

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM**

ĐẶNG NGỌC LƯƠNG

**XÁC ĐỊNH MỘT SỐ ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA VI KHUẨN
PASTEURELLA MULTOCIDA GÂY BỆNH TỤ HUYẾT TRÙNG TRÂU,
BÒ TẠI CAO BẰNG VÀ LỰA CHỌN VẮC XIN PHÒNG BỆNH**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP

Chuyên ngành : Thú y

Thái Nguyên – năm 2012

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Chăn nuôi trâu bò ở [Việt Nam](#) trong những năm qua đã có những bước phát triển đáng kể nhằm cung cấp thịt sữa cho nhu cầu thực phẩm của người dân; sức kéo cho nhu cầu sản xuất nông nghiệp, tiểu thủ công nghiệp và cung cấp nguyên vật liệu cho công nghiệp chế biến, đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng của [xã hội](#). Bên cạnh sự phát triển đó, ngành chăn nuôi trâu bò luôn phải đối mặt với các bệnh truyền nhiễm và bệnh ký sinh trùng, trong đó có bệnh Tụ huyết trùng trâu bò.

Bệnh tụ huyết trùng trâu, bò thể bại huyết (Hemorrhagic Septicemia) là một bệnh truyền nhiễm cấp tính nguy hiểm, xảy ra ở hầu hết các lứa tuổi trâu, bò. Hàng năm trên địa bàn các tỉnh miền núi phía Bắc nước ta, các báo cáo về tình hình bệnh tụ huyết trùng xảy ra ở trâu, bò đã cho thấy những thiệt hại kinh tế to lớn. Theo các báo cáo tổng kết công tác thú y hàng năm của các địa phương và kết quả nghiên cứu của Đặng Xuân Bình và cs (2010) [2]; tại tỉnh Hà Giang năm 2008 đã có 276 trâu, 157 bò chết vì bệnh tụ huyết trùng; tương tự như vậy, tại tỉnh Cao Bằng trong năm 2008 đã có 455 trâu, bò chết và năm 2009 có gần 400 trâu bò chết do bệnh tụ huyết trùng.

Để khống chế bệnh, cho đến nay đã có một số loại vắc xin tụ huyết trùng trâu, bò được các cơ quan nghiên cứu, chế tạo, sử dụng để tiêm phòng cho trâu, bò nhưng bệnh vẫn liên tục xảy ra, đặc biệt trên địa bàn các tỉnh miền núi phía Bắc. Đinh Duy Kháng và cs (2000) [14] cho biết: Việc tiếp tục phân lập xác định vi khuẩn *Pasteurella* là cần thiết để làm rõ đặc điểm dịch tễ của bệnh để tìm ra quy luật lưu hành, tính gây bệnh của vi khuẩn để sản xuất và ứng dụng vắc xin phù hợp trong từng vùng, hạn chế tiến tới thanh toán bệnh. Lê Văn Tạo và cs (1998)[32] cũng khuyến cáo: Nên tiêm phòng bệnh tụ huyết trùng trâu bò đạt tỷ lệ cao bằng vắc xin tương đồng kháng nguyên với chủng vi khuẩn *Pasteurella* gây bệnh ở địa phương.

Về đáp ứng miễn dịch của một số loại vắc xin hiện đang được sử dụng để phòng bệnh tụ huyết trùng trâu bò ở nước ta, Hoàng Xuân Nghinh và cs (2004) [22] trao đổi: Hiện nay ở Việt Nam có hai loại vắc xin sản xuất trong nước được các địa phương sử dụng. Tuy nhiên tỷ lệ trâu bò mắc bệnh và chết vẫn không ngừng gia tăng dẫn tới chúng ta phải suy nghĩ xem có phải chất lượng kháng nguyên trong vắc xin chưa được chuẩn hoá hay đặc tính kháng nguyên của vi khuẩn *Pasteurella* ở mỗi vùng có sự khác nhau.

