

ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA VI KHUẨN *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* PHÂN LẬP TỪ LỢN VIÊM PHỔI TẠI HUYỆN TÂN YÊN, TỈNH BẮC GIANG

Nguyễn Quang Tính¹, Lê Văn Hưng², Lê Văn Hải² và Đỗ Bích Huệ³

¹Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên; ²Công ty Cổ phần Dinh dưỡng Hải Thịnh;

³Viện Khoa học sự sống - Đại học Thái Nguyên

Tác giả liên hệ: Nguyễn Quang Tính, Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên.
Tel: 0916245995. Email: nguyenvangtinh@tuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xác định một số đặc điểm dịch tễ, đặc tính sinh vật hoá học của các chủng vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*) ở lợn mắc bệnh viêm phổi tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang. Tỷ lệ mắc viêm phổi ở đàn lợn tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang là 30,8% và tỷ lệ chết/lợn mắc bệnh viêm phổi 17,8%. Tỷ lệ mắc bệnh và chết do viêm phổi khác nhau ở các lứa tuổi; lợn nhỏ hơn 3 tháng tuổi có tỷ lệ mắc, chết cao nhất, tiếp đến là lợn 3 - 6 tháng tuổi và thấp nhất ở lợn trên 6 tháng. Trong 130 mẫu bệnh phẩm phân lập được 27 mẫu vi khuẩn *A. Pleuropneumoniae* (chiếm 20,77%) trong đó, cao nhất ở lợn sau cai sữa 1,5 - 3 tháng tuổi chiếm 27,50% và thấp nhất ở lợn con sơ sinh đến 1,5 tháng tuổi, chiếm 12,50%. Vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* phân lập được có các đặc tính sinh học điển hình của vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*. 27 chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* phân lập được xác định serotype: số chủng thuộc serotype 2 chiếm tỷ lệ cao nhất là 70,37% và thuộc serotype 5b thấp nhất là 11,11%. Các chủng vi khuẩn đều mẫn cảm cao với các loại kháng sinh như ceftiofur, florfenicol, amoxicillin, ofloxacin và kháng với một số loại kháng sinh như neomycin, colistin, tetracycline.

Từ khóa: Đặc điểm sinh học, vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae*, lợn, tỉnh Bắc Giang

ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* là một tác nhân gây bệnh viêm phổi - màng phổi ở lợn. Bệnh có sự phân bố rộng rãi và ngày càng trở nên quan trọng do việc chăn nuôi lợn ngày một phát triển. Vi khuẩn này thuộc họ *Pasteurellae*, giống *Actinobacillus*, trước đây còn có tên là *Haemophilus parahaemolyticus* hay *Haemophilus pleuropneumoniae* đã được chứng minh là nguyên nhân chính gây nên bệnh viêm phổi - màng phổi truyền nhiễm ở lợn. Hội chứng viêm phổi ở lợn do nhiều nguyên nhân gây ra, trong đó phải kể đến bệnh viêm phổi ở lợn thường do các loại vi khuẩn như, *Actinobacillus pleuropneumoniae* và *Streptococcus suis* gây ra. Nghiên cứu của Nguyễn Hữu Nam và Nguyễn Thị Lan (2007), Cù Hữu Phú (2011) cho thấy, vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis* serotype 2, *Bordetella bronchiseptica* đã làm cho lợn bị bệnh trầm trọng và xuất hiện các bệnh lý nặng, kéo dài với tỷ lệ mắc bệnh cũng như chết cao. Nguyễn Quang Tính và cs. (2020) cho biết, tỷ lệ mắc viêm phổi trên đàn lợn tại huyện Hiệp Hòa, tỉnh Bắc Giang chiếm từ 18,41% - 28,91% và tỷ lệ chết là 18,41%, tỷ lệ phân lập vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* cao nhất ở lợn sau cai sữa là 30% và thấp nhất ở lợn sơ sinh đến 1,5 tháng tuổi là 8%.

