

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**

CHUYÊN NGÀNH: KÝ SINH TRÙNG VÀ VI SINH VẬT HỌC THÚ Y

MÃ SỐ : 964 01 04

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ THÚ Y

HÀ NỘI – 2025

Công trình được hoàn thành tại: Viện Thú y

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

Người hướng dẫn khoa học 2: **TS. Nguyễn Thị Bích Thủy**

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Viện, họp tại Viện Thú y vào hồi ... giờ ... tháng ... năm 2025

Có thể tìm thấy luận án tại:

1. Thư viện Quốc gia
2. Thư viện Viện Thú y

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. 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*). 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* tại Trung Quốc.

Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên vật nuôi chủ yếu do các loài là: *A. marginale*, *A. centrale*, *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens*, *T. annulata*, *T. orientalis* và *T. parva* gây ra. 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. Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Babesia* spp. trên bò có thể gây chết hơn 90% ở bò mắc bệnh và gây tổn thất kinh tế to lớn do việc điều trị và kiểm soát ve. 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. Bệnh ký sinh trùng đường máu trên các loài vật nuôi còn ảnh hưởng đến việc xuất nhập khẩu động vật giữa các nước trên thế giới do Tổ chức Thú y Thế giới (WOAH) đã đưa 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 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.

Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. trên động vật đã lan rộng khắp thế giới. Ngoài châu Âu, bệnh ký sinh trùng đường máu do *Anaplasma* spp. đã được tìm thấy ở Châu Mỹ, Châu Phi, Châu Á và Úc với nhiều loài *Anaplasma* spp. khác nhau, lưu hành trên nhiều loài động vật, với tỷ lệ lưu hành từ 1,09% đến 97,9%. Trong 8 loài *Anaplasma* spp. gây bệnh trên động vật có 4 loài là: *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *A. ovis* và *A. platys* có khả năng gây bệnh cho người. Loài *A. phagocytophilum* là loài được báo cáo nhiều nhất trong tất cả các loài *Anaplasma* spp. do có độ lực cao và gây bệnh phổ biến trên người. *A. phagocytophilum* phân bố rộng rãi trên khắp Châu Âu, Châu Á và Bắc Mỹ với một số báo cáo về các ca nhiễm ở người. Tỷ lệ lưu hành của loài *A. phagocytophilum* trên vật nuôi dao động từ 1,09% đến 94%. Loài *A. platys* là tác nhân gây bệnh giảm tiêu cầu theo chu kỳ ở chó, trâu, bò, dê, ngựa trong đó một số nhiễm ở trên người đã được ghi nhận ở Hàn Quốc, Venezuela, Chicago và Nam Phi.

Babesia spp. lây nhiễm trên nhiều loại động vật và ngày càng được quan tâm nhiều hơn khi *Babesia* spp. là loài gây ra bệnh lây truyền từ động vật sang người. Do sự đa dạng lớn các loài vật chủ của loài *Babesia* 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 *Babesia* spp. Trong hơn 100 loài *Babesia* spp. gây bệnh cho động vật và con người có 8 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%.

Theileria spp. gây bệnh cho các loài động vật có vú bao gồm vật nuôi và động vật hoang dã. Hơn 10 loài *Theileria* spp. khác nhau đã được xác định lưu hành trên các loài vật nuôi như trâu, bò, cừu, dê và ngựa. Các loài *Theileria* spp. gây ra bệnh cho các loài vật 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 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. Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. trên vật nuôi ở dạng cấp tính thường 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%). Bệnh ký sinh trùng đường máu gây ra bởi loài *T. equi* ở ngựa phân bố trên toàn thế giới. 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 trên ngựa.

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. 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. 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%. 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 và phân tích gen 16S rDNA. 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. 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

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 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. Trong 12 loài ký sinh trùng đường máu được định danh, 6 loài mới (*A. phagocytophilum*, *Candidatus Anaplasma boolense*, *Candidatus Anaplasma sinensis*, *T. buffeli*, *T. verlifera* và *T. equi*) lần đầu được công bố tại 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. Trong đó, đặc biệt loài *A. phagocytophilum* gây bệnh sốt hạch nghiêm trọng trên người, các loài động vật có vú và ve ở Châu Âu, Châu Mỹ, Châu Á. 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 khỏe cho vật nuôi và sức khỏe cộng đồng.

Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

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

Bệnh đơn bào đường máu gây ra bởi loài *Anaplasma* spp. trên các loài vật nuôi phân bố rộng khắp thế giới bao gồm các khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới ở Nam, Trung và Bắc Mỹ, Úc, Châu Á và Châu Âu. Loài *Anaplasma* spp. được nghiên cứu nhiều nhất ở châu Âu là *A. phagocytophilum* truyền lây sang người với tỷ lệ nhiễm khoảng 16,2%. Vật chủ của *A. phagocytophilum* là con người và hầu hết các loài động vật có vú và ve ở Châu Âu, Châu Mỹ, Châu Á và Châu Phi. Năm 2023, loài *A. phagocytophilum* lưu hành trên 33 quốc gia và vùng lãnh thổ ước tính tỉ lệ nhiễm là 4,76%, trong đó Bỉ là quốc gia có tỉ lệ nhiễm cao nhất là 37,54%.

Bệnh ký sinh trùng đường máu do *Babesia* spp. gây ra trên trâu, bò, dê, cừu... ở mọi lứa tuổi và phân bố rộng ở khắp các châu lục trên thế giới như châu Âu, châu Á, châu Phi. Babesiosis ở bò có thể gây chết hơn 90% ở bò mắc bệnh và gây tổn thất kinh tế to lớn do việc điều trị và kiểm soát ve. *Babesia* spp. lây nhiễm trên nhiều loại động vật và ngày càng được quan tâm nhiều hơn khi *Babesia* spp. là loài gây ra bệnh lây truyền từ động vật sang người. Tỷ lệ lưu hành *Babesia* spp. ở bò trên toàn cầu là 29%. Trong đó, tỷ lệ lưu hành *Babesia* spp. ở bò cao nhất là Nam Mỹ (64%) và thấp nhất là ở Châu Á (19%).

Bệnh đơn bào đường máu gây ra bởi loài *Theileria* spp. được lây truyền qua ve *Ixodid*, thuộc các chi *Amblyomma* spp., *Haemaphysalis* spp., *Hyalomma* spp. và *Rhipicephalus* spp. *Theileria* spp. gây bệnh cho các loài động vật có vú, bao gồm vật nuôi và động vật hoang dã. Hơn 10 loài *Theileria* spp. khác nhau đã được xác định lưu hành trên các loài vật nuôi như trâu, bò, cừu, dê và ngựa. Các loài *Theileria* spp. gây bệnh cho

các loài động vật có độc lực rất khác nhau, từ gây bệnh nghiêm trọng, dẫn đến tỷ lệ chết cao, đến các dạng hoàn toàn lành tính. Loài *T. orientalis* lây lan trên toàn cầu nhưng các quốc gia bị ảnh hưởng bởi bệnh ký sinh trùng đường máu gây bởi loài *T. orientalis* trên các loài vật nuôi là Úc, New Zealand, Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc và Việt Nam.

1.2. Đặc điểm sinh học phân tử của các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* 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 của gen 16S rRNA loài *Anaplasma* spp. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) tính đến ngày 09/08/2024. Tính đến năm 2021, 31 bộ gen hoàn chỉnh của *A. phagocytophilum* và 23 bộ gen hoàn chỉnh của *A. marginale* đã có sẵn trong cơ sở dữ liệu NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>). Ngoài ra, một bộ gen hoàn chỉnh của 3 loài *Anaplasma* spp. gồm *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 phương pháp nhân gen thường được sử dụng để xác định thành phần loài *Anaplasma* spp. gồm 16S rRNA, *gltA*, *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 hệ và quan hệ về loài.