Xuất phát từ yêu cầu của thực tiễn sản xuất, căn cứ vào cơ sở khoa học và năng lực của cơ quan nghiên cứu, chúng tôi đã tiến hành đề tài “**Xác định một số đặc tính sinh học của vi khuẩn *Pasteurella multocida* gây bệnh tụ huyết trùng trâu, bò tại Cao Bằng và lựa chọn vắc xin phòng bệnh**”.

2. Mục tiêu nghiên cứu

- Xác định đặc điểm dịch tễ bệnh tụ huyết trùng trâu bò tại các huyện, thị xã thuộc tỉnh Cao Bằng.
- Khảo sát sự lưu hành vi khuẩn *Pasteurella multocida* ở trâu, bò khỏe và trâu, bò nghi mắc bệnh tụ huyết trùng.
- Giám định đặc tính sinh vật hóa học, yếu tố gây bệnh và serotype kháng nguyên của vi khuẩn *Pasteurella multocida* phân lập được.
- Đánh giá mức độ tương đồng giữa kháng nguyên trong vắc xin phòng bệnh tụ huyết trùng trâu, bò và kháng nguyên vi khuẩn *Pasteurella* phân lập được ở trên thực địa.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

*** Ý nghĩa khoa học:**

- Bổ sung tư liệu về đặc điểm dịch tễ bệnh tụ huyết trùng trâu, bò.
- Bổ sung tư liệu về kết quả phân lập, giám định đặc tính sinh vật hóa học, yếu tố độc lực và kết quả xác định serotype kháng nguyên của vi khuẩn *Pasteurella multocida* phân lập được bằng kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction).

*** Ý nghĩa thực tiễn:**

- Cung cấp tư liệu thực tế về serotype kháng nguyên vi khuẩn *Pasteurella multocida* trên thực địa tại Cao Bằng.

- Cơ sở để lựa chọn vắc xin phòng bệnh tụ huyết trùng trâu, bò có khả năng bảo hộ cao.

- Góp phần không chế bệnh tụ huyết trùng ở trâu, bò Cao Bằng và trên địa bàn các tỉnh miền núi phía Bắc.

*** Những điểm mới của đề tài**

- Bổ sung một số đặc điểm dịch tễ về sự lưu hành của vi khuẩn *Pasteurella* ở trâu, bò khỏe; xây dựng bản đồ dịch tễ bệnh tụ huyết trùng trên địa bàn tỉnh Cao Bằng.

- Phân lập vi khuẩn *Pasteurella multocida* từ những trâu, bò mắc bệnh tụ huyết trùng, so sánh tự tương đồng về kháng nguyên với trâu bò khỏe mang trùng.

- Xác định tình trạng miễn dịch chủ động tự nhiên đối với kháng nguyên vi khuẩn *Pasteurella multocida* của trâu, bò trong ổ dịch.

- Đánh giá sự an toàn và khả năng đáp ứng miễn dịch của trâu, bò sau khi tiêm một số loại vắc xin phòng bệnh tụ huyết trùng trâu, bò đang lưu hành tại Việt Nam.

4. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: Trâu, bò ở mọi lứa tuổi, vi khuẩn *Pasteurella multocida*.

- Địa điểm nghiên cứu: Đề tài được thực hiện tại tỉnh Cao Bằng, Bộ môn Công nghệ Vi sinh, Viện KHSS - Đại học Thái Nguyên, Viện Thú y quốc gia, Trung tâm chẩn đoán thú y - Cục thú y Việt Nam.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU VÀ CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA ĐỀ TÀI

