

KẾT QUẢ KIỂM TRA ĐỘC LỰC VÀ TÍNH MẮN CẢM KHÁNG SINH CỦA *PASTEURELLA MULTOCIDA* PHÂN LẬP ĐƯỢC TỪ LỢN TẠI KHU VỰC MIỀN NÚI PHÍA BẮC

Đỗ Quốc Tuấn, Nguyễn Quang Tuyên

Đại học nông lâm Thái Nguyên

TÓM TẮT

Kiểm tra độc lực và tính miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn *P.multocida* phân lập được ở lợn tại các tỉnh Bắc Cạn, Tuyên Quang và Thái Nguyên cho thấy:

- Trong 25 chủng *P.multocida*, có 14 chủng giết chết 100% chuột tiêm thử độc lực, 3 chủng giết chết 50% và 8 chủng còn lại không giết chết chuột, nhưng đều gây bệnh nhẹ với triệu chứng xù lông, mắt có dử, kém ăn, ít vận động... trong vòng 14 - 28 giờ, sau đó trở lại trạng thái bình thường vào 124-140 giờ. Liều LD₅₀ của chủng *P.multocida* TN₂₀ có độ pha loãng 10^{-7,3} xấp xỉ 40 vi khuẩn (LD₅₀ = 40 vi khuẩn)

- Các kháng sinh như chlortetracyclin, neomycin, ampicillin có miễn cảm mạnh với *P.multocida* phân lập được, tiếp đến là các loại kháng sinh khác như kanamycin và gentamycin.

- Thử nghiệm 2 phác đồ điều trị lợn mắc bệnh tụ huyết trùng cho thấy phác đồ 1: dùng ampicillin tỷ lệ khỏi bệnh 94,74% cao hơn phác đồ 2: dùng Gentamycin tỷ lệ khỏi bệnh 88,24%.

Từ khóa: *Pasteurella multocida*, Độc lực, Miễn cảm kháng sinh, Điều trị

The virulence and antibiotic sensibility of *P.multocida* isolates from the mountain region of the North Vietnam

Đỗ Quốc Tuấn, Nguyễn Quang Tuyên

SUMMARY

The examination of the pathogenicity and antibiotic sensibility of *P.multocida* isolates from pigs in the provinces of Bac Can, Thai Nguyen and Tuyen Quang indicated that:

- Among 25 isolates, 14 induced 100% mortality inoculated mice, 3 isolates did it with 50% mortality and 8 isolates did not but a mild disease within 14-28 hours after inoculation (pi) and the mice completely recovered at 124 - 140 hours pi. The LD₅₀ dose of the isolate TN₂₀ was about 40 bacteria.

- The isolates were sensitive to antibiotics such as chlortetracycline, neomycine and ampicilline followed by kanamycine and gentamycine.

- The treatment of the infected pigs with ampicillin resulted in 94.74% recovery and with the gentamycine: 88.24%

Key words: *P.multocida*, Virulence, Antibiotic sensibility, Treatment.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh tụ huyết trùng (THT) do vi khuẩn *Pasteurella multocida* gây ra là bệnh khá phổ biến trên đàn lợn nuôi tại các tỉnh miền núi phía Bắc VN, gây nhiều thiệt hại cho người chăn nuôi, đồng thời cũng làm giảm đáng kể số lượng và chất lượng đàn gia súc. Một số tác giả đã nghiên cứu xác định đặc tính vi sinh vật, hóa học, độc lực và khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *P.multocida*, từ đó tìm ra kháng sinh điều trị có hiệu quả. Carter và cộng sự (1967) đã xác định độc lực của vi khuẩn THT sau khi nuôi cấy nhiều đời trên môi trường nhân tạo. Mustafa (1978) đã nghiên cứu độc lực của vi khuẩn THT từ dịch đường hô hấp của gia súc và có nhận xét là độc lực của các chủng *Pasteurella* phân lập được không đồng đều, phụ thuộc vào diễn biến dịch tễ của bệnh THT đã xảy ra trên đàn lợn và bệnh THT của các loài gia súc, gia cầm khác ở cùng thời điểm. Dương Thế Long (1995) đã tiến hành thử độc lực các chủng *P.multocida* phân lập được từ vật nuôi chết do bệnh THT tại Sơn La và Nguyễn Thiên Thu (1996) đã xác định liều LD₅₀ của chủng vi khuẩn THT phân lập từ dịch ngoáy mũi trâu bò ở khu vực miền Trung, nhưng cho kết quả không tương đồng. Để đánh giá độc lực của vi khuẩn *P.multocida* phân lập được ở lợn tại một số tỉnh miền núi phía Bắc, chúng tôi đã tiến hành kiểm tra độc lực và khả năng kháng kháng sinh của các chủng này làm cơ sở cho việc nghiên cứu chế tạo autovaxin và xây dựng biện pháp phòng trị bệnh có hiệu quả cao.

II. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung

- Xác định độc lực, liều LD₅₀ của vi khuẩn *P.multocida* phân lập được

- Xác định tính miễn cảm của vi khuẩn *P.multocida* phân lập được với một số kháng sinh.

- Thử nghiệm phác đồ điều trị bệnh tụ huyết trùng lợn.

2.2. Vật liệu

- Vi khuẩn *P.multocida* phân lập được ở lợn nuôi tại các tỉnh Bắc Cạn, Tuyên Quang và Thái Nguyên.

- Chuột bạch khỏe mạnh

- Môi trường, hóa chất, dụng cụ và thiết bị... nghiên cứu vi trùng trong phòng thí nghiệm.

- Khoanh giấy tẩm kháng sinh của hãng Oxoid (Anh).

2.3. Phương pháp

Dùng các phương pháp nghiên cứu vi sinh vật thường quy.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định độc lực của vi khuẩn *P.multocida* phân lập được

Các chủng *P.multocida* sau khi phân lập và xác định, được đưa vào nghiên cứu xác định độc lực trên chuột bạch ngay sau khi nuôi cấy, kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả xác định độc lực của vi khuẩn *P.multocida* phân lập được

| STT | Chủng vi khuẩn | Mức độ dung quang khuẩn lạc | Kết quả thử độc lực | | | |
|-----|------------------|-----------------------------|---------------------|---------------|----------------|--------------------------------|
| | | | Số chuột tiêm | Số chuột chết | Tỷ lệ chết (%) | Thời gian chết bình quân (giờ) |
| 1 | TN ₁ | + | 2 | 2 | 100 | 86 |
| 2 | TN ₂ | ± | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | TN ₅ | + | 2 | 2 | 100 | 35 |
| 4 | TN ₁₁ | ± | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | TN ₁₂ | ± | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | TN ₁₄ | ± | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | TN ₁₇ | + | 2 | 2 | 100 | 35 |
| 8 | TN ₂₀ | ++ | 2 | 2 | 100 | 10 |
| 9 | BK ₄ | + | 2 | 1 | 50 | 120 |
| 10 | BK ₅ | ± | 2 | 0 | 0 | 35 |
| 11 | BK ₇ | ± | 2 | 0 | 0 | 80 |
| 12 | BK ₉ | + | 2 | 2 | 100 | 48 |
| 13 | BK ₁₀ | + | 2 | 2 | 100 | 123 |
| 14 | BK ₁₂ | + | 2 | 2 | 100 | 80 |
| 15 | BK ₂₁ | + | 2 | 2 | 100 | 140 |
| 16 | BK ₂₃ | + | 2 | 2 | 100 | 140 |
| 17 | TQ ₁₀ | + | 2 | 2 | 100 | 35 |
| 18 | TQ ₁₄ | + | 2 | 1 | 50 | 124 |
| 19 | TQ ₁₅ | ± | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | TQ ₅₂ | + | 2 | 2 | 100 | 93 |
| 21 | TQ ₆₇ | + | 2 | 2 | 100 | 48 |
| 22 | TQ ₇₈ | ± | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 23 | TQ ₈₈ | + | 2 | 2 | 100 | 35 |
| 24 | TQ ₉₁ | + | 2 | 1 | 50 | 80 |
| 25 | TQ ₉₈ | + | 2 | 2 | 100 | 35 |

