

KẾT QUẢ PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH MỘT SỐ ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA CÁC CHỦNG *PASTEURELLA MULTOCIDA* Ở LỢN DƯƠNG TÍNH VỚI VIRUT HỘI CHỨNG RỐI LOẠN SINH SẢN VÀ HÔ HẤP TẠI TỈNH BẮC GIANG

Lê Văn Dương¹, Nguyễn Quang Tuyền²
Cù Hữu Phú³, Hoàng Đăng Huyền¹

TÓM TẮT

Qua nghiên cứu 245 mẫu bệnh phẩm ở lợn dương tính với virut hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (PRRS) tại Bắc Giang cho thấy:

- Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* tương đối cao (17,14%), trong đó cao nhất ở lợn sau cai sữa từ 1,5-3 tháng tuổi (22,67%).
- Đã xác định có 31 chủng *P. multocida* thuộc serotype A (tỷ lệ 73,81%) và 11 chủng thuộc serotype D (tỷ lệ 26,19%).
- Các chủng *P. multocida* phân lập được đều có đặc tính sinh vật học điển hình phù hợp với tài liệu đã công bố.
- Các chủng *P. multocida* phân lập được đều có độc lực cao, trong đó có 8/12 chủng gây chết 100% chuột thí nghiệm sau 12-36 giờ và 4/12 chủng gây chết 50% chuột thí nghiệm sau 24-36 giờ.

Từ khóa: Lợn, *Pasteurella multocida*, Đặc tính sinh học, PRRS, Tỉnh Bắc Giang

RESULTS OF ISOLATION AND DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *PASTEURELLA MULTOCIDA* IN PIGS POSITIVE WITH PRRSV AT BAC GIANG PROVINCE.

Le Van Duong, Nguyen Quang Tuyen
Cu Huu Phu and Hoang Dang Huyen

SUMMARY

245 samples in pigs positive with respiratory and reproduction syndrome virus (PRRSV) in Bac Giang province were collected, investigated and the testing results showed that:

- Percentage of samples isolated bacterial species (*P. multocida*) was rather high accounting for 17.14%; Of which the highest ratio (22.6%) was samples in piglets after weaning (from 1.5 to 3 months old).
- 31 bacterial species of *P. multocida* belonging to serotype A (account for 73.81%) and 11 bacterial species of *P. multocida* belonging to serotype D (account for 26.19%) were isolated.
- *P. multocida* bacterial species were isolated having typically biological characteristics, which were similar with the descriptions for them in the papers/documentation in the country and foreign countries.
- *P. multocida* bacterial species were isolated having high toxicity, of which 8/12 bacterial species caused 100% of experimental mice died after 12-36 hours and 4/12 bacterial species caused 50% experimental mice died after 24-36 hours.

Key words: Pig, *Pasteurella multocida*, Biological characteristic, PRRS, Bac Giang province

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh tụ huyết trùng ở lợn do vi khuẩn *Pasteurella multocida* gây ra là một bệnh truyền nhiễm xảy ra khá phổ biến tại tỉnh Bắc Giang, lợn thường mắc bệnh tụ huyết trùng và gây ra các ổ dịch mang tính địa phương. Bệnh không những trực tiếp gây chết lợn mà còn là nguyên nhân gây kế phát viêm phổi, thường xảy ra ở lợn nuôi thịt từ 2-4 tháng tuổi, biểu hiện ở thể cấp tính, tỷ lệ chết cao và gây nhiều thiệt hại. Đặc biệt, một trong những nguyên nhân đã làm trầm trọng thêm tình hình dịch bệnh của Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRS) trong những năm qua tại Bắc Giang là do có bệnh nguyên cộng phát hoặc kế phát trên những đàn lợn

¹- Chi cục Thú y tỉnh Bắc Giang

²- Viện khoa học sự sống- Đại học Thái Nguyên

³- Viện Thú y Quốc Gia- Hà Nội

bị nhiễm virus PRRS. Theo nghiên cứu của Cù Hữu Phú và cs (2011) lợn mắc hội chứng PRRS thường bị viêm phổi do các loại vi khuẩn như: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* và *Streptococcus suis* gây ra.

Do đó, việc nghiên cứu một cách toàn diện về vi khuẩn *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) gây viêm phổi ở lợn nhiễm PRRS ở lợn tại tỉnh Bắc Giang là rất cần thiết, từ đó xác định được giải pháp phòng chống bệnh có hiệu quả kinh tế cao cho người chăn nuôi.

II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nội dung

- Phân lập vi khuẩn *P. multocida* từ bệnh phẩm lợn dương tính với virus PRRS tại tỉnh Bắc Giang.
- Xác định một số đặc tính sinh học của các chủng *P. multocida* phân lập.
- Xác định serotype của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập.
- Xác định độc lực của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập.

2.2. Đối tượng, nguyên vật liệu

- Mẫu bệnh phẩm: phổi, cuống họng của lợn ốm, chết có biểu hiện bệnh lý của bệnh PRRS.
- Động vật thí nghiệm: chuột nhắt trắng khỏe mạnh (18-20g/con).
- Các loại môi trường nuôi cấy, phân lập, kiểm tra đặc tính sinh học của vi khuẩn đường hô hấp. Hoá chất, dụng cụ, máy móc phòng thí nghiệm nghiên cứu vi sinh vật (Bộ môn vi trùng-Viện Thú y).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Các phương pháp phân lập, giám định, kiểm tra độc lực vi khuẩn *P. multocida* được thực hiện theo quy trình nghiên cứu của bộ môn vi trùng- Viện Thú y.
- Số liệu được xử lý theo phương pháp toán học thông dụng.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ phân lập vi khuẩn *P. multocida* từ bệnh phẩm lợn dương tính với virus PRRS ở lứa tuổi khác nhau

Bảng 1. Kết quả phân lập vi khuẩn *P. multocida* từ mẫu bệnh phẩm lợn dương tính với virus PRRS các lứa tuổi khác nhau

Đối tượng	Loại mẫu	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu Dương tính	Tỷ lệ (%)	T.chung (%)
Lợn sơ sinh - 1,5 tháng tuổi	Cuống họng	32	3	9,37	8,62
	Phổi	26	2	7,69	
Lợn >1,5- 3 tháng tuổi	Cuống họng	40	10	25,00	22,67
	Phổi	35	7	20,00	
Lợn >3- 6 tháng tuổi	Cuống họng	38	8	21,05	18,92
	Phổi	36	6	16,67	
Lợn nái	Cuống họng	20	4	20,00	15,79
	Phổi	18	2	11,11	
Tính chung		245	42		17,14

Kết quả ở bảng 1 cho thấy trong các mẫu bệnh phẩm lợn dương tính với virus PRRS theo bốn nhóm tuổi, đều đã phân lập được vi khuẩn *P. multocida*.

Tính chung cả bốn lứa tuổi với tổng số 245 mẫu bệnh phẩm, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* là 17,14%. Trong đó, cao nhất ở lợn 1,5-3 tháng tuổi (22,67%), tiếp sau là ở lợn 3 – 6 tháng tuổi (18,92%), lợn nái (15,79%) và thấp nhất là ở bệnh phẩm của lợn sơ sinh đến 1,5 tháng tuổi (8,62%).

Kết quả phân lập vi khuẩn *P. multocida* trong bệnh phẩm của lợn dương tính với virus PRRS tại Bắc Giang cũng tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Nhiên (1996) khi nghiên cứu 72 phổi lợn có bệnh tích bị nhục hóa, áp xe và viêm màng phổi cho thấy tỷ lệ nhiễm *P. multocida* là 37,5%, nhiễm *S. suis* là: 30,5%. Nguyễn Quang Tuyên và cs (2007) đã phân lập vi khuẩn *P. multocida* từ bệnh phẩm lợn chết nghi mắc bệnh tụ huyết

trùng cũng cho thấy tỷ lệ phân lập vi khuẩn *P. multocida* ở tỉnh Thái Nguyên là 19,23%, Tuyên Quang là 24,44% và Bắc Kạn là 26,00%.

3.2. Kết quả giám định một số đặc tính sinh học của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được

Chúng tôi đã tiến hành giám định một số đặc tính sinh học của 42 chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được. Kết quả thu được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả giám định một số đặc tính sinh học của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được

Chỉ tiêu kiểm tra	Số chủng kiểm tra	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)	Theo Carter (1984)
Gram âm	42	42	100,0	-
Dung huyết	42	0	0,0	-
MacConkey	42	0	0,0	-
Indol	42	42	100,0	+
Oxydase	42	42	100,0	+
Catalase	42	42	100,0	+
Glucose	42	42	100,0	+
Galactose	42	42	100,0	+
Lactose	42	0	0,0	-
Maltose	42	0	0,0	-
Mannitol	42	42	100,0	+
Saccharose	42	42	100,0	+
Arabinose	42	0	0,0	-
Fructose	42	42	100,0	+

Kết quả ở bảng trên cho thấy tất cả 42 chủng *P. multocida* phân lập được (100%) đều bắt màu gram âm, dạng cầu trực khuẩn hoặc hình trứng. Các chủng vi khuẩn trên đều mọc tốt trên môi trường thạch máu nhưng không gây dung huyết và đều không mọc trên môi trường Mac Conkey, cho kết quả dương tính với phản ứng Indol, Oxidase, Catalase; đều lên men loại đường glucose, galactose, mannitol, saccharose, fructose và không lên men lactose, maltose và arabinose.

