pháp sinh học phân tử (nested PCR) có độ nhạy và độ đặc hiệu vượt trội tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La).

Trâu, bò, dê và ngựa nhiễm *Babesia* spp. có tỷ lệ nhiễm chung là 11,3% (95%CI: 8,9 - 14,1). Trong đó, tỷ lệ lưu hành của *Babesia* spp. cao nhất ở bò (30,0%), tiếp đến là trâu (7,3%), ngựa (6,0%) và thấp nhất ở dê (2,0%). Kết quả nghiên cứu về tỷ lệ lưu hành của *Babesia* spp. trên bò và trâu của chúng tôi tương đồng với kết quả của tác giả (Yokoyama và ctv, 2015). Tác giả này cho biết, bò và trâu đều nhiễm *Babesia* spp.; trong đó, bò nhiễm *B. bovis*, *B. bigemina* và *B. ovata* với tỷ lệ lần lượt là 8,9%, 10,9% và 1,2%; trâu nhiễm *B. bovis* và *B. bigemina* với tỷ lệ lần lượt là 32,7%, 4,1%.

Tỷ lệ lưu hành chung của *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa là 19,3%. Trong đó, bò có tỷ lệ nhiễm cao nhất (38,0%) và dê có tỷ lệ nhiễm thấp nhất (6,7%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác so với kết quả của tác giả Khukhuu và ctv (2011) nghiên cứu tại Thừa Thiên Huế. Tác giả cho biết, *T. orientalis* lưu hành ở bò và trâu với tỷ lệ nhiễm lần lượt ở là 13,8%; 25,6% và không lưu hành trên dê. Sự sai khác này là do khác nhau về địa điểm nghiên cứu, phương pháp nghiên cứu và thời điểm nghiên cứu.

Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La) đều nhiễm *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. với tỷ lệ từ 9,5% đến 42,0%. Trong đó, tỷ lệ lưu hành của loài *Anaplasma* spp. cao nhất ở TP. Hà Nội (42%) và tiếp đến là *Theileria* spp. cao nhất ở tỉnh Thái Nguyên (24,5%), thấp nhất là *Babesia* spp. ở TP Hà Nội (9,5%) (Hình 3.3B).

Biểu đồ hình 3.3C cho thấy, tỷ lệ lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở vật nuôi có tính biệt cái dao động từ 12,5% - 40,7% và cao hơn so với tính biệt đực có tỷ lệ dao động từ 8,7% - 31,7%, sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Trâu, bò, dê và ngựa ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. (hình 3.3D). Vật nuôi nhiễm ký sinh trùng đường máu có khuynh hướng tăng dần từ nhóm tuổi dưới 1 năm tuổi đến dưới 5 năm tuổi (tỷ lệ dao động từ 7,8% đến 42,4%), sau đó lại giảm ở nhóm > 5 tuổi. Vật nuôi từ 1 - 5 năm tuổi thường được chăn thả tập trung theo bầy đàn, đặc biệt là ở vùng núi thường được chăn thả trên các nương rẫy, các đồi núi cao với nhiều cây cối rậm rạp, ẩm thấp, nhiều ve, côn trùng hoạt động. Do đó, vật nuôi từ 1 - 5 tuổi nhiễm ve càng cao nên nguy cơ gặp các giai đoạn của ve mang mầm bệnh, hút máu và truyền *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. càng cao. Vật nuôi < 1 năm tuổi cơ hội tiếp xúc với ve mang mầm bệnh và truyền *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ít hơn nên tỷ lệ nhiễm thấp hơn. Kết quả nghiên cứu trên phù hợp nhận định của tác giả (Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015) khi tác giả cho rằng bò ở các lứa tuổi đều nhiễm lê dạng trùng nhưng chủ yếu phổ biến từ 5 tháng đến 3 năm tuổi.

3.1.1.4. Kết quả xác định sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông

Sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông được thể hiện trong các bảng 3.10, 3.11, 3.12.

Bảng 3.10. Kết quả xác định sự lưu hành của *Anaplasma* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông

Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n = 600)
Loài vật	600	62	10,3	8,0 - 13,1	> 0,05
Trâu	149	17	11,4	6,3 - 16,5	
Bò	188	23	12,2	7,5 - 17,0	
Dê	142	8	5,6	1,8 - 9,4	
Ngựa	121	14	11,6	5,8 - 17,3	
Tỉnh/TP	600	62	10,3	8,0 - 13,1	< 0,05
Hà Nội	200	14	7,0	3,4 - 10,6	
Thái Nguyên	200	19	9,5	5,4 - 13,6	
Son La	200	29	14,5	9,6 - 19,4	
Tính biệt	600	62	10,3	8,0 - 13,1	< 0,01
Đực	188	28	14,9	9,8 - 20,0	
Cái	412	34	8,3	5,6 - 10,9	
Nhóm tuổi	600	62	10,3	8,0 - 13,1	> 0,05
< 1 tuổi	48	2	4,2	1,6 - 9,9	
1-5 tuổi	357	33	9,2	6,2 - 12,3	
> 5 tuổi	195	27	13,8	9,0 - 18,7	

Bảng 3.10 cho thấy, vào mùa đông *Anaplasma* spp. lưu hành trên các loài vật chủ trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ là 10,3% (95%CI: 8,0 - 13,1). Bò nhiễm *Anaplasma* spp. cao nhất với tỷ lệ là 12,2% và dê nhiễm *Anaplasma* spp. thấp nhất với tỷ lệ là 5,6%. *Anaplasma* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa ở cả 3 tỉnh/TP (TP Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) với tỷ lệ nhiễm từ 7,0% đến 14,5%. Trong đó, tỷ lệ lưu hành của loài *Anaplasma* spp. trên các loài vật nuôi cao nhất ở tỉnh Sơn La (14,5%; $p < 0,05$) và thấp nhất ở TP. Hà Nội (7,0%). Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ là 14,9% (95%CI: 9,8 - 20,0) và tính biệt

cái có tỷ lệ nhiễm là 8,3% (95%CI: 5,6 - 10,9). Vật nuôi ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ từ 4,2% - 13,8%. Vật nuôi >5 tuổi nhiễm *Anaplasma* spp. cao nhất (13,8%) và <1 tuổi nhiễm thấp nhất (4,2%).

Bảng 3.11. Kết quả xác định sự lưu hành của *Babesia* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông

Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n = 600)
Loài vật	600	14	2,3	1,3 - 3,9	< 0,01
Trâu	149	0	0	0	
Bò	188	10	5,3	2,1 - 8,5	
Dê	142	0	0	0	
Ngựa	121	4	3,3	0,1 - 6,5	
Tỉnh/TP	600	14	2,3	1,3 - 3,9	< 0,001
Hà Nội	200	11	5,5	2,3 - 8,7	
Thái Nguyên	200	1	0,5	0,4 - 2,4	
Sơn La	200	2	1	0,5 - 1,5	
Tính biệt	600	14	2,3	1,3 - 3,9	> 0,05
Đực	188	4	2,1	0,6 - 4,2	
Cái	412	10	2,4	0,9 - 3,9	
Nhóm tuổi	600	14	2,3	1,3 - 3,9	> 0,05
< 1 tuổi	48	0	0	0	
1-5 tuổi	357	8	2,2	0,7 - 3,7	
> 5 tuổi	195	6	3,1	0,6 - 5,5	

Kết quả xác định sự lưu hành của *Babesia* spp. trên trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông ở bảng 3.11 cho thấy, *Babesia* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ là 2,3% (95%CI: 1,3 - 3,9). Trong đó, tỷ lệ lưu hành của loài *Babesia* spp. cao nhất ở bò (54,7%; $p < 0,005$), tiếp đến là ngựa (3,3%) và không lưu hành ở dê và trâu. Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) đều nhiễm *Babesia* spp. tỷ lệ dao động từ 0,5% - 5,5%. Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Babesia* spp.

với tỷ lệ 2,1% (95%CI: 0,6 - 4,2) và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 2,4% (95%CI: 0,9 - 3,9). Trâu, bò, dê và ngựa ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ nhiễm chung là 2,3%. Trong đó, vật nuôi <1 tuổi không nhiễm *Babesia* spp.; vật nuôi từ 1-5 tuổi và >5 tuổi nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ lần lượt là 2,2% và 3,1%.

Bảng 3.12. Kết quả xác định sự lưu hành của *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông

	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value (n = 600)
Loài vật	600	36	6,0	4,2 - 8,2	<0,001
Trâu	149	15	10,1	5,3 - 14,9	
Bò	188	6	3,2	0,7 - 5,7	
Dê	142	2	1,4	0,5 - 3,4	
Ngựa	121	13	10,7	5,2 - 16,3	
Tỉnh/TP	600	36	6,0	4,2 - 8,2	< 0,001
Hà Nội	200	3	1,5	0,2 - 3,2	
Thái Nguyên	200	13	6,5	3,1 - 9,9	
Sơn La	200	20	10,0	5,8 - 14,2	
Tính biệt	600	36	6,0	4,2 - 8,2	<0,0001
Đực	188	23	12,2	7,5 - 16,9	
Cái	412	13	3,2	1,5 - 4,8	
Nhóm tuổi	600	36	6,0	4,2 - 8,2	> 0,05
< 1 tuổi	48	0	0	0	
1-5 tuổi	357	23	6,4	3,9 - 9,0	
> 5 tuổi	195	13	6,7	3,1 - 10,2	

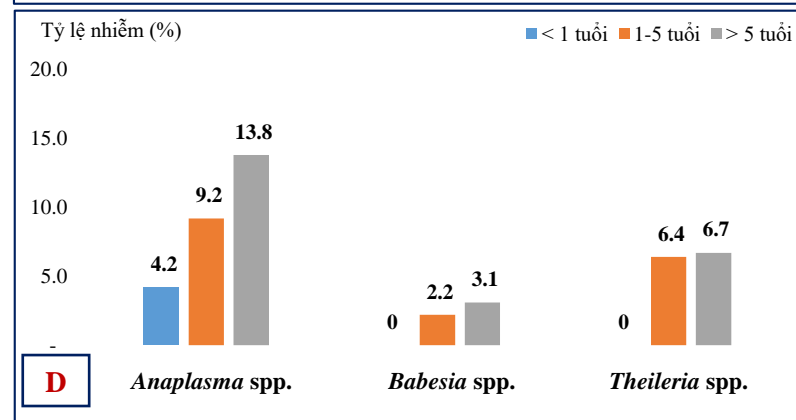
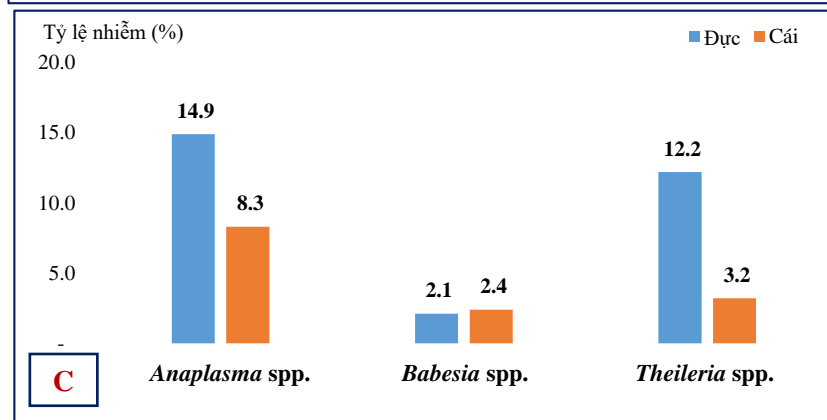
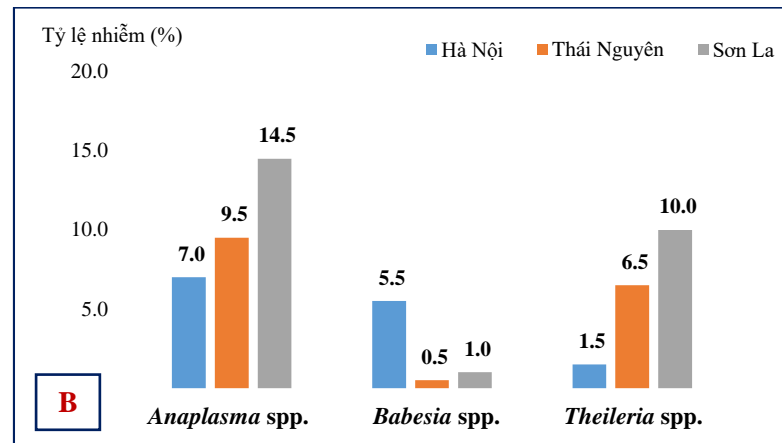
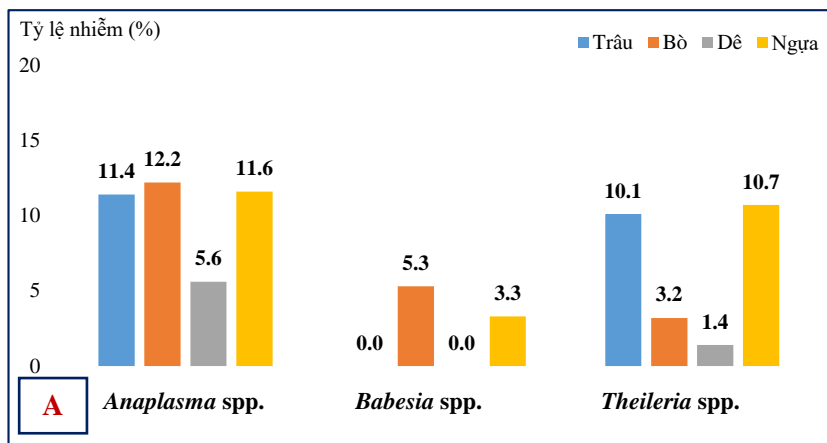
Sự lưu hành của *Theileria* spp. vào mùa đông thể hiện ở bảng 3.12 cho thấy, *Theileria* spp. lưu hành trên các loài vật chủ trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ là 6,0% (95%CI: 4,2 - 8,2). Trong đó, tỷ lệ nhiễm *Theileria* spp. ở ngựa là 10,7%; tiếp đến là trâu (10,1%), bò (3,2%) và thấp nhất là dê (1,4%). Theo đó, tỷ lệ nhiễm *Theileria* spp. trên trâu, ngựa cao hơn hẳn so với dê và bò, sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p = 0,001$). Trâu, ngựa là vật chủ ưa thích của các loài mòng, ruồi ký sinh và

hút máu. Trong đó, véc tơ truyền bệnh chủ yếu của *Theileria* spp. là các loài ruồi (ruồi trâu *Stomoxys calcitrans*, ruồi ngựa *Haematobia irritans*) và mòng như *Tabanus* spp. (Lakew và ctv, 2023; Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2008).

Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) đều nhiễm *Theileria* spp. tỷ lệ dao động từ 1,5% - 10,0%. Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ 12,2% (95%CI: 7,5 - 16,9); và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 3,2% (95%CI: 1,5 - 4,8). Trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) nhiễm *Theileria* spp. ở tất cả các lứa tuổi. Tỷ lệ nhiễm ở trâu, bò, dê và ngựa tăng dần theo tuổi. Trong đó, vật nuôi <1 tuổi không nhiễm *Theileria* spp.; vật nuôi từ 1-5 tuổi và >5 tuổi nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ lần lượt là 6,4% và 6,7%.

Sự lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông được thể hiện trong các bảng 3.10, 3.11, 3.12. cho thấy, tỷ lệ lưu hành bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. thấp nhất trong 4 mùa. Trong đó, tỷ lệ lưu hành bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. là cao nhất (10,3%), tiếp đến là loài *Theileria* spp. (6,0%) và thấp nhất là loài *Babesia* spp. (2,3%) ở trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP thực hiện nghiên cứu.

Để thấy rõ hơn sự biến động tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu trên trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông, chúng tôi tiến hành so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu theo loài vật nuôi, theo địa điểm nghiên cứu (tỉnh/TP), theo tính biệt và theo nhóm tuổi. Kết quả được thể hiện ở biểu đồ hình 3.4.



Hình 3.4. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê và ngựa vào mùa đông (3.4A: theo loài vật nuôi; 3.4B: địa điểm nghiên cứu; 3.4C: tính biệt; 3.4D: nhóm tuổi)

Biểu đồ hình 3.4A cho thấy, vào mùa đông các loài ký sinh đường máu *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. lưu hành trên các loài vật chủ trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ nhiễm dao động từ 0 - 12,2% do mùa đông lạnh và khô các loài véc tơ (ve, ruồi và mòng) dừng hoặc ít phát triển nên ảnh hưởng đến tỷ lệ lưu hành của các loài này. Trong đó, bò nhiễm *Anaplasma* spp. cao nhất với tỷ lệ là 12,2% và thấp nhất ở dê với tỷ lệ là 5,6%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả (Nguyễn Thị Hồng Chiên, 2021) khi tác giả cho biết, *Anaplasma* spp. lưu hành trên bò vào mùa đông với tỷ lệ nhiễm là 11,42%. Bên cạnh đó, *Anaplasma* spp. đã được ghi nhận truyền qua ruồi, mòng, muỗi hút máu (họ *Stomoxys* và mòng *Tabanus* spp.) qua phương thức cơ học. Ruồi và mòng hoạt động quanh năm (Battilani và ctv, 2017; Atif, 2016; Guo và ctv, 2016). Do đó, vào mùa đông *Anaplasma* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê và ngựa cao nhất (5,6% - 12,2%), tiếp đến là *Theileria* spp. (3,2% - 10,7%) và thấp nhất là *Babesia* spp. (0% - 5,3%).

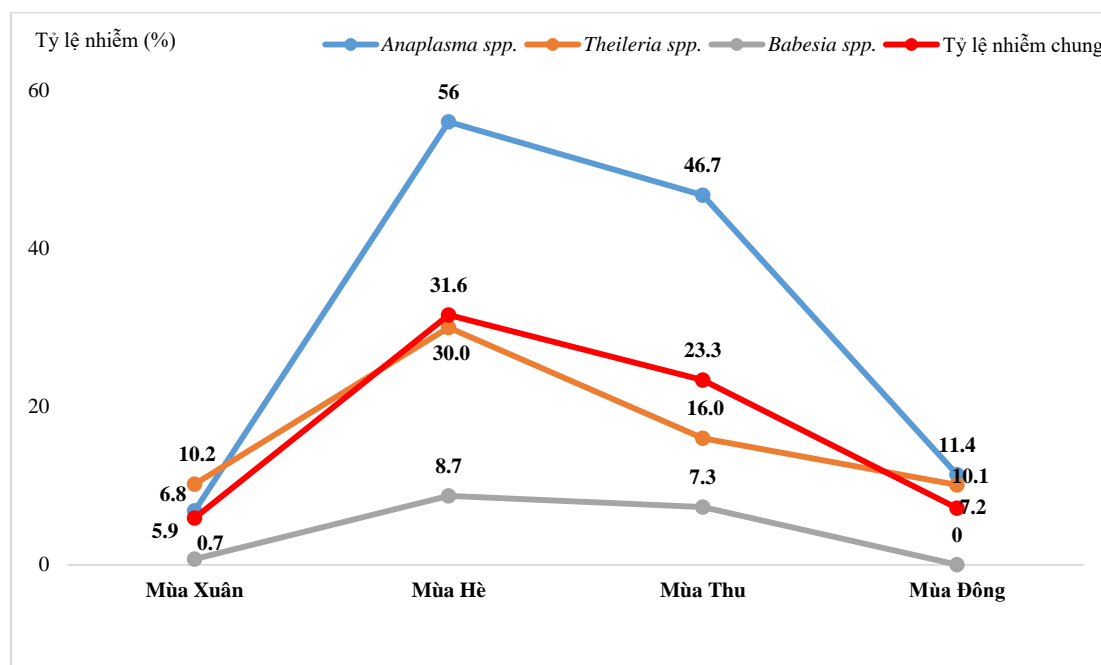
Trâu, bò, dê, ngựa tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) đều nhiễm cả ba loài ký sinh trùng đường máu với tỷ lệ dao động từ 0,5% đến 14,5% (hình 3.4B), do mùa đông nhiệt độ và độ ẩm giảm làm ảnh hưởng đến khả năng hoạt động, phát triển và sinh sản của ve và côn trùng. Tuy nhiên, loài *Anaplasma* spp. và *Theileria* spp. còn được truyền lây qua các loài ruồi (Lakew và ctv, 2023). Qua theo dõi nhiệt độ và độ ẩm vào mùa đông tại 3 tỉnh/TP cho thấy, tỉnh Sơn La thuộc vùng núi Tây Bắc có nền khí hậu nói chung ấm hơn Đông Bắc, chênh lệch có thể lên đến 2 - 3 °C, phù hợp cho ruồi và mòng hoạt động; ve *R. (B) microplus* là véc tơ truyền bệnh ký sinh trùng đường máu thường phát triển hơn vùng Đông Bắc (Thái Nguyên) nên *Anaplasma* spp. và *Theileria* spp. lưu hành trên vật nuôi (trâu, bò, dê và ngựa) tại tỉnh Sơn La cao hơn so với vật nuôi ở TP. Hà Nội và tỉnh Thái Nguyên.

Trâu, bò, dê và ngựa có tính biệt đực nhiễm *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. với tỷ lệ dao động từ 2,1% đến 14,9%; và tính biệt cái có tỷ lệ từ 2,4% đến 8,3% (hình 3.4C). Vật nuôi ở tất cả các lứa tuổi đều nhiễm ba loài ký sinh trùng đường máu *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. với tỷ lệ tăng

dần theo nhóm tuổi (<1 tuổi; 1 - 5 tuổi; >5 tuổi) (hình 3.4D). Vật nuôi <1 năm tuổi nhiễm ký sinh đường máu với tỷ lệ thấp hơn do bê, nghé có khả năng miễn dịch thông qua kháng thể của mẹ (Bock và ctv, 2004). Vật nuôi từ 1 - 5 năm tuổi và > 5 năm tuổi thường được chăn thả tập trung theo bầy đàn, đặc biệt là ở vùng núi, vật nuôi thường được chăn thả trên các nương rẫy, các đồi núi cao với nhiều cây cối rậm rạp, ẩm thấp, nhiều ve, côn trùng hoạt động. Từ đó, vật nuôi có nhiều cơ hội tiếp xúc với ve, ruồi, mòng hút máu và truyền *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. Điều này dẫn đến sự lây lan *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. và gây bệnh trên vật nuôi ở lứa tuổi này cao hơn so với vật nuôi dưới 1 năm tuổi.

3.1.1.5. So sánh tỷ lệ lưu hành của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa theo mùa

Để nhìn tổng quát hơn sự biến động tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu theo mùa lưu hành trong năm, chúng tôi tiến hành so sánh tỷ lệ lưu hành này ở từng loài vật nuôi. Kết quả được thể hiện ở các biểu đồ hình từ 3.5 đến 3.11.



Hình 3.5. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên trâu theo mùa

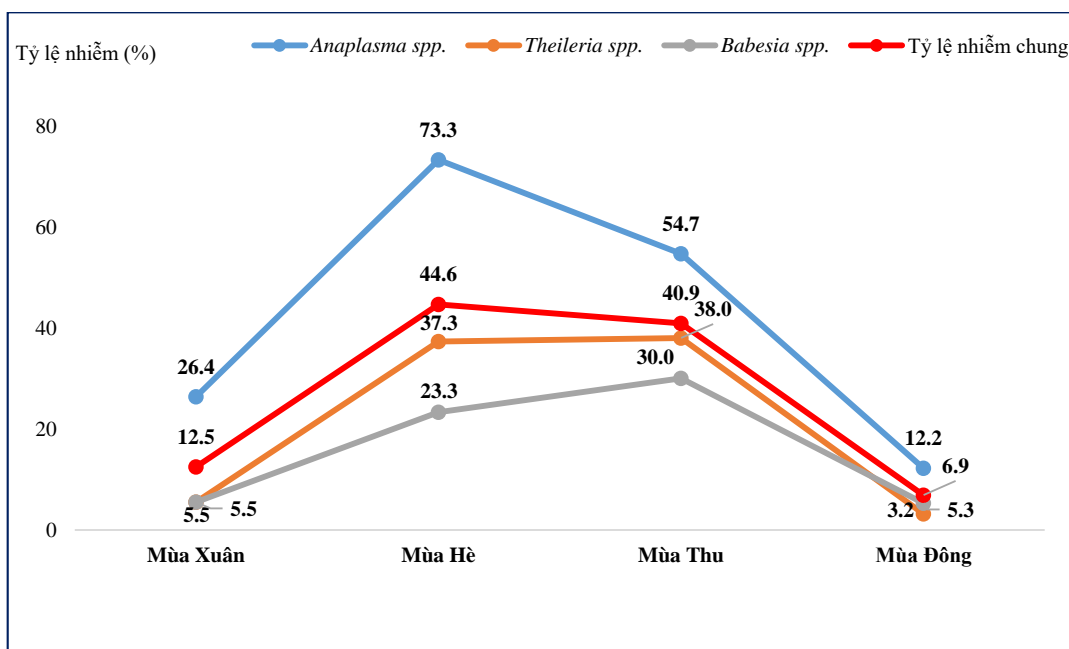
Qua biểu đồ hình 3.5 cho thấy, trâu có tỷ lệ nhiễm chung *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. dao động từ 5,9% đến 36% ở cả 4 mùa. *Anaplasma* spp. có tỷ lệ nhiễm cao nhất (6,8% - 56,0%) trong số 3 loại ký sinh trùng đường máu qua theo dõi ở 4 mùa trong năm. Trâu nhiễm *Anaplasma* spp. ở các mùa với tỷ lệ nhiễm lần lượt là xuân (6,8%), hè (56,0%), thu (46,7%), đông (11,4%). Tiếp theo là *Theileria* spp. có tỷ lệ nhiễm dao động từ 10,1% - 30,0%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm cao ở mùa hè (30,0%) và thu (16,0%); thấp hơn ở mùa xuân (10,2%) và đông (10,1%). Trâu nhiễm *Babesia* spp. thấp nhất trong ba loài ký sinh trùng đường máu. Tỷ lệ nhiễm cao nhất ở mùa hè (8,7%) và thu (7,3%), thấp hơn ở mùa xuân (0,7%) và đông (0,0%).

Trên thế giới, bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. trên vật nuôi đã ghi nhận là xảy ra quanh năm và vật nuôi nhiễm *Anaplasma* spp. có tỷ lệ nhiễm bệnh cao nhất vào mùa hè trong năm (Okafor và ctv, 2018; Atif và ctv, 2013). Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nhận định của các tác giả trên khi xác định *Anaplasma* spp. lưu hành trên trâu quanh năm và nhiễm cao nhất vào mùa hè (56%).

Theileria spp. lưu hành ở trên trâu với tỷ lệ nhiễm từ 10,1% đến 30,0%, cao nhất vào mùa hè (30%) và thấp nhất vào mùa đông (10,1%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả của tác giả (Atif và ctv, 2023) ở Pakistan. Tác giả này cho biết, loài *T. annulata* lưu hành ở trâu cao nhất vào mùa hè (26,4%) và thấp nhất vào mùa đông (2,1%). Tuy nhiên, tỷ lệ lưu hành của *Theileria* spp. ở trên trâu của chúng tôi thấp hơn so với kết quả nghiên cứu ở Thừa Thiên Huế của tác giả Khukhuu và ctv (2011), khi tác giả cho biết tỷ lệ nhiễm với *T. orientalis* ở trâu là 25,6%. Lý giải sự khác nhau này là do nghiên cứu của chúng tôi thực hiện ở 3 tỉnh/ TP miền Bắc, Việt Nam có vị trí địa lý, khí hậu, thời gian lấy mẫu khác nhau bao gồm cả mùa đông là mùa nhiễm thấp nhất.

Babesia spp. lưu hành trên trâu với tỷ lệ nhiễm dao động từ 0,0% - 8,7%. Trong đó, trâu nhiễm *Babesia* spp. cao nhất vào mùa hè (8,7%), tiếp đến là mùa thu (7,3%), mùa xuân (0,7%) và thấp nhất vào mùa đông (0%). *Babesia* spp. đã

được ghi nhận lưu hành trên trên trâu tại Huế với tỷ lệ nhiễm từ 4,1% đến 32,7% (Weerasooriya và ctv, 2016). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của tác giả trên do sự sai khác về vị trí địa lý và mùa lấy mẫu.

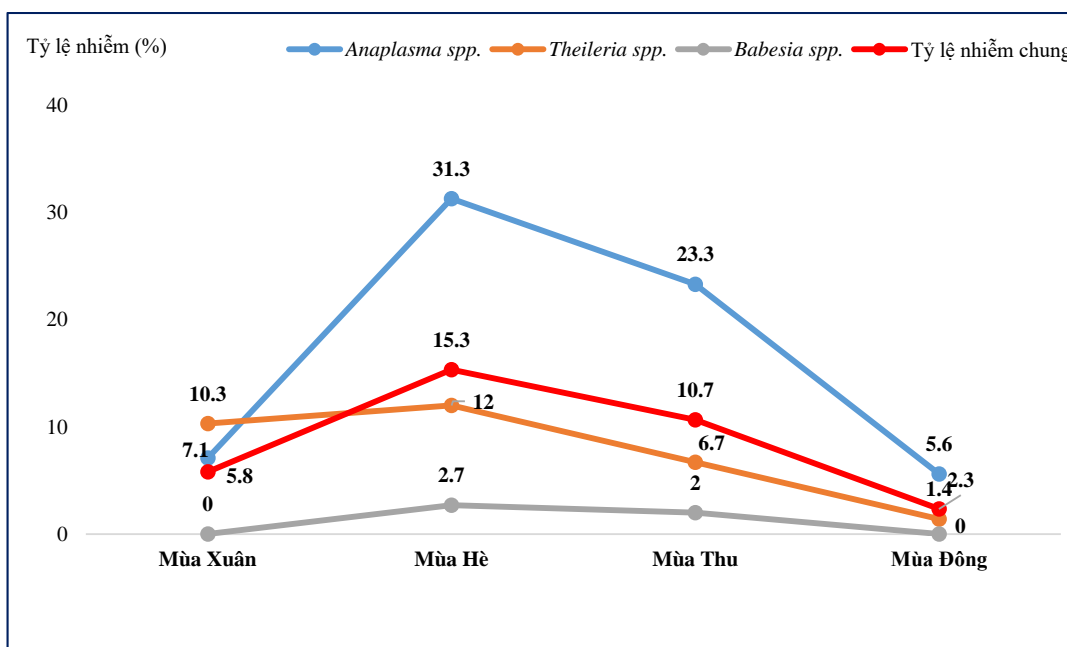


Hình 3.6. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* trên bò theo mùa

Biểu đồ hình 3.6 cho thấy, *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* lưu hành trên bò quanh năm với tỷ lệ nhiễm chung dao động từ 6,9% đến 44,6%. *Anaplasma spp.* là ký sinh trùng có tỷ lệ nhiễm cao nhất (12,2% - 73,3%) trong 03 loại ký sinh trùng đường máu qua theo dõi ở 4 mùa trong năm. Bò nhiễm *Anaplasma spp.* theo lần lượt từng mùa là: xuân (26,4%), hè (73,3%), thu (54,7%), đông (12,2%). Tiếp theo là *Theileria spp.* lưu hành ở bò qua các mùa với tỷ lệ nhiễm từ 3,2% đến 38,0%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm cao ở mùa hè (37,3%) và thu (38,0%), thấp hơn ở mùa xuân (5,5%) và đông (3,2%). Bò nhiễm *Babesia spp.* thấp nhất trong ba loài ký sinh trùng đường máu. Tỷ lệ nhiễm *Babesia spp.* ở bò có sự dao động qua từng mùa (5,3% - 30,0%). Trong đó, tỷ lệ nhiễm cao ở mùa hè (23,3%) và thu (30,0%), thấp hơn ở mùa xuân (5,5%) và đông (5,3%).

Ở Việt Nam, các tác giả Phạm Sỹ Lăng (2002), Hạ Thúy Hạnh (1999) cho biết, tỷ lệ nhiễm bệnh ký sinh trùng đường máu ở bò khác nhau theo mùa rõ rệt. Bò thường nhiễm bệnh nhiều vào tháng 7 đến tháng 9. Tác giả Phùng Quang Trường và ctv (2008) cho biết, bò ở huyện Ba Vì, Hà Nội nhiễm ký sinh trùng đường máu tập trung chủ yếu từ tháng 3 đến tháng 6. Theo Nguyễn Thị Hồng Chiên (2021), tỷ lệ bò nhiễm *Anaplasma* spp. cao nhất vào mùa hè (43,53%), tiếp theo là mùa thu (37,73%) và mùa xuân (13,12%), thấp nhất vào mùa đông (11,42%). Kết quả nghiên cứu của luận án tương đồng với tác giả trên khi xác định *Anaplasma* spp. lưu hành trên bò quanh năm, bò nhiễm cao nhất vào mùa hè và thấp nhất vào mùa đông.

Bò nhiễm *Babesia* spp. quanh năm với tỷ lệ dao động qua từng mùa (5,3% - 30,0%). Trong đó, bò nhiễm *Babesia* spp. theo mùa lần lượt là: mùa xuân (5,5%), hè (23,3%), thu (30,0%), đông (5,3%). Ở Việt Nam, bệnh lê dạng trùng có thể lây nhiễm quanh năm ở các vùng dịch tễ thuộc các tỉnh trung du và miền núi, nhưng bệnh lây lan mạnh vào mùa hè và mùa thu từ tháng 4 đến tháng 9 (Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nhận định của tác giả trên.

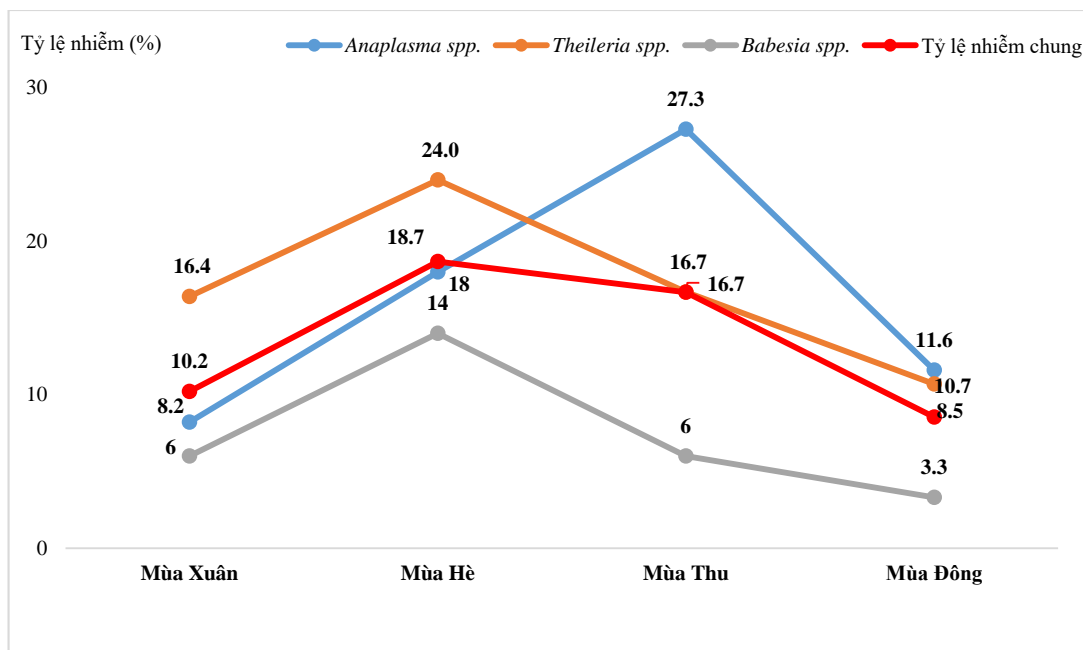


Hình 3.7. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên dê theo mùa

Biểu đồ hình 3.7 cho thấy, dê có tỷ lệ nhiễm chung ký sinh trùng đường máu dao động từ 1,4% - 15,3%. *Anaplasma* spp. vẫn là ký sinh trùng có tỷ lệ nhiễm cao nhất (5,6% - 31,3%) trong 03 loại ký sinh trùng đường máu qua theo dõi ở 4 mùa trong năm. Trong đó, dê nhiễm *Anaplasma* spp. cao nhất ở vào hè (31,3%), tiếp đến ở mùa thu (23,3%), xuân (7,1%) và thấp nhất ở mùa đông (5,6%). Tiếp theo là *Theileria* spp. lưu hành ở dê qua các mùa với tỷ lệ nhiễm từ 1,4% đến 12,2%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm cao ở mùa hè (12,2%) và xuân (10,3%), thấp hơn ở mùa thu (6,7%) và đông (1,4%). Dê nhiễm *Babesia* spp. thấp nhất trong ba loài ký sinh trùng đường máu. Tỷ lệ nhiễm *Babesia* spp. ở dê có sự dao động qua từng mùa (0,05% - 2,7%). Trong đó, tỷ lệ nhiễm cao nhất ở mùa hè (2,7%) và thu (2,0%), thấp nhất ở mùa xuân và đông không có dê nào nhiễm (0,0%).