Huyện Tân Yên thuộc Tỉnh Bắc Giang có nghề chăn nuôi lợn rất phát triển, đem lại nguồn thu nhập cao cho nhiều hộ gia đình và góp phần phát triển chăn nuôi lợn bền vững, tạo ra sản phẩm an toàn có sức cạnh tranh cao trên thị trường. Tuy nhiên, trong vài năm gần đây, hội chứng viêm phổi đã xuất hiện rất phổ biến trên đàn lợn của huyện và gây thiệt hại lớn về kinh tế do sinh trưởng chậm, hiệu quả sử dụng thức ăn thấp, bệnh thường kéo dài, chi phí thuốc thú y cao. Do đó, để làm rõ thêm đặc tính của vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* là một trong những yếu tố quan trọng gây bệnh viêm phổi lợn tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang chúng tôi thực hiện nghiên cứu này, để từ đó làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo.

Mục tiêu nghiên cứu:

Xác định được một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, từ đó làm cơ sở khoa học để xây dựng biện pháp phòng chống bệnh viêm phổi do vi khuẩn này gây ra ở lợn tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Lợn bị viêm phổi.

Mẫu bệnh phẩm được lấy bao gồm: máu tim, gan, lách, phổi của các con lợn bị ốm hoặc chết có triệu chứng, bệnh tích mắc bệnh viêm phổi.

Các loại môi trường dùng để nuôi cấy, phân lập vi khuẩn do hãng Oxoid (Anh) và Merck (Pháp) sản xuất; môi trường nước thịt, thạch thường, nước thịt gan yếm khí, thạch Sabouraud, SCD (Soybean Casein Digest); môi trường phân lập vi khuẩn và tăng sinh; môi trường xác định các đặc tính sinh hóa; các vật liệu hóa chất khác; chuột nhắt trắng.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 6 năm 2020 đến tháng 7 năm 2022.

Địa điểm nghiên cứu: Tại 3 xã ở huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang; Bộ môn Hóa sinh Viện Khoa học sự sống, Đại học Thái Nguyên.

Nội dung nghiên cứu:

Nghiên cứu đặc điểm dịch tễ, đặc tính sinh vật hóa học của vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* gây bệnh viêm phổi ở lợn.

Xác định một số đặc tính gây bệnh của một số chủng *A. pleuropneumoniae* phân lập được và phương pháp kháng sinh đồ.

Phương pháp nghiên cứu

Được sử dụng phương pháp nghiên cứu dịch tễ học mô tả (Descriptive study) dịch tễ học phân tích (Analytic study) và dịch tễ học thực nghiệm của Nguyễn Như Thanh (2001), Nguyễn Văn Thiện (1997).

Các phương pháp đo lường dịch tễ:

$$\text{Tỷ lệ lợn mắc viêm phổi (\%)} = \frac{\text{Số lợn viêm phổi}}{\text{Tổng số lợn điều tra}} \times 100$$

$$\text{Tỷ lệ mắc viêm phổi theo độ tuổi (\%)} = \frac{\text{Số lợn mắc viêm phổi theo độ tuổi}}{\text{Tổng số lợn theo độ tuổi được điều tra}} \times 100$$

$$\text{Tỷ lệ tử vong viêm phổi (\%)} = \frac{\text{Số lợn chết do viêm phổi}}{\text{Tổng số lợn mắc viêm phổi}} \times 100$$

Phương pháp kiểm tra các đặc tính sinh hoá và khả năng lên men đường của các chủng vi khuẩn phân lập được thực hiện theo Quy trình của Viện Khoa học sự sống, Đại học Thái Nguyên:

Thử phản ứng oxydase: tiến hành trên giấy được thấm 1% dung dịch tetrametyl-p-phenylenediamine hydrochloride; dùng que cấy bạch kim lấy khuẩn lạc từ môi trường thạch bôi lên trên mặt giấy đã thấm thuốc thử; nếu thấy xuất hiện màu tím đen sau 30 giây là phản ứng dương tính; nếu không thấy xuất hiện màu tím đen hoặc không đổi màu là phản ứng âm tính.

Thử phản ứng catalase: dùng phiến kính sạch, nhỏ một giọt dung dịch oxy già 3% lên trên, que cấy bạch kim lấy khuẩn lạc từ môi trường thạch trộn đều với giọt oxy già 3%, nếu có hiện tượng sủi bọt là phản ứng dương tính.

