

PHÂN LẬP, ĐỊNH DANH MỘT SỐ VI KHUẨN GÂY BỆNH HÔ HẤP TRÊN HEO

**Đặng Thị Xuân Thiệp, Bùi Nguyễn Hoàng Trang,
Lê Thanh Tùng, Võ Thị Trà An**

Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường Đại học Nông Lâm Tp.HCM

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm mục đích phân lập, định danh các vi khuẩn gây bệnh hô hấp gồm: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida* và *Bordetella bronchiseptica* từ mẫu dịch mũi và mẫu phổi của heo có biểu hiện bệnh hô hấp.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong tổng số 130 mẫu dịch mũi và mẫu phổi, đã phân lập và định danh được 42 vi khuẩn của cả 4 loại vi khuẩn, chiếm tỷ lệ 32,3%. Tỷ lệ phân lập *Haemophilus parasuis* là cao nhất, chiếm 11,5%, tiếp đến là *Pasteurella multocida* với tỷ lệ 9,2%; *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica* có tỷ lệ phân lập lần lượt là 6,9 % và 4,6%. Tỷ lệ các vi khuẩn phân lập được từ phổi (17,7%) cao hơn so với dịch mũi (14,6%) trên tổng số mẫu khảo sát.

Từ khoá: Phân lập, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, heo.

Isolation and identification of some respiratory pathogens from swine

**Dang Thi Xuan Thiep, Bui Nguyen Hoang Trang,
Le Thanh Tung, Vo Thi Tra An**

SUMMARY

This study was conducted to isolate and identify some respiratory pathogens including *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* based on testing the nasal fluid and lung samples from swine with respiratory disease symptoms. The studied results showed that from a total of 130 pig nasal fluid and lung samples, 42 isolates of all 4 types of bacteria were isolated and identified, accounting for 32.3%. The isolation rate of *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Bordetella bronchiseptica* was 11.5%, 6.9%, 9.2% and 4.6%, respectively. The isolated bacteria rate from the lung and nasal fluid samples was 17.7% and 14.6%, respectively.

Keywords: Isolation, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, swine.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh hô hấp do vi khuẩn trên heo là một nguyên nhân quan trọng làm gia tăng tỷ lệ bệnh và tỷ lệ chết trên heo, dẫn đến tổn thất kinh tế cho trang trại chăn nuôi. Vi khuẩn gây bệnh hô hấp quan trọng nhất là *Pasteurella multocida*. Vi khuẩn này thường gây bệnh kết hợp với một vi khuẩn khác là *Bordetella bronchiseptica* gây viêm teo xoang mũi trên heo. *Actinobacillus*

pleuropneumoniae là vi khuẩn đứng thứ hai gây viêm phổi-màng phổi. Một vi khuẩn khác gây viêm đa xoang trên heo là *Haemophilus parasuis* (de Jong và ctv, 2014). Quan trọng hơn, những vi khuẩn gây bệnh này còn là yếu tố mở đường cho những tác nhân gây bệnh hô hấp khác như bệnh cúm, bệnh do *Mycoplasma*, rối loạn hô hấp sinh sản (Porcine respiratory reproduction syndrome-PRRS) hay hội chứng

còi cọc trên heo cai sữa (Porcine circovirus type 2- PCV2). Tất cả những tác nhân này có mối liên hệ mật thiết với nhau, chúng tạo nên những mất xích quan trọng trong việc tạo ra bệnh lý hô hấp trên heo (Sassu và ctv, 2018). Trong số các bài báo trên Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y tính từ thời điểm năm 2010-2017, chưa có công bố nào phân lập, định danh các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo tại khu vực miền Đông Nam Bộ. Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện với mục tiêu phân lập, định danh các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo bao gồm *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida* và *Bordetella bronchiseptica* từ các mẫu bệnh phẩm thu thập trên heo tại một trại và lò mổ thuộc khu vực này. Kết quả nghiên cứu góp phần quan trọng, làm cơ sở cho việc chẩn đoán nguyên nhân gây bệnh hô hấp do vi khuẩn trên heo tại các khu vực đã lấy mẫu, từ đó, định hướng cho việc điều trị bệnh cũng như thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung

Phân lập và định danh các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo bao gồm *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida* và *Bordetella bronchiseptica* từ mẫu dịch mũi và mẫu phổi của heo có biểu hiện bệnh hô hấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập mẫu

Tổng số 80 mẫu dịch mũi heo được thu thập từ 8

trại heo thuộc tỉnh Đồng Nai và 50 mẫu phổi được thu thập tại 1 lò mổ heo thuộc tỉnh Bình Dương. Mẫu dịch mũi được thu thập trên những heo có biểu hiện bệnh hô hấp như sốt, ho, chảy dịch mũi, thờ ngời, thờ thê bụng, da tím tái. Dùng tăm bông vô trùng ngoáy sâu vào bên trong mũi heo, sau đó bề ngón tăm bông và cho vào eppendorff vô trùng. Mẫu phổi có các bệnh tích như xuất huyết, hoại tử, hay viêm phổi dính sườn sẽ được thu thập và để riêng từng mẫu trong các túi sinh học. Các mẫu sau khi thu thập được cho vào thùng đựng mẫu, bảo quản bằng đá khô và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 12 giờ để tiến hành phân lập, định danh.

2.2.2. Phân lập

Quy trình phân lập được thực hiện theo công bố của Zhao và cộng sự (2010). Môi trường phân lập các vi khuẩn trên là môi trường TSA (Tryptose soy agar; Oxoid) bổ sung 5% huyết thanh bò (Fetal bovine serum; Difco) và 10 µg/ml nicotinamide adenine dinucleotide (NAD; Merck). Đối với mẫu dịch mũi, mẫu tăm bông ngoáy dịch mũi sẽ phết trực tiếp ở một góc trên đĩa, sau đó dùng que cấy để rìa những đường cấy còn lại. Đối với mẫu phổi, bề mặt phổi được đốt bằng cồn, sau đó dùng kéo đã được đốt trên đèn cồn cắt sâu xuống phần mô phổi bên trong, đồng thời cắt lấy một mẫu phổi nhỏ và phết lên đĩa, tiếp tục cấy rìa bằng que cấy. Các đĩa nuôi cấy vi khuẩn được ủ hiếu khí ở 37°C trong 24-48 giờ. Sau thời gian nuôi cấy, việc nhận diện và phân loại 4 vi khuẩn mục tiêu trên dựa vào hình thái khuẩn lạc, kết quả nhuộm Gram và phản ứng catalase được mô tả trong bảng 1.

Bảng 1. Cơ sở phân loại vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida* và *Bordetella bronchiseptica* sau khi phân lập

Loại vi khuẩn	Thời gian ủ	Kích cỡ	Màu sắc, độ đục	Phản ứng catalase	Hình thái
<i>A. pleuropneumoniae</i>	<24h/ 37°C (20 giờ)	nhỏ	trắng đục	-	Cầu trực, nhỏ, Gram âm
<i>Haemophilus parasuis</i>	>24h/ 37°C (40 giờ)	rất nhỏ	trắng đục	+	Cầu trực hoặc sợi dài, Gram âm
<i>Pasteurella multocida</i>	24h/ 37°C	lớn	trắng đục	+	Cầu trực, Gram âm
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	24h/ 37°C	nhỏ	trắng trong	+	Cầu trực, Gram âm

Các khuẩn lạc có kết quả phân loại như nhau từ cùng một đĩa nuôi cấy sẽ được tính là một vi khuẩn. Vi khuẩn này sẽ tiếp tục được định danh bằng PCR.

2.2.3. Định danh bằng PCR

Primer sử dụng trong định danh *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida* và *Bordetella bronchiseptica* được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Primer sử dụng cho định danh các vi khuẩn

Vi khuẩn	Gen	Primer	Trình tự (5'-3')	Kích cỡ (bp)	TLTK
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	<i>apxIVA</i>	AP-IVF AP-IVR	ATACGGTTAATGGCGGTAATGG ACC TGA GTG CTC ACC AAC G	346	Hričinová và ctv (2010)
<i>Haemophilus parasuis</i>	<i>16SrRNA</i>	HPS-1 HPS-2	GTG ATG AGG AAG GGT GGT GT GGC TTC GTC ACC CTC TGT	821	Hričinová và ctv (2010)
<i>Pasteurella multocida</i>	<i>toxA</i>	KMT1 T7 KMT1 SP6	ATCCGCTATTTACCCAGTGG GCTGTAAACGAACCTCGCCAC	460	Hričinová và ctv (2010)
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>fla</i>	<i>Fla4</i> <i>Fla2</i>	TGGCGCCTGCCCTATC AGGCTCCCAAGAGAGAAA	237	Zhao và ctv (2011)