Theo Wang và ctv (2021), tỷ lệ lưu hành của *Anaplasma* spp. trên dê ở Trung Quốc cao nhất vào mùa hè, thấp nhất vào mùa đông. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nhận định của các tác giả trên khi xác định *Anaplasma* spp. lưu hành trên dê quanh năm và nhiễm cao nhất vào mùa hè (31,3%) và thấp nhất vào mùa đông (5,6%).

Ở Philippines, *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. lưu hành trên dê với tỷ lệ từ 38,64% - 77,02% (Galon và ctv, 2022a). Tác giả Islam và ctv (2021) cho biết, *Theileria* spp. lưu hành trên dê ở Bangladesh với tỷ lệ là 8,5%. Ở Việt Nam, tỷ lệ lưu hành *Babesia* spp. trên dê đã được ghi nhận rất thấp từ 0,8% - 2,0% tại Huế (Galon và ctv, 2022b). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác biệt so với các kết quả nghiên cứu trên. Theo chúng tôi, sự khác biệt trong kết quả nghiên cứu này là do khác nhau về vị trí địa lý, thời gian lấy mẫu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thu thập mẫu ở cả 4 mùa trong năm, bao gồm cả mùa xuân và mùa đông là mùa nhiễm thấp nhất.



Hình 3.8. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên ngựa theo mùa

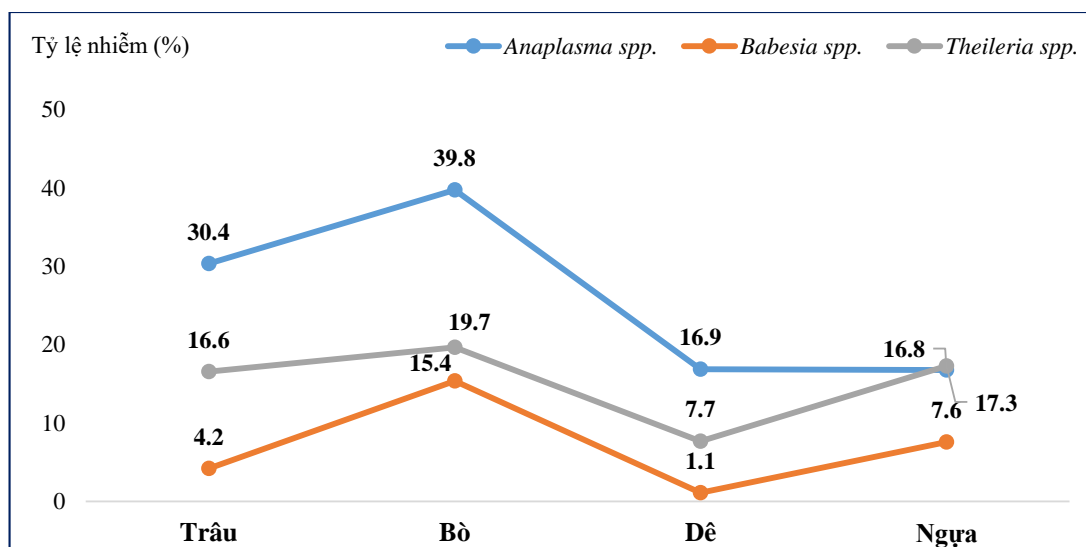
Biểu đồ so sánh tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên ngựa theo mùa (hình 3.8) cho thấy, ngựa nhiễm ký sinh trùng đường máu quanh năm với tỷ lệ nhiễm chung dao động từ 8,5% - 18,7%. *Anaplasma* spp. có tỷ lệ nhiễm cao nhất (8,2% - 27,3%) trong 3 loại ký sinh trùng đường máu qua theo dõi ở 4 mùa trong năm. Tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp. ở từng mùa là: mùa xuân (8,2%), mùa hè (18,0%), mùa thu (27,3%) và mùa đông (11,6%). *Theileria* spp. lưu hành ở ngựa qua các mùa với tỷ lệ nhiễm từ 10,7% đến 24,0%; trong đó, tỷ lệ nhiễm cao ở mùa hè (24,0%) và thu (16,7%), thấp hơn ở mùa xuân (16,4%) và đông (10,7%). Ngựa nhiễm *Babesia* spp. thấp nhất trong 3 loài ký sinh trùng đường máu. Tỷ lệ nhiễm *Babesia* spp. ở ngựa có sự dao động qua từng mùa (3,3% - 14,0%); trong đó, tỷ lệ nhiễm cao nhất ở mùa hè (14,0%), tiếp đến ở mùa xuân và mùa thu (6,0%) và thấp nhất ở mùa đông (3,3%).

Bệnh ký sinh trùng đường máu ở ngựa do ve truyền gồm các giống *Haemaphysalis* spp., *Rhipicephalus* spp., *Dermacentor* spp. Bệnh lây lan quanh năm do ve sinh sản, hút máu ngựa và truyền mầm bệnh. Bệnh lây lan mạnh vào mùa hè và mùa thu (Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015). Kết quả nghiên cứu của chúng

tôi phù hợp với nhận định trên khi xác định ngựa nhiễm ký sinh trùng đường máu quanh năm với tỷ lệ dao động từ 3,3% đến 27,3%. Trong đó, ngựa nhiễm *Anaplasma* spp. (8,2% - 27,3%) và *Theileria* spp. (10,7% - 24,0%) cao hơn nhiễm *Babesia* spp. (3,3% - 14,0%). Do bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. chỉ truyền sinh học qua ve. Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. và *Theileria* spp. ngoài ve là véc tơ truyền bệnh chính, ruồi trâu *Stomoxys calcitrans*, ruồi ngựa *Haematobia irritans* và mòng *Tabanus* spp. cũng là những tác nhân truyền bệnh quan trọng (Bautista-Garfias và ctv, 2021; Battilani và ctv, 2017; Atif, 2016; Guo và ctv, 2016). Ngựa là vật chủ ưa thích của ruồi ngựa *Haematobia irritans* (Showler, 2014).

Kết quả nghiên cứu của luận án tương đồng với kết quả nghiên cứu của các tác giả (Zhang và ctv, 2023; Almazán và ctv, 2022), khi các tác giả này cho biết, *T. equi* lưu hành ở ngựa ở Trung Quốc và Mexico với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 23,8%, 19,0%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm *T. equi* ở ngựa tăng dần các nhóm tuổi, ngựa ≤ 3 tuổi (10,8%) và ngựa > 3 tuổi (35,7%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về sự lưu hành của loài *Anaplasma* spp. và *Theileria* spp. ở ngựa cao hơn với kết quả nghiên cứu của tác giả (Santos và ctv, 2019) ở Braxin. Tác giả này cho biết, *A. phagocytophilum* và *T. equi* lưu hành ở ngựa với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 17,4% và 1,0%. Sự sai khác này có thể là do sự khác nhau về vị trí địa lý và kỹ thuật sử dụng để xác định sự lưu hành của loài *A. phagocytophilum* và *T. equi* lưu hành ở ngựa.

Tỷ lệ lưu hành của các loài ký sinh trùng đường máu cũng có sự khác nhau giữa các loài vật nuôi. Sự biến động này được thể hiện rõ nét ở biểu đồ so sánh chung (hình 3.9).



Hình 3.9. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành chung các loài *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* theo loài vật nuôi

Biểu đồ hình 3.9 cho thấy, các loài *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ nhiễm dao động từ 1,1% - 39,8%. Trong đó, bò là loài vật nuôi nhiễm cao nhất đối với cả 3 loài ký sinh trùng đường máu được kiểm tra, dao động từ 15,4% (*Babesia spp.*) đến 39,8% (*Anaplasma spp.*). Trâu và ngựa nhiễm cả 3 loài ký sinh trùng đường máu được kiểm tra, dao động từ (4,2%; 7,6%; *Babesia spp.*) đến (30,4%; 17,3%; *Anaplasma spp.*) tương ứng. Dê là loài vật nuôi nhiễm thấp nhất đối với cả 3 loài ký sinh trùng đường máu được kiểm tra, dao động từ 1,1% (*Babesia spp.*) đến 16,9% (*Anaplasma spp.*).

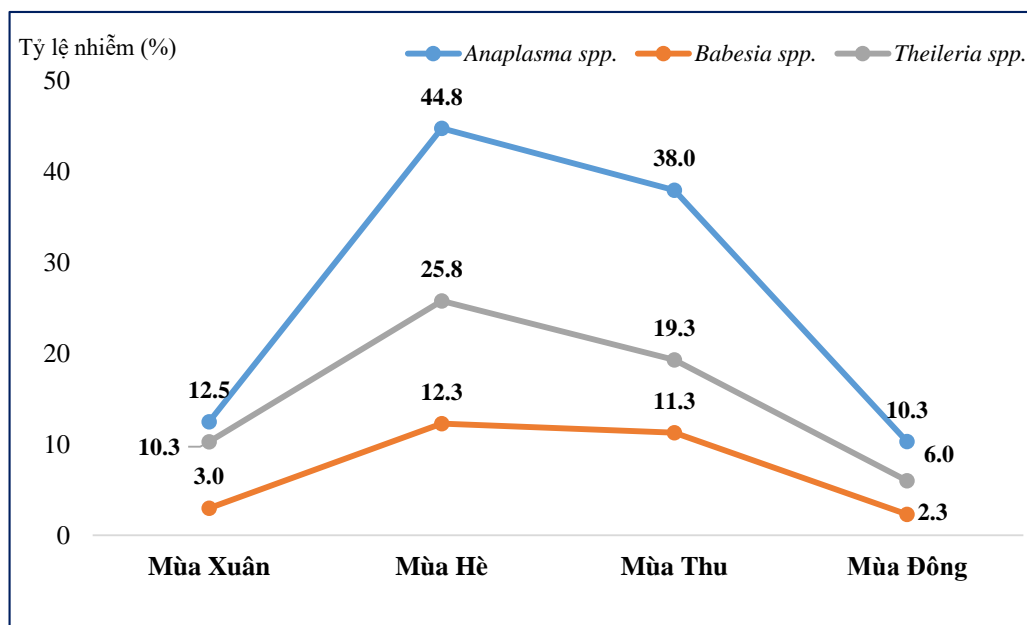
Theileria spp. lưu hành trên vật nuôi trâu, bò, dê và ngựa với tỷ lệ nhiễm dao động từ 7,7% - 19,7%. Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi tương đồng với kết quả nghiên cứu gần đây tại miền Bắc của hai nhóm tác giả khác. Hai nhóm tác giả này cho biết, tỷ lệ nhiễm *Theileria spp.* trên bò ở tỉnh Hà Nam là 13,68% (Nguyễn Thị Hồng Chiên và ctv, 2023) và bò ở TP. Hà Nội là 18,9% (Phùng Quang Trường và ctv, 2008). Trong 4 loài vật nuôi kiểm tra, bò là loài vật nuôi có tỷ lệ nhiễm *Theileria spp.* cao nhất (19,7%), dê ít nhiễm với *Theileria spp.* nhất (7,7%).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về tỷ lệ lưu hành của loài *Theileria spp.* trên trâu thấp hơn kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả ở Huế. Nhóm tác giả cho biết, tỷ lệ lưu hành của *Theileria spp.* ở trâu là 25,6% (Khukhuu và ctv, 2010). Sự

sai khác này có thể là do thời điểm lấy mẫu khác nhau và điều kiện khí hậu ở miền Trung thường nắng nóng quanh năm, không có mùa đông. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thu thập mẫu ở cả 4 mùa trong năm, bao gồm cả mùa đông là mùa nhiễm thấp nhất. Do mùa đông các loài véc tơ truyền bệnh ít phát triển nên vật nuôi tiếp xúc với véc tơ truyền bệnh ít.

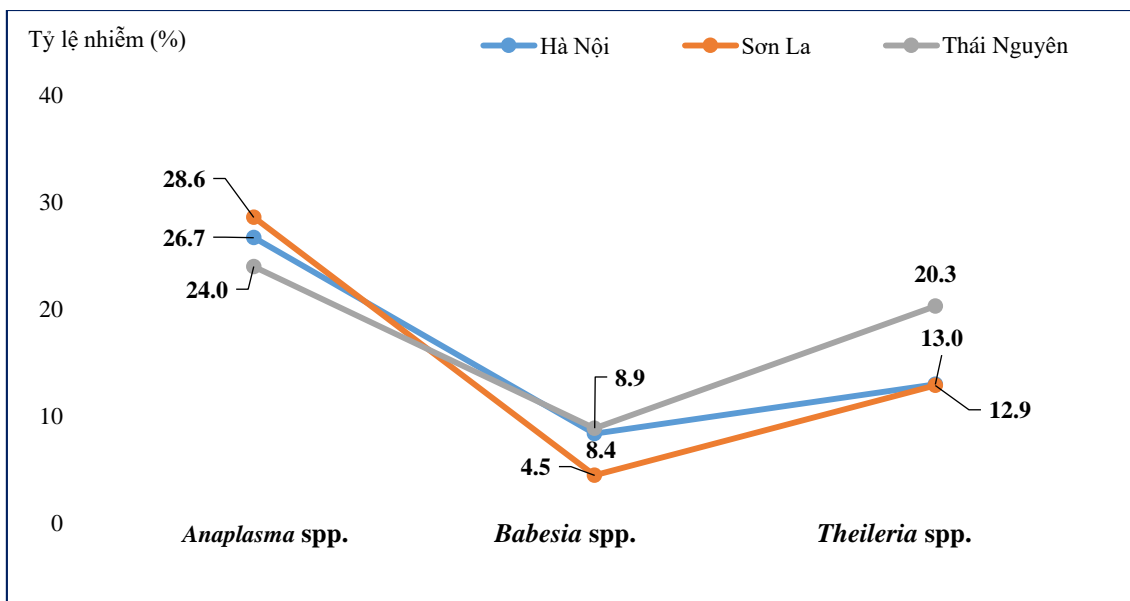
Babesia spp. được ghi nhận lưu hành trên nhiều loài vật nuôi khác nhau ở Việt Nam cũng như các nước khác trong khu vực Đông Nam Á như: Philippines, Thái Lan và Indonesia (Galon và ctv, 2022b). Trâu, bò nhiễm *B. bigemina* và *B. bovis* với tỷ lệ nhiễm dao động từ 2,3% - 32,70%. Tỷ lệ lưu hành *Babesia* spp. cao nhất được ghi nhận trên trâu (32,7%) (Weerasooriya và ctv, 2016) và rất thấp ở dê (0,8%-2,0%) tại Huế (Sivakumar và ctv, 2013). Trong nghiên cứu này của chúng tôi cho thấy, *Babesia* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa tại phía Bắc - Việt Nam với tỷ lệ nhiễm dao động từ 1,1% đến 15,4%. Bò nhiễm *Babesia* spp. cao nhất (15,4%), tiếp đến là ngựa (7,6%); trâu (4,2%) và thấp nhất là dê (1,1%).

Nhằm mục đích làm nổi bật sự biến động tỷ lệ nhiễm chung của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., và *Theileria* spp. trên loài vật nuôi theo mùa vụ, chúng tôi tiến hành so sánh tỷ lệ nhiễm chung này. Kết quả được thể hiện ở biểu đồ hình 3.10.



Hình 3.10. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành chung các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên tất cả các loài vật nuôi theo mùa

Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành chung các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên tất cả các loài vật nuôi theo mùa (hình 3.10) cho thấy: trâu, bò, dê và ngựa nhiễm *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. quanh năm, nhưng cao nhất vào mùa hè (12,3% - 44,8%), tiếp theo là mùa thu (11,3% - 38%), mùa xuân (3,0% - 12,5%) và thấp nhất vào mùa đông (2,3% - 10,3%). Theo chúng tôi, tỷ lệ nhiễm biến động theo mùa của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên tất cả các loài vật nuôi có liên quan mật thiết với sự tồn tại các loài véc tơ truyền bệnh (ve, ruồi, mòng). Sự phát triển của véc tơ truyền bệnh (ve, ruồi, mòng) chịu ảnh hưởng rõ rệt của các yếu tố mùa (nhiệt độ và độ ẩm). Vào mùa hè và mùa thu, ở miền Bắc thường có nhiều mưa, độ ẩm và nhiệt độ môi trường tăng lên. Ve *R. (B) microplus* được báo cáo là truyền cả *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. cho vật nuôi (Hornok và ctv, 2024; Spickler, 2007). Loài ve này lưu hành phổ biến nhất tại miền Bắc, là ve một vật chủ có thể hoàn thành trong vòng 3 - 4 tuần và thường nhiễm với cường độ cao trên các loài vật nuôi, đặc biệt là bò và vào mùa hè (Walker, 2003; Nithikathkul và ctv, 2002). Ở Việt Nam, ve hoạt động mạnh vào mùa hè, mùa thu và giảm hoạt động vào mùa xuân, mùa đông (Nguyễn Thị Hồng Chiên và ctv, 2018). Ruồi, mòng hút máu hoạt động mạnh vào mùa hè và mùa thu (tháng 5 - 9), sau đó giảm dần và ngừng hoạt động vào các tháng lạnh trong năm; bắt đầu hoạt động vào khoảng 6 - 8 giờ và hoạt động mạnh vào 8 - 18 giờ trong ngày. Mòng *Tabanus* spp. hoạt động mạnh từ tháng 6 đến tháng 9, ngừng hoạt động vào tháng 10 và không hoạt động từ tháng 11 đến tháng 3. Ruồi trâu *Stomoxys calcitrans* hoạt động quanh năm từ tháng 1 đến tháng 12, hoạt động cao điểm vào tháng 5 và hoạt động mạnh từ tháng 6 đến tháng 10 (Nguyễn Thị Kim Lan và ctv, 2019; Phan Văn Chính, 2006; Phạm Sỹ Lăng, 1982). Từ đó, có thể lý giải kết quả nghiên cứu của luận án vào mùa hè và mùa thu, vật nuôi tại 3 tỉnh/TP nghiên cứu nhiễm *Anaplasma* spp. và *Theileria* spp. cao hơn các mùa khác trong năm.



Hình 3.11. Biểu đồ so sánh tỷ lệ lưu hành chung các loài *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* trên các loài vật nuôi theo địa điểm nghiên cứu

Biểu đồ hình 3.11 cho thấy, vật nuôi cả 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) đều nhiễm 3 loại ký sinh trùng đường máu *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* với tỷ lệ dao động từ 4,5% đến 28,6%. *Anaplasma spp.* là ký sinh trùng có tỷ lệ nhiễm cao nhất (24,0% - 28,6%), tiếp theo là *Theileria spp.* (12,9% - 20,3%) và thấp nhất là *Babesia spp.* (4,5% - 8,9%) lưu hành ở vật nuôi tại 3 tỉnh/TP. Trong đó, vật nuôi tại tỉnh Sơn La có tỷ lệ nhiễm *Anaplasma spp.* cao nhất (28,6%), tiếp đến là TP. Hà Nội (26,7%) và thấp nhất là tỉnh Thái Nguyên (24,0%). Điều này có thể do số lượng các loài véc tơ truyền bệnh ở các tỉnh/TP đại diện cho những vùng địa lý khác nhau là khác nhau. Trong các nghiên cứu về véc tơ truyền bệnh ký sinh trùng đường máu, kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng, vị trí địa lý càng cao thì số lượng các loài ve truyền bệnh càng giảm khi vị trí địa lý càng lên cao hơn so với mực nước biển (Michel và ctv, 2014). Tuy nhiên, tỉnh Sơn La là một tỉnh giáp biên với Lào, thường có nền nhiệt khá cao và nóng ẩm, tạo điều kiện thuận lợi cho các loài véc tơ truyền bệnh (ruồi, mòng) phát triển. Ruồi, mòng hút máu trên trâu, bò, dê và ngựa khá phổ biến ở cả 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La). Do ruồi, mòng hoạt động nhiều vào tháng 5 - 9 trong năm (trùng ứng với mùa hè và mùa thu), hoạt động mạnh từ 8 - 18 giờ trong ngày; đây là khoảng

thời gian người chăn nuôi thường chăn thả trâu, bò ngoài các bãi chăn và các triền đê. Ruồi, mòng vẫn tiếp tục hoạt động với cường độ yếu khi sấm tối (sau 18 giờ trong ngày) (Nguyễn Thị Kim Lan và ctv, 2019).

Tỷ lệ nhiễm *Theileria* spp. trên trâu, bò, dê và ngựa ở tỉnh Thái Nguyên cao nhất (20,3%). Vật nuôi ở tỉnh Sơn La và TP. Hà Nội có tỷ lệ nhiễm *Theileria* spp. thấp hơn, lần lượt là 12,9% và 13,0%. Tỷ lệ nhiễm *Babesia* spp. trên trâu, bò, dê và ngựa ở tỉnh Thái Nguyên cao nhất (8,9%). Vật nuôi tỉnh Sơn La và TP. Hà Nội có tỷ lệ nhiễm *Babesia* spp. thấp hơn, lần lượt là 4,5% và 8,4%. Điều này có thể do số lượng các loài véc tơ truyền bệnh, mật độ chăn nuôi, hình thức chăn nuôi ở các tỉnh/TP đại diện cho những vùng địa lý khác nhau là khác nhau. Ngoài ra, sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm có thể liên quan đến môi trường sống của các loài véc tơ truyền bệnh. 02 tỉnh Sơn La và Thái Nguyên thuộc vùng miền núi, có khu vực chăn nuôi rộng lớn, chủ yếu là chăn nuôi nhỏ lẻ, hình thức chăn thả so với TP. Hà Nội, do đó, các véc tơ truyền bệnh *Theileria* spp. như ruồi, mòng ở tỉnh Sơn La và Thái Nguyên có điều kiện sinh sản và phát triển hơn so với ở TP Hà Nội.

* Tỷ lệ nhiễm đơn bào đường máu trên loài vật chủ (trâu, bò, dê và ngựa)

Dựa trên các kết quả so sánh tỷ lệ lưu hành ban đầu, chúng tôi đã xác định tỷ lệ nhiễm đơn lẻ và nhiễm ghép của các loài ký sinh trùng *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa, chúng tôi đã xác định tỷ lệ nhiễm đơn lẻ, nhiễm ghép của các loài đơn bào này trên các loài vật nuôi được thể hiện ở bảng 3.13 dưới đây.

Bảng 3. 13. Tỷ lệ nhiễm đơn bào, nhiễm ghép trên tất cả vật nuôi tại 3 tỉnh/TP

Chỉ tiêu theo dõi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỉ lệ nhiễm (%)	95%CI	p-value
<i>Anaplasma</i> spp.	2400	634	26,4	24,7 - 28,2	< 0,0001
<i>Babesia</i> spp.	2400	174	7,3	6,2 - 8,4	< 0,0001
<i>Theileria</i> spp.	2400	369	15,4	14,0 -16,9	< 0,0001
Nhiễm ghép 2	2400	164	6,8	4,3 – 9,3	< 0,05
Nhiễm ghép 3	2400	63	2,6	1,0 – 5,1	< 0,05

Bảng 3.13 cho thấy, *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. lưu hành trên các loài vật nuôi (trâu, bò, dê, ngựa) với tỷ lệ từ 7,3% đến 26,4%. Trong đó, vật nuôi tại 3 tỉnh/TP (TP. Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) có tỷ lệ nhiễm ghép từ 2 loại, 3 loại đơn bào đường máu từ 2,6% đến 6,8%. Điều này chỉ ra rằng, vật nuôi thường bị nhiễm nhiều hơn một loại ký sinh trùng đường máu (nhiễm ghép). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn với kết quả nghiên cứu của tác giả (Phùng Quang Trường và ctv, 2009). Theo tác giả này, bò nhiễm ghép các loại ký sinh trùng đường máu với tỷ lệ nhiễm chung là 7% tại Ba Vì, Hà Nội. Sự khác nhau này có thể là do nghiên cứu của chúng tôi thực hiện ở trâu, bò, dê và ngựa trên vị trí địa lý rộng lớn (3 tỉnh/TP) có mật độ và quy mô chăn nuôi nhỏ lẻ. Tác giả này thực hiện trên bò - loài vật chủ ưa thích của ve *R. (B) microplus* là véc tơ truyền bệnh quan trọng truyền mầm bệnh *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. tại Ba Vì, Hà Nội có vị trí chăn nuôi nhỏ, mật độ, quy mô chăn nuôi bò cao.

3.1.2. Xác định một số đặc điểm sinh học phân tử của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa

3.1.2.1. Kết quả định danh các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa

a) Kết quả định danh loài *Anaplasma* spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa

Nghiên cứu đã xác định được 05 loài *Anaplasma* spp. bao gồm: *A. marginale*, *A. platys*, *A. phagocytophilum*, *A. bovis* và *A. sinensis* lưu hành trên trâu, bò, dê và ngựa tại 03 tỉnh/TP được thể hiện ở bảng 3.14. Tổng cộng 48 chuỗi gen 16S rDNA của các loài *Anaplasma* phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa đã được lưu trữ lên ngân hàng gen thế giới (chi tiết tại Bảng 1 - Phụ lục 2).

Bảng 3.14. Kết quả định danh loài *Anaplasma* spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa

TT	Kết quả định danh loài <i>Anaplasma</i> spp.	Vật chủ	Tỉnh/TP	Số đăng ký chuỗi gen
1	<i>A. marginale</i>	Trâu, bò	Hà Nội, Thái Nguyên	PP987109 - PP987122
2	<i>A. platys</i>	Trâu, bò, dê và ngựa	Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La	PP987123 - PP987146
3	<i>A. phagocytophilum</i>	Trâu, bò, dê	Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La	PP987147 - PP987149
4	<i>A. booleuse</i>	Trâu, bò, dê và ngựa	Thái Nguyên	PP987331 – PP987335
5	<i>A. sinensis</i>	Trâu	Thái Nguyên, Sơn La	PP987336 - PP987337

Bảng 3.14 cho thấy, loài *A. marginale* lưu hành trên trâu, bò tại 2 tỉnh/TP là TP. Hà Nội và Thái Nguyên. Loài *A. platys* lưu hành trên trâu, bò, dê và ngựa ở cả 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La). Loài *A. phagocytophilum* lưu hành trên trâu, bò, dê ở cả 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La). Loài *A. booleuse* lưu hành trên trâu, bò, dê và ngựa ở tỉnh Thái Nguyên. Loài *A. sinensis* lưu hành trên trâu ở tỉnh Thái Nguyên và tỉnh Sơn La.

Năm 2019, hai loài *Anaplasma* spp. là *A. marginale* và *A. platys* đã ghi nhận lưu hành trên bò và chó tại tỉnh Hải Dương và TP. Hà Nội (Nguyen và ctv, 2019). Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã bổ sung thêm 3 loài *Anaplasma* spp. lưu hành trên vật nuôi tại miền Bắc - Việt Nam là: *A. phagocytophilum*, *A. sinensis* và *A. booleuse*, tăng số loài *Anaplasma* spp. lưu hành tại miền Bắc lên 5 loài. Đây cũng là lần đầu tiên 3 loài *Anaplasma* spp. này được báo cáo lưu hành trên vật nuôi tại miền Bắc - Việt Nam. Năm 2021, Huynh và ctv (2021) tìm thấy *A. phagocytophilum* trên ve *R. (B) microplus* ở miền Trung và đây là báo cáo đầu tiên về sự lưu hành của loài *A. phagocytophilum* tại Việt Nam. Loài *A. phagocytophilum* là một trong những loài *Anaplasma* spp. truyền lây nguy hiểm nhất, gây bệnh sốt hạch, đặc biệt lưu hành tại châu Âu (Karshima và ctv, 2022a).

b) Kết quả định danh loài *Babesia* spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa

Nghiên cứu đã xác định được 02 loài *Babesia* spp. là *B. bovis* và *B. bigemina* lưu hành trên trâu, bò, dê, và ngựa tại phía Bắc - Việt Nam. Tổng cộng 20 chuỗi gen (15 chuỗi gen 18S rDNA và 05 chuỗi gen ITS2) của *Babesia* spp. phân lập trong nghiên cứu này đã được gửi lên Genbank và được cấp mã số đăng ký chuỗi gen (Bảng 2 - Phụ lục 2).

Ở miền Trung - Việt Nam, có ít nhất 5 loài *Babesia* spp. đã được xác định lưu hành trên trâu, bò và dê gồm: *B. bigemina*, *B. bovis*, *Babesia* sp. Hue, *B. ovatar* và *Babesia* sp. Mymensingh (Galon và ctv, 2022b; Yokoyama và ctv, 2015; Sivakumar và ctv, 2013). Hai loài *B. bovis* và *B. bigemina* gây bệnh trên bò với các biểu hiện lâm sàng rõ rệt, trong khi trâu thường nhiễm *B. bovis* ở thể mạn tính và chỉ có biểu hiện lâm sàng rõ rệt khi nhiễm *B. bigemina*; và chỉ tìm thấy *B. bigemina* lưu hành trên dê (Jaimes và ctv, 2018; Salih và ctv, 2015; Sivakumar và ctv, 2013).

Trong nghiên cứu này của chúng tôi, hai loài *B. bovis* và *B. bigemina* được xác định lưu hành trên trâu, bò, dê tại 3 tỉnh/TP phía Bắc, Việt Nam. Trong đó, kết quả đã định danh được loài *B. bovis* lưu hành trên dê (PP082801) và ngựa (PP082806 - PP082807; PP991424). Đây là báo cáo đầu tiên về sự lưu hành của loài *B. bovis* lưu hành trên dê và ngựa tại miền Bắc - Việt Nam.

c) Kết quả định danh loài *Theileria* spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa

Nghiên cứu đã xác định được 5 loài *Theileria* spp. bao gồm: *T. annulata*, *T. buffeli*, *T. equi*, *T. orientalis* và *T. velifera* lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa tại 03 tỉnh/TP thực hiện nghiên cứu. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.15. Tổng cộng 39 chuỗi gen 18S rDNA và 16 chuỗi gen ITS2 đã được cấp mã số đăng ký từ Genbank (Bảng 3 - Phụ lục 2).

Bảng 3. 15. Kết quả định danh loài *Theileria* spp. phân lập ở trâu, bò, dê, ngựa

TT	Kết quả định danh loài <i>Theileria</i> spp.	Vật chủ	Tỉnh/TP	Số đăng ký chuỗi gen 18S rDNA	Số đăng ký chuỗi gen đoạn ITS2
1	<i>T. annulata</i>	Trâu, bò	Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La	PP949795 - PP949803	PP991413 - PP991417; PQ653843 - PQ653845
2	<i>T. buffeli</i>	Trâu, bò	Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La	PP949804 - PP949814	PP991419 - PP991422; PQ653848 PQ653855 PQ653856
3	<i>T. equi</i>	Dê, ngựa	Sơn La	PP9498715 - PP9498717	
4	<i>T. orientalis</i>	Trâu, bò, ngựa	Hà Nội, Thái Nguyên	PP949818 - PP949827	
5	<i>T. velifera</i>	Trâu	Thái Nguyên, Sơn La	PP949828 - PP949833	

Các nghiên cứu định danh loài *Theileria* spp. tại Việt Nam trước đây cho biết, *T. mutan* (*T. orientalis*) lưu hành trên bò, trâu, cừu và ve; *T. annulata* lưu hành trên trâu và bò và *T. sinensis* chỉ được tìm thấy trong 01 cá thể ve bò *R. (B) microplus* (Huynh và ctv, 2021; Khukhuu và ctv, 2010; Hạ Thúy Hạnh, 1999).

Bảng 3.15 cho thấy, loài *T. annulata* và *T. buffeli* lưu hành trên bò và trâu; *T. equi* lưu hành trên ngựa và dê; và *T. velifera* chỉ được tìm thấy trên trâu. Loài *T. orientalis* lưu hành trên trâu, bò và ngựa. Như vậy, số lượng loài *Theileria* spp. lưu hành trên vật nuôi tại Việt Nam đã được tăng lên từ 3 loài lên thành 6 loài. Lần đầu tiên, 3 loài là *T. bufferi*, *T. equi* và *T. velifera* được báo cáo lưu hành tại miền Bắc - Việt Nam.

Loài *T. annulata* có độc lực cao, gây bệnh Theileriosis nhiệt đới, gây thiệt hại kinh tế nghiêm trọng nhất cho ngành chăn nuôi bò khắp nơi trên thế giới (WOAH, 2020). Trong khi đó, *T. orientalis* phân bố rộng rãi và đã bùng phát thành

các đợt dịch bệnh trên bò ở New Zealand, Úc và các quốc gia khác kể từ năm 2010, gây thiệt hại lớn về kinh tế. Việt Nam là nước nhập số lượng bò từ Úc nhiều thứ 2 thế giới, với 181.542 con bò năm 2014, chỉ đứng sau Indonesia (730.257 con bò). Năm 2014, Việt Nam cũng đã ghi nhận một đợt bùng phát dịch bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *T. orientalis*; trên đàn bò hậu bị nhập khẩu từ Úc, và một số nghiên cứu điều tra sau đó trên vật nuôi khác, bao gồm: bò vàng, trâu và cừu cũng đã ghi nhận sự lưu hành của *T. orientalis* trên các loài vật nuôi này tại tỉnh Thừa Thiên Huế (Huynh và ctv, 2021; Spickler, 2019; Gebrekidan và ctv, 2017; Khukhuu và ctv, 2011).

Loài *T. buffeli* có nhiều kiểu gen và phân bố nhiều nhất so với các loài *Theileria* spp. khác. Loài này được ghi nhận xuất hiện ở hầu hết các châu lục và gây bệnh cho bò, trâu ở châu Phi, trâu nước và bò Tây Tạng. Đôi khi có những kiểu gen *T. buffeli* được xếp chung vào nhóm *T. orientalis*/*T. buffeli*/*T. sergenti*, hoặc nhóm *T. sinensi*; hoặc bị nhầm lẫn với nhóm *T. velifera* và *T. equi* tùy vào vùng địa lý và lịch sử mắc bệnh. Tuy nhiên, *T. buffeli* vẫn được xếp là loài *Theileria* riêng biệt (Watts và ctv, 2016). Và đây là lần đầu tiên, *T. buffeli* được định danh sinh học phân tử và báo cáo lưu hành tại Việt Nam, được phân lập trên bò tại tỉnh Thái Nguyên, và trên trâu ở 3 tỉnh/TP là Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La.