1.1. Tình hình bệnh tụ huyết trùng gia súc

1.1.1. Trên thế giới

Bệnh tụ huyết trùng được Bollinger phát hiện lần đầu tiên trên bò năm 1878 ở Munich (Đức). Những năm tiếp theo bệnh được phát hiện ở khắp mọi nơi trên thế giới, trên nhiều loài gia súc, gia cầm. Năm 1885, Kitt đã phân lập được vi khuẩn. Khi nghiên cứu vi khuẩn tụ huyết trùng gây bệnh ở các loài gia súc, các nhà khoa học thấy sự giống nhau về tính chất gây bệnh, tương đồng kháng nguyên, nhưng khác nhau về tính gây bệnh cho các loài vật. Năm 1887, Trevisan đã đề nghị đặt tên cho vi khuẩn là *Pasteurella* để ghi nhớ công lao của Louis Pasteur, người có nhiều đóng góp nghiên cứu phát hiện ra loại vi khuẩn này (De Alwis, 1992) [50].

Vi khuẩn *pasteurella* gây bệnh cho nhiều loài gia súc nên tên của chúng được gắn với tên của loài vật mà chúng gây bệnh:

Pasteurella suisseptica gây bệnh ở lợn

Pasteurella bovisseptica gây bệnh ở bò

Pasteurella oviseptica gây bệnh ở dê, cừu

Pasteurella aviseptica gây bệnh ở gà...

Đến năm 1939, Rosenbush và Merchant [79] đã đề nghị đặt tên cho vi khuẩn này là *Pasteurella multocida*, để chỉ khả năng gây bệnh cho nhiều loài vật của chúng, tên này đã được công nhận chính thức trên thế giới và sử dụng cho đến ngày nay.

Lignieres (1900)[62] cho rằng: bệnh tụ huyết trùng có ít nhất ở 6 loài vật nuôi khác nhau. Hai thuật ngữ chỉ bệnh là *Haemorrhagic septicaemia* và *Pasteurellosis* được xem là đồng nghĩa. Tuy nhiên, gần đây theo qui ước của tổ chức FAO (FAO/WHO/CIF, 1970), trong các tài liệu quốc tế về súc sản, hai thuật ngữ này được dùng phân biệt, *Haemorrhagic septicaemia* dùng chỉ

bệnh do *P. multocida* thuộc serotype I Roberts gây ra, còn *Pasteurellosis* dùng chỉ bệnh do vi khuẩn *Pasteurella* gây ra.

Ở Châu Á, bệnh tụ huyết trùng trâu, bò do *P. multocida* gây ra thường ở hai thể chủ yếu: Nhiễm trùng máu - xuất huyết (*Haemorrhagic septicaemia* - HS) và viêm phổi ở bò (*Bovine pneumonic pasteurellosis*).

Ngày nay, sau hơn một trăm năm kể từ khi phát hiện lần đầu, *P. multocida* vẫn là nguyên nhân gây bệnh tụ huyết trùng cho nhiều loài gia súc gia cầm. Tuy có tính thích nghi gây bệnh trên các loài vật khác nhau, nhưng *P. multocida* đều có những đặc tính cơ bản giống nhau.

1.1.2. Ở Việt Nam

Bệnh tụ huyết trùng ở Việt Nam được phát hiện vào những năm cuối thế kỷ 19: Cudamie thông báo về bệnh ở trâu thuộc tỉnh Bà Rịa và Long Thành năm 1868, sau đó Gemain (1869) phát hiện bệnh ở Gò Công, Yersin phát hiện bệnh ở các tỉnh miền Trung vào các năm 1889-1895. Năm (1901) Shein bằng phương pháp phân lập và tiêm truyền qua động vật thí nghiệm đã xác nhận ổ dịch ở trâu, bò xảy ra ở Tây Ninh là do vi khuẩn *P. multocida* (Phan Đình Đỗ và Trịnh Văn Thịnh, 1958) [4]).

