

STUDY ON CHARACTERISTICS OF ISOLATES OF *STREPTOCOCCUS SUI* STRAINS CAUSING PNEUMONIA IN PIGS IN TAN YEN DISTRICT, BAC GIANG PROVINCE

Nguyen Quang Tinh^{1*}, Le Van Hung², Do Bich Due³

¹TNU - University of Agriculture and Forestry, ²Nutrition Joint Stock company, ³TNU - Life Sciences Institute

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 05/6/2021	This study aims to determine some epidemiological and biochemical characteristics of <i>S. suis</i> strains in pigs with pneumonia in Tan Yen district, Bac Giang province. The prevalence of pneumonia in pigs in Tan Yen district, Bac Giang province was determined to be 30.8% and the mortality rate was 17.8%. Pneumonia morbidity and mortality rates vary by age group; Pigs younger than 3 months old had the highest morbidity and mortality rates, followed by 3-6 month old pigs and the lowest in pigs over 6 months old. In 130 patient samples, all bacteria, <i>S. suis</i> , were isolated; overall is 63.85%, in which, the highest in piglets after weaning at 1.5 - 3 months old accounts for 72.50% and the lowest in newborn piglets - 1.5 months old, accounting for 46.87%. The bacteria <i>S. suis</i> isolated in this study has the same biological characteristics as described in domestic and foreign literature on this bacterium. Among 83 isolates of <i>S. suis</i> bacteria identified serotype: none of them belonged to serotype 1; the number of strains belonging to serotype 2 accounted for the highest rate of 54.22% and the lowest rate of serotype 21 was 2.40%. Bacterial strains are highly susceptible to antibiotics such as ceftiofur, florfenicol, amoxicillin, ofloxacin and are resistant to some antibiotics such as neomycin, colistin, tetracycline.
Revised: 31/7/2021	
Published: 31/7/2021	
KEYWORDS	
Biological characteristics	
Pig	
Tan Yen	
Bac Giang	
<i>Streptococcus suis</i>	

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA CÁC CHỦNG VI KHUẨN *STREPTOCOCCUS SUI* PHÂN LẬP ĐƯỢC GÂY VIÊM PHỔI Ở LỢN TẠI HUYỆN TÂN YÊN, TỈNH BẮC GIANG

Nguyễn Quang Tinh^{1*}, Lê Văn Hưng², Đỗ Bích Duệ³

¹Trường Đại học Nông Lâm - ĐHTN Thái Nguyên,

²Công ty Cổ phần dinh dưỡng Hải Thịnh, ³Viện Khoa học sự sống - ĐHTN Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 05/6/2021	Nghiên cứu này nhằm xác định một số đặc điểm dịch tễ, đặc tính sinh vật hoá học của các chủng vi khuẩn <i>S. suis</i> ở lợn mắc bệnh viêm phổi tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang. Đã xác định được tỷ lệ mắc viêm phổi ở đàn lợn tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang là 30,8% và tỷ lệ chết 17,8%. Tỷ lệ mắc bệnh và chết do viêm phổi khác nhau ở các lứa tuổi; lợn nhỏ hơn 3 tháng tuổi có tỷ lệ mắc, chết cao nhất, tiếp đến là lợn 3 - 6 tháng tuổi và thấp nhất ở lợn trên 6 tháng. Trong 130 mẫu bệnh phẩm đều phân lập được vi khuẩn <i>S. suis</i> ; tính chung là 63,85%, trong đó, cao nhất ở lợn sau cai sữa 1,5 - 3 tháng tuổi chiếm 72,50% và thấp nhất ở lợn con sơ sinh - 1,5 tháng tuổi, chiếm 46,87%. Vi khuẩn <i>S. suis</i> phân lập được trong nghiên cứu này có các đặc tính sinh học giống như mô tả của các tài liệu trong và ngoài nước về loài vi khuẩn này. Trong số 83 chủng vi khuẩn <i>S. suis</i> phân lập được xác định serotype: không có chủng nào thuộc serotype 1; số chủng thuộc serotype 2 chiếm tỷ lệ cao nhất là 54,22% và thuộc serotype 21 thấp nhất là 2,40%. Các chủng vi khuẩn đều mẫn cảm cao với các loại kháng sinh như ceftiofur, florfenicol, amoxicillin, ofloxacin và đều kháng với một số loại kháng sinh như neomycin, colistin, tetracycline.
Ngày hoàn thiện: 31/7/2021	
Ngày đăng: 31/7/2021	
TỪ KHÓA	
Đặc điểm sinh học	
Lợn	
Tân Yên	
Bắc Giang	
Vi khuẩn <i>Streptococcus suis</i>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.4559>

