

TỶ LỆ PHÂN LẬP VI KHUẨN *Clostridium perfringens* TỪ LỢN CON VÀ BÊ NGHỈ MẮC VIÊM RUỘT HOẠI TỬ TẠI SÁU TỈNH, THÀNH PHỐ Ở VIỆT NAM

Nguyễn Thị Thu Hằng^{1*}, Trần Thị Thu Hằng¹,
Nguyễn Đức Tân², Nguyễn Thị Thắm², Phạm Tùng Lâm¹

TÓM TẮT

Viêm ruột hoại tử ở gia súc non là một trong những nguyên nhân chính gây thiệt hại cho đàn vật nuôi. *Clostridium perfringens* là một vi khuẩn phân bố rộng rãi trong đường tiêu hóa của người, gia súc cũng như môi trường và là nguyên nhân gây nhiều bệnh cho động vật trong đó có bệnh gây viêm ruột hoại tử ở lợn con và bê. Trong nghiên cứu này, 248 mẫu phân và ruột của lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử từ 6 tỉnh, thành phố ở Việt Nam là Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Đắk Lắk, Khánh Hòa và Cần Thơ đã được thu thập để phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm *Clostridium perfringens*. Tỷ lệ dương tính lần lượt là 95%, 95%, 22,5%, 45%, 41,7% và 60% tương ứng với các mẫu thu thập từ Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Đắk Lắk, Khánh Hòa và Cần Thơ. Nghiên cứu cũng cho thấy type A là type lưu hành chủ yếu trên lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử. Trong 147 chủng phân lập được, chỉ có 3 chủng thuộc type D (2,04%), 4 chủng thuộc type C (2,72%), 6 chủng thuộc type E (4,08%) và 134 chủng còn lại đều thuộc type A (91,16%). Đây cũng là nghiên cứu đầu tiên xác định sự có mặt của các chủng *Clostridium perfringens* type E gây bệnh viêm ruột hoại tử ở trên bê tại Việt Nam.

Từ khóa: *Clostridium perfringens*, tỷ lệ nhiễm, lợn con, bê, viêm ruột hoại tử, Việt Nam.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Clostridium perfringens (thuộc giống *Clostridium*) là một vi khuẩn phân bố rộng rãi trong môi trường (đất, nước, phân, thức ăn...) cũng như trong đường tiêu hóa của người và động vật. Vi khuẩn này là nguyên nhân gây ra nhiều bệnh như hoại thư sinh hơi, ngộ độc thực phẩm, bệnh nhiễm độc tố ruột huyết, viêm ruột hoại tử và hội chứng đột tử.

Các chủng vi khuẩn *Clostridium perfringens* sản sinh hơn 20 độc tố khác nhau [1], bao gồm 4 loại độc tố chính thường gặp là alpha (α , cpa), beta (β , cpb), epsilon (ϵ , etx) và iota (I, iA) và các loại độc tố khác như: gama, delta, eta, theta, kappa, Mu, lambda, Nu, beta2, enterotoxin... Căn cứ vào khả năng sản sinh bốn loại độc tố chính này,

Clostridium perfringens đã được phân chia thành 5 type khác nhau là A, B, C, D, E [2]. Mỗi type gây ra các thể bệnh khác nhau ở người và động vật.

Clostridium perfringens type A sinh độc tố alpha có mặt nhiều nhất ở đường ruột động vật máu nóng và ở môi trường, đặc biệt ở đất bẩn, nước thải. Vi khuẩn *Clostridium perfringens* type A gây bệnh nhiễm độc tố ruột huyết (enterotoxemia) ở dê, cừu, bò cũng như có mặt thường xuyên trong đường ruột của lợn và được coi là nguyên nhân gây bệnh tiêu hóa của lợn choai [3] và lợn con [4]. Vi khuẩn *Clostridium perfringens* type C gây bệnh nhiễm độc tố ruột huyết hoại tử hoặc xuất huyết ở gia súc non như lợn, bò, cừu, ngựa, gà, chó và viêm ruột hoại tử ở người. Trong đó, lợn con là loài dễ bị lây nhiễm nhất, bệnh xảy ra ở lợn con từ 1-2 ngày tuổi với các triệu chứng suy nhược cơ thể, tiêu chảy, lỵ, trong phân có lẫn máu và các mảnh vỡ hoại tử [5]. Bệnh cũng thường xảy ra ở bê, dê, cừu sơ sinh với các triệu chứng tương tự: xuất huyết, viêm ruột hoại

¹ Viện Thú y

² Phân viện Thú y miền Trung

*Email: hangchau71@gmail.com

tử, nhiễm độc tố ruột huyết; đặc biệt là ở bê béo tốt dưới 10 ngày tuổi với các triệu chứng như đau bụng, kêu rống, điên cuồng, mất phương hướng. *Clostridium perfringens* type D sinh độc tố alpha, epsilon; là nguyên nhân chính gây bệnh nhiễm độc tố ruột huyết ở cừu, dê, bò [6]. *C. Perfringens* type E cũng được coi là một nguyên nhân không thường xuyên của bệnh viêm ruột hoại tử và đột tử ở bê sơ sinh, tuy nhiên, một số báo cáo cũng mô tả bệnh nhiễm độc tố ruột type E ở bò trưởng thành [7].

Bệnh viêm ruột hoại tử trên lợn con và bê đã gây nhiều thiệt hại về kinh tế cho người chăn nuôi trên thế giới nói chung cũng như tại Việt Nam nói riêng. Tuy nhiên, các báo cáo, nghiên cứu về bệnh viêm ruột hoại tử ở hai đối tượng trên được công bố tại Việt Nam còn ít. Xuất phát từ thực tế trên, trong nghiên cứu này, đã tiến hành thu thập mẫu phân và ruột của lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử từ 6 tỉnh, thành phố: Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Khánh Hòa, Đắk Lắk và Cần Thơ để phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm *Clostridium perfringens* và xác định type.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Clostridium perfringens* từ lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử tại 6 tỉnh, thành phố: Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Khánh Hòa, Đắk Lắk, Cần Thơ.

Xác định một số đặc tính sinh vật hóa học và định danh các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được bằng kit API20A.

Định type của các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được bằng phản ứng PCR.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

2.2.1. Mẫu

Tổng số 248 mẫu, bao gồm 45 mẫu phân và 203 mẫu ruột được lấy từ các lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử tại 6 tỉnh, thành phố: Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Khánh Hòa, Đắk Lắk, Cần Thơ trong năm 2020.

Mẫu được lấy ở những lợn con dưới 7 ngày tuổi chết đột ngột hoặc có triệu chứng suy nhược

cơ thể, tiêu chảy, phân lẫn máu hoặc phân màu đỏ nâu; ở những bê non và bê sơ sinh bị đột tử hoặc có các trạng thái đau bụng, kêu rống, tiêu chảy, phân lẫn máu...

2.2.2. Môi trường hóa chất

Môi trường thioglycolate (Oxoid, Anh); thạch TSC (Oxoid, Anh); thạch máu (Oxoid, Anh); thạch CHROMagar™ *Clostridium perfringens* (CHROMagar, Pháp); thạch lòng đỏ trứng (Himedia, Ấn Độ); thạch Litmus (Himedia, Ấn Độ); máu cừu (Việt Nam); bộ kit API20A (bioMérieux, Pháp); túi yếm khí (Oxoid, Anh); bộ kit Genomic DNA Purification kit (Thermo Fisher, Mỹ); Ethanol absolute (Merck, Mỹ); 2X PCR Master Mix (Thermo Fisher, Mỹ); DNA gel loading dye (Thermo Fisher, Mỹ); TopVision agarose (Thermo Fisher, Mỹ); GeneRuler 100 bp DNA ladder (Thermo Fisher, Mỹ); Redsafe (Intron, Hàn Quốc), TBE buffer 10X (bio World, Mỹ), UltraPure™ DNase/RNase-Free Distilled Water (Thermo Fisher, Mỹ), các cặp mồi (Sigma-Aldrich, Singapore).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp phân lập và nuôi cấy vi khuẩn *Clostridium perfringens*

Tiến hành phân lập vi khuẩn theo TCVN 8400-28: 2014.

2.3.2. Phương pháp xác định một số đặc tính sinh hóa và định danh bằng kit API20A

Tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.3.3. Phương pháp PCR để định type các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được

- Phương pháp tách chiết ADN: sử dụng bộ kit Genomic DNA Purification kit (Thermo Fisher, Mỹ), thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Phương pháp PCR:

+ Các trình tự các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu (Bảng 1).

+ Thành phần phản ứng PCR.

Các phản ứng PCR được thiết lập dựa theo TCVN 8400-28: 2014.