T. equi chủ yếu gây bệnh trên ngựa, tuy nhiên trong nghiên cứu này của chúng tôi *T. equi* được tìm thấy trên cả ngựa và dê. Ve bò *R. (B) microplus* được cho là nguồn truyền *T. equi* lớn nhất khi ngựa được chăn thả cùng với bò (Vianna và ctv, 2018). Từ thực tế chăn nuôi tại các địa điểm thu thập nói riêng và miền Bắc nói chung, các loài vật nuôi bao gồm cả trâu, bò, dê, ngựa thường được chăn thả chung hoặc sống gần nhau trong cùng một hộ gia đình; và đây cũng là lần đầu tiên *T. equi* được định danh sinh học phân tử và được báo cáo lưu hành tại Việt Nam.

Tương tự *T. equi*, *T. velifera* cũng lần đầu tiên được định danh sinh học phân tử và được báo cáo lưu hành tại Việt Nam. Loài *T. velifera* chủ yếu được tìm thấy trên trâu và bò. Trong nghiên cứu này, *T. velifera* chỉ được tìm thấy trên trâu, có thể loài đây là kiểu gen *T. velifera B* vì *T. velifera* có nhiều kiểu gen khác nhau, và kiểu gen *T. velifera B* chỉ lưu hành trên trâu (Watts và ctv, 2016).

3.1.2.2. Kết quả xác định đặc điểm gen 16S rDNA hoặc 18S rDNA của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. và vùng ITS2 của *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa

- Khoảng cách di truyền là giá trị đo sự khác biệt về di truyền giữa các chủng trong và ngoài loài, giữa các loài hoặc giữa các quần thể trong một loài. Sự khác biệt về trình tự càng lớn, khoảng cách di truyền càng xa (Kalinowski, 2002). Dựa vào khoảng cách di truyền có thể xác định mối quan hệ tiến hóa và xây dựng cây phả hệ của các loài, cho thấy lịch sử tiến hóa của chúng. Do đó, sau khi có kết quả định danh của từng loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa chúng tôi tiến hành xác định khoảng cách di truyền và xây dựng cây phả hệ của các loài này.

a) Kết quả xác định đặc điểm gen 16S rDNA của *Anaplasma* spp.

Khoảng cách di truyền được tính toán bằng cách so sánh từng cặp trình tự 16S rDNA giữa các phân lập của 5 loài *Anaplasma* spp. (*A. marginale*, *A. platys*, *A. booleensees*, *A. phagocytophilum* và *A. sinensis*) với trình tự các gen tương đồng đã được đăng ký trên ngân hàng gen thế giới.

Bảng 3. 16. Khoảng cách di truyền gen 16S rDNA của loài *A. marginale*

Tên chủng/loài (Genbank)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1. <i>Anaplasma marginale</i> 3HM-B13 (PP987109)											
2. <i>Anaplasma marginale</i> 3TM-B01 (PP987111)	0.000										
3. <i>Anaplasma marginale</i> 3HM-B30 (PP987112)	0.000	0.000									
4. <i>Anaplasma marginale</i> 2HM-B09 (PP987113)	0.000	0.000	0.000								
5. <i>Anaplasma marginale</i> 2HM-D32 (PP987117)	0.000	0.000	0.000	0.000							
6. <i>Anaplasma marginale</i> 2HM-T19 (PP987118)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000						
7. <i>Anaplasma marginale</i> 3TM-T32 (PP987120)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
8. <i>Anaplasma marginale</i> 3TM-T35 (PP987121)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				
9. <i>Anaplasma marginale</i> Cattle Việt Nam (MH686046.1)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000			
10. <i>Anaplasma marginale</i> Dog Hungary (MH020201.1)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
11. <i>Anaplasma marginale</i> Cattle Cuba (MK804764.1)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

(*Ghi chú: các trình tự (mã số) trong nghiên cứu này biểu thị màu đỏ, các trình tự (mã số) tham chiếu biểu thị màu đen)

Kết quả bảng 3.16 cho thấy, 8 trình tự gen 16S rDNA loài *A. marginale* (màu đỏ), phân lập từ trâu, bò, dê tại TP Hà Nội và Thái Nguyên trong nghiên cứu này tương đồng về gen 100% và tương đồng 100% so với 03 trình tự gen 16S rDNA loài *A. marginale* phân lập từ bò - Việt Nam (MH686046); từ chó - Hungary

(MH020201) và từ bò - Cuba (MK804764). Kết quả nghiên cứu của luận án tương đồng với tác giả (Nguyễn Thị Hồng Chiên, 2021) khi tác giả này cho biết, độ tương đồng về gen 16S rDNA của *A. marginale* phân lập từ bò ở Việt Nam là 100%.

Bảng 3. 17. Khoảng cách di truyền gen 16S rDNA của *Anaplasma* spp. (1)

Tên chủng/loài (Genbank)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. <i>Anaplasma platys</i> 2HM-T16 (PP987123)															
2. <i>Anaplasma platys</i> 2TM-T39 (PP987130)	0.000														
3. <i>Anaplasma platys</i> 3HM-B12 (PP987136)	0.000	0.000													
4. <i>Anaplasma platys</i> 2TM-D16 (PP987128)	0.000	0.000	0.000												
5. <i>Anaplasma platys</i> 3LM-D37 (PP987144)	0.000	0.000	0.000	0.000											
6. <i>Anaplasma platys</i> Cattle Viet Nam (MH686049.1)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000										
7. <i>Anaplasma platys</i> China (MN630836.1)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000									
8. <i>Anaplasma platys</i> Dog Malaysia (MN159064.1)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000								
9. <i>Anaplasma booleense</i> 2TM-T40 (PP987331)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021							
10. <i>Anaplasma booleense</i> 2TM-D39 (PP987332)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.000						
11. <i>Anaplasma booleense</i> 2TM-B41 (PP987333)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.000	0.000					
12. <i>Anaplasma booleense</i> 2TM-T08 (PP987335)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.000	0.000	0.000				
13. <i>Anaplasma booleense</i> Anopheles China (KU586169.1)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000			
14. <i>Anaplasma booleense</i> Armigeres China (KU586182.1)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
15. <i>Anaplasma booleense</i> Cattle South Africa (MK814450)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

(**Ghi chú:* các trình tự (mã số) trong nghiên cứu này biểu thị màu đỏ, các trình tự (mã số) tham chiếu biểu thị màu đen)

Kết quả ở bảng 3.17 và hình 1 (phụ lục 3) cho thấy, khoảng cách di truyền được tính toán bằng cách so sánh từng cặp trình tự 16S rDNA trong của từng loài *A. platys* và *A. booleense* (màu đỏ). Tính toán khoảng cách di truyền cũng được thực hiện giữa các loài *A. platys* (5 trình tự từ Việt Nam và 3 trình tự làm tham chiếu) và loài *A. booleense* (4 trình tự từ Việt Nam và 3 trình tự tham chiếu).

Trong nhóm *A. platys*, trình tự của 5 mẫu Việt Nam tương đồng 100% với nhau, và tương đồng 100% so với trình tự tham chiếu phân lập ở bò Việt Nam (MH686049.1), Trung Quốc (MN630836.1) và chó ở Malaysia (MN159064.1). Kết quả nghiên cứu của luận án tương đồng với kết quả nghiên cứu tác giả (Nguyễn Thị Hồng Chiên, 2021). Tác giả cho biết, khoảng cách di truyền của *A. platys* phân lập từ bò và chó ở miền Bắc, Việt Nam tương đồng về gen 100% và tương đồng từ 98% - 100% so với trình tự *A. platys* tham chiếu phân lập từ chó ở Đức và Philippines.

Tương tự, loài *A. booleense* phân lập từ trâu, bò, dê trong nghiên cứu này (màu đỏ), cũng có trình tự gen 16S rDNA tương đồng nhau 100%, và tương đồng

100% với trình tự *A. booleense* tham chiếu phân lập từ muỗi ở Trung Quốc (KU586169, KU586162) và bò ở Nam Phi (MK814850).

Bảng 3.18. Khoảng cách di truyền gen 16S rDNA của *Anaplasma* spp. (2)

Tên chủng/loài (Genbank)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. <i>Anaplasma phagocytophilum</i> 2TM-T26 (PP987147)												
2. <i>Anaplasma phagocytophilum</i> 3TM-B43 (PP987148)	0.000											
3. <i>Anaplasma phagocytophilum</i> 3LM-D11 (PP987149)	0.000	0.000										
4. <i>Anaplasma phagocytophilum</i> Cattle China (KF569912.1)	0.000	0.000	0.000									
5. <i>Anaplasma phagocytophilum</i> goat China (KR002114.1)	0.000	0.000	0.000	0.000								
6. <i>Anaplasma phagocytophilum</i> Japan (AB195721.1)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000							
7. <i>Anaplasma phagocytophilum</i> Tick China (OQ701071.1)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000						
8. <i>Anaplasma phagocytophilum</i> Cattle China (KF569912.1)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
9. <i>Anaplasma</i> sp. Goat China (MG869522.1)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				
10. <i>Candidatus Anaplasma sinensis</i> 3LM-T43 (PP987336)	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002			
11. <i>Candidatus Anaplasma sinensis</i> 3TM-T31 (PP987337)	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.000		
12. <i>Candidatus Anaplasma sinensis</i> Anophen China (KU586159)	0.011	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.002	0.002	

(**Ghi chú:* các trình tự (mã số) trong nghiên cứu này biểu thị màu đỏ, các trình tự (mã số) tham chiếu biểu thị màu đen)

Kết quả ở bảng 3.18 và hình 1 (phụ lục 3) cho thấy, loài *A. phagocytophilum* phân lập từ vật nuôi trong nghiên cứu này (màu đỏ), có trình tự gen 16S rDNA tương đồng nhau 100%, và tương đồng 100% với trình tự *A. phagocytophilum* tham chiếu phân lập từ bò - Trung Quốc (KF569912); dê - Trung Quốc (KR002114); ve – Trung Quốc (OQ701071) và bò - Nhật Bản (AB196721).

Zhou và ctv (2023) cho biết, *A. phagocytophilum* phân lập từ bò và dê Trung Quốc (KT944029, KJ782381, KU321298, KF569915, MG002405) có trình tự gen 16S rDNA tương đồng từ 97,4% - 100% so với các trình tự *A. phagocytophilum* tham chiếu từ Nam Phi (KU870667), Pakistan (MN216240), Nhật Bản (AB196720, AB196721). Kết quả nghiên cứu của luận án tương đồng với kết quả trên.

Loài *A. sinensis* phân lập từ vật nuôi trong nghiên cứu này (màu đỏ), có trình tự gen 16S rDNA tương đồng 100%, và tương đồng 99,98% (chỉ có 2 vị trí nucleotide khác nhau) so với trình tự tham chiếu phân lập từ muỗi - Trung Quốc (KU586159). Như vậy, các loài *Anaplasma* spp. phân lập trong nghiên cứu này có quan hệ họ hàng gần gũi với các phân lập tham chiếu trong khu vực và trên thế giới.

b) Kết quả xác định đặc điểm gen nhân rDNA 18S và vùng ITS2 của *Babesia* spp.

Bảng 3.19. Khoảng cách di truyền gen 18S rDNA loài *Babesia bigemina*

Tên chủng/loài (Genbank)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. <i>Babesia bigemina</i> Cattle Hanoi (PP082808)												
2. <i>Babesia bigemina</i> Hanoi (PP082810)	0.004											
3. <i>Babesia bigemina</i> Cattle Hanoi (PP082811)	0.007	0.004										
4. <i>Babesia bigemina</i> Cattle Thai Nguyen (PP082812)	0.000	0.004	0.007									
5. <i>Babesia bigemina</i> Buffalo Hanoi (PP082813)	0.004	0.000	0.004	0.004								
6. <i>Babesia bigemina</i> Goat Son La (PP082814)	0.007	0.004	0.000	0.007	0.004							
7. <i>Babesia bigemina</i> Cattle China (KP710227.1)	0.000	0.004	0.007	0.000	0.004	0.007						
8. <i>Babesia bigemina</i> Tick China (KT356596.1)	0.000	0.004	0.007	0.000	0.004	0.007	0.000					
9. <i>Babesia bigemina</i> China (MH899760.1)	0.004	0.007	0.011	0.004	0.007	0.011	0.004	0.004				
10. <i>Babesia bigemina</i> Cattle Australia (JQ437264.1)	0.015	0.015	0.018	0.015	0.015	0.018	0.015	0.015	0.018			
11. <i>Babesia bigemina</i> Argentina (HQ688689.1)	0.011	0.007	0.011	0.011	0.007	0.011	0.011	0.011	0.015	0.015		
12. <i>Babesia bigemina</i> Bos taurus Switzerland (KM046917.1)	0.015	0.018	0.022	0.015	0.018	0.022	0.015	0.015	0.018	0.015	0.011	

(**Ghi chú:* các trình tự (mã số) trong nghiên cứu này biểu thị màu đỏ, các trình tự (mã số) tham chiếu biểu thị màu đen)

Kết quả bảng 3.19 và hình 2 - phụ lục 3 cho thấy, 06 trình tự gen 18S rDNA của loài *B. bigemina* (màu đỏ), phân lập từ trâu, bò, dê tại 3 tỉnh/TP trong nghiên cứu này tương đồng nội loài từ 99,99% - 100%, (sai khác vị trí từ 4 - 7 nucleotide). So sánh 06 trình tự gen 18S rDNA của loài *B. bigemina* với 06 trình tự tham chiếu cho thấy, tương đồng từ 99,98% - 100% so với trình tự tham chiếu phân lập từ bò - Trung Quốc (KP710227.1), từ ve - Trung Quốc (KT356596.1), từ bò - Úc (Australia - JQ437261.1), từ bò - Argentina (HQ688689.1) và từ bò - Thụy Sĩ (Switzelnad - KM046917.1), thể hiện mối quan hệ gần gũi giữa *B. bigemina* phân lập tại Việt Nam trong nghiên cứu này với các phân lập tham chiếu từ các quốc gia khác trong khu vực và toàn cầu.

Bảng 3.20. Khoảng cách di truyền gen 18S rDNA loài *Babeisa bovis*

Tên chủng/loài (Genbank)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. <i>Babesia bovis</i> Horse Hanoi (PP082800)										
2. <i>Babesia bovis</i> Goat Hanoi (PP082801)	0.000									
3. <i>Babesia bovis</i> Buffaloes Hanoi (PP082802)	0.000	0.000								
4. <i>Babesia bovis</i> Cattle Thai Nguyen (PP082804)	0.000	0.000	0.000							
5. <i>Babesia bovis</i> Horse Thai Nguyen (PP082806)	0.000	0.000	0.000	0.000						
6. <i>Babesia bovis</i> Horse Son La (PP082807)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
7. <i>Babesia bovis</i> Cattle China (KY805831.1)	0.042	0.042	0.042	0.042	0.042	0.042				
8. <i>Babesia bovis</i> Cattle South Africa (MH257734.1)	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.007			
9. <i>Babesia bovis</i> Cattle Brazil (FJ426364.1)	0.045	0.045	0.045	0.045	0.045	0.045	0.022	0.019		
10. <i>Babesia bovis</i> Cattle Australia (JQ437262.1)	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.045	0.047	0.055	

(**Ghi chú:* các trình tự (mã số) trong nghiên cứu này biểu thị màu đỏ, các trình tự (mã số) tham chiếu biểu thị màu đen)

(Bảng 3.20; Hình 3 - phụ lục 3) cho thấy, 06 chuỗi gen 18S rDNA loài *Babesia bovis* (màu đỏ), phân lập từ trâu, bò, dê và ngựa trong nghiên cứu này thu thập tại 03 tỉnh/TP có trình tự gen tương đồng nhau 100% và tương đồng >99% với 04 chuỗi của loài tham chiếu phân lập từ bò - Trung Quốc (KY805831), từ bò - Nam Phi (MH257734), từ bò - Úc (Australia - JQ437262) và từ bò - Bra-xin (Brazil - FJ426264). Như vậy, các chuỗi gen 18S rDNA loài *Babesia bovis* trong nghiên cứu này có mối quan hệ gần gũi giữa với các phân lập tham chiếu từ các quốc gia khác trong khu vực và toàn cầu.

Bảng 3.21. Khoảng cách di truyền vùng ITS2 loài *Babesia bovis*

Tên chủng/loài (Genbank)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. <i>Babesia bovis</i> Horse Hanoi (PP991425)									
2. <i>Babesia bovis</i> Goat Hanoi (PP991426)	0.000								
3. <i>Babesia bovis</i> Buffaloes Hanoi (PP991427)	0.000	0.000							
4. <i>Babesia bovis</i> Buffaloes Thai Nguyen (PP991423)	0.000	0.000	0.000						
5. <i>Babesia bovis</i> Horse Son La (PP991424)	0.000	0.000	0.000	0.000					
6. <i>Babesia bovis</i> USA (MH050920)	0.003	0.003	0.006	0.003	0.003				
7. <i>Babesia bovis</i> USA (MH050906)	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002			
8. <i>Babesia bovis</i> Germany (EF458275)	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.003	0.003		
9. <i>Babesia bovis</i> Japan (KX685389)	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.003	0.003	0.005	

(**Ghi chú:* các trình tự (mã số) trong nghiên cứu này biểu thị màu đỏ, các trình tự (mã số) tham chiếu biểu thị màu đen)

Kết quả bảng 3.21 cho thấy, 5 loài *Babesia bovis* (màu đỏ), phân lập từ vật nuôi trong nghiên cứu này có trình tự gen ITS2 tương đồng 100%. Phân tích khoảng cách di truyền cho thấy, các trình tự gen ITS2 của 05 mẫu loài *B. bovis* thu thập ở TP. Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La (Việt Nam) thể hiện sự tương đồng cao (>99%) với các trình tự của loài này ở Mỹ (MH050920; MH050906), Đức (EF458275) và Nhật Bản (KX685389), chỉ sai khác ở 0 - 5 vị trí nucleotide, tương ứng với khoảng cách di truyền là 0 - 0,5%. Ở Việt Nam, các nghiên cứu về sinh học phân tử của loài *B.bovis* còn ít, hiện mới chỉ có trình tự gen 18S DNA trên GenBank. Trong nghiên cứu này, gen ITS2 của 05 mẫu loài *B. bovis* thu thập ở TP. Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La (Việt Nam) cũng cho kết quả tương tự các công

bỏ trước đây. Các trình tự gen loài *B. bovis* ở nghiên cứu này hoàn toàn tương đồng với nhau và tương đồng cao với các trình tự ở khu vực châu Á.

c) Kết quả xác định đặc điểm gen 18S rDNA và vùng ITS2 của *Theileria* spp.

Bảng 3.22. Khoảng cách di truyền gen 18S rDNA của *Theileria* spp. (1)

Tên chủng/loài (Genbank)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1. <i>Theileria velifera</i> 2TM-T26 (PP949831)											
2. <i>Theileria velifera</i> 2TM-T03 (PP949832)	0.000										
3. <i>Theileria velifera</i> 3LM-T05 (PP949833)	0.000	0.000									
4. <i>Theileria velifera</i> Buffalo Myanmar (LC325740.2)	0.000	0.000	0.000								
5. <i>Theileria velifera</i> Cattle Myanmar (LC325742.2)	0.016	0.016	0.016	0.016							
6. <i>Theileria equi</i> Horse Brazil (MG052915.1)	0.114	0.114	0.114	0.114	0.107						
7. <i>Theileria equi</i> Horse China (MH651215.1)	0.114	0.114	0.114	0.114	0.107	0.000					
8. <i>Theileria equi</i> 2LM-D50 (PP9497817)	0.114	0.114	0.114	0.114	0.107	0.000	0.000				
9. <i>Theileria equi</i> 2LM-N40 (PP9497815)	0.111	0.111	0.111	0.111	0.111	0.076	0.076	0.076			
10. <i>Theileria equi</i> 2LM-N08 (PP9497816)	0.111	0.111	0.111	0.111	0.111	0.076	0.076	0.076	0.006		
11. <i>Theileria equi</i> Horse USA (MT613677.1)	0.111	0.111	0.111	0.111	0.111	0.076	0.076	0.076	0.006	0.000	

(**Ghi chú*: các trình tự (mã số) trong nghiên cứu này biểu thị màu đỏ, các trình tự (mã số) tham chiếu biểu thị màu đen)

Kết quả phân tích khoảng cách di truyền được thể hiện ở bảng 3.22 và hình 4 - phụ lục 3 cho thấy, 03 trình tự gen 18S rDNA của *T. velifera* ở trâu (màu đỏ) (tỉnh Thái Nguyên - PP9497831, PP9497832; và tỉnh Sơn La - PP9497833) thể hiện độ tương đồng về gen là 100% với loài này phân lập ở trâu - Myanmar (LC325740) và tương đồng > 99% đối với *T. velifera* phân lập ở bò - Myanmar (LC325742).

03 chuỗi gen 18S rDNA của *T. equi* phân lập ở ngựa và dê Việt Nam trong nghiên cứu này (màu đỏ) tương đồng nhau 100% nội loài từng loài và tương đồng > 99% với các chuỗi tham chiếu *T. equi* phân lập từ ngựa Mỹ, Trung Quốc, Braxin. *T. equi* phân lập trên dê và ngựa trong nghiên cứu này được chia thành 2 nhánh.

(1) *T. equi* trên dê (PP9497817) tương đồng về gen 100% với loài này phân lập ở ngựa - Trung Quốc (MH651215) và ngựa - Braxin (Brazil - MG052915).

(2) *T. equi* trên ngựa (PP9497815) tương đồng về gen 99,6% với loài này phân lập ở ngựa - Mỹ (UK - MT613677) và *T. equi* ở ngựa (PP9497816) tương đồng về gen 100% với loài này phân lập ở ngựa - Mỹ (UK - MT613677).

Bảng 3. 23. Khoảng cách di truyền gen 18S rDNA của *Theileria* spp. (2)

Tên chủng/loài (Genbank)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1. <i>Theileria annulata</i> 3LM-B14 (PP949795)																				
2. <i>Theileria annulata</i> 2HM-T4 (PP949798)	0.000																			
3. <i>Theileria annulata</i> 2TM - B32 (PP9497801)	0.003	0.003																		
4. <i>Theileria annulata</i> Cattle India (MK713333.1)	0.000	0.000	0.003																	
5. <i>Theileria</i> sp. Cattle Malaysia (KJ917960.2)	0.000	0.000	0.003	0.000																
6. <i>Theileria</i> sp. Indonesia (AB000274.1)	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000															
7. <i>Theileria</i> sp. Buffalo China (DQ286801.1)	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000														
8. <i>Theileria buffeli</i> 2TM-B03 (PP949804.1)	0.013	0.013	0.009	0.013	0.013	0.013	0.013													
9. <i>Theileria buffeli</i> 4TM-T02 (PP9497807)	0.013	0.013	0.009	0.013	0.013	0.013	0.013	0.000												
10. <i>Theileria buffeli</i> 2HM-T10 (PP9497807)	0.013	0.013	0.009	0.013	0.013	0.013	0.013	0.000	0.000											
11. <i>Theileria</i> sp. Buffalo Thailand (MN685115.1b)	0.013	0.013	0.009	0.013	0.013	0.013	0.013	0.000	0.000	0.000										
12. <i>Theileria</i> sp. Buffalo India (OR625125.1)	0.013	0.013	0.009	0.013	0.013	0.013	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000									
13. <i>Theileria orientalis</i> 3HM-B28 (PP9497822)	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016								
14. <i>Theileria orientalis</i> Tick China (OQ507242.1)	0.016	0.016	0.013	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.000							
15. <i>Theileria orientalis</i> 2TM-B28 (PP9497822)	0.019	0.019	0.016	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.003	0.003						
16. <i>Theileria orientalis</i> 2TM-T01 (PP9497823)	0.019	0.019	0.016	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.003	0.003	0.000					
17. <i>Theileria orientalis</i> 3TM-N36 (PP9497827)	0.013	0.013	0.016	0.013	0.013	0.013	0.013	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.016	0.016	0.019	0.019				
18. <i>Theileria orientalis</i> Goat Thailand (OM802550.1)	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.013	0.013	0.009	0.009	0.019			
19. <i>Theileria orientalis</i> Cattle Australia (AB520958.1)	0.013	0.013	0.016	0.013	0.013	0.013	0.013	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.016	0.016	0.019	0.019	0.000	0.019		
20. <i>Theileria orientalis</i> Cattle Australia (JN252706.1)	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.016	0.016	0.013	0.013	0.032	0.022	0.032	

(**Ghi chú:* các trình tự (mã số) trong nghiên cứu này biểu thị màu đỏ, các trình tự (mã số) tham chiếu biểu thị màu đen)

Kết quả ở bảng 3.23 và hình 4 - phụ lục 3 cho thấy, các trình tự chuỗi gen 18S rDNA của *Theileria* spp. phân lập ở Việt Nam (màu đỏ) trong nghiên cứu này tương đồng nhau 100% nội loài từng loài và tương đồng > 99% với các chuỗi tham chiếu từ *T. annulata* phân lập từ bò - Ấn Độ (MK713333), bò - Malaysia (KJ917960), Indonesia (AB000274) và trâu - Trung Quốc (*T. annulata*; DQ286801); *T. buffeli* phân lập từ trâu (Thái Lan - MN685115 và Ấn Độ - OR625125); *T. orientalis* phân lập từ dê - Thái Lan (OM802550), ve Trung Quốc (OQ507242) và bò Úc - Australia (AB520958; JN252706). Như vậy, *Theileria* spp. phân lập tại Việt Nam trong nghiên cứu này có quan hệ họ hàng gần gũi với nhau và với các phân lập từ các quốc gia khác trong khu vực và trên thế giới.

So sánh trình tự gen 18S rDNA các loài *Theileria* spp. trong nghiên cứu này của chúng tôi với trình tự gen 18S rDNA của các loài *Theileria* spp. tương ứng có sẵn trên ngân hàng gen thế giới cho thấy, *T. annulata* ở bò (tỉnh Sơn La, Việt Nam, PP949795) và ở trâu (TP. Hà Nội, Việt Nam, PP949798) tương đồng về gen 100% với *T. sp* và *T. annulata* trên Genbank, phân lập từ bò - Ấn Độ (MK713333), bò - Malaysia (KJ917960), trâu - Trung Quốc (DQ286801) và bò - Indonesia (AB000274). Trong khi đó, *T. annulata* phân lập từ trâu (tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam, PP949801) sự tương đồng này là 99,7% với *T. annulata* phân lập từ trâu - Ấn Độ (MK713333).

Hossain và ctv (2023) cho biết, trình tự gen của loài *T. annulata* lây nhiễm cho động vật nhai lại thì có tính đồng nhất nucleotide cao nhất (98,8% - 99,6%). Trình tự gen 18S rRNA của *T. annulata* ở bò (LC439356 - *T. annulata*, Sirajganj, Ấn Độ) có 100% tính đồng nhất và tương đồng với trình tự của các loài *T. annulata* phân lập từ Ấn Độ (MK713333; MF287950), Myanmar (LC576818), Malaysia (KJ917961), Indonesia (AB000274) và Trung Quốc (MN252454).

Theo Nehra và ctv (2022), so sánh 54 trình tự gen 18S rRNA của loài *T. annulata* có nguồn gốc từ các nước như Ấn Độ, Trung Quốc, Thổ Nhĩ Kỳ và Iran bao gồm cả chủng vaccine S15 của Iran (KF429795) cho thấy, tính đồng nhất nucleotide nội loài của loài *T. annulata* là 98,8% - 100%.

Kết quả nghiên cứu của luận án tương đồng với kết quả nghiên cứu của các tác giả (Hossain và ctv, 2023; Nehra và ctv, 2022).

T. buffeli ở bò (PP949804) và trâu (PP9497807) (tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam), và ở trâu (TP. Hà Nội, Việt Nam, PP9497810) tương đồng 100% với loài này phân lập ở trâu - Thái Lan (MN685115) và trâu - Ấn Độ (OR625125).

T. orientalis trong nghiên cứu này của chúng tôi chia ra thành 3 nhóm:

(1) *T. orientalis* phân lập ở ngựa (tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam, PP9497827) tương đồng về gen ở mức 100% với *T. orientalis* phân lập ở bò - Úc (AB520958).

(2) *T. orientalis* phân lập ở bò (TP. Hà Nội, Việt Nam, PP9497818), sự tương đồng trình tự gen 18S rDNA là 100% với loài này phân lập ở ve - Trung Quốc (OQ507242).

(3) *T. orientalis* phân lập ở trâu và bò (tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam, PP9497822, PP9497823), sự tương đồng về gen là 99,60% với loài này phân lập ở dê - Thái Lan (OM802550.1) và giống 99,19% với phân lập ở bò - Úc (JN252706).

Kết quả so sánh sự tương đồng về gen của *T. orientalis* trên các loài vật nuôi trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với kết quả nghiên cứu về sự tương đồng về gen của loài *T. orientalis* lưu hành trên trâu và bò ở Huế (Khukhuu và ctv, 2011). Tác giả cho biết, sự tương đồng về gen của *T. orientalis* lưu hành ở bò có thể được chia thành các nhóm: (1) "nhóm ikeda" (kiểu 2 và 7) có độ tương đồng là 88,6% - 96,6% và (2) "nhóm chitose" (kiểu 1, 3, 4, 5, 8 và N-3) có độ tương đồng là 83,8% - 99,4%. Loài *T. orientalis* (kiểu N-1 và N-2) lưu hành ở trâu có sự tương đồng là (81,8% - 82,0%). Sự khác nhau này có thể hiểu là do sự khác nhau về địa điểm nghiên cứu và sử dụng kỹ thuật PCR khác nhau. Trong nghiên cứu này của chúng tôi, sử dụng kỹ thuật nPCR nhân gen 18S có độ dài sản phẩm là 581bp ngắn hơn so với độ dài sản phẩm của kỹ thuật MPSP - PCR (857 bp). Trong đó, độ dài sản phẩm của cho từng là loài *T. orientalis* "nhóm ikeda" là 826 bp và *T. orientalis* "nhóm chitose" là 831 bp (Khukhuu và ctv, 2011; Ota và ctv, 2009) nên tỷ lệ tương đồng về gen là khác nhau. Vì vậy, tỷ lệ tương đồng về gen của loài *T. orientalis*

phân lập trong nghiên cứu này cao hơn, nhưng độ dài sản phẩm của kỹ thuật PCR nhân gen 18S (581 bp) ngắn hơn so với độ dài sản phẩm của kỹ thuật PCR nhân gen MPSP (>800 bp) nên kết quả chỉ định danh sinh học phân tử là loài *T. orientalis* lưu hành trên trâu, bò và ngựa tại địa điểm nghiên cứu.

Bảng 3.24. Khoảng cách di truyền vùng ITS2 của *Theileria* spp.

Tên chủng/loài (Genbank)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. <i>Theileria annulata</i> 3LM-B14 (PP991413)															
2. <i>Theileria annulata</i> 2HM-B12 (PP991914)	0.000														
3. <i>Theileria annulata</i> 1TM-T50 (PQ653843)	0.000	0.000													
4. <i>Theileria annulata</i> 3LM-T15 (PQ653844)	0.000	0.000	0.000												
5. <i>Theileria annulata</i> 3TM-B17 (PQ653845)	0.000	0.000	0.000	0.000											
6. <i>Theileria annulata</i> Cattle China (EF547928)	1.389	1.389	1.389	1.389	1.389										
7. <i>Theileria annulata</i> Turkey (AY684836)	1.402	1.402	1.402	1.402	1.402	0.051									
8. <i>Theileria buffeli</i> 3TM-T47 (PP991419)	1.309	1.309	1.309	1.309	1.309	0.336	0.374								
9. <i>Theileria buffeli</i> 3LM-T14 (PP991420)	1.309	1.309	1.309	1.309	1.309	0.336	0.374	0.000							
10. <i>Theileria buffeli</i> 2HM-T26 (PP991421)	1.309	1.309	1.309	1.309	1.309	0.336	0.374	0.000	0.000						
11. <i>Theileria buffeli</i> 2HM-T10 (PQ653850)	1.309	1.309	1.309	1.309	1.309	0.336	0.374	0.000	0.000	0.000					
12. <i>Theileria buffeli</i> 3TM-T46 (PQ653848)	1.309	1.309	1.309	1.309	1.309	0.336	0.374	0.000	0.000	0.000	0.000				
13. <i>Theileria buffeli</i> 1HM-B13 (PQ653855)	1.309	1.309	1.309	1.309	1.309	0.336	0.374	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000			
14. <i>Theileria buffeli</i> 1LM-T13 (PQ653856)	1.309	1.309	1.309	1.309	1.309	0.336	0.374	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
15. <i>Theileria buffeli</i> Cattle USA (AY661527)	1.330	1.330	1.330	1.330	1.330	0.346	0.384	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	

(**Ghi chú:* các trình tự (mã số) trong nghiên cứu này biểu thị màu đỏ, các trình tự (mã số) tham chiếu biểu thị màu đen)

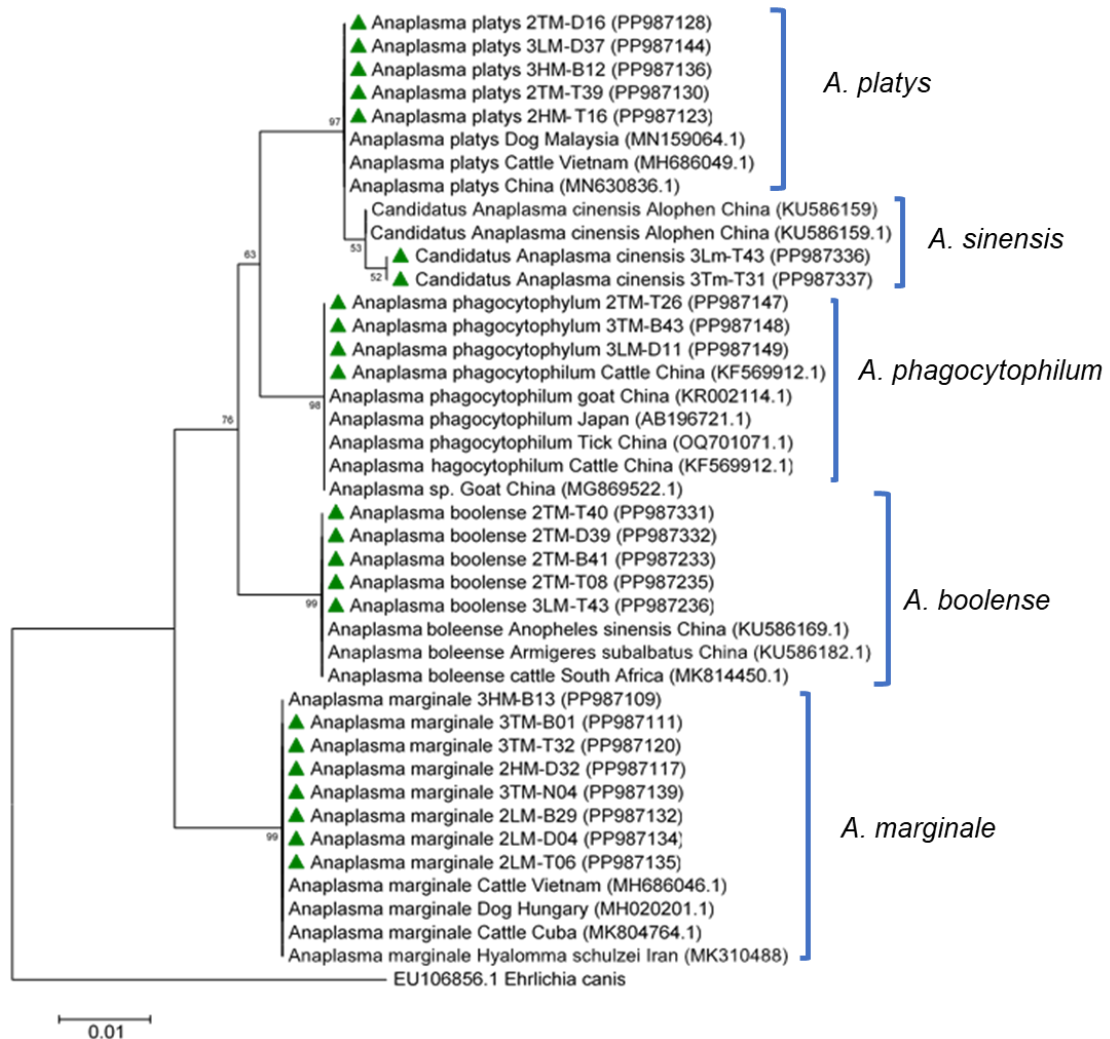
Kết quả ở bảng 3.24 cho thấy, các phân lập *T. annulata* (màu đỏ) trong nghiên cứu này có trình tự ITS2 tương đồng 100% và tương đồng < 99% với các trình tự tham chiếu của *T. annulata* phân lập từ bò - Trung Quốc (EF547928), từ bò - Thổ Nhĩ Kỳ (Turkey - AY684836).

