

KẾT QUẢ PHÂN LẬP MỘT SỐ VI KHUẨN GÂY BỆNH VIÊM VÚ BÒ TẠI CÁC TRANG TRẠI BÒ SỮA TH

Trần Trung Mỹ¹, Lê Văn Thiện¹, Phạm Tuấn Hiệp¹, Đặng Xuân Bình²

TÓM TẮT

Nghiên cứu về hiện trạng bệnh viêm vú bò và sự hiện diện của các mầm bệnh liên quan để làm cơ sở cho việc xây dựng quy trình phòng và trị bệnh là hết sức cần thiết. Nghiên cứu về bệnh viêm vú bò và các vi khuẩn gây bệnh tại các trang trại bò sữa TH đã được thực hiện thông qua việc khảo sát thực địa và thống kê số liệu, thu thập và phân tích mẫu bệnh phẩm. Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm các tác nhân gây bệnh có nguồn gốc từ môi trường chiếm tỷ lệ 51,57% tổng số các tác nhân gây bệnh (chủ yếu là vi khuẩn *E. coli*, *Klebsiella*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus*,...). Nhóm mầm bệnh cơ hội chiếm khoảng 4,6%; chủ yếu là CNS (Coagulase negative *Staphylococci*). Nhóm các tác nhân lây nhiễm mới xác định được là vi khuẩn *Mycoplasma bovis* và *Staphylococcus aureus* nhưng với tỷ lệ rất thấp, chiếm khoảng 0,19% tổng số vi khuẩn phân lập được. Cường độ nhiễm của các tác nhân gây bệnh từ môi trường và tác nhân gây bệnh cơ hội chủ yếu ở mức 4+ (mức tối đa), điều này cho thấy mức độ ô nhiễm vi sinh của nền chuồng nuôi bò sữa là khá cao.

Từ khóa: Viêm vú, mầm bệnh môi trường, mầm bệnh cơ hội, mầm bệnh lây nhiễm, *E. coli*, *Klebsiella*, CNS, *Streptococci*, *Mycoplasma bovis*.

The isolation result of mastitis pathogens from TH dairy cow farms

Tran Trung My, Le Van Thien, Pham Tuan Hiep, Dang Xuan Binh

SUMMARY

Study on the incidence of clinical mastitis (CM) and the presence of the involved pathogens for developing the dairy cow mastitis prevention and control programs as well as treatment protocols is very essential. A study on dairy cow mastitis and its pathogens at the TH dairy cow farms was conducted. The content of this study included field investigation and data analysis, sampling and testing the specimens according to the TH laboratory procedures. The studied results showed that the pathogens from the environment accounted for 51.57% of the causative agents (mainly *E. coli*, *Klebsiella*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus*,...). The opportunity pathogens accounted for 4.6%, mainly CNS (Coagulase negative *Staphylococci*). The new group of infectious agent was determined to be *Mycoplasma bovis* and *Staphylococcus aureus* at low level, accounted for 0.19% of the isolated bacteria strains. The intensity of the main causative agents from the environment and opportunity pathogens was at 4+ (maximum level). It is indicated that the level of microbial contamination in the floor of the dairy cow house was relatively high.

Keywords: Mastitis, environmental pathogens, opportunity pathogens, contagious pathogens, *E. coli*, *Klebsiella*, CNS, *Streptococci*, *Mycoplasma bovis*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay các mô hình chăn nuôi bò sữa thâm canh, ứng dụng khoa học kỹ thuật phát triển khá nhanh. Cùng với sự phát triển đó, các vấn đề về sức khỏe đàn bò, đặc biệt là sức khỏe bầu vú càng được quan tâm và nghiên cứu. Bệnh viêm vú là một trong những bệnh gây thiệt hại kinh tế rất

lớn, có thể lên tới 26% chi phí các bệnh của bò sữa (Trương Văn Dung và cs., 2002), và gây tổn thất khoảng 35 tỷ đô la trên toàn thế giới (H. Castañeda Vázquez và cs., 2013).

J. Kvapilík và cs. (2015) đã nghiên cứu về thiệt hại tài chính liên quan tới bệnh viêm vú và cho biết mức tổn thất lên tới 250 bảng Anh cho

¹. Công ty CP thực phẩm sữa TH

². Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

1 ca viêm vú cận lâm sàng và 500 bảng Anh/1 ca lâm sàng trong 1 chu kỳ sữa. Còn T. Halasa và cs. (2007) cho biết mức thất thoát trung bình của bệnh này ở dạng lâm sàng là 287 bảng/ bò/năm, cận lâm sàng là 102 bảng.

Cristina Bogni và cs. (2011) cho biết có hơn 135 loại mầm bệnh được phân lập từ các mẫu sữa bò bị viêm vú, nhưng chủ yếu vẫn là các chủng *Staphylococcus*, *Streptococcus* và vi khuẩn Gram âm. Các mầm bệnh được phân thành 2 nhóm chính là vi khuẩn từ môi trường và vi khuẩn lây nhiễm, căn cứ vào nguồn mầm bệnh và cách thức lây nhiễm.

Nghiên cứu và chẩn đoán bệnh viêm vú hết sức được quan tâm tại các trang trại chăn nuôi tập trung và ứng dụng công nghệ cao của Công ty TH. Việc chẩn đoán tại phòng thí nghiệm được quan tâm nhằm xác định tác nhân gây bệnh, từ đó quyết định phác đồ điều trị.

Xuất phát từ thực tế trên, chúng tôi triển khai nghiên cứu: “Tỷ lệ phân lập một số vi khuẩn phổ biến gây bