

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



NGUYỄN VĂN NGUYỄN

**NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ,
YẾU TỐ GÂY BỆNH CỦA VI KHUẨN *CLOSTRIDIUM
PERFRINGENS* TRONG BỆNH VIÊM RUỘT HOẠI TỬ Ở
LỢN DƯỚI 60 NGÀY TUỔI TẠI THÁI NGUYÊN
VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỊ**

Chuyên ngành: Thú y

Mã số: 60 62 50

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP

Người hướng dẫn khoa học: TS. NGUYỄN VĂN SỬU

THÁI NGUYÊN - 2010

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu do tôi trực tiếp thực hiện cùng với sự cộng tác giúp đỡ của Th.S. Nguyễn Thị Kim Oanh - Trưởng phòng Vi trùng - Trung tâm chẩn đoán thú y Trung Ương, TS. Nguyễn Văn Sửu - Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên. Các số liệu, hình ảnh và kết quả trong luận văn là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác. Tôi xin đảm bảo rằng các thông tin, trích dẫn trong luận văn đã được chỉ rõ nguồn gốc.

Tác giả luận văn

Nguyễn Văn Nguyên

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, Trung tâm chẩn đoán thú y Trung Ương, đã cho phép và tạo điều kiện giúp đỡ cho chúng tôi hoàn thành luận văn này.

Xin bày tỏ lòng biết ơn các thầy, cô giáo, Th.S. Nguyễn Thị Kim Oanh, TS. Nguyễn Văn Sửu đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo, giúp đỡ tôi hoàn thành luận văn.

Tôi xin cảm ơn Khoa Sau đại học - Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên; Phòng Vi trùng - Trung tâm chẩn đoán thú y Trung Ương, cùng toàn thể các bạn bè đồng nghiệp đã tận tình giúp đỡ tôi hoàn thành luận văn.

Để góp phần thực hiện thành công luận văn này, tôi đã nhận được sự giúp đỡ động viên lớn của gia đình và đồng nghiệp. Nhân dịp này, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đối với mọi sự giúp đỡ quý báu đó.

Xin trân trọng cảm ơn!

Thái Nguyên, tháng 9 năm 2010

Nguyễn Văn Nguyễn

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC	3
1.1.1. Nghiên cứu trong nước	3
1.1.2. Nghiên cứu ngoài nước	5
1.2. MỘT SỐ HIỂU BIẾT VỀ VI KHUẨN <i>Cl. PERFRINGENS</i>	7
1.2.1. Nghiên cứu về vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i>	7
1.2.2. Đặc điểm hình thái, tính chất nhuộm màu và sức đề kháng của vi khuẩn	9
1.2.3. Đặc tính nuôi cấy và sinh vật hoá học	10
1.2.4. Phân loại <i>Cl. perfringens</i> và đặc tính gây bệnh	11
1.2.5. Các kháng nguyên và độc tố của <i>Cl. perfringens</i>	14
1.3. NHỮNG NGHIÊN CỨU VỀ BỆNH DO <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i> GÂY RA	19
1.3.1. Bệnh viêm ruột xuất huyết của gia súc (hemorrhagic enteritis)	19
1.3.2. Bệnh viêm ruột và nhiễm độc tố ruột ở lợn	19
1.3.3. Bệnh viêm ruột hoại tử do <i>Cl. perfringens</i> typ C gây ra ở lợn	20
1.3.4. Bệnh viêm ruột hoại tử do <i>Cl. perfringens</i> typ A gây ra ở lợn	25
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG, NGUYÊN LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	29
2.1. ĐỐI TƯỢNG, ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU	29
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	29
2.1.2. Địa điểm nghiên cứu	29
2.1.3. Thời gian nghiên cứu	29
2.2. NGUYÊN LIỆU DÙNG TRONG NGHIÊN CỨU	29
2.2.1. Mẫu nghiên cứu	29
2.2.2. Các loại môi trường, hoá chất	30
2.2.3. Động vật thí nghiệm	30
2.3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU	30

