

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

TRẦN TRUNG MỸ

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA VI KHUẨN
MYCOPLASMA, *KLEBSIELLA*, *ESCHERICHIA COLI* PHÂN LẬP TỪ
BÒ SỮA VIÊM VÚ TẠI TRANG TRẠI TH VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG,
TRỊ

Ngành: Ký sinh trùng và Vi sinh vật học Thú y
Mã số: 9. 64. 01. 04

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ
KÝ SINH TRÙNG VÀ VI SINH VẬT HỌC THÚ Y

THÁI NGUYÊN - 2024

Công trình được hoàn thành tại:
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM - ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

Người hướng dẫn khoa học: 1. PGS. TS. Đặng Xuân Bình
2. TS. Đặng Thị Mai Lan

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Trường
Họp tại: TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM - ĐẠI HỌC THÁI
NGUYÊN

Vào hồi....., ngày tháng năm 202.....

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- *Thư viện Quốc gia;*
- *Trung tâm Số Đại học Thái Nguyên;*

- Thư viện trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC
CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

- [1]. **Trần Trung Mỹ**, Lê Văn Thiện, Phạm Tuấn Hiệp, Đặng Xuân Bình. (2020), "Kết quả phân lập một số vi khuẩn gây bệnh viêm vú bò tại các trang trại bò sữa TH". *Tạp chí khoa học kỹ thuật Thú y*, XXVII(7), tr. 31 - 37.
- [2]. **Tran Trung My**, Le Van Thien, Vu Duy Manh, Bui Thi Phuong My, Dang Thi Mai Lan, Dang Xuan Binh, Vu Minh Duc. (2023), "Antimicrobial resistance and molecular characterization of *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis samples in Nghe An province, Vietnam". *Veterinary World*, 16(4), pp. 743 - 751.
- [3]. **My Trung Tran**, Duc Minh Vu, Manh Duy Vu, My Thi Phuong Bui, Binh Xuan Dang, Lan Thi Mai Dang, Thien Van Le. (2023), "Antimicrobial resistance and molecular characterization of *Klebsiella* species causing bovine mastitis in Nghe An province, Vietnam", *Adv Vet Anim Res*, 10(1), pp. 132 - 143.
- [4]. **Tran Trung My**, Le Van Thien, Dang Xuan Binh, Dang Thi Mai Lan, Vu Minh Duc. (2024), "Prevalence of bovine mastitis and the first detection of *Mycoplasma bovis* in Vietnam's dairy farms", *Suranaree J. Sci. Technol.* 30(6), pp. 020026(1-7).
<https://doi.org/10.55766/sujst-2023-06-e01836>

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Chăn nuôi bò sữa trong những năm gần đây đang dịch chuyển dần theo hướng thâm canh, an toàn, thân thiện với môi trường, ứng dụng khoa học kỹ thuật và từ đó ngày càng góp phần ổn định đời sống nhân dân và sự phát triển kinh tế - xã hội. Sữa, sản phẩm sữa được xếp vào loại thực phẩm cao cấp do đặc tính hoàn chỉnh về dinh dưỡng và dễ tiêu hóa. Từ năm 2009, Tập đoàn TH (sau đây gọi tắt là TH) khởi dựng dự án chăn nuôi bò sữa, chế biến sữa tập trung ứng dụng công nghệ cao tại tỉnh Nghệ An, từ đó góp phần chuyển dịch tỷ lệ sữa nước chế biến từ sữa bột pha lại 92% (năm 2008) giảm còn hơn 60% hiện nay.

Chăn nuôi bò sữa nói chung và các trang trại TH nói riêng vẫn đang đối mặt với không ít khó khăn do các bệnh gây hại cho sức khỏe đàn bò, đặc biệt là bệnh viêm vú. Bệnh viêm vú tuy không gây chết nhiều bò sữa nhưng lại gây thiệt hại kinh tế lớn do bò giảm sản lượng và chất lượng sữa, tăng chi phí điều trị thú y, thất thoát bò, tăng chi phí thay thế đàn. Tại Mỹ thiệt hại do bệnh viêm vú bò sữa ước tính tới 2 tỷ đô la (Rollin và cs., 2015).

Xuất phát từ thực tiễn về bệnh viêm vú tại các trang trại TH, với mục đích cung cấp tài liệu khoa học có liên quan về tình hình bò mắc bệnh viêm vú, vai trò gây bệnh của các chủng vi khuẩn *Mycoplasma*, *Klebsiella* và *E. coli*, cũng như công tác phòng và trị bệnh có hiệu quả, chúng tôi tiến hành: ***“Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *Mycoplasma*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* phân lập từ bò sữa viêm vú tại trang trại TH và biện pháp phòng, trị”***.

2. Mục tiêu

- Đánh giá chung về tình hình mắc bệnh viêm vú của bò sữa tại các trại chăn nuôi của TH.

- Xác định tỷ lệ xuất hiện các loại vi khuẩn *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*), *Klebsiella* và *E. coli* trên bò không bị và bò bị viêm vú.

- Xác định một số đặc điểm sinh học của 3 loại vi khuẩn: *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*), *Klebsiella* và *E. coli* được phân lập từ bò sữa viêm vú tại các trang trại TH, huyện Nghĩa Đàn, tỉnh Nghệ An.

- Đề xuất các biện pháp hiệu quả giúp phòng và điều trị bệnh viêm vú cho bò sữa.

3. Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của đề tài

3.1. Ý nghĩa khoa học

Bổ sung tư liệu khoa học về tình hình mắc bệnh, đặc điểm sinh

học của vi khuẩn *M. bovis*, *Klebsiella* và *E. coli* trong chăn nuôi bò sữa.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

Kết quả của đề tài là cơ sở thực tiễn về bệnh, và áp dụng các biện pháp phòng trị hiệu quả bệnh viêm vú bò sữa do vi khuẩn *M. bovis*, *Klebsiella* và *E. coli* tại các trang trại TH.

4. Những đóng góp mới của đề tài

- Đã xác định được tỷ lệ nhiễm bệnh viêm vú bò sữa tại TH, tần suất và tình hình mắc bệnh viêm vú theo các thể bệnh khác nhau.

- Lần đầu tiên báo cáo về vi khuẩn *M. bovis* gây viêm vú bò sữa tại Việt Nam.

- Đã xác định được tỷ lệ lưu hành, giám định sinh hóa, xác định bằng sinh học phân tử, đặc tính kháng kháng sinh, một số gen độc lực và kháng kháng sinh của vi khuẩn *M. bovis*, *Klebsiella* và *E. coli* gây viêm vú bò sữa tại TH.

- Đánh giá được hiệu quả phòng bệnh của một số phương pháp mới tại Việt Nam.

5. Cấu trúc của luận án

Luận án gồm 115 trang (không kể danh mục tài liệu tham khảo và phụ lục), mở đầu 2 trang; tổng quan tài liệu 32 trang; nội dung và phương pháp nghiên cứu 19 trang; kết quả nghiên cứu và thảo luận 60 trang, kết luận và kiến nghị 2 trang. Luận án gồm 46 bảng, 4 biểu đồ và đồ thị, 21 ảnh màu thể hiện kết quả của đề tài, 281 tài liệu tham khảo (12 tài liệu tiếng việt, 266 tài liệu tiếng Anh và 3 tài liệu từ Internet, trong đó có 124 tài liệu từ năm 2018 - đến nay).

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Bệnh viêm vú là một bệnh gây thất thoát kinh tế rất lớn trong chăn nuôi bò sữa trên toàn thế giới. Nhiều nghiên cứu về bệnh viêm vú bò sữa trên khắp thế giới cho biết tỷ lệ mắc bệnh từ 13,2% tới 74,7%/ năm (Levison và cs., 2016; Abebe và cs., 2016), tại Việt Nam tỷ lệ này từ 23,4% tới 88,6% (Phạm Bảo Ngọc, 2003; Östensson và cs., 2013).

Viêm vú do vi khuẩn *Mycoplasma* ngày càng xuất hiện nhiều, trong đó *M. bovis* được xem là loài phổ biến nhất (George và cs., 2007). Đặc tính gây bệnh viêm vú bò sữa của *M. bovis* đã được phát hiện cho đến nay bao gồm khả năng bám dính lên tế bào, sản sinh các chất gây độc, xâm nhập vào tế bào và kháng kháng sinh (Razin và cs., 1998; Gautier-Bouchardon, 2018).

Bệnh viêm vú bò sữa do vi khuẩn *Klebsiella* đặc trưng bởi hiện

tượng đầu đón, bò nuôi trong điều kiện sử dụng nền chuồng là các sản phẩm gỗ có tỷ lệ nhiễm bệnh cao (Gundogan, 2014; Massé và cs., 2020). Các yếu tố góp phần vào đặc tính gây bệnh của vi khuẩn này như lớp giáp mô, lớp LPS, OMP, HMPV, khả năng bám dính, phức hợp gắn ion ngoại bào, phát triển, và khả năng kháng kháng sinh (Schukken và cs., 2012; Yang và cs., 2019).