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 của gen 18S rRNA của *Babesia* spp. cho đến ngày 09/08/2024. 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 piroplasmid lây nhiễm cho động vật nuôi và động vật hoang dã và có hữu ích cho các nghiên cứu dịch tễ học quy mô lớn, cho phép phát hiện DNA tổng số được tách từ mẫu máu chống đông của động vật ở nồng độ ở mức thấp tới 39 picogram (pg) DNA.

Theo Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia ở Mỹ (NCBI) thì trong cơ sở dữ liệu có tổng số 3843 trình tự nucleotide của gen 18S rRNA của *Theileria* spp. tính đến ngày 09/08/2024. Các phương pháp nhân gen RNA ribosome 23S, RNA ribosome 18S và gen protein bề mặt piroplasm chính (MPSP) thường sử dụng để xác định thành phần loài và phân tích phát sinh loài của các loài *Theileria*. Trong cơ sở dữ liệu của NCBI có sẵn 312 trình tự gen của *T. annulata* nhưng có 70 trình tự gần như hoàn chỉnh (> 1.527 bp) được sử dụng để chỉnh sửa nhiều trình tự. Trong đó, giải trình tự gen 18S rRNA của *T. annulata* và *T. orientalis* ở mức độ bảo tồn trình tự cao trong GenBank cho kết quả chính xác cao, hoàn chỉnh và không bị nhầm lẫn giữa các loài *Theileria* spp. với nhau. Vùng giao gen ITS1 và ITS2 đã được sử dụng để phân biệt chủng và xác định loài ở các chủng khác nhau, có giá trị đáng 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 và phân biệt giữa các loài với nhau và phân loài. Sử dụng phương pháp PCR nhân gen vùng giao gen ITS2 để phân biệt 2 loài *Theileria ikeda* (133-bp) với *Theileria buffeli/chitose* (139-bp).

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

* *Phòng bệnh bằng vaccine*: 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, khả năng miễn dịch một phần phát triển trong 6 - 8 tuần và kéo dài trong nhiều năm sau một lần tiêm vaccine. 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). Hiện nay chưa

có vaccine phòng bệnh do *Theileria* spp. gây ra cho gia súc do đó Tổ chức Thú y Thế giới khuyến cáo nên sử dụng thuốc xua đuổi hóa học, 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.

* *Phòng bệnh bằng phương pháp kiểm soát và tiêu diệt ve*: Sự kết hợp của các loại thuốc diệt ve khác nhau như: flumethrin với cyfluthrin, chlorpyrifos với permethrin... đã có sẵn trên thị trường và được sử dụng để kiểm soát ve ở Mexico. Ở Uganda trong 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.

* *Quản lý động vật nhập khẩu*: 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.

* *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.

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

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

* *Đối tượng nghiên cứu*:

- Các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. lưu hành ở trâu, bò, dê và ngựa.

* *Thời gian và địa điểm nghiên cứu*:

- *Thời gian nghiên cứu*: Từ tháng 1/2022 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 của tỉnh Thái Nguyên. Vùng chăn nuôi của huyện Sông Mã và Vân Hồ của tỉnh Sơn La.

+ Địa điểm phân tích mẫu: Phòng thí nghiệm Bộ môn Ký sinh trùng, Viện Thú y và công ty Marcogen 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. Các phương pháp nghiên cứu

2.3.1. 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

* Phương pháp nghiên cứu xác định đặc điểm lưu hành của *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa.

- Phương pháp nghiên cứu điều tra cắt ngang.
- Phương pháp thu thập mẫu máu theo QCVN 01-83:2011/BNNPTNT.
- Phương pháp chiết tách DNA tổng số.
- Phương pháp nhân gen nested-PCR (nPCR).
- Phương pháp phân tích kết quả.

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

- Phương pháp nhân gen nested-PCR (nPCR) và tinh sạch sản phẩm PCR.
- Phương pháp giải trình tự gen Sanger.
- Phương pháp định loài và đăng ký trình tự chuỗi gen lên Genbank.
- Phương pháp phân tích so sánh gen.
- Phương pháp xây dựng cây phả hệ và phân tích phả hệ.

2.3.2. Phương pháp 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

* Phương pháp xác định các yếu tố nguy cơ truyền lây *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa.

Khi thu thập mẫu máu 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/không nhiễm ve, tính biệt vật nuôi (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 bảng hỏi. Kết quả chẩn đoán phát hiện ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê và ngựa và các thông tin liên quan đến mẫu được nhập vào trang Excel. Tỷ lệ lưu hành và một số yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu được xác định bằng phần mềm phân tích xác suất thống kê STATA 14.0.

* Phương pháp xây dựng đề xuất biện pháp phòng bệnh: Phương pháp tổng quan tài liệu. Phương pháp tổng hợp và phân tích số liệu từ kết quả nghiên cứu của đề tài. Đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp.

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

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

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%) và thấp nhất ở trâu (6,8%). *Anaplasma* spp. lưu hành trên tất cả các loài vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP, cao nhất ở tỉnh Sơn La (21,0%) 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%. Vật nuôi 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%).

Babesia spp. lưu hành trên các loài vật nuôi trâu, bò, 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%). 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% và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 3,3%. Vật nuôi trong nhóm tuổi >5 tuổi nhiễm *Babesia* spp. là chủ yếu (4,1%), tiếp đến là nhóm tuổi 1 - 5 tuổi (2,7%) và nhóm tuổi <1 tuổi không nhiễm *Babesia* spp.

Tỷ lệ lưu hành của *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa vào mùa xuân với tỷ lệ nhiễm chung là 10,3% (95%CI: 8,0-13,1). Trong đó, tỷ lệ nhiễm *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% và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 11,3%. Vật nuôi trong nhóm tuổi <1 tuổi nhiễm *Theileria* spp. là chủ yếu (23,3%), tiếp đến là nhóm 1 - 5 tuổi và nhóm >5 tuổi nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ là 9,5%.

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

Anaplasma spp. lưu hành trên các loài vật nuôi trâu, bò, dê, ngựa tại phía Bắc vào mùa hè với tỷ lệ nhiễm chung là 44,7%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp. trên trâu, bò, dê và ngựa lần lượt là 56,0%; 73,3%; 31,3% và 18,0%. Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP đều nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ là 44,7%. 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%. Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ là 33,7% và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 49,8%. 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%.

Babesia spp. lưu hành trên các loài vật nuôi 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%. 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 tại tỉnh Sơn La (3,5%). Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ là 13,7% và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 11,5%. 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%).

Theileria spp. lưu hành trên các loài vật nuôi với tỷ lệ nhiễm chung là 25,8% (95%CI: 22,4 - 29,5). Vật nuôi có tỷ lệ nhiễm lần lượt là: trâu (30%); bò (37,3%); dê (12,0%) và ngựa (24%). 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% và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 25,6%. Trâu, bò, dê và ngựa ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Theileria* spp. từ 23,1% đến 35,1%.

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

Anaplasma spp. lưu hành trên 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%), thấp nhất ở dê (23,3%). Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP đều nhiễm *Anaplasma* spp. tỷ lệ dao động từ 36% - 42%. Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ là 31,7% và tính biệt cái có tỷ lệ là 40,7%. Vật nuôi ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ nhiễm từ 29,9% đến 42,2%.

Babesia spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ nhiễm chung 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%) 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 nhiễm thấp nhất (9,5%). Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ là 8,7% và tính biệt cái có tỷ lệ là 12,5%. Trâu, bò, dê và ngựa ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ từ 7,8% - 15,7%.

