

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

PHẠM THỊ LAN

**ỨNG DỤNG CHẾ TẠO, THỬ NGHIỆM VACXIN ĐA GIÁ
VÔ HOẠT PHÒNG BỆNH PHÙ ĐẦU, HỘI CHỨNG TIÊU CHẢY
Ở LỢN DO VI KHUẨN *E.COLI* VÀ *SALMONELLA* GÂY RA
TẠI THÁI NGUYÊN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ THÚ Y

THÁI NGUYÊN - 2015

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

PHẠM THỊ LAN

**ỨNG DỤNG CHẾ TẠO, THỬ NGHIỆM VACXIN ĐA GIÁ
VÔ HOẠT PHÒNG BỆNH PHÙ ĐẦU, HỘI CHỨNG TIÊU CHẢY
Ở LỢN DO VI KHUẨN *E.COLI* VÀ *SALMONELLA* GÂY RA
TẠI THÁI NGUYÊN**

Chuyên ngành: Thú y

Mã số: 60 64 01 01

LUẬN VĂN THẠC SĨ THÚ Y

**Người hướng dẫn khoa học: 1. GS. TS. Nguyễn Quang Tuyên
2. PGS. TS. Cù Hữu Phú**

THÁI NGUYÊN - 2015

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi, các số liệu và kết quả nghiên cứu trong luận văn này là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác và chưa từng sử dụng để bảo vệ một học vị nào.

Tôi xin cam đoan mọi sự giúp đỡ cho việc thực hiện đề tài nghiên cứu và hoàn thành luận văn đều đã được cảm ơn, các thông tin trích dẫn chính xác và đã được chỉ rõ nguồn gốc./.

Thái Nguyên, ngày tháng năm 2015

TÁC GIẢ LUẬN VĂN

Phạm Thị Lan

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình thực hiện đề tài và hoàn thành bản luận văn, tôi luôn nhận được sự giúp đỡ của nhiều tổ chức và cá nhân. Nhân dịp này tôi xin trân trọng cảm ơn Ban giám đốc, Ban quản lý Sau đại học Đại học Thái Nguyên, phòng Quản lý đào tạo Sau đại học, khoa Chăn nuôi Thú y, trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên đã tạo điều kiện cho tôi được theo học chương trình đào tạo thạc sỹ tại trường.

Tôi xin trân trọng cảm ơn tập thể cán bộ khoa Chăn nuôi Thú y, trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên; Bộ môn Vi trùng - Viện Thú y Quốc gia và Chi cục Thú y tỉnh Thái Nguyên đã nhiệt tình giúp đỡ, tạo điều kiện thuận lợi nhất để tôi hoàn thành đề tài nghiên cứu.

Đặc biệt, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến các thầy hướng dẫn khoa học là GS.TS. Nguyễn Quang Tuyên và PGS.TS. Cù Hữu Phú đã trực tiếp hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài và hoàn thành luận văn.

Tôi luôn biết ơn gia đình, bạn bè và các học viên cao học đồng viên và giúp đỡ tôi hoàn thành luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn./.

Thái Nguyên, tháng năm 2015

HỌC VIÊN

Phạm Thị Lan

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN.....	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT VÀ KÝ HIỆU	v
DANH MỤC BẢNG	vi
MỞ ĐẦU	1
1. Tính cấp thiết của đề tài	1
2. Mục tiêu của đề tài	2
3. Ý nghĩa khoa học và thực tế.....	2
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Vi khuẩn <i>E. coli</i> và bệnh phù đầu, tiêu chảy ở lợn do <i>E. coli</i>	4
1.1.1. Vi khuẩn <i>E. coli</i>	4
1.1.2. Bệnh tiêu chảy ở lợn do vi khuẩn <i>E. coli</i>	13
1.1.3. Bệnh phù đầu lợn con.....	17
1.2. Vi khuẩn <i>Salmonella</i> và bệnh tiêu chảy, bại huyết do <i>Salmonella</i> ở lợn ...	20
1.2.1. Vi khuẩn <i>Salmonella</i>	20
1.2.2. Bệnh tiêu chảy bại huyết ở lợn do <i>Salmonella</i>	30
1.3. Vaccin phòng bệnh phù đầu, tiêu chảy, bại huyết ở lợn	34
Chương 2: NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	37
2.1. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu	37
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu.....	37
2.1.2. Phạm vi nghiên cứu.....	37
2.1.3. Động vật thí nghiệm.....	37
2.2. Nội dung nghiên cứu	37
2.3. Phương pháp nghiên cứu	38
2.3.1. Các loại hóa chất, môi trường dùng để nuôi cấy, giám định vi khuẩn.....	38
2.3.2. Phương pháp xác định số lượng vi khuẩn	38

