

# XÁC ĐỊNH SEROTYPE, ĐỘC LỰC VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG KHÁNG SINH CỦA 3 LOẠI VI KHUẨN GÂY BỆNH VIÊM PHỔI Ở LỢN TẠI TUYỀN QUANG

Nguyễn Văn Quang, Nguyễn Thị Kim Lan\*, Nguyễn Thị Ngân,  
Trần Nhật Thành, Nguyễn Hữu Hòa  
Trường Đại học Nông Lâm – DH Thái Nguyên

## TÓM TẮT

Xác định serotype, độc lực và khả năng kháng kháng sinh của 3 loại vi khuẩn gây bệnh viêm phổi ở lợn tại tỉnh Tuyên Quang. Các chủng *A. pleuropneumoniae* phân lập được thuộc serotype 2 (62,07%) và serotype 5 (20,69%); các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được thuộc serotype A (73,91%) và serotype D (26,09%); các chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được thuộc serotype 2 (32,69%), serotype 7 (25%) và serotype 9 (25%). Các chủng của 3 loại vi khuẩn phân lập được đều có độc lực cao, làm chết 94,82 - 97,11% số chuột thí nghiệm sau khi công cưỡng độc 12 - 36 giờ. Các chủng của 3 loại vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis* phân lập được đều mẫn cảm mạnh với ba loại kháng sinh: ceftiofur, ampicillin và amikacin.

Từ khóa: serotype, độc lực, kháng sinh, vi khuẩn, viêm phổi, lợn

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong bệnh tai xanh (porcine reproductive and respiratory syndrome - PRRS) các vi khuẩn gây viêm phổi kẽ phát là nguyên nhân quan trọng gây chết hàng loạt lợn tại các địa phương. Do virus PRRS phá hủy đại thực bào, làm suy giảm miễn dịch, dẫn đến các loại vi khuẩn có điều kiện phát triển và gây bệnh cho lợn. Trong đó, có ba loại vi khuẩn thường gây bệnh viêm phổi ở lợn như *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*), *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) và *Streptococcus suis* (*S. suis*) (Thomas Blaha và cs, 2005) [7].

Tiêu Quang An và Nguyễn Hữu Nam (2011) [1] đã xác định một số vi khuẩn kẽ phát gây chết lợn trong vùng dịch PRRS ở huyện Văn Lâm, tỉnh Hưng Yên và cho biết lợn mắc PRRS thường kẽ phát bệnh do các nhóm vi khuẩn đường hô hấp như *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida*, *S. suis* và một số vi khuẩn đường ruột khác. Tác giả đã phân lập được vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* với tỷ lệ cao nhất 63,33% và thấp nhất là *P. multocida* với tỷ lệ là 10%. Các tác giả nhận định các nhóm vi khuẩn kẽ phát trên đã làm cho dịch PRRS trầm trọng và phức tạp hơn, làm cho lợn chết với tỷ lệ cao hơn.

Chúng tôi đã phân lập được 29 chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, 46 chủng vi khuẩn *P. multocida* và 52 chủng vi khuẩn *S. suis* ở lợn tại Tuyên Quang. Do đó, để có cơ sở phòng chống bệnh viêm phổi hoặc viêm phổi kẽ phát trong bệnh tai xanh ở lợn, trong năm 2016, chúng tôi đã tiến hành "Xác định serotype, độc lực và khả năng kháng kháng sinh của 3 loại vi khuẩn gây bệnh viêm phổi ở lợn tại Tuyên Quang"

## VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Vật liệu

- Các chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis* gây viêm phổi phân lập được ở lợn dương tính và âm tính với virus PRRS được nuôi tại 4 huyện, thành phố của tỉnh Tuyên Quang.

- Chuột nhắt trắng khối lượng 18 - 20 gam, khỏe mạnh.

### Giấy tẩm kháng sinh

- Các loại hóa chất, môi trường dùng cho các phản ứng kết tủa khuếch tán trên thạch và phản ứng PCR được chuẩn hóa theo quy trình nghiên cứu của Bộ môn Vi trùng, Viện Thú y Quốc gia.

### Nội dung nghiên cứu

- Xác định serotype của các chủng vi khuẩn đã phân lập được.

\* Tel. 0912 660317, Email: lanquang19@gmail.com

- Xác định độc lực của các chủng vi khuẩn trên chuột nhắt trắng.