Theileria spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa là 19,3% (95%CI: 16,2-22,7). Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP đều nhiễm *Theileria* spp., trong đó, tỷ lệ lưu hành *Theileria* spp. cao nhất ở tỉnh Thái Nguyên (24,5%) và thấp nhất là ở tỉnh Sơn La (19,0%). Trong đó, loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ là 18,6% 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. Trong đó, nhóm vật nuôi từ 1 -5 tuổi có tỷ lệ nhiễm cao nhất (24,1%), tiếp đến là nhóm vật nuôi trên 5 tuổi (18,1%) và thấp nhất là <1 năm tuổi (13,0%).

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

Vào mùa đông, *Anaplasma* spp. lưu hành trên các loài vật chủ trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ nhiễm chung là 10,3% (95%CI: 8,0 - 13,1). Bò nhiễm *Anaplasma* spp. cao nhất với tỷ lệ là 12,2% và dê nhiễm thấp nhất với tỷ lệ là 5,6%. *Anaplasma* spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa ở cả 3 tỉnh/TP 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%) 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% và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 8,3%. Vật nuôi ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Anaplasma* spp. với tỷ lệ từ 4,2% - 13,8%. Vật nuôi >5 tuổi nhiễm cao nhất (13,8%) và <1 tuổi nhiễm thấp nhất (4,2%).

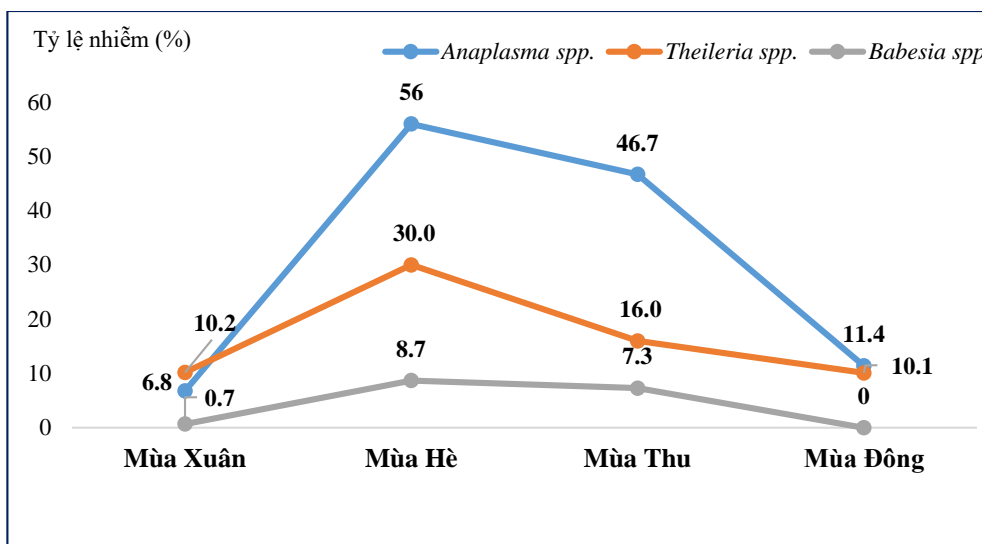
Babesia spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ nhiễm chung là 2,3% (95%CI: 1,3-3,9). Trong đó, tỷ lệ lưu hành của loài *Babesia* spp. cao nhất ở bò (54,7%), tiếp đến là ngựa (3,3%) và không lưu hành ở dê và trâu. Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP đều nhiễm *Babesia* spp. tỷ lệ dao động từ 0,5% - 5,5%. Các loài vật nuôi có tính biệt đực nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ 2,1% và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 2,4%. Vật nuôi ở mọi lứa tuổi đều nhiễm *Babesia* spp. với tỷ lệ 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%, 3,1%.

Theileria spp. lưu hành trên trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ nhiễm chung là 6,0% (95%CI: 4,2 - 8,2). Trong đó, tỷ lệ nhiễm *Theileria* spp. ở ngựa là 10,7%; ở trâu là 10,1%; ở bò là 3,2% và dê là 1,4%. Vật nuôi ở cả 3 tỉnh/TP đều nhiễm *Theileria* spp. tỷ lệ nhiễm dao động từ 1,5% - 10,0%. Các loài vật nuôi có tính biệt đực

nhiễm *Theileria* spp. với tỷ lệ 12,2% và tính biệt cái có tỷ lệ nhiễm là 3,2%. Trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP nhiễm *Theileria* spp. ở tất cả các lứa 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%; 9,7%.

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

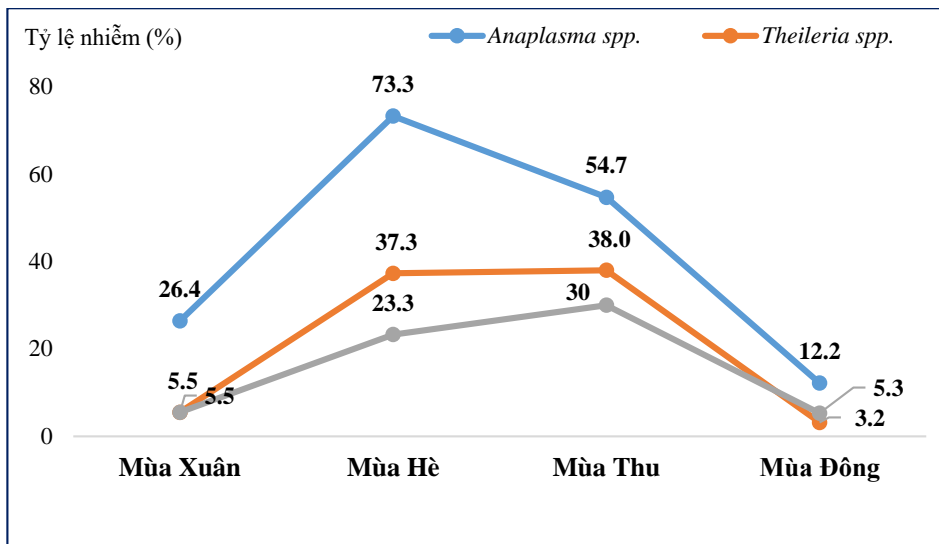
Để nhìn tổng quát hơn sự biến động tỷ lệ nhiễm của các loài ký sinh trùng đường máu theo mùa lưu hành trong năm, chúng tôi tiến hành so sánh tỷ lệ nhiễm này ở từng loài vật nuôi. Kết quả được thể hiện ở các biểu đồ hình từ 3.5 đến 3.11.



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

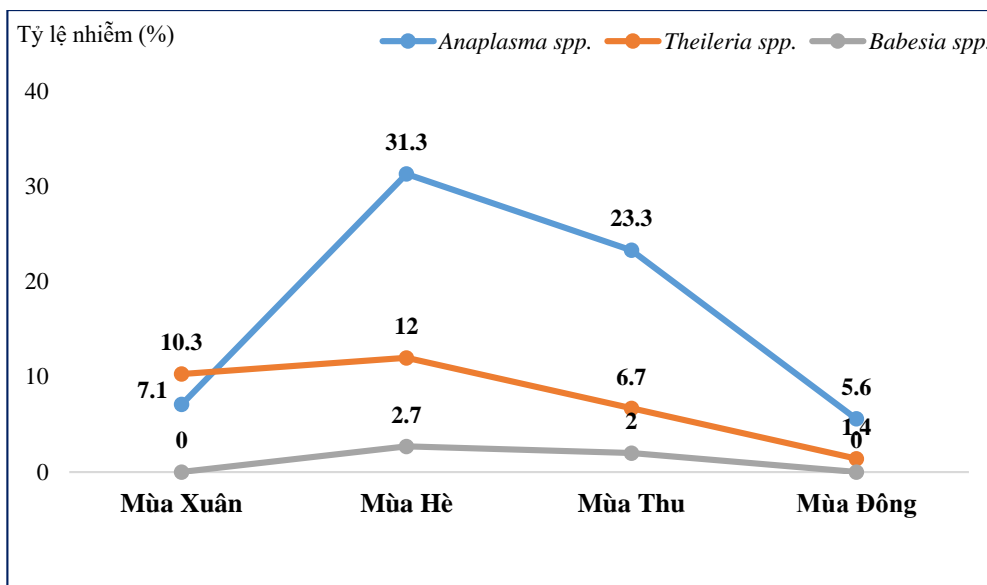
Qua biểu đồ hình 3.5 cho thấy, trâu có tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. dao động từ 0,0% - 56,0%. *Anaplasma* spp. có tỷ lệ nhiễm cao nhất (6,8% - 56,0%) trong số 3 loại ký sinh trùng đường máu qua theo dõi ở 4 mùa trong năm. Trâu nhiễm *Anaplasma* spp. ở các mùa với tỷ 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%).