Theo Đoàn Thị Băng Tâm (1987)[31], tại Việt Nam bệnh thường xảy ra ở Nam bộ và đặc biệt ở miền tây Nam bộ, vào những năm 1910, 1919, 1920, 1933, 1935 dịch xảy ra rất lớn và mạnh. Bệnh gây thiệt hại và lây lan nhiều hơn ở những vùng đất trũng, thấp, khí hậu ẩm ướt. Bùi Quý Huy (1998) [11] cũng cho biết: Trước đây bệnh tụ huyết trùng xảy ra mạnh ở các tỉnh phía Nam và xảy ra lẻ tẻ ở các tỉnh phía Bắc. Trong những năm 70 có 80% số ổ dịch tụ huyết trùng và 84% số thiệt hại gia súc do bệnh tụ huyết trùng thuộc về các tỉnh ở phía Nam. Đến những năm 90 phân bố địa lý của bệnh nghiêng về các tỉnh phía Bắc, số địa phương có dịch tụ huyết trùng cũng tăng lên nhiều, hàng năm có 20 - 25 tỉnh thông báo có bệnh lưu hành.

Ở nước ta khí hậu nóng ẩm, mỗi miền Bắc - Trung - Nam có điều kiện khí hậu và hệ sinh thái khác nhau. Các tác giả (Nguyễn Vĩnh Phước

(1978)[25], Nguyễn Ngã (1996)[21], Nguyễn Thiên Thu (1996)[34]) đã nhận định bệnh tụ huyết trùng trâu, bò xảy ra thường trùng với những cơn mưa ở từng vùng và kéo dài đến hết mùa mưa.

Nhiều tác giả cũng đã đi sâu nghiên cứu đặc tính sinh vật hoá học của vi khuẩn *P. multocida*, phương pháp chẩn đoán, phân lập và chế tạo vắc xin phòng bệnh.

Trần Xuân Hạnh và Tô Thị Phần (2007)[8] tiến hành nghiên cứu một số đặc tính của vi khuẩn *P. multocida* phân lập từ trâu, bò, lợn.

Phan Thanh Phương (1986 - 1990)[28] đã nghiên cứu, chế tạo và sử dụng vắc xin nhũ hoá bằng công nghệ lên men sục khí để phòng chống bệnh tụ huyết trùng trâu, bò, lợn và gia cầm có nhiều ưu việt hơn vắc xin cũ.

Dương Thế Long (1995)[18] đã phân lập được vi khuẩn *P. multocida* gây bệnh cho các loài vật nuôi (trâu, bò, lợn và gà) tại tỉnh Sơn La.

Nguyễn Ngã (1996)[21], Nguyễn Thiên Thu (1996)[34] đã phân lập được vi khuẩn *P. multocida* từ trâu, bò mang trùng ở khu vực miền Trung và xác định tính tương đồng kháng nguyên của các chủng vi khuẩn phân lập được với chủng vắc xin Iran.

Trong những năm gần đây đã có một số nghiên cứu về bệnh tụ huyết trùng như Bùi Văn Dũng (2000) [3] nghiên cứu tình hình bệnh tụ huyết trùng và vi khuẩn *P. multocida* phân lập từ dịch ngoáy mũi trâu, bò khỏe ở tỉnh Lai Châu. Hoàng Đăng Huyền (2004) [12] nghiên cứu đặc điểm dịch tễ, các yếu tố ảnh hưởng đến bệnh tụ huyết trùng trâu, bò ở Bắc Giang. Nguyễn Đăng Minh (2005) [20] nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ bệnh THT và xác định tỷ lệ mang trùng *Pasteurella* ở đàn trâu, bò tỉnh Hà Tây. Đỗ Ngọc Thúy và cs (2007) [35] đã ứng dụng kỹ thuật PCR để xác định Type các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập từ vật nuôi.

1.2. Dịch tễ học bệnh tụ huyết trùng

1.2.1. Nguồn bệnh và phương thức lây lan

Nguồn lây bệnh tụ huyết trùng là những trâu, bò, lợn và gia cầm bị bệnh và mang trùng.