* Corresponding author. Email: nguyenquangtinh@tuaf.edu.vn

1. Giới thiệu

Tân Yên là huyện có nghề chăn nuôi lợn rất phát triển, đem lại nguồn thu nhập cao cho nhiều hộ gia đình và góp phần phát triển chăn nuôi lợn bền vững, tạo ra sản phẩm an toàn có sức cạnh tranh cao trên thị trường. Tuy nhiên, trong vài năm gần đây, hội chứng viêm phổi đã xuất hiện rất phổ biến trên đàn lợn của huyện và gây thiệt hại lớn về kinh tế do sinh trưởng chậm, hiệu quả sử dụng thức ăn thấp, bệnh thường kéo dài, chi phí thuốc thú y cao; đặc biệt nghiêm trọng khi bệnh xảy ra đồng thời với hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp làm tổn thất nặng nề về kinh tế, gây hoang mang cho người chăn nuôi. Hội chứng viêm phổi ở lợn do nhiều nguyên nhân gây ra, trong đó phải kể đến bệnh viêm phổi ở lợn thường do các loại vi khuẩn như *Actinobacillus pleuropneumoniae* và *Streptococcus suis* gây ra. Nghiên cứu của Nguyễn Hữu Nam và Nguyễn Thị Lan (2007) [1], Cù Hữu Phú (2011) [2] cho thấy, vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis* serotype 2, *Bordetella bronchiseptica* đã làm cho lợn bị bệnh trầm trọng và xuất hiện các bệnh lý nặng, kéo dài với tỷ lệ mắc bệnh cũng như chết cao. Nguyễn Quang Tính và cộng sự (2020) [3] cho biết, tỷ lệ mắc viêm phổi trên đàn lợn tại huyện Hiệp Hòa, tỉnh Bắc Giang chiếm từ 18,41 - 28,91% và tỷ lệ chết là 18,41%, tỷ lệ phân lập vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* cao nhất ở lợn sau cai sữa là 30% và thấp nhất ở lợn sơ sinh đến 1,5 tháng tuổi là 8%. Các chủng vi khuẩn *S. suis* thuộc serotype 2 từ lâu đã được xác định là serotype thường gặp nhất gây bệnh cho lợn và người ở hầu hết các nước trên thế giới [4]. Ở Anh, bệnh do *S. suis* serotype 2 chủ yếu gây ra bại huyết và viêm não ở lợn đã cai sữa [5]. Ngoài serotype 2, vi khuẩn *S. suis* thuộc các serotype khác cũng đã phân lập được từ lợn bị viêm phổi - màng phổi ở Đan Mạch [6] và ở Mỹ [7]. Do đó, để làm rõ thêm đặc tính của vi khuẩn *Streptococcus suis* là một trong những yếu tố quan trọng gây bệnh viêm phổi tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này để từ đó làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Mẫu bệnh phẩm được lấy bao gồm: máu tim, gan, lách, phổi của các con lợn bị ốm hoặc chết có triệu chứng, bệnh tích nghi mắc bệnh viêm phổi; các loại môi trường dùng để nuôi cấy, phân lập vi khuẩn do hãng Oxoid (Anh) và Merck (Pháp) sản xuất; môi trường nước thịt, thạch thường, nước thịt gan yếm khí, thạch Sabouraud, SCD (Soybean Casein Digest); môi trường phân lập vi khuẩn và tăng sinh; môi trường xác định các đặc tính sinh hóa; các vật liệu hóa chất khác; chuột nhắt trắng.

2.2. Địa điểm nghiên cứu

Lợn bị viêm phổi tại 3 xã Ngọc Châu, Ngọc Vân, Liên Chung; Bộ môn Hóa sinh Viện Khoa học sự sống, Đại học Thái Nguyên.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Được sử dụng phương pháp nghiên cứu dịch tễ học mô tả (Descriptive study) dịch tễ học phân tích (Analytic study) và dịch tễ học thực nghiệm của Nguyễn Như Thanh (2001) [8], Nguyễn Văn Thiện (1997) [9]. Các phương pháp đo lường dịch tễ:

$$\text{Tỷ lệ lợn mắc viêm phổi (\%)} = \frac{\text{Số lợn viêm phổi}}{\text{Tổng số lợn điều tra}} \times 100$$

$$\text{Tỷ lệ mắc viêm phổi theo độ tuổi (\%)} = \frac{\text{Số lợn mắc viêm phổi theo độ tuổi}}{\text{Tổng số lợn theo độ tuổi được điều tra}} \times 100$$

$$\text{Tỷ lệ tử vong viêm phổi (\%)} = \frac{\text{Số lợn chết do viêm phổi}}{\text{Tổng số lợn mắc viêm phổi}} \times 100$$

Phương pháp kiểm tra các đặc tính sinh hoá và khả năng lên men đường của các chủng vi khuẩn phân lập được:

Thử phản ứng oxydase: Tiến hành trên giấy được thấm 1% dung dịch tetrametyl-p-phenylenediamine hydrochloride; dùng que cấy bạch kim lấy khuẩn lạc từ môi trường thạch bôi lên trên mặt giấy đã thấm thuốc thử; nếu thấy xuất hiện màu tím đen sau 30 giây là phản ứng dương tính; nếu không thấy xuất hiện màu tím đen hoặc không đổi màu là phản ứng âm tính.