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%). *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%).



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

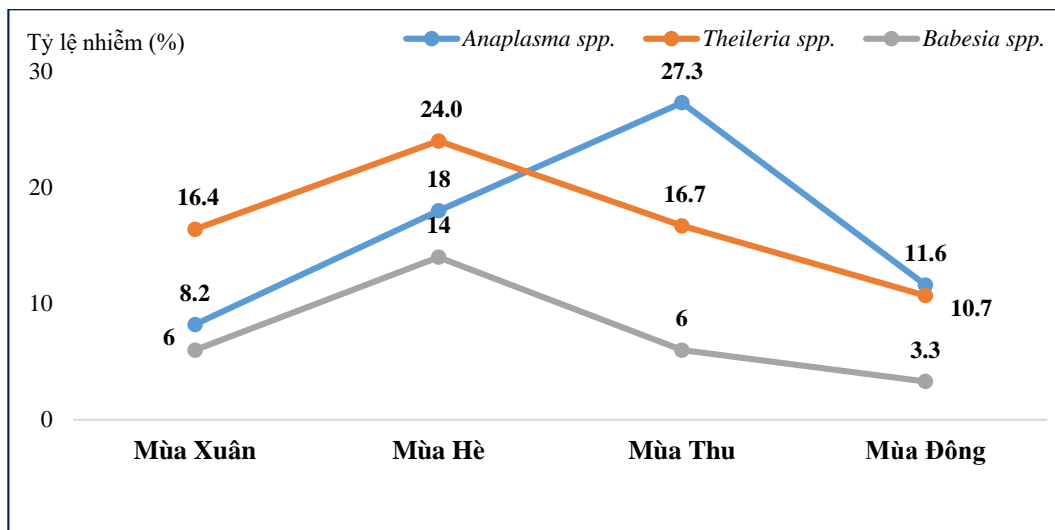
Biểu đồ hình 3.6 cho thấy, *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. lưu hành trên bò quanh năm với tỷ lệ nhiễm dao động từ 3,2% đến 73,3%. *Anaplasma* spp. là ký sinh trùng có tỷ lệ nhiễm cao nhất (12,2% - 73,3%) trong 03 loại ký sinh trùng đường máu qua theo dõi ở 4 mùa trong năm. Bò nhiễm *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%).



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

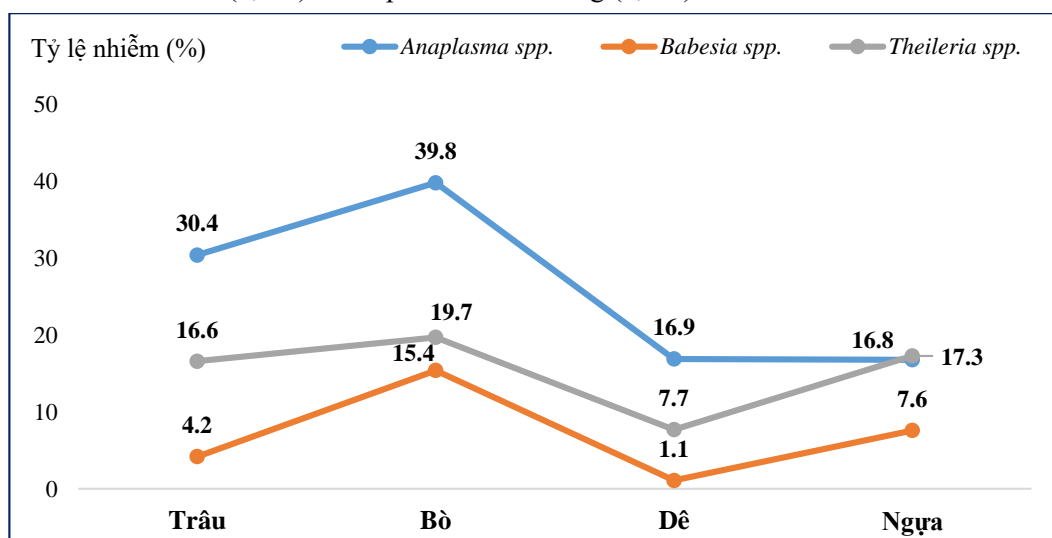
Biểu đồ hình 3.7 cho thấy, dê có tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường máu dao động từ 0,0% - 31,3%. *Anaplasma* spp. vẫn là ký sinh trùng có tỷ lệ nhiễm cao nhất (5,6% - 31,3%) trong 03 loại ký sinh trùng đường máu qua theo dõi ở 4 mùa trong năm. Trong đó, dê nhiễm *Anaplasma* spp. cao nhất ở vào hè (31,3%), 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%).



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

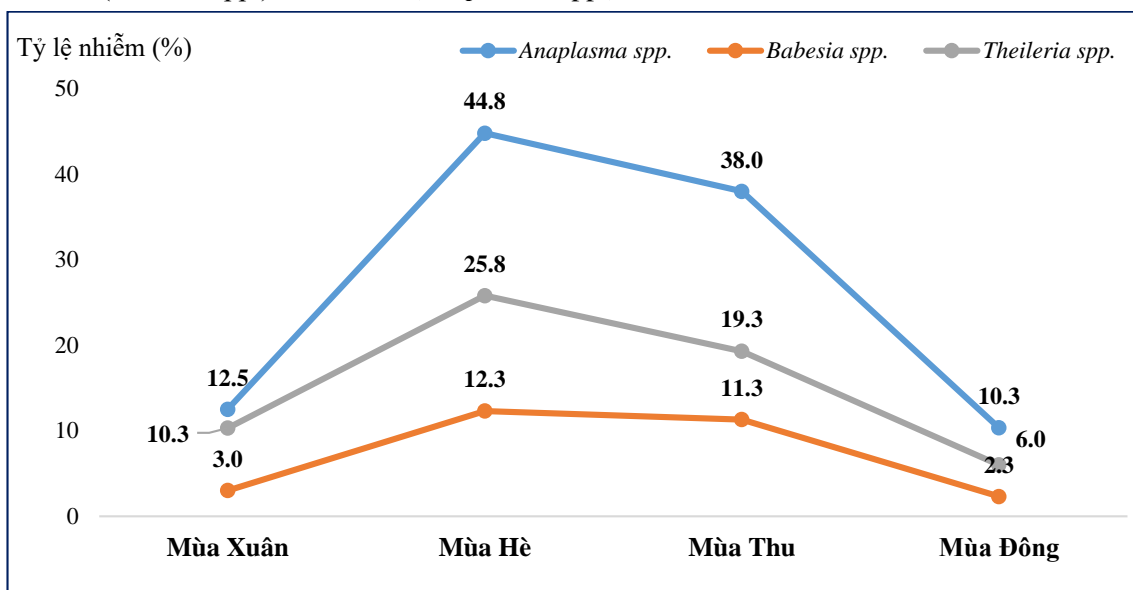
Biểu đồ so sánh tỷ lệ nhiễm *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên ngựa theo mùa (hình 3.8) cho thấy, ngựa nhiễm ký sinh trùng đường máu quanh năm với tỷ lệ nhiễm dao động từ 3,3% - 27,3%. *Anaplasma* spp. có tỷ lệ nhiễm cao nhất (8,2% - 27,3%) trong 3 loại ký sinh trùng đường máu 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%).