2.3.3. Phương pháp chế tạo thử nghiệm vaccin phòng bệnh tiêu chảy, phù đầu và bại huyết cho lợn	39
2.3.4. Phương pháp nghiên cứu đáp ứng miễn dịch và độ dài miễn dịch của đàn lợn sau tiêm phòng vaccin đa giá phòng bệnh phù đầu, tiêu chảy, phó thương hàn ở lợn do vi khuẩn <i>E. coli</i> và <i>Salmonella</i> gây ra.....	42
2.3.5. Phương pháp xử lý số liệu.....	44
Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	47
3.1. Kết quả lựa chọn các chủng vi khuẩn để chế tạo vaccin	47
3.2. Kiểm nghiệm vaccin phòng bệnh phù đầu, tiêu chảy, phó thương hàn cho lợn.....	48
3.2.1. Kết quả kiểm tra đậm độ của canh trùng sử dụng chế tạo vaccin.....	49
3.2.2. Kết quả kiểm tra thuần khiết của canh trùng sử dụng chế tạo vaccin..	50
3.2.3. Kết quả kiểm tra vô trùng của 3 lô vaccin chế tạo được.....	51
3.2.4. Kiểm tra an toàn trên chuột nhắt trắng.....	52
3.2.5. Kiểm tra hiệu lực bảo hộ của vaccin trên chuột nhắt trắng	54
3.2.6. Kết quả xác định hiệu lực của vaccin trên lợn thí nghiệm.....	57
3.3. Kết quả xác định độ dài miễn dịch và hiệu lực của vaccin	59
3.3.1. Kết quả xác định độ dài miễn dịch của vaccin.....	59
3.3.2. Hiệu lực của vaccin phòng bệnh cho lợn nuôi tại Thái Nguyên....	65
3.3.3. Nguy cơ lợn con bị tiêu chảy do không tiêm vaccin	67
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	69
1. Kết luận.....	69
2. Đề nghị.....	69
TÀI LIỆU THAM KHẢO	70

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT VÀ KÝ HIỆU

BHI	: Brain Heart Infusion
CFU	: Colony Forming Unit
Cs	: Cộng sự
DHL	: Deoxycholate Hydrogen sulfide Lactose
DNA	: DeoxyriboNucleic Acid
ETEC	: EnteroToxigenic <i>E. coli</i>
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
ELISA	: Enzyme - linked Immuno sorbant assay
GDP	: Guanin DiPhosphate
GTP	: Guanin TriPhosphate
IHA	: Indirect Haemagglutination test
InvA	: Invasion A
LPS	: LipoPolySaccharide
PCR	: Polymerase Chain Reaction
RR	: Relative Risk
<i>S. choleraesuis</i>	: <i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>S. typhimurium</i>	: <i>Salmonella typhimurium</i>
<i>S. enteritidis</i>	: <i>Salmonella enteritidis</i>
<i>S. dublin</i>	: <i>Salmonella dublin</i>
<i>S. gallinarum</i>	: <i>Salmonella gallinarum</i>
<i>S. pullorum</i>	: <i>Salmonella pullorum</i>
ST	: Heat- stabile Toxin
Stn	: <i>Salmonella</i> toxin
TSA	: Tryptic Soya Agar
TCVN	: Tiêu chuẩn Việt Nam

DANH MỤC HÌNH, BẢNG

Hình 2.1. Quy trình sản xuất vacxin vô hoạt bổ trợ keo phèn	40
Bảng 2.6: Thí nghiệm kiểm tra an toàn của vacxin trên chuột bạch.....	42
Bảng 3.1: Các chủng vi khuẩn <i>E. coli</i> được chọn để chế tạo vacxin	47
Bảng 3.2: Các chủng vi khuẩn <i>Salmonella</i> được chọn để chế tạo vacxin.....	48
Bảng 3.3: Kết quả kiểm tra đậm độ các lô vacxin	49
Bảng 3.4: Kết quả kiểm tra thuần khiết của 3 lô canh trùng sử dụng chế tạo vacxin	50
Bảng 3.5: Kết quả kiểm tra vô trùng lô vacxin	51
Bảng 3.6: Kết quả kiểm tra an toàn của vacxin trên chuột nhắt trắng	53
Bảng 3.7: Hiệu lực của vacxin trên chuột nhắt trắng khi công cường độc vi khuẩn <i>E. coli</i>	54
Bảng 3.8: Hiệu lực của vacxin trên chuột nhắt trắng khi công cường độc vi khuẩn <i>Salmonella</i>	55
Bảng 3.9: Kết quả xác định hiệu lực của vacxin trên lợn thí nghiệm.....	57
Bảng 3.10: Hiệu giá kháng thể của vacxin sau khi tiêm phòng 1 tháng	61
Bảng 3.11: Hiệu giá kháng thể của vacxin sau khi tiêm phòng 2 tháng	62
Bảng 3.12: Hiệu giá kháng thể của vacxin sau khi tiêm phòng 3 tháng	62
Bảng 3.13: Hiệu giá kháng thể của vacxin sau khi tiêm phòng 4 tháng	63
Bảng 3.14: Hiệu giá kháng thể của vacxin sau khi tiêm phòng 5 tháng	64
Bảng 3.15: Tỷ lệ lợn con mắc bệnh tiêu chảy giữa vùng tiêm phòng và vùng không tiêm phòng vacxin.....	65
Bảng 3.16: Nguy cơ lợn con bị tiêu chảy do không tiêm phòng vacxin.....	67

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Trong những năm gần đây, cùng với sự phát triển của nền kinh tế, ngành chăn nuôi nói chung và chăn nuôi lợn nói riêng của nước ta đã có những bước phát triển mạnh mẽ, trở thành ngành sản xuất quan trọng, chiếm tỷ trọng đáng kể trong xuất khẩu các sản phẩm chăn nuôi và góp phần xóa đói giảm nghèo.