Thử phản ứng sinh Indol: cấy chủng vi khuẩn cần kiểm tra vào môi trường nước thịt. Để tủ ấm ở 37°C/24 giờ. Nhỏ 0,5 ml dung dịch Kovac's vào, phản ứng dương tính khi quan sát thấy một vòng màu đỏ trên mặt môi trường.

Thử phản ứng lên men đường: cấy chủng vi khuẩn cần kiểm tra vào môi trường nước thịt, nuôi ở tủ ấm 37°C/24 giờ, sau đó nhỏ 0,2 ml canh khuẩn vào dung dịch đường đã chuẩn bị trước; sau 24 giờ giữ ở tủ ấm 37°C, nếu quan sát thấy màu của môi trường thay đổi thành màu đỏ là dương tính, nếu vi khuẩn có sinh hơi sẽ thấy hơi trong ống Durham và đầy mực nước trong ống Durham xuống.

Xác định serotype của vi khuẩn A. pleuropneumoniae bằng phương pháp ngưng kết với kháng huyết thanh chuẩn: Chuẩn bị kháng huyết thanh: Kháng huyết thanh chuẩn *A. pleuropneumoniae* được pha loãng theo cơ số 2 thành: 1/2, 1/4, 1/8. Sau đó ủ với protein A chiết xuất từ *A. pleuropneumoniae* theo tỷ lệ 1:5 trong thời gian 2 giờ ở 37°C; Chuẩn bị kháng nguyên: Cấy vi khuẩn trên môi trường TSA trong thời gian 18 giờ, sau đó thu hoạch với nước sinh lý.

Tiến hành: Lấy 10 µl kháng huyết thanh chuẩn hòa lẫn với 10 µl kháng nguyên, trộn đều trong vòng khoảng 5 giây. Kết quả: Xuất hiện phản ứng ngưng kết lên bông: phản ứng dương tính, không xuất hiện ngưng kết: Phản ứng âm tính.

Phương pháp xác định độc lực của các chủng vi khuẩn phân lập được thực hiện theo phương pháp của Cù Hữu Phú và cs. (2004), mỗi chuột nhất trắng đủ điều kiện thí nghiệm được tiêm 0,5ml canh trùng nuôi cấy ở 37°C/24 giờ ($\sim 2 \times 10^6$ vi khuẩn/chuột) vào phúc xoang. Số chuột được theo dõi thời gian chết trong vòng 7 ngày. Chuột chết được tiến hành mổ khám, kiểm tra bệnh tích và phân lập lại vi khuẩn từ máu tim.

Phương pháp xác định khả năng miễn cảm với kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập được bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch và đánh giá kết quả theo Hội đồng quốc gia Hoa Kỳ về các tiêu chuẩn lâm sàng phòng thí nghiệm NCCLS (1999), chuẩn bị môi trường thạch đĩa Muller Hinton; vi khuẩn *S. suis* nuôi cấy trong môi trường thạch TSA qua đêm; các khuẩn lạc của các vi khuẩn được tạo huyền phù trong nước muối sinh lý 0,9% để được độ đục tương đương ống McFarland 1 (3×10^8 CFU/ml); dùng tấm bông vô trùng, tấm dung dịch đã pha loãng và dàn đều lên thạch đĩa Muller Hinton; dùng máy tự động đặt các khoanh giấy thấm kháng sinh của hãng Oxoid (Anh) lên mặt đĩa thạch; bồi dưỡng đĩa thạch ở 37°C/18 - 24 giờ (5% CO₂); đọc kết quả và so sánh với bảng chuẩn.

Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2019 để xử lý số liệu.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đặc điểm dịch tễ bệnh viêm phổi lợn do vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*

Đánh giá tình hình bệnh viêm phổi ở lợn theo địa dư hành chính, nghiên cứu tiến hành xác định tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ chết vì bệnh viêm phổi tại 3 xã: Ngọc Châu, Ngọc Vân, Liên Chung. Kết quả được thể hiện tại Bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ lợn mắc bệnh và chết do viêm phổi tại 3 xã của huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang

Tên xã	Tổng số lợn điều tra (con)	Lợn viêm phổi/số lợn điều tra		Lợn chết do viêm phổi/số con mắc bệnh	
		Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)
Ngọc Châu	940	324	34,5	64	19,75
Ngọc Vân	730	233	31,9	43	18,45
Liên Chung	1110	290	26	44	15,2
Tính chung	2748	847	30,8	151	17,8