E. coli gây viêm tuyến sữa bò với biểu hiện lâm sàng cục bộ và toàn thân nghiêm trọng, được gọi là viêm vú do môi trường, có thể gây chết bò trong trường hợp viêm nặng (Burvenich và cs., 2003). Các yếu tố gây bệnh viêm vú được phát hiện *E. coli* bao gồm yếu tố bám dính, cấu trúc bề mặt tế bào và các kháng nguyên (LPS, CPS, EPS), nội độc tố, đề kháng huyết thanh, phức gắn ion ngoại bào, khả năng kháng kháng sinh (Whitfield và cs., 2015; Murinda và cs., 2019; Caza và Kronstad, 2013; Poirel và cs., 2012b).

Chẩn đoán bệnh thường áp dụng phương pháp thăm khám lâm sàng kết hợp thử CMT, ngoài ra còn chẩn đoán trong phòng thí nghiệm. Phòng bệnh thông qua các biện pháp tổng hợp bao gồm kiểm soát tế bào soma, dinh dưỡng, vệ sinh, vắt sữa, sử dụng vắc xin và an toàn sinh học (Phạm Bảo Ngọc, 2003; Faruk và cs., 2020). Xu hướng điều trị bệnh ngày nay tập trung vào phát hiện sớm, điều trị bằng các phác đồ hỗ trợ, hạn chế sử dụng kháng sinh, ứng dụng các liệu pháp vật lý và thảo dược (Pyorala, 2009; Paşca và cs., 2017; Leitner và cs., 2021).

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, phạm vi và địa điểm nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

- Bò sữa nuôi tại các trang trại của TH.
- Các chủng vi khuẩn *Mycoplasma*, *Klebsiella* và *E. coli* phân lập từ mẫu sữa bò mắc bệnh viêm vú.

2.1.2. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được triển khai tại các trang trại TH. Mẫu được phân tích tại phòng thí nghiệm thuộc Công ty cổ phần thực phẩm sữa TH, xã Nghĩa Sơn - huyện Nghĩa Đàn - tỉnh Nghệ An.

2.1.3. Thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ năm 2021 đến năm 2023.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

2.2.1. Các loại mẫu dùng trong nghiên cứu

- Mẫu sữa thu thập từ các cá thể bò nghi mắc bệnh viêm vú.
- Mẫu ADN tách chiết từ các chủng vi khuẩn phân lập được.

2.2.2. Các loại môi trường, hóa chất, thiết bị và dụng cụ dùng trong nghiên cứu

Sử dụng hóa chất, dụng cụ cần thiết trong nghiên cứu vi sinh vật học và sinh học phân tử.

2.3. Nội dung nghiên cứu

2.3.1. Tình hình bệnh viêm vú bò sữa tại các trang trại TH

2.3.1.1. Tỷ lệ mắc bệnh viêm vú bò sữa tại các trang trại

2.3.1.2. Tình hình bò sữa mắc bệnh theo số lần

2.3.1.3. Tình hình bò sữa mắc bệnh viêm vú theo thể bệnh

2.3.2. Một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *Mycoplasma*, *Klebsiella* và *E. coli* phân lập từ bò sữa viêm vú

2.3.2.1. Một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *M. bovis*

2.3.2.2. Một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *Klebsiella*

2.3.2.3. Một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *E. coli*

2.3.3. Nghiên cứu và đề xuất biện pháp phòng, trị bệnh viêm vú cho bò sữa

2.3.3.1. Biện pháp phòng bệnh

* Phòng bệnh bằng xử lý chất độn nền chuồng

* Phòng bệnh bằng hóa chất sát trùng núm vú TeatX trước và sau khi vắt sữa

* Phòng bệnh bằng vắc xin Rotatec J5

* Phòng bệnh bằng chất bịt núm vú Teatseal

2.3.3.2. Đánh giá hiệu quả của một số phác đồ điều trị bệnh

2.3.3.3. Đề xuất biện pháp phòng trị tổng hợp

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Tình hình bệnh viêm vú bò sữa tại các trang trại TH

2.4.1.1. Phương pháp thử CMT xác định viêm vú bò sữa

Thử CMT đối với các cá thể nghi ngờ viêm vú theo phương pháp được mô tả bởi Kandeel và cs. (2018). Kết quả được phân loại thành 4 cấp (Âm tính, Viêm thể nhẹ, Viêm thể vừa và Viêm thể nặng).

2.4.1.2. Phương pháp xác định tần suất viêm vú

Điều tra (theo phương pháp được mô tả bởi Nguyễn Văn Thiện và cs., 2002) toàn bộ số bò mắc viêm vú trong giai đoạn nghiên cứu về số lần mắc bệnh viêm vú trong suốt quá trình nghiên cứu.

2.4.1.3. Phương pháp phân loại viêm vú theo thể bệnh

Để phân loại tình trạng viêm vú theo thể bệnh, đã tiến hành điều tra và phân loại các cá thể bò mắc viêm vú thành 3 thể bệnh khác nhau (theo Adkins và Middleton, 2018).

2.4.2. Một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *Mycoplasma*, *Klebsiella* và *E. coli*

2.4.2.1. Phương pháp lấy mẫu sữa

Áp dụng phương pháp lấy mẫu sữa của Adkins và cs. (2017).

2.4.2.2. Hóa chất và môi trường

Các loại hóa chất, môi trường được sử dụng trong nghiên cứu này được mô tả chi tiết trong phụ lục 01.

2.4.2.3. Phương pháp phân lập vi khuẩn *Mycoplasma*

Áp dụng quy trình của Tổ chức dịch tễ thế giới (OIE, 2018) và nghiên cứu của Alysia và cs. (2018).

2.4.2.4. Phương pháp phân lập vi khuẩn *Klebsiella*

Mẫu được xét nghiệm theo Buchanan và Gibbon, (1974); Adkins và cs. (2017).

2.4.2.5. Phương pháp phân lập vi khuẩn *E. coli*

Mẫu được xét nghiệm theo Buchanan và Gibbon, 1974; TCVN 8400-16:2011; Adkins và cs, 2017.

2.4.2.6. Phương pháp xác định một số đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn *Mycoplasma*

Xác định một số đặc trưng sinh hóa sau: lên men glucose, thủy phân arginine, phân giải tetrazolium

2.4.2.7. Phương pháp xác định một số đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn *Klebsiella* và *E. coli*

Xác định một số đặc trưng sinh hóa sau: sản sinh indole; lên men đường glucose, sucrose, lactose, sản sinh H₂S, sinh hơi; phản ứng MR-VP; phân giải citrate; phản ứng oxidase; khả năng di động.

2.4.2.8. Phương pháp PCR xác định kết quả phân lập, một số gen độc lực và kháng thuốc

* Xác định kết quả bằng kỹ thuật PCR

Đối với vi khuẩn *M. bovis*, xác định sự có mặt của gen *uvrC*.

Đối với vi khuẩn *Klebsiella* spp. xác định sự có mặt của gen *gyrA*.

Vi khuẩn *E. coli* được xác định sự có mặt của gen đặc hiệu *malB*.

Trình tự nucleotide của các cặp mỗi sử dụng được nêu tại phụ lục 02.

*** Xác định gen độc lực của các chủng vi khuẩn**

Vi khuẩn *M. bovis*, xác định sự có mặt của gen Mbov2 và TrmFO có liên quan tới khả năng bám dính.

Đối với *Klebsiella* spp. xác định sự có mặt của gen *fimH*, *rmpA*, *magA*, K1, K2, *iroN*, *entB*, và *iutA*.

Vi khuẩn *E. coli* xác định các gen *stx*, *stx2*, F5, F41, *eae*, *iroN*, *iutA*.

Trình tự nucleotide của các cặp mỗi sử dụng được nêu tại phụ lục 02.

*** Xác định gen kháng kháng sinh**

Vi khuẩn *M. bovis* xác định sự có mặt của gen *rrs3*

Vi khuẩn *Klebsiella* xác định các gen *blaSHV*, *blaTEM*, *blaKPC*, *blaNDM*, *blaCTX-M-3* và *blaIMP*; *sul1*, *sul2*; *tetA*, *tetB*; DHFR-I; *qnrA*; *acrAKp*.

Vi khuẩn *E. coli*, xác định gen *tetA*, *tetB*, *sul1*, *sul2*, *blaSHV*, *blaKPC*, DHFR-I, *qnrA*, *blaOXA48*.

Trình tự nucleotide của các cặp mỗi sử dụng được nêu tại phụ lục 02.