Trong 25 chủng *P.multocida*, có 14 chủng (TN₁, TN₅, TN₁₇, TN₂₀, BK₉, BK₁₀, BK₁₂, BK₂₁, BK₂₃, TQ₁₀, TQ₅₂, TQ₆₇, TQ₈₈, TQ₉₈) giết chết 2/2 chuột (100%) chuột tiêm thử độc lực; 3 chủng (BK₄, TQ₁₄, TQ₉₁) giết chết 1/2 chuột tiêm; còn lại 8 chủng (TN₂, TN₁₁, TN₁₂, TN₁₄, BK₅, BK₇, TQ₁₅, TQ₇₈)

không giết chết chuột, nhưng đều gây bệnh nhẹ với triệu chứng: xù lông, đi lại lờ đờ, khước mắt cố dử, nằm tụ đống, ăn ít... trong vòng 14-28 giờ, sau đó dần dần trở lại trạng thái bình thường vào 124-140 giờ.

Trong số 14 chủng *P.multocida* giết chết 2/2 (100%) chuột tiêm cho thấy thời gian

giết chuột bình quân của các chủng như sau:

+ Chủng TN₂₀ sau khi tiêm chuột ủ rữ, ít vận động và chết sau 10 giờ, chủng TN₂₀ phân lập được từ bệnh phẩm lợn chết do THT tại Thái Nguyên.

+ Các chủng *P.multocida* giết chết chuột trong 35 giờ là: TN₅, TN₁₇, BK₅, TQ₁₀, TQ₈₈. Các chủng giết chết chuột trong vòng 48 giờ: BK₉ và TQ₆₇; Các chủng *P.multocida* BK₇, BK₁₂, TQ₉₁, TN₈₆, TQ₅₂ giết chết chuột trong vòng 80 - 93 giờ; Thời gian giết chết chuột dài nhất là các chủng BK₄, BK₁₀, TQ₁₄, BK₂₁, BK₂₃ là 140 giờ và đều phân lập được ở lợn tại Bắc Cạn và Tuyên Quang.

Các chủng *P.multocida* giết 1/2 (50%) chuột tiêm là BK₄, TQ₁₄, TQ₉₁ có thời gian giết chết chuột từ 80-124 giờ, theo chúng tôi thì các chủng này được phân lập và nuôi giữ lâu bằng phương pháp cấy truyền nhiều đời trên thạch máu nên độc lực giảm.

Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với nhận xét của Carter (1967) là độc lực của các chủng *P.multocida* phân lập được từ dịch đường hô hấp không đồng đều, phụ

thuộc vào diễn biến dịch tễ của bệnh THT đàn lợn trước đó và bệnh THT của các loài gia súc, gia cầm khác hiện tại (Mustafa, 1978). Độc lực của *P.multocida* chúng tôi phân lập được từ bệnh phẩm lợn chết do THT tương đương với kết quả thử độc lực các chủng *P.multocida* phân lập được từ vật nuôi chết do THT ở Sơn La của Dương Thế Long (1995) cũng như với kết quả thử độc lực các chủng *P.multocida* phân lập được từ dịch ngoáy mũi của trâu bò ở đồng bằng sông Cửu Long của Nguyễn Vĩnh Phước. Khi tiến hành cho thấy đa số các chủng đều giết chết chuột bạch thí nghiệm, nhưng có một số chủng không có khả năng giết chết chuột và tác giả cho rằng các chủng *P.multocida* ở trên đường hô hấp này chỉ có khả năng phát triển gây thành dịch khi sức đề kháng của gia súc giảm.