Với kết quả kiểm tra trên chúng tôi nhận thấy các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được đều mang đầy đủ các đặc tính sinh học đặc trưng của vi khuẩn *P. multocida* như các tài liệu trong và ngoài nước đã mô tả.

3.3. Kết quả xác định serotype của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được

Chúng tôi đã sử dụng phản ứng Multiplex-PCR để xác định các serotype giáp mô A, B, D của các chủng *P. multocida* phân lập được theo quy trình đã được chuẩn hóa của bộ môn Vi trùng, Viện Thú y. Kết quả thu được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xác định serotype của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được

Đối tượng	Số chủng vi khuẩn	Kết quả xác định serotype		
		Serotype A	Serotype B	Serotype D
Lợn sơ sinh- 1,5 tháng tuổi	5	4	0	1
Lợn 1,5- 3 tháng tuổi	17	11	0	6
Lợn 3- 6 tháng tuổi	14	10	0	4
Lợn nái	6	6	0	0
Tính chung	42	31(73,81%)	0	11(26,19%)

Kết quả ở bảng 3 cho thấy trong 42 chủng *P. multocida* phân lập được đã xác định được 31 chủng thuộc serotype A (tỷ lệ 73,81%) và 11 chủng thuộc serotype D (26,19%). Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với nghiên cứu của một số tác giả khác trong và ngoài nước như Kang Hee O và cs (1990) khi phân lập vi khuẩn *P. multocida* từ 155 mẫu bệnh phẩm phổi của lợn thịt cho thấy các chủng *P. multocida* được xác định thuộc typ A là 60,4%, type D là 18,6% và còn lại 21,0% chưa xác định. Tại Nhật Bản trong 116 chủng *P. multocida* phân lập từ phổi lợn có bệnh tích nhục hóa, áp xe và viêm màng phổi có 81,9% thuộc typ A và 18,1% thuộc typ

D (Iwanmatsu và cs,1988). Đỗ Ngọc Thuý và cs (2007) đã tiến hành xác định typ giáp mô của các chủng *P. multocida* phân lập được từ vật nuôi, kết quả cho thấy hầu hết các chủng phân lập được từ dịch ngoáy mũi của lợn khỏe, phổi hoặc dịch hầu họng của lợn tại lò mổ thuộc typ A và một chủng phân lập từ lợn bị viêm phổi thuộc typ D.

Như vậy, trong 42 chủng *P. multocida* phân lập được tại Bắc Giang đều thuộc serotype A và D. Với kết quả nghiên cứu trên chúng tôi bước đầu nhận định đàn lợn nuôi tại Bắc Giang mắc viêm phổi là do vi khuẩn *P. multocida* thuộc serotype A và D.

3.4. Kết quả kiểm tra độc lực của vi khuẩn *P. multocida* phân lập được

Chúng tôi đã chọn 12 chủng *P. multocida* phân lập được có các đặc tính sinh học điển hình để tiến hành xác định độc lực. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả kiểm tra độc lực của vi khuẩn *P. multocida* phân lập được

Ký hiệu chủng	Thuộc serotype	Liều tiêm (ml)	Đường tiêm	Số chuột chết/Số chuột tiêm (con)	Tỷ lệ (%)	Thời gian chết (giờ)	Phân lập lại VK
PHH-BG 1	A	0,5	Phúc xoang	2/2	100,0	24- 36	+
PHH-BG 2	D			1/2	50,0	36	+
PVY-BG 3	A			2/2	100,0	24- 30	+
PVY-BG 4	D			2/2	100,0	24	+
PTY-BG 5	A			2/2	100,0	12- 24	+
PTY-BG 6	D			2/2	100,0	18-30	+
PYD-BG 7	A			2/2	100,0	30- 36	+
PYD-BG 8	D			1/2	50,0	24	+
PLG-BG 9	A			1/2	50,0	30	+
PLG-BG 10	D			1/2	50,0	24	+
PLN-BG 11	D			2/2	100,0	12- 24	+
PLN-BG 12	A			2/2	100,0	24	+