Thử phản ứng catalase: Dùng phiến kính sạch, nhỏ một giọt dung dịch oxy già 3% lên trên, que cấy bạch kim lấy khuẩn lạc từ môi trường thạch trộn đều với giọt oxy già 3%, nếu có hiện tượng sủi bọt là phản ứng dương tính.

Thử phản ứng sinh Indol: Cây chủng vi khuẩn cần kiểm tra vào môi trường nước thịt. Để ủ ấm ở 37°C/24 giờ. Nhỏ 0,5 ml dung dịch Kovac's vào, phản ứng dương tính khi quan sát thấy một vòng màu đỏ trên mặt môi trường.

Thử phản ứng lên men đường: Cây chủng vi khuẩn cần kiểm tra vào môi trường nước thịt, nuôi ở tủ ấm 37°C/24 giờ, sau đó nhỏ 0,2 ml canh khuẩn vào dung dịch đường đã chuẩn bị trước; sau 24 giờ giữ ở tủ ấm 37°C, nếu quan sát thấy màu của môi trường thay đổi thành màu đỏ là dương tính, nếu vi khuẩn có sinh hơi sẽ thấy hơi trong ống Durham và đầy mực nước trong ống Durham xuống.

Xác định một số đặc tính sinh học bằng hệ thống nhận biết API 20 Strep: Tất cả mẫu vi khuẩn *S. suis*, sau khi đã đạt yêu cầu của các phản ứng nhận biết cấp I, tiếp tục được tiến hành kiểm tra qua các phản ứng nhận biết cấp II là một hệ thống định danh vi khuẩn gồm các phản ứng sinh hoá đã được chế sẵn, có tên API 20 Strep. Hệ thống này được dùng để nhận biết và phân biệt các vi khuẩn trong nhóm *Streptococcus*.

Xác định serotype của vi khuẩn *S. suis* bằng phương pháp PCR: Được thực hiện dựa vào hướng dẫn Quy trình chẩn đoán bệnh do vi khuẩn *Streptococcus suis* gây ra trên lợn [10]. Các chủng vi khuẩn *S. suis* được xác định 1 trong số 4 serotype gây bệnh thường gặp nhất ở lợn (serotype 1, 2, 7, 9) bằng một phản ứng MP-PCR (Microsatellite-Primed PCR). Phản ứng MP-PCR cho phép nhận ra sự khác nhau của 4 loại gen cps mã hoá sản sinh thành phần polysaccharide của giáp mô, tương đương với các serotype 1, 2, 7 và 9. Các cặp mồi dùng để xác định các serotype 1, 2, 7 và 9 của *S. suis* được lựa chọn dựa vào chuỗi gen mã hoá quá trình sinh tổng hợp thành phần polysaccharide của giáp mô (cps), gồm 4 cặp mồi: cps 1J-F và cps 1J-R để xác định serotyp 1, cps 2J-F và cps 2J-R để xác định serotyp 2, cps 7H-F và cps 7H-R để xác định serotyp 7, cps 9H-F và cps 9H-R để xác định serotyp 9. Trình tự các cặp mồi và các sản phẩm tương ứng của chúng được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi dùng để xác định các serotype 1, 2, 7 và 9 của vi khuẩn *S. suis*

Serotype	Ký hiệu mồi	Trình tự mồi	Sản phẩm (bp)
1	cps1J-F	5'-TGG CTC TGT AGA TGA TTC TGC T -3'	637
	cps1J-R	5'-TGA TAC GTC AAA ATC CTC ACC A-3'	
2	cps2J-F	5'-TTT GTC GGG AGG GTT ACT TG-3'	498
	cps2J-R	5'-TTT GGA AGC GAT TCA TCT CC -3'	
7	cps7H-F	5'-AAT GCC CTC GTG GAA TAC AG-3'	379
	cps7H-R	5'-TCC TGA CAC CAG GAC ACG TA-3'	
9	cps9H-F	5'-GGG ATG ATT GCT CGA CAG AT-3'	303
	cps9H-R	5'-CCG AAG TAT CTG GGC TAC TGA-3'	

Phương pháp xác định độc lực của các chủng vi khuẩn phân lập được thực hiện theo phương pháp của Cù Hữu Phú và cs (2004) [11]. Mỗi chuột nhất trắng đủ điều kiện thí nghiệm được tiêm 0,5 ml canh trùng nuôi cấy ở 37°C/24 giờ (~2 x 10⁶ vi khuẩn/chuột) vào phúc xoang. Số chuột được theo dõi thời gian chết trong vòng 7 ngày. Chuột chết được tiến hành mổ khám, kiểm tra bệnh tích và phân lập lại vi khuẩn từ máu tim.