2.4.2.9. *Phương pháp nghiên cứu tính kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập được bằng kỹ thuật sử dụng đĩa giấy tẩm kháng sinh khuếch tán trên thạch*

Áp dụng phương pháp được mô tả trong CLSI M02-A11 (2012), M100 (2020). Sử dụng 19 loại kháng sinh trong nghiên cứu này như bảng 2.3.

2.4.2.10. *Phương pháp xác định khả năng sản sinh men phân giải kháng sinh β -lactam - ESBL*

Áp dụng phương pháp được mô tả theo CLSI M100-30th (2020).

2.4.2.11. *Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum Inhibitory Concentration-MIC)*

Áp dụng quy trình của Jay và cs. (2021); Hannan (2000) với các loại kháng sinh oxytetracycline; florfenicol; tulathromycin; tylosin, tiamulin.

2.4.3. Nghiên cứu và đề xuất biện pháp phòng, trị bệnh viêm vú cho bò sữa

2.4.3.1. *Thử nghiệm ảnh hưởng của phương pháp xử lý chất độn nền chuồng tới tỷ lệ viêm vú*

Đã thử nghiệm hai phương pháp xử lý chất độn nền chuồng (ủ sinh học truyền thống và xử lý nhanh qua hệ thống tái tạo nền chuồng BRU (bedding recovery unit)) tới tỷ lệ viêm vú tại trang trại thí nghiệm.

2.4.3.2. Thử nghiệm ảnh hưởng của nồng độ hóa chất sát trùng núm vú tới tỷ lệ viêm vú

Thử nghiệm hai nồng độ (1:4 và 1:7) hóa chất sát trùng núm vú dùng trong hoạt động vắt sữa là TeatX (Deosan, New Zealand).

2.4.3.3. Thử nghiệm phòng bệnh bằng vắc xin Rotatec J5

Đã thực hiện 2 thử nghiệm tại 2 trang trại, trang trại thứ nhất thí nghiệm trên bò cho sữa ở chu kỳ thứ nhất, trang trại thứ hai thực hiện trên bò cho sữa ở chu kỳ 2.

2.4.3.4. Thử nghiệm phòng bệnh viêm vú ở bò sau sinh bằng chất bọt núm vú

Đã thử nghiệm tại 1 trang trại với sản phẩm Teatseal (Zoetic, Úc). Thí nghiệm được thực hiện trên 2 loại bò (bò chuẩn bị đẻ lứa 1, bò lứa đẻ thứ 2), mỗi loại thực hiện trên 2 lô động vật là lô thí nghiệm (có sử dụng chất bọt núm vú) và lô đối chứng (không sử dụng chất bọt núm vú).

2.4.3.5. Đánh giá hiệu quả của một số phác đồ điều trị bệnh

Bò viêm vú do *Klebsiella* và *E. coli* chỉ tiến hành điều trị ở thể vừa và nặng, đối với thể nhẹ chỉ áp dụng điều trị không kháng sinh (phác đồ 1) hoặc không điều trị mà tiến hành cách ly, theo dõi, chỉ điều trị khi tình trạng bệnh trở nặng. Đối với thể vừa và nặng, việc lựa chọn phác đồ và chế phẩm điều trị được lựa chọn một cách ngẫu nhiên theo các phác đồ 2, 3 được trang trại áp dụng, tùy vào thực tế sản xuất của trang trại, không bố trí thí nghiệm.

Đối với bò viêm vú do *Mycoplasma* trong nghiên cứu này không thử nghiệm phác đồ điều trị mà loại thải.

2.4.3.6. Khảo sát kết quả điều trị khỏi mầm bệnh

Tiến hành khảo sát tại tất cả các trang trại đối với bò bị viêm vú do *Klebsiella* và *E. coli* trong 2 năm. Thu thập mẫu sữa, phân lập mầm bệnh được áp dụng như đã mô tả trước đó.

2.4.4 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và tổng hợp bằng ứng dụng Excel, thiết lập thí nghiệm theo Trương Hữu Dũng và cs., (2018), xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16 và Excel.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình bệnh viêm vú bò sữa tại các trang trại TH

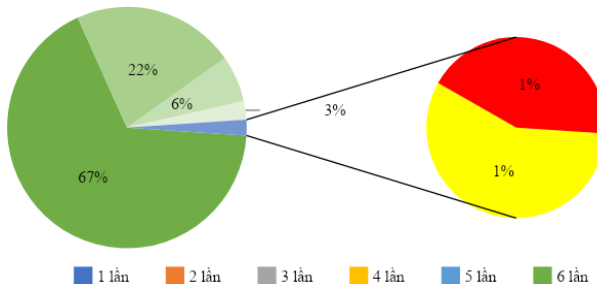
3.1.1. Tỷ lệ bệnh viêm vú bò sữa tại TH

Bảng 3.1 cho thấy tỷ lệ bò sữa bị viêm vú tính chung của các trang trại là 34,8%/ năm.

Kết quả về tỷ lệ mắc viêm vú trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với báo cáo của Phạm Bảo Ngọc (2003), và Trương Quang và cs. (2008) khi cho biết tỷ lệ nhiễm bệnh trong khoảng 36,1 đến 39,8% mỗi năm tại Hà Nội, tại Ethiopia của Tezera và Aman (2021) với tỷ lệ viêm vú lâm sàng hàng tháng là 3,0% (36,0%/ năm) và cũng phù hợp với Fesseha và cs. (2021) khi báo cáo rằng tỷ lệ viêm vú hàng tháng là 3,6%.

3.1.2. Tần suất mắc bệnh viêm vú bò sữa tại các trang trại TH

Bảng 3.2. 3.2 cho thấy trong tổng số 6.992 bò mắc viêm vú trong thời gian nghiên cứu thì tỷ lệ bò mắc viêm vú 1 lần là 4.699 con chiếm tỷ lệ 67,2%. Kết quả này giảm dần (từ 22,0% xuống còn 0,9%) khi số lần mắc viêm vú tăng dần (từ 2 lần lên 6 lần).



Biểu đồ 3.1: Tần suất mắc viêm vú bò sữa của các trang trại

Tại Pháp, Lescourret và cs. (1995) cho biết tỷ lệ bò mắc viêm vú 1 lần là 68,5% và tái nhiễm là 31,5% trong đó nhiễm 2 lần chiếm 24,6%, 3 lần chiếm 4,5%, 4 lần chiếm 2,4%. Tại Đức bởi Wentz và cs. (2020) cho biết tỷ lệ bò sữa mắc viêm vú 1 lần chiếm 78,2% và tỷ lệ tái nhiễm bệnh là 21,8%.

Như vậy, có thể thấy rằng kết quả của nghiên cứu này phù hợp với xu hướng chung về tần suất mắc bệnh viêm vú bò sữa.

3.1.3. Tình hình bò sữa mắc viêm vú theo thể bệnh

Bảng 3.3 cho thấy tỷ lệ bò mắc bệnh viêm vú thể nhẹ trong giai đoạn nghiên cứu chiếm 60,2%, kết quả này đối với thể vừa là 30,5% và thể nặng là 9,3%.

Tại Mỹ, Oliveira và cs. (2013) báo cáo tỷ lệ bò mắc bệnh viêm vú thể nhẹ chiếm 47,8% (279/583), thể vừa chiếm 36,9% (215/583) và thể nặng chiếm 15,3% (89/583).

Tại Việt Nam, Lê Việt Bảo và cs. (2020) khi cho biết bò bị viêm vú lâm sàng tại Thành phố Hồ Chí Minh với 34,0% thể nhẹ, thể vừa lên tới 61,9% trong khi đó tỷ lệ viêm ở thể nặng là 4,1%.

Như vậy, có thể thấy các thể bệnh viêm vú có sự khác nhau rõ rệt giữa các nghiên cứu.

3.2. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *M. bovis*, *Klebsiella* và *E. coli* phân lập từ bò sữa viêm vú tại các trang trại TH

3.2.1. Đặc điểm sinh học của vi khuẩn *M. bovis*

3.2.1.1. Phân lập vi khuẩn *M. bovis* từ mẫu sữa bò viêm vú và không viêm vú

Bảng 3.4: Kết quả phân lập vi khuẩn *M. bovis* từ bò viêm vú và không viêm vú

Diễn giải	Bò viêm vú	Bò không viêm vú
Số mẫu phân lập	4.025	120
Số mẫu dương tính	145	0
Tỷ lệ (%)	3,6	0

Đối với bò viêm vú, Timonen và cs., (2017) cho biết tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *M. bovis* lên tới 17,2%, Ashraf và cs., (2019) cho biết kết quả 9,0%, García-Galán và cs. (2020) báo cáo kết quả 28%.

Đối với bò không bị viêm vú, Penterman và cs. (2022) cho biết kết quả 2,2% trong khi Gogoi-Tiwari và cs. (2022) không phát hiện vi khuẩn *M. bovis* từ bò không bị viêm vú.