Sử dụng phản ứng PCR đa mồi (multiplex PCR). Tổng lượng phản ứng là 50 µl/phản ứng,

bao gồm: 25 µl Master Mix, các mỗi xuôi cpa, mỗi ngược cpa, mỗi xuôi cpb, mỗi ngược cpb, mỗi xuôi lap, mỗi ngược lap, mỗi xuôi etx và mỗi ngược etx với nồng độ 10 pmol/µl, ADN mẫu và lượng nước vừa đủ.

+ Chu trình nhiệt.

Chu kỳ nhiệt của phản ứng PCR được thực hiện với 1 tiền chu kỳ và 40 chu kỳ phản ứng: (i)

đuôi mạch ở 94°C trong 60 giây; (ii) bắt cặp ở 55°C, 60 giây; (iii) sinh tổng hợp ở 72°C trong 60 giây.

+ Kỹ thuật điện di gel agarose và kiểm tra sản phẩm PCR: sử dụng agarose 1,5%, nhuộm với 2,5 µl Redsafe (Intron, Hàn Quốc), dung dịch đệm TBE 1X. Chạy điện di bằng dòng điện một chiều với điện thế 100V, cường độ dòng điện 100 mA trong khoảng 30-40 phút. Quan sát kết quả trên máy Imagequant las 500 (GE Healthcare Life Sciences, Mỹ).

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi

TT	Gen	Trình tự (5'-3')	Size (bp)	Type <i>Clostridium perfringens</i>	Tài liệu tham khảo
1	cpa	GCTAATGTTACTGCCGTTGA CCTCTGATACATCGTGTAAG	324	A, C, D, E	TCVN 8400-28: 2014
2	cpb	GCGAATATGCTGAATCATCTA GCAGGAACATTAGTATATCTTC	196	C	
3	lap	ACTACTCTCAGACAAGACAG CTTTCCTTCTATTACTATACG	446	E	
4	etx	GCGGTGATATCCATCTATTC CCACTTACTTGTCTACTAAC	655	D	

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được ghi chép và tính toán bằng phần mềm Excel 2010.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

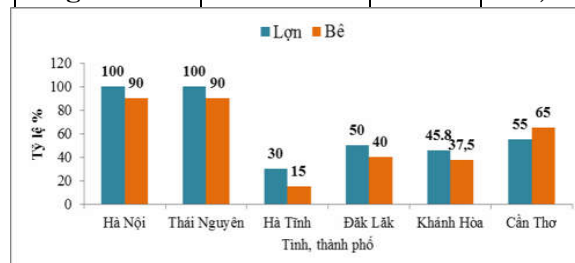
3.1. Kết quả phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Clostridium perfringens* trên lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử tại 6 tỉnh, thành phố

248 mẫu đã được thu thập từ 6 tỉnh, thành phố: Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Khánh Hoà, Đắk Lắk, Cần Thơ, bao gồm các mẫu phân và ruột của lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử để tiến hành phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Clostridium perfringens*. Kết quả được trình bày tại bảng 2, hình 1 và hình 2.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, có 147/248 mẫu thu thập phân lập được vi khuẩn *Clostridium perfringens*, chiếm tỷ lệ 59,3%. Tỷ lệ này dao động từ 22,5 – 95%, khác nhau giữa các tỉnh, thành phố. Trong đó, tỷ lệ cao nhất là từ các mẫu tại Hà Nội và Thái Nguyên (95%), thấp nhất là từ các mẫu thu thập tại Hà Tĩnh (22,5%).

Bảng 2. Kết quả phân lập vi khuẩn *Clostridium perfringens* từ mẫu lợn con và bê nghi mắc viêm ruột hoại tử (theo tỉnh, thành phố)

Tỉnh, thành phố	Số mẫu phân lập (n)	Kết quả phân lập	
		(+)	%
Hà Nội	40	38	95
Thái Nguyên	40	38	95
Hà Tĩnh	40	9	22,5
Đắk Lắk	40	18	45
Khánh Hòa	48	20	41,7
Cần Thơ	40	24	60
Tổng số	248	147	59,3



Hình 1. Tỷ lệ phân lập *Clostridium perfringens* từ các mẫu lợn con và bê nghi mắc viêm ruột hoại tử

Qua hình 1 có thể thấy tỷ lệ phân lập vi khuẩn *Clostridium perfringens* từ các mẫu lợn con nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử cao hơn so với các mẫu thu thập từ bê. Tỷ lệ này ở lợn trong khoảng 30 đến 100%. Trong khi đó ở bê, tỷ lệ dao động từ 15% đến 90%.