*Phương pháp xác định khả năng miễn cảm với kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập được bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch và đánh giá kết quả theo Hội đồng quốc gia Hoa Kỳ về các tiêu chuẩn lâm sàng phòng thí nghiệm NCCLS (1999) [12]. Chuẩn bị môi trường thạch đĩa Muller Hinton; vi khuẩn *S. suis* nuôi cấy trong môi trường thạch TSA qua đêm; các khuẩn lạc của các vi khuẩn được tạo huyền phù trong nước muối sinh lý 0,9% để được độ đục tương đương ống McFarland 1 (3×10^8 CFU/ml); dùng tăm bông vô trùng, tăm dung dịch đã pha loãng và dàn đều lên thạch đĩa Muller Hinton; dùng máy tự động đặt các khoanh giấy thấm kháng sinh của hãng Oxoid (Anh) lên mặt đĩa thạch; bồi dưỡng đĩa thạch ở 37°C/18 - 24 giờ (5% CO₂); đọc kết quả và so sánh với bảng chuẩn.*

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Nghiên cứu đặc điểm dịch tễ bệnh viêm phổi lợn do vi khuẩn *S. suis*

Đánh giá tình hình bệnh viêm phổi ở lợn theo địa dư hành chính, nghiên cứu tiến hành xác định tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ chết vì bệnh viêm phổi tại 3 xã: Ngọc Châu, Ngọc Vân, Liên Chung. Kết quả điều tra được thể hiện tại bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ lợn mắc bệnh và chết do viêm phổi tại một số xã của huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang

Tên xã	Tổng số lợn điều tra (con)	Tỷ lệ lợn viêm phổi		Tỷ lệ lợn chết do viêm phổi	
		Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)
Ngọc Châu	940	324	34,5	64	19,75
Ngọc Vân	730	233	31,9	43	18,45
Liên Chung	1110	290	26	44	15,2
Tính chung	2748	847	30,8	151	17,8

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, tỷ lệ mắc viêm phổi chung trên tổng số lợn điều tra là 30,8% và tỷ lệ chết 17,8%. Tỷ lệ lợn mắc viêm phổi và chết có sự khác nhau giữa các xã trong huyện, tại xã Ngọc Châu tỷ lệ mắc và chết cao nhất (tương ứng 34,5% và 19,75%); thấp nhất ở Liên Chung (tương ứng 26% và 15,2%). Kết quả này được giải thích như sau, có thể do chăn nuôi lợn ở Ngọc Châu chủ yếu theo hộ gia đình, điều kiện chăm sóc, nuôi dưỡng, vệ sinh còn hạn chế. Kết quả này cũng khá tương đồng với nghiên cứu của Đặng Xuân Bình và cs (2007) [13], về đàn lợn tại Hà Tây và Thái Nguyên cho thấy, mắc bệnh viêm phổi chiếm tỷ lệ 100% theo đàn và trung bình 36,53% theo cá thể. Như vậy, ở mỗi địa phương khác nhau tỷ lệ lợn mắc bệnh viêm phổi cũng khác nhau và có thể được giải thích là do mỗi vùng sinh thái, mỗi điều kiện chăn nuôi và trình độ người chăn nuôi khác nhau đã ảnh hưởng đến tỷ lệ mắc viêm phổi ở lợn vùng đó. Như vậy, ở mỗi địa phương khác nhau tỷ lệ lợn mắc bệnh viêm phổi cũng khác nhau và có thể được giải thích là do mỗi vùng sinh thái, mỗi điều kiện chăn nuôi và trình độ người chăn nuôi khác nhau đã ảnh hưởng đến tỷ lệ mắc viêm phổi ở lợn vùng đó.

3.2. Phân lập, xác định một số đặc tính sinh vật hóa học của một số chủng vi khuẩn *S. suis*

Nghiên cứu được tiến hành phân loại các mẫu bệnh phẩm từ lợn mắc bệnh viêm phổi ở huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang theo bốn nhóm tuổi. Kết quả phân lập được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân lập vi khuẩn *S. suis* từ mẫu bệnh phẩm lợn mắc bệnh viêm phổi các lứa tuổi khác nhau tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang

Đối tượng	Số mẫu kiểm tra	<i>S. Suis</i>	
		Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Lợn con SS - 1,5 tháng tuổi	32	15	46,87
Lợn sau cai sữa >1,5-3 tháng tuổi	40	29	72,50
Lợn vỗ béo >3-6 tháng tuổi	38	26	68,42
Lợn > 6 tháng tuổi	20	13	65,00
Tính chung	130	83	63,85