Kết quả Bảng 1 cho thấy: Tỷ lệ mắc viêm phổi chung trên tổng số lợn điều tra là 30,8% và tỷ lệ chết 17,8%. Tỷ lệ lợn mắc viêm phổi và chết có sự khác nhau giữa các xã trong huyện, tại xã Ngọc Châu tỷ lệ mắc và chết cao nhất (tương ứng 34,5% và 19,75%); thấp nhất ở Liên Chung (tương ứng 26% và 15,2%). Kết quả có thể do chăn nuôi lợn ở Ngọc Châu chủ yếu theo hộ gia đình, điều kiện chăm sóc, nuôi dưỡng, vệ sinh còn hạn chế. Kết quả này cũng khá tương đồng với nghiên cứu của Đặng Xuân Bình và cs. (2007), trên đàn lợn tại tỉnh Hà Tây và Thái Nguyên cho thấy, mắc bệnh viêm phổi chiếm tỷ lệ 100% theo đàn và trung bình 36,53% theo cá thể. Như vậy, ở mỗi địa phương khác nhau tỷ lệ lợn mắc bệnh viêm phổi cũng khác nhau và mỗi vùng sinh thái, mỗi điều kiện chăn nuôi và trình độ người chăn nuôi khác nhau đã ảnh hưởng đến tỷ lệ mắc viêm phổi ở lợn vùng đó.

Phân lập vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* từ mẫu bệnh phẩm

Bảng 2. Kết quả phân lập vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* từ mẫu bệnh phẩm lợn mắc bệnh viêm phổi các lứa tuổi khác nhau

Đối tượng	Số mẫu kiểm tra	<i>A. pleuropneumoniae</i>	
		Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Lợn sơ sinh-1,5 tháng tuổi	32	4	12,50
Lợn sau cai sữa >1,5-3 tháng tuổi	40	11	27,5
Lợn 3 - 6 tháng tuổi	38	7	18,42
Lợn > 6 tháng tuổi	20	5	25,00
Tính chung	130	27	20,77

Kết quả Bảng 2 cho thấy: trong các mẫu bệnh phẩm lợn mắc bệnh viêm phổi theo bốn nhóm tuổi, đều đã phân lập được vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*. Tính chung, cả bốn lứa tuổi (130 mẫu bệnh phẩm): Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* là 20,77%; tỷ lệ phân lập vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* cao nhất ở lợn sau cai sữa 1,5 - 3 tháng tuổi (27,50%) và

thấp nhất ở lợn sơ sinh đến 1,5 tháng tuổi (12,50%). Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đặng Xuân Bình và cs. (2007) đã phân lập được *A. pleuropneumoniae* với tỷ lệ mẫu dương tính 31,25% trong tổng số 37 bệnh phẩm phổi lợn có viêm dính màng phổi tại tỉnh Hà Tây và Thái Nguyên.

Giám định một số đặc tính sinh học của vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*

Bảng 3. Kết quả giám định một số đặc tính sinh học của *A. pleuropneumoniae* phân lập được

Số TT	Một số đặc tính sinh học	Số chủng VK (n)	Số chủng dương tính (n)	Tỷ lệ (%)	Theo Moller và cs. (1996)
1	Bất màu Gram (-)	27	27	100	Gram (-)
2	Dung huyết	27	27	100	+
3	CAMP	27	27	100	+
4	Urease	27	27	100	+
5	O.N.P.G	27	27	100	+
6	Yếu tố V	27	27	100	v
7	Oxidase	27	27	100	+
8	Catalase	27	27	100	+
9	Indol	27	0	0	-

Kết quả Bảng 3 cho thấy: 100% số chủng dương tính với phản ứng urease, Catalase, oxidase, CAMP, O.N.P.G. 100% số chủng âm tính với phản ứng sinh Indol và không mọc trên thạch MacConkey. Số chủng cần yếu tố V cho quá trình phát triển là 100%. Kết quả giám định 27 chủng *A. pleuropneumoniae* phân lập được đều có đặc tính sinh hóa của *A. pleuropneumoniae* như nghiên cứu của Frey và Bosse (1993), Cù Hữu Phú và cs. (2005); Trịnh Quang Hiệp và cs. (2004).