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

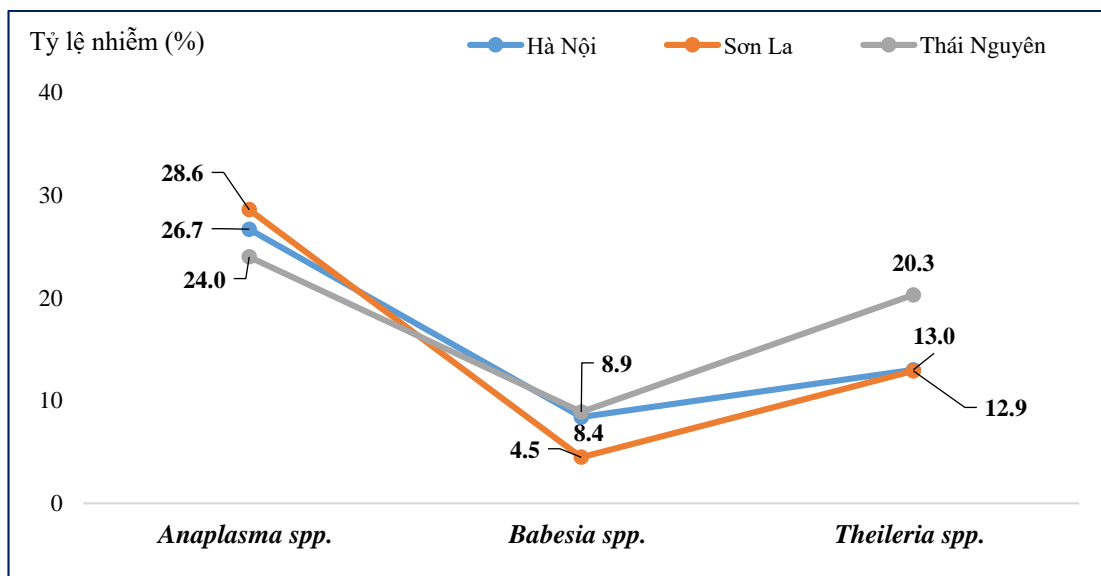
Biểu đồ so sánh tỉ lệ nhiễm chung các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. theo loài vật nuôi (trâu, bò, dê, ngựa) (hình 3.9) cho thấy các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. lưu

hành trên trâu, bò, dê, ngựa với tỷ lệ nhiễm dao động từ 1,1% - 39,8%. Trong đó, bò là loài 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.). Dê là loài nhiễm thấp nhất đối với cả 3 loài ký sinh trùng đường máu được kiểm tra dao động từ 1,1% (*Babesia* spp.) đến 14,9% (*Anaplasma* spp.).



Hình 3. 10. Biểu đồ so sánh tỉ lệ nhiễm chung các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. trên loài vật nuôi theo mùa vụ

Biểu đồ so sánh tỷ lệ nhiễm 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%).



Hình 3. 11. Biểu đồ so sánh tỉ lệ nhiễm chung các loài *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. và *Theileria* spp. theo địa điểm nghiên cứu

Qua 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%) trong 3 loại ký sinh trùng đường máu lưu hành ở vật nuôi tại 3 tỉnh/TP. Tiếp theo là *Theileria* spp. lưu hành ở vật nuôi tại 3 tỉnh/TP với tỷ lệ nhiễm từ 12,9% đến 20,3% và thấp nhất là *Babesia* spp. lưu hành ở vật nuôi tại 3 tỉnh/TP với tỷ lệ nhiễm (4,5% - 8,9%). 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%).

3.1.2. Kết quả 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. bovine*, *A. phagocytophilum* và *A. sinensis* lưu hành trên trâu, bò, dê và ngựa tại 03 tỉnh/TP. 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. Số đăng ký chuỗi gen đoạn gen 16S rDNA từ PP 987109 - PP987149 và từ PP987331 - PP987337. Trong đó, 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. bovine* 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. 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. bovine*, tăng số loài *Anaplasma* spp. lưu hành tại miền Bắc lên 5 loài.

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 có 15 chuỗi gen 18S rDNA (PP082800 - PP082814) và 05 chuỗi gen ITS2 (PP991423 - PP991427) của *Babesia* spp. trong nghiên cứu này đã được gửi lên Genbank và đã được cấp mã số đăng ký chuỗi gen. Hai loài *B. bovis* và *B. bigemina* trong nghiên cứu này của chúng tôi được tìm thấy trên cả trâu, bò tại 3 tỉnh/TP phía Bắc Việt Nam. Dê và ngựa lần đầu tiên được xác định nhiễm với loài *B. bovis*.

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 3.14. Tổng cộng 39 chuỗi gen 18S rDNA và 16 chuỗi gen ITS2 đã được cấp mã số đăng ký từ Genbank. Trong đó, 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. *T. orientalis* lưu hành trên trâu, bò và ngựa. Như vậy, số lượng loài *Theileria* lưu hành trên vật nuôi tại Việt Nam đã được tăng từ 3 loài lên thành 6 loài. Lần đầu tiên, 3 loài *T. buffeli*, *T. equi* và *T. velifera* được báo cáo lưu hành tại Việt Nam.

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

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

Khoảng cách di truyền giữa loài *A. marginale* ở vật nuôi tại miền Bắc Việt Nam và các phân lập trên ngân hàng gen, dựa trên gen 16S rRNA cho thấy 8 trình tự gen 16S rDNA loài *A. marginale* phân lập từ vật nuôi trong nghiên cứu này tương đồng về gen 100%, và tương đồng 100% so với trình tự loài *A. marginale* phân lập ở bò - Việt Nam, ở chó - Hungary và ở bò - Cuba.

Loài *A. platys* trong nghiên cứu này có trình tự DNA gen 16S rDNA tương đồng 100% với nhau, và tương đồng 100% so với trình tự tham chiếu phân lập ở Trung Quốc và ở Malaysia.

Loài *A. booleense* trong nghiên cứu này cũng có trình tự gen 16S rDNA tương đồng nhau 100%, và tương đồng 100% với trình tự tham chiếu phân lập ở Trung Quốc và Nam Phi.

Loài *A. phagocytophilum* phân lập từ vật nuôi trong nghiên cứu này có trình tự gen 16S rDNA tương đồng nhau 100%, và tương đồng 100% với trình tự của các phân lập *A. phagocytophilum* tham chiếu phân lập từ bò, dê, ve - Trung Quốc và bò - Nhật Bản.

Loài *A. cinensis* trong nghiên cứu này có trình tự gen 16S rDNA tương đồng 100%, và tương đồng 99,98% so với trình tự tham chiếu phân lập từ muỗi - Trung Quốc.

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

Khoảng cách di truyền gen 18S rDNA loài *B. bovis* cho thấy các chuỗi gen 18S rDNA loài *B. bovis* phân lập trong nghiên cứu này có trình tự tương đồng nhau 100% và tương đồng >99% với các chuỗi của loài tham chiếu phân lập ở Trung Quốc, Nam Phi, Úc và Brazil. Khoảng cách di truyền gen 18S rRNA loài *B. bigemina* cho thấy, các trình tự gen 18S rDNA loài *B. bigemina* phân lập trong nghiên cứu này tương đồng từ 99,93-100%, và tương đồng từ 99,98-100% so với trình tự tham chiếu phân lập từ bò Trung Quốc, Úc, Argentina và Thụy Sĩ.