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, trong các mẫu bệnh phẩm lợn mắc bệnh viêm phổi theo bốn lứa tuổi đều đã phân lập được vi khuẩn *S. suis*. Tính chung, cả bốn lứa tuổi (130 mẫu bệnh phẩm): Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *S. suis* là 63,85%; tỷ lệ phân lập vi khuẩn *S. suis* từ lợn sau cai sữa 1,5 - 3 tháng tuổi cao nhất (72,50%) và thấp nhất ở lợn con sơ sinh - 1,5 tháng tuổi (46,87%). Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Vecht và cs (1985) [14], tại Hà Lan tỉ lệ nhiễm vi khuẩn *S. suis* là 42%, nhưng tỷ lệ này lại thấp hơn so với kết quả của Trịnh Phú Ngọc (2002) [15], khi tiến hành phân lập vi khuẩn *S. suis* từ hạch phổi của lợn ốm, chết nghi mắc bệnh do vi khuẩn *S. suis* gây nên của một số cơ sở chăn nuôi (tỷ lệ phân lập bình quân chung là 95,45%). Nghiên cứu về bệnh đường hô hấp lợn của Cù Hữu Phú và cộng sự (2004) [11] cho biết, tỷ lệ phân lập vi khuẩn *S. suis* từ phổi và hạch phổi là 72%. Như vậy, với các tỷ lệ phân lập *S. suis* khá cao đã cho thấy vi khuẩn này đã đóng vai trò quan trọng gây viêm phổi ở lợn tại các địa phương của huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang trong thời gian qua. Từ 83 mẫu dương tính tiến hành kiểm tra một số đặc tính sinh học của vi khuẩn *S. suis* và thu được kết quả trình bày tại bảng 4.

Bảng 4. Kết quả kiểm tra một số đặc tính sinh học của *S. suis* phân lập được

Chỉ tiêu kiểm tra	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Quinn và cs (2004)
Gr (+)	83	83	100,0	+
Indol	83	0	0,0	-
Oxidase	83	0	0,0	-
Catalase	83	0	0,0	-
Glucose	83	83	100,0	+
Galactose	83	83	100,0	+
Lactose	83	83	100,0	+
Maltose	83	83	100,0	+
Mannitol	83	0	0,0	-
Sorbitol	83	0	0,0	-
Trehalose	83	79	95,18	+

Bảng 5. Kết quả xác định một số đặc tính sinh vật hóa học của *S. suis* phân lập được bằng hệ thống API 20 Strep

TT	Tên phản ứng	Kết quả	
		Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
1	Voges Proskauer	0	0
2	Thủy phân Hippuric acid	1	1,20
3	Esculin	63	75,90
4	Pyrrolidonyl Arylamidase	40	48,19
5	α -Galactosidase	68	81,92
6	β -Glucuronidase	72	86,75
7	β -Galactosidase	55	66,26
8	Alkaline Phosphatase	2	2,41
9	Leucine AminoPeptidase	83	100,0
10	Arginine Dihydrolase	79	95,18
11	Ribose	0	0
12	Arabinose	0	0
13	Mannitol	3	3,61
14	Sorbitol	2	2,41
15	Lactose	78	93,97
16	Trehalose	80	96,38
17	Inulin	56	67,47
18	Raffinose	77	92,77
19	Amidon	81	97,59
20	Glycogen	79	95,18

Kết quả bảng 4 cho thấy, vi khuẩn trong các mẫu đều bắt màu gram dương. Tất cả các mẫu đều âm tính với các phản ứng Indol, oxidase, catalase. 100% các mẫu lên men các đường

glucose, galactose, lactose, maltose và 95,18% số mẫu lên men đường trehalose. 100% các mẫu không lên men các đường mannitol, sorbitol, mannit.

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, 100% số mẫu được kiểm tra đều cho kết quả âm tính trong phản ứng Voges Proskauer và không lên men các loại đường Ribose và Arabinose. Các phản ứng khác, bao gồm phản ứng thủy phân acid Hippuric, Alkaline Phosphatase và phản ứng lên men đường Sorbitol chỉ có 1-3 mẫu có phản ứng dương tính, chiếm tỷ lệ 1,20 -3,61%. Hầu hết các mẫu được kiểm tra đều lên men các loại đường: raffinose, lactose, glycogen, trehalose, Amidon với các tỷ lệ dương tính từ 92,77 - 97,6%. Riêng phản ứng thủy phân L-leucine- β -naphthylamide tất cả các mẫu được kiểm tra đều cho kết quả dương tính, chiếm tỷ lệ 100%. Để khẳng định chắc chắn vi khuẩn đã được phân lập là vi khuẩn *S. suis* bằng hệ thống API 20 Strep, chúng tôi chọn 30 chủng vi khuẩn *S. suis* đại diện ở các loại lợn được lấy mẫu, các loại mẫu thực hiện giám định bằng phản ứng PCR đối với các cặp mồi Str2- F và Str2- R, là các cặp mồi đặc hiệu dùng để xác định gen *gdh* mã hóa cho quá trình sinh tổng hợp glutamate dehydrogenase, một enzym có trong thành phần ty thể của vi khuẩn *S. suis* và cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp urea. Kết quả được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Kỹ thuật PCR giám định gen glutamate dehydrogenase (*gdh*)