Việc định danh vi khuẩn bằng kỹ thuật PCR dựa trên phát hiện các vi khuẩn có mang gen *16S rRNA* hoặc gen độc tố (*apxIVA*, *toxA*, *fla*) để chắc chắn các vi khuẩn phân lập được là các vi khuẩn mục tiêu của nghiên cứu.

Ly trích DNA: DNA của vi khuẩn được ly trích bằng phương pháp sốc nhiệt. Dùng que cấy lấy 3 - 5 khuẩn lạc đã được cấy thuần trên môi trường TSA cho vào ống eppendorff có chứa sẵn 50µl TBE (tris - boric EDTA), tiếp theo đặt eppendorff vào nước đang đun sôi 100°C/5 phút, sau đó cho vào tủ -70°C/5 phút. Sau cùng, ly tâm dịch chiết DNA ở mức 15.000 vòng/phút trong 5 phút, hút lấy 20µl phần nước nổi trên bề mặt eppendorff cho vào một ống eppendorff khác và bảo quản ở -20°C.

Thể tích 1 phản ứng PCR là 20µl, bao gồm 10µl Go Taq green (Promega, Mỹ), 2µl primer (Promega), 2µl DNA mẫu và 6 µl H₂O (nuclease free water) với quy trình nhiệt theo các tài liệu tham khảo ở bảng 2.

Điện di và đọc kết quả: 5 µl sản phẩm PCR sẽ được điện di trên gel 1,5% agarose (Promega, Mỹ) có chứa GelRed (Biotium, Mỹ) trong môi trường TBE 0,5X, thời gian điện di là 20 phút ở hiệu điện thế 150 volt, cường độ 144 mA.

Kết quả được đọc trên máy Biorad UV2000. Sử dụng thang chuẩn DNA phù hợp để ước lượng kích thước đoạn sản phẩm PCR. Các vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae* ATCC 27090, *Pasteurella multocida* ATCC 12945, riêng các gốc *Haemophilus parasuis*, *Bordetella bronchiseptica* sau khi PCR đã được gửi giải trình tại công ty TNHH Thương mại và dịch vụ Nam Khoa, Tp.HCM và sử dụng làm đối chứng dương cho định danh các vi khuẩn tiếp theo.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Qua nghiên cứu, chúng tôi đã phân lập được 42 vi khuẩn, tỷ lệ phân lập từng loại vi khuẩn được trình bày trong bảng 3.

Kết quả từ bảng 3 cho thấy tỷ lệ phân lập các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên tổng số mẫu khảo sát là 32,3%. Trong đó, vi khuẩn *Haemophilus parasuis* có tỷ lệ phân lập cao nhất ở cả 2 mẫu chiếm 11,5%; tiếp đến là *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* và *Bordetella bronchiseptica* có tỷ lệ phân lập lần lượt là 9,2%; 6,9% và 4,6%. Ngoài ra, tỷ lệ các vi khuẩn phân lập được từ phổi (17,7%) cao hơn so với dịch mũi (14,6%) trên tổng số mẫu khảo sát. Do đó, tỷ lệ phân lập từng loại vi khuẩn trên mẫu phổi cũng cao hơn so với mẫu dịch từ mũi.

Bảng 3. Tỷ lệ phân lập các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo (%)

Loại mẫu	Số mẫu	Số vi khuẩn				Tổng (%)
		App	Hps	Pm	Bb	
Dịch mũi	80	4	6	6	3	19 (14,6%)
Phổi	50	5	9	6	3	23 (17,7%)
Tổng số mẫu	130	9	15	12	6	42 (32,3%)
Tỷ lệ (%)		6,9	11,5	9,2	4,6	

App: Actinobacillus pleuropneumoniae, Hps: Haemophilus parasuis; Pm: Pasteurella multocida; Bb: Bordetella bronchiseptica

Nhìn chung, tỷ lệ phân lập được các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo trong nghiên cứu của chúng tôi có khác biệt so với các nghiên cứu trước đó tại các khu vực khác.