- Xác định khả năng mẫn cảm với 10 loại kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập.

### Địa điểm phân tích mẫu

Phòng thí nghiệm vi trùng – Viện Thú y và phòng thí nghiệm của Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.

### Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp xác định serotype của vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis*

Xác định serotype của vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* bằng phản ứng kết tủa khuếch tán trên thạch (AGID) của vi khuẩn *P. multocida* và *S. suis* được thực hiện bằng phản ứng PCR đã được chuẩn hóa của Bộ môn Vi trùng, Viện Thú y Quốc gia (Cù Hữu Phú, 2011) [5].

Phương pháp xác định độc lực của các chủng vi khuẩn phân lập trên động vật thí nghiệm

Xác định độc lực của các chủng *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis* phân lập được trên chuột nhắt trắng. Các

**Bảng 1. Kết quả xác định serotype của các chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis* phân lập được**

Serotype	<i>A. pleuropneumoniae</i> n = 29 chủng		<i>P. multocida</i> n = 46 chủng		<i>S. suis</i> n = 52 chủng	
	Số chủng (+)	Tỷ lệ (%)	Số chủng (+)	Tỷ lệ (%)	Số chủng (+)	Tỷ lệ (%)
Serotype 2	18	62,07	-	-	17	32,69
Serotype 5	6	20,69	-	-	-	-
Serotype 7	-	-	-	-	13	25,00
Serotype 9	-	-	-	-	13	25,00
Serotype A	-	-	34	73,91	-	-
Serotype D	-	-	12	26,09	-	-
Không xác định	5	17,24	-	-	9	17,31

Kết quả ở bảng 1 cho thấy: Trong 29 chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* phân lập được từ các mẫu phổi và cuống họng của lợn nuôi tại tỉnh Tuyên Quang, có 18/29 chủng thuộc serotype 2, chiếm 62,07%; 5/29 chủng thuộc serotype 5, chiếm 20,69%; 5/29 chủng không xác định được serotype, chiếm 17,24%. Như vậy, serotype 2 của vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* là serotype phổ biến lưu hành ở các đàn lợn nuôi tại các địa phương của tỉnh Tuyên Quang, sau đó là serotype 5.

Trong 46 chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được có 34 chủng thuộc serotype A, chiếm 73,91% và 12 chủng thuộc serotype D, chiếm 26,09%. Kết quả của chủng tối tương đồng với kết quả nghiên cứu của Cù Hữu Phú (2011) [5], Barrow G.I. và Feltham R.K.A. (2003) [6].

Trong 52 chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được, đã xác định được 17/52 chủng thuộc serotype 2, chiếm tỷ lệ cao nhất (32,69%); 13/52 chủng thuộc serotype 9 (chiếm 25%); có 9 chủng chưa xác định được serotype, chiếm 17,31%.

chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis* phân lập từ phổi và cuống họng của lợn tại tỉnh Tuyên Quang, mỗi chủng vi khuẩn được tiêm vào xoang phúc mạc cho 2 chuột thí nghiệm, sử dụng canh trùng đã nuôi cây 24 giờ ở 37°C trong điều kiện có 5 - 10% CO<sub>2</sub>, liều tiêm 0,2 ml/con; chuột thí nghiệm được theo dõi trong vòng 48 giờ sau khi tiêm.

Phương pháp xác định mức độ mẫn cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập được

Sử dụng phương pháp kháng sinh đồ, do đường kính vòng vô khuẩn và so sánh với bảng chuẩn để đánh giá mức độ mẫn cảm hay kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn.

### Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý trên phần mềm Excel 2007.

### KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Xác định serotype của các chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis* phân lập được.

Lê Văn Dương (2013) [3] đã xác định serotype của các chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được tại Bắc Giang và cho biết: Có 56,29% số chủng thuộc serotype 2; 17,04% thuộc serotype 9; 5,18% thuộc serotype 7; 2,22% thuộc serotype 21 và 29; số chủng chưa xác định được là 17,04%.

Như vậy chúng tôi cũng xác định được 3/5 serotype của vi khuẩn *S. suis* mà tác giả đã công bố ở trên.