Đối tượng	Loại mẫu	Số chủng kiểm tra	Số chủng cho sản phẩm 688 bp	Tỷ lệ (%)
Lợn sau cai sữa	Cuống họng	5	5	100,0
2 – 3 tháng tuổi	Phổi	5	5	100,0
Lợn vỗ béo	Cuống họng	5	5	100,0
3 – 6 tháng tuổi	Phổi	5	5	100,0
Lợn nái	Cuống họng	5	5	100,0
	Phổi	5	5	100,0
Tính chung		30	30	100,0

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, 100% các chủng đã được xác định là vi khuẩn *S. suis* bằng hệ thống định danh API 20 Strep, kết quả PCR và điện di đều cho một sản phẩm đặc hiệu và giống nhau là 688 bp. Như vậy, có thể thấy phản ứng định danh bằng hệ thống API 20 Strep và phản ứng PCR đều cho kết quả đồng nhất về cách giám định vi khuẩn *S. suis*. Tuy nhiên, các phản ứng sinh hóa có một số nhược điểm như: tốn thời gian thực hiện (2 ngày), đòi hỏi phải có môi trường nuôi cấy đặc hiệu (thạch máu Columbia) và trong một số trường hợp cho kết quả không rõ ràng. Trong khi đó, phản ứng PCR đã thể hiện sự vượt trội ở nhiều ưu điểm như: độ nhạy và độ đặc hiệu cao, tiết kiệm thời gian, có thể thực hiện với số lượng mẫu lớn, cho kết quả trong một thời gian ngắn và có thể dễ dàng thực hiện được trong điều kiện phòng thí nghiệm tại Việt Nam.

3.3. Xác định Serotype của *S. suis* phân lập được

Kết quả ở bảng 7 cho thấy, trong số 83 chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được ở lợn mắc viêm phổi tại huyện Tân Yên, Bắc Giang đã được xác định serotype: Không có 1 chủng nào được xác định là thuộc serotype 1; số chủng thuộc serotype 2 chiếm tỷ lệ cao nhất 54,22% (45/83 chủng); tiếp đến là serotype 9, chiếm 15,66% (13/83 chủng); serotype 7, chiếm 4,81% (4/83 chủng); serotype 29 chiếm 3,61% (3/83 chủng); serotype 21 chiếm 2,40% (2/83).

3.4. Kiểm tra độc lực của một số chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được

Căn cứ vào kết quả xác định serotype của các chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được, chúng tôi chọn 10 chủng vi khuẩn đại diện cho 5 serotype khác nhau (2, 7, 9, 21 và 29) và 2 chủng thuộc nhóm không thể xác định serotype đã được tiến hành kiểm tra độc lực trên chuột nhắt trắng và thu được kết quả trình bày tại bảng 8.

Bảng 7. Kết quả xác định serotype của một số chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được

Loại lợn	Số chủng VK	Kết quả định serotype															
		2	7	9	15	21	22, 27 ^a	25	28	29	30	29, 33 ^b	31	30, 31, 32 ^c	31, 33 ^d	34	KXD
SS- 1,5 tháng tuổi	15	9		3						1							2
>1,5- 3 tháng tuổi	29	15	1	5													8
>3- 6 tháng tuổi	26	13	2	4		1				1							5
Lợn nái	13	8	1	1		1				1							1
Cộng	83	45	4	13	0	2	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	16
Tỷ lệ (%)		54,2	4,81	15,7		2,4				3,6							19,28

Bảng 8. Kết quả kiểm tra độc lực của một số vi khuẩn *S. suis* phân lập được trên chuột nhắt trắng

T T	Ký hiệu mẫu	Thuộc serotype	Kết quả			Ghi chú
			Số chết/ Số tiêm (con)	Thời gian chuột chết (h)	Tỷ lệ chuột chết (%)	
1	S-VY1	2	2/2	12 - 24	100,0	Tất cả chuột chết được mổ khám để kiểm tra bệnh tích và đều phân lập lại được vi khuẩn thuần khiết từ máu tim
2	S-VY2	2	2/2	20 - 24	100,0	
3	S-VY3	7	1/2	36	50,0	
4	S-VY4	7	1/2	48	50,0	
5	S-VY5	9	2/2	18 - 24	100,0	
6	S-VY6	9	2/2	12 - 24	100,0	
7	S-VY7	21	0/2	-	0	
8	S-VY8	21	0/2	-	0	
9	S-VY9	29	0/2	-	0	
10	S-VY10	29	0/2	-	0	
11	S-VY11	-	0/2	-	0	
12	S-VY12	-	0/2	-	0	