Bảng 4. Phản ứng lên men đường của *A. pleuropneumoniae* phân lập được

TT	Loại đường	Môi trường thạch (n = 27)		Môi trường lỏng (n = 27)	
		Lên men	Tỷ lệ (%)	Lên men	Tỷ lệ (%)
1	Glucose	+	100	+	100
2	Arabinose	-	0	-	0
3	Galactose	+	100	+	100
4	Lactose	-	0	-	0
5	Raffinose	-	0	-	0
6	Fructose	+	100	+	100
7	Maltose	+	100	+	100
8	Sorbitol	-	0	-	0

Kết quả Bảng 4 cho thấy: Trong tổng số 27 chủng *A. pleuropneumoniae* được kiểm tra: 100% các chủng *A. pleuropneumoniae* có khả năng lên men các loại đường: Glucose, Galactose, Fructose, Maltose. 100% các chủng *A. pleuropneumoniae* không lên men với đường: Arabinose, Lactose, Raffinose, Sorbitol. Như vậy, cả hai phương pháp kiểm tra lên men các loại đường khác nhau đều cho kết quả đồng nhất. Tuy nhiên, phương pháp lên men đường trên môi trường thạch có ưu điểm hơn so với phương pháp lên men theo cách truyền thống (môi trường dạng lỏng): tiết kiệm môi trường, dụng cụ, thời gian do trên mỗi đĩa đường nhỏ có thể thực hiện phản ứng lên men cho 3 mẫu khác nhau, giúp tiết kiệm thời gian và chi phí. Kết quả về đặc tính sinh vật học và lên men đường của *A. pleuropneumoniae* của chúng tôi đều phù hợp với những mô tả đã công bố của Moller và cs. (1996) về loại vi khuẩn này.

Xác định serotype của các *A. pleuropneumoniae* phân lập được

Bảng 5. Kết quả xác định serotype của *A. pleuropneumoniae* phân lập được bằng phản ứng AGID

Loại lợn	Số kiểm tra (chủng)	Serotype 2		Serotype 5a		Serotype 5b	
		Số chủng (+)	Tỷ lệ (%)	Số chủng (+)	Tỷ lệ (%)	Số chủng (+)	Tỷ lệ (%)
Lợn sơ sinh-1,5 tháng tuổi	4	3	75,00	1	25,00	0	0
Lợn sau cai sữa >1,5-3 tháng tuổi	11	8	72,72	2	18,18	1	9,09
Lợn 3 - 6 tháng tuổi	7	5	57,14	1	14,28	1	14,28
Lợn >6 tháng tuổi							
Tính chung	27	19	70,37	5	18,52	3	11,11

Kết quả Bảng 5 cho thấy: Trong tổng số 27 chủng phân lập được từ các mẫu bệnh phẩm của lợn nuôi tại các địa phương của huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang, có 19/27 chủng thuộc serotype 2 chiếm 70,37%; 5/27 chủng thuộc serotype 5a chiếm 18,52%; 3/27 chủng thuộc serotype 5b chiếm 11,11%. Như vậy, có thể thấy serotype 2 phổ biến ở các đàn lợn nuôi tại các địa phương của huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang, sau đó là serotype 5. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đương với kết quả của một số tác giả trong nước đã công bố. Theo Cù Hữu Phú và cs. (2005); Trịnh Quang Hiệp và cs. (2004); Nguyễn Thị Thu Hằng (2010) sự có mặt của serotype 2 chiếm ưu thế trong các serotype phân lập được từ lợn nuôi tại một số địa phương miền Bắc Việt Nam.

Xác định độc lực của vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* trên chuột nhắt trắng

Để làm rõ vai trò gây bệnh của *A. pleuropneumoniae* phân lập được, sau khi đã xác định hình thái, nuôi cấy, đặc tính sinh học, serotype việc kiểm tra độc lực trên động vật thí nghiệm là cần thiết. Chúng tôi đã chọn 12 chủng *A. pleuropneumoniae* có các yếu tố đặc trưng cùng theo

yếu tố khu vực để xác định độc lực trên chuột nhắt trắng, từ đó làm cơ sở cho việc phòng và điều trị bệnh. Kết quả kiểm tra được trình bày ở Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả kiểm tra độc lực của *A. pleuropneumoniae* phân lập được