3.2.1.2. Kết quả giám định một số đặc tính sinh hóa của vi khuẩn *M. bovis* phân lập được

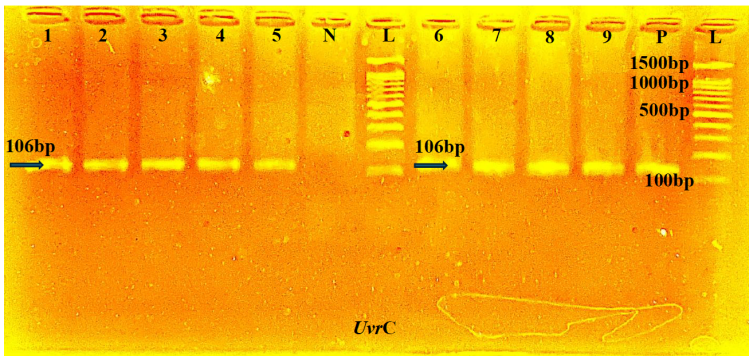
Bảng 3.5 cho thấy, vi khuẩn *M. bovis* không có khả năng thủy phân arginine, không lên men glucose nhưng có khả năng phân giải muối tetrazolium (hình 3.1).

Nicholas và Ayling (2003) cho biết vi khuẩn *M. bovis* có khả năng phân giải muối tetrazolium. Niu và cs. (2021) cho biết vi khuẩn *M. bovis* không có khả năng lên men đường glucose, lactose; không thủy phân arginine.

Kết quả của chúng tôi tương đồng với các tác giả trên

3.2.1.3. Xác định chủng vi khuẩn *Mycoplasma bovis* phân lập được bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Bảng 3.6, và hình 3.2 cho thấy 100% số chủng vi khuẩn này đều mang gen *uvrC*, có kích thước 106bp đặc trưng của vi khuẩn *M. bovis*.



Hình 3.2: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gen *uvrC* (106bp) của các chủng vi khuẩn *M. bovis*

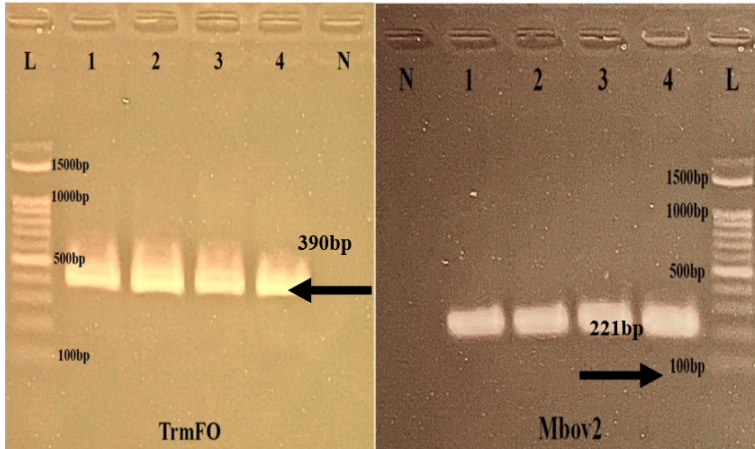
(Ghi chú: thang ADN (L), mẫu đối chứng âm (N) và dương (P), mẫu thí nghiệm (1-9))

Kết quả của chúng tôi phù hợp với Niu và cs. (2021) khi cho biết, áp dụng kỹ thuật PCR xác định sự có mặt của gen *uvrC* bằng cặp mồi đặc hiệu cho kết quả 100% số chủng vi khuẩn *M. bovis* đều mang gen *uvrC*.

Đã tiến hành gửi một mẫu sản phẩm PCR sang phòng thí nghiệm Axil Scientific Pte Ltd (Singapore) để tiến hành giải trình tự. Kết quả thu được khẳng định sản phẩm PCR là vi khuẩn *M. bovis*.

3.2.1.4. Xác định một số gen độc lực của vi khuẩn *M. bovis* phân lập

được



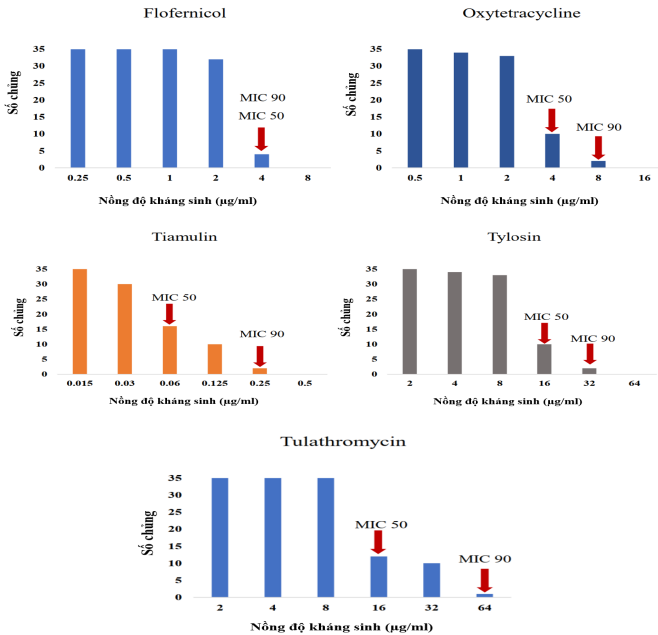
Hình 3.3: Kết quả điện di xác định gen TrmFO (390bp) và Mbov2 (221bp)

(Ghi chú: mẫu dương tính (1-4), thang ADN (L), đối chứng âm (N))

Bảng 3.7 và hình 3.3 cho thấy 100% số chủng mang 2 gen mã hóa yếu tố bám dính là TrmFO có kích thước 390bp và Mbov-2 có kích thước 221bp.

Guo và cs. (2017) cho biết gen TrmFO tương đồng 98% với các chủng *M. bovis* khác nhau. Sachse và cs., (2000) khi cho biết: đoạn gen ISMbov2A có vai trò liên quan tới tính bám dính của vi khuẩn này. Li và cs. (2011) cho biết có 6 phần tử (element) của *M. bovis* là ISMbov1, ISMbov2, và ISMbov3 ISMbov4, ISMbov5, và ISMbov6.

3.2.1.5. Xác định tính miễn cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn *M. bovis* phân lập được



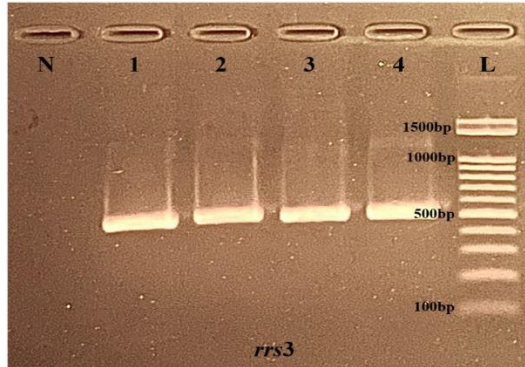
Biểu đồ 3.2 cho thấy giá trị MIC90 lần lượt là 4; 8; 0,25; 32; và 64 µg/ml đối với florfenicol, oxytetracycline, tiamulin, tylosin, và tulathromycin. So với giá trị giới hạn trong công bố của Hannan (2020) thì vi khuẩn có mức mẫn cảm trung bình với kháng sinh oxytetracycline, florfenicol, tulathromycin và kháng kháng sinh tylosin theo giá trị giới hạn của Ammar và cs. (2022).

Kết quả của chúng tôi thấp hơn so với Sulyok và cs. (2014), Hata và cs. (2019), Liu và cs. (2020), tương đối phù hợp với Barberio và cs. (2016) về các kháng sinh được thử nghiệm. Đối với kháng sinh tulathromycin thì kết quả của chúng tôi lại thấp hơn so với báo cáo của Jelinski và cs. (2020).

3.2.1.6. Xác định một số gen kháng kháng sinh của vi khuẩn *M. bovis* phân lập được

100% số chủng vi khuẩn thử nghiệm đều mang gen *rrs3* có kích thước 508bp. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Amram và cs. (2015); Niu và cs. (2022) cho biết đột biến đơn điểm trên gen *rrs3* và *rrs4* là nguyên nhân dẫn tới sự đề kháng của vi khuẩn với các kháng

aminoglycoside và fluoroquinolone, tetracycline.