Trong nghiên cứu này, *Haemophilus parasuis* có tỷ lệ phân lập cao nhất so với các vi khuẩn khác, chiếm 11,5% trên tổng số mẫu phân lập. Tỷ lệ phân lập *Haemophilus parasuis* từ các mẫu bệnh phẩm trên heo cũng có khác so với các nghiên cứu khác. Nghiên cứu của Zhao và cộng sự (2010) cho thấy tỷ lệ phân lập *Haemophilus parasuis* là 26,7%. Trong khi kết quả nghiên cứu của Hričinová và cộng sự (2010) cho thấy trong tổng số 219 mẫu phổi, thì chỉ có 4 mẫu dương tính đối với *Haemophilus parasuis*, chiếm 1,83%. *Haemophilus parasuis* gây viêm đa xoang bao gồm viêm sợi cơ, viêm khớp và viêm màng não có thể thấy ở thể cấp tính. Màng phổi, màng ngoài tim, màng bụng, màng hoạt dịch và màng não chứa nhiều dịch có sợi fibrin. Ở thể mạn tính, *Haemophilus parasuis* gây xơ hóa nghiêm trọng màng ngoài tim, màng phổi và/hoặc phúc mạc, cũng như viêm khớp mạn tính trên heo (Oliveira và Pijuan, 2004).

Pasteurella multocida là vi khuẩn có tỷ lệ phân lập chiếm 9,2%, đứng thứ hai sau *Haemophilus parasuis* trong nghiên cứu của chúng tôi. Cù Hữu Phú và cộng sự (2005) cho rằng nguyên nhân gây bệnh hô hấp trên heo ở các tỉnh phía Bắc chủ yếu là *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* và *Streptococcus suis*. Tuy nhiên, các công

bố ở khu vực phía Bắc cũng tập trung vào thử nghiệm vacxin phòng bệnh do các vi khuẩn trên (Hoàng Văn Minh và ctv, 2017; Cù Hữu Phú và ctv, 2013; Nguyễn Thị Thu Hằng và ctv, 2010). Chưa có nhiều công bố trong nước về tỷ lệ phân lập vi khuẩn này, ngoại trừ nghiên cứu của Đặng Xuân Bình và cộng sự (2010), cho thấy tỷ lệ phân lập *Pasteurella multocida* trên heo tại Hà Giang và Cao Bằng là khoảng 5%. Các nghiên cứu từ nước ngoài cho thấy có sự khác nhau về tỷ lệ phân lập *Pasteurella multocida*. Tỷ lệ phân lập *Pasteurella multocida* trong một nghiên cứu ở Trung Quốc là khoảng 8% với 233 vi khuẩn phân lập được từ 2912 ca bệnh (Tang và ctv, 2009). Nghiên cứu của Hričinová và cộng sự (2010) cho thấy tỷ lệ phân lập *Pasteurella multocida* từ mẫu bệnh phẩm trên heo là khá cao, chiếm 74,9% tổng số mẫu phân lập. *Pasteurella multocida* gây bệnh tụ huyết trên heo với các biểu hiện sốt cao, khó thở, xuất huyết ở da vùng bụng, tai, đùi, móng, đôi khi toàn thân. *Pasteurella multocida* toxin (PMT) serogroup D kết hợp với *Bordetella bronchiseptica* gây viêm teo xoang mũi tiến triển. Bệnh làm biến mất hoàn toàn sụn mũi, mũi rút ngắn và xoắn lại, chuyển màu sẫm và viêm phổi (Harper và ctv, 2006). Tỷ lệ phân lập *Bordetella bronchiseptica* trong nghiên cứu này là 4,6%, thấp nhất so với các vi khuẩn khác. Kết quả từ một nghiên cứu khác cho thấy *Bordetella bronchiseptica* có tỷ lệ phân lập khá cao trong các mẫu bệnh phẩm từ heo, chiếm 18,6% trong tổng số mẫu phân lập (Zhao và ctv, 2010). Các mầm bệnh khác đồng