Các phân lập *T. buffeli* trong nghiên cứu này (màu đỏ) có trình tự ITS2 tương đồng 100% và tương đồng > 99% với trình tự tham chiếu của *T. buffeli* phân lập từ bò - Mỹ (AY661527).

3.1.2.3. Kết quả xây dựng và phân tích phả hệ các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp.

a) Kết quả xây dựng và phân tích phả hệ các loài *Anaplasma* spp.

Cây phát sinh loài các loài *Anaplasma* spp. được xây dựng từ đoạn gen 16S rDNA (430 nucleotides) được thể hiện ở hình 3.12.



Hình 3.12. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Anaplasma* spp.

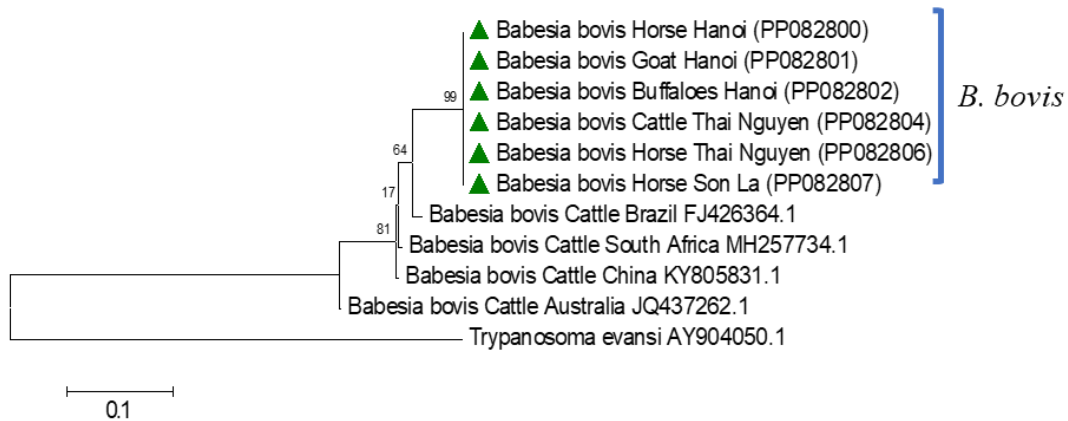
* *Ghi chú:* Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của loài *Anaplasma* spp. được xây dựng từ gen 16S rDNA (430 nucleotides) trên phần mềm MEGA 6.0, sử dụng phương pháp “Tiếp cận cực đại” (Maximum Likelihood – ML) với độ tin cậy (Bootstrap Value) 1.000 lần lặp lại (Tamura và ctv, 2013). Loài *Ehrlichia canis* EU106856.1 được dùng làm tham chiếu ngoài loài. Các chuỗi gen có đánh dấu hình tam giác là các chuỗi gen trong nghiên cứu này.

Nghiên cứu đã xác định được 5 loài *Anaplasma* spp. bao gồm: *A. marginale*, *A. platys*, *A. phagocytophilum*, *Candidatus A. booleense* và *Candidatus A. sinensis* lưu hành trên trâu, bò, dê và ngựa. Trình tự nucleotides nội loài mỗi loài *Anaplasma* spp. trong nghiên cứu này của chúng tôi giống nhau 100%. Trên cây phát sinh loài *Anaplasma* spp. (Hình 3.12) cho thấy, các chuỗi gen 16S rDNA của loài *A. marginale* trong nghiên cứu này (chuỗi gen có đánh dấu hình tam giác) và

các chuỗi gen 16S rDNA tham chiếu của các tác giả khác từ Việt Nam, Hungary, Iran và Cuba nhóm cùng nhau vào một nhánh phân loài (giá trị bootstrap 99%) và phân tách với nhóm phân loài còn lại gồm 04 loài là: *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *Candidatus A. boolense* và *Candidatus A. sinensis*. Trong đó, các chuỗi gen 16S rDNA loài *A. phagocytophilum* và các chuỗi gen tham chiếu từ Trung Quốc và Nhật Bản có quan hệ loài gần gũi với nhau trong cùng một nhánh phân loài (giá trị bootstrap 98%). Loài *Candidatus A. boolense* có quan hệ loài rất gần gũi với các loài này từ Trung Quốc và Nam Phi khi nằm cùng nhau trong nhánh phân loài với giá trị bootstrap 99%. Riêng loài *Candidatus A. sinensis* lại nhóm cùng với loài *A. platys* trên cùng một nhánh phân loài trên cây phả hệ với giá trị bootstrap 97%. Loài *A. platys* có quan hệ loài chặt chẽ với *A. platys* phân lập từ Trung Quốc, Malaysia, Việt Nam và *Candidatus A. sinensis* có quan hệ loài gần gũi với phân lập trên chuỗi từ Trung Quốc (Hình 3.12).

Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả phân tích phả hệ loài *Anaplasma* spp. từ các tác giả khác khi họ báo cáo rằng, loài *Anaplasma* spp. có sự đa dạng về kiểu gen khi phân tích gen 16S rDNA và một số gen khác. Nghiên cứu gen 16S rDNA loài *Anaplasma* spp. phân lập từ vật nuôi tại Phillippine (Galon và ctv, 2022a) cho thấy, loài *A. platys* và *Candidatus A. sinensis* cùng nhóm vào một nhóm phức hợp với nhiều nhánh nhỏ trên cây phát sinh loài. Vật nuôi nhiễm các loài *A. marginale*, *A. platys*, *A. phagocytophilum*, *Candidatus A. boolense* và *Candidatus A. sinensis* thường có biểu hiện lâm sàng như sốt không đặc hiệu, chán ăn, lười vận động, giảm sản xuất sữa, khó thở, giảm tiểu cầu, giảm bạch cầu và thiếu máu. Vật nuôi nhiễm *A. phagocytophilum* gây bệnh sốt rét bạch cầu hạt (đặc biệt là bạch cầu trung tính), giảm bạch cầu, giảm tiểu cầu. Vật nuôi nhiễm *A. platys* chủ yếu gây ra bệnh giảm tiểu cầu với triệu chứng điển hình của vật nuôi là sốt, chán ăn, sụt cân, lờ đờ, xuất huyết dưới da, niêm mạc nhợt nhạt, chảy nước mũi, viêm mắt, chảy máu cam và hạch sưng to (Atif và ctv., 2021; Karlsen và ctv., 2020). Tuy nhiên, theo quan sát của chúng tôi, vật nuôi nhiễm bệnh thường ở thể ẩn, khó phát hiện. Một số trâu, bò, dê và ngựa nhiễm bệnh có biểu hiện như sốt, bỏ ăn, chảy nước mũi, viêm mắt.

b) Kết quả xây dựng và phân tích cây phả hệ loài *Babesia* spp.

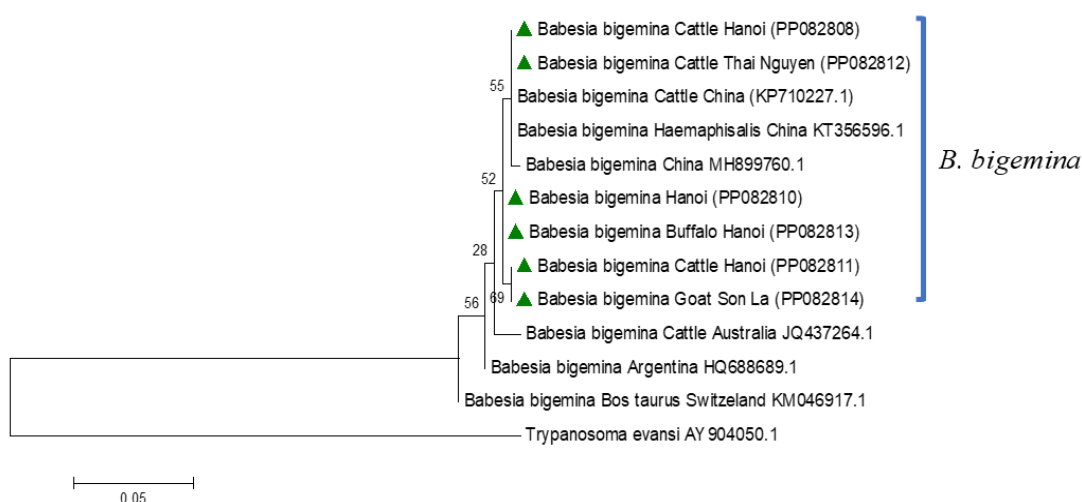


Hình 3.13. Cây phả hệ loài thể hiện mối quan hệ loài của *Babesia bovis*

**Ghi chú:* Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của loài *Babesia bovis* ở trâu, bò, dê, ngựa) tại 3 tỉnh/TP phía Bắc được xây dựng từ gen 18S rDNA (324 bp) trên phần mềm MEGA 6.0, sử dụng phương pháp “Tiếp cận cực đại” (Maximum Likelihood – ML) với độ tin cậy (Bootstrap Value) 1.000 lần lặp lại (Tamura và ctv, 2013). Loài *Trypanosoma evansi* AY904050.1 được dùng làm tham chiếu ngoại loài. Các chuỗi gen có đánh dấu hình tam giác là các chuỗi gen trong nghiên cứu này.

Các chuỗi gen của loài *B. bovis* trong nghiên cứu này của chúng tôi có trình tự gen 18S rDNA giống nhau 100%. Ở Việt Nam, *B. bovis* được báo cáo tại Huế, phân lập từ trâu và bò. Các phân lập *B. bovis* (LC004298 - LC004306) này có quan hệ loài gần gũi với các chủng *B. bovis* phân lập từ trâu và bò ở Phillippines và Sri Lanka khi phân tích gen *MSA-1*. Các phân lập *B. bovis* (LC004307 - LC004338) có quan hệ gần gũi với các chủng *B. bovis* phân lập từ trâu và bò ở Mexico, Phillippines, Israel, Úc, Mỹ, Thái Lan và Sri Lanka khi phân tích gen *MSA - 2b* (Yokoyama và ctv, 2015). Tuy nhiên, trong nghiên cứu này của chúng tôi, chuỗi gen 18S rDNA của loài *B. bovis* và *B. bigemina* từ các nước Đông Nam Á lân cận chưa có sẵn trên ngân hàng gen Genbank. Chúng tôi đã tham khảo các chuỗi gen 18S rDNA của loài *B. bovis* phân lập ở bò từ 4 nước khác nhau là Trung Quốc (China - KY805831.1), Bra-xin (Brazil - FJ426364.1), Úc (Australia - JQ437262.1) và Nam Phi (South Africa - MH257734.1). Phân tích cây phả hệ của loài *B. bovis* (Hình 3.13) cho thấy, 06 chuỗi gen 18S rDNA loài *B. bovis* phân lập từ vật nuôi tại miền Bắc, Việt Nam tạo thành một nhóm có quan hệ loài rất chặt chẽ với nhau

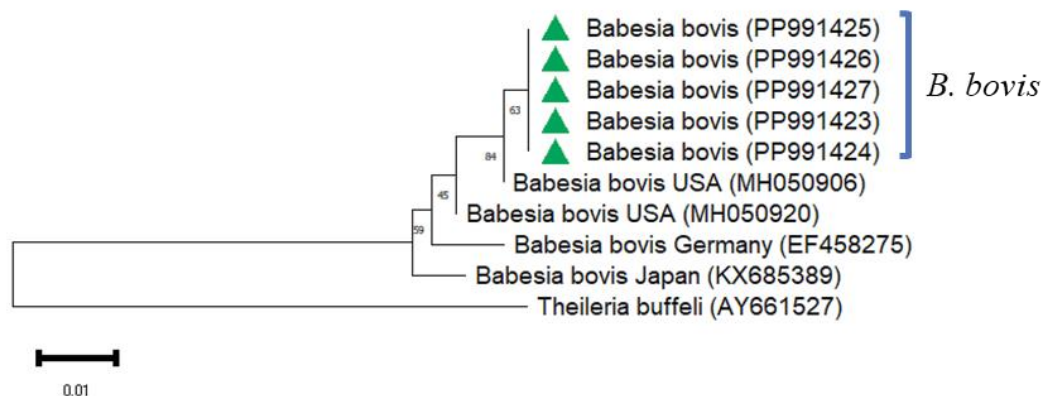
(giá trị bootstrap 99%) và tạo nhánh loài cùng với *B. bovis* phân lập ở Bra-xin, Nam Phi và Trung Quốc với giá trị bootstrap cao (81%); chủng *B. bovis* tham chiếu từ Úc tách thành một nhánh loài riêng. Loài *B. bovis* cũng được ghi nhận có các kiểu gen khác nhau, với khoảng trên 20 kiểu gen tùy thuộc vào gen kháng nguyên nào được chọn phân tích. Sự hình thành nên các kiểu gen khác nhau này trong loài được cho là do sự tương tác giữa hệ miễn dịch của vật chủ và mầm bệnh (Yokoyama và ctv, 2015).



Hình 3.14. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Babesia bigemina*

* *Ghi chú:* Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Babesia bigemina* ở trâu, bò, dê, ngựa tại 3 tỉnh/TP phía Bắc được xây dựng từ gen 18S rDNA (276 bp) trên phần mềm MEGA 6.0, sử dụng phương pháp “Tiếp cận cực đại” (Maximum Likelihood – ML) với độ tin cậy (Bootstrap Value) 1.000 lần lặp lại (Tamura và ctv, 2013). Loài *Trypanosoma evansi* AY904050.1 được dùng làm tham chiếu ngoài loài. Các chuỗi gen có đánh dấu hình tam giác là các chuỗi gen trong nghiên cứu này.

Đối với loài *B. bigemina*, 06 chuỗi gen 18S rDNA trong nghiên cứu này của chúng tôi có sự tương đồng về trình tự nucleotides trong chuỗi gen dao động từ 99,27% đến 100%. Kết quả phân tích phả hệ thể hiện ở Hình 3.14 cho thấy, 6 trình tự loài *B. bigemina* phân lập từ trâu, bò, dê, ngựa tại miền Bắc Việt Nam tạo thành ba nhóm có quan hệ loài chặt chẽ với nhau, và quan hệ loài rất gần gũi với các chủng *B. bigemina* tham chiếu từ Trung Quốc. Chúng phân lập ở miền Bắc Việt Nam này có quan hệ gần gũi với các chủng *B. bigemina* từ Úc (Australia) và Ác-hen-ti-na (Argentina), quan hệ xa hơn với chủng phân lập tại Thụy Sĩ (Switzerland).



Hình 3.15. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Babesia bovis*

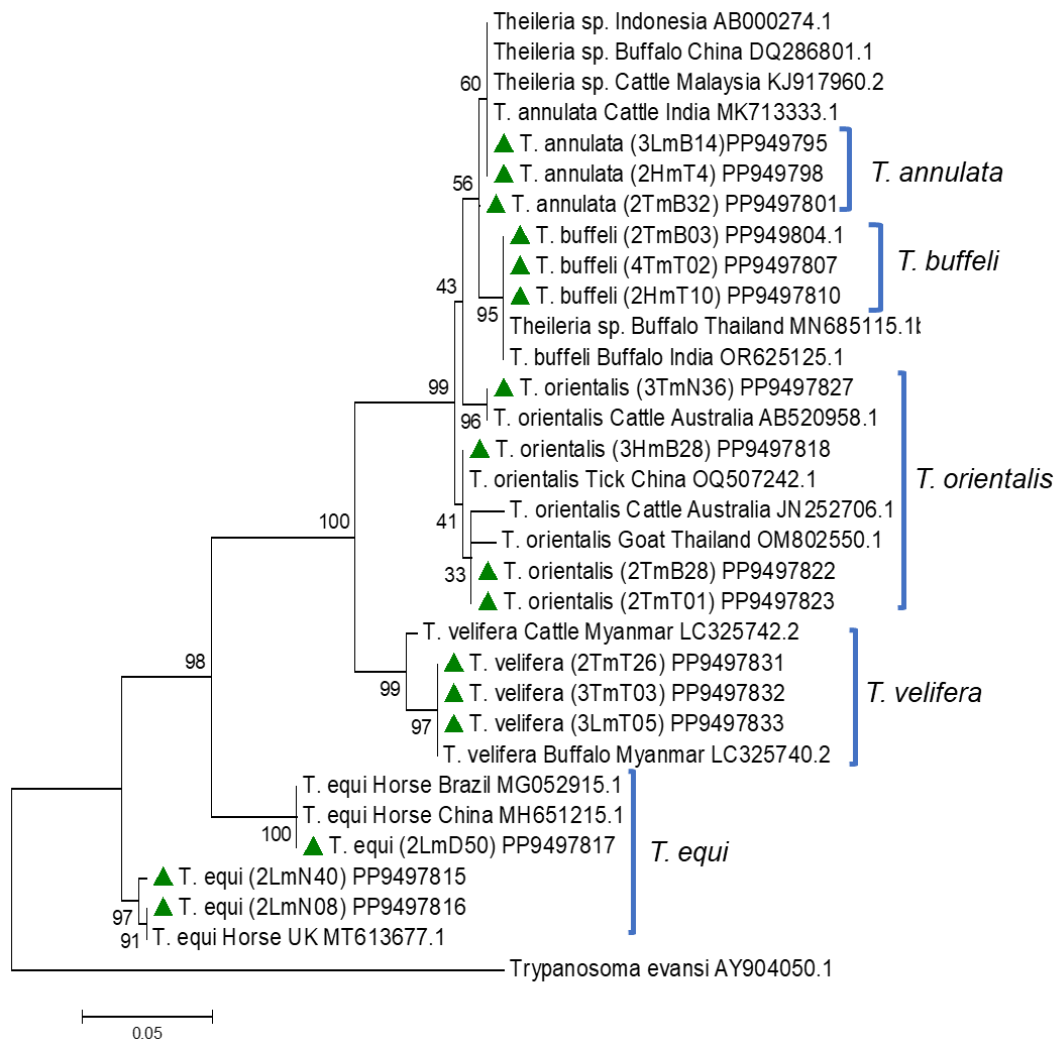
* *Ghi chú:* Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của loài *Babesia bovis* ở các loài vật chủ (trâu, bò, dê, ngựa) tại 3 tỉnh/TP phía Bắc được xây dựng từ gen ITS2 545 bp) trên phần mềm MEGA 6.0, sử dụng phương pháp “Tiếp cận cực đại” (Maximum Likelihood – ML) với độ tin cậy (Bootstrap Value) 1.000 lần lặp lại (Tamura và ctv, 2013). Loài *T. buffeli* AY661527 được dùng làm tham chiếu ngoại loài. Các chuỗi gen có đánh dấu hình tam giác là các chuỗi gen trong nghiên cứu này.

Các chuỗi gen của loài *B. bovis* trong nghiên cứu này của chúng tôi có trình tự gen ITS2 giống nhau 100%. 5 chuỗi gen ITS2 loài *B. bovis* phân lập từ vật nuôi tại miền Bắc - Việt Nam tạo thành một nhóm có quan hệ loài rất chặt chẽ với nhau (giá trị bootstrap 63%) và tạo nhánh loài cùng với chủng *B. bovis* phân lập ở Mỹ, Đức, Nhật với giá trị bootstrap cao (84%) (Hình 3.15).

Kết quả định danh, xác định khoảng cách giữa các loài và xây dựng và phân tích cây phả hệ của loài *B. bovis* và *B. bigemina* gây bệnh cho trâu, bò, dê và ngựa có biểu hiện triệu chứng như sốt cao, đi tiểu nhiều huyết sắc tố, (màu hồng, đỏ dần cuối cùng đỏ thẫm), chán ăn, sốt toàn thân, đôi khi có các dấu hiệu thần kinh và hội chứng hô hấp. Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *B. bovis* có khả năng gây bệnh cao với các triệu chứng về thần kinh do hồng cầu bị nhiễm bệnh bám vào mao mạch não nội mô và tỷ lệ chết cao hơn so với loài *B. bigemina*, nhưng loài *B. bigemina* lây lan nhanh chóng, gây ra tình trạng thiếu máu tan máu nghiêm trọng, vàng da. Bệnh tích gồm lách và gan to ra, túi mật căng phồng, thận ú nước và sẫm màu, sung huyết toàn thân, xuất huyết dưới da, phù phổi; và chất xám trong não chuyển sang màu hồng ở vật nuôi nhiễm bệnh (Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015; Sivakumar và ctv, 2013; Bock và ctv, 2004).

c) Kết quả xây dựng và phân tích cây phả hệ loài *Theileria* spp.

Cây phả hệ xác định nguồn gốc phát sinh loài các loài *Theileria* spp. (Hình 3.16) được xây dựng từ 320 nucleotides gen 18S rDNA, gồm 16 chuỗi gen 18S rDNA của 5 loài *Theileria* spp. trong nghiên cứu này (*T. annulata*: PP949795, PP949798 và PP949801; *T. buffeli*: PP949804, PP9497807 và PP9497810; *T. orientalis*: PP9497827, PP9497818, PP9497822, và PP9497823; *T. velifera*: PP9497831, PP9497832, và PP9497833; và *T. equi*: PP9497817, PP9497815, và PP9497816) và 15 chuỗi gen 18S rDNA loài *Theileria* spp. được thu nhận từ genbank (*T. annulata*: AB000274, DQ286801, KJ917960 và MK713333; *T. buffeli*: MN685115, OR625125; *T. orientalis*: AB520958, OQ507242, OM802550, và JN252706; *T. velifera*: LC325740, LC325742; và *T. equi*: LC325740, MH651215 và MG052915); và loài *Trypanosoma evansi* (AY904050) được dùng để tham chiếu ngoại loài.



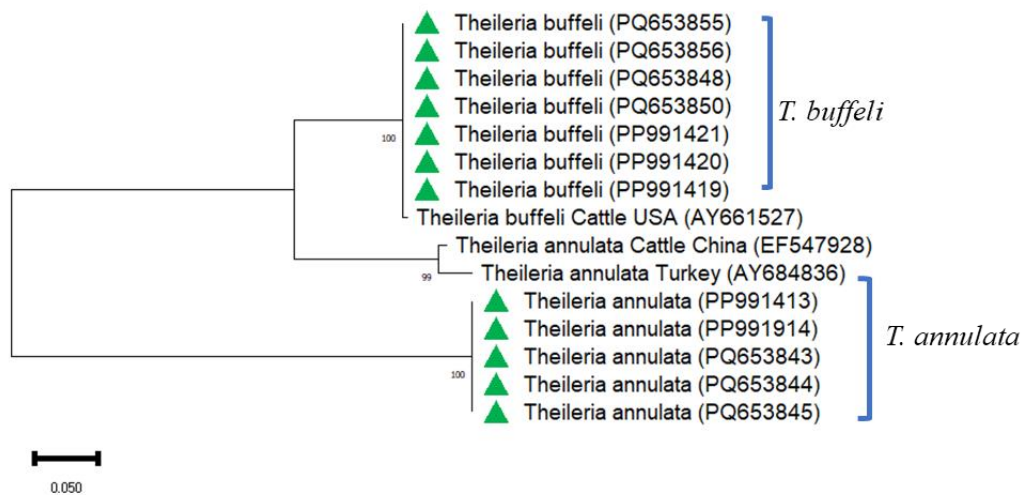
Hình 3.16. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Theileria* spp.

* *Ghi chú:* Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa được xây dựng từ gen 18S rDNA (320 nucleotides) trên phần mềm MEGA 6.0, sử dụng phương pháp “Tiếp cận cực đại” (Maximum Likelihood – ML) với độ tin cậy (Bootstrap Value) 1.000 lần lặp lại (Tamura và ctv, 2013). Loài *Trypanosoma evansi* AY904050.1 được dùng làm tham chiếu ngoại loài. Các chuỗi gen có đánh dấu hình tam giác màu xanh là các chuỗi gen trong nghiên cứu này.

Có ít nhất 15 loài trong chi *Theileria* (ngành Apicomplexa, bộ Piroplasmida) lây nhiễm trên các loài vật nuôi. Trong đó, loài *T. annulata* và *T. parva* là hai loài có độc lực cao (WOAH, 2020; Spickler, 2019). Việc phân nhóm các loài *Theileria* spp. hiện nay đôi khi vẫn còn những tranh cãi nhất định, đặc biệt với nhóm *T. orientalis*/*T. buffeli* và *T. sergenti*. Nhóm 3 loài này hiện được cho là cùng một loài gọi là: *T. orientalis* hoặc *T. buffeli*. Tuy nhiên, *T. buffeli* và *T. sergenti* vẫn tồn tại là hai loài riêng biệt. Điều này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi thể hiện trên cây phả hệ (Hình 3.16), *T. buffeli* nhóm vào thành một nhánh và chung nhánh với *T. annulata*, không chung nhánh với *T. orientalis*. *T. sinensis* có thể là một loài riêng biệt hoặc thuộc nhóm *T. buffeli*/*T. orientalis*. Nhóm *T. orientalis*/*T. buffeli* đôi khi được viết tắt là *T. orientalis* và chia thành 11 kiểu gen khác nhau (Watts và ctv, 2016). Ở Việt Nam, *T. orientalis* được báo cáo là có 7 kiểu gen khác nhau dựa trên gen MPSP (Huynh và ctv, 2021). Trong nghiên cứu này của chúng tôi, *T. orientalis* nhóm với nhau thành 3 nhóm riêng biệt trên cây phả hệ (Hình 3.16), 2 trong 3 nhóm kiểu gen này tạo nhánh với *T. orientalis* ở bò - Úc và dê - Thái Lan; nhóm kiểu gen còn lại tạo nhánh với *T. orientalis* trên ve - Trung Quốc. Như vậy, *T. orientalis* lưu hành ở Việt Nam có mối quan hệ mật thiết với *T. orientalis* ở bò - Úc, điều này có thể bắt nguồn từ bò Úc được nhập vào Việt Nam có trung chuyển qua Thái Lan và cả Trung Quốc và Việt Nam đều nhập khẩu bò hậu bị từ Úc với số lượng lớn (Lakew và ctv, 2023; Gebrekidan và ctv, 2017).

T. velifera bao gồm bốn kiểu gen là: *T. velifera*, *T. velifera A*, *T. velifera B* và *T. sp.* (một kiểu gen chưa được mô tả ở bò Ấn Độ). *T. velifera* và *T. velifera A* đã được tìm thấy ở trâu và bò, trong khi *T. velifera B* chỉ được tìm thấy ở trâu. Có sự tương đồng đáng kể giữa kiểu gen *T. sp.* và *T. velifera* (Mans và ctv, 2015). *T. velifera* trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ được tìm thấy ở trâu mà không tìm thấy trên các loài vật nuôi khác gồm: bò, dê và ngựa. Như vậy, kiểu gen *T. velifera* lưu hành ở Việt Nam có thể chỉ có một chủng duy nhất là *T. velifera B*.

T. equi phân lập trên ngựa và dê tại tỉnh Sơn La trong nghiên cứu này của chúng tôi, phân thành hai kiểu gen rõ rệt (Hình 3.16), gồm (1) kiểu gen *T. equi* C, phân lập từ dê tạo nhánh với *T. equi* ở ngựa Trung Quốc và Brazil; và (2) kiểu gen *T. equi* A, phân lập từ ngựa tạo nhánh với *T. equi* ở Anh. Các nghiên cứu trước đây về phân loài *T. equi* dựa trên gen 18S rDNA cho thấy, *T. equi* chia thành 5 nhánh khác nhau (nhánh A, B, C, D và E) thể hiện sự đa dạng di truyền của loài này (WOAH, 2025b). Nhiều kiểu gen của *T. equi* thường xuất hiện ở các vùng địa lý đặc trưng, khiến cho việc đánh giá độc lực của từng chủng *T. equi* trở nên khó khăn, với giả định chung rằng tất cả các kiểu gen (chủng) đều có độc lực và bệnh lý tương tự nhau (Bishop và ctv, 2020; Mans và ctv, 2015).



Hình 3.17. Cây phả hệ thể hiện quan hệ loài của *Theileria* spp.

* *Ghi chú:* Cây phả hệ được xây dựng từ gen ITS2 (320 nucleotides) trên phần mềm MEGA 6.0, sử dụng phương pháp “Tiếp cận cực đại” (Maximum Likelihood – ML) với độ tin cậy (Bootstrap Value) 1.000 lần lặp lại (Tamura và ctv, 2013). Các chuỗi gen có đánh dấu hình tam giác màu xanh là các chuỗi gen trong nghiên cứu này.

So sánh trình tự gen ITS2 hai loài *T. buffeli* và *T. annulata* trong nghiên cứu này của chúng tôi với trình tự gen ITS2 của các loài *Theileria* spp. tương ứng có sẵn trên Genbank cho thấy, trình tự nucleotides nội loài của loài *T. buffeli* trong nghiên cứu này của chúng tôi giống nhau 100%. Trên cây phát sinh loài *Theileria* spp. (Hình 3.17) cho thấy, các chuỗi gen ITS2 của loài *T. buffeli* trong nghiên cứu này (chuỗi gen có đánh dấu hình tam giác) và các chuỗi gen ITS2 tham chiếu của

các tác giả khác từ Trung Quốc và Thổ Nhĩ Kỳ nhóm cùng nhau vào một nhánh phân loài (giá trị bootstrap 99%). Loài *T. annulata* phân lập trong nghiên cứu này nhóm vào thành một nhánh trên cây phả hệ với giá trị bootstrap 100%.

Kết quả xác định tỷ lệ lưu hành, định danh, khoảng cách di truyền, xây dựng cây phả hệ phát sinh loài *Theileria* spp. của luận án cho thấy sự đa dạng các loài *Theileria* spp. (*T. annulata*, *T. buffeli*, *T. equi*, *T. orientalis* và *T. velifera*) đang lưu hành ở trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) gây bệnh từ dạng hoàn toàn lành tính (*T. orientalis*) đến dạng cấp tính, gây bệnh nghiêm trọng và dẫn đến chết. Trong đó, loài *T. annulata* gây ra bệnh Theileriosis nhiệt đới, đã được ghi nhận là 1 loài *Theileria* spp. có độc lực cao (WOAH, 2020; Spickler, 2019; Bishop và ctv, 2004). Tuy nhiên, bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. thường không có triệu chứng lâm sàng, hoặc gây bệnh nhẹ với các đợt bùng phát lẻ tẻ với các triệu chứng như thiếu máu và thiếu oxy do hồng cầu bị phá hủy. Vật nuôi nhiễm bệnh ở thể cấp tính có các triệu chứng như: sốt, chán ăn, ngừng nhai lại, sung hạch bạch huyết, tiêu chảy, vàng da, xuất huyết, niêm mạc nhợt, nhịp tim nhanh và thở nhanh, giảm tiểu cầu. Trong trường hợp vật nuôi bị nhiễm nặng có thể gây sốt, suy nhược cơ thể, tăng nhịp tim và nhịp hô hấp, phù nề và xuất huyết và cuối cùng có thể dẫn đến suy nội tạng và có thể sảy thai. Các bệnh tích đại thể gồm gan to, lách to, thận to, xuất huyết não, và loạn nhịp tim ở vật nuôi nhiễm bệnh nặng (Almazán và ctv., 2022; Tirosh và ctv., 2020; Bishop và ctv, 2004).

3.2. Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu và đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp

3.2.1. Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu

3.2.1.1. Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa

Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của *Anaplasma* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa được thể hiện trong bảng 3.25.

Bảng 3.25. Một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp.

Yếu tố	Phân tích đơn biến			Phân tích đa biến		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
Nhiễm ve						
Không	1			1		
Có	1,52	1,27 - 1,83	<0,0001	1,28	1,04 - 1,58	< 0,01
Tỉnh/ TP						
Hà Nội	1			1		
Thái Nguyên	0,78	0,58 - 1,05	>0,05	0,78	0,58 - 1,05	>0,05
Sơn La	1,67	0,89 - 1,38	>0,05	0,67	0,51 - 1,00	< 0,01
Mùa						
Mùa Xuân	1			1		
Mùa Hè	5,69	4,25 - 7,61	<0,0001	6,42	4,69 - 8,80	<0,0001
Mùa Thu	4,29	3,20 - 5,75	<0,0001	4,75	3,39 - 6,65	<0,0001
Mùa Đông	0,81	0,56 - 1,15	> 0,05	0,63	0,43 - 0,92	< 0,05
Loài vật nuôi						
Trâu	1			1		
Bò	1,51	1,20 - 1,92	0,001	2,33	1,69 - 3,23	<0,0001
Dê	0,47	0,35 - 0,61	<0,0001	0,69	0,36 - 1,32	>0,05
Ngựa	0,46	0,35 - 0,61	<0,0001	0,58	0,31 - 1,08	>0,05
Tính biệt						
Cái	1			1		
Đực	1,12	0,91 - 1,37	>0,05	1,1	0,87 - 1,39	>0,05
Nhóm tuổi						
< 1 tuổi	1			1		
1-5 tuổi	1,13	0,81 - 1,57	>0,05	1,02	0,68 - 1,53	>0,05
> 5 tuổi	1,36	0,93 - 1,98	>0,05	1,03	0,65 - 1,64	>0,05
Chăn thả						
Không	1					
Bán chăn thả	11,3	1,55 - 83,4	<0,05	1,62	0,71 - 3,62	>0,05
Hoàn toàn	7,71	1,07 - 55,68	<0,05	2,88	1,34 - 6,18	< 0,01
Giống						
Bản địa	1			1		
Lai	0,47	0,38 - 0,57	<0,0001	0,72	0,42 - 1,24	>0,05
Nhập	1,46	1,05 - 2,03	<0,05	0,64	0,39 - 1,04	>0,05

Bảng 3.25 cho thấy, trong phân tích đơn biến 5 yếu tố được xác định yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa là: vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể, mùa, loài vật nuôi, giống vật nuôi, hình thức chăn thả. Trong đó, vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể có nguy cơ nhiễm *Anaplasma* spp. cao gấp 1,52 lần (95%CI: 1,27 - 1,83) so với vật nuôi không nhiễm ve trên cơ thể ($p < 0,001$). Vật nuôi ở tỉnh Sơn La có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn vật nuôi ở TP. Hà Nội gấp 1,67 lần (95%CI: 0,89 - 1,38; $p > 0,05$). Vật nuôi ở tỉnh Thái Nguyên ít có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. hơn vật nuôi ở TP. Hà Nội 1,28 lần (95%CI: 0,58 - 1,05; $p > 0,05$). Vật nuôi nhiễm *Anaplasma* spp. vào mùa hè và mùa thu cao hơn mùa xuân lần lượt là 5,69 lần (95%CI: 4,25 - 7,61; $p < 0,0001$) và 4,29 lần (95%CI: 3,20 - 5,75; $p < 0,0001$). Bò có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn trâu gấp 1,51 lần (95%CI: 1,20 - 1,92; $p < 0,0001$). Dê và ngựa ít có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. hơn trâu tương ứng 2,13 lần (95%CI: 0,35 - 0,61; $p < 0,0001$) và 2,17 lần (95%CI: 0,35 - 0,61; $p < 0,0001$). Sự sai khác này mang ý nghĩa thống kê. Vật nuôi có tính biệt đực có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn 1,12 lần (95%CI: 0,91 - 1,37; $p > 0,05$) so với vật nuôi có tính biệt cái. Vật nuôi từ 1 - 5 tuổi và > 5 tuổi có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn 1,13 lần (95%CI: 0,81 - 1,57; $p > 0,05$) và 1,36 lần (95%CI: 0,93 - 1,98; $p > 0,05$). Vật nuôi chăn thả hoàn toàn và bán chăn thả có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn vật nuôi được nuôi nhốt hoàn toàn lần lượt gấp 7,71 lần (95%CI: 1,07 - 55,68; $p < 0,05$) và 11,3 lần (95%CI: 1,55 - 83,4; $p < 0,01$). Giống vật nuôi (nhập) có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn giống vật nuôi bản địa gấp 1,46 lần (95%CI: 1,05 - 2,03; $p < 0,005$) và giống vật nuôi (lai) ít có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. hơn giống vật nuôi bản địa 2,17 lần (95%CI: 0,38 - 0,57; $p < 0,0001$).