Tỷ lệ phân lập trong nghiên cứu này cũng tương đương với các kết quả đã được công bố trong và ngoài nước.

Từ tháng 8 năm 2010 đến tháng 5 năm 2011, 354 mẫu phân lợn đã được Chan và cs (2012) thu thập từ 48 trại lợn tại Ontario, Canada. 225 mẫu trong số đó đã được báo cáo là dương tính với *Clostridium perfringens*, chiếm tỷ lệ 64% [4].

Năm 2021, Li và cs (2021) đã xác định được có 262 mẫu trên tổng số 364 mẫu phân lợn thu thập từ Bắc Kinh và Sơn Tây, Trung Quốc phân lập được *Clostridium perfringens*, chiếm tỷ lệ 72% [8]. Năm 2008, tại Brazil, Ferrarezi và cs (2008) đã phân lập được 36,2% và 30,2% mẫu dương tính với *Clostridium perfringens* từ 141 mẫu phân bê tiêu chảy và 129 mẫu phân bê khỏe mạnh [9].

Tại Việt Nam, Lê Văn Tạo và cs (2007) cũng đã tiến hành điều tra, nghiên cứu và xác định được rằng bệnh viêm ruột hoại tử xảy ra quanh năm trên đàn trâu bò và tất cả các lứa tuổi đều có khả năng

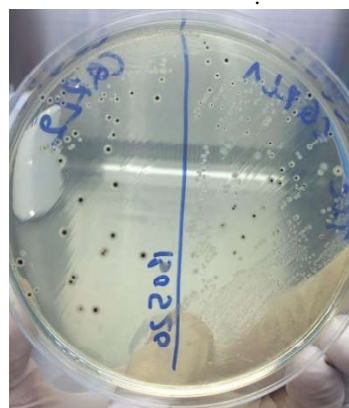
mắc bệnh, tuy nhiên bệnh tập trung chủ yếu ở trâu bò độ tuổi dưới 2 năm, chiếm tỷ lệ 43,08% [10]. Nguyễn Văn Nguyên và Nguyễn Văn Sửu (2011) cũng đã xác định được tỷ lệ lợn con mắc bệnh viêm ruột hoại tử tại một số địa điểm tỉnh Thái Nguyên. Tỷ lệ trung bình trong năm là 22,36%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm bệnh cao nhất vào mùa xuân (25,43%), tiếp đến là mùa đông (23,41%), mùa hè (21,69%) và thấp nhất là mùa thu (18,84%) [11].

Trong giai đoạn từ 2007 đến 2010, cũng tại Hà Nội và các tỉnh lân cận bao gồm Bắc Ninh và Vĩnh Phúc, Huỳnh Thị Mỹ Lệ và cs (2010) đã xác định được tỷ lệ nhiễm *Clostridium perfringens* từ mẫu phân lợn bị tiêu chảy là 58,24% (304 mẫu dương tính trên tổng số 522 mẫu) và từ mẫu phân lợn khỏe mạnh chỉ là 25,61% (21 mẫu dương tính trên tổng số 82 mẫu). Tỷ lệ này trên các mẫu phân bê khỏe mạnh và phân bê bị tiêu chảy tương ứng là 35,71% (15 mẫu dương tính trên tổng số 42 mẫu) và 58,59% (75 mẫu dương tính trên tổng số 128 mẫu) [12].

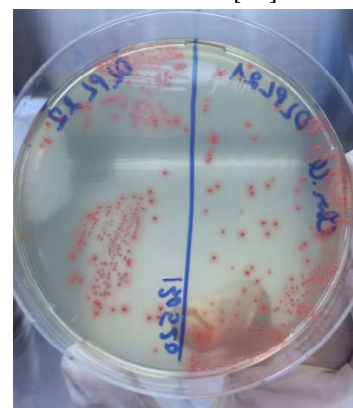
Năm 2014, Nguyễn Việt Dũng đã nghiên cứu và xác định tỷ lệ lợn các lứa tuổi mắc viêm ruột hoại tử do *Clostridium perfringens* ở huyện Việt Yên, tỉnh Bắc Giang trung bình là 10,52%, trong đó tỷ lệ tử vong trung bình lên tới 40,12%, gần như cứ 02 lợn mắc bệnh là có 01 con chết [13].