Hình 3.5: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gen *rrs3* (508bp)
(Ghi chú: mẫu dương tính (1-4), thang ADN (L), đối chứng âm (N))

3.2.2. Một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *Klebsiella* gây bệnh viêm vú bò sữa

3.2.2.1. Kết quả phân lập vi khuẩn *Klebsiella* từ mẫu sữa bò bị và không bị viêm vú

Bảng 3.9: Kết quả phân lập vi khuẩn *Klebsiella* từ bò bị và không bị viêm vú

Diễn giải	Bò viêm vú	Bò không viêm vú
Số mẫu phân lập	4.025	120
Số mẫu dương tính	848	4
Tỷ lệ (%)	21,1	3,3

Vi khuẩn *Klebsiella* chiếm tỷ lệ 21,1% mẫu sữa bò bị viêm vú và 3,3% mẫu sữa bò không bị bệnh.

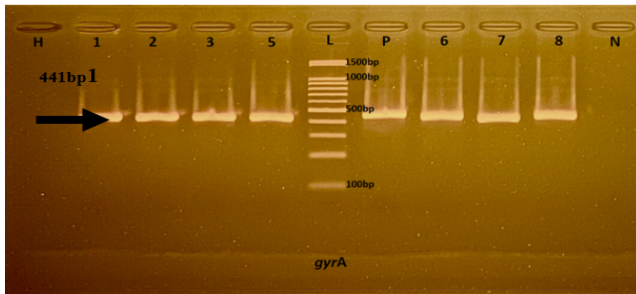
Đối với bò không bị viêm vú, kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với Nahar và cs. (2021) khi biết kết quả này là 30%.

Đối với bò bị viêm vú, kết quả của chúng tôi cao hơn so với Nguyễn Văn Phát (2010) cho biết kết quả 0,7%; Gao và cs. (2017) báo cáo 13,0%; Dalanezi và cs. (2020) cho biết *Klebsiella* chiếm 7,9%. Tuy nhiên, Salauddlin và cs. (2019) cho biết kết quả là 62,5%.

3.2.2.2. Giám định đặc tính sinh hóa của vi khuẩn *Klebsiella* phân lập được

100% cho kết quả lên men đường glucose, sucrose, và lactose, đồng thời vi khuẩn này cũng có khả năng sinh hơi. Vi khuẩn *Klebsiella* không sinh H_2S , không có khả năng di động, không sản sinh indole, phản ứng MR âm tính, VP dương tính, có khả năng phân giải citrate và phản ứng oxidase âm tính, kết quả này phù hợp Rawy và cs., (2020); He và cs., (2022).

3.2.2.3. Xác định một số chủng vi khuẩn *Klebsiella* phân lập được bằng kỹ thuật sinh học phân tử



Hình 3.7: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gen *gyrA* (441bp) của vi khuẩn *Klebsiella* spp.

(Ghi chú: thang ADN (L), mẫu đối chứng âm (N), H (nước PCR) và dương (P), mẫu thí nghiệm (1-8))

100% chủng *Klebsiella* đều mang gen *gyrA* có kích thước 441bp đặc trưng.

Fatima và cs. (2021) cho biết 30 mẫu phân lập được vi khuẩn giả định là *K. pneumoniae* bằng phương pháp nuôi cấy, nhưng chỉ 21 chủng được xác định có mang gen *gyrA*. Do đó, việc xác định kết quả phân lập và giám định sinh hóa đối với vi khuẩn *Klebsiella* bằng kỹ thuật PCR xác định gen *gyrA* là cần thiết.

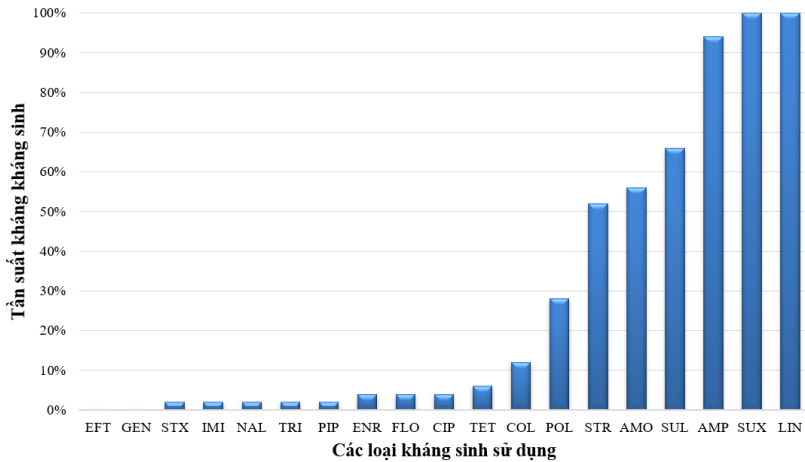
3.2.2.4. Xác định một số gen độc lực của vi khuẩn *Klebsiella* phân lập được

Tỷ lệ chủng mang gen K1 chiếm 4%, *fimH* chiếm 100% (kích thước 688bp), 98% gen *entB* (kích thước 371bp), không có chủng nào mang các gen K2, *magA*, *rmpA*, và *iutA*.

Cheng và cs. (2021) cho biết, không phát hiện chủng *Klebsiella* nào mang gen K1 và K2 nhưng 100% mang gen *entB*, 12% *iutA*, 94% *fimH*, và 3% *rmpA*. Tianle và cs. (2022) cũng báo cáo tỷ lệ lưu hành của gen *fimH* là 100%, *iroN* là 4,4%, và *rmpA* chiếm 4,4%.

Như vậy, kết quả của chúng tôi có sự tương đồng với các tác giả trên.

3.2.2.5. Xác định khả năng miễn cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Klebsiella*



Biểu đồ 3.3: Khả năng miễn cảm với kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Klebsiella* phân lập được

100% vi khuẩn *Klebsiella* kháng SUX và LIN, 94% kháng AMP, 66% kháng SUL. Tỷ lệ kháng các kháng sinh AMO, STR, POL, COL, TET lần lượt là 56%, 52%, 28%, 12%, và 6%. Có 2/50 chủng kháng CIP, FLO và ENR, theo sau là 1/50 chủng kháng PIP, TRI, NAL, IMI, và STX. Không có chủng nào kháng GEN và EFT.

Massé và cs. (2020) cho biết 58% miễn cảm hoàn toàn với EFT, CIP, FLO, GEN, NAL, STR, STX, TET; tỷ lệ kháng STR là 38%, và TET 19%. Ali và cs. (2021) cho biết vi khuẩn kháng LIN 98,0%; oxytetracycline 89,3%; AMP 86,1%; STR 67,2%; AMO 66,0%; norflorxacin 34,6%; ENR 11,7%; và GEN là 8,5%.

Chúng tôi thấy GEN và EFT là những lựa chọn tốt cho điều trị bệnh viêm vú gây ra bởi vi khuẩn *Klebsiella*.

3.2.2.6. *Xác định sự đa kháng của các chủng vi khuẩn Klebsiella phân lập được*

Bảng 3.14 cho thấy, 94% chủng *Klebsiella* là đa kháng.

Kết quả của chúng tôi cao hơn tại Canada, Massé và cs. (2020) cho biết tỷ lệ đa kháng là 2%, tại Trung Quốc, Tianle và cs. (2022) báo cáo tỷ lệ 19,1%, còn kết quả 43,9% được ghi nhận bởi Wu và cs. (2022).

Như vậy, tuy có khác nhau về kết quả nhưng sự đa kháng của các chủng *Klebsiella* gây viêm vú là đáng quan tâm.

3.2.2.7. *Kết quả xác định khả năng sản sinh men phân giải kháng sinh β -lactam của các chủng vi khuẩn Klebsiella phân lập được*

Kết quả cho thấy không có chủng *Klebsiella* nào được xác định có khả năng sản sinh men (ESBL) này.

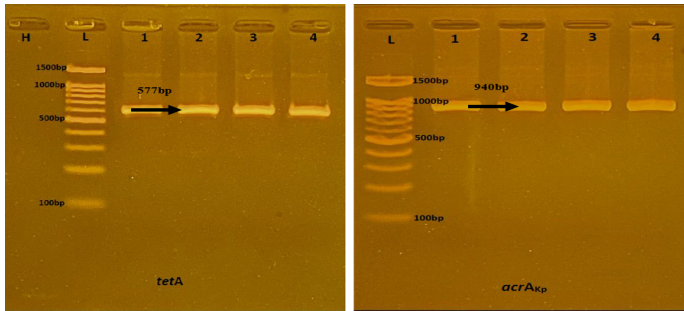
Nobrega và cs. (2021) nghiên cứu tại Brazil cho biết 98,2% số chủng *Klebsiella* gây viêm vú không có khả năng sản sinh men ESBL.

Silva-Sanchez và cs., (2021) khi cho biết đa số vi khuẩn *Klebsiella* gây viêm vú bò sữa là đa kháng và có sản sinh men ESBL.

Theo sự hiểu biết của chúng tôi thì đây là nghiên cứu sàng lọc đầu tiên về khả năng sản sinh men ESBL của các chủng *Klebsiella* gây viêm vú bò sữa ở Việt Nam cho đến thời điểm hiện tại.