Kết quả kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis* phân lập được

Bảng 2. Kết quả kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* phân lập được

Địa phương (huyện, thành)	Số chủng kiểm tra	Số chuột tiêm (con)	Liều tiêm xoang phúc mạc (ml/con)	12 - 18h	18 - 24h	24 - 36h	Tỷ lệ chuột chết (%)	Kết quả phân lập lại vi khuẩn
TP.Tuyên Quang	10	20	0,2	8	12	0	100	+
H. Yên Sơn	5	10	0,2	2	5	2	90,00	+
H. Chiêm Hóa	6	12	0,2	4	4	3	91,67	+
H. Sơn Dương	8	16	0,2	8	3	4	93,75	+
Tỉnh chung	29	58	0,2	21	23	11	94,82	+

Bảng 3. Kết quả kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được

Địa phương (huyện, thành)	Số chủng kiểm tra	Số chuột tiêm (con)	Liều tiêm xoang phúc mạc (ml/con)	Kết quả theo dõi chuột thí nghiệm chết sau khi tiêm (con)			Tỷ lệ chuột chết (%)	Kết quả phân lập loại vi khuẩn
				12 - 24h	24 - 36h	36 - 48h		
TP.Tuyên Quang	19	38	0,2	21	14	1	94,73	+
H. Yên Sơn	8	16	0,2	8	6	1	93,75	+
H. Chiêm Hóa	10	20	0,2	12	8	0	100	+
H. Sơn Dương	9	18	0,2	10	6	1	94,44	+
Tỉnh chung	46	92	0,8	51	34	3	95,65	+

Bảng 4. Kết quả kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được

Địa phương (huyện, thành)	Số chủng kiểm tra	Số chuột tiêm (con)	Liều tiêm xoang phúc mạc (ml/con)	Kết quả theo dõi chuột thí nghiệm chết sau khi tiêm (con)			Tỷ lệ chuột chết (%)	Kết quả phân lập lại vi khuẩn
				12 - 24h	24 - 36h	36 - 48h		
TP. Tuyên Quang	20	40	0,2	22	14	2	95	+
H. Yên Sơn	10	20	0,2	12	8	0	100	+
H. Chiêm Hóa	8	16	0,2	4	7	4	93,57	+
H. Sơn Dương	14	28	0,2	14	12	2	100	+
Tỉnh chung	52	104	0,2	52	41	8	97,11	+

Kết quả ở bảng 2, 3 và 4 cho thấy:

Trong 58 chuột được tiêm canh khuẩn *A. pleuropneumoniae* vào xoang phúc mạc có 55 chuột chết trong khoảng thời gian từ 12 - 36 giờ; chỉ có 3 chuột không chết khi theo dõi đến ngày thứ 7. Tất cả số chuột sau khi chết đều được mổ khám, kiểm tra bệnh tích đều thấy phổi sưng, xuất huyết, phù nề, viêm dinh vào thành ngực; đều phân lập lại được vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* thuần khiết từ máu tim chuột.

Kết quả của chúng tôi tương đồng với kết quả nghiên cứu của Đặng Xuân Bình và cs. (2007) [2], tác giả đã kiểm tra độc lực của các

chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* trên 15 chuột thí nghiệm. Kết quả cho thấy, tỷ lệ chuột chết là 100%.

Trong 92 chuột được tiêm canh khuẩn *P. multocida* có 88 chuột thí nghiệm chết sau khi công cường độ, tỷ lệ chết đạt 95,65%. Trong đó, 51 chuột thí nghiệm chết trong vòng 12 - 24 giờ; 34 chuột chết trong vòng 24 - 36 giờ; 3 chuột chết trong vòng 36 - 48 giờ. Các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập từ lợn tại huyện Chiêm Hóa có độc lực rất cao, gây chết 100% số chuột thí nghiệm trong vòng 12 - 36 giờ sau khi công cường độ. Các chủng thu thập từ thành phố Tuyên Quang, huyện

Yên Sơn và huyện Sơn Dương có độc lực tương đối cao, gây chết 93,75 - 94,73% số chuột thí nghiệm.

Trong 104 chuột được tiêm canh khuẩn *S. suis* có 101 chuột chết sau công cường độ 48 giờ, chiếm tỷ lệ 97,11%. Các chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập từ lợn tại huyện Yên Sơn và Sơn Dương có độc lực rất mạnh, gây chết 100% số chuột thí nghiệm trong vòng 48 giờ. Các chủng *S. suis* phân lập từ lợn ở huyện Chiêm Hóa và thành phố Tuyên Quang có độc lực tương đối cao, gây chết từ 93,57 - 95,00% số chuột thí nghiệm trong vòng 48 giờ sau công cường độ.