Ký hiệu chủng	Số chuột tiêm (con)	Liều tiêm (ml) (~7,7x10 ⁸ CFU/ 0,5ml)	Đường tiêm	Số chuột chết (con)	Thời gian chết (giờ)	Phân lập lại VK
A -VY1	2	0,5		2	36	+
A -VY2	2	0,5		1	48	+
A -VY3	2	0,5		2	24	+
A -VY4	2	0,5		2	18	+
A -VY5	2	0,5	Phúc xoang	2	24	+
A -VY6	2	0,5		2	24	+
A -VY7	2	0,5		1	36	+
A -VY8	2	0,5		2	18	+
A -VY9	2	0,5		2	24	+
A -VY10	2	0,5		2	24	+
A -VY11	2	0,5		1	18	+
A -VY12	2	0,5		2	24	+

Kết quả Bảng 6 cho thấy: Trong 12 chủng *A. pleuropneumoniae* đem thử độc lực có 9 chủng có độc lực mạnh, giết chết 100% chuột thí nghiệm trong khoảng thời gian từ 18 - 36 giờ; 3 chủng giết chết 50% chuột thí nghiệm trong khoảng thời gian từ 18 - 48 giờ với số lượng vi khuẩn gây nhiễm là 7,7x10⁸CFU. Tất cả số chuột sau khi chết đều được mổ khám kiểm tra bệnh tích, phân lập lại được *A. pleuropneumoniae* thuần từ máu tim, mổ khám bệnh tích đều thấy phổi sưng xuất huyết phù nề, viêm dính giai đoạn đầu. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả của một số tác giả trong nước đã công bố: Đặng Xuân Bình và cs. (2007) nhóm nghiên cứu này đã thử độc lực trên 15 chuột và tỷ lệ chuột chết là 100%; Nguyễn Thị Thu Hằng (2010) chọn 10 chủng *A. pleuropneumoniae* kiểm tra độc lực trên chuột. Tất cả 10 chủng đều gây chết 100% chuột thí nghiệm trong khoảng thời gian từ 18 - 48 giờ, trong đó có: 2/10 chủng gây chết chuột sau 18 giờ; 7/10 chủng gây chết chuột sau 24 giờ; 1/10 chủng gây chết chuột sau 48 giờ. Kết quả này chứng tỏ vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* phân lập được có độc lực

cao đối với chuột nhắt trắng và có thể là một trong những nguyên nhân chính gây bệnh đường hô hấp cho lợn ở huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang.

Kết quả xác định tính miễn cảm kháng sinh của *A. pleuropneumoniae* phân lập được

Bảng 7. Kết quả xác định mức độ miễn cảm kháng sinh các chủng *A. pleuropneumoniae*

TT	Loại kháng sinh	<i>A. pleuropneumoniae</i> (n=27)	
		Số chủng miễn cảm	Tỷ lệ (%)
01	Penicillin G	10	37,03
02	Amikacin	18	66,67
03	Enrofloxacin	24	88,89
04	Tetracycline	10	37,03
05	Ceftiofur	25	92,59
06	Ofloxacin	21	77,78
07	Streptomycin	12	44,44
08	Amoxicillin	22	81,48
9	Neomycin	10	37,03
10	Colistin	12	44,44