2.3.1. Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ bệnh viêm ruột hoại tử ở lợn dưới 60 ngày tuổi tại tỉnh Thái Nguyên.....	30
2.3.2. Kết quả phân lập vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> ở lợn.....	31
2.3.3. Thử nghiệm phác đồ phòng và điều trị bệnh viêm ruột hoại tử ở lợn dưới 60 ngày tuổi	31
2.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	31
2.4.1. Phương pháp nghiên cứu dịch tễ.....	31
2.4.2. Phương pháp thực hiện	31
2.4.3. Nội dung điều tra, theo dõi	32
2.4.4. Các chỉ tiêu theo dõi trong dịch tễ	32
2.4.5. Phương pháp thu thập mẫu và phân lập vi khuẩn.....	32
2.4.6. Phương pháp xác định số lượng vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> trong 1 gam phân của lợn tiêu chảy nghi VRHT hoặc không tiêu chảy.....	36
2.4.7. Phương pháp giám định một số tính chất sinh vật, hoá học của các chủng <i>Cl. perfringens</i> phân lập được	36
2.4.8. Phương pháp xác định các yếu tố gây bệnh của các chủng vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> phân lập được	39
2.4.9. Phương pháp xác định khả năng miễn cảm với kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập được	42
2.4.10. Thử nghiệm một số phác đồ điều trị VRHT cho lợn.....	44
2.4.11. Phương pháp xử lý số liệu	45
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	45
3.1. NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ BỆNH VIÊM RUỘT HOẠI TỬ Ở LỢN DƯỚI 60 NGÀY TUỔI TẠI 3 HUYỆN THUỘC TỈNH THÁI NGUYÊN.....	45
3.1.1. Kết quả điều tra tình hình lợn tiêu chảy và chết nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử ở lợn tại một số điểm nghiên cứu của tỉnh Thái Nguyên.....	45
3.1.2. Kết quả điều tra tình hình bệnh viêm ruột hoại tử tại tỉnh Thái Nguyên theo mùa vụ.....	49

3.1.3. Điều tra tình hình bệnh viêm ruột hoại tử ở lợn tại tỉnh Thái Nguyên theo giai đoạn phát triển	54
3.1.4. Điều tra tình hình bệnh viêm ruột hoại tử ở lợn tại tỉnh Thái Nguyên theo phương thức chăn nuôi	60
3.1.5. Triệu chứng lâm sàng ở lợn nghi mắc VRHT	64
3.1.6. Bệnh tích ở lợn chết do VRHT	65
3.2. KẾT QUẢ PHÂN LẬP VI KHUẨN <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i> Ở LỢN.....	67
3.2.1. Kết quả xác định tỷ lệ mang trùng ở lợn	67
3.2.2. Kết quả phân lập vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> ở các bệnh phẩm của lợn chết nghi viêm ruột hoại tử	68
3.2.3. Kết quả giám định đặc tính sinh hoá của vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> phân lập được	71
3.2.4. Xác định số lượng vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> trong phân lợn bệnh và lợn bình thường.....	73
3.2.5. Kết quả xác định serotype của các chủng vi khuẩn <i>Cl. Perfringens</i> bằng phản ứng PCR.....	77
3.2.6. Kết quả kiểm tra độc lực của vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> phân lập được bằng phương pháp tiêm truyền chuột bạch	79
3.2.7. Kết quả xác định khả năng miễn cảm với một số loại kháng sinh của vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> phân lập được.....	81
3.3. THỬ NGHIỆM PHÁC ĐỒ PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ BỆNH VIÊM RUỘT HOẠI TỬ Ở LỢN DƯỚI 60 NGÀY TUỔI.....	84
3.3.1. Kết quả thử nghiệm vacxin phòng bệnh	84
3.3.2. Kết quả thử nghiệm phác đồ điều trị bệnh viêm ruột hoại tử ở lợn dưới 60 ngày tuổi	86
3.4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	90
3.4.1. KẾT LUẬN	90
3.4.2. ĐỀ NGHỊ	91
TÀI LIỆU THAM KHẢO	93
HÌNH ẢNH MINH HỌA	