#### Kết quả kiểm tra kháng sinh đồ của các chủng vi khuẩn phân lập được

Để góp phần nâng cao hiệu quả điều trị bệnh viêm phổi do vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis*, chúng tôi đã tiến hành kiểm tra mức độ mẫn cảm với một số kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập được, từ

**Bảng 5. Kết quả kiểm tra kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae* phân lập được**

Loại kháng sinh	Số chủng	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)					
		Mạnh (+)	%	Trung bình (+)	%	Kháng thuốc (+)	%
Ceftriaxone	29	24	82,76	4	13,79	1	3,45
Ampicillin	29	22	75,86	5	17,24	2	6,90
Amikacin	29	21	72,41	7	24,14	1	3,45
Colistin	29	12	41,38	7	24,14	10	34,48
Gentamicin	29	2	6,90	13	44,83	14	48,27
Erythromycin	29	1	3,45	12	41,38	16	55,17
Lincomycin	29	0	0	4	13,79	25	86,21
Amoxicillin	29	0	0	2	6,90	27	93,10
Ceftazidime	29	16	55,17	5	17,24	8	27,59
Ceftriaxone	29	16	55,17	8	27,59	5	17,24

**Bảng 6. Kết quả kiểm tra kháng kháng sinh đồ của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được**

Loại kháng sinh	Số chủng	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)					
		Mạnh (+)	%	Trung bình (+)	%	Kháng thuốc (+)	%
Ceftriaxone	46	38	82,61	7	15,22	1	2,17
Ampicillin	46	20	43,48	26	56,52	0	0,00
Amikacin	46	19	41,30	25	54,35	2	4,35
Colistin	46	36	78,26	10	21,74	0	0,00
Gentamicin	46	35	76,09	11	23,91	0	0,00
Erythromycin	46	0	0,00	37	80,43	9	19,57
Lincomycin	46	19	41,30	19	41,30	8	17,40
Cephalothin	46	9	19,57	28	60,86	9	19,57
Ofoxacin	46	10	21,74	27	58,69	9	19,57
Ceftriaxone	46	0	0,00	28	60,87	18	39,13

để có thể lựa chọn kháng sinh phù hợp để điều trị bệnh cho lợn. Kết quả được trình bày ở bảng 5, 6 và 7.

Từ kết quả kiểm tra kháng sinh đồ ở bảng 5, 6 và 7, chúng tôi nhận thấy: Các chủng vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis*, đều mẫn cảm khá mạnh với ba loại kháng sinh ceftriaxone, amikacin và ampicillin. Kết quả của chúng tôi khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Lê Văn Dương (2013) [3], Trương Quang Hải và cs. (2012) [4], Tiêu Quang An và Nguyễn Hữu Nam (2011) [1].

Dựa trên kết quả kiểm tra kháng sinh đồ, chúng tôi đã xây dựng ba phác đồ điều trị bệnh viêm phổi cho lợn ở Tuyên Quang, mỗi phác đồ sử dụng 1 trong 3 loại kháng sinh này, kết hợp với các thuốc trợ sức trợ lực để điều trị bệnh viêm phổi cho lợn. Kết quả điều trị trên diện hẹp và trên thực địa cho thấy phác đồ sử dụng thuốc ceftriaxone có hiệu lực tốt nhất trong ba phác đồ đã thử nghiệm.

**Bảng 7. Kết quả theo dõi kháng sinh đồ của các chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được**

Loại kháng sinh	Số chủng	Đường kính vòng vỡ khuẩn (mm)				Kháng thuốc	
		Mạnh (+)	%	Trung bình (+)	%		
Ceftiofur	52	44	84,61	6	11,54	2	3,85
Ampicillin	52	22	42,31	28	53,84	2	3,85
Ceftriaxone	52	21	40,38	31	59,62	0	0,00
Amikacin	52	30	57,69	22	42,31	0	0,00
Colistin	52	0	0,00	42	80,77	10	19,23
Gentamicin	52	0	0,00	41	78,85	11	21,15
Erythromycin	52	8	15,39	23	44,23	21	40,38
Lincosycin	52	12	23,08	32	61,54	8	15,38
Cephalothin	52	0	0,00	30	57,69	22	42,31
Ofoxacin	52	40	76,92	12	23,08	0	0,00

**KẾT LUẬN**

- Các chủng *A. pleuropneumoniae* phân lập được thuộc serotype 2 (62,07%) và serotype 5 (20,69%). Các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được thuộc serotype A (73,91%) và serotype D (26,09%). Các chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được thuộc serotype 2 (32,69%), serotype 7 (25%) và serotype 9 (25%).
- Các chủng của 3 loại vi khuẩn phân lập được đều có độc lực cao, gây chết 94,82 - 97,11% số chuột thí nghiệm sau khi công cưỡng độc 12 - 48 giờ.