Tiếp tục phân tích hồi quy logit đa biến từ 8 biến độc lập của bảng 3.25 theo từng nhóm để xác định các yếu tố nguy cơ chính. Kết quả được trình bày ở bảng 3.25 cho thấy, có 03 yếu tố nguy cơ với $p < 0,005$ gồm vật nuôi nhiễm ve, mùa, loài vật nuôi. Trong đó, vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể có nguy cơ nhiễm

Anaplasma spp. cao gấp 1,28 lần (95%CI:1,04 - 1,58; $p < 0,05$) so với vật nuôi không nhiễm ve trên cơ thể. Sự sai khác này mang ý nghĩa thống kê. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của tác giả (Nguyễn Thị Hồng Chiên, 2021). Tác giả cho biết, bò nhiễm ve làm tăng nguy cơ nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn 16,79 lần so với bò không nhiễm ve, sự khác nhau này là do khác nhau về loài vật nuôi và địa điểm nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện nghiên cứu trên 04 loài vật nuôi (trâu, bò, dê và ngựa) và tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) đại diện cho 3 vùng địa lý (tiểu khí hậu) đặc trưng của miền Bắc nước ta. Nghiên cứu của tác giả (Nguyễn Thị Hồng Chiên, 2021) thực hiện trên 1 loài vật nuôi (bò) và nghiên cứu tại huyện Ba Vì, TP. Hà Nội.

Vật nuôi ở 2 tỉnh Sơn La và Thái Nguyên ít có nguy cơ nhiễm *Anaplasma* spp. hơn vật nuôi ở TP Hà Nội lần lượt là: 1,28 lần (95%CI: 0,58 - 1,05; $p > 0,05$) và 1,49 lần (95%CI: 0,51 - 1,00; $p > 0,05$). Vật nuôi nhiễm *Anaplasma* spp. vào mùa hè và mùa thu cao hơn mùa xuân lần lượt là: 6,42 lần (95%CI: 4,69 - 8,80; $p < 0,0001$) và 4,75 lần (95%CI: 3,39 - 6,65; $p < 0,0001$). Bò có nguy cơ nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn trâu gấp 2,33 lần (95%CI: 1,69 - 3,23; $p < 0,0001$). Sự sai khác này mang ý nghĩa thống kê ($p < 0,005$) do bò được ghi nhận là loài vật nuôi cảm nhiễm nhất với bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. (Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015).

Dê và ngựa ít có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. hơn trâu là 1,45 lần (95%CI: 0,36 - 1,32; $p > 0,05$) và 1,72 lần (95%CI: 0,31 - 1,08; $p > 0,05$). Vật nuôi có tính biệt đực có nguy cơ bị nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn 1,1 lần (95%CI: 0,87 - 1,39; $p > 0,05$) so với vật nuôi có tính biệt cái. Vật nuôi từ 1-5 tuổi và > 5 tuổi có nguy cơ nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn vật nuôi < 1 tuổi lần lượt 1,02 lần (95%CI: 0,68 - 1,53; $p > 0,05$) và 1,03 lần (95%CI: 0,65 - 1,64; $p > 0,05$). Vật nuôi chăn thả hoàn toàn và bán chăn thả có nguy cơ nhiễm *Anaplasma* spp. cao hơn vật nuôi được nuôi nhốt hoàn toàn lần lượt gấp 2,88 lần (95%CI: 1,34 - 6,18; $p > 0,05$) và 1,62 lần (95%CI: 0,71 - 3,62; $p > 0,05$). Giống vật nuôi (nhập và lai) ít có nguy cơ nhiễm *Anaplasma* spp. hơn giống vật nuôi bản địa 1,39 lần (95%CI: 0,42 - 1,24;

$p > 0,05$) và 1,56 lần (95%CI: 0,39 - 1,04; $p > 0,05$). Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Qua kết quả phân tích đa biến cho thấy, yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP được xác định là: vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể, mùa, loài vật nuôi. Các yếu tố tỉnh/TP, tính biệt, tuổi, hình thức chăn thả, giống vật nuôi không ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp.

Các yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa là khác nhau tùy theo từng khu vực, vị trí địa lý, độ tuổi của vật chủ, véc tơ truyền bệnh (ve), mùa (Zeb và ctv, 2020; Farooqi và ctv, 2018).

Kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với các nhận định của tác giả trên khi xác định mùa, loài vật nuôi, vật nuôi nhiễm ve là các yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp.

3.2.1.2. Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài Babesia spp. ở trâu, bò, dê và ngựa

Bảng 3.26. Một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp.

Yếu tố	Phân tích đơn biến			Phân tích đa biến		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
Nhiễm ve						
Không	1			1		
Có	1,52	1,11 - 2,08	>0,05	1,12	0,79 - 1,60	>0,05
Tỉnh/ TP						
Hà Nội	1			1		
Thái Nguyên	1,07	0,75 - 1,51	>0,05	0,7	0,40 - 1,21	>0,05
Sơn La	0,52	0,34 - 0,78	> 0,01	1,37	0,87 - 2,17	>0,05
Mùa						
Mùa Xuân	1			1		
Mùa Hè	4,55	2,68 - 7,72	<0,0001	4,57	2,61 - 7,99	<0,001
Mùa Thu	4,13	2,43 - 7,04	<0,0001	2,66	1,42 - 5,00	<0,01
Mùa Đông	0,77	0,38 - 1,57	>0,05	0,75	0,36 - 1,57	>0,05
Loài vật nuôi						
Trâu	1			1		
Bò	4,15	2,63 - 6,52	<0,0001	2,46	1,36 - 4,45	> 0,01
Dê	0,27	0,12 - 0,63	<0,01	0,11	0,32 - 0,34	<0,001
Ngựa	1,87	1,12 - 3,11	<0,01	0,61	0,25 - 1,53	>0,05
Tính biệt						
Cái	1			1		
Đực	1,03	0,73 - 1,45	>0,05	1,03	0,71 - 1,52	>0,05
Nhóm tuổi						
< 1 tuổi	1			1		
1-5 tuổi	1,31	0,69 - 2,47	>0,05	0,84	0,40 - 1,76	>0,05
> 5 tuổi	2,3	1,17 - 4,56	>0,01	1,21	0,55 - 2,69	>0,05
Chăn thả						
Không	1			1		
Bán chăn thả	11,3	1,55 - 83,4	>0,01	2,28	0,28 - 18,44	>0,05
Hoàn toàn	7,71	1,07 - 55,68	<0,05	3,48	0,43 - 27,78	>0,05
Giống						
Bản địa	1			1		
Lai	1,03			3,17	1,51 - 6,69	>0,01
Nhập	7,13	4,65 - 10,96	<0,0001	4,55	2,22 - 9,32	<0,001

Bảng 3.26 cho thấy, trong 8 yếu tố ở phân tích đơn biến các yếu tố gồm: mùa, loài vật nuôi, hình thức chăn thả và giống vật nuôi được xác định là yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. Trong đó, yếu tố vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao gấp 1,52 lần, so với vật nuôi không có ve trên cơ thể tại thời điểm lấy mẫu. Vật nuôi ở tỉnh Sơn La ít có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. hơn vật nuôi ở TP. Hà Nội 1,92 lần ($p > 0,01$) và vật nuôi ở tỉnh Thái Nguyên có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao hơn vật nuôi ở TP. Hà Nội 1,07 lần ($p > 0,05$). Vật nuôi có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. vào mùa hè và mùa thu ở vật nuôi cao hơn vào mùa xuân lần lượt là 4,55 lần ($p < 0,0001$) và 4,13 lần ($p < 0,0001$). Bò và ngựa có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao hơn trâu lần lượt là 4,15 lần ($p < 0,0001$) và 1,87 lần ($p < 0,005$). Dê ít có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. hơn trâu 3,7 lần ($p < 0,005$). Giống vật nuôi (nhập khẩu) có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao hơn giống vật nuôi bản địa gấp 7,13 lần ($p < 0,0001$).

Kết quả ở phân tích đa biến (bảng 3.25) cho thấy, yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. là mùa, loài vật nuôi và giống vật nuôi. Trong đó, yếu tố vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao gấp 1,12 lần (95%CI: 0,79 - 1,60), so với vật nuôi không có ve trên cơ thể tại thời điểm lấy mẫu. Vật nuôi ở tỉnh Sơn La có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao hơn vật nuôi ở TP. Hà Nội 1,37 lần (95%CI: 0,87 - 2,17; $p > 0,05$) và vật nuôi ở tỉnh Thái Nguyên ít có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao hơn vật nuôi ở TP. Hà Nội 1,43 lần (95%CI: 0,40 - 1,21; $p > 0,05$). Vật nuôi có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. vào mùa hè và mùa thu ở vật nuôi cao hơn vào mùa xuân lần lượt là 4,57 lần (95%CI: 2,61 - 7,99; $p < 0,001$) và 2,66 lần (95%CI: 1,42 - 5,00; $p < 0,005$). Bò có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao hơn trâu 2,46 lần (95%CI: 1,36 - 4,45; $p < 0,005$). Sự sai khác này mang ý nghĩa thống kê do bò được ghi nhận là loài vật nuôi cảm nhiễm nhất với bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. (Phạm Sỹ Lăng và ctv, 2015); dê và ngựa ít có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. hơn trâu 9,09 lần (95%CI: 1,36 - 4,45; $p < 0,001$) và 1,64 lần (95%CI: 1,25 - 1,57; $p > 0,05$). Vật nuôi có tính biệt đực có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao hơn 1,03 lần (95%CI: 0,73 -

1,45; $p > 0,05$) so với vật nuôi có tính biệt cái. Vật nuôi có nhóm tuổi từ 1-5 tuổi ít có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. hơn 1,19 lần (95%CI: 0,40 - 1,76; $p > 0,05$) và nhóm >5 tuổi có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao hơn 1,21 lần (95%CI: 0,55 - 2,69; $p > 0,05$). Vật nuôi ở hình thức chăn thả bán chăn thả và hoàn toàn có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao hơn vật nuôi được nuôi nhốt hoàn toàn lần lượt gấp 2,28 lần (95%CI: 0,28 - 18,44; $p > 0,05$) và 3,48 lần (95%CI: 0,43 - 27,78; $p > 0,05$). Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Giống vật nuôi (lai và nhập) có nguy cơ nhiễm *Babesia* spp. cao hơn giống vật nuôi bản địa gấp 3,17 lần (95%CI: 1,51 - 6,69; $p < 0,005$) và 4,55 lần (95%CI: 2,22 - 9,32; $p < 0,001$). Như vậy, các yếu tố gồm: mùa, loài vật nuôi và giống vật nuôi là các yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. trên trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP thực hiện nghiên cứu.

Ở một số nước Đông Nam Á như Myanmar, Malaysia và Indonesia, các tác giả đã xác định yếu tố giống vật nuôi, vật nuôi nhiễm ve/không nhiễm ve, hình thức chăn thả đã được xác định là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm của loài *B. bovis* ở Myanmar, loài *B. bigemina* ở Malaysia; loài *B. bovis* ở Indonesia (Ola và ctv, 2021; Guswanto và ctv, 2017; Bawm và ctv, 2016).

Ở Việt Nam, các tác giả Nguyễn Hữu Hưng và ctv (2014); Nguyễn Đức Tân và ctv (2004) cũng ghi nhận các giống bò ngoại, bò lai có tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường máu cao hơn giống bò nội. Do khả năng thích nghi cũng như sức chống chịu bò lai không tốt bằng giống bò nội tại địa phương. Còn bò nội do quen với điều kiện cũng như có sự thích nghi qua quá trình chọn lọc nhiều thế hệ nên bò nội ít bị ảnh hưởng của các tác nhân gây bệnh.

Kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với các nhận định của các tác giả trên (Ola và ctv, 2021; Guswanto và ctv, 2017; Bawm và ctv, 2016; Nguyễn Hữu Hưng và ctv, 2014; Nguyễn Đức Tân và ctv, 2004).

3.1.2.3. Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa

Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa được thể hiện ở bảng 3.27.

Bảng 3.27. Một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp.

Yếu tố	Phân tích đơn biến			Phân tích đa biến		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
Nhiễm ve						
Không	1			1		
Có	1,36	1,09 - 1,70	>0,05	1,22	0,96 - 1,56	>0,05
Tỉnh/ TP						
Hà Nội	1			1		
Thái Nguyên	1,70	1,30 - 2,22	<0,001	1,07	0,73 - 1,56	>0,05
Sơn La	0,99	0,74 - 1,32	>0,05	1,86	1,33 - 2,62	<0,001
Mùa						
Mùa Xuân	1			1		
Mùa Hè	3,02	2,19 - 4,16	<0,0001	2,86	2,05 - 4,00	<0,001
Mùa Thu	2,08	1,49 - 2,90	<0,0001	1,56	1,07 - 2,29	<0,01
Mùa Đông	0,55	0,36 - 0,85	>0,05	0,53	0,33 - 0,83	0,005
Loài vật nuôi						
Trâu	1			1		
Bò	1,23	0,92 - 1,64	>0,05	0,85	0,57 - 1,26	>0,05
Đê	0,42	0,29 - 0,61	<0,0001	0,17	0,07 - 0,36	<0,001
Ngựa	1,05	0,77 - 1,43	>0,05	0,40	0,20 - 0,81	<0,01
Tính biệt						
Cái	1			1		
Đực	0,85	0,67 - 1,09	>0,05	0,92	0,70 - 1,19	>0,05
Nhóm tuổi						
< 1 tuổi	1			1		
1-5 tuổi	0,88	0,59 - 1,31	>0,05	0,63	0,40 - 0,90	<0,05
> 5 tuổi	1,55	1,00 - 2,40	<0,05	0,81	0,49 - 1,37	>0,05
Chăn thả						
Không	1			1		
Bán chăn thả	4,45	1,59 - 12,51	<0,01	2,39	0,77 - 7,41	>0,05
Hoàn toàn	4,79	1,75 - 13,12	<0,01	3,47	1,18 - 10,16	<0,05
Giống						
Bản địa	1			1		
Lai	0,89			2,70	1,46 - 4,97	0,001
Nhập	2,39	1,65 - 3,46	<0,0001	3,32	1,92 - 5,75	<0,001

Bảng 3.27 cho thấy, kết quả phân tích đơn biến xác định yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. là tỉnh/TP, mùa, loài vật nuôi, hình thức chăn thả (hoàn toàn) và giống vật nuôi (nhập).

Kết quả phân tích đa biến (bảng 3.27) cho thấy, vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể có nguy cơ nhiễm *Theileria* spp. cao gấp 1,22 lần (95%CI: 0,96 - 1,56; $p > 0,05$) so với vật nuôi không có ve trên cơ thể tại thời điểm lấy mẫu. Vật nuôi tại tỉnh Sơn La (có độ cao >500 m so với mực nước biển) và tỉnh Thái Nguyên (có độ 100 - 500 m so với mực nước biển) có nguy cơ nhiễm *Theileria* spp. cao hơn vật nuôi tại TP. Hà Nội (có độ cao < 100 m so với mực nước biển) gấp 1,86 lần (95%CI: 1,33 - 2,63; $p < 0,001$) và 1,07 lần (95%CI: 0,73 - 1,56; $p < 0,05$). Vật nuôi có nguy cơ nhiễm *Theileria* spp. vào mùa hè và mùa thu cao hơn vào mùa xuân lần lượt là 2,86 lần (95%CI: 2,05 - 4,00; $p < 0,001$) và 1,56 lần (95%CI: 1,07 - 2,29; $p < 0,05$). Dê ít có nguy cơ bị nhiễm *Theileria* spp. hơn trâu 5,88 lần ($p < 0,0001$).

Vật nuôi có tính biệt đực ít có nguy cơ nhiễm *Theileria* spp. hơn 1,1 lần (95%CI: 0,70 - 1,19; $p > 0,05$) so với vật nuôi có tính biệt cái. Vật nuôi có nhóm tuổi từ 1 - 5 tuổi và nhóm >5 tuổi ít có nguy cơ nhiễm *Theileria* spp. hơn 1,59 lần (95%CI: 0,40 - 0,90; $p < 0,05$) và 1,23 lần (95%CI: 0,49 - 1,37; $p > 0,05$). Vật nuôi ở hình thức bán chăn thả và chăn thả hoàn toàn có nguy cơ nhiễm *Theileria* spp. cao hơn vật nuôi được nuôi nhốt hoàn toàn lần lượt gấp 2,39 lần (95%CI: 0,77 - 7,41; $p > 0,05$) và 3,47 lần (95%CI: 1,18 - 10,16; $p < 0,05$). Theo chúng tôi, khi nuôi theo phương thức chăn thả hoàn toàn thời gian chăn thả trâu, bò, dê và ngựa kéo dài từ sáng sớm tới chiều muộn nên thức ăn hoàn toàn là cỏ ngoài tự nhiên, nguy cơ tiếp xúc nhiều hơn với véc tơ truyền bệnh nên dễ nhiễm *Theileria* spp. hơn so với vật nuôi nuôi theo phương thức không chăn thả. Yếu tố giống vật nuôi (nhập và lai) có nguy cơ nhiễm *Theileria* spp. cao gấp 3,22 lần (95%CI: 1,92-5,75; $p < 0,001$) và 2,70 lần (95%CI: 1,46 - 4,97; $p = 0,001$) so với giống vật nuôi (bản địa), sự sai khác này mang ý nghĩa thống kê.

Như vậy, các yếu tố nguy cơ gồm: tỉnh/TP, mùa, loài vật nuôi, loại hình chăn thả, giống vật nuôi là những yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm ký

sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. Trong khi các yếu tố vật nuôi nhiễm ve, tính biệt và tuổi không ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP thực hiện nghiên cứu.

Theo (Atif và ctv, 2023; Niaz và ctv, 2021; Farooqi và ctv, 2017) các yếu tố gồm: loài vật nuôi, tính biệt, độ tuổi và hình thức chăn thả là những yếu tố nguy cơ liên quan đến dịch tễ bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. trên vật nuôi ở Pakistan ($p < 0,005$).

Yếu tố mùa đã được ghi nhận là một trong những yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. trên vật nuôi ở nhiều quốc gia châu Á, bao gồm: Ấn Độ, Pakistan và Bangladesh (Zeb và ctv, 2022). Ngoài ra, các yếu tố nguy cơ bao gồm: vị trí địa lý, loài vật, giống vật nuôi, tính biệt, tuổi, hệ thống quản lý, vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể, vật nuôi có tiền sử nhiễm ve hay không, kiểm soát ve, các loại thuốc diệt ve được sử dụng và khoảng thời gian sử dụng thuốc diệt ve được xác định là các yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. ở vật nuôi tại một số nước như: Pakistan, Thổ Nhĩ Kỳ, Hy Lạp (Atif và ctv, 2023; Farooqi và ctv, 2017; Balkaya và ctv, 2010).

Phạm Sỹ Lăng và Lê Văn Tạo (2002) cho biết, bệnh ký sinh trùng đường máu ở bò tại Việt Nam thường tồn tại ở thể ẩn, có khi bùng phát nhanh thành dịch, đặc biệt với các đàn bò nhập ngoại thì khả năng bùng phát bệnh ký sinh trùng đường máu tăng cao do đàn bò nhập ngoại chưa thích nghi kịp thời với khí hậu và chưa có miễn dịch với bệnh. Do đó giống vật nuôi (nhập và lai) là yếu tố nguy cơ liên quan đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. trên vật nuôi. Kết quả nghiên cứu của luận án tương đồng với các kết quả nghiên cứu của các tác giả trên.

* **Kết luận chung:** Kết quả xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê và ngựa thể hiện ở bảng 3.25; 3.26; 3.27 cho thấy,

yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê và ngựa tại ba tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) là: vật nuôi nhiễm ve, mùa, loài vật nuôi, giống vật nuôi, vị trí địa lý (tỉnh/TP) và hình thức chăn thả. Trong đó, 02 yếu tố là: mùa, loài vật nuôi là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa. Vật nuôi nhiễm ve là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. Giống vật nuôi (lai và nhập) là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở vật nuôi. Vị trí địa lý (tỉnh/TP), hình thức chăn thả (hoàn toàn) là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. ở vật nuôi tại 3 tỉnh/TP thực hiện nghiên cứu.

3.2.2. Đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp cho 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La)

* Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên động vật nhai lại và ngựa tại ba tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) có dịch tễ học phức tạp.

Kết quả nghiên cứu của luận án cho thấy, bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên hàng loạt vật chủ (trâu, bò, dê và ngựa). Các yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường máu là: vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể, mùa, loài vật nuôi, giống vật nuôi và hình thức chăn thả hoàn toàn.

Trâu, bò, dê và ngựa nhiễm ve trên cơ thể là yếu tố quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến tỷ lệ lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp. do ve là véc tơ truyền bệnh chính của bệnh ký sinh trùng đường máu (Hornok và ctv, 2024; Spickler, 2007). Kết quả của luận án cho thấy, vật nuôi nhiễm ve trên cơ thể làm tăng nguy cơ nhiễm *Anaplasma* spp. 1,28 lần so với vật nuôi không nhiễm ve tại thời điểm nghiên cứu.

Việt Nam được báo cáo là có số lượng loài ve *Ixodes* spp. cao nhất (59 loài). Hornok và ctv (2024) cho biết, nguy cơ tiềm ẩn về bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên ve ở ngoài môi trường cao. Trong những năm gần đây, các loài ve mới tìm được và định danh thường xuyên hơn như loài ve *R. annulatus* được báo cáo trên bò tại Ba Vì, Hà Nội (Nguyễn Thị Hồng Chiên, 2021); 03 loài ve: *R. linnaei*, *A. integrum* và *H. cornigera* trên trâu, bò và chó tại miền Bắc - Việt Nam (Hornok và ctv, 2024) và 02 loài ve *Haemaphysaloides shimoga*, *H. bisponosa* ở bò tại tỉnh Ninh Bình và Thái Nguyên (Marie - Claude và ctv, 2024) cho thấy rõ sự đa dạng sinh học của ve ngày càng tăng lên. Ngoài ra, ruồi và muỗi đã được ghi nhận là véc tơ truyền bệnh *Anaplasma* spp. và *Theileria* spp. trên các loài vật nuôi. Sự lây truyền này mang tính chất cơ học (Battilani và ctv, 2017; Atif, 2016; Guo và ctv, 2016).

Các loài ve và côn trùng phát triển và hoàn thiện vòng đời phụ thuộc vào nhiệt độ và độ ẩm. Các kết quả nghiên cứu trên cho thấy, sự lưu hành của loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa cũng bị ảnh hưởng nghiêm trọng bởi yếu tố mùa. Mùa phát triển của ve ảnh hưởng đến mùa lây lan của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên vật nuôi. Điều này hoàn toàn phù hợp với tập tính sinh trưởng, phát triển, hút máu và truyền bệnh của các loài véc tơ truyền bệnh. Do đó, việc hiểu được vòng đời, chu kỳ sinh học, đặc điểm sinh học của chúng là rất quan trọng đối với các biện pháp phòng và kiểm soát véc tơ truyền bệnh và các bệnh do véc tơ truyền bệnh gây ra cho vật nuôi.

Theo ghi nhận kết quả nghiên cứu về các yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm *Babesia* spp. thì mật độ các loài ve truyền *Babesia* spp. càng giảm khi vị trí địa lý càng lên cao hơn so với mực nước biển (Michel và ctv, 2014). Trong khi đó, TP. Hà Nội có địa hình tương đối bằng phẳng (độ cao < 100 m so với mực nước biển); tỉnh Thái Nguyên có độ cao trung bình so với mực nước biển (< 500 m); và tỉnh Sơn La có độ cao so với mực nước biển hơn hẳn so với các vùng địa lý khác tại miền Bắc (> 500 m) do đó, ở tỉnh Thái Nguyên và TP. Hà Nội có những điều kiện

tự nhiên cho ve *R. (B) microplus* là véc tơ truyền bệnh quan trọng truyền mầm bệnh *Babesia* spp. thuận lợi phát triển và hoàn thành chu kỳ vòng đời sớm hơn.

Kết quả định danh các loài ký sinh trùng đường máu từ nghiên cứu này cho thấy, 3/5 loài *Anaplasma* spp. lần đầu tiên được định danh là *A. phagocytophilum*, *A. sinensis* và *A. bovine* báo cáo lưu hành trên vật nuôi ở miền Bắc - Việt Nam; đặc biệt loài *A. phagocytophilum* là một trong những loài *Anaplasma* spp. truyền lây sang người nguy hiểm nhất. Loài *B. bovis* lần đầu được định danh lưu hành trên dê ở miền Bắc - Việt Nam. Trong đó, 3/5 loài *Theileria* spp. lần đầu tiên được định danh là *T. buffeli*, *T. velifera* và *T. equi* và báo cáo lưu hành trên vật nuôi tại miền Bắc - Việt Nam.

* Hướng tới một chương trình kiểm soát tổng hợp bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La)

Để ngăn ngừa và kiểm soát các bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên, Sơn La) cần xây dựng một chương trình kiểm soát tổng hợp sử dụng phương pháp tiếp cận một sức khỏe sinh thái/một sức khỏe liên quan đến các bên khác nhau (y tế công cộng, bác sĩ, bác sĩ thú y, các nhà quản lý).

a) Nghiên cứu sâu hơn về dịch tễ học của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp.

Kết quả nghiên cứu của luận án cho thấy, dịch tễ bệnh ký sinh trùng đường máu ngày càng phức tạp và đa dạng ở cả 3 tác nhân gây bệnh, vật chủ và véc tơ truyền bệnh. Vì vậy, chúng tôi đề xuất cần nghiên cứu sâu hơn các đặc điểm dịch tễ học khác với quy mô lớn hơn là điều cần thiết để xác định các loài ký sinh trùng đường máu lưu hành và các loài véc tơ truyền bệnh; các yếu tố nguy cơ khác như: phương pháp điều trị bằng thuốc diệt ve, các loại thuốc diệt ve, véc tơ truyền bệnh khác như ruồi, muỗi, đặc điểm bệnh lý - lâm sàng, phương pháp chẩn đoán, điều trị bệnh ở khu vực địa lý rộng hơn như các tỉnh khác, các vùng miền khác như miền Trung và Nam, Việt Nam.

b) Kiểm soát và tiêu diệt ve

Dịch tễ học của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên trâu, bò, dê và ngựa phức tạp nên chúng tôi đề xuất Chính phủ, các cơ quan ban ngành, các bác sĩ thú y cơ sở nên hướng dẫn và tập huấn cho người chăn nuôi sử dụng kết hợp hoặc luân phiên các thuốc diệt ve có thành phần như: Permethrin, Deltamethrin, Alphacypermethrin, Amitraz, Cypermethrin, Thiamethoxam, Alpha - cypermethrin (pyrethroid), Glutaraldehyde,... để diệt, kiểm soát ve, ruồi, mòng và hạn chế sự kháng thuốc của ve. Ngoài ra, có thể dùng các bẫy để bẫy ruồi, mòng ở những khu vực có nhiều ruồi, mòng; đốt cỏ, hoặc phát quang bụi rậm tạo điều kiện cho ánh sáng mặt trời diệt trứng ve và chống ấu trùng ve xâm nhập vào vật nuôi và nên sử dụng luân canh đồng cỏ chăn thả vật nuôi. Để đạt hiệu quả tốt hơn, cần tiến hành kết hợp đồng thời nhiều biện pháp trên phạm vi rộng.

* Trước mùa dịch tễ của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. (tháng 4, trước mùa hè)

Người chăn nuôi nên phun thuốc diệt ve như: Hantox - 200, Five - Permethrin, Five - Tox... để diệt và kiểm soát ve trước mùa hè và mùa thu ở chuồng nuôi, xung quanh chuồng nuôi, khu vực chăn thả. Phun thuốc sát trùng như Navet-Iodine, Decoxid 200, Benkocid, Vikon S... xung quanh chuồng nuôi, khu chăn nuôi bằng các dung dịch sát trùng theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Phát quang bụi rậm, khơi thông và vệ sinh cống rãnh trong khu chăn nuôi. Thực hiện vệ sinh chuồng trại chăn nuôi, thu gom chất thải hàng ngày để giảm thiểu sự phát triển, phá vỡ vòng đời của các loài véc tơ truyền bệnh. Sử dụng miếng keo dính ruồi, mòng, muỗi hoặc đốt hương xua côn trùng để kiểm soát véc tơ truyền bệnh.

c) Phòng bệnh bằng thuốc điều trị bệnh ký sinh trùng đường máu

* Trước mùa dịch tễ của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. (tháng 4, trước mùa hè)

Sử dụng thuốc điều trị ký sinh trùng đường máu cho vật nuôi để phòng bệnh như Azidin (Hanvet), Berenil (Pháp)... với liều bằng nửa liều điều trị, tiêm hai lần,

cách nhau 15 ngày (Nguyễn Văn Thọ và ctv, 2019). Đồng thời định kỳ kiểm tra, phát hiện những vật nuôi mắc bệnh để dùng thuốc điều trị (với liều điều trị), bởi vì những con vật đã nhiễm đơn bào lúc này chính là nguồn bệnh, từ chúng mà vòng tuần hoàn bệnh được khép kín (gồm: nguồn bệnh, nhân tố trung gian truyền bệnh và vật nuôi cảm thụ).

* Trong mùa dịch tễ bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* và *Theileria spp.* (tháng 5 đến tháng 10)

Hạn chế chăn thả trâu, bò, dê và ngựa ở những bãi chăn có nhiều ve hoặc nuôi nhốt hoàn toàn. Luân phiên chăn thả kết hợp với nuôi nhốt ở các vùng, bãi chăn thả khác nhau để giảm thiểu việc vật nuôi tiếp xúc với nguồn véc tơ truyền bệnh (ve, ruồi, mòng). Ngâm tắm hoặc xịt trực tiếp lên vật nuôi bằng thuốc diệt ve. Chủ chăn nuôi nên kiểm tra vật nuôi để tìm ve bám vào, bắt và diệt ve trực tiếp từ thân con vật làm giảm thiểu số lượng véc tơ truyền bệnh trên cơ thể vật nuôi.

Tuy nhiên, người chăn nuôi chỉ sử dụng thuốc điều trị ký sinh trùng đường máu ở những khu vực có nguy cơ cao hoặc đang có dịch lưu hành theo hướng dẫn của bác sĩ thú y, nhằm tránh hiện tượng lạm dụng thuốc, kháng thuốc và đảm bảo hiệu quả lâu dài. Đồng thời, người chăn nuôi cần cách ly vật nuôi trước khi xuất bán vật nuôi, sản phẩm (thịt, sữa) sau khi kết thúc điều trị theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

d) Chiến lược vệ sinh chuồng trại và môi trường

Hệ thống chuồng trại, chăn nuôi trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La) đều thực hiện theo tiêu chuẩn Việt Nam về vệ sinh chuồng trại, vệ sinh thú y. Tuy nhiên, hệ thống xử lý chất thải của vật nuôi còn hạn chế. Nguyễn Đức Trọng (2023) cho biết, cả nước có 46,9% hộ chăn nuôi trâu, 56,6% hộ chăn nuôi bò sữa và 48,4% hộ chăn nuôi bò khác có các biện pháp xử lý chất thải chăn nuôi theo quy định tại Điều 56 Luật Chăn nuôi, còn lại chưa xử lý và thải thẳng chất thải chăn nuôi ra môi trường. Việt Nam tạo ra khoảng hơn 60,6 triệu tấn chất thải động vật mỗi năm. Tuy nhiên, tỷ lệ tái sử dụng chất thải chăn nuôi làm phân bón hữu cơ còn thấp trong canh tác nông nghiệp nên việc thu gom, xử lý

chất thải chăn nuôi để sản xuất phân bón hữu cơ còn chưa phổ biến trong những năm gần đây. Chăn nuôi quy mô nông hộ còn chiếm tỷ trọng gần 50% sản phẩm chăn nuôi nên khả năng áp dụng công nghệ đồng bộ vào chuồng trại, xử lý chất thải chăn nuôi còn rất hạn chế do tiềm lực đầu tư của hộ chăn nuôi thấp. Hiện tại, chất thải chăn nuôi được quản lý bằng nhiều cách, bao gồm: ủ phân hữu cơ, xử lý bằng sản phẩm xử lý chất thải chăn nuôi (vi sinh vật), xử lý bằng công trình khí sinh học và sử dụng trực tiếp phân tươi làm phân bón. Trong ủ phân hữu cơ, chất thải rắn được thu lại và trộn để sản xuất phân bón hữu cơ trong khi phần chất lỏng được rửa trôi khỏi sàn chuồng và xả vào môi trường xung quanh hoặc ao cá. Phân trâu, bò được sử dụng rộng rãi như một nguồn phân hữu cơ cho nhiều loại cây trồng.

Do đó, chúng tôi đề xuất cải thiện vệ sinh thú y chuồng trại và vệ sinh môi trường trong chăn nuôi, xây dựng khu xử lý chất thải chăn nuôi và các biện pháp xử lý rác thải chăn nuôi như: sử dụng đệm lót sinh học, sử dụng hầm biogas, ủ phân hữu cơ, ủ phân sử dụng men sinh học (chế phẩm Effective Microorganisms...) được sử dụng theo nhiều hình thức khác nhau như bổ sung vào chất thải, phun trong chuồng hoặc nước thải, giúp giảm mùi hôi một cách hiệu quả và tiêu diệt các loài trứng ve, ruồi, mòng để phá vỡ vòng đời, chu kỳ sinh học của các loài véc tơ truyền bệnh. Phan Tùng Lâm và ctv (2023) cho biết, sử dụng đệm lót sinh học trong chăn nuôi bò thịt đã làm giảm nồng độ khí H_2S và NH_3 trong chuồng nuôi, không có sự xuất hiện của ruồi, muỗi là các loài véc tơ truyền bệnh ký sinh trùng đường máu. Từ đó, giúp cải thiện môi trường trong chuồng nuôi giúp đàn bò phát triển đồng đều, khỏe mạnh, duy trì tăng trưởng, đồng thời làm giảm thiểu tình trạng ô nhiễm môi trường sống của vật nuôi và con người.