Khoảng cách di truyền vùng ITS2 loài *B. bovis* cho thấy, loài *B. bovis* phân lập trong nghiên cứu này có trình tự gen ITS2 tương đồng 100%, và tương đồng > 99% so với trình tự tham chiếu từ Mỹ, Đức và Nhật Bản.

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

03 trình tự gen 18S rDNA của *T. velifera* ở trâu (tỉnh Thái Nguyên - PP9497831, PP9497832; và tỉnh Sơn La - PP9497832) thể hiện độ tương đồng về gen là 100% với loài này phân lập ở trâu - Myanmar (LC325740), tuy nhiên sự tương đồng này chỉ là 98,99% đối với *T. velifera* ở bò - Myanmar (LC325742).

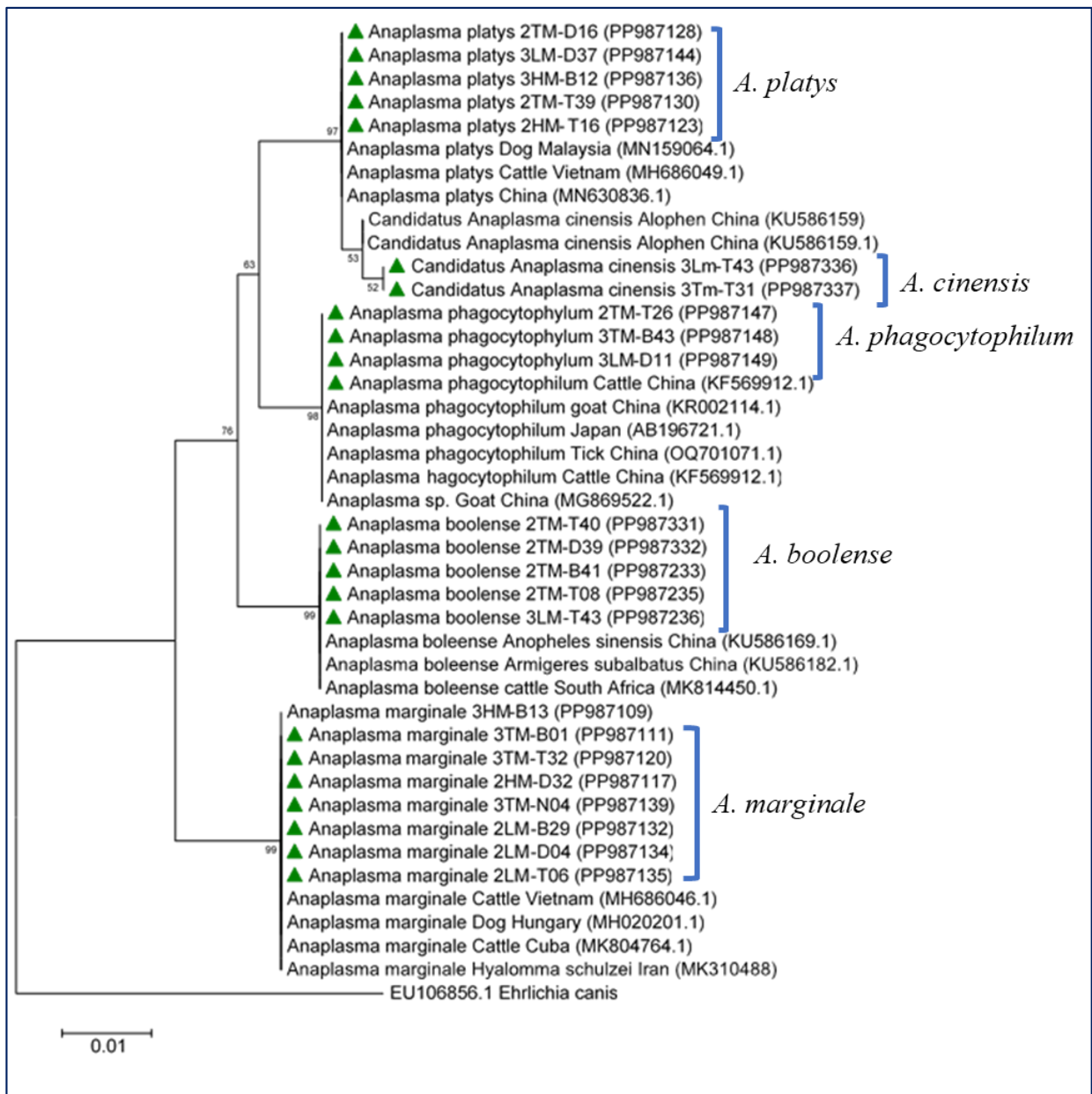
03 chuỗi gen 18S rDNA của *T. equi* phân lập ở ngựa và dê Việt Nam trong nghiên cứu này tương đồng nhau 100% nội loài từng loài và tương đồng > 99% với các chuỗi tham chiếu từ ngựa Mỹ, Trung Quốc, Braxin.

Các trình tự chuỗi gen 18S rDNA của *Theileria* spp. phân lập ở Việt Nam 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.

Loài *T. annulata* phân lập trong nghiên cứu này có trình tự ITS2 tương đồng 100%, và tương đồng < 99% với các trình tự tham chiếu phân lập từ bò - Trung Quốc. Loài *T. buffeli* phân lập trong nghiên cứu này có trình tự ITS2 tương đồng 100%, và tương đồng < 99% với các trình tự tham chiếu từ Mỹ. 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.

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.



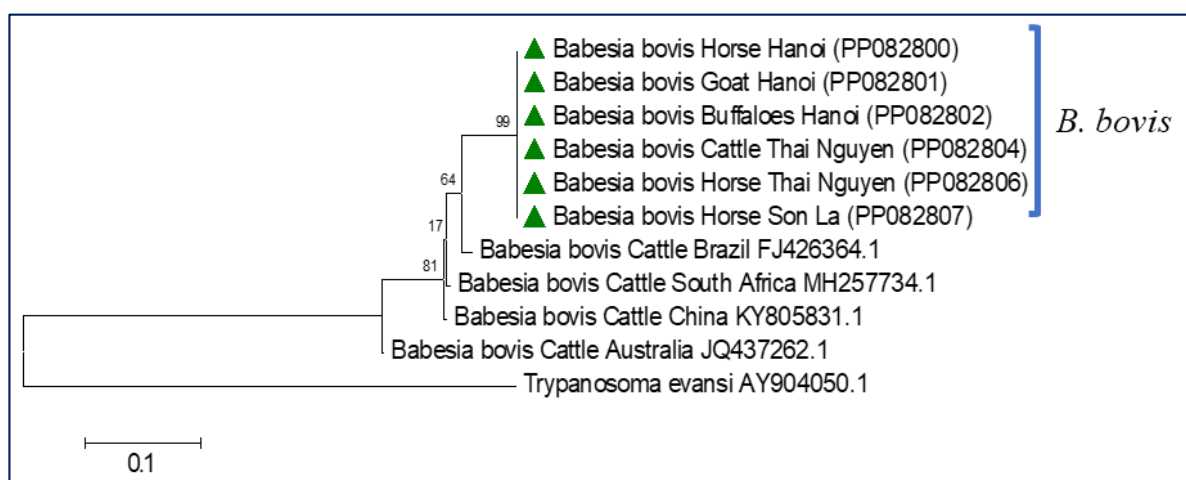
Hình 3. 12. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Anaplasma* spp.

* 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 ngoại 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. boolense* và *Candidatus A. cinensis* 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. cinensis*. 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 muỗi từ Trung Quốc (Hình 3.12).