Kết quả Bảng 7 cho thấy: Vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* phân lập được miễn cảm cao với các loại kháng sinh như: ceftiofur, amoxicillin, enrofloxacin đồng thời miễn cảm thấp với các loại kháng sinh như: neomycin, penicillin G, tetracyclin. Cụ thể là: Các mẫu vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* đem thử miễn cảm cao nhất với kháng sinh ceftiofur với tỷ lệ 92,59%, tiếp đến là enrofloxacin với tỷ lệ 88,89%, tiếp đến là amoxicillin với tỷ lệ 81,48%. Ngược lại, các mẫu miễn cảm thấp nhất với penicillin G, neomycin và tetracyclin (tỷ lệ 37,03%). So sánh với kết quả nghiên cứu của Trịnh Quang Hiệp (2004), kết quả thu được của chúng tôi có đôi chút khác biệt. Theo nghiên cứu của tác giả, các chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* phân lập được từ đường hô hấp của lợn miễn cảm cao với các loại kháng sinh như neomycin, amikacin hay amoxicillin. Tuy nhiên, kết quả thu được của chúng tôi ở đây cho thấy những loại kháng sinh này có sự miễn cảm thấp hoặc bị kháng với tỷ lệ khá cao. Điều này có thể được giải thích là theo thời gian, đã có hiện tượng kháng thuốc của các loại vi khuẩn này. Còn nếu so sánh với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Quang Tính và cs. (2020), vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* đều miễn cảm cao với các loại kháng sinh như ceftiofur, florfenicol, amoxicillin, ofloxacin và đều kháng với một số loại kháng sinh như neomycin, colistin, tetracycline là khá phù hợp. Những kết quả thu được này cho thấy, trong giai đoạn hiện tại có thể sử dụng các loại kháng sinh như ceftiofur, amoxicillin để điều trị bệnh đường hô hấp cho lợn. Tuy vậy, cần có chiến lược và biện pháp cụ thể để hướng dẫn người chăn nuôi và các chủ trang trại sử dụng kháng sinh có ý thức và thận trọng, tránh hiện tượng vi khuẩn kháng đồng thời với nhiều loại kháng sinh, đặc biệt trong điều trị bệnh viêm phổi ở trên lợn.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết luận

Tỷ lệ mắc viêm phổi ở đàn lợn tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang là 30,8% và tỷ lệ chết 17,8%; Tỷ lệ mắc bệnh và chết cao nhất là xã Ngọc Châu tương ứng 34,5%, 19,75%; thấp nhất là ở xã Liên Chung tương ứng 26%, 15,2%. Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* là 20,77%; cao nhất ở lợn sau cai sữa 1,5 - 3 tháng tuổi (27,50%) và thấp nhất là lợn con sơ sinh - 1,5 tháng tuổi (46,87%). Vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* phân lập có các đặc tính sinh học đặc trưng giống như các tài liệu trong và ngoài nước đã mô tả. Vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* phân lập được ở lợn mắc viêm phổi đã được xác định các serotype 2, 5a, và 5b, trong đó serotype 2 chiếm tỷ lệ cao nhất (70,37%). Vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* mẫn cảm cao với các loại kháng sinh như ceftiofur, florfenicol, amoxicillin, ofloxacin và đều kháng với một số loại kháng sinh như neomycin, colistin, tetracycline.

Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu xây dựng biện pháp phòng chống bệnh viêm phổi do vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* gây ra ở lợn tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

- Đặng Xuân Bình, Nguyễn Thị Ngân và Phan Thị Hồng Phúc. 2007. Nhiễm *Actinobacillus pleuropneumoniae* và viêm màng phổi ở lợn. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Thú y, 14(2), tr. 56 - 59.
- Trịnh Quang Hiệp, Cù Hữu Phú, Nguyễn Thu Hằng và Âu Xuân Tuấn. 2004. Xác định đặc tính sinh hóa và độc lực của vi khuẩn *Actinobacillus*, *Pasteurella* và *Streptococcus* gây viêm phổi ở lợn. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (số 4), tr. 476-477.
- Nguyễn Thị Thu Hằng. 2010. Nghiên cứu một số đặc tính sinh học và tính sinh miễn dịch của *Actinobacillus pleuropneumoniae* phân lập từ lợn làm cơ sở cho việc chế tạo vaccin. Luận án tiến sỹ Nông nghiệp, Viện Thú y Quốc Gia, Hà Nội, tr. 115-116.
- Nguyễn Hữu Nam và Nguyễn Thị Lan. 2007. Hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản ở lợn. Hội thảo khoa học về hội chứng rối loạn hô hấp, sinh sản và bệnh liên cầu khuẩn ở lợn, Đại học Nông nghiệp Hà Nội, 2007.
- Cù Hữu Phú, Nguyễn Ngọc Nhiên, Đỗ Ngọc Thuý, Âu Xuân Tuấn, Nguyễn Xuân Huyền, Văn Thị Hương, Đào Thị Hào. 2004. Lựa chọn chủng *E.coli* để chế tạo Autovacxin phòng bệnh tiêu chảy cho lợn con theo mẹ. Viện thú y 35 năm xây dựng và phát triển (1969 - 2004), NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- Cù Hữu Phú. 2011. Nghiên cứu mối liên quan giữa hội chứng rối loạn hô hấp, sinh sản ở lợn với các vi khuẩn gây bệnh và xác định biện pháp phòng ngừa, điều trị. Báo cáo khoa học thú y quốc gia.
- Cù Hữu Phú, Nguyễn Ngọc Nhiên, Nguyễn Thu Hằng, Âu Xuân Tuấn, Nguyễn Bích Thủy, Vũ Ngọc Quý và Phạm Ngọc Bảo. 2005. Tuyển chọn chủng vi khuẩn tự động tiêm phòng bệnh hô hấp cho lợn nuôi ở một số tỉnh phía Bắc. Viện Thú y 35 năm xây dựng và phát triển 1969-2004, tr. 108 - 109
- Nguyễn Quang Tính, Nguyễn Mạnh Hùng và Đỗ Bích Duệ. 2020. Nghiên cứu đặc điểm sinh học của chủng *Actinobacillus pleuropneumoniae* phân lập từ lợn mắc bệnh viêm phổi nuôi tại huyện Hiệp Hòa, tỉnh Bắc Giang” Tạp chí Khoa học Công nghệ Đại học Thái Nguyên, 225(08), tr.142-148
- Nguyễn Như Thanh. 2001. Giáo trình dịch tễ học thú y, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- Nguyễn Văn Thiện. 1997. Phương pháp nghiên cứu trong chăn nuôi, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