nh nhiễm với *Bordetella bronchiseptica* làm tăng mức độ nghiêm trọng của bệnh. *Bordetella bronchiseptica* mở đường cho *Pasteurella multocida* gây viêm teo xoang mũi tiến triển. *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* cũng có xu hướng kết hợp với *Bordetella bronchiseptica* gây viêm xoang mũi, viêm phổi lan rộng (Brockmeier, 2004).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae* có tỷ lệ phân lập là 6,9%. Tại các khu vực khác, tỷ lệ phân lập vi khuẩn này cao hơn so với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Tỷ lệ phân lập *Actinobacillus pleuropneumoniae* trên heo bị bệnh hô hấp tại Bến Tre và Cần Thơ dao động từ 20-24% (Phan Kim Thanh và ctv, 2018; Nguyễn Lương Trường Giang và ctv, 2015). Một nghiên cứu khác từ nước ngoài cũng cho thấy tỷ lệ phân lập *Actinobacillus pleuropneumoniae* từ những mẫu phổi heo thu thập từ lò mổ là 20,5% (Hričínová và cộng sự, 2010). *Actinobacillus pleuropneumoniae* là một trong số vi khuẩn quan trọng nhất gây viêm phổi trên heo ở mọi lứa tuổi và được tìm thấy rộng rãi. Vi khuẩn gây tổn thương phổi, xuất huyết bề mặt và hoại tử, sợi fibrin bao phủ bề mặt phổi, kể cả nội tạng. *Actinobacillus pleuropneumoniae* còn gây xuất huyết bào thai nghiêm trọng. Ngoài ra, vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae* còn kết hợp với các tác nhân khác như *Mycoplasma hyopneumoniae*, cúm heo hay PRRS làm trầm trọng các tổn thương trên đường hô hấp heo (van Dixhoorn và ctv, 2016; Pomorska-Mól và ctv, 2017). Lê Văn Dương và cộng sự (2012), Nguyễn Quốc Huy và cộng sự (2013) nghiên cứu từ những mẫu bệnh phẩm ở heo dương tính với virus PRRS tại Bắc Giang đã cho kết quả 19,59% và 17,78% số mẫu được phân lập dương tính với vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae* (trích dẫn bởi Phan Kim Thanh và ctv, 2018). Như vậy, các tác nhân gây bệnh liên hệ mật thiết với nhau, tạo nên những mất xích quan trọng, làm trầm trọng các vấn đề hô hấp trên heo. Ở thể mạn tính, bệnh làm giảm tăng trọng

trung bình hằng ngày trên heo khoảng 33,6% và hệ số biến chuyển thức ăn từ 0,77 - 25,5%, làm heo còi cọc, chậm tăng trưởng, ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế (Sassu, 2018).

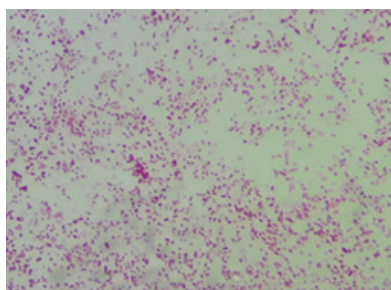
Từ những tổng kết trên cho thấy, có khá ít các công bố trong nước về tình hình phân lập các vi khuẩn trong nghiên cứu này, ngoại trừ một số công bố đã thảo luận ở trên. Các nghiên cứu trước đây tập trung chủ yếu ở phía Bắc và khu vực Tây Nam Bộ. Vì vậy, kết quả nghiên cứu này là công bố đầu tiên về tỷ lệ phân lập 4 loại vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo ở khu vực Đông Nam Bộ. Nhìn chung, tỷ lệ phân lập các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo là có khác nhau giữa các khu vực khảo sát, điều này có thể phụ thuộc vào điều kiện vệ sinh, quản lý an toàn sinh học, việc sử dụng thuốc kháng sinh trong phòng và trị bệnh cũng như sử dụng vacxin phòng bệnh cho heo. Tỷ lệ phân lập các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trong nghiên cứu của chúng tôi khác với các nghiên cứu khác và ở mức thấp, mặc dù các mẫu thu thập để phân lập vi khuẩn được lấy trên những heo có biểu hiện bệnh hô hấp. Các trang trại và lò mổ đã thu thập mẫu thuộc khu vực tỉnh Đồng Nai và Bình Dương. Đây là những khu vực có mật độ chăn nuôi heo lớn, nhất là Đồng Nai hiện được xem là thủ phủ chăn nuôi heo của cả nước, hiện có hơn 2,5 triệu con heo trên toàn khu vực. Mật độ chăn nuôi đông, bệnh tật gia tăng, áp lực sử dụng thuốc kháng sinh trong chăn nuôi cao. Ngoài ra, trong thời gian thu thập mẫu nghiên cứu cũng là thời điểm xảy ra dịch lở mồm long móng và dịch tả heo châu Phi, điều này càng làm tăng áp lực sử dụng thuốc kháng sinh tại các trại để chống phụ nhiễm vi khuẩn khác. Do đó, làm cho vi khuẩn trở nên yếu đi, giảm khả năng phát triển của vi khuẩn trên môi trường phân lập, từ đó giảm tỷ lệ phân lập. Ngoài ra, nguyên nhân gây bệnh hô hấp trên các heo khảo sát có thể còn do tác nhân vi khuẩn khác như *Streptococcus suis*, *Mycoplasma* hoặc virus gây bệnh rối loạn hô hấp và sinh sản (PRRS) hay bệnh còi cọc trên heo sau cai sữa do PCV2.