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ADN	: Acid Deoxyribonucleic
BHI	: Brain Heart Infusion
CFU	: Colony Forming Unit
<i>Cl. perfringens</i>	: <i>Clostridium perfringens</i>
<i>E.coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
FAO	: Food and Agriculture Organization
NCCLS	: The National Communittee for Clinical Laboratory Standards (Hội đồng quốc gia Hoa Kỳ về các tiêu chuẩn lâm sàng phòng thí nghiệm)
OIE	: World organization for animal health
Sp	: Species
TAE	: Tris- Acetic - EDTA
TBE	: Tris- Borat - EDTA
TGC	: Thioglycollate Medium U.S.P
VRHT	: Viêm ruột hoại tử
BT	: Bình thường
TC	: Tiêu chảy
Cs	: Cộng sự

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Một số loại độc tố chủ yếu của <i>Cl. perfringens</i> sản sinh ra	18
Bảng 2.1. Trình tự các Nucleotide của các môi dùng để xác định một số loại độc tố chính của vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i>	40
Bảng 2.2. Các chu kỳ nhiệt của phản ứng PCR.....	40
Bảng 2.3. Tiêu chuẩn đánh giá mức độ miễn cảm và kháng sinh theo NCCLS (1999) [65]	43
Bảng 3.1. Tỷ lệ lợn tiêu chảy và chết nghi VRHT tại một số huyện của tỉnh Thái Nguyên.....	47
Bảng 3.2. Kết quả lợn con nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử theo mùa vụ	50
Bảng 3.3. Kết quả lợn chết nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử theo mùa vụ tại Thái Nguyên.....	53
Bảng 3.4. Kết quả điều tra tình hình bệnh viêm ruột hoại tử ở lợn tại tỉnh Thái Nguyên theo giai đoạn phát triển	55
Bảng 3.5. Kết quả điều tra tình hình lợn chết do viêm ruột hoại tử tại các điểm nghiên cứu theo giai đoạn phát triển.....	58
Bảng 3.6. Tình hình bệnh viêm ruột hoại tử ở lợn tại tỉnh Thái Nguyên theo phương thức chăn nuôi.....	60
Bảng 3.7. Tình hình lợn chết bệnh viêm ruột hoại tử tại tỉnh Thái Nguyên theo phương thức chăn nuôi.....	62
Bảng 3.8. Triệu chứng lâm sàng của lợn mắc VRHT.....	64
Bảng 3.9. Bệnh tích của lợn mắc VRHT	66
Bảng 3.10. Kết quả xác định tỷ lệ mang vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> ở lợn	67
Bảng 3.11. Kết quả phân lập vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> ở các bệnh phẩm của lợn chết nghi viêm ruột hoại tử.....	70
Bảng 3.12. Kết quả giám định đặc tính sinh hoá của vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> phân lập được	71
Bảng 3.13. Biến động số lượng vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> trong phân lợn bệnh và lợn khỏe và lợn mắc tiêu chảy nghi VRHT	74

Bảng 3.14. Kết quả xác định serotype của các chủng vi khuẩn <i>Cl. perfringens</i> bằng phản ứng PCR	78
Bảng 3.15. Kết quả kiểm tra độc lực các chủng vi khuẩn phân lập được bằng phương pháp tiêm truyền chuột bạch.....	80
Bảng 3. 16. Kết quả xác định khả năng miễn cảm với một số loại kháng sinh và hóa dược.....	83
Bảng 3.17. Kết quả thử nghiệm vaccin phòng bệnh viêm ruột hoại tử.....	85
Bảng 3.18. Kết quả thử nghiệm phác đồ điều trị bệnh viêm ruột hoại tử ở lợn.....	88