Kết quả bảng 8 cho thấy, các chủng vi khuẩn *S. suis* thuộc serotype 2 và serotype 9 đều gây chết 100% số chuột thí nghiệm trong thời gian ngắn, từ 12 - 24 giờ. Trong khi đó, cả 2 chủng thuộc serotype 7 được kiểm tra đều chỉ gây chết 50% số chuột, chủng S-VY3 gây chết chuột trong vòng 36 giờ và chủng S-VY4 gây chết chuột trong vòng 48 giờ sau khi tiêm. Riêng các chủng thuộc serotyp 29, 21 và 2 chủng không xác định rõ được serotype đều không gây chết chuột. Những chuột chết có bệnh tích tương đối giống nhau: phù tạng bị sung huyết, tim sưng, mềm, nhão, tích nước trong xoang bao tim, vùng xung quanh chỗ tiêm, đôi khi có hiện tượng áp xe. Khi cấy máu tim vào các loại môi trường khác nhau đều phân lập được vi khuẩn *S. suis* thuần khiết. Nguyễn Ngọc Nhiên và cs (1994) [16], tiêm 0,2 ml vi khuẩn *Streptococcus* vào dưới da cho chuột nhắt trắng, chuột chết sau 24 - 36 giờ, chỗ tiêm áp xe có mủ và đã phân lập lại được vi khuẩn từ máu tim. Khương Bích Ngọc (1996) [17], khi kiểm tra độc lực của vi khuẩn *Streptococcus* trên chuột nhắt trắng thấy vi khuẩn gây chết cấp tính đối với chuột. Những chuột không chết có triệu chứng thần kinh, mệt mỏi, ủ rũ.

3.5. Xác định khả năng miễn cảm kháng sinh của một số chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được

Kiểm tra khả năng miễn cảm với một số loại kháng sinh của các loại vi khuẩn gây bệnh nói chung và vi khuẩn *S. suis* phân lập được ở trên nói riêng là rất cần thiết, trên cơ sở đó có thể đưa ra những hướng dẫn để lựa chọn những kháng sinh thích hợp để điều trị bệnh do những vi khuẩn này gây ra ở lợn có hiệu quả. Kết quả được trình bày tại bảng 9.

Bảng 9. Kết quả tính mẫn cảm với một số loại kháng sinh của các chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được

TT	Tên kháng sinh	Số chủng thử	Đánh giá mức độ mẫn cảm					
			Rất mẫn cảm		Mẫn cảm trung bình		Kháng thuốc	
			+	%	+	%	+	%
1	Penicillin G	5	3	60,00	1	20,00	1	20,00
2	Amikacin	5	3	60,00	1	40,00	0	0,00
3	Ceftriaxone	5	5	100,00	0	0,00	0	0,00
4	Tetracycline	5	2	40,00	2	40,00	1	20,00
5	Ceftiofur	5	5	100,00	0	0,00	0	0,00
6	Ofloxacin	5	4	80,00	1	20,00	0	0,00
7	Streptomycin	5	0	0,00	0	0,00	5	100,00
8	Amoxicillin	5	4	80,00	1	20,00	0	0,00
9	Neomycin	5	0	0,00	0	0,00	5	100,00
10	Colistin	5	1	20,00	2	40,00	2	40,00

Kết quả ở bảng 9 cho thấy, vi khuẩn *S. suis* phân lập được mẫn cảm cao với các loại kháng sinh như: ceftriaxone, ceftiofur, amoxicillin; đồng thời kháng lại với các loại kháng sinh như: streptomycin, neomycin, colistin. Cụ thể, các mẫu vi khuẩn *S. suis* mẫn cảm cao nhất với 2 loại kháng sinh ceftiofur, ceftriaxone với tỷ lệ 100,00%, amoxicillin với tỷ lệ 80%, đồng thời kháng lại với streptomycin và neomycin với tỷ lệ 100,00%. Nếu so sánh kết quả của nghiên cứu này với kết quả nghiên cứu của Trịnh Quang Hiệp và cs (2004) [18], các chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được từ đường hô hấp của lợn mẫn cảm cao với các loại kháng sinh như neomycin, amikacin hay amoxicillin; kết quả thu được của chúng tôi có đôi chút khác biệt và cho thấy những loại kháng sinh đó có sự mẫn cảm thấp hoặc bị kháng với tỷ lệ khá cao. Điều này có thể được giải thích là theo thời gian, đã có hiện tượng kháng thuốc của các loại vi khuẩn này.

4. Kết luận

Tỷ lệ mắc viêm phổi ở đàn lợn tại huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang là 30,8% và tỷ lệ chết 17,8%. Tỷ lệ mắc bệnh và chết cao nhất là xã Ngọc Châu tương ứng 34,5%, 19,75%; thấp nhất là ở xã Liên Chung tương ứng 26%, 15,2%. Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *S. suis* là 63,85%; cao nhất ở lợn sau cai sữa 1,5 - 3 tháng tuổi (72,50%) và thấp nhất là lợn con sơ sinh - 1,5 tháng tuổi (46,87%). Vi khuẩn *S. suis* phân lập có các đặc tính sinh học đặc trưng giống như các tài liệu trong và ngoài nước đã mô tả. 83 chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được ở lợn mắc viêm phổi đã được xác định các serotype: không có 1 chủng nào thuộc serotype 1; số chủng thuộc serotype 2 chiếm tỷ lệ cao nhất, chiếm 54,22%; tiếp đến là serotype 9, 7, 29, 21 lần lượt chiếm 15,66%, 4,81%, 3,61%, 2,40%. Vi khuẩn *S. suis* mẫn cảm cao với các loại kháng sinh như ceftiofur, florfenicol, amoxicillin, ofloxacin và đều kháng với một số loại kháng sinh như neomycin, colistin, tetracycline.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/REFERENCES