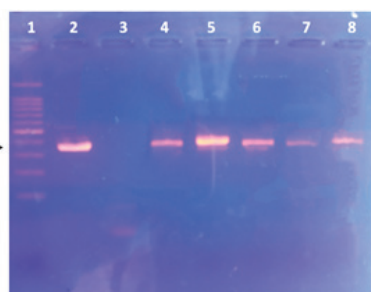
Hình 1. Phổi heo bị hoại tử do App.



Hình 2. Khuẩn lạc App. trên môi trường TSA sau 24 giờ/37°C



Hình 3. Vi khuẩn App, hình cầu trực, Gram âm dưới kính hiển vi độ phóng đại 1000x



Hình 4. Kết quả PCR vi khuẩn App.

Lane 1: ladder (1500bp); 2: đối chứng dương; 3: đối chứng âm; 4-8: sản phẩm PCR gen *apxIVA*

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi đã góp phần xác định 4 mầm bệnh vi trùng có khả năng gây bệnh hô hấp trên heo tại những khu vực đã thu thập mẫu. Trong đó, tỷ lệ phân lập vi khuẩn *Haemophilus parasuis* là cao nhất, tiếp đến là *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* và *Bordetella bronchiseptica*. Kết quả của nghiên cứu này là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về xác định mức độ nhạy cảm với kháng sinh hoặc nghiên cứu bệnh học của những vi khuẩn đã phân lập được.

Lời cảm ơn: Trân trọng cảm ơn Prof. Qigai He, Phòng Thí nghiệm trọng điểm về Vi sinh nông nghiệp, Khoa Chăn nuôi Thú y, Đại học Nông nghiệp Huazhong, Trung Quốc đã giúp đỡ chúng tôi về quy trình phân lập các vi khuẩn trong nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brockmeier S. L. (2004). Prior infection with *Bordetella bronchiseptica* increases nasal colonization by *Haemophilus parasuis* in swine. *Veterinary Microbiology* 99(1): 75–78.2.
2. Brogden S., Pavlovic A., Tegeler R., Kaspar H., DeVaen N., Kehrenberg C. (2018). Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus parasuis* isolates from Germany by use of a proposed standard method for harmonized testing. *Veterinary Microbiology* 217: 32–35.
3. Cù Hữu Phú, Nguyễn Xuân Huyền, Âu Xuân Tuấn, Lê Thị Minh Hằng, Lưu Thị Hải Yến, Văn Thị Hương, Trần Việt Dũng Kiên, Tăng Thị Phương (2013). Xác định serotype và một số yếu tố gây bệnh của vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* và *Streptococcus suis* để chọn chủng chế vaccin phòng bệnh viêm phổi cho lợn. *Tạp chí khoa*

học kỹ thuật thú y, tập XX., số 7-2013.