(a) Khuẩn lạc dung huyết kép trên thạch máu



(b) Khuẩn lạc màu đen trên thạch TSC



(c) Khuẩn lạc màu đỏ trên thạch CHROMagar™
Clostridium perfringens

Hình 2. Hình thái khuẩn lạc *Clostridium perfringens* trên một số môi trường nuôi cấy

3.2. Kết quả xác định đặc tính sinh hóa của các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được Đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập đã được xác định và trình bày trên bảng 3.

Bảng 3. Kết quả kiểm tra đặc tính sinh hóa của các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được từ lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử

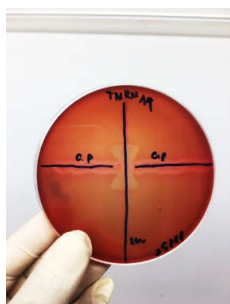
Đặc tính sinh hóa		Số chủng kiểm tra	Kết quả sinh hóa	
			(+)	%
Lethicinase		147	147	100
Lipase		147	0	0
Phân giải casein		147	147	100
CAMP ngược		147	147	100
Kit API20A	Indole (IND)	147	0	0
	Urease (URE)	147	0	0
	Glucose (GLU)	147	147	100
	Manitol (MAN)	147	0	0
	Lactose (LAC)	147	147	100
	Saccharose (SAC)	147	147	100
	Maltose (MAL)	147	147	100
	Salicin (SAL)	147	0	0
	Xylose (XYL)	147	0	0
	Arabinose (ARA)	147	0	0
	Gelatin (GEL)	147	147	100
	Eesculin (ESC)	147	0	0
	Glycerol (GLY)	147	121	82,3
	Cellobiose (CEL)	147	0	100
	Mannose (MNE)	147	147	100
	Melezitose (MLZ)	147	0	100
	Raffinose (RAF)	147	0	100
	Sorbitol (SOR)	147	0	0
	Rhamnose (RHA)	147	0	0
	Trehalose (TRE)	147	139	94,6
	Catalase (CAT)	147	0	0



(a) Khuẩn lạc có quang mờ đục, không có lớp ngọc trai trên môi trường lòng đỏ trứng - phản ứng kiểm tra đặc tính sinh leithicinase và lipase



(b) Môi trường Litmus đông vón - phản ứng kiểm tra sự phân giải casein



(c) Xuất hiện hình mũi tên trên thạch máu - phản ứng CAMP ngược



(d) Định danh bằng KIT API20A

Hình 3. Kết quả kiểm tra các đặc tính sinh hóa của chủng *Clostridium perfringens*

Ghi chú: (a). Khuẩn lạc có quang mờ đục, không có lớp ngọc trai trên môi trường lòng đỏ trứng khi thử phản ứng kiểm tra đặc tính sinh lethicinase và lipase; (b). Môi trường Litmus đồng vốn khi thử phản ứng kiểm tra sự phân giải casein; (c). Xuất hiện hình mũi tên trên thạch máu khi thử phản ứng CAMP ngược; (d). Kết quả định danh bằng KIT API20A (BioMerieux, Pháp)

Số liệu ở bảng 3 cho thấy, các chủng được kiểm tra đều có các đặc tính sinh hóa như mô tả trong TCVN 8400-28: 2014 và khi định danh bằng kit API20A (BioMerieux, Pháp) cũng cho kết quả đúng là các chủng *Clostridium perfringens*.

3.3. Kết quả định type các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được

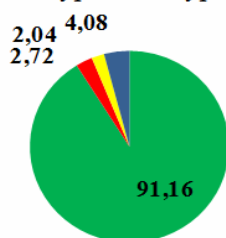
Sau khi kiểm tra các đặc tính sinh hóa, đã tiến hành phản ứng multiplex PCR xác định type của các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được. Kết quả được trình bày tại bảng 4, hình 4 và hình 5.

Bảng 4. Kết quả định type các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được từ lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử

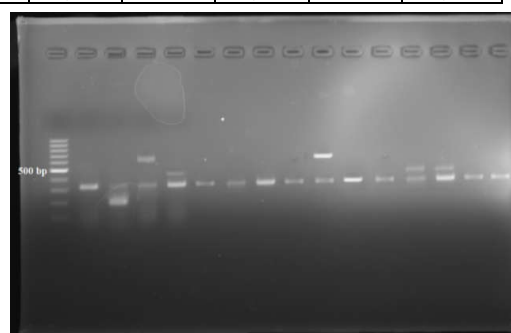
Nguồn gốc chủng	Số chủng kiểm tra	Type A		Type C		Type D		Type E	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Lợn con	78	74	94,87	4	5,13	0	0	0	0
Bê	69	60	86,96	0	0	3	4,35	6	8,69
Tổng số	147	134	91,16	4	2,72	3	2,04	6	4,08

Bảng 4 thấy, trong số 147 chủng *Clostridium perfringens* phân lập được, chỉ có 4 chủng thuộc type C, chiếm tỷ lệ 2,72%; 3 chủng thuộc type D, chiếm tỷ lệ 2,04%; 6 chủng thuộc type E, chiếm tỷ lệ 4,08% còn lại 134 chủng đều thuộc type A, chiếm tỷ lệ 91,16%.