Kết quả ở bảng 4 cho thấy sau khi tiêm canh khuẩn cho chuột bạch có 8 chủng giết chết 100% chuột từ 12-36 giờ, trong đó 2 chủng PTY-BG5 và PLN-BG11 có độc lực mạnh nhất, đều giết chết chuột trong vòng 12-24 giờ. Có 4 chủng độc lực yếu hơn, chỉ giết chết 50% chuột thí nghiệm trong vòng 24 - 36 giờ. Kết quả thí nghiệm trên của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của Đỗ Quốc Tuấn và cs (2007) khi thử độc lực của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được từ lợn ở 3 tỉnh miền núi phía Bắc đã cho thấy các chủng vi khuẩn thí nghiệm đều có độc lực cao, gây chết chuột bạch từ 50-100% sau khi tiêm từ 20 – 48 giờ. Đặng Xuân Bình và cs (2010) kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được từ trâu, bò và lợn ở 2 tỉnh Cao Bằng, Hà Giang đã cho kết quả các chủng vi khuẩn đều có độc lực mạnh gây chết chuột thí nghiệm từ 80 – 100% trong vòng 48 giờ sau khi công cường độc.

Chúng tôi đã mổ khám chuột thí nghiệm chết thấy có bệnh tích đặc trưng, điển hình của chuột khi tiêm vi khuẩn *P. multocida* cường độc như bao tim tích nước vàng, gan, phổi sưng, các phủ tạng xuất huyết. Đồng thời cũng phân lập lại vi khuẩn từ máu tim của những chuột chết cho kết quả đều phân lập được vi khuẩn *P. multocida*.

IV. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 245 mẫu bệnh phẩm ở lợn dương tính với virus PRRS tại Bắc Giang cho thấy:

- Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* là tương đối cao 42/245 (tỷ lệ 17,14%), trong đó cao nhất là bệnh phẩm ở lợn sau cai sữa từ 1,5-3 tháng tuổi (22,67%).
- Đã xác định có 31/42 chủng *P. multocida* thuộc serotype A (tỷ lệ 73,81%) và 11/42 chủng thuộc serotype D (tỷ lệ 26,19%).
- Các chủng *P. multocida* phân lập được đều có đặc tính sinh vật học điển hình phù hợp với tài liệu đã công bố.

- Các chủng *P. multocida* phân lập được đều có độc lực cao, trong đó có 8/12 chủng gây chết 100% chuột thí nghiệm sau 12-36 giờ và 4/12 chủng gây chết 50% chuột thí nghiệm sau 24-36 giờ.

Tài liệu tham khảo:

1. Đặng Xuân Bình, Nguyễn Thị Kim Dung, Nguyễn Thị Hà, Lê Bá Hiệp (2010), “Khảo sát sự lưu hành của vi khuẩn *P. multocida* ở gia súc một số tỉnh miền núi phía bắc Việt Nam”, *Tạp chí KHKT thú y*, 17(2), tr. 53- 57.
2. Nguyễn Ngọc Nhiên (1996), Vai trò của một số vi khuẩn đường hô hấp trong hội chứng ho thở truyền nhiễm ở lợn và biện pháp phòng trị, Luận án Phó tiến sĩ khoa học Nông nghiệp, Hà Nội.
3. Đỗ Ngọc Thuý (2007), “Ứng dụng kỹ thuật PCR để định type giáp mô của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được từ vật nuôi”, *Tạp chí KHKT thú y*, 14(1), tr. 36- 41.
4. Đỗ Quốc Tuấn, Nguyễn Quang Tuyên (2007), “Kết quả kiểm tra độc lực và tính miễn dịch kháng sinh của *Pasteurella multocida* phân lập được từ lợn tại khu vực miền núi phía bắc”, *Tạp chí KHKT Thú y*, 14(6), tr. 46-51.
5. Nguyễn Quang Tuyên, Đỗ Quốc Tuấn (2007), “Kết quả phân lập vi khuẩn *Pasteurella multocida* ở lợn tại khu vực miền núi phía Bắc”, *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển Nông thôn*, số 15, tr. 45- 47.
6. Carter G.R. (1984), *Pasteurella, Yersinia, and Francisella*, pp. 111 - 121 in: *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and Mycology 4th ed* (Carter G.R, ed), Charles C, Thomas Publisher, Springfield.
7. Iwamatsu S., Sawada T. (1988), Relationship between serotypes, dermonecrotic toxin production of *Pasteurella multocida* isolation and pneumonic lesions of porcine lungs, *Jpn J Vet Sci* 50: p. 1200 - 1206.
8. Kang Hee O., No Chan Park, Lee Zun Kim, Duk Sang Park (1990), 13(1) “Serogroup and drug susceptibility of *Pasteurella multocida* pneumonia in pig”, *Korean J. Vet. Serv*, pp. 69-74.