đ) Kiểm soát, kiểm dịch chặt chẽ đối với hoạt động nhập khẩu gia súc

Ở Mỹ, ve *R. (B) microplus* và *R. annulatus* được kiểm soát bởi Chương trình diệt trừ ve của Animal and Plant Health Inspection Service - U.S. Department of Agriculture (APHIS - USDA; Bộ Nông nghiệp Mỹ). Các cơ quan ban ngành kiểm tra các trang trại trong khu vực kiểm dịch và bắt giữ gia súc đi lạc và buôn lậu từ Mexico. Trước khi di chuyển ra khỏi khu vực kiểm dịch, gia súc và ngựa

phải được kiểm tra và được điều trị phòng ngừa bằng thuốc diệt ve (Spickler, 2007). Ở Việt Nam, bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. đều thuộc danh mục đối tượng kiểm dịch động vật, sản phẩm động vật trên cạn theo Thông tư số 25/2016/TT-BNN&PTNT ngày 30 tháng 6 năm 2016 nên động vật nhập khẩu đã được kiểm dịch chặt chẽ. Tuy nhiên, trong quá trình nhập khẩu vật nuôi có thể bị nhiễm ve, vì vậy để làm giảm thiểu sự lây truyền chúng tôi đề xuất giữ vật nuôi nhiễm ve riêng và trước khi ra khỏi khu vực kiểm dịch, vật nuôi phải được kiểm tra và được điều trị phòng ngừa bằng thuốc diệt ve. Kết quả của luận án cho thấy, yếu tố giống vật nuôi (bản địa/lai/nhập khẩu) là một trong các yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. và *Theileria* spp. Các kết quả định danh loài ký sinh trùng đường máu, so sánh và xây dựng cây phả hệ của các loài ký sinh trùng đường máu phân lập trong nghiên cứu này so với các loài khác đã được phân lập, báo cáo ở các nước trong khu vực và trên thế giới cho thấy mối quan hệ loài giữa các loài rất gần gũi.

e) Giáo dục sức khỏe theo hướng tiếp cận Một sức khỏe

Tuyên truyền, tập huấn, hướng dẫn tổ chức, cá nhân chủ động phòng bệnh truyền lây giữa động vật và người theo hướng dẫn của cơ quan quản lý chuyên ngành thú y, cơ quan y tế theo hướng tiếp cận một sức khỏe (One Health).

Đối với các cán bộ y tế, thú y, môi trường, các cơ quan quản lý: Cần nâng cao nhận thức và nâng cao năng lực, trình độ chuyên môn ở các cấp, các ngành. Đặc biệt, xây dựng chiến dịch nâng cao nhận thức xây dựng năng lực cho các nhà nghiên cứu và nhân viên y tế, thú y ở cấp tỉnh và xã. Cần có sự phối hợp giữa các ngành nghề: thú y, nhân y, các cơ quan quản lý cùng tuyên truyền, tăng cường sự hiểu biết của cán bộ địa phương, của người dân để cùng nhau can thiệp, giám sát, khống chế sự phát triển của véc tơ truyền bệnh (ve, ruồi, mòng) để giảm thiểu các bệnh do các véc tơ truyền bệnh gây ra.

Tóm lại, đề xuất biện pháp tổng hợp phòng bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên trâu, bò, dê và ngựa tại ba tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La) như sau:

* Trước mùa dịch tễ của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. (tháng 4, trước mùa hè)

- Phun thuốc diệt ve như: Hantox-200, Five - Permethrin, Five - Tox...trên cơ thể vật nuôi và khu vực chuồng nuôi, khu vực chăn thả.

- Sử dụng màn (mùng) chống côn trùng cho vật nuôi có giá trị kinh tế cao, tại các cơ sở chăn nuôi cố định và hệ thống chuồng nuôi kín. Kiểm soát chặt chẽ với ve, ruồi, mòng tại 3 tỉnh/TP (Hà Nội, Thái Nguyên và Sơn La).

- Dùng thuốc điều trị ký sinh trùng đường máu để phòng bệnh cho vật nuôi.

* Trong mùa dịch tễ của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. (tháng 5 đến tháng 10).

- Luân phiên chăn thả vật nuôi tại các bãi chăn thả, kết hợp chăn thả và nuôi nhốt.

- Phun thuốc sát trùng chuồng trại như: Navet - Iodine, Decoxid 200, Benkocid, Vikon S...Sử dụng đệm lót sinh học, hầm biogas, ủ phân (hữu cơ, men sinh học).

- Chăm sóc vật nuôi tăng cường sức đề kháng. Ngâm tắm hoặc xịt trực tiếp lên vật nuôi bằng thuốc diệt ve.

- Chủ chăn nuôi nên tìm ve bám vào, bắt và diệt ve trực tiếp từ thân con vật nuôi.

- Trong quá trình kiểm dịch động vật nhập khẩu nên cách ly vật nuôi nhiễm ve riêng và trước khi ra khỏi khu vực kiểm dịch, vật nuôi phải được kiểm tra và được điều trị phòng ngừa bằng thuốc diệt ve.

* Mở các lớp tập huấn nâng cao trình độ, hiểu biết của người chăn nuôi để người chăn nuôi chủ động trong công tác phòng bệnh theo hướng tiếp cận Một sức khỏe.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Luận án đã:

1. Xác định được đặc điểm lưu hành, sinh học phân tử một số loài ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê, ngựa tại ba tỉnh phía Bắc Việt Nam

- Đã xác định được 3 giống ký sinh trùng đường máu lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa tại 3 tỉnh/TP là: *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., và *Theileria* spp. với tỷ lệ lưu hành dao động từ 1,1% - 39,8% ở cả 4 mùa (xuân, hè, thu, đông). Trong đó, *Anaplasma* spp. có tỷ lệ lưu hành cao nhất ở tất cả các loài vật nuôi (16,8% - 39,8%), tiếp đến là *Theileria* spp. (7,7% - 19,7%) và thấp nhất là *Babesia* spp. (1,2% - 15,4%). Bò là loài vật nuôi nhiễm ký sinh trùng đường máu với tỷ lệ nhiễm cao nhất (15,4% - 39,8%), tiếp đến là trâu (4,2% - 30,4%), ngựa (7,6% - 17,3%) và thấp nhất là dê (1,1% - 16,9%). Các loài ký sinh trùng đường máu lưu hành cao nhất vào mùa hè (44,8%) và thấp nhất vào mùa đông (2,3%).

- Đã định danh được 12 loài ký sinh trùng đường máu gồm: *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *Candidatus Anaplasma sinensis*, *Candidatus Anaplasma boolense*, *B. bigemina*, *B. bovis*, *T. annulata*, *T. buffeli*, *T. equi*, *T. orientalis*, *T. velifera*. Trong đó, 6/12 loài (*A. phagocytophilum*, *Candidatus Anaplasma sinensis*, *Candidatus Anaplasma boolense*, *T. buffeli*, *T. velifera* và *T. equi*) lần đầu được công bố tại miền Bắc, Việt Nam và 5/12 loài (*A. platys*, *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *B. bigemina*, *B. bovis*) là loài truyền lây từ gia súc sang người. Tổng cộng 123 chuỗi gen (18S rDNA/16S rDNA và vùng ITS2) của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. đã được lưu trữ trên ngân hàng gen thế giới.

2. Xác định được các yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê, ngựa và đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp

- Các yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê, ngựa: 02 yếu tố mùa và loài vật nuôi là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của

bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê và ngựa. Vật nuôi nhiễm ve là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. Giống vật nuôi (lai và nhập) là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở vật nuôi. Vị trí địa lý (tỉnh/TP), hình thức chăn thả (hoàn toàn) là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sự lưu hành của bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. ở vật nuôi tại 3 tỉnh/TP thực hiện nghiên cứu.

- Đề xuất được biện pháp phòng bệnh tổng hợp bệnh gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. gây ra trên động vật nhai lại và ngựa tại miền Bắc, Việt Nam là: Phun thuốc diệt ve. Dùng thuốc điều trị để phòng bệnh. Luân phiên chăn thả. Chăm sóc vật nuôi tăng cường sức đề kháng. Cách ly vật nuôi nhiễm ve trong quá trình kiểm dịch nhập khẩu gia súc. Tập huấn người chăn nuôi theo hướng tiếp cận Một sức khỏe.

4.2. Kiến nghị

- Cần nghiên cứu thêm đặc điểm bệnh lý, dịch tễ học và dịch tễ học phân tử của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Theileria* spp. lưu hành trên vật nuôi để xác định rõ các loài ký sinh trùng đường máu mới xuất hiện tại Việt Nam là loài bản địa hay du nhập. Từ đó, xây dựng bức tranh tổng thể về bệnh ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê, ngựa tại miền Bắc - Việt Nam.

- Cần nghiên cứu, phát triển phương pháp phòng bệnh theo hướng “Một sức khỏe”, phối hợp giữa các ngành y tế - thú y - môi trường.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Dương Như Ngọc**, Nguyễn Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Bích Thủy, Đoàn Hữu Hoàn, Đinh Phương Nam, Phạm Ngọc Duẩn, Đỗ Thị Thu Thúy, Mai Tuấn Anh, Nguyễn Văn Cường, Nguyễn Văn Đăng, Đào Thị Hà Thanh. Sự lưu hành và các yếu tố nguy cơ liên quan của *Anaplasma* spp. trên một số loài vật nuôi tại miền Bắc Việt Nam. Tạp chí Nông nghiệp & phát triển nông thôn. Số đăng: số đặc biệt Khoa học, công nghệ và đổi mới sáng tạo lĩnh vực chăn nuôi – thú y tháng 8, năm 2023. Trang: 187 - 192.
2. **Dương Như Ngọc**, Trương Thị Quý Dương, Nguyễn Thị Lan Anh, Phạm Ngọc Duẩn, Nguyễn Thị Bích Thủy, Farkas Róbert, Đào Thị Hà Thanh. Chẩn đoán sinh học phân tử và đặc điểm sinh học phân tử lê dạng trùng *Babesia* spp. trên động vật nhai lại và ngựa tại miền Bắc Việt Nam. Tạp chí Y dược Huế. Số đăng: số đặc biệt, 4-2024. Trang: 108 - 114.
3. **Dương Như Ngọc**, Phạm Ngọc Duẩn, Trương Thị Quý Dương, Nguyễn Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Bích Thủy, Sándor Hornok, Róbert Farkas, Đào Thị Hà Thanh. Chẩn đoán phát hiện và định danh sinh học phân tử đối với đơn bào ký sinh đường máu (*Theileria* spp.) trên động vật nhai lại (trâu, bò, dê) và ngựa tại miền Bắc Việt Nam. Tạp chí Khoa Học Kỹ Thuật Thú Y Tập XXXI Số 7 – 2024. Trang: 56 - 63.
4. **Dương Như Ngọc**, Phạm Ngọc Duẩn, Trương Thị Quý Dương, Nguyễn Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Bích Thủy, Sándor Hornok, Róbert Farkas, Đào Thị Hà Thanh. Chẩn đoán phát hiện và định danh *Anaplasma* spp. trên động vật nhai lại (trâu, bò, dê) và ngựa tại miền Bắc Việt Nam. Tạp chí Khoa Học Kỹ Thuật Thú Y Tập XXXII Số 7 – 2025. Trang: 42 - 48.

TẬP THỂ GIÁO VIÊN HƯỚNG DẪN

NGHIÊN CỨU SINH



TS. Đào Thị Hà Thanh

TS. Nguyễn Thị Bích Thủy

Dương Như Ngọc

XÁC NHẬN
CỦA CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

XÁC NHẬN
CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO
VIỆN TRƯỞNG



PGS. TS. VŨ KHẮC HÙNG



TS. Đặng Vũ Hoàng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT

1. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. 2016. *Thông tư 25/2016/TT-BNNPTNT ngày 30 tháng 6 năm 2016 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Quy định về kiểm dịch động vật, sản phẩm động vật trên cạn.*
2. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. 2024. *Thông tư số 18/2024/TT-BNNPTNT ngày 29 tháng 11 năm 2024. Danh mục thuốc thú y được phép lưu hành tại Việt Nam, Danh mục thuốc thú y cấm sử dụng tại Việt Nam và sửa đổi, bổ sung một số điều của Thông tư số 01/2024/TT-BNNPTNT ngày 02 tháng 02 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.*
3. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. 2011. *Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia. Bệnh Động vật – Yêu cầu chung lấy mẫu bệnh phẩm, bảo quản và vận chuyển.* QCVN 01-83:2011/BNNPTNT. Hà Nội.
4. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. 2015. *Tiêu chuẩn Quốc gia. “TCVN, : 8400-33 2015- Bệnh Động Vật – Quy trình chẩn đoán - Phần 33: Bệnh Lê dạng trùng ở trâu bò.* Hà Nội.
5. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. 2015. *Tiêu chuẩn Quốc gia. “TCVN, : 8400-34 2015- Bệnh Động Vật – Quy trình chẩn đoán - Phần 34: Bệnh Biên trùng ở trâu bò.* Hà Nội.
6. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. 2015. *Tiêu chuẩn Quốc gia. “TCVN, : 8400-35 2015- Bệnh Động Vật - Quy trình chẩn đoán - Phần 35: Bệnh Theileiria ở trâu bò.* Hà Nội.
7. Nguyễn Thị Hồng Chiên, Nguyễn Thị Lan, Dương Đức Hiếu, Bùi Khánh Linh, Nguyễn Văn Thọ. 2018. “Nghiên cứu đặc điểm dịch tễ học ve ký sinh ở bò nuôi tại Ba Vì - Hà Nội”. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y.* Tập XXV, Số 7. Tr 55-63.
8. Nguyễn Thị Hồng Chiên. 2021. “Nghiên cứu bệnh ký sinh trùng đường máu do ve truyền ở đàn bò nuôi tại Ba Vì - Hà Nội và thử nghiệm thuốc diệt ve”. Luận án Tiến sĩ chuyên ngành Bệnh lí học và chữa bệnh vật nuôi, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

9. Nguyễn Thị Hồng Chiên, Hoàng Thanh Trúc, Nguyễn Văn Dương, Bùi Thị Tố Nga, Đào Lê Anh, Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Đức Trường và Nguyễn Thị Hoàng Yến. 2023. “Một số chỉ tiêu huyết học ở bò sữa Holstein Friesian nhiễm *Theileria* spp. tại tỉnh Hà Nam”. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 21 (11): 1455–1462.
10. Phan Văn Chinh. 2006. “*Bệnh tiên mao trùng do Trypanosoma evansi ở trâu, bò nuôi tại các tỉnh miền Trung và biện pháp phòng trị*”. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Hà Nội.
11. Đặng Tuấn Đạt và Nguyễn Văn Châu. 2007. *Các loài ngoại ký sinh ở Tây Nguyên và vai trò dịch tễ của chúng*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
12. Hạ Thúy Hạnh. 1999. “*Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ, bệnh học và biện pháp phòng trị bệnh huyết bào tử trùng ở bò Việt Nam*”. Luận án tiến sĩ Nông nghiệp, Hà Nội.
13. Nguyễn Hữu Hưng, Hồ Bảo Trân và Trần Huỳnh Như. 2014. “*Khảo sát tình hình nhiễm ký sinh trùng đường máu tại hai huyện Tri Tôn và Tịnh Biên, tỉnh An Giang và thử nghiệm điều trị*”. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, Số chuyên đề: Nông nghiệp (2): 79 - 83.
14. Nguyễn Thị Kim Lan, Nguyễn Văn Quang, Nguyễn Thị Ngân, Phạm Diệu Thùy, Dương Thị Hồng Duyên. 2019. “*Xác định loài tiên mao trùng bằng kỹ thuật phân tử và nghiên cứu vật môi giới truyền bệnh tiên mao trùng trên đàn trâu, bò tỉnh Bắc Ninh*”. *Tạp chí Khoa học & Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*. 194(01): 3 – 8.
15. Đinh Thị Bích Lân, Lê Đức Thọ, Lê Quốc Việt, Lê Viết Quân, Đặng Thị Hương, Đồng Hữu Rin và Phùng Thăng Long Long. 2020. “*Tạo dòng và biểu hiện gene mã hóa kháng nguyên Rhostry-Associated Protein-1 của Babesia bovis trong Escherichia coli BL21 (DE3)*.” *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*. 129(3A): 73–81. doi:10.26459/hueuni-jard.v129i3a.5542.
16. Phan Dịch Lân, Phạm Sỹ Lãng và Chu Duy Bào. 1974. “*Kết quả điều tra ký sinh trùng ở vườn Quốc gia Cúc Phương và nông trường Phùng Thượng, Ninh Bình*”. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp* 147: 687-691.

17. Phan Tùng Lâm, Ngô Đình Tân, Tăng Xuân Lưu, Đặng Thị Dương, Thân Minh Hoàng và Trần Anh Tuyên. 2023. Đánh giá hiệu quả sử dụng đệm lót sinh học trong chăn nuôi bò thịt. *Tạp chí khoa học công nghệ chăn nuôi, Viện chăn nuôi, số 140, tháng 8/2023. Tr 55-66.*
18. Phạm Sỹ Lăng. 1973. “Kết quả điều tra bệnh ký sinh trùng đường máu ở nông trường bò sữa.” *Tạp chí Khoa học kỹ thuật nông nghiệp. 135: 683-686.*
19. Phạm Sỹ Lăng. 1977. “Đơn bào ký sinh đường máu của đàn bò vùng Từ Liêm Hà Nội” *Tạp chí Khoa học kỹ thuật nông nghiệp. 185: 446-452.*
20. Phạm Sỹ Lăng. 1982. *Một số đặc điểm dịch tễ học và bệnh học của bệnh tiên mao trùng do Trypanosoma evansi Steel 1885 ở các tỉnh phía Bắc Việt Nam.* Luận án tiến sĩ Nông nghiệp, Hà Nội.
21. Phạm Sỹ Lăng và Lê Văn Tạo. 2002. *Hướng dẫn phòng trị bệnh ký sinh trùng, bệnh nội khoa và nhiễm độc ở bò sữa.* Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
22. Phạm Sỹ Lăng và Tô Long Thành. 2006. *Bệnh đơn bào ký sinh ở vật nuôi.* Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
23. Phạm Sỹ Lăng, Phan Địch Lâm và Đặng Đình Hanh. 2008. *Bệnh của ngựa ở Việt Nam và kỹ thuật phòng trị.* Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
24. Phạm Sỹ Lăng, Nguyễn Hữu Hưng, Nguyễn Văn Diên, Nguyễn Bá Hiên, Bạch Quốc Thắng và Hạ Thúy Hạnh. 2015. *Bệnh ký sinh trùng ở gia súc, gia cầm Việt Nam.* Nhà xuất bản Nông nghiệp.
25. Quốc hội. *Luật Thú y, số 79/2015/QH13, ngày 19 tháng 6 năm 2015.* Hà Nội.
26. Quốc hội. *Luật Chăn nuôi, số 32/2018/QH14, ngày 19 tháng 11 năm 2018.* Hà Nội.
27. Nguyễn Đức Tân, Lê Đức Quyết, Nguyễn Thị Sâm và Lê Hứa Ngọc Lược. 2004. Điều tra tình hình nhiễm ký sinh trùng đường máu và ứng dụng biện pháp phòng trị thích hợp cho đàn bò ở một số tỉnh Nam Trung Bộ và Tây

Nguyên. *Báo cáo Khoa học Chăn nuôi Thú y (Phần Thú y)*. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Nhà xuất bản Nông Nghiệp. 263 - 369.

28. Hồ Thị Thuận, Nguyễn Hữu Hưng và Phạm Văn Sơn. 1983. “Kết quả điều tra và phòng trị bệnh ký sinh trùng đường máu trên trâu bò ở các tỉnh phía Nam”. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp*. 257:513–16.
29. Nguyễn Văn Thọ, Nguyễn Thị Hồng Chiên, Bùi Khánh Linh, Dương Đức Hiếu, Nguyễn Thị Nhiên, Nguyễn Văn Phương và Nguyễn Thị Hoàng Yến. 2019. *Giáo trình Ký sinh trùng Thú y*. NXB Học viện Nông nghiệp Việt Nam
30. Nguyễn Đức Trọng. 2023. “Thực trạng và định hướng công tác nghiên cứu khoa học ngành Chăn nuôi.” *Viện chăn nuôi - Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi* 137: 81–100.
31. Phùng Quang Trường, Nguyễn Hữu Lương, Tăng Xuân Lưu, Ngô Thành Vinh và Ngô Đình Tân. 2008. “Tình hình nhiễm ký sinh trùng đường máu và biện pháp phòng trị trên đàn bò sữa nuôi tại Ba Vì”. *Tạp chí Khoa học Công nghệ chăn nuôi*. 20: 60-65.

TÀI LIỆU TIẾNG ANH

32. Abdelbaset, A. E., Nonaka, N., và Nakao, R. 2022. “Tick-borne diseases in Egypt: a One Health perspective”. *One Health* 15 (August): 100443. doi:10.1016/j.onehlt.2022.100443.
33. Abdoli, A., Olfatifar, M., Zaki, L., Nikkhahi, F., Fardsanei, F., Sobhani, S., Sadeghi, H., Eslahi, A. V., và Badri, M. 2025. “Global prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in cattle: A One Health perspective, meta-analysis and future predictions (up to 2035)”. *Veterinary Medicine and Science*.
34. Adjou Moumouni, P. F., Galon, E. M., Tumwebaze, M. A., Byamukama, B., Ngasaman, R., Tiwananthagorn, S., Kamyinkird, K., Inpankaew, T., và Xuan, X. 2023. “Tick-Borne pathogen detection and its association with alterations in packed cell volume of dairy cattle in Thailand”. *Animals* 13(18): 1–11. doi:10.3390/ani13182844.
35. Alanazi, A. D., Alouffi, A. S., Alshahrani, M. Y., Alyousif, M. S.,

- Abdullah, H. H. A. M., Allam, A. M., Elsayy, B. S. M., Abdel-Shafy, S., Alsulami, M. N., Khan, A., và Iqbal, F. 2021. "A report on tick burden and molecular detection of tick-borne pathogens in cattle blood samples collected from four regions in Saudi Arabia". *Ticks and tick-borne diseases* 12(3): 101652. doi:10.1016/j.ttbdis.2021.101652.
36. Almazán, C., Scimeca, R. C., Reichard, M. V., và Mosqueda, J. 2022. "Babesiosis and Theileriosis in North America". *Pathogens*. 11(2): 1–21. doi:10.3390/pathogens11020168.
37. Arjentina, I. P. G. Y., Keomoungkhoun, B., Thamrongyoswittayakul, C., Sangmaneedet, S., và Taweenan, W. 2024. "First report on the molecular detection and genetic diversity of *Anaplasma marginale* in healthy dairy cattle in Khon Kaen Province, Thailand." *Veterinary World* 17(2): 389–97. doi:10.14202/vetworld.2024.389-397.
38. Atif F. A. 2015. "Anaplasma marginale and Anaplasma phagocytophilum: rickettsiales pathogens of Veterinary and Public Health Significance." *Parasitology Research* 114(11): 3941–57. doi:10.1007/s00436-015-4698-2
39. Atif F. A. 2016. "Alpha proteobacteria of genus *Anaplasma* (rickettsiales: anaplasmataceae): epidemiology and characteristics of anaplasma species related to veterinary and public health importance." *Parasitology* 143(6).
40. Atif, F. A., Zaman M. A., Hussain K, Qamar M. F., Sajid M. S., Iqbal U, và Mehnaz S.. 2021. "First molecular surveillance and estimation of risk factors of *Anaplasma marginale* infection among indigenous, crossbred and exotic cattle". *Journal of Animal and Plant Sciences* 31(3): 913–17. doi:10.36899/JAPS.2021.3.0281.
41. Atif, F. A., Abbas, R. Z., Mehnaz, S., Qamar, M. F., Hussain, K., Nazir, M. U., Zaman, M. A., Khan, A. U., và Said, M. B. 2022. "First report on molecular surveillance based on duplex detection of *Anaplasma marginale* and *Theileria annulata* in dairy cattle from Punjab, Pakistan". *Tropical animal health and production* 54(2): 155. doi:10.1007/s11250-022-03158-y.
42. Atif, F. A., Ullah, S., Cossío-Bayúgar, R., Kashif, M., Khan, A. U., và Wu, W. F. 2023. "Molecular epidemiology, seasonality and phylogenetic

- investigations of *Anaplasma ovis* in small ruminants from diverse agro-climatic regions of Punjab, Pakistan”. *Microorganisms* 11(10). doi:10.3390/microorganisms11102430.
43. Balkaya, I., A. E. Utuk, và F. C. Piskin. 2010. “Prevalance of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in donkeys from eastern turkey in winter season.” *Pakistan Veterinary Journal* 30(4): 245–46.
 44. Barbosa, I. C., André, M. R., Amaral, R. B. D., Valente, J. D. M., Vasconcelos, P. C., Oliveira, C. J. B., Jusi, M. M. G., Machado, R. Z., Vieira, T. S. W. J., Ueti, M. W., và Vieira, R. F. C. 2021. “*Anaplasma marginale* in goats from a multispecies grazing system in northeastern Brazil”. *Ticks and tick-borne diseases* 12(1): 101592. doi:10.1016/j.ttbdis.2020.101592.
 45. Battilani, Mara, Stefano De Arcangeli, Andrea Balboni và Francesco Dondi. 2017. “Genetic diversity and molecular epidemiology of *Anaplasma*”. *Infection, Genetics and Evolution* 49: 195–211. doi:https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.01.021.
 46. Bautista-Garfias, Carlos., Castañeda - Ramírez, G.s., Felipe, Juan., Torres - Acosta, Felipe., Salinas Estrella, Elizabeth., Mohsin, Muhammad., Aguilar - Marcelino, Liliana. 2021. “Fly borne diseases in animals”. In *Veterinary Pathobiology and Public Health*. 114–127. doi:10.47278/book.vpph/2021.0010.
 47. Bawm, S., Htun, L. L., Maw, N. N., Ngwe, T., Tosa, Y., Kon, T., Kaneko, C., Nakao, R., Sakurai, T., Kato, H., và Katakura, K. 2016. “Molecular survey of *Babesia* infections in cattle from different areas of Myanmar”. *Ticks and tick-borne diseases* 7(1): 204–7. doi:10.1016/j.ttbdis.2015.10.010.
 48. Bawm, S., Sagara, R., Kakisaka, K., Thu, M. J., Hmoon, M. M., Htun, L. L., Win, M. M., Nonaka, N., Nakao, R., Suzuki, H., và Katakura, K. 2021. “Identification, genetic variation, and structural analysis of 18S rRNA of *Theileria orientalis* and *Theileria velifera*-like isolates from Myanmar”. *Parasitology international*. 82: 102299. doi:10.1016/j.parint.2021.102299.
 49. Bhoora, R., Franssen, L., Oosthuizen, M. C., Guthrie, A. J., Zweygarth, E.,

- Penzhorn, B. L., Jongejan, F., và Collins, N. E. 2009. “Sequence heterogeneity in the 18S rRNA Gene within *Theileria equi* and *Babesia caballi* from horses in South Africa”. *Veterinary parasitology* 159(2): 112–20. doi:10.1016/j.vetpar.2008.10.004.
50. Bishop, R, A Musoke, S Morzaria, M Gardner, và V Nene. 2004. “Theileria: intracellular protozoan parasites of wild and domestic ruminants transmitted by *Ixodid* ticks”. *Parasitology* 129 Suppl: S271-83. doi:10.1017/s0031182003004748.
51. Bishop, R. P., Kappmeyer, L. S., Onzere, C. K., Odongo, D. O., Githaka, N., Sears, K. P., Knowles, D. P., và Fry, L. M. 2020. “Equid infective theileria cluster in distinct 18S rRNA gene clades comprising multiple taxa with unusually broad mammalian host ranges”. *Parasites & vectors*. 1–7. doi:10.1186/s13071-020-04131-0.
52. Bock, R, L Jackson, A de Vos., và Jorgensen W. 2004. “Babesiosis of cattle” *Parasitology*. 129 Suppl: S247-69. doi:10.1017/s0031182004005190.
53. Bonnet, Sarah I, và Clémence Nadal. 2021. “Experimental infection of ticks: an essential tool for the analysis of *Babesia* species biology and transmission”. *Pathogens (Basel, Switzerland)*. 10(11). doi:10.3390/pathogens10111403.
54. Brayton, K. A., Kappmeyer, L. S., Herndon, D. R., Dark, M. J., Tibbals, D. L., Palmer, G. H., McGuire, T. C., & Knowles, D. P., Jr. 2005. “Complete genome sequencing of *Anaplasma marginale* reveals that the surface is skewed to two superfamilies of outer membrane proteins”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102(3): 844–49. doi:10.1073/pnas.0406656102.
55. Campos, R. A., Boldo, J. T., Pimentel, I. C., Dalfovo, V., Araújo, W. L., Azevedo, J. L., Vainstein, M. H., và Barros, N. M. 2010. “Endophytic and entomopathogenic strains of *beauveria* sp to control the bovine tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*”. *Genetics and molecular research : GMR* 9(3): 1421–30. doi:10.4238/vol9-3gmr884.
56. Cao, S., Zhang, S., Jia, L., Xue, S., Yu, L., Kamyngkird, K., Moumouni,

- P. F., Moussa, A. A., Zhou, M., Zhang, Y., Terkawi, M. A., Masatani, T., Nishikawa, Y., và Xuan, X.. 2013. “Molecular detection of *Theileria* species in sheep from northern China”. *The Journal of veterinary medical science*. 75(9): 1227–30. doi:10.1292/jvms.13-0028.
57. Chen, K., Hu, Z., Yang, G., Guo, W., Qi, T., Liu, D., Wang, Y., Du, C., và Wang, X. 2022. “Development of a duplex real-time PCR assay for simultaneous detection and differentiation of *Theileria equi* and *Babesia caballi*”. *Transboundary and emerging diseases*. 69(5): e1338–49. doi:10.1111/tbed.14464.
58. Choi, K. S., Yu, D. H., Chae, J. S., Park, B. K., Yoo, J. G., và Park, J. 2016. “Seasonal changes in hemograms and *Theileria orientalis* infection rates among holstein cattle pastured in the mountains in the republic of Korea”. *Preventive Veterinary Medicine*. 127: 77–83. doi:https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.03.018.
59. Dao, T. T. H., Takács, N., Tran, T. N., Truong, A. N., Skinner, K., Kontschán, J., Farkas, R., và Hornok, S. 2024. “Detection of tick-borne pathogens in the pangolin tick, *Amblyomma javanense*, from Vietnam and Laos, including a novel species of *Trypanosoma*”. *Acta Tropica*. 260: 107384. doi:https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2024.107384.
60. Djiba, M. L., Mediannikov, O., Mbengue, M., Thiongane, Y., Molez, J. F., Seck, M. T., Fenollar, F., Raoult, D., và Ndiaye, M. 2013. “Survey of Anaplasmataceae bacteria in sheep from Senegal”. *Tropical animal health and production*. 45(7): 1557–61. doi:10.1007/s11250-013-0399-y.
61. Dyachenko, V., Pantchev, N., Balzer, H. J., Meyersen, A., và Straubinger, R. K. 2012. “First case of *Anaplasma platys* infection in a dog from Croatia.” *Parasites và vectors* 5: 49. doi:10.1186/1756-3305-5-49.
62. Espiritu, Hector, Hee Woon Lee, Md Shohel Al Faruk, Su Jeong Jin, Sang Suk Lee, và Yong Il Cho. 2024. “Latitude and seasons influence the prevalence of *Theileria orientalis* and affect the hematology of non-grazed dairy Cows in Korea”. *Parasites, hosts and diseases*. 62(1): 64–74. doi:10.3347/PHD.23087.

63. Farooqi, S H, Ijaz M, Saleem M H, Rashid M I, Ahmad S S, Islam S, Aqib A I, Khan A., Hussain K. và Khan N. U. 2017. “Prevalence and molecular diagnosis of *Theileria annulata* in bovine from three distincts zones of Khyber Pakhtunkhwa province, Pakistan”. *JAPS: Journal of Animal và Plant Sciences* 27(6).
64. Farooqi, S. H., Ijaz, M., Rashid, M. I., Nabi, H., Islam, S., Aqib, A. I., Hussain, K., Khan, A., Rizvi, S. N. B., Mahmood, S., Mehmood, K., và Zhang, H. 2018. “Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan”. *Tropical animal health and production* 50(7): 1591–98. doi:10.1007/s11250-018-1599-2.
65. Fatima, S. A., Gonuguntla, H. N., Muthappa, P. N., và Sarangi, L. N. 2024. “Molecular detection of *Anaplasma*, *Babesia*, *Theileria*, and *Trypanosoma* infection in cattle and buffaloes in India”. *Journal of parasitic diseases : official organ of the Indian Society for Parasitology* 48(3): 450–59. doi:10.1007/s12639-024-01673-3.
66. Fernández-Salas, A., Rodríguez-Vivas, R. I., và Alonso-Díaz, M. Á. 2012. “Resistance of *Rhipicephalus microplus* to Amitraz and Cypermethrin in tropical cattle farms in Veracruz, Mexico”. *The Journal of parasitology* 98(5): 1010–14. doi:10.1645/GE-3074.1.
67. Fuente de la J, Antunes, S., Bonnet, S., Cabezas-Cruz, A., Domingos, A. G., Estrada-Peña, A., Johnson, N., Kocan, K. M., Mansfield, K. L., Nijhof, A. M., Papa, A., Rudenko, N., Villar, M., Alberdi, P., Torina, A., Ayllón, N., Vancova, M., Golovchenko, M., Grubhoffer, L., Caracappa, S., và Rego, R. O. M. 2017. “Tick-pathogen interactions and vector competence: identification of molecular drivers for tick-borne diseases”. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7(APR): 1–13. doi:10.3389/fcimb.2017.00114.
68. Fuente de la J, Kocan K M, và Blouin E F. 2007. “Tick vaccines and the transmission of tick-borne pathogens”. *Veterinary research communications*. 31 Suppl 1: 85–90. doi:10.1007/s11259-007-0069-5.
69. Galon, E. M., Ybañez, R. H., Macalanda, A. M., Estabillo, G. R., Montano, M. T. R., Veedor, M. D., Garvida, A., Fabon, R. J., Callanta, M. R., Labutong, K. J., Tumwebaze, M. A., Byamukama, B., Ji, S., Zafar, I.,

- Ybañez, A., và Xuan, X. 2022a. “First molecular identification of *Babesia*, *Theileria*, and *Anaplasma* in goats from the Philippines”. *Pathogens*. 11(10). doi:10.3390/pathogens11101109.
70. Galon, E. M., Zafar, I., Ji, S., Li, H., Ma, Z., và Xuan, X. 2022b. “Molecular reports of ruminant *Babesia* in Southeast Asia”. *Pathogens*. 11(8). doi:10.3390/pathogens11080915.
71. Ganzinelli, S., Benitez, D., Gantuya, S., Guswanto, A., Florin-Christensen, M., Schnittger, L., và Igarashi, I. 2020. “Highly sensitive nested PCR and rapid immunochromatographic detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in a cattle herd with acute clinical and fatal cases in Argentina”. *Transboundary and Emerging Diseases* 67(S2): 159–64. doi:10.1111/tbed.13435.
72. Gebrekidan, H., Nelson, L., Smith, G., Gasser, R. B., và Jabbar, A. 2017. “An outbreak of oriental theileriosis in dairy cattle imported to Vietnam from Australia”. *Parasitology*. 144(6): 738–46. doi:10.1017/S0031182016002328.
73. Gebrekidan, H., Perera, P. K., Ghafar, A., Abbas, T., Gasser, R. B., và Jabbar, A. 2020. “An appraisal of oriental theileriosis and the *Theileria orientalis* complex, with an emphasis on diagnosis and genetic characterisation”. *Parasitology Research*. 119(1): 11–22. doi:10.1007/s00436-019-06557-7.
74. George, N., Bhandari, V., Reddy, D. P., và Sharma, P. 2015. “Molecular and phylogenetic analysis revealed new genotypes of *Theileria annulata* parasites from India”. *Parasites & vectors*. 8(1): 1–8. doi:10.1186/s13071-015-1075-z.
75. Getahun Asebe, và Getahun Asebe Gulich. 2016. “Overview of the biology, epidemiology and control methods against hard ticks: a review”. *Global Journal of Science Frontier Research*. 16(C2 SE-Articles): 33–45. <https://journalofscience.org/index.php/GJSFR/article/view/1775>.
76. Geurden, T, R Somers, N T G Thanh, L V Vien, và V T Nga. 2008. “Parasitic Infections in dairy cattle around Hanoi, Northern Vietnam” *Veterinary Parasitology* 153: 384–88. doi:10.1016/j.vetpar.2008.01.031.