Tiếng nước ngoài

- Frey, J. and Bosse, J.T. 1993. *Actinobacillus pleuropneumoniae* RTX toxins: Uniform designation of haemolysins, cytolysins pleurotoxin and their genes, J Gen Microbiol 139, pp. 1723 - 1728.

- Moore, G.M., Basson, R.P. and Tonkinson, L.V. 1996. Clinical trials with tilmicosin phosphate in feed for the control of naturally- acquired pleuropneumonia caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida* in swine. *Am J Vet Res* 57:224-228.
- Moller, K., Nielsen, R., Andersen, L.V. and Killian, M. 1996. Clonal analysis of the *Actinobacillus pleuropneumoniae* population in a geographically - restricted area bu multilocus enzyme electrophoresis, *J. Clin Micro* 30, pp. 623 - 627.
- NCCLS. 1999. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria *isolated from animals*, *Approved Standard*, Pennsylvania, USA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards.

ABSTRACT

Study on biological characteristics of actinobacillus pleuropneumoniae isolated from pneumonitis pigs in Tan Yen district, Bac Giang province

This study aims to determine some epidemiological characteristics and biological and chemical characteristics of *A. pleuropneumoniae* bacterial strains in pigs with pneumonia in Tan Yen district, Bac Giang province. The rate of pneumonia in pigs in Tan Yen district, Bac Giang province has been determined to be 30.8% and the death rate is 17.8%. Morbidity and mortality due to pneumonia vary across ages; Pigs younger than 3 months old have the highest infection and death rate, followed by pigs 3 - 6 months old and the lowest in pigs over 6 months old. In 130 clinical samples, *A. pleuropneumoniae* bacteria were isolated; Overall, it is 20.77%, of which the highest is in post-weaned pigs from 1.5 - 3 months old, accounting for 27.50%, and the lowest is in piglets from birth to 1.5 months old, accounting for 12.50%. *A. pleuropneumoniae* bacteria isolated in this study has the same biological characteristics as described in domestic and foreign documents about this bacteria. 27 isolated strains of *A. pleuropneumoniae* were serotyped: the highest proportion of strains belonging to serotype 2 was 70.37% and the lowest proportion of strains belonging to serotype 5b was 11.11%. The bacterial strains are highly sensitive to antibiotics such as ceftiofur, florfenicol, amoxicillin, ofloxacin and are resistant to some antibiotics such as neomycin, colistin, tetracycline

Keywords: *Biological characteristics, pigs, Tan Yen, Bac Giang, Actinobacillus pleuropneumoniae* bacteria.

Ngày nhận bài: 04/3/2024

Ngày phản biện đánh giá: 15/3/2024

Ngày chấp nhận đăng: 30/4/2024

Người phản biện: TS. Trịnh Quang Tuyên