Các chủng của 3 loại vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *S. suis* phân lập được đều mẫn cảm cao với ba loại kháng sinh: Ceftiofur, ampicillin và amikacin.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Tiêu Quang An, Nguyễn Hữu Nam (2011), "Xác định một số vi khuẩn kế phát gây chết lợn trong vùng dịch lợn tai xanh ở huyện Văn Lâm tỉnh Hưng Yên năm 2010", *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, tập 18(3), tr. 56 - 64.
- Đặng Xuân Bình, Nguyễn Thị Ngân, Phan Hồng Phúc (2007), "Tình hình nhiễm *Actinobacillus pleuropneumoniae* và bệnh viêm

phổi màng phổi ở lợn", *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, 14 (2), tr. 36 - 39.

3. Lê Văn Dương (2013), *Nghiên cứu một số đặc tính sinh học của vi khuẩn Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis* gây viêm phổi trong Hồi chứng rối loạn hô hấp và sinh sản ở lợn tại Bắc Giang, biện pháp phòng trị

Luận án tiến sĩ Thủ y, Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên.

4. Trương Quang Hải, Nguyễn Quang Tính, Nguyễn Quang Tuyên, Cù Hữu Phú, Lê Văn Dương (2012), "Kết quả phân lập và xác định một số đặc tính sinh học của các chủng *Streptococcus suis* và *Pasteurella multocida* ở lợn mắc viêm phổi tai tỉnh Bắc Giang". *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, tập 19(7), tr. 71 - 76.

5. Cù Hữu Phú (2011), *Nghiên cứu mối liên quan giữa Hồi chứng rối loạn hô hấp và sinh sản ở lợn với vi khuẩn gây bệnh kế phát và xác định biện pháp phòng, trị bệnh*, Báo cáo khoa học, Viện Thủ y Quốc gia.

6. Barrow G. I., Feltham R. K. A. (2003), *Cowen and Steel's manual for the identification of medical bacteria*, third edition, Cambridge University Press, UK.

7. Thomas Blaha, Robert B. Morrison, Thomas Molitor, Gert. Wensvoort (2005), "Update on porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)", *Swine Health and Production*, Vol. 3 (6), pp. 263-265.

**SUMMARY****DETERMINE ON SEROTYPE, VIRULENCE  
AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF THREE BACTERIA  
CAUSED PNEUMONIA IN PIGS AT TUYEN QUANG PROVINCE****Nguyen Van Quang, Nguyen Thi Kim Lan<sup>\*</sup>, Nguyen Thi Ngan,****Tran Nhat Thang, Nguyen Huu Hoa***University of Agriculture and Forestry – TNU*

Identification of serotypes, virulence and antibiotic resistance of three bacteria caused pneumonia in pigs at Tuyen Quang province. The serotypes of *A. pleuropneumoniae* isolated were serotype 2 (62.07%) and serotype 5 (20.69%); the serotypes of *P. multocida* isolated were serotype A (73.91%) and serotype D (26.09%); the serotypes of *S. suis* isolated were serotype 2 (32.69%), serotype 7 (25%) and serotype 9 (25%). All serotypes of three isolated bacteria were highly virulent, killed 94.82 - 97.11% of experimental mice after 12 to 48 hours of poisoning. All serotypes of three isolated bacteria: *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* and *S. suis* were highly susceptible to three antibiotics: ceftriaxone, ampicillin and amikacin.

**Keywords:** *antibiotic, bacteria, pneumonia, pigs, serotype, virulence*

*Ngày nhận bài: 03/7/2017; Ngày phản biện: 08/7/2017; Ngày duyệt đăng: 31/7/2017*

<sup>\*</sup> Tel. 0912 660317, Email. lanquang19@gmail.com