3.2.2.8. *Kết quả xác định một số gen kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn Klebsiella phân lập được*

100% chủng mang gen $acrA_{Kp}$ kích thước 940bp; 94% chủng có chứa gen bla_{SHV} , 8% bla_{NDM} và không thấy sự xuất hiện các gen bla_{TEM} , $bla_{CTX-M-3}$, bla_{KPC} , $bla_{CTX-M-3}$ và bla_{IMP} ở tất cả các chủng được kiểm tra; phát hiện 4% chủng mang gen $sul1$ và 2% chủng mang gen $sul2$; 100% mang gen $tetA$ và 0% $tetB$; $qnrA$.



Hình 3.9: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gen *tetA*, *acrA_{Kp}*
(Ghi chú: *tetA* (1-4) 577bp, *acrA_{Kp}* (5-8) 940bp, đối chứng âm (H), thang ADN (L))

Padilla và cs. (2017) cho biết AcrAb có liên quan tới sự kháng các kháng sinh quinolone và 1 số hợp chất kháng khuẩn khác, và cả các chuỗi peptide kháng khuẩn của vật chủ.

Enferad và Mahdavi. (2021) cho biết, tỷ lệ các gen *bla_{CTX}*, *bla_{SHV}*, và *bla_{TEM}* lần lượt là 62,5%, 42,5%, and 87,5%. Safia và cs., 2013 không phát hiện gen *bla_{SHV}* nhưng phát hiện gen *bla_{TEM-1}* với tỷ lệ 2,2%. Yang và cs. (2021) cho biết tại Trung Quốc 16,7% mang gen *bla_{CTX}*, 68,2% *bla_{SHV}*, 30,3% *tetA*. Aslam và cs. (2022) cho biết *Klebsiella* gây viêm vú ở bò sữa có tỷ lệ gen *sul1* là 39% còn *sul2* là 44%. Ahmed và cs. (2021) cho biết 14,3% *Klebsiella* mang gen *qnrA*.

3.2.3. Một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh viêm vú bò sữa

3.2.3.1. Phân lập vi khuẩn *E. coli* từ mẫu sữa bò viêm và không viêm vú

Bảng 3.17: Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* từ bò viêm và không viêm vú

Diễn giải	Bò viêm vú	Bò không viêm vú
Số mẫu phân lập	4025	120
Số mẫu dương tính	306	0
Tỷ lệ (%)	7,6	0,0

Đối với bò không bị viêm vú, Megersa và cs. (2019) cho biết 40%

mẫu phân lập được vi khuẩn *E. coli*; Geletu và cs. (2022) báo cáo kết quả 9,6%.

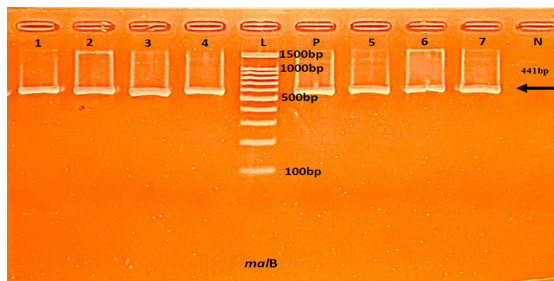
Đối với bò bị viêm vú, Phạm Bảo Ngọc (2003) cho biết tỷ lệ phân lập vi khuẩn *E. coli* là 19,6%; Trương Quang và cs (2008) báo cáo 30%; Nguyễn Văn Phát (2010) là 2,5%. Kết quả được ghi nhận tại Trung Quốc từ 12,2% tới 18,5% (Gao và cs., 2017; Liu và cs., 2018; Lan và cs., 2020)

Như vậy, kết quả của nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ phân lập vi khuẩn này tại các trang trại thấp hơn so với nhiều báo cáo trước đó.

3.2.3.2. Kết quả giám định đặc tính sinh hóa của vi khuẩn *E. coli* phân lập được

100% vi khuẩn *E. coli* sinh indole; lên men các loại đường glucose, sucrose và lactose; sinh hơi, không sản sinh H₂S; không có khả năng sử dụng citrate; phản ứng VP âm tính, MR dương tính. Phát hiện 4 chủng *E. coli* không có khả năng di động. Tất cả các đặc tính sinh hoá học này của các chủng *E. coli* phân lập được tương đồng với báo cáo của Adkins và cs. (2017); Megersa và cs. (2019).

3.2.3.3. Xác định một số chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được bằng kỹ thuật sinh học phân tử



Hình 3.11: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gen *malB* (585bp) của vi khuẩn *E. coli*

(Ghi chú: thang ADN (L), mẫu đối chứng âm (N) và dương (P), mẫu thí nghiệm (1-7))

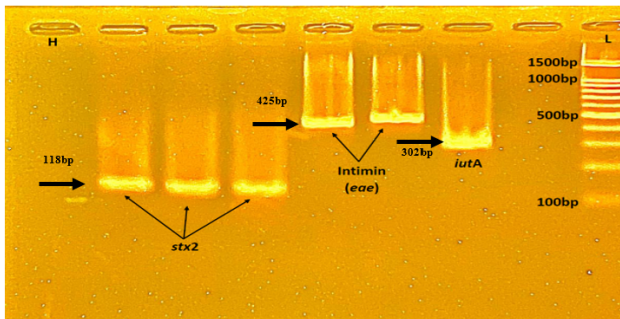
Hình 3.11 cho thấy 100% chủng vi khuẩn *E. coli* đều mang gen *malB* có kích thước ở khoảng 585bp đặc trưng.

Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với Bag và cs. (2021) khi cho

biết quy trình nuôi cấy phân lập sử dụng thạch Eosin methylene blue để tìm kiếm khuẩn lạc đặc trưng sau đó khẳng định bằng phương pháp PCR xác định sự có mặt của gen *malB* và giải trình tự gen 16S rARN là cần thiết để đảm bảo độ chính xác.

3.2.3.4. Kết quả xác định một số yếu tố độc lực của vi khuẩn *E. coli* phân lập được

Hình 3.12 cho thấy, phát hiện 2 chủng mang gen *eae* (425bp) chiếm tỷ lệ 4%, 1 chủng mang gen *iutA* (302bp) chiếm tỷ lệ 2%, 3 chủng có mang gen *stx2* (118bp) (6%).



Hình 3.12: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gen *iutA* (302bp), *stx2* (118bp), *eae* (425bp)

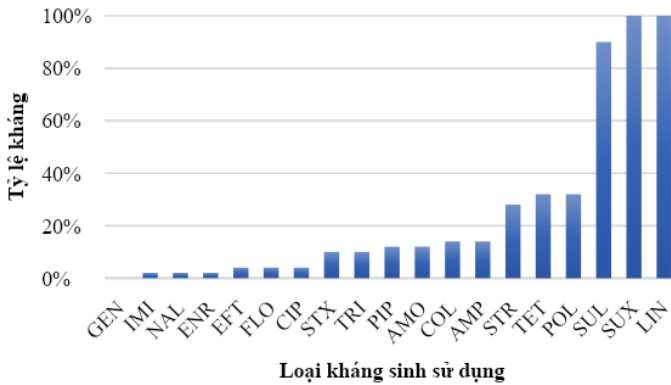
(Ghi chú: mẫu dương tính (1), mẫu âm tính (2-4), thang ADN (L), đối chứng âm (H - H₂O))

Fernandes và cs. (2011) phát hiện 100% các chủng *E. coli* mang gen *fimH* và không có chủng nào mang gen F5, F41, hay *eae*. Ahmadi và cs. (2020) cho biết, tỷ lệ mang gen *eae* là 20,5%, trong đó 75% số chủng đồng thời mang gen *stx2*, và 25% cùng mang gen *stx1*, *stx2*. Hamideh và cs. (2021) cho biết các chủng vi khuẩn lần lượt mang các gen *iroN*, *iutA* với tỷ lệ tương ứng là 14,0% và 12,1%.

3.2.3.5. Kết quả xác định tính miễn cảm kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được

Biểu đồ 3.4 cho thấy, vi khuẩn *E. coli* kháng hoàn toàn với SUX và SUX (100%), 90% chủng kháng SUL. 32% đối với TET và POL; 38% đối với STR; 14% đối với AMP, COL, AMO và PIP; 10% đối với TRI

và SXT, kết quả kháng đối với CIP, FLO và EFT là 4% số chủng; có 1 chủng (2%) kháng ENR, NAL axit, và IMI; không có chủng nào kháng GEN.



Biểu đồ 3.4: Khả năng miễn cảm với kháng sinh của vi khuẩn *E. coli*

Yu và cs. (2020) nghiên cứu tại Trung Quốc cho biết: vi khuẩn này kháng penicillin 100%, oxacillin 98,8%; AMP 30,1%; AMO 25,3%; CIP 4,8%, ENR 4,8%; norfloxacin 4,8%; TET 12,0%; trimethorpin 22,9%; STR 13,3%; GEN 12,0%; LIN 98,8%.