2.2. Kết quả xác định liều LD₅₀ của vi khuẩn *P.multocida* phân lập được

Từ kết quả thử độc lực của các chủng *P.multocida* phân lập được, chúng tôi chọn chủng TN₂₀ để xác định liều gây chết 50% động vật thí nghiệm (LD₅₀) và làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. Kết quả xác định liều LD₅₀ của chủng *P.multocida* TN₂₀

| Nồng độ pha loãng | Số chuột tiêm | Số chuột sống, chết | | Số tích lũy | | Tỷ lệ chết (%) |
|-------------------|---------------|---------------------|------|--------------|--------------|----------------|
| | | Sống | Chết | Tổng số sống | Tổng số chết | |
| Nguyên | 5 | 0 | 5 | 0 | 19 | 100 |
| 1/2 | 5 | 0 | 5 | 0 | 14 | 100 |
| 1/4 | 5 | 1 | 4 | 1 | 9 | 90 |
| 1/8 | 5 | 2 | 3 | 3 | 5 | 62,5 |
| 1/16 | 5 | 3 | 2 | 6 | 2 | 25 |
| 1/32 | 5 | 5 | 0 | 11 | 0 | 0 |

Qua kết quả thu được của thí nghiệm, chúng tôi đã xác định được liều LD₅₀ của chủng *P.multocida* TN₂₀ có độ pha loãng 10^{-7,3} xấp xỉ 40 vi khuẩn (LD₅₀ = 40 vi khuẩn). So sánh kết quả của chúng tôi với các chủng *P.multocida* Iran thì LD₅₀ của các chủng này là 2 vi khuẩn (Nguyễn Ngã, 1978); chủng *P.multocida* phân lập được từ dịch ngoáy mũi của trâu bò mang trùng ở khu vực miền Trung có LD₅₀ là 2 vi khuẩn (Nguyễn Thiên Thu, 1996), qua đó cho thấy

liều LD₅₀ của chủng *P.multocida* TN₂₀ phân lập từ lợn ở một số tỉnh miền núi phía Bắc đối với chuột bạch cao gấp 20 lần.

2.3. Kết quả xác định tính miễn cảm kháng sinh của các chủng *P.multocida* phân lập được

Chúng tôi chọn 25 chủng *P.multocida* phân lập được từ các mẫu bệnh phẩm để làm kháng sinh đồ thử tính miễn cảm của vi khuẩn với một số loại kháng sinh. Kết quả được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả thử kháng sinh đồ của các chủng *P.multocida* phân lập được

| Loại kháng sinh | Số chủng vi khuẩn kiểm tra | Kết quả | | | | | |
|------------------|----------------------------|---------------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------------|-----------|
| | | Số mẫu rất miễn cảm | Tỷ lệ (%) | Số mẫu miễn cảm | Tỷ lệ (%) | Số mẫu không miễn cảm | Tỷ lệ (%) |
| Chlortetracyclin | 25 | 14 | 56 | 11 | 44 | 0 | 0 |
| Neomycin | 25 | 13 | 52 | 12 | 48 | 0 | 0 |
| Ampicillin | 25 | 14 | 56 | 11 | 44 | 0 | 0 |
| Kanamycin | 25 | 9 | 36 | 13 | 52 | 3 | 12 |
| Gentamycin | 25 | 12 | 48 | 11 | 44 | 2 | 8 |

Qua bảng 3 cho thấy mỗi loại kháng sinh đều có tác dụng ức chế và tiêu diệt vi khuẩn *P.multocida* ở các mức độ khác nhau.

Các loại kháng sinh có phổ tác dụng rộng như chlortetracyclin, neomycin, ampicillin đều có tỷ lệ 100% miễn cảm với *P.multocida*, trong đó mẫu rất miễn cảm chiếm tỷ lệ 52-56%; tiếp sau là các kháng sinh kanamycin, gentamycin có tỷ lệ rất miễn

cảm thấp hơn từ 36-48% và miễn cảm từ 44-52%.