- [1] N. H. Nguyen and L. T. Nguyen, "Respiratory and reproductive disorders syndrome in pig," Scientific conference on respiratory and reproductive disorders syndrome and streptococcal disease in pig, Hanoi Agriculture University, 2007.
- [2] H. P. Cu, *Study the relationship between respiratory and reproductive disorders syndrome in pigs and the pathogenics bacteria and identify preventive and treatment measures*, National veterinary science report, 2011
- [3] Q. T. Nguyen, M. H. Nguyen, and B. D. Do, "Study on biological characteristics of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains isolated from pigs with pneumonia raised in Hiep Hoa district, Bac Giang province," *TNU Journal of Science Technology*, vol. 225, no. 08, pp. 142-148, 2020.
- [4] Z. R. Lun, Q. P. Wang, X. G. Chen, A. X. Li, and X. Q. Zhu, "Streptococcus suis: an emerging zoonotic pathogen," *Lancet Infect Dis.*, vol. 7, no. 3, pp. 201-209, 2007.

- [5] R. S. Windsor, and S. D. Elliott, "Streptococcal infection in young pigs. IV. An outbreak of *Streptococcal* meningitis in weaned pigs," *J Hyg Camb*, no. 75, pp. 69-78, 1975.
- [6] B. Perch, K. B. Pedersen, and J. Henrichsen, "Serology of capsulated Streptococci pathogenic for pigs: Six new serotypes of *Streptococcus suis*," *J. Clin Microbiol*, no. 17, pp. 993-996, 1983.
- [7] R. Y. Reams, L. T. Glickman, D. D. Harrington, H. L. Thacker, and T. L. Bowersock, "*Streptococcus suis* infection in swine: A retrospective study of 256 cases. Part II. Clinical signs, gross and microcopic lesions, and coexisting microorganisms," *J Vet Diagn Invest*, no. 6, pp. 326-334, 1994.
- [8] N. T. Nguyen, *Textbook of veterinary epidemiology*. Agricultural Publishing House, Hanoi, 2001.
- [9] V. T. Nguyen, *Research methods in animal husbandry*. Agriculture Publishing House, Hanoi, 1997.
- [10] TCVN 8400-2:2010 Part 2, Diseases caused by *Streptococcus suis* bacteria in pigs, 2010.
- [11] H. P. Cu, N. N. Nguyen, T. H. Nguyen, X. T. Au, B. T. Nguyen, N. Q. Vu, and N. B. Pham, "Selection of autovaccinated bacteria strains to prevent respiratory diseases of pigs raised in some provinces in the North," *Institute of Veterinary Medicine 35 years of construction and development 1969-2004*, 2004, pp. 108-109.
- [12] National committees for clinical laboratory standards: *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals*, Approved Standard, Pennsylvania, USA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999
- [13] X. B. Dang, T. N. Nguyen, and H. P. Phan, "*Actinobacillus pleuropneumoniae* infection and pleurisy in pigs," *Journal of Veterinary Science and Technology*, vol. 14, no. 2, pp. 56-59, 2007.
- [14] U. Vecht, L. A. M. G. Van Leengoed, and E. R. M. Verheijen, "*Streptococcus suis* infections in pigs in the Netherlands (part I)," *Vet Quart*, no. 7, pp. 315-321, 1985.
- [15] T. B. N. Khuong, "*Coccidiosis in some concentrated pig breeding facilities and measures for prevention and treatment*," Agricultural science PTS thesis, National Institute of Veterinary Medicine, Hanoi, 1996.
- [16] N. N. Nguyen, T. N. Nguyen, and B. N. Khuong, "Research and manufacture of vaccines against infectious cough and respiratory syndrome in pigs and results of application in production," *Journal of Science and Technology* vol. 9, pp. 356-357, 1994.
- [17] P. N. Trinh, "Research on some biological characteristics and virulence of *Streptococcus* bacteria causing diseases in pigs in some provinces," Doctoral thesis of agricultural science, National Institute of Veterinary Medicine, Hanoi, 2002.
- [18] Q. H. Trinh, H. P. Cu, T. H. Nguyen, and X. T. Au, "Determining the biochemical and virulent characteristics of *Actinobacillus*, *Pasteurella* and *Streptococcus* bacteria causing pneumonia in pigs," *Journal of Science science and technology of the Ministry of Agriculture and Rural Development*, no. 4, pp. 476-477, 2004.