4. de Jong A., Thomas V., Simjee S., Moyaert H., Garch F. E., Maher K., Morrissey I., Butty P., Klein U., Marion H., Rigaut H., Valle M. (2014). Antimicrobial susceptibility monitoring of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe: The Vetpath study. *Veterinary Microbiology* 172(1-2): 202-15.
5. Đặng Xuân Bình, Nguyễn Thị Kim Dung, Nguyễn Thị Hà, Lê Bá Hiệp (2010). Khảo sát sự lưu hành của *Pasteurella multocida* ở một số gia súc một số tỉnh miền núi phía Bắc Việt Nam. *Tạp chí khoa học kỹ thuật thú y, tập XVII, số 2-2010*.
6. Harper M., Boyce C. J., Adler B. (2006). *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur: *Pasteurella multocida* pathogenesis. *FEMS Microbiology Letters* 265(1): 1-10.
7. Hoàng Văn Minh, Lê Văn Dương, Cù Hữu Phú, Trần Đức Hạnh, Nguyễn Quang Tuyên (2017). Kết quả thử nghiệm vaccin vô hoạt phòng viêm phổi cho lợn do vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* và *Streptococcus suis* gây ra tại Bắc Giang. *Tạp chí khoa học kỹ thuật thú y, tập XXIV, số 5-2017*.
8. Hričinová, M., Holoda E., Mudroňová D., Ondrašovičová S. (2010). Multiplex PCR assay for detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Haemophilus parasuis* in lungs of pigs from a slaughterhouse. *Folia Microbiologica* 55(6): 635-40.
9. Nguyễn Lương Trường Giang (2015). Khảo sát sự lưu hành và xác định gene độc lực *Apx* của vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae* gây bệnh viêm phổi - màng phổi trên heo tại thành phố Cần Thơ. *Hội nghị Khoa học Chăn nuôi-Thú y toàn quốc AVS 2015: 577-583*.
10. Nguyễn Thị Thu Hằng, Đỗ Ngọc Thúy, Nguyễn Thúy Duyên, Nguyễn Việt Chương, Cù Hữu Phú, Trương Văn Dung (2010). Kết quả bước đầu xác định tính sinh miễn dịch của *Actinobaccillus pleuropneumoniae* phân lập từ lợn một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. *Tạp chí khoa học kỹ thuật thú y, tập XVII, số 2-2010*.
11. Oliveira S., and Pijoan C., (2004). *Haemophilus parasuis*: new trends on diagnosis, epidemiology and control. *Veterinary Microbiology* 99(1): 1-12.
12. Phan Kim Thanh, Lý Thị Liên Khai và Huỳnh Văn Thắm (2018). Khảo sát bệnh viêm phổi, màng phổi do vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae* trên heo tại tỉnh Bến Tre. *Tạp chí khoa học, Trường Đại học Cần Thơ* 54(4): 54.
13. Pomorska-Mól M., Dors A., Kawit K., Kowalczyk A., Stasiak E., Pejsak Z. (2017). Kinetics of single and dual infection of pigs with swine influenza virus and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Veterinary Microbiology* 201: 113-20.
14. Sassu, E. L., Bossé J. T., Gottschalk M., Langford P.R. (2018). Update on *Actinobacillus pleuropneumoniae* -knowledge, gaps and challenges. *Transboundary and Emerging Diseases* 65: 72-90.
15. Tang X., Zhao Z., Hu J., Wu B., Cai X., He Q., Chen H. (2009). Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China. *Journal of Clinical Microbiology* 47(4): 951-58.
16. van Dixhoorn I. D. E., Reimert I., Middlekoop J., Bolhuis J. E., Wisselink H. J., Koerkamp Peter W.G.G., Kemp B., Zurwieden N. S. (2016). Enriched housing reduces disease susceptibility to co-infection with porcine reproductive and respiratory virus (PRRSV) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*) in young pigs. *PLOS ONE* 11(9).
17. Zhao Z., Wang C., Xue Y., Tang X., Wu B., Cheng X., He Q. (2011). The occurrence of *Bordetella bronchiseptica* in pigs with clinical respiratory disease. *The Veterinary Journal* 188(3): 337-40.

Ngày gửi 26-6-2019

Ngày phản biện 26-7-2019

Ngày đăng 1-9-2019