2.4. Kết quả thử nghiệm phác đồ điều trị bệnh tụ huyết trùng ở lợn

Chúng tôi tiến hành thử nghiệm 2 phác đồ điều trị đối với lợn nghi mắc bệnh THT với các loại kháng sinh đã làm kháng sinh đồ, kết quả được thể hiện ở bảng 4

Bảng 4. Kết quả thử nghiệm phác đồ điều trị bệnh THT ở lợn

| Phác đồ điều trị | Biểu hiện triệu chứng bệnh | Số lợn điều trị | Kết quả | |
|---|--|-----------------|-------------|-----------|
| | | | Số lợn khỏi | Tỷ lệ (%) |
| - Ampicillin - Vitamin B1 - Vitamin C | Lợn sốt, ho, khó thở kéo dài, bỏ ăn | 19 | 18 | 94,74 |
| - Gentamycin - Vitamin B1 - Vitamin C | Lợn sốt, ho, khó thở kéo dài, bỏ ăn | 17 | 15 | 88,24 |

Kết quả ở bảng 4 cho thấy qua 2 phác đồ điều trị, phác đồ 1 cho kết quả điều trị hiệu quả hơn phác đồ 2, cụ thể:

- *Phác đồ 1:* Dùng Ampicillin + Vitamin B1 + Vitamin C điều trị 19 lợn có triệu chứng sốt, ho, khó thở, bỏ ăn, kết quả khỏi bệnh 18 con, đạt tỷ lệ 94,74%.

- *Phác đồ 2:* Dùng Gentamycin + Vitamin B1 + Vitamin C điều trị 17 lợn có triệu chứng ho, khó thở, bỏ ăn, kết quả khỏi bệnh 15 con, đạt tỷ lệ 88,24%.

Với kết quả như trên thì có thể dùng ampicillin điều trị cho lợn nghi mắc bệnh THT trên địa bàn nghiên cứu.

IV. KẾT LUẬN

Từ kết quả kiểm tra độc lực và tính miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn *P.multocida* phân lập được tại địa điểm nghiên cứu, chúng tôi có nhận xét sau:

- Trong 25 chủng *P.multocida* phân lập được có 14 chủng giết chết 100% chuột tiêm thử độc lực; 3 chủng giết chết 50% và 8 chủng còn lại không giết chết chuột, nhưng đều gây bệnh nhẹ với triệu chứng xù lông, mất cố dử, kém ăn, ít vận động... trong vòng 14 - 28 giờ, sau đó trở lại trạng thái bình thường vào 124 - 140 giờ.

- Liều LD₅₀ của chủng *P.multocida* TN₂₀

có độ pha loãng 10^{-7,3} xấp xỉ 40 vi khuẩn (LD₅₀ = 40 vi khuẩn)

- Các kháng sinh chlortetracyclin, neomycin, ampicillin có tỷ lệ miễn cảm mạnh với *P.multocida* phân lập được, tiếp đến là các loại kháng sinh kanamycin và gentamycin.

- Thử nghiệm 2 phác đồ điều trị lợn mắc bệnh tụ huyết trùng cho thấy phác đồ 1 dùng ampicillin tỷ lệ khỏi bệnh 94,74% cao hơn phác đồ 2 dùng gentamycin tỷ lệ khỏi bệnh là 88,24%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Carter, G.R. (1967). Pasteurellosis, *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica*. *An advance in Veterinary Science*, 11, pp: 321-329.
2. Dương Thế Long (1995). Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ và vi khuẩn học của vi khuẩn tụ huyết trùng ở Sơn La để xác định biện pháp phòng trị thích hợp. *Luận án Phó tiến sỹ Khoa học Nông nghiệp, Hà Nội, 1995*.
3. Mustafa, A.A., Ghalile, H.W., and Shigidi, MT (1978). Carrier rate of *Pasteurella multocida* in a cattle herd as with an outbreak of haemorrhagic septicaemia in Sudan. *British Veterinary Journal*, 124, pp. 357-358
4. Nguyễn Thiên Thu (1996). Nghiên cứu đặc tính sinh vật và kháng nguyên của vi khuẩn *Pasteurella multocida* phân lập từ trâu bò mang trùng ở khu vực miền Trung. *Luận án Phó tiến sỹ Khoa học Nông nghiệp, Hà Nội*.