■ Type A ■ Type C ■ Type D ■ Type E



Hình 4. Tỷ lệ các type *Clostridium perfringens* phân lập được từ lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử



Hình 5. Kết quả điện di đồ sản phẩm PCR

Ghi chú: Giếng 1: Marker 100 bp; giếng 2 đến giếng 5: Đối chứng dương các type A, C, D và E tương ứng; giếng 6 đến giếng 16: Các chủng phân lập.

Kết quả type A chiếm tỷ lệ cao và được phân lập từ các mẫu thu thập ở cả sáu tỉnh cũng chỉ ra

đây là type gây viêm ruột hoại tử lưu hành chính tại Việt Nam.

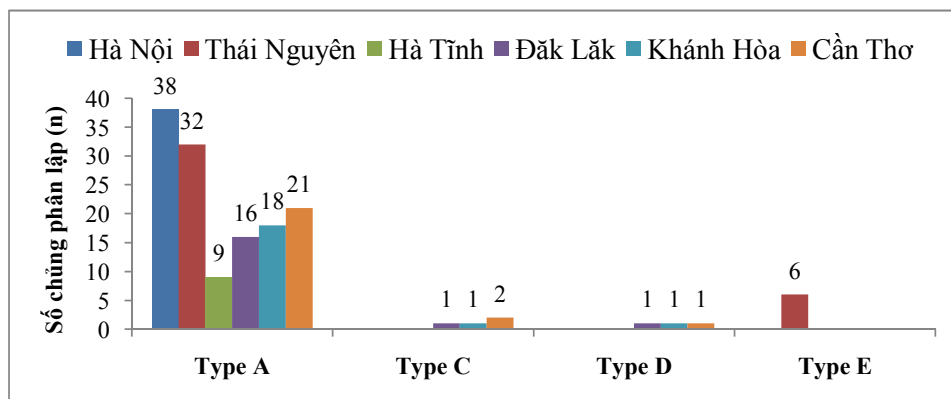
Huỳnh Thị Mỹ Lệ và cs (2010) đã phân lập được vi khuẩn *Clostridium perfringens* type C và D, bên cạnh type A vẫn thường thấy ở phân và phủ tạng của bò bị tiêu chảy; trong khi đó 100% các chủng phân lập từ lợn bị tiêu chảy và khỏe mạnh, từ phân bò khỏe mạnh, từ môi trường chuồng nuôi và sữa của bò bị tiêu chảy thuộc type A [14]. Cũng theo báo cáo của Huỳnh Thị Mỹ Lệ và cs (2012), 325 chủng *Clostridium perfringens* phân lập từ mẫu phân của lợn khỏe và lợn bị tiêu chảy chỉ phát hiện được type A (chiếm tỷ lệ 100%), bên cạnh đó các chủng phân lập từ mẫu phân của bê khỏe và bê bị tiêu chảy, nhóm nghiên cứu đã xác định được 58 chủng thuộc type A (chiếm tỷ lệ 57,34%), 31 chủng thuộc type D (chiếm tỷ lệ 41,33%) và 01 chủng thuộc type C (chiếm tỷ lệ 1,33%) [12].

Trên thế giới, type A cũng là type lưu hành phổ biến. 100% các chủng *Clostridium perfringens* do Li và cs (2021) phân lập từ mẫu phân lợn tại tỉnh Sơn Tây và Bắc Kinh (Trung Quốc) đều là các chủng thuộc type A [8]. Trong số 662 chủng *Clostridium perfringens* phân lập được từ bò tại

139 trang trại tại Đức, Fohler và cs (2016) đã xác định được type chủ yếu là type A và chỉ có 02/662 chủng được xác định thuộc type D, chiếm tỷ lệ 0,3% [15]. Từ 23 chủng *Clostridium perfringens* phân lập được từ các bê chết đột ngột tại Brazil, Miyashiro và cs (2009) đã báo cáo rằng có 2 chủng thuộc type E, chiếm tỷ lệ 8,7%; 2 chủng thuộc type D, chiếm tỷ lệ 8,7%; còn lại 82,6% là các chủng thuộc type A [16].