77. Gonzalez, J., Echaide, I., Pabón, A., Gabriel Piñeros, J. J., Blair, S., và Tobón-Castaño, A. 2018. “Babesiosis prevalence in malaria-endemic regions of Colombia”. *Journal of vector borne diseases*. 55(3): 222–29. doi:10.4103/0972-9062.249480.
78. Green, Michael R, và Sambrook Joseph. 2019. “Nested polymerase chain reaction (PCR)”. *Cold Spring Harbor protocols*. (2). doi:10.1101/pdb.prot095182.
79. Guo, W. P., Tian, J. H., Lin, X. D., Ni, X. B., Chen, X. P., Liao, Y., Yang, S. Y., Dumler, J. S., Holmes, E. C., và Zhang, Y. Z. 2016. “Extensive genetic diversity of rickettsiales bacteria in multiple mosquito species”. *Scientific Reports*. 6(1): 38770. doi:10.1038/srep38770.
80. Guo, Wen-Ping, Guang-Cheng Xie, Dan Li, Meng Su, Rui Jian, và Luan-Ying Du. 2020. “Molecular detection and genetic characteristics of *Babesia gibsoni* in dogs in Shaanxi Province, China”. *Parasites & vectors*. 13(1): 366. doi:10.1186/s13071-020-04232-w.
81. Guswanto, A., Allamanda, P., Mariamah, E. S., Sodirun, S., Wibowo, P. E., Indrayani, L., Nugroho, R. H., Wirata, I. K., Jannah, N., Dias, L. P., Wirawan, H. P., Yanto, R., Tuvshintulga, B., Sivakumar, T., Yokoyama, N., và Igarashi, I. 2017. “Molecular and serological detection of bovine babesiosis in Indonesia”. *Parasites & vectors*. 10(1). doi:10.1186/s13071-017-2502-0.
82. Haron, Abdul, Faez Jesse, Syakira Ahmed, Yusuf Abba, Konto Mohammed, Abdulnasir Tijjani, Lawan Adamu, và Mohammad Sadiq. 2015. “Detection of *Theileria* spp. and hematological profiles of infected cattle from selected farms in Selangor, Malaysia”. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 44(1): 9. doi:10.5455/ajvs.167302.
83. He, L., Liu, Q., Yao, B., Zhou, Y., Hu, M., Fang, R., và Zhao, J. 2017. “A historical overview of research on *Babesia orientalis*, a protozoan parasite infecting water buffalo”. *Frontiers in microbiology*. 8: 1323. doi:10.3389/fmicb.2017.01323.

84. Hornok, S., Edelhofer, R., Szotáczky, I., và Hajtós, I. 2006. “*Babesia divergens* becoming extinct in cattle of northeast Hungary: new data on the past and present situation”. *Acta veterinaria Hungarica*. 54(4): 493–501. doi:10.1556/AVet.54.2006.4.7.
85. Hornok, S., Farkas, R., Duong, N. N., Kontschán, J., Takács, N., Keve, G., Pham, D. N., và Dao, T. T. H. 2024. “A morpho-phylogenetic update on ixodid ticks infesting cattle and buffalos in Vietnam, with three new species to the fauna and a checklist of all species indigenous to the country” *Parasites & vectors*. 17(1): 319. doi:10.1186/s13071-024-06384-5.
86. Hossain, M. J., Raut, S., Singh, R. P., Mishra, P., Hossain, M. S., Dey, A. R., Kabir, A., Anisuzzaman, Talukder, M. H., và Shahiduzzaman, M. 2023. “Molecular detection of *Babesia* and *Theileria* from crossbred cattle in Sirajganj and Rangpur districts of Bangladesh”. *Veterinary Medicine and Science*. 9(2): 899–906. doi:10.1002/vms3.989.
87. Hosseini - Vasoukolaei, N., Oshaghi, M. A., Shayan, P., Vatandoost, H., Babamahmoudi, F., Yaghoobi-Ershadi, M. R., Telmadarraiy, Z., và Mohtarami, F. 2014. “*Anaplasma* infection in ticks, livestock and human in Ghaemshahr, Mazandaran province, Iran”. *J Arthropod-Borne Di*. <http://www.ncbi.nlm>.
88. Huynh, L. N., Diarra, A. Z., Pham, Q. L., Le-Viet, N., Berenger, J. M., Ho, V. H., Nguyen, X. Q., và Parola, P. 2021. “Morphological, molecular and maldi-tof ms identification of ticks and tick-associated pathogens in Vietnam”. *Plos Neglected Tropical Diseases*. 15(9). doi:10.1371/journal.pntd.0009813.
89. Inoue, M., Van Nguyen, D., Meas, S., Ohashi, K., Sen, S., Sugimoto, C., và Onuma, M. 2001. "Survey of *Theileria* parasite infection in cattle in Cambodia and Vietnam using piroplasm surface protein gene-specific polymerase chain reaction". *J. Vet. Med. Sci*. 63.
90. Islam, M. F., Rudra, P. G., Singha, S., Das, T., Gebrekidan, H., Uddin, M. B., và Chowdhury, M. Y. E. 2021. “Molecular epidemiology and characterization of *Theileria* in goats”. *Protist*. 172(2): 125804. doi:<https://doi.org/10.1016/j.protis.2021.125804>.

91. Jabbar, A., Abbas, T., Sandhu, Z. U., Saddiqi, H. A., Qamar, M. F., và Gasser, R. B. 2015. "Tick-Borne diseases of bovines in Pakistan: major scope for future research and improved control". *Parasites & vectors*. 8(1). doi:10.1186/s13071-015-0894-2.
92. Jacob, S. S., Sengupta, P. P., Paramanandham, K., Suresh, K. P., Chamuah, J. K., Rudramurthy, G. R., và Roy, P. 2020. "Bovine babesiosis: an insight into the global perspective on the disease distribution by systematic review and meta-analysis". *Veterinary parasitology*. 283: 109136. doi:10.1016/j.vetpar.2020.109136.
93. Jaimes-Dueñez, J., Triana-Chávez, O., Holguín-Rocha, A., Tobon-Castaño, A., và Mejía-Jaramillo, A. M. 2018. "Molecular surveillance and phylogenetic traits of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in cattle (*Bos taurus*) and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Colombia". *Parasites & vectors*. 11(1). doi:10.1186/s13071-018-3091-2.
94. Jirapattharasate, C., Adjou Moumouni, P. F., Cao, S., Iguchi, A., Liu, M., Wang, G., Zhou, M., Vudriko, P., Efstratiou, A., Changbunjong, T., Sungpradit, S., Ratanakorn, P., Moonarmart, W., Sedwisai, P., Weluwanarak, T., Wongsawang, W., Suzuki, H., và Xuan, X. 2017. "Molecular detection and genetic diversity of bovine *Babesia* spp., *Theileria orientalis*, and *Anaplasma marginale* in beef cattle in Thailand." *Parasitology research* 116(2): 751–62. doi:10.1007/s00436-016-5345-2.
95. Jonsson, N N, và M Hope. 2007. "Progress in the epidemiology and diagnosis of amitraz resistance in the cattle tick *Boophilus microplus*". *Veterinary Parasitology*. 146(3): 193–98. doi:https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.03.006.
96. Kalinowski ST. Evolutionary and statistical properties of three genetic distances. *Mol Ecol*. 2002 Aug;11(8):1263-73. doi: 10.1046/j.1365-294x.2002.01520.x. PMID: 12144649.
97. Kamau, J., Salim, B., Yokoyama, N., Kinyanjui, P., và Sugimoto, C. 2011. "Rapid discrimination và quantification of *Theileria orientalis* types using ribosomal DNA internal transcribed spacers". *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 11(2): 407–14. doi:10.1016/j.meegid.2010.11.016.

98. Kang, J. G., Kim, H. C., Choi, C. Y., Nam, H. Y., Chae, H. Y., Chong, S. T., Klein, T. A., Ko, S., và Chae, J. S. 2013. "Molecular detection of *Anaplasma*, bartonella, and borrelia species in ticks collected from migratory birds from Hong-Do Island, republic of Korea". *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)* 13(4): 215–25. doi:10.1089/vbz.2012.1149.
99. Karlsen, A., Vojtek B., Mojžišová J., Prokeš M., và Drážovská M. 2020. "Anaplasmosis in animals." *Folia Veterinaria*. 64(4): 17–26. doi:10.2478/fv-2020-0033.
100. Karshima, S.N., Ahmed, M. I., Kogi, C. A., và Iliya, P. S. 2022a. "Anaplasma phagocytophilum infection rates in questing and host-attached ticks: a global systematic review and meta-analysis". *Acta tropica*. 228: 106299. doi:10.1016/j.actatropica.2021.106299.
101. Karshima, S. N., Karshima, M. N., và Ahmed, M. I. 2022b. "Global meta-analysis on *Babesia* infections in human population: prevalence, distribution and species diversity". *Pathogens and Global Health* 116(4): 220–35. doi:10.1080/20477724.2021.1989185.
102. Kawahara, M., Rikihisa, Y., Lin, Q., Isogai, E., Tahara, K., Itagaki, A., Hiramitsu, Y., và Tajima, T. 2006. "Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia* sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan". *Applied and environmental microbiology*. 72(2): 1102–9. doi:10.1128/AEM.72.2.1102-1109.2006.
103. Khan, M., Khan, M., Khan, M., Batool, S., Tanaka, T., Aloufi, A., Almutairi, M. M., và Ali, A. 2024. "*Babesia bigemina* and *Theileria annulata* infections in cattle: molecular detection, phylogenetic analysis, and assessment of risk factors". *Tropical animal health and production* 56(8): 282. doi:10.1007/s11250-024-04122-8.
104. Khan, M. K., He, L., Hussain, A., Azam, S., Zhang, W. J., Wang, L. X., Zhang, Q. L., Hu, M., Zhou, Y. Q., và Zhao, J. 2013. "Molecular epidemiology of *Theileria annulata* and identification of 18S rRNA gene and ITS regions sequences variants in apparently healthy buffaloes and cattle in Pakistan". *Infection, genetics and evolution : journal of molecular*

epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases 13: 124–32.
doi:10.1016/j.meegid.2012.09.007.

105. Khukhuu, A., Lan, D. T., Long, P. T., Ueno, A., Li, Y., Luo, Y., Macedo, A. C., Matsumoto, K., Inokuma, H., Kawazu, S., Igarashi, I., Xuan, X., và Yokoyama, N. 2011. “Molecular epidemiological survey of *Theileria orientalis* in Thua Thien Hue province, Vietnam”. *The Journal of veterinary medical science* 73(5): 701–5. doi:10.1292/jvms.10-0472.
106. Kocan, K. M., de la Fuente, J., Guglielmone, A. A., và Meléndez, R. D. 2003. “Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle”. *Clinical Microbiology Reviews* 16(4): 698–712. doi:10.1128/CMR.16.4.698-712.2003.
107. Koonyosying, P., Rittipornlertrak, A., Chomjit, P., Sangkakam, K., Muenthaisong, A., Namboopha, B., Srisawat, W., Apinda, N., Singhla, T., và Sthitmatee, N. 2022. “Incidence of hemoparasitic infections in cattle from central and northern Thailand”. *PeerJ* 10. doi:10.7717/peerj.13835.
108. Kouam, M. K., Kantzoura, V., Gajadhar, A. A., Theis, J. H., Papadopoulos, E., và Theodoropoulos, G. 2010. “Seroprevalence of equine piroplasms and host-related factors associated with infection in Greece”. *Veterinary parasitology* 169(3–4): 273–78. doi:10.1016/j.vetpar.2010.01.011.
109. Laha, R., Das, M., và Sen, A. 2015. “Morphology, epidemiology, and phylogeny of *Babesia*: An overview”. *Tropical parasitology* 5(2): 94–100. doi:10.4103/2229-5070.162490.
110. Lakew, Biniam T, Steve Eastwood, và Stephen W Walkden-Brown. 2023. “Epidemiology and transmission of *Theileria orientalis* in Australasia.” *Pathogens (Basel, Switzerland)* 12(10). doi:10.3390/pathogens12101187.
111. Lakew, B. T., Kheravii, S. K., Wu, S. B., Eastwood, S., Andrew, N. R., Nicholas, A. H., và Walkden-Brown, S. W. 2021. “Detection and distribution of haematophagous flies and lice on cattle farms and potential role in the transmission of *Theileria orientalis*”. *Veterinary Parasitology* 298: 109516. doi:https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109516.

112. Lee, S. H., Park, S. Y., Jang, M. J., Choi, K. J., Lee, H. K., Cho, Y. U., Lee, Y. S., Kim, S. H., và Hwang, S. D. 2017. “Clinical isolation of *Anaplasma phagocytophilum* in South Korea”. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 97(6): 1686–90. doi:10.4269/ajtmh.16-0529.
113. Liu, J., Guan, G., Li, Y., Liu, A., Luo, J., và Yin, H. 2017. “A molecular survey of babesia species and detection of a new babesia species by dna related to *B. venatorum* from White Yaks in Tianzhu, China”. *Frontiers in microbiology*, 8, 419. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00419>
114. Liu, Z., Peasley, A. M., Yang, J., Li, Y., Guan, G., Luo, J., Yin, H., và Brayton, K. A. 2019. “The *Anaplasma ovis* genome reveals a high proportion of pseudogenes”. *BMC Genomics*. 20(1). doi:10.1186/s12864-018-5374-6.
115. Liyanagunawardena, N., Sivakumar, T., Kothalawala, H., Silva, S. S., Battsetseg, B., Lan, D. T., Inoue, N., Igarashi, I., và Yokoyama, N. 2016. “Type-Specific PCR assays for *Babesia bovis* MSA-1 genotypes in Asia: revisiting the genetic diversity in Sri Lanka, Mongolia, and Vietnam”. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases* 37: 64–69. doi:10.1016/j.meegid.2015.10.029.
116. M'ghirbi, Y., Bèji, M., Oporto, B., Khrouf, F., Hurtado, A., và Bouattour, A. 2016. “*Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in cattle in Tunisia”. *Parasites & vector*. 9(1): 556. doi:10.1186/s13071-016-1840-7.
117. Ma, Y., Jian, Y., Wang, G., Li, X., Wang, G., Hu, Y., Yokoyama, N., Ma, L., và Xuan, X. 2024. “Molecular identification of *Babesia* and *Theileria* infections in livestock in the Qinghai–Tibetan Plateau Area, China”. *Animals*. 14(3): 1–11. doi:10.3390/ani14030476.
118. Mans, B. J., Pienaar, R., và Latif, A. A. 2015. “A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology”. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 4(1): 104–18. doi:10.1016/j.ijppaw.2014.12.006.
119. Marie - Claude B, Kashefi J, Guermache F, Thuy TTD, và Lan Anh TN.

2024. “A new record of two haemaphysalis tick species on cattle in Northern Vietnam”. *The XXIIIrd European Society for Vector Ecology (ESOVE) conference. 14-17 Oct, France.*

120. Martinez-Velazquez, M., Rosario-Cruz, R., Castillo-Herrera, G., Flores-Fernandez, J. M., Alvarez, A. H., và Lugo-Cervantes, E. 2011. “Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* (lamiales: verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (lamiales: lamiaceae), and *Allium sativum* (liliiales: liliaceae) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (acari: ixodidae)”. *Journal of medical entomology*. 48(4): 822–27. doi:10.1603/me10140.
121. McKeever Declan J. 2009. “Bovine immunity - a driver for diversity in *Theileria* parasites?”. *Trends in parasitology*. 25(6): 269–76. doi:10.1016/j.pt.2009.03.005.
122. Michel, A. O., Mathis, A., và Ryser-Degiorgis, M. P. 2014. “*Babesia* spp. in european wild ruminant species: parasite diversity and risk factors for infection”. *Veterinary Research*. 45–65. <http://www.veterinaryresearch.org/content/45/1/65>.
123. Miranda, E. A., Han, S. W., Cho, Y. K., Choi, K. S., và Chae, J. S. 2021. “Co-Infection with *Anaplasma* species and novel genetic variants detected in cattle and goats in the republic of Korea”. *Pathogens* 10(1): 1–14. doi:10.3390/pathogens10010028.
124. Morganti, G., Gavaudan, S., Canonico, C., Ravagnan, S., Olivieri, E., Diaferia, M., Marenzoni, M. L., Antognoni, M. T., Capelli, G., Silaghi, C., và Veronesi, F. 2017. “Molecular survey on rickettsia spp., *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* ticks infesting dogs in central Italy”. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)* 17(11): 743–48. doi:10.1089/vbz.2017.2154.
125. Moura, L. M. D., Farias, I. F., Sá, J. C. B., Souza, D. D. S. E., Santos, P. T. T., Freschi, C. R., Oliveira, J. B., Moraes-Filho, J., Machado, R. Z., Azevedo, S. S., và Horta, M. C. 2024. “Occurrence of *Babesia* and *Anaplasma* in ruminants from the Catimbau National Park, semiarid region of northeast Brazil.” *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* =

Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria 33(3): e005224. doi:10.1590/S1984-29612024062.

126. Nair, A. S., Ravindran, R., Lakshmanan, B., Sreekumar, C., Kumar, S. S., Raju, R., Tresamol, P. V., Vimalkumar, M. B., và Saseendranath, M. R. 2013. “Bovine carriers of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma bovis* in South India”. *Tropical biomedicine* 30(1): 105–12.
127. Nehra, A. K., Kumari, A., Moudgil, A. D., và Vohra, S. 2022. “An insight into misidentification of the small-subunit ribosomal RNA (18S RRNA) gene sequences of *Theileria* spp. as *Theileria annulata*”. *BMC veterinary research* .18(1): 454. doi:10.1186/s12917-022-03540-w.
128. Nehra, A. K., Kumari, A., Moudgil, A. D., và Vohra, S. 2024. “Revisiting the genotypes of *Theileria equi* based on the V4 hypervariable region of the 18S RRNA gene”. *Frontiers in Veterinary Science*. 11. doi:10.3389/fvets.2024.1303090.
129. Nene, V, Morzaria S, và Bishop R. 1998. “Organisation and informational content of the *Theileria parva* genome”. *Molecular and biochemical parasitology* 95(1): 1–8. doi:10.1016/s0166-6851(98)00101-7.
130. Nguyen Thi Hong Chien, Thi Lan Nguyen , Khanh Linh Bui, Tho Van Nguyen, Thanh Hoa Le. 2019. “*Anaplasma marginale* and *A. platys* characterized from dairy and indigenouse cattle and dogs in northern Vietnam”. *Korean Journal of Parasitology*. 57(1): 43–48. doi:10.3347/kjp.2019.57.1.43.
131. Niaz, S., Ur Rahman, Z., Ali, I., Cossío-Bayúgar, R., Amaro-Estrada, I., Alanazi, A. D., Khattak, I., Zeb, J., Nasreen, N., và Khan, A. 2021. “Molecular prevalence, characterization and associated risk factors of *Anaplasma* spp. and *Theileria* spp. and small ruminants in northern Pakistan”. *Parasite*. 28. doi:10.1051/parasite/2020075.
132. Nithikathkul, C., Polseela, P., Changsap, B., và Leemingsawat, S. 2002. “Ixodid ticks on domestic animals in Samut Prakan Province, Thailand”. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*. 33 Suppl 3: 41–44.

133. Obeta, S. S., Ibrahim, B., Lawal, I. A., Natala, J. A., Ogo, N. I., và Balogun, E. O. 2020. "Prevalence of canine babesiosis and their risk factors among asymptomatic dogs in the Federal Capital Territory, Abuja, Nigeria". *Parasite epidemiology and control*. 11: e00186. doi:<https://doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00186>.
134. Odongo, D. O., Sunter, J. D., Kiara, H. K., Skilton, R. A., và Bishop, R. P. 2010. "A nested PCR assay exhibits enhanced sensitivity for detection of *Theileria parva* infections in bovine blood samples from carrier animals." *Parasitology research*. 106(2): 357–65. doi:10.1007/s00436-009-1670-z.
135. Okafor, C. C., Collins, S. L., Daniel, J. A., Harvey, B., Coetzee, J. F., và Whitlock, B. K. 2018. "Factors associated with seroprevalence of bovine anaplasmosis in Texas". *Veterinary parasitology, regional studies and reports*. 14: 32–40. doi:10.1016/j.vprsr.2018.08.004.
136. Okal, M. N., Odhiambo, B. K., Otieno, P., Bargul, J. L., Masiga, D., Villinger, J., và Kalayou, S. 2020. "Anaplasma and Theileria pathogens in cattle of Lambwe Valley, Kenya: A case for pro-active surveillance in the wildlife–livestock interface". *Microorganisms*. 8(1830): 1–15. doi:10.3390/microorganisms8111830.
137. Ola-Fadunsin, S. D., Sharma, R. S. K., Abdullah, D. A., Gimba, F. I., Abdullah, F. F. J., và Sani, R. A. 2021. "The molecular prevalence, distribution and risk factors associated with *Babesia bigemina* infection in Peninsular Malaysia". *Ticks and tick-borne diseases* 12(3): 101653. doi:10.1016/j.ttbdis.2021.101653.
138. Ota, N., Mizuno, D., Kuboki, N., Igarashi, I., Nakamura, Y., Yamashina, H., Hanzaike, T., Fujii, K., Onoe, S., Hata, H., Kondo, S., Matsui, S., Koga, M., Matsumoto, K., Inokuma, H., & Yokoyama, N. 2009. Epidemiological survey of *Theileria orientalis* infection in grazing cattle in the eastern part of Hokkaido, Japan. *The Journal of veterinary medical science*, 71(7), 937–944. <https://doi.org/10.1292/jvms.71.937>
139. Paramanandham, K., Mohankumar, A., Puttahonnappa Suresh, K., Susan Jacob, S., & Roy, P. 2019. Prevalence of *Anaplasma* species in India and the World in dairy animals: A systematic review and meta-analysis. *Research*

in veterinary science. 123, 159–170. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.01.013>

140. Penzhorn, Banie L. 2006. “Babesiosis of wild carnivores and ungulates.” *Veterinary parasitology*. 138(1–2): 11–21. doi:10.1016/j.vetpar.2006.01.036.
141. Rar, V., Tkachev, S., và Tikunova, N. 2021. “Genetic diversity of Anaplasma Bacteria: twenty years later”. *Infection, Genetics and Evolution*. 91. doi:10.1016/j.meegid.2021.104833.
142. Rodríguez, S. D., García Ortiz, M. A., Jiménez Ocampo, R., và Vegay Murguía, C. A. 2009. “Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico.” *Infection, Genetics and Evolution*. 9(6): 1092–1101. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.09.007>.
143. Rodriguez V., Roger I., Laerte G., Adalberto P. L., Humberto V., Felipe T. - A., Hugo F., Dora R. S., Rodrigo R. C., Fabián S., Dionisio G. C., 2017. “Potential Economic Impact Assessment for Cattle Parasites in Mexico”. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 8: 61–74. doi:10.22319/rmcp.v8i1.4305.
144. Roy, B. C., Krücken, J., Ahmed, J. S., Majumder, S., Baumann, M. P., Clausen, P. H., và Nijhof, A. M. 2018. “Molecular identification of tick-borne pathogens infecting cattle in mymensingh district of Bangladesh reveals emerging species of *Anaplasma* and *Babesia*.” *Transboundary and emerging diseases* 65(2): e231–42. doi:10.1111/tbed.12745.
145. Salih, D A, El Hussein A M, and Singla L D. 2015. “Diagnostic approaches for tick-borne haemoparasitic diseases in livestock.” *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health* 7(2): 45–56.
146. Santos Dos, T. M., Roier, E. C. R., Pires, M. S., Santos, H. A., Vilela, J. A. R., Peckle, M., Paulino, P. G., Baldani, C. D., và Massard, C. L. 2019. “Molecular evidence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Theileria equi* coinfection in horses from Rio De Janeiro, Brazil.” *Veterinary and Animal Science* 7(March): 100055. doi:10.1016/j.vas.2019.100055.
147. Schnittger, L., Rodriguez, A. E., Florin-Christensen, M., và Morrison, D. A. 2012. “Babesia: A world emerging.” *Infection, Genetics and Evolution* 12(8): 1788–1809. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.004>.

148. Seerintra, T., Saraphol, B., Thanchomnang, T., và Piratae, S. 2023. “Molecular prevalence of *Anaplasma* spp. in cattle and assessment of associated risk factors in Northeast Thailand”. *Veterinary World* 16: 1702–7. doi:10.14202/vetworld.2023.1702-1707.
149. Showler, A. T., Osbrink, W. L. A., và Lohmeyer, K. H. 2014. “Horn Fly, *Haematobia Irritans Irritans* (L.), Overwintering”. *International Journal of Insect Sciences* 6: 43–47. doi:10.4137/IJIS.S15246.RECEIVED.
150. Singh, A., Singh, H., Singh, N. K., Singh, N. D., và Rath, S. S. 2014. “Canine babesiosis in northwestern India: Molecular detection and assessment of risk factors.” *BioMed research international* 2014: 741785. doi:10.1155/2014/741785.
151. Sivakumar, T., Lan, D. T. B., Long, P. T., Viet, L. Q., Weerasooriya, G., Kume, A., Suganuma, K., Igarashi, I., và Yokoyama, N. 2018. “Serological and molecular surveys of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* among native cattle and cattle imported from Thailand in Hue, Vietnam.” *Journal of Veterinary Medical Science* 80(2): 333–36. doi:10.1292/jvms.17-0549.
152. Sivakumar, T., Lan, D. T., Long, P. T., Yoshinari, T., Tattiyapong, M., Guswanto, A., Okubo, K., Igarashi, I., Inoue, N., Xuan, X., và Yokoyama, N. 2013. “PCR detection and genetic diversity of bovine hemoprotozoan parasites in Vietnam”. *Journal of Veterinary Medical Science*. 75(11): 1455–62. doi:10.1292/jvms.13-0221.
153. Spickler, Anna Rovid. 2007. *Rhipicephalus microplus* Archives. <https://entomologytoday.org/tag/rhipicephalus-microplus/>.
154. Spickler, Anna Rovid. 2019. “Theileriosis in cattle and small ruminants” *The center for food security and Public health*: 1–8. www.cfsph.iastate.edu.
155. Springer, A., Jordan, D., Höltershinken, M., Barutzki, D., và Strube, C. 2024. “Endemisation and management of *Babesia divergens* on a beef production farm”. *Current research in parasitology and vector-borne diseases* 6: 100188. doi:10.1016/j.crpvbd.2024.100188.
156. Stuen, S., Granquist, E. G., và Silaghi, C. 2013. “*Anaplasma phagocytophilum*-a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies”. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 3: 31.

157. Tamura, Koichiro, Glen Stecher, Daniel Peterson, Alan Filipski, and Sudhir Kumar. 2013. "MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0.". *Molecular biology and evolution* 30(12): 2725–29. doi:10.1093/molbev/mst197.
158. Tan, L. P., Hamdan, R. H., Hassan, B. N. H., Reduan, M. F. H., Okene, I. A., Loong, S. K., Khoo, J. J., Samsuddin, A. S., và Lee, S. H. 2021. "Rhipicephalus tick: a contextual review for Southeast Asia". *Pathogens*. 10(7): 1–20. doi:10.3390/pathogens10070821.
159. Thrusfield, M. 2005. *Veterinary Epidemiology*. Blackwell Oxford.
160. Tirosh-Levy, S., Gottlieb, Y., Fry, L. M., Knowles, D. P., và Steinman, A. 2020. "Twenty years of Equine piroplasmosis research: global distribution, molecular diagnosis, and phylogeny". *Pathogens*. 9(11): 1–32. doi:10.3390/pathogens9110926.
161. Tumwebaze, M. A., Byamukama, B., Tayebwa, D. S., Byaruhanga, J., Angwe, M. K., Galon, E. M., Liu, M., Lee, S. H., Ringo, A. E., Adjou Moumouni, P. F., Li, J., Li, Y., Ji, S., Vudriko, P., và Xuan, X. 2020. "First molecular detection of *Babesia ovis*, *Theileria* spp., *Anaplasma* spp., and *Ehrlichia ruminantium* in goats from Western Uganda". *Pathogens (Basel, Switzerland)*. 9(11). doi:10.3390/pathogens9110895.
162. Valente, D., Gomes, J., Coelho, A. C., và Carolino, I. 2022. "Genetic resistance of bovines to Theileriosis". *Animals* 12(21). doi:10.3390/ani12212903.
163. Vannier, E. G., Diuk-Wasser, M. A., Ben Mamoun, C., và Krause, P. J. 2015. "Babesiosis". *Infectious disease clinics of North America* 29(2): 357–70. doi:10.1016/j.idc.2015.02.008.
164. Vianna, Ana Muñoz, Ana Paula de Souza Stori de Lara, Guilherme Borges Weege, Rodrigo Casquero Cunha and Fábio Pereira Leivas Leite. 2018. "Equine Theileriosis: Review". *Annals of Reviews and Research*. 3(4). doi:10.19080/arr.2018.03.555620.
165. Víchová, B., Miterpáková, M., và Iglódyová, A. 2014. "Molecular detection of co-infections with *Anaplasma phagocytophilum* and/or *Babesia canis* in dirofilaria-positive dogs from Slovakia". *Veterinary parasitology*. 203(1–2): 167–72. doi:10.1016/j.vetpar.2014.01.022.

166. Vudriko, P., Okwee-Acai, J., Tayebwa, D. S., Byaruhanga, J., Kakooza, S., Wampande, E., Omara, R., Muhindo, J. B., Tweyongyere, R., Owiny, D. O., Hatta, T., Tsuji, N., Umemiya-Shirafuji, R., Xuan, X., Kanameda, M., Fujisaki, K., và Suzuki, H. 2016. “Emergence of multi-acaricide resistant *Rhipicephalus* ticks and its implication on chemical tick control in Uganda”. *Parasites & vectors*. 9: 4. doi:10.1186/s13071-015-1278-3.
167. Walker, Alan. 2003. *Ticks of Domestic Animals in Africa: A Guide to Identification of Species*. Bioscience Reports.
168. Wang, J., Chen, K., Ren, Q., Zhang, S., Yang, J., Wang, Y., Nian, Y., Li, X., Liu, G., Luo, J., Yin, H., và Guan, G. 2023. “Comparative genomics reveals unique features of two *Babesia motasi* subspecies: *Babesia motasi* lintanensis and *Babesia motasi* hebeiensis”. *International Journal for Parasitology*. 53(5–6): 265–83. doi:10.1016/j.ijpara.2023.02.005.
169. Wang, K., Yan, Y., Zhou, Y., Zhao, S., Jian, F., Wang, R., Zhang, L., và Ning, C. 2021. “Seasonal dynamics of *Anaplasma* spp . in goats in warm-temperate zone of China”. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 12(3): 101673. doi:10.1016/j.ttbdis.2021.101673.
170. Watts, J G, Playford M C, và Hickey K L. 2016. “*Theileria Orientalis*: A Review”. *New Zealand veterinary journal*. 64(1): 3–9. doi:10.1080/00480169.2015.1064792.
171. Weerasooriya, G., Sivakumar, T., Lan, D. T., Long, P. T., Takemae, H., Igarashi, I., Inoue, N., và Yokoyama, N. 2016. “Epidemiology of bovine hemoprotozoa parasites in cattle and water buffalo in Vietnam”. *Journal of Veterinary Medical Science*. 78(8): 1361–67. doi:10.1292/jvms.16-0099.
172. WOA. 2020. “*Theileriosis*”.
173. WOA. 2021. “*Bovine Babesiosis*”. Terrestrial Manual. Chapter 3.4.2.
174. WOA. 2024. “*Bovine Anaplasmosis*”. In Terrestrial Manual. Chapter 3.4.1.
175. Yam, J., Bogema, D. R., Micallef, M. L., Djordjevic, S. P., và Jenkins, C. 2022. “Complete genomes of *Theileria orientalis* chitose and buffeli genotypes reveal within species translocations and differences in ABC Transporter content”. *Pathogens*. 11(7). doi:10.3390/pathogens11070801.

176. Yang, J., Han, R., Liu, Z., Niu, Q., Guan, G., Liu, G., Luo, J., và Yin, H. 2017. "Insight into the genetic diversity of *Anaplasma marginale* in cattle from ten provinces of China". *Parasites & vectors*. 10(1): 1–7. doi:10.1186/s13071-017-2485-x.
177. Yokoyama, N., Sivakumar, T., Tuvshintulga, B., Hayashida, K., Igarashi, I., Inoue, N., Long, P. T., và Lan, D. T. B. 2015. "Genetic variations in merozoite surface antigen genes of *Babesia bovis* detected in Vietnamese cattle and water buffaloes". *Infection, Genetics and Evolution* 30: 288–95. doi:10.1016/j.meegid.2014.12.035.
178. Zeb, J., Shams, S., Din, I. U., Ayaz, S., Khan, A., Nasreen, N., Khan, H., Khan, M. A., và Senbill, H. 2020. "Molecular epidemiology and associated risk factors of *Anaplasma marginale* and *Theileria annulata* in cattle from North-Western Pakistan". *Veterinary parasitology*. 279: 109044. doi:10.1016/j.vetpar.2020.109044.
179. Zeb, J, Baolin Song, Muhammad Umair Aziz, Sabir Hussain, Riaz Zarin, and Olivier Sparagano. 2022. "Diversity and distribution of *Theileria* species and their vectors in ruminants from India, Pakistan and Bangladesh". *Diversity* 14(2). doi:10.3390/d14020082.
180. Zhang, J., Kelly, P., Li, J., Xu, C., và Wang, C. 2015. "Molecular detection of *Theileria* spp. in livestock on five Caribbean Islands". *BioMed Research International* 2015. doi:10.1155/2015/624728.
181. Zhang, Y., Lv, Y., Zhang, F., Zhang, W., Wang, J., Cui, Y., Wang, R., Jian, F., Zhang, L., và Ning, C. 2016. "Molecular and phylogenetic analysis of *Anaplasma* spp. in sheep and goats from six provinces of China". *Journal of veterinary science*. 17(4): 523–29. doi:10.4142/jvs.2016.17.4.523.
182. Zhang, Y., Cui, Y., Sun, Y., Jing, H., và Ning, C. 2020. "Novel *Anaplasma* variants in small ruminants from central China". *Frontiers in Veterinary Science* .7(November). doi:10.3389/fvets.2020.580007.
183. Zhang, Y., Shi, Q., Laven, R., Li, C., He, W., Zheng, H., Liu, S., Lu, M., Yang, D. A., Guo, Q., và Chahan, B. 2023. "Prevalence and genetic diversity of *Theileria equi* from horses in Xinjiang Uygur Autonomous region, China". *Ticks and tick-borne diseases*. 14(4): 102193. doi:10.1016/j.ttbdis.2023.102193.
184. Zhou, S., Huang, L., Lin, Y., Bhowmick, B., Zhao, J., Liao, C., Guan, Q., Wang, J.,

và Han, Q. 2023. “Molecular surveillance and genetic diversity of *Anaplasma* spp. in cattle (*bos taurus*) and goat (*capra aegagrus hircus*) from Hainan Island/Province, China”. *BMC Veterinary Research*. 19(1). doi:10.1186/s12917-023-03766-2.