Trong cơ thể gia súc khỏe mạnh, *P. multocida* ở một điều kiện nhất định, vi khuẩn thường tồn tại ở đường hô hấp trên của vật chủ, đây không phải là quan hệ cộng sinh. Khi sức đề kháng của cơ thể giảm, vi khuẩn tăng độc lực và tác động gây bệnh.

Cho đến nay không rõ là vi khuẩn tồn tại bằng cách truyền lần lượt trong một số dãy cá thể của một quần thể hay nó còn tồn tại lâu dài một số con. Có nhiều cách lây bệnh khác nhau: Nhiễm qua đường hô hấp, đường tiêu hóa, qua vết xước trên da, bệnh có thể lây từ con ốm sang con khỏe qua tiếp xúc. Bệnh lây lan do việc giết mổ gia súc ốm, chó mèo và một số côn trùng hút máu như ruồi, mòng... cũng có thể là vật môi giới truyền mầm bệnh đi xa (Nguyễn Vĩnh Phước, 1978) [25]. Trong giai đoạn đầu của bệnh, khi con vật còn đi lại được, vi khuẩn từ nước dãi, phân, nước tiểu được bài ra xung quanh. Ổ dịch rộng hay hẹp tùy theo điều kiện tồn tại của vi khuẩn và sức miễn dịch của đàn (Phan Thanh Phụng, 1994) [29].

1.2.2. Loài mắc bệnh

Trong tự nhiên hầu hết các loài gia súc, gia cầm, loài có vú và loài chim đều mẫn cảm với bệnh. Theo Lignieres (1900) [62] ít nhất có 6 dạng bệnh tụ huyết trùng khác nhau: Ở gà, trâu, bò, lợn, cừu, dê, ngựa và chó, cả 6 dạng bệnh này đều thấy ở thỏ. Bệnh thấy ở trâu, bò, lợn, thỏ, chó, mèo, hươu, ngựa, chồn, khỉ, dê và cừu (Carter, 1959[44]). Bệnh còn thấy ở bò rừng, nai, sơn dương, lợn rừng, thỏ rừng, voi, lạc đà và báo tuyết ở Hymalaya (De Alwis, 1982[48]). Nhiều tác giả đã khẳng định: Nơi nào có bệnh tụ huyết trùng trâu, bò thì ở đó người ta cũng phát hiện bệnh này ở động vật hoang dã.

De Alwis (1982) [48] cho rằng loài vật cảm nhiễm mạnh nhất đối với bệnh tụ huyết trùng là trâu, bò trong đó trâu mẫn cảm hơn bò. Tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ chết của các loài vật với bệnh tụ huyết trùng trâu, bò phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố như mức độ cảm nhiễm của vùng, mức độ bùng nổ của các vụ

dịch trước đó, mức độ miễn dịch toàn đàn, đặc biệt phụ thuộc vào lứa tuổi mắc bệnh.

Ở Việt Nam, trâu dễ bị nhiễm và mắc bệnh nặng hơn bò. Trâu, bò rừng cũng mắc bệnh (Đoàn Thị Băng Tâm, 1987) [31]. Trâu thường chết khi gặp thể quá cấp hoặc cấp tính.

1.2.3. Tuổi mắc bệnh

De Alwis (1984)[49] cho biết mức độ cảm nhiễm của động vật non mạnh hơn động vật già, kết quả nghiên cứu của tác giả cho thấy ở bò và trâu tỷ lệ mắc bệnh ở lứa tuổi dưới 6 tháng là 3,5%, trong khi đó trâu, bò ở lứa tuổi từ 6 tháng đến 2 năm là 30 - 32%, ngược lại trâu, bò trên 2 năm tuổi tỷ lệ mắc bệnh chiếm từ 3 - 5% toàn đàn. Nghiên cứu cũng cho thấy tỷ lệ chết của trâu, bò trong mỗi ổ dịch là 84 và 91% tập trung vào lứa tuổi 6 tháng đến 18 tháng.