Trước đây tại Việt Nam đã có một số nghiên cứu về bệnh viêm ruột hoại tử trên lợn và bê..., tuy nhiên, các type gây bệnh được báo cáo chủ yếu là các type A, type C và type D. Đây cũng là lần đầu tiên nghiên cứu báo cáo xác định sự có mặt của các chủng *Clostridium perfringens* type E gây bệnh viêm ruột hoại tử ở trên bê tại Việt Nam.

Cả 6 chủng type E trong nghiên cứu này đều được xác định từ các mẫu lấy từ Thái Nguyên, qua đó có thể kết luận được rằng có sự lưu hành của các chủng *Clostridium perfringens* type E gây bệnh viêm ruột hoại tử tại tỉnh này. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong việc nghiên cứu dịch tễ học về bệnh trong các năm tiếp theo.



Hình 6. Số lượng các type *Clostridium perfringens* theo địa phương

4. KẾT LUẬN

Từ 248 mẫu lấy từ các lợn con và bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử tại 6 tỉnh, thành: Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Khánh Hòa, Đắk Lắk và Cần Thơ, đã phân lập được 147 chủng với tỷ lệ nhiễm *Clostridium perfringens* tương ứng là 59,3%. Trong đó, tỷ lệ phân lập từ các mẫu Hà Nội và Thái Nguyên là 95%, từ các mẫu Hà Tĩnh là 22,5%, từ các

mẫu Đắk Lắk là 45%, từ các mẫu Khánh Hòa là 41,7% và tỷ lệ này từ các mẫu Cần Thơ là 60%. Các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được đều có đầy đủ các đặc tính sinh hóa đặc trưng như các tài liệu trong và ngoài nước mô tả.

Trong 147 chủng *Clostridium perfringens* phân lập được, có 134 chủng được xác định thuộc type A (chiếm tỷ lệ 91,16%), 4 chủng được xác định thuộc type C (chiếm tỷ lệ 2,72%), 3 chủng được xác

định thuộc type D (chiếm tỷ lệ 2,04%) và 6 chủng được xác định thuộc type E (chiếm tỷ lệ 4,08%). Xác định được sự có mặt của type E là phát hiện đầu tiên của nhóm nghiên cứu trên đối tượng bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử từ 20 mẫu thu thập tại tỉnh Thái nguyên.