Theo định hướng được Thủ tướng Chính phủ phê duyệt trong Quyết định số 10/2008/QĐ-TTg ngày 16/01/2008 [22] về Chiến lược phát triển chăn nuôi đến năm 2020 [3], mục tiêu của định hướng là: Phát triển nhanh quy mô đàn lợn ngoại theo hướng trang trại, công nghiệp ở nơi có điều kiện về đất đai, kiểm soát dịch bệnh và môi trường; duy trì ở quy mô nhất định hình thức chăn nuôi lợn lai, lợn đặc sản phù hợp với điều kiện chăn nuôi của nông hộ và của một số vùng. Tỷ trọng chăn nuôi trong nông nghiệp đến năm 2020 đạt trên 42%, trong đó năm 2010 đạt khoảng 32% và năm 2015 đạt 38%; Đảm bảo an toàn dịch bệnh và vệ sinh an toàn thực phẩm, không chế có hiệu quả các bệnh nguy hiểm trong chăn nuôi; Các cơ sở chăn nuôi, nhất là chăn nuôi theo phương thức trang trại, công nghiệp và cơ sở giết mổ, chế biến gia súc, gia cầm phải có hệ thống xử lý chất thải, bảo vệ và giảm ô nhiễm môi trường ... Để đạt được mục tiêu này, Thủ tướng Chính phủ còn ban hành Quyết định số 50/2014/QĐ-TTg ngày 4/9/2014 [23], về chính sách hỗ trợ nâng cao hiệu quả chăn nuôi nông hộ giai đoạn 2015-2020; Nghị định số 210/2013/NĐ-CP [15] ngày 19/12/2013 của Chính phủ về chính sách khuyến khích doanh nghiệp đầu tư vào nông nghiệp, nông thôn; Nghị Định số 55/2015/NĐ-CP [16] ngày 9/6/2015 của Chính phủ về chính sách tín dụng phục vụ phát triển nông nghiệp, nông thôn...

Tuy nhiên, ngành chăn nuôi lợn ở nước ta luôn phải đối mặt với những khó khăn, thách thức về chất lượng con giống, thức ăn, giá cả thị trường,... Đặc

biệt là bệnh dịch vẫn thường xuyên xảy ra gây thiệt hại lớn về kinh tế. Trong đó có một số bệnh thường xuyên xảy ra không những ảnh hưởng đến mục tiêu phát triển chăn nuôi mà còn đe dọa ảnh hưởng đến sức khỏe của con người. Bệnh phù đầu do vi khuẩn *E. coli* và bệnh do vi khuẩn *Salmonella* vẫn gây tổn thất nặng nề cho ngành chăn nuôi lợn trong toàn quốc. Bệnh do *Salmonella* gây ra thường ở dạng nhiễm trùng máu cấp tính hoặc viêm ruột non. Tuy nhiên, hai thể bệnh này thường ít khi xảy ra đồng thời với nhau. Vi khuẩn *Salmonella* và *E. coli* gây tiêu chảy cho lợn ở các lứa tuổi, đặc biệt ở lợn trước và sau cai sữa trong cả chăn nuôi trang trại quy mô lớn hay chăn nuôi nông hộ với quy mô nhỏ.

Để hạn chế thấp nhất thiệt hại cho người chăn nuôi, thuận lợi cho việc sử dụng biện pháp phòng bệnh bằng vaccin và đảm bảo an toàn thực phẩm không lây nhiễm vi khuẩn, gây ngộ độc cho người tiêu dùng. Việc chế tạo vaccin đa giá, tiêm một mũi phòng ba bệnh: phù đầu, tiêu chảy, phó thương hàn do vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella spp.* gây ra là đòi hỏi cấp thiết của thực tế nước ta hiện nay. Vì vậy, để có cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu, xây dựng biện pháp phòng và trị bệnh bằng vaccin, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “*Ứng dụng chế tạo, thử nghiệm vaccin đa giá vô hoạt phòng bệnh phù đầu, hội chứng tiêu chảy ở lợn do vi khuẩn E. coli và Salmonella gây ra tại Thái Nguyên*”.

2. Mục tiêu của đề tài

- Tuyển chọn chủng vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* sử dụng chế tạo thử nghiệm vaccin đa giá phòng bệnh cho lợn;

- Xác định hiệu lực của vaccin đa giá phòng bệnh phù đầu, tiêu chảy, phó thương hàn ở lợn do vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* gây ra tại Thái Nguyên.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tế

3.1. Ý nghĩa khoa học

- Nghiên cứu chế tạo vaccin đa giá từ các chủng vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* phân lập được;