Bệnh xảy ra ở hầu hết các lứa tuổi, những con đang bú mẹ ít mắc hơn những con trưởng thành. Trâu, bò 1-3 tuổi dễ mắc hơn trâu bò già và khi mắc thì tỷ lệ chết cao hơn. Trâu bò càng béo, khỏe, trẻ càng dễ mắc bệnh và tỷ lệ chết cao. Bê, nghé dưới 6 tháng tuổi ít mắc bệnh (Bùi Quý Huy, 1998) [11]. Cao Văn Hồng (2002) [9] tại Đắk Lắk cũng cho thấy lứa tuổi cảm nhiễm với bệnh nhất là dưới 36 tháng tuổi. Hoàng Đăng Huyền (2004) [12] cho biết tại Bắc Giang trâu, bò nhỏ hơn 2 năm tuổi mắc cảm với bệnh nhất.

1.2.4. Mùa vụ phát bệnh

Bệnh tụ huyết trùng phụ thuộc rất lớn vào thời tiết, khí hậu. Mustafa và cs (1978)[64] nghiên cứu về ảnh hưởng của mùa vụ tới bệnh tụ huyết trùng đã nhận xét bệnh thường liên quan tới điều kiện khí hậu ẩm ướt.

Theo Yeo và Mukhtar (1992)[83] khi nghiên cứu dịch tễ học bệnh tụ huyết trùng phải quan tâm đến điều kiện thời tiết, khí hậu và địa lý của từng vùng vì những yếu tố này ảnh hưởng đến sự tồn tại và phát triển của mầm bệnh trong môi trường sinh sống của động vật cảm nhiễm.

Mùa phát bệnh tụ huyết trùng ở các nước Châu Á tập trung vào các tháng và mùa khác nhau trong năm. Ở Lào bệnh phát ra từ tháng 4 đến tháng 8; Ở Pakistan bệnh xảy ra rải rác quanh năm song thường ở tháng 4 đến tháng 6 hàng năm (FAO, 1991[54]). Ở đảo Java (Indonesia) bệnh xuất hiện vào cuối mùa khô, đầu mùa mưa (Natalia và cs, 1992[71]), bệnh xảy ra các tháng 8, 9 ở Malaysia (Yeo và Mukhtar, 1992[83]).

Yeo và Mukhtar (1992)[83] theo dõi dịch tễ bệnh tụ huyết trùng trâu, bò ở đảo Sabah Malaysia từ 1983 - 1991 cho biết số lượng ổ dịch và số lượng trâu, bò chết hàng năm ở các huyện rất khác nhau: Một số huyện xảy ra dịch từ tháng giêng đến tháng 3, trong khi phần lớn lại xảy ra dịch từ tháng 7 đến tháng 11. Từ số liệu theo dõi của mình, tác giả đã so sánh giữa 2 vùng trong cùng một đất nước về loài vật mắc bệnh, tuổi mắc bệnh, thời gian xảy ra bệnh và cho rằng sở dĩ có sự khác nhau này là do điều kiện thời tiết khí hậu có sự khác nhau giữa 2 vùng, đồng thời phương thức chăn nuôi giữa 2 vùng cũng khác nhau. Từ những kết quả nghiên cứu trên cho thấy tại từng địa phương, từng quốc gia khi nghiên cứu về dịch tễ học bệnh tụ huyết trùng trâu, bò phải quan tâm đến điều kiện thời tiết, khí hậu và địa lý của từng vùng, vì những yếu tố này ảnh hưởng tới sự tồn tại, phát triển của mầm bệnh trong môi trường sinh sống của động vật cảm nhiễm

Ở nước ta bệnh xuất hiện ở khắp nơi, có khi chỉ là những ổ dịch nhỏ, lẻ tẻ nhưng bắt đầu vào mùa mưa, khí hậu nóng ẩm thì bệnh lây lan thành dịch,