LỜI CẢM ƠN

Nội dung trong bài báo này là một phần nghiên cứu thuộc đề tài cấp Bộ “Nghiên cứu xác định bệnh viêm ruột hoại tử và đột tử ở gia súc non (lợn, bê) do độc tố của vi khuẩn *Clostridium perfringens* typ A, C, D – chế vắc xin giải độc tố đa giá (toxoid) phòng bệnh” (2020-2023). Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn Bộ Nông nghiệp và PTNT đã hỗ trợ kinh phí cho nghiên cứu này. Xin cảm ơn Chi cục Chăn nuôi và Thú y/ Chi cục Chăn nuôi, Thú y và Thủy sản của 6 tỉnh, thành phố: Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Đắk Lắk, Khánh Hòa và Cần Thơ đã giúp đỡ, tạo điều kiện lấy mẫu xét nghiệm trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Revitt-Mills, S. A., J. I. Rood, and V. Adams (2015). *Clostridium perfringens* extracellular toxins and enzymes: 20 and counting. Microbiology Australia. 36(3): p. 114-117.
2. Carter, G. R., Chengappa, M., Roberts, A. W., Claus, G. W., Rikihisa, Y. (1995). Essentials of veterinary microbiology. Williams & Wilkins publisher; 5th edition.
3. Songer, J. G. and F. A. Uzal (2005). Clostridial enteric infections in pigs. *Journal of veterinary diagnostic investigation*. 17(6): p. 528-536.
4. Chan, G., et al. (2012). The epidemiology of *Clostridium perfringens* type A on Ontario swine farms, with special reference to cpb2-positive isolates. BMC veterinary research. 8(1): p. 156.
5. Niilo, L. (1988). *Clostridium perfringens* type C enterotoxemia. *The Canadian Veterinary Journal*. 29(8): p. 658.
6. Uzal, F.A. and W. Kelly (1997). Effects of the intravenous administration of *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin on young goats and lambs. *Journal of comparative pathology*. 116(1): p. 63-71.
7. Goossens, E., et al. (2017). Rethinking the role of alpha toxin in *Clostridium perfringens* associated enteric diseases: a review on bovine necro-haemorrhagic enteritis. *Veterinary research*. 48(1): p. 1-17.
8. Li, J., et al. (2021). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* in chickens and pigs from Beijing and Shanxi, China. *Veterinary Microbiology*. 252: p. 108932.
9. Ferrarezi, M. C., T. C. Cardoso and I. S. Dutra (2008). Genotyping of *Clostridium perfringens* isolated from calves with neonatal diarrhea. *Anaerobe*. 14(6): p. 328-331.
10. Lê Văn Tạo, Phạm Thị Thanh, Nguyễn Văn Vui, Phạm Ngọc Long, Hoàng Thị Minh (2007). Nghiên cứu đặc điểm dịch tễ học bệnh nhiễm độc tố ruột gây đột tử trâu bò các tỉnh phía Bắc. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*. 14(1): p. 65-73.
11. Nguyễn Văn Nguyên, Nguyễn Văn Sửu (2011). Kết quả xác định tỷ lệ lợn con mắc bệnh viêm ruột hoại tử tại một số địa điểm tỉnh Thái Nguyên. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*. 18(1): p. 41-44.
12. Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Đỗ Ngọc Thúy, Nguyễn Bá Hiên (2012). Genotyping of clostridium perfringens isolated from cattle and pigs with diarrhea in Hanoi and surrounding areas, Vietnam. *J. Sci. & Devel.* 10(4): p. 627-632.
13. Nguyễn Việt Dũng (2014). Nghiên cứu đặc điểm bệnh lý của lợn con theo mẹ mắc bệnh viêm ruột hoại tử do *Clostridium perfringens* và đề xuất biện pháp điều trị. Luận văn Thạc sỹ, chuyên ngành Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.
14. Huỳnh Thị Mỹ Lệ (2010). Nghiên cứu tình hình nhiễm, vai trò của vi khuẩn *Clostridium perfringens* trong hội chứng tiêu chảy ở bò, lợn nuôi tại Hà Nội và một số vùng phụ cận. Luận án Tiến sỹ Nông nghiệp, chuyên ngành Dịch tễ học Thú y, Đại học Nông nghiệp Hà Nội.
15. Fohler, S., et al. (2016). Diversity of *Clostridium perfringens* toxin-genotypes from dairy farms. BMC microbiology. 16(1): p. 1-7.

16. Miyashiro, S., L. Baldassi, and A. Nassar. (2009). Genotyping of *Clostridium perfringens* associated with sudden death in cattle. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 15: p. 491-497.

PREVALENCE OF CLOSTRIDIUM PERFRINGENS ISOLATED FROM PIGLETS AND CALVES SUSPECTED OF HAVING NECROTIC ENTERITIS IN SIX PROVINCES AND CITIES IN VIETNAM

**Nguyen Thi Thu Hang¹, Tran Thi Thu Hang¹,
Nguyen Duc Tan², Nguyen Thi Tham², Pham Tung Lam¹**

¹National Institute of Veterinary Research

²Institute of Veterinary Research and Development of Central Viet Nam

Email: hangchau71@gmail.com

Summary

Necrotizing enterocolitis in young animals is one of the major causes of livestock losses. *Clostridium perfringens* is a bacterium that is widely distributed in the environment and gastrointestinal tract of humans and animals. It is responsible for many animal diseases such as necrotizing enterocolitis in piglets and calves. In this study, 248 samples of piglets and calves suspected of having necrotizing enterocolitis were collected for isolating of *Clostridium perfringens*. Rates of culture positivity were 95%, 95%, 22.5%, 45%, 41.7% and 60% for samples in Ha Noi, Thai Nguyen, Ha Tinh, Dak Lak, Khanh Hoa and Can Tho, respectively. This study has also shown that type A is the predominant circulating type. Among 147 strains isolated, there are 3 strains of type D (2.04%), 4 strains of type C (2.72%), 6 strains of type E (4.08%) and 134 strains of type A (91.16%).

Keywords: *Clostridium perfringens*, prevalence, piglets, calves, necrotic enteritis, Vietnam.

Người phản biện: PGS.TS. Tô Long Thành

Ngày nhận bài: 9/12/2022

Ngày thông qua phản biện: 16/01/2023

Ngày duyệt đăng: 20/01/202