185. Zhou, Z., Li, K., Sun, Y., Shi, J., Li, H., Chen, Y., Yang, H., Li, X., Wu, B., Li, X., Wang, Z., Cheng, F., và Hu, S. 2019. “Molecular epidemiology and risk factors of *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. and *Theileria* spp. infection in cattle in Chongqing, China”. *Plos One*. 14(7). doi:10.1371/journal.pone.0215585.

Tài liệu Internet

186. CDC. 2017. “Ticks”. Ngày truy cập 9/8/2024. [Www.Cdc.Gov/Parasites/](http://www.Cdc.Gov/Parasites/).
187. Cổng thông tin điện tử Thành phố Hà Nội. 24/04/2015. <https://hanoi.gov.vn/dia-ly-dia-hinh/anh-huong-cua-dieu-kien-tu-nhien-den-ha-noi-42725833.htm>
188. Cổng thông tin điện tử Thái Nguyên. Điều kiện tự nhiên và tài nguyên thiên nhiên tỉnh Thái Nguyên. 28/1/2010. https://thainguyen.gov.vn/dieu-kien-tu-nhien/-/asset_publisher/Z79abUzQC1Ql/content/-ieu-kien-tu-nhien-va-tai-nguyen-thien-nhien-tinh-thai-nguyen?inheritRedirect=true.
189. Địa chí Sơn La. 2020. Cổng thông tin điện tử tỉnh Sơn La. Điều kiện tự nhiên 01/01/2022. <https://sonla.gov.vn/dieu-kien-tu-nhien/dia-hinh-627863>
190. Tổng cục thống kê năm 2024. (Nguồn: TCTK, thống kê sơ bộ, tháng 4/2024). *Thống kê chăn nuôi Việt Nam năm 2023 về số lượng đầu con và sản phẩm gia súc, gia cầm, vật nuôi khác*. (<https://channuoivietnam.com>).
191. National Center for Biotechnology Information. “National Library of Medicine”. Ngày truy cập 9/8/2024. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>.
192. National Center for Biotechnology Information. “National Library of Medicine”. Ngày truy cập 9/8/2024. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>.
193. WOA. 2025a. “WOAH reference laboratory for bovine babesiosis”. Ngày truy cập 9/05/2025. <https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/woah-rl-bb-bb>.
194. WOA. 2025b. “WOAH reference laboratory for equine piroplasmiasis”. Ngày truy cập 9/05/2025. <https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/woah-rl-ep-ep>.

Phụ lục 1. Bảng câu hỏi thu thập thông tin

BẢNG HỎI DÀNH CHO HỘ GIA ĐÌNH THAM GIA NGHIÊN CỨU

Nhiệm vụ Nghị định thư “Nghiên cứu dịch tễ học liên quan đến biến đổi khí hậu đối với một số bệnh ký sinh trùng đường máu mới nổi trên động vật nhai lại và ngựa tại miền Bắc Việt Nam”

Mã số NĐT/HU/22/02.

1. Tên chủ hộ:.....
2. Địa chỉ:.....
3. Trình độ học vấn: Dưới THPT THPT Đại học Sau đại học
4. Nghề nghiệp: Nông dân Công nhân Cán bộ LĐ tự do
5. Vật nuôi: Trâu Bò Dê Ngựa Chó Mèo
6. Loài lấy mẫu: Trâu Bò Dê Ngựa
7. Thông tin vật nuôi:

Vật nuôi	Tuổi (tháng)	Giới tính		Giống		
		Đực <input type="checkbox"/>	Cái <input type="checkbox"/>	Thuần chủng <input type="checkbox"/>	Lai <input type="checkbox"/>	Nhập khẩu <input type="checkbox"/>
Trâu		Đực <input type="checkbox"/>	Cái <input type="checkbox"/>	Thuần chủng <input type="checkbox"/>	Lai <input type="checkbox"/>	Nhập khẩu <input type="checkbox"/>
Bò		Đực <input type="checkbox"/>	Cái <input type="checkbox"/>	Thuần chủng <input type="checkbox"/>	Lai <input type="checkbox"/>	Nhập khẩu <input type="checkbox"/>
Dê		Đực <input type="checkbox"/>	Cái <input type="checkbox"/>	Thuần chủng <input type="checkbox"/>	Lai <input type="checkbox"/>	Nhập khẩu <input type="checkbox"/>
Ngựa		Đực <input type="checkbox"/>	Cái <input type="checkbox"/>	Thuần chủng <input type="checkbox"/>	Lai <input type="checkbox"/>	Nhập khẩu <input type="checkbox"/>

8. Điều kiện vệ sinh: Tốt Trung bình Kém
9. Vật nuôi đã từng bị nhiễm ký sinh trùng máu?
Trâu Bò Dê Ngựa Chó Mèo
10. Mẫu bệnh phẩm đã lấy:
- Mẫu máu: Trâu Bò Dê Ngựa
- Ve: Trâu Bò Dê Ngựa
- Ruồi: Trâu Bò Dê Ngựa

Ngày:

Chủ hộ
(Ký và ghi rõ họ tên)

Điều tra viên
(Ký và ghi rõ họ tên)

Phụ lục 2. Kỹ thuật chiết tách DNA tổng số

- DNA tổng số của các loài ký sinh trùng đường máu đã được chiết tách từ máu chống đông thu thập, sử dụng kit chiết tách DNA công nghệ cột (QIAamp DNA Blood Kits, Qiagen - Mỹ; ref: 51306). Trình tự các bước chiết tách DNA từ máu trâu, bò, dê và ngựa chống đông theo hướng dẫn của nhà sản xuất như sau:

(1) Bước 1: Hút 20 μ L Qiagen Protease (Protein K) vào ống 1,5 ml.

(2) Bước 2: Tiếp tục nhỏ 200 μ L mẫu máu đã được lắc đều ở bước chuẩn bị vào ống 1,5 ml ở Bước 1.

(3) Bước 3: Nhỏ thêm 200 μ L dung dịch AL vào mẫu tại Bước 2, lắc đều mẫu trên máy Vortex Genie 2 ở tốc độ 5.000 vòng/15 giây.

(4) Bước 4: Ủ ống mẫu đã chuẩn bị tại Bước 3 ở 56 °C trong 10 phút trong máy Water Bath (máy Water Bath cần được kiểm tra mực nước, bật và đặt máy ở nhiệt độ 56 °C trước khi thực hiện chiết tách DNA ít nhất là 2h).

(5) Bước 5: Ly tâm ống mẫu đã ủ nhiệt tại Bước 4 trong máy ly tâm Eppendorf Centrifuge 5415D ở tốc độ 5.000 vòng trong vòng 5 giây.

(6) Bước 6: Nhỏ thêm 200 μ L cồn Ethanol 100% (Merk, Đức) vào ống mẫu ở Bước 5; lắc mẫu trên máy Vortex Genie 2 ở tốc độ 5.000 vòng/15 giây. Sau đó ly tâm ống mẫu trong máy ly tâm ở tốc độ 5.000 vòng trong vòng 5 giây.

(7) Bước 7: Nhỏ toàn bộ hỗn dịch mẫu tại Bước 6 lên cột QiAamp® Mini Spin Column được cung cấp sẵn trong bộ kit chiết tách DNA (khi nhỏ mẫu lên cột, tuyệt đối không để dây mẫu ra miệng cột hoặc chọc đầu tip vào mạng lọc của cột);

Sau khi nhỏ mẫu lên cột xong, đóng nắp cột và ly tâm cột ở tốc độ 8.000 vòng/phút trong 60 giây trong máy ly tâm. Bỏ ống 2 ml bên dưới cột có chứa dung dịch ly tâm; sau đó chuyển cột sang ống 2 ml mới được cung cấp sẵn trong bộ kit chiết tách DNA.

(8) Bước 8: Mở nắp cột, nhỏ 500 μ L AW1 vào cột đã ly tâm ở Bước 7 (khi nhỏ dung dịch AW1 vào cột, tuyệt đối không để dây mẫu ra miệng cột hoặc chọc đầu tip vào màng lọc của cột);

Sau khi nhỏ dung dịch AW1 lên cột xong, đóng nắp cột và ly tâm cột ở tốc độ 8.000 vòng/phút trong 60 giây trong máy ly tâm Eppendorf Centrifuge 5415D; Bỏ ống 2 ml bên dưới cột có chứa dung dịch ly tâm; sau đó chuyển cột sang ống 2 ml mới được cung cấp sẵn trong bộ kit chiết tách DNA.

(9) Bước 9: Mở nắp cột nhỏ 500 μ L AW2 vào cột đã ly tâm ở Bước 7 (khi nhỏ dung dịch AW2 vào cột, tuyệt đối không để dây mẫu ra miệng cột hoặc chọc đầu tip vào mạng lọc của cột). Sau khi nhỏ dung dịch AW2 lên cột xong, đóng nắp cột và ly tâm cột ở tốc độ 14.000 vòng/phút trong 3 phút. Bỏ ống 2 ml bên dưới cột có chứa dung dịch ly tâm.

(10) Bước 10: Chuyển cột sang ống 2 ml mới (không có sẵn trong kit chiết tách DNA) và ly tâm cột ở tốc độ 14.000 vòng/phút trong 01 phút.

(11) Bước 11: Chuyển cột ở Bước 10 sang ống 2 ml mới (không có sẵn trong kit chiết tách DNA) và nhỏ 200 μ L dung dịch AE lên cột và ủ cột ở nhiệt độ phòng trong 1 phút. Sau đó ly tâm cột ở tốc độ 8000 vòng trong 1 phút. Bỏ cột ở phía trên và thu lại ống chứa dung dịch ly tâm chứa DNA.

(12) Bước 12: Bảo quản ống DNA ở -30 °C.

Phụ lục 3. Kỹ thuật tinh sạch sản phẩm PCR

Sản phẩm nPCR đạt yêu cầu (có vạch sáng rõ trên bản thạch) được tinh sạch (hình 2.2) khỏi dung dịch TBE sử dụng kit tinh sạch GenCatch™ Advanced PCR Cleanup Kit (Epoch Life Science - Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

(1) Bước 1: Thêm PB vào sản phẩm phản ứng PCR theo tỷ lệ 5:1 và trộn đều. Trường hợp màu của hỗn hợp là cam hoặc tím, thêm 10 μ L natri axetat 3M, pH 5,0 và trộn đều. Hỗn hợp chuyển sang màu vàng.

(2) Bước 2: Đặt cột QIAquick vào ống thu thập 2 ml được cung cấp sẵn.

(3) Bước 3: Để DNA liên kết, cho mẫu vào cột QIAquick và ly tâm trong 30 – 60 giây cho đến khi tất cả các mẫu đi qua cột. Loại bỏ phần chảy ra và đặt lại cột QIAquick vào cùng một ống.

(4) Bước 4: Để rửa, nhỏ 750 μ L dung dịch đệm PE vào cột QIAquick ly tâm trong 30 - 60 giây. Loại bỏ dung dịch chảy ra và đặt cột QIAquick trở lại vào cùng một ống.

(5) Bước 5: Ly tâm cột QIAquick một lần nữa trong ống thu thập 2 ml được cung cấp trong 1 phút để loại bỏ dung dịch đệm rửa còn sót lại.

(6) Bước 6: Đặt mỗi cột QIAquick vào một ống ly tâm sạch 1,5 ml.

(7) Bước 7: Để rửa giải phóng DNA, nhỏ 50 μ L Buffer EB (10 mM Tris-HCl, pH 8,5) hoặc nước (pH 7,0 - 8,5) vào giữa màng QIAquick và ly tâm cột trong 1 phút. Để tăng nồng độ DNA, nhỏ 30 μ L dung dịch đệm rửa vào giữa màng QIAquick, để yên cột trong 1 phút rồi ly tâm.

(8) Bước 8: Nếu DNA tinh khiết được phân tích trên gel, nhỏ 1 thể tích Loading Dye vào 5 thể tích DNA tinh khiết. Trộn dung dịch bằng pipet lên và xuống trước khi cho vào gel.

Phụ lục 4. Danh sách định danh các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp.

Bảng 1. Danh sách định danh loài *Anaplasma* spp.

TT	Tên loài	Vật chủ	ID DNA	Tỉnh/TP	Số đăng ký Genbank
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Bò	3HM-B13	Hà Nội	PP987109
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Bò	3HM-B48	Hà Nội	PP987110
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Bò	3TM-B01	Thái Nguyên	PP987111
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Bò	3HM-B30	Hà Nội	PP987112
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Bò	2HM-B09	Hà Nội	PP987113
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Bò	2HM-B31	Hà Nội	PP987114
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Bò	2HM-B23	Hà Nội	PP987115
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Bò	2HM-B04	Hà Nội	PP987116
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Dê	2HM-D32	Hà Nội	PP987117
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Trâu	2HM-T19	Hà Nội	PP987118
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Bò	2HM-B24	Hà Nội	PP987119
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Trâu	3TM-T32	Thái Nguyên	PP987120
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Trâu	3TM-T35	Thái Nguyên	PP987121
1	<i>Anaplasma marginale</i>	Bò	3TM-B32	Thái Nguyên	PP987122
2	<i>Anaplasma platys</i>	Trâu	2HM-T16	Hà Nội	PP987123
2	<i>Anaplasma platys</i>	Dê	2HM-D50	Hà Nội	PP987124
2	<i>Anaplasma platys</i>	Bò	2HM-B15	Hà Nội	PP987125
2	<i>Anaplasma platys</i>	Bò	2HM-T45	Hà Nội	PP987126
2	<i>Anaplasma platys</i>	Dê	2HM-D02	Hà Nội	PP987127
2	<i>Anaplasma platys</i>	Dê	2TM-D16	Thái Nguyên	PP987128
2	<i>Anaplasma platys</i>	Trâu	2TM-T30	Thái Nguyên	PP987129
2	<i>Anaplasma platys</i>	Trâu	2TM-T39	Thái Nguyên	PP987130
2	<i>Anaplasma platys</i>	Bò	2TM-B11	Thái Nguyên	PP987131
2	<i>Anaplasma platys</i>	Bò	2LM-B29	Sơn La	PP987132

TT	Tên loài	Vật chủ	ID DNA	Tỉnh/TP	Số đăng ký Genbank
2	<i>Anaplasma platys</i>	Bò	2LM-B04	Sơn La	PP987133
2	<i>Anaplasma platys</i>	Dê	2LM-D04	Sơn La	PP987134
2	<i>Anaplasma platys</i>	Trâu	2LM-T06	Sơn La	PP987135
2	<i>Anaplasma platys</i>	Bò	3HM-B12	Hà Nội	PP987136
2	<i>Anaplasma platys</i>	Bò	3HM-B05	Hà Nội	PP987137
2	<i>Anaplasma platys</i>	Dê	3HM-D16	Hà Nội	PP987138
2	<i>Anaplasma platys</i>	Ngựa	3TM-N04	Thái Nguyên	PP987139
2	<i>Anaplasma platys</i>	Dê	3TM-D40	Thái Nguyên	PP987140
2	<i>Anaplasma platys</i>	Trâu	3TM-T02	Thái Nguyên	PP987141
2	<i>Anaplasma platys</i>	Bò	3TM-B28	Thái Nguyên	PP987142
2	<i>Anaplasma platys</i>	Bò	3LM-B36	Sơn La	PP987143
2	<i>Anaplasma platys</i>	Dê	3LM-D37	Sơn La	PP987144
2	<i>Anaplasma platys</i>	Trâu	3LM-T13	Sơn La	PP987145
2	<i>Anaplasma platys</i>	Trâu	3LM-T23	Sơn La	PP987146
3	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Trâu	2TM-T26	Thái Nguyên	PP987147
3	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Bò	3HM-B43	Hà Nội	PP987148
3	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Dê	3LM-D11	Sơn La	PP987149
4	<i>Anaplasma boolense</i>	Trâu	2TM-T40	Thái Nguyên	PP987331
4	<i>Anaplasma boolense</i>	Dê	2TM-D39	Thái Nguyên	PP987332
4	<i>Anaplasma boolense</i>	Bò	2TM-B41	Thái Nguyên	PP987333
4	<i>Anaplasma boolense</i>	Bò	2TM-B50	Thái Nguyên	PP987334
4	<i>Anaplasma boolense</i>	Trâu	2TM-T08	Thái Nguyên	PP987335
5	<i>Anaplasma sinensis</i>	Trâu	3LM-T43	Sơn La	PP987336
5	<i>Anaplasma sinensis</i>	Trâu	3TM-T31	Thái Nguyên	PP987337
Tổng					48

Bảng 2. Danh sách định danh loài *Babesia* spp.

TT	Tên loài	Vật chủ	Tỉnh/TP	Số đăng ký Genbank	
				Gen 18S	ITS2
1	<i>Babesia bovis</i>	Ngựa	Hà Nội	PP082800	PP991425
1	<i>Babesia bovis</i>	Dê	Hà Nội	PP082801	PP991426
1	<i>Babesia bovis</i>	Trâu	Hà Nội	PP082802	PP991427
1	<i>Babesia bovis</i>	Ngựa	Thái Nguyên	PP082803	
1	<i>Babesia bovis</i>	Bò	Thái Nguyên	PP082804	
1	<i>Babesia bovis</i>	Trâu	Thái Nguyên	PP082805	PP991423
1	<i>Babesia bovis</i>	Ngựa	Thái Nguyên	PP082806	
1	<i>Babesia bovis</i>	Ngựa	Sơn La	PP082807	PP991424
2	<i>Babesia bigemina</i>	Bò	Hà Nội	PP082808	
2	<i>Babesia bigemina</i>	Bò	Hà Nội	PP082809	
2	<i>Babesia bigemina</i>	Bò	Hà Nội	PP082810	
2	<i>Babesia bigemina</i>	Bò	Hà Nội	PP082811	
2	<i>Babesia bigemina</i>	Bò	Thái Nguyên	PP082812	
2	<i>Babesia bigemina</i>	Trâu	Hà Nội	PP082813	
2	<i>Babesia bigemina</i>	Dê	Sơn La	PP082814	
Tổng				15	5

Bảng 3. Danh sách định danh loài *Theileria* spp.

TT	Tên loài	Vật chủ	ID-DNA	Tỉnh/TP	Số đăng ký Genbank	
					18S	ITS2
1	<i>Theileria annulata</i>	Bò	3LM-B14	Son La	PP949795	PP991413
1	<i>Theileria annulata</i>	Bò	2HM-B12	Hà Nội	PP949796	PP991414
1	<i>Theileria annulata</i>	Bò	3HM-B37	Hà Nội	PP949797	PP991417
1	<i>Theileria annulata</i>	Trâu	2HM-T04	Hà Nội	PP949798	
1	<i>Theileria annulata</i>	Trâu	2HM-T36	Hà Nội	PP949799	PP991416
1	<i>Theileria annulata</i>	Trâu	2HM-T45	Hà Nội	PP949800	
1	<i>Theileria annulata</i>	Bò	2TM-B32	Thái Nguyên	PP949801	
1	<i>Theileria annulata</i>	Bò	2TM-B05	Thái Nguyên	PP949802	PP991415
1	<i>Theileria annulata</i>	Bò	2TM-B37	Thái Nguyên	PP949803	
1	<i>Theileria annulata</i>	Trâu	1TM-T50	Thái Nguyên		PQ653843
1	<i>Theileria annulata</i>	Trâu	3LM-T15	Son La		PQ653844
1	<i>Theileria annulata</i>	Bò	3TM-B17	Thái Nguyên		PQ653845
2	<i>Theileria buffeli</i>	Bò	2TM-B03	Thái Nguyên	PP949804	
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	3TM-T46	Thái Nguyên	PP949805	
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	3TM-T47	Thái Nguyên	PP949806	PP991419

2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	4TM-T02	Thái Nguyên	PP949807	PP991422
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	4LM-T30	Son La	PP949808	
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	3LM-T14	Son La	PP949809	PP991420
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	2HM-T10	Hà Nội	PP949810	PQ653850
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	3HM-T02	Hà Nội	PP949811	
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	2HM-T25	Hà Nội	PP949812	
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	2HM-T26	Hà Nội	PP949813	PP991421
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	2HM-T27	Hà Nội	PP949814	
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	3TM-T46	Thái Nguyên		PQ653848
2	<i>Theileria buffeli</i>	Bò	1HM-B13	Hà Nội		PQ653855
2	<i>Theileria buffeli</i>	Trâu	1LM-T13	Son La		PQ653856
3	<i>Theileria equi</i>	Ngựa	2LM-N40	Son La	PP949815	
3	<i>Theileria equi</i>	Ngựa	2LM-N08	Son La	PP949816	
3	<i>Theileria equi</i>	Dê	2LM-D50	Son La	PP949817	
4	<i>Theileria orientalis</i>	Bò	3HM-B28	Hà Nội	PP949818	
4	<i>Theileria orientalis</i>	Bò	2TM-B09	Thái Nguyên	PP949819	
4	<i>Theileria orientalis</i>	Bò	2TM-B32	Thái Nguyên	PP949820	
4	<i>Theileria orientalis</i>	Bò	2TM-B27	Thái Nguyên	PP949821	

4	<i>Theileria orientalis</i>	Bò	2TM-B28	Thái Nguyên	PP949822	
4	<i>Theileria orientalis</i>	Trâu	2TM-T01	Thái Nguyên	PP949823	
4	<i>Theileria orientalis</i>	Trâu	2TM-T03	Thái Nguyên	PP949824	
4	<i>Theileria orientalis</i>	Ngựa	2TM-N39	Thái Nguyên	PP949825	
4	<i>Theileria orientalis</i>	Ngựa	2TM-N42	Thái Nguyên	PP949826	
4	<i>Theileria orientalis</i>	Ngựa	3TM-N36	Thái Nguyên	PP949827	
5	<i>Theileria velifera</i>	Trâu	2TM-T41	Thái Nguyên	PP949828	
5	<i>Theileria velifera</i>	Trâu	2TM-T07	Thái Nguyên	PP949829	
5	<i>Theileria velifera</i>	Trâu	2TM-T18	Thái Nguyên	PP949830	
5	<i>Theileria velifera</i>	Trâu	2TM-T26	Thái Nguyên	PP949831	
5	<i>Theileria velifera</i>	Trâu	3TM-T03	Thái Nguyên	PP949832	
5	<i>Theileria velifera</i>	Trâu	3LM-T05	Son La	PP949833	
Tổng					39	16

Phụ lục 5. Danh sách các chuỗi gen tham chiếu trên Genbank

TT	ID Genbank	Tên loài tham chiếu	Gen đích	Vật chủ	Địa điểm	Thời gian
1	MH686046.1	<i>Anaplasma marginale</i>	16S	Bò	Việt Nam	2018
2	MH020201.1	<i>Anaplasma marginale</i>	16S	Chó	Hungary	2019
3	MK804764.1	<i>Anaplasma marginale</i>	16S	Bò	Cuba	2021
4	MH686049.1	<i>Anaplasma platys</i>	16S	Bò	Việt Nam	2018
5	MN630836.1	<i>Anaplasma platys</i>	16S	-	China	2020
6	MN159064.1	<i>Anaplasma platys</i>	16S	Chó	Malaysia	2019
7	KU586169.1	<i>Candidatus Anaplasma boleense</i>	16S	Muỗi	Trung Quốc	2017
8	KU586182.1	<i>Candidatus Anaplasma boleense</i>	16S	Muỗi	Trung Quốc	2017
9	MK814450.1	<i>Candidatus Anaplasma boleense</i>	16S	Bò	Nam Phi	2019
10	KF569912.1	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	16S	Bò	Trung Quốc	2013
11	KR002114.1	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	16S	Dê	Trung Quốc	2015
12	OQ701071.1	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	16S	Ve	Trung Quốc	2023
13	KF569912.1	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	16S	Bò	Trung Quốc	2013
14	MG869522.1	<i>Anaplasma spp.</i>	16S	Dê	Trung Quốc	2018
15	KU586159.1	<i>Candidatus Anaplasma sinensis</i>	16S	Muỗi	Trung Quốc	2017

16	KP710227.1	<i>Babesia bigemina</i>	18S	Bò	Trung Quốc	2018
17	KT356596.1	<i>Babesia bigemina</i>	18S	Bò	Trung Quốc	2019
18	MH899760.1	<i>Babesia bigemina</i>	18S	-	Trung Quốc	2019
19	JQ437264.1	<i>Babesia bigemina</i>	18S	Bò	Úc	2018
20	HQ688689.1	<i>Babesia bigemina</i>	18S	-	Argentina	2013
21	KM046917.1	<i>Babesia bigemina</i>	18S	Bò	Thụy Sĩ	2016
22	KY805831.1	<i>Babesia bovis</i>	18S	Bò	Trung Quốc	2020
23	MH257734.1	<i>Babesia bovis</i>	18S	Bò	Nam Phi	2020
24	FJ426364.1	<i>Babesia bovis</i>	18S	Bò	Bra-xin	2009
25	JQ437262.1	<i>Babesia bovis</i>	18S	Bò	Úc	2018
26	MH050920	<i>Babesia bovis</i>	ITS2	Bò	Mỹ	2019
27	MH050906	<i>Babesia bovis</i>	ITS2	Bò	Mỹ	2019
28	EF458275.1	<i>Babesia bovis</i>	ITS2	-	Argentina	2008
29	KX685389	<i>Babesia bovis</i>	ITS3	Bò	Nhật	2018
30	LC325740.2	<i>Theileria velifera</i>	18S	Trâu	Myanmar	2020
31	LC325742.2	<i>Theileria velifera</i>	18S	Bò	Myanmar	2020
32	MG052915.1	<i>Theileria equi</i>	18S	Ngựa	Brazil	2018

33	MH651215.1	<i>Theileria equi</i>	18S	Ngựa	Trung Quốc	2019
34	MT613677.1	<i>Theileria equi</i>	18S	Ngựa	Anh	2020
35	MK713333.1	<i>Theileria annulata</i>	18S	Bò	Ấn Độ	2019
36	KJ917960.2	<i>Theileria sp.</i>	18S	Bò	Malaysia	2015
37	AB000274.1	<i>Theileria sp.</i>	18S	-	Indonesia	2020
38	DQ286801.1	<i>Theileria sp.</i>	18S	Trâu	Trung Quốc	2010
39	MN685115.1	<i>Theileria sp.</i>	18S	Trâu	Thái Lan	2020
40	OR625125.1	<i>Theileria buffeli</i>	18S	Trâu	Ấn Độ	2023
41	OQ507242.1	<i>Theileria orientalis</i>	18S	Ve	Trung Quốc	2023
42	OM802550.1	<i>Theileria orientalis</i>	18S	Dê	Thái Lan	2022
43	AB520958.1	<i>Theileria orientalis</i>	18S	Bò	Úc	2011
44	JN252706.1	<i>Theileria orientalis</i>	18S	Bò	Úc	2011
45	AY661527	<i>Theileria buffeli</i>	ITS2	Bò	USA	2008
46	EF547928	<i>Theileria annulata</i>	ITS2	Bò	Trung Quốc	2013
47	AY684836.1	<i>Theileria annulata</i>	ITS2	Bò	Thổ Nhĩ Kỳ	2007
48	AY661527	<i>Theileria buffeli</i>	ITS2	Bò	Mỹ	2008

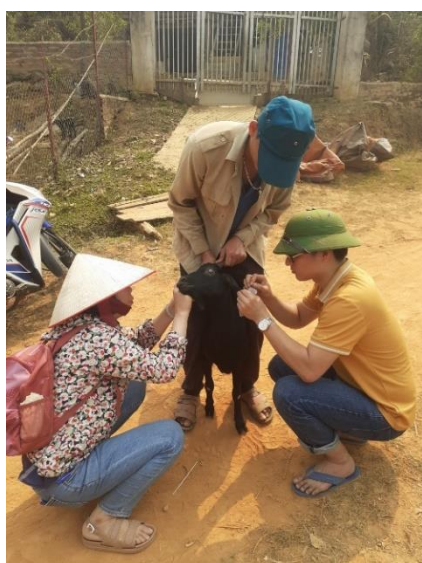
DNA Sequences		Translated Protein Sequences	
Species/Abbrv	*	*	*
1. Babesia bovis (PP991425)	C	T	A
2. Babesia bovis (PP991426)	C	T	A
3. Babesia bovis (PP991427)	C	T	A
4. Babesia bovis (PP991423)	C	T	A
5. Babesia bovis (PP991424)	C	T	A
6. Babesia bovis USA (MH050920)	C	T	A
7. Babesia bovis USA (MH050906)	C	T	A
8. Babesia bovis Germany (EF458275)	C	T	A
9. Babesia bovis Japan (KX685389)	C	T	A
10. Theileria buffeli (AY661527)	C	T	A

Hình 5. Hình ảnh chỉnh sửa các chuỗi gen ITS2 của *B. bovis* phân lập từ vật nuôi tại miền Bắc Việt Nam

DNA Sequences		Translated Protein Sequences	
Species/Abbrv	*	*	*
1. Theileria annulata (PP991413)	A	T	A
2. Theileria annulata (PP991914)	A	T	A
3. Theileria annulata (PQ653843)	A	T	A
4. Theileria annulata (PQ653844)	A	T	A
5. Theileria annulata (PQ653845)	A	T	A
6. Theileria buffeli (PP991419)	A	T	A
7. Theileria buffeli (PP991420)	A	T	A
8. Theileria buffeli (PP991421)	A	T	A
9. Theileria buffeli (PQ653850)	A	T	A
10. Theileria buffeli (PQ653848)	A	T	A
11. Theileria buffeli (PQ653855)	A	T	A
12. Theileria buffeli (PQ653856)	A	T	A
13. Theileria buffeli Cattle USA (AY661527)	A	T	A
14. Theileria annulata Turkey (AY684836)	A	T	A
15. Theileria annulata Cattle China (EF547928)	A	T	A

Hình 6. Hình ảnh chỉnh sửa các chuỗi gen ITS2 của *Theileria* spp. phân lập từ vật nuôi tại miền Bắc Việt Nam

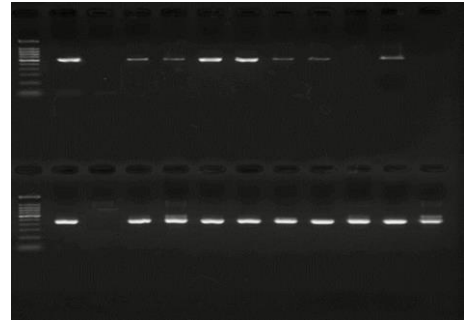
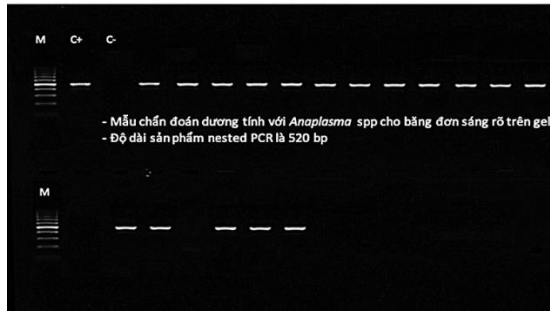
Phụ lục 7. Một số hình ảnh minh họa



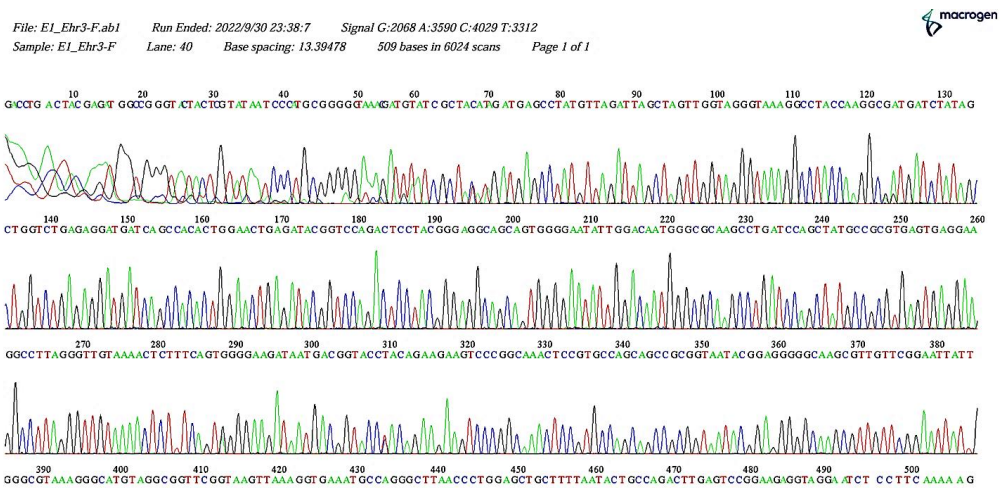
Hình 7. Một số hình ảnh thu thập mẫu tại địa phương



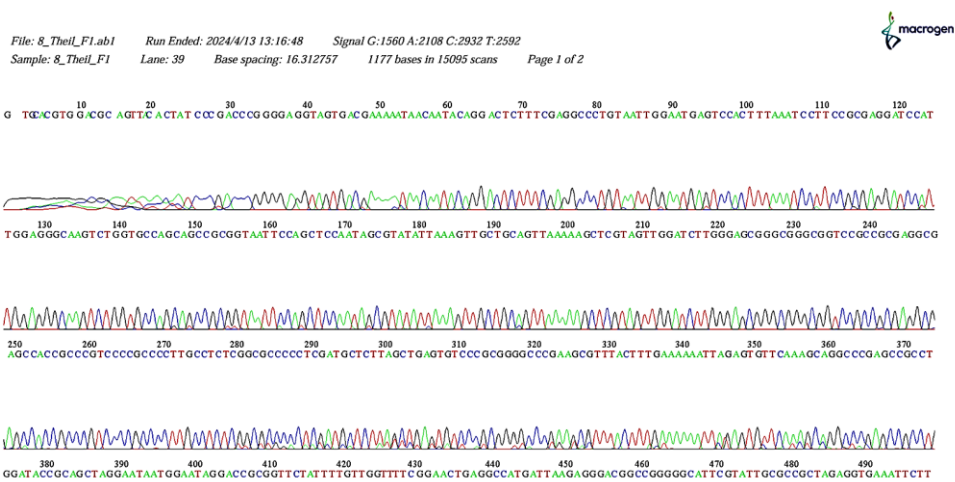
Hình 8. Hình ảnh trong phòng thí nghiệm



Hình 9. Hình ảnh kết quả điện di sản phẩm phản ứng nested PCR trên bản thạch



Hình 10. Kết quả giải trình tự gen chuỗi gen 16S rDNA của *Anaplasma* spp. sau khi giải trình tự



Hình 11. Kết quả giải trình tự gen chuỗi gen 18S rDNA của *Theileria* spp. sau khi giải trình tự