Kết quả của chúng tôi tương đối phù hợp với tác giả trên.

3.2.3.6. Kết quả xác định sự đa kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được.

Có 23 chủng *E. coli* đa kháng kháng sinh chiếm 46%.

Awosile và cs. (2018) cho biết tỷ lệ vi khuẩn *E. coli* gây viêm vú bò sữa đa kháng là 12,7%; Bag và cs., (2021) cho biết tại Bangladesh kết quả là 84,2%.

Kết quả của nghiên cứu này khác biệt với các báo cáo trên.

3.2.3.7. Xác định sự sản sinh men phân giải kháng sinh nhóm β -lactam của các chủng *E. coli* phân lập được

Không có chủng *E. coli* nào được xác định có khả năng sản sinh men này.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với Saini và cs. (2012), và ở Pháp do Dahmen và cs. (2013) thực hiện. Trong khi đó, tại Hy Lạp là 6,7% (Filioussis và cs., 2020), ở Ai Cập là 100% (Ahmed và cs., 2021).

Theo sự hiểu biết của chúng tôi, đây là nghiên cứu sàng lọc đầu tiên về sự sản sinh men ESBL của các chủng *E. coli* gây viêm vú bò sữa ở Việt Nam cho đến thời điểm hiện tại.

3.2.3.8. Kết quả xác định một số gen kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được

Bảng 3.24 cho thấy, vi khuẩn *E. coli* gây viêm vú bò sữa mang 4 gen khác nhau gồm *tetA* (577bp) và *tetB* (634bp) (hình 3.13) mỗi gen có tỷ lệ 12%, *sul1* với tỷ lệ 26% còn *sul2* là 30%, không phát hiện chủng *E. coli* nào mang các gen như *bla_{SHV}*; *bla_{OXA48}*; *bla_{KPC}*; *DHFR-I* hay *qnrA*.

Lan và cs. (2020) cho biết tỷ lệ vi khuẩn *E. coli* gây viêm vú bò sữa mang gen *tetA* là 75% trong khi không phát hiện *tetB*; Rana và cs. (2022) báo cáo tỷ lệ là 35,3% *tetA*, 20,6% *terB*, 47,1% *sul1*, 32,4% *sul2*.

Gen mã hóa sự sản sinh men ESBL cũng như kháng kháng sinh nhóm β -lactam được công bố trên thế giới gồm *bla_{TEM}*; *bla_{OXA}*; *bla_{KPC}* từ 6,4% tới 98,7% (Ali và cs., 2016; Yu và cs., 2020; Lan và cs., 2020; Song và cs., 2020; Bag và cs., 2021; Liu và cs., 2021).

Yu và cs. (2020) nghiên cứu tại Trung Quốc cho biết tỷ lệ xuất hiện gen DHFR-I là 14,5%, không phát hiện chủng nào có mang gen *qnrA*.

Như vậy, kết quả của chúng tôi có sự phù hợp và khác biệt tương đối với các tác giả trên.

3.3. Nghiên cứu và đề xuất biện pháp phòng trị bệnh viêm vú cho bò sữa

3.3.1. Nghiên cứu một số biện pháp phòng bệnh viêm vú cho bò sữa

3.3.1.1. Thử nghiệm ảnh hưởng của phương pháp xử lý chất độn nền chuồng tới tỷ lệ mắc bệnh viêm vú

Tỷ lệ mắc bệnh tại thời điểm 30 ngày thí nghiệm của lô thí nghiệm (LTN) là 2,0% và lô đối chứng (LĐC) (3,5%) ($P > 0,05$); tại thời điểm 60 ngày, LTN 2,6% và LĐC là 4,6% ($P > 0,05$). Tuy nhiên, tới 90 ngày thí nghiệm thì tỷ lệ mắc bệnh của LTN thấp hơn so với LĐC, và sự sai khác này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả của chúng tôi phù hợp với Fournel và cs. (2019b) cho biết quá trình xử lý bã tách bằng công nghệ ủ nhanh làm giảm lượng vi khuẩn *E. coli* từ $1,0 \times 10^5$ còn $2,0 \times 10^1$, và *Klebsiella* từ $3,2 \times 10^4$ còn $4,0 \times 10^2$ vi khuẩn/ g sau 24 tiếng, qua đó làm giảm đáng kể tỷ lệ mắc bệnh viêm vú bò sữa.

3.3.1.2. Thử nghiệm ảnh hưởng của nồng độ hóa chất sát trùng núng vú tới tỷ lệ mắc bệnh viêm vú ở bò sữa

Tỷ lệ mắc bệnh viêm vú của LTN1 thấp hơn LTN2 tuy nhiên không có ý nghĩa ($P > 0,05$). Thời điểm 60 hay 90 ngày thí nghiệm tỷ lệ mắc bệnh của LTN1 thấp hơn đáng kể so với LTN2 (2,7% so với 8,2% tại thời điểm tới 60 ngày, 2,1% so với 7,6% tại thời điểm tới 90 ngày thí nghiệm) ($P < 0,05$).

Không có các nghiên cứu tương tự để có thể so sánh, tuy nhiên một số nghiên cứu đánh giá về hiệu quả của việc sử dụng hóa chất sát trùng trước vắt sữa không ảnh hưởng tới tỷ lệ viêm vú (Singh và cs., 2019); Fitzpatrick và cs., 2021)

Như vậy, theo kết quả thử nghiệm này thì việc sử dụng hóa chất sát trùng trước và sau vắt sữa, cũng như nồng độ có ảnh hưởng của hóa chất có ảnh hưởng tới tỷ lệ mắc bệnh.

3.3.1.3. Thử nghiệm phòng bệnh bằng vắc xin Rotatec J5

Tiêm vắc xin ở bò tơ mang thai lứa đầu cũng như bò rạ có làm giảm tỷ lệ mắc bệnh viêm vú ở 30, 60 hay 90 ngày theo dõi so với LDC ($P > 0,05$). Giai đoạn 30 ngày, giữa 2 lô cũng không có sự khác biệt nào về tỷ lệ mắc các thể viêm vú, giai đoạn 60 và 90 ngày thì LTN có giảm đáng kể tỷ lệ viêm vú ở thể vừa so với LDC ($P < 0,05$), nhưng không có sự khác biệt về thể nhẹ và thể nặng ($P > 0,05$).

Wilson và cs. (2007); Gurjar và cs. (2013) cho biết, bò được tiêm vắc xin không làm giảm tỷ lệ mắc bệnh, tuy nhiên có làm giảm mức độ nghiêm trọng của bệnh. Gentilini và cs. (2012) cho biết nhóm bò được tiêm vắc xin có tỷ lệ viêm vú lâm sàng thấp hơn đối với nhóm không tiêm. Sánchez-Castro và cs. (2023) cho biết bò được tiêm vắc xin cho sản lượng cao hơn bò không tiêm là 163,9 kg/ chu kỳ 305 ngày.

Như vậy, kết quả của chúng tôi cho thấy việc tiêm vắc xin J5 có làm giảm mức độ nghiêm trọng của bệnh đối với bò cho sữa chu kỳ thứ 1 và 2.

3.3.1.4. Thử nghiệm phòng bệnh viêm vú ở bò sữa bằng chất bịt núng vú Teatseal

LTN có tỷ lệ bò bị viêm vú 1,3%, LDC 6,0% trong 30 ngày đầu ($P <$

0,05). Giai đoạn 30 - 60 ngày mặc dù LTN thấp hơn LDC về số lượng, nhưng sự sai khác này là không có ý nghĩa ($P > 0,05$).

Việc sử dụng Teatseal ở LTN cho kết quả về tỷ lệ viêm vú trong 30 ngày đầu thấp hơn rõ rệt so với LDC ($P = 0,045$), kết quả tương tự ở thời điểm từ 30 - 60 ngày tiếp theo ($P = 0,050$).

Freu và cs. (2020) cho biết: việc cặn sữa cho bò bằng liệu pháp sử dụng kháng sinh kết hợp với chất bịt núm vú làm giảm nguy cơ mắc viêm vú đối với bò tới 60 ngày cho sữa, nguy cơ mắc viêm vú do các mầm bệnh phổ biến so với bò cặn sữa bằng liệu pháp chỉ sử dụng kháng sinh.

Như vậy, qua hai thí nghiệm này cho thấy việc sử dụng chất bịt núm vú có hiệu quả làm giảm tỷ lệ bò mắc viêm vú, và kết quả này phù hợp với tác giả khác đã công bố trước đó.

3.3.1.5. Kiểm soát và cải thiện SCC trong phòng viêm vú cận lâm sàng

Tỷ lệ bò có số lượng SCC lớn hơn 300.000 năm 2021 và 2022 là 15%, năm 2023 là 14%.