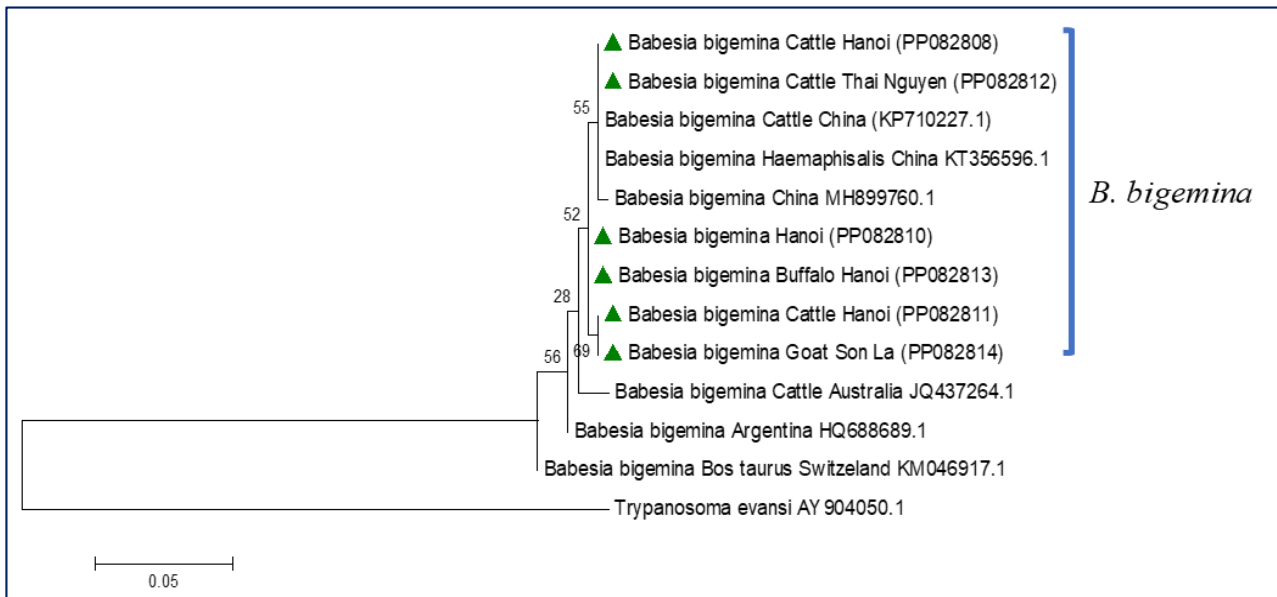
b) Kết quả xây dựng và phân tích cây phả hệ loài *Babesia* spp.



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.

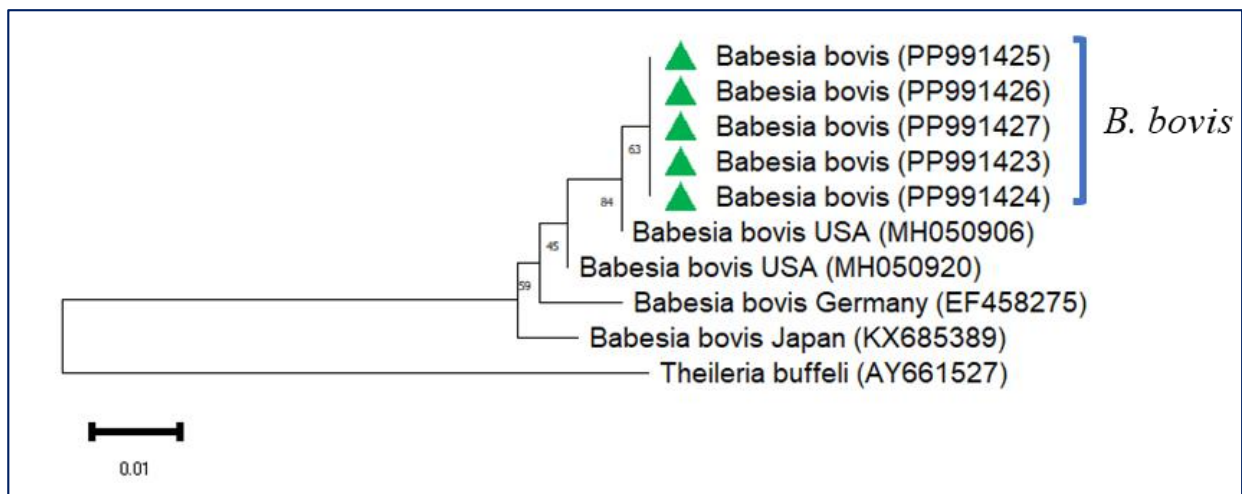
Các chuỗi gen của loài *B. bovis* trong nghiên cứu này của chúng tôi có trình tự gen 18S rDNA giống nhau 100%. Ở Việt Nam, *B. bovis* được báo cáo tại Huế, phân lập từ trâu và bò. Các phân lập *B. bovis* (LC004298 - LC004306) này có quan hệ loài gần gũi với các chủng *B. bovis* phân lập từ trâu và bò 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.



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 ngoại 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 vật nuôi 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. Chủng 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).