Al-harbi và cs. (2021) cho biết tỷ lệ bò viêm vú tại các trang trại có số lượng SCC trên 300.000 chiếm 9,3%. Trong nghiên cứu này, chưa thực hiện việc xây dựng mối tương quan giữa bò có SCC trên 300.000 và tỷ lệ mắc bệnh viêm vú. Tuy nhiên, kết quả trên cho thấy duy trì tỷ lệ bò có SCC trên mức 300.000 thấp có thể giảm thiểu rủi ro mắc bệnh viêm vú.

3.3.2. Đánh giá hiệu quả của một số phác đồ điều trị bệnh viêm vú ở bò sữa do *Klebsiella* và *E. coli* gây ra

3.3.2.1. Kết quả một số phác đồ điều trị bệnh viêm vú

Phác đồ 1 (không sử dụng kháng sinh) cho kết quả điều trị tốt đối với bò viêm vú thể nhẹ, tỷ lệ khỏi lên tới 85,7%. Phác đồ 2 đối với viêm thể vừa tương ứng là 63,3%. Phác đồ 3 áp dụng cho viêm vú thể nặng, có kết quả điều trị kém nhất với kết quả khỏi là 45,9%.

Goulart và Mellata (2022) khi cho biết, điều trị viêm vú bằng kháng sinh đối với viêm vú do *Klebsiella*, *E. coli* và các vi khuẩn coliform khác là không cần thiết. Các liệu pháp hỗ trợ như truyền dịch, chống sốc, kháng viêm nên được lựa chọn đầu tiên.

Như vậy, có thể thấy rằng kết quả này phù hợp với tác giả trên.

3.3.2.2. *Kết quả điều trị viêm vú lâm sàng theo thể bệnh*

Bò viêm vú do vi khuẩn *Klebsiella*, *E. coli* có tỷ lệ hồi phục đối với thể viêm nhẹ là rất cao (84,5% và 90,0%) và kết quả này giảm dần khi bò bị viêm ở thể vừa (59,3% và 73,1%) đến thể nặng (40,7% và 54,8%).

Sugiyama và cs. (2022) cho biết, bò viêm vú thể nặng do *Klebsiella*, *E. coli* có tỷ lệ điều trị khỏi lâm sàng từ 52,8% (*Klebsiella*) tới 86% (*E. coli*).

Như vậy, kết quả của chúng tôi phù hợp với tác giả trên.

3.3.2.3. *Khảo sát kết quả điều trị khỏi về mầm bệnh*

Bò bị viêm vú do *Klebsiella* có tỷ lệ khỏi về mầm bệnh chiếm tỷ lệ 31,9%, loại thải 27,7%; kết quả này ở *E. coli* là 46,9% và 19,1%. Tỷ lệ khỏi về mặt vi sinh của bò viêm vú do *E. coli* là cao hơn *Klebsiella* ($P = 0,001$). Tỷ lệ loại thải của bò viêm vú do *Klebsiella* cao hơn *E. coli* ($P = 0,031$).

Suojala và cs. (2010) cho biết kết quả điều trị khỏi vi sinh đạt tới 90,5% đối với bò viêm vú do *E. coli*. Fuenzalida và Ruegg (2019a) cho biết tỷ lệ khỏi về mặt vi sinh của bò viêm vú do *Klebsiella* đạt tới 74%, tỷ lệ loại thải bò viêm vú do *Klebsiella* là 22,0%, và 7,0% do *E. coli*.

Như vậy, kết quả của chúng tôi có sự khác biệt so các tác giả trên.

3.3.3. *Biện pháp tổng hợp phòng, trị bệnh viêm vú ở bò sữa*

Chúng tôi đề xuất biện pháp phòng trị bệnh tổng hợp đối với bệnh viêm vú bò sữa gồm: dùng bã tách được ủ nhanh (BRU) làm chất độn nền, hóa chất ở nồng độ 1:4 (TeatX), tiêm vắc xin J5, sử dụng chất bịt núm vú (Teatseal) để cặn sữa, kiểm tra số lượng tế bào SCC để điều trị sớm, tách bò bệnh nghi ngờ để thử CMT. Điều trị dựa trên thể bệnh: thể nhẹ và vừa, chưa tiến hành điều trị ngay mà tiến hành lấy mẫu gửi phòng thí nghiệm, cách ly và theo dõi, điều trị theo kết quả (*E. coli*, *Klebsiella*: căn cứ tình trạng của bò để điều trị phác đồ hỗ trợ không kháng sinh (truyền dịch, chống sốc, kháng viêm) nếu cần nếu các triệu chứng lâm sàng trở nặng thì sử dụng phác đồ 2 hoặc 3; *M. bovis* thì tiến hành loại thải). Thể nặng, lấy mẫu và điều trị ngay với phác đồ 3.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

Bò sữa nuôi tại các trang trại TH bị viêm vú chiếm tỷ lệ trung bình hằng năm là 34,8%, tần suất mắc bệnh từ 1 tới 6 lần. Bò bị viêm vú hầu hết là thể nhẹ và vừa, chiếm 90,7%, thể nặng chiếm 9,3%.

Vi khuẩn *M. bovis*, *Klebsiella*, và vi khuẩn *E. coli* phân lập được từ mẫu sữa bò bị viêm vú có đặc tính sinh vật, hóa học đặc trưng của giống, loài; có các yếu tố gây bệnh điển hình:

Vi khuẩn *M. bovis* không xuất hiện ở mẫu sữa bò khỏe, nhưng chiếm tỷ lệ 3,6% ở bò viêm vú; 100% mang gen *uvrC* và các đặc trưng sinh hóa; 100% mang 3 gen độc lực Mbov2, TrmFO và *rrs3*. Trong số 5 loại kháng sinh thử nghiệm chỉ có tiamulin còn tính miễn cảm.

Vi khuẩn *Klebsiella* phân lập được ở mẫu sữa bò khỏe chiếm tỷ lệ 3,3% còn bò bị viêm vú là 21,1%; 100% mang gen *gyrA* và các đặc trưng sinh hóa; kháng 17 loại kháng sinh thử nghiệm với tỷ lệ từ 2% - 100%, miễn cảm với ceftiofur và gentamicin; không sản sinh men ESBL; 94% đa kháng; mang 3 gen mã hóa yếu tố độc lực với tần suất từ 4,0% - 100%, và 6 gen liên quan kháng kháng sinh có tỷ lệ 2,0% - 100%.

Vi khuẩn *E. coli* không phân lập được từ mẫu sữa bò khỏe nhưng chiếm tỷ lệ 7,6% ở mẫu sữa bò viêm vú, 100% mang gen *malB* và các đặc trưng sinh hóa; kháng 18 loại kháng sinh thử nghiệm với tỷ lệ từ 2% - 100%, miễn cảm với gentamicin; 46% là đa kháng; không sản sinh men ESBL; mang 3 gen mã hóa yếu tố độc lực với tần suất từ 2,0% - 6,0%, 4 gen liên quan kháng kháng sinh có tỷ lệ 12,0% - 30,0%.

Các biện pháp phòng bệnh có hiệu quả bao gồm: xử lý chất độn nền chuồng bằng phương pháp ủ nhanh, sử dụng đúng nồng độ hóa chất sát trùng nướu vú, sử dụng vắc xin Rotatec J5, chất bột nướu vú trong liệu pháp cạo sữa. Bên cạnh đó, việc đảm bảo vệ sinh, định kỳ theo dõi số lượng tế bào SCC cũng là biện pháp tốt trong kiểm soát tỷ lệ mắc bệnh viêm vú ở bò sữa.

Phác đồ điều trị theo thể bệnh, kết hợp kháng sinh với các chất bổ trợ (điện giải, cung cấp năng lượng) cho hiệu quả điều trị bệnh viêm vú do

Klebsiella và *E. coli* ở thể nặng tốt với tỷ lệ khỏi từ 45,5 tới 85,6%. Kết quả điều trị khỏi về mặt vi sinh của các trường hợp viêm vú do *Klebsiella* thấp hơn *E. coli*, sự sai khác này có ý nghĩa.

2. Kiến nghị

- (1) Tiếp tục nghiên cứu về các đặc điểm khác gây bệnh viêm vú bò sữa của các vi khuẩn trong nghiên cứu này cũng như các loại mầm bệnh khác.
- (2) Nghiên cứu thử nghiệm các phác đồ điều trị mới với các loại kháng sinh được xác định có kết quả miễn cảm cao với các vi khuẩn gây bệnh.
- (3) Nghiên cứu thất thoát do bệnh viêm vú gây ra cho các trang trại chăn nuôi bò sữa, nhất là trong điều kiện chăn nuôi trang trại quy mô lớn.