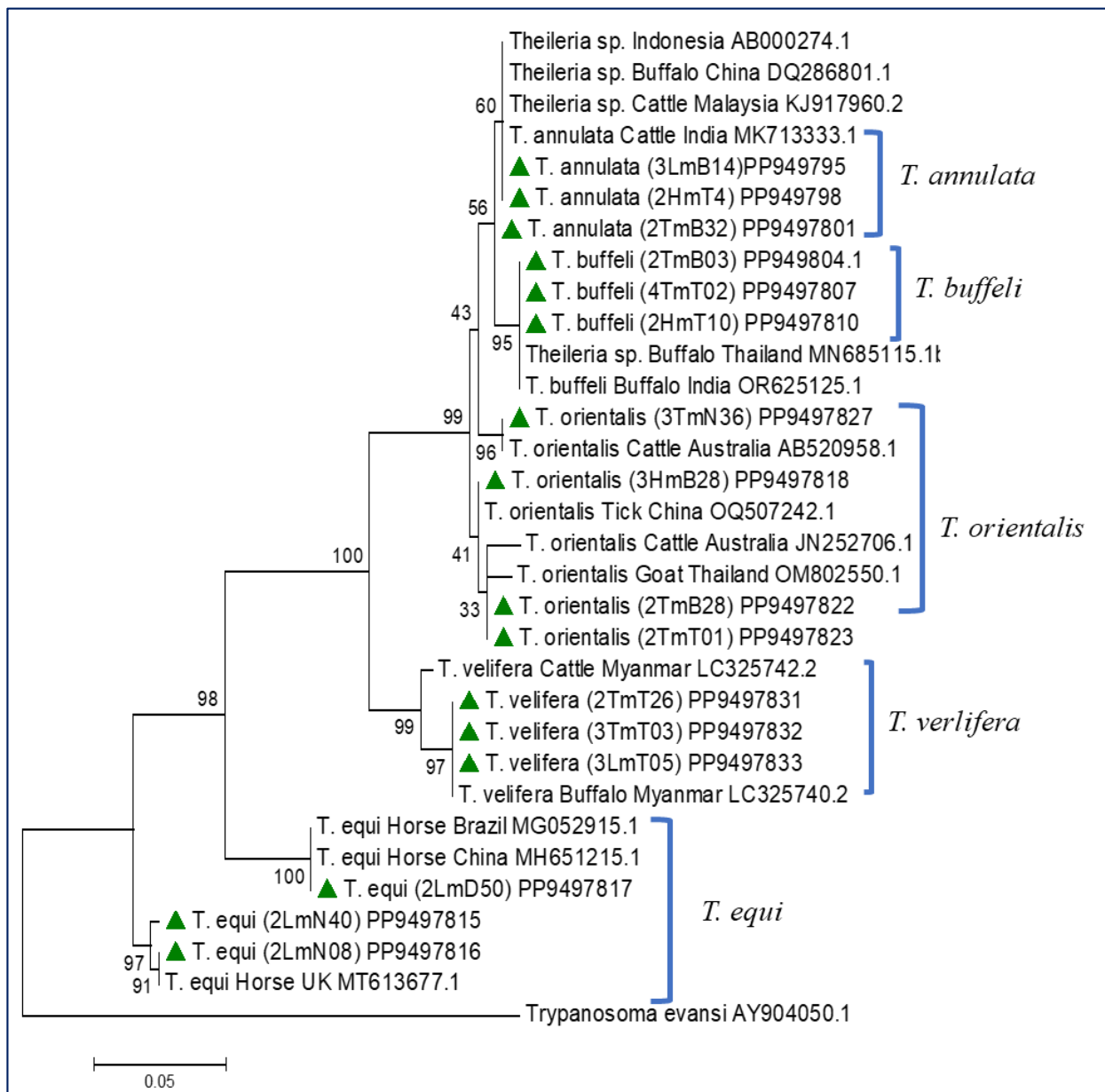


Hình 3.15. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Babesia bovis*

* *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).

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



Hình 3. 16. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Theileria* spp.

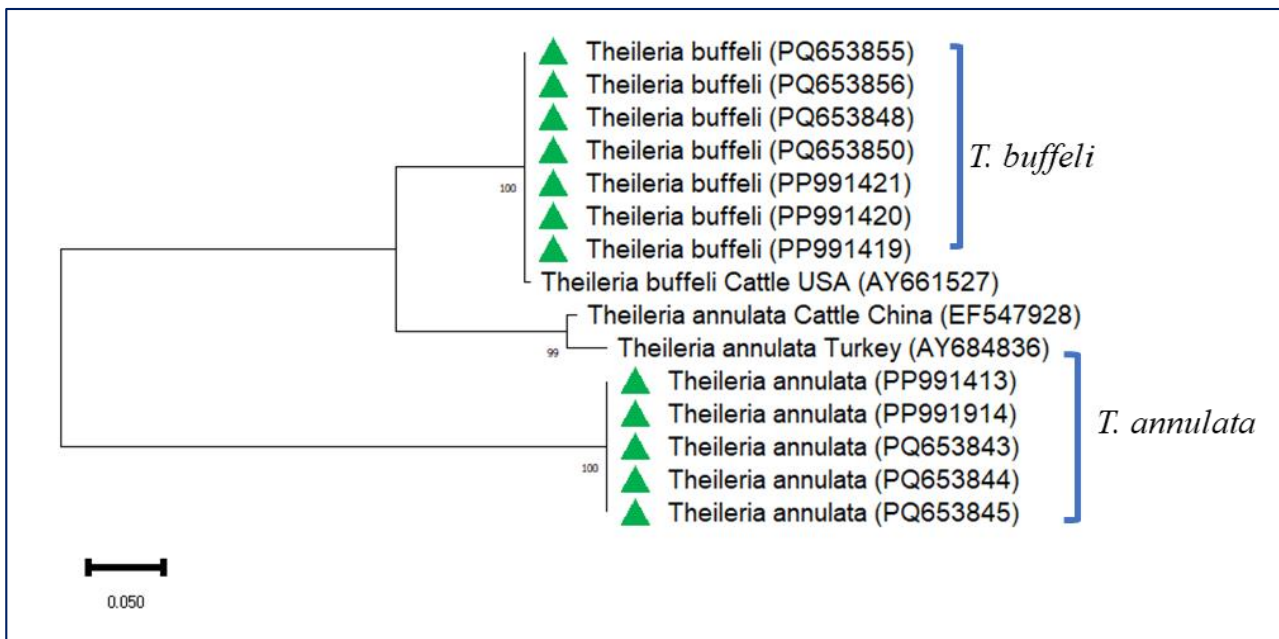
* *Ghi chú:* Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Theileria* spp. ở trâu, bò, dê, ngựa được xây dựng từ gen 18S rDNA (320 nucleotides) trên phần mềm MEGA 6.0, sử dụng phương pháp “Tiếp cận cực đại” (Maximum Likelihood – ML) với độ tin cậy (Bootstrap Value) 1.000 lần lặp lại (Tamura và ctv, 2013). 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. verlifera 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. verlifera* 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. verlifera* lưu hành ở Việt Nam có thể chỉ có một chủng duy nhất là *T. verlifera 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.



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%.

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

- 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/không nhiễm ve, 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 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.

- 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.

- Kết luận chung: Các yếu tố nguy cơ nhiễm ký sinh trùng đường máu ở trâu, bò, dê và ngựa tại 3 tỉnh/TP là: mùa, loài vật nuôi, giống vật nuôi 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 trên 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. 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.

3.2.2. Đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp

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. Bò nên kiểm soát chặt chẽ với ve. Trâu và ngựa nên kiểm soát ve, ruồi. Vật nuôi ở TP. Hà Nội và Thái Nguyên nên kiểm soát chặt chẽ ve. Vật nuôi ở Sơn La nên kiểm soát ruồi, mòng.

- 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, ủ phân sử dụng men sinh học.

- Chăm sóc vật nuôi tăng cường sức đề kháng. Ngâm tắm hoặc xịt trực tiếp lên vật nuôi bằng permethrin 5%.

- 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 giữ lại 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 bao gồm: *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *Candidatus Anaplasma cinensis*, *Candidatus Anaplasma boolense*, *B. bigemina*, *B. bovis*, *T. annulata*, *T. buffeli*, *T. equi*, *T. orientalis*, *T. verlifera*. Trong đó, có 3 loài *Anaplasma* spp. (*A. phagocytophilum*, *Candidatus Anaplasma cinensis*, *Candidatus Anaplasma boolense*) và 3 loài *Theileria* spp. (*T. buffeli*, *T. verlifera* và *T. equi*) lần đầu được công bố tại 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 liên quan đến nhiễm ký sinh trùng đường máu trên trâu, bò, dê, ngựa và đề xuất biện pháp phòng bệnh thích hợp.

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 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. Sử dụng màn (mùng) cho vật nuôi. Dùng thuốc điều trị để phòng bệnh. Luân phiên chăn thả. Chăm sóc vật nuôi tăng cường sức đề kháng. Giữ lại 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.

- Phát triển phương pháp phòng bệnh theo hướng “Một sức khỏe”.

5. 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 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, 3 loài *Anaplasma* spp. (*Candidatus* *Anaplasma boolense*, *Candidatus* *Anaplasma sinensis* và *A. phagocytophilum*) và 3 loài *Theileria* spp. (*T. buffeli*, *T. verlifera* và *T. equi*) lần đầu được công bố phát hiện trên vật nuôi tại miền Bắc - Việt Nam. 5/12 loài (*A. platys*, *A. phagocytophilum*, *A. marginale*, *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) của các loài ký sinh trùng đường máu này đã được nộp, xét duyệt và lưu trữ lên ngân hàng gen của thế giới.

6. Bố cục của luận án

Luận án gồm 147 trang: Mở đầu (6 trang); Chương 1: Tổng quan tài liệu (41 trang); Chương 2: Nội dung, đối tượng, vật liệu và phương pháp nghiên cứu (19 trang); Chương 3: Kết quả và thảo luận (79 trang); chương 4: Kết luận và đề nghị (2 trang); Danh mục công trình đã công bố (1 trang); Tài liệu tham khảo trong đó 34 tài liệu tiếng Việt và 160 tài liệu tiếng Anh; 40 bảng và 33 hình, 12 trang phụ lục.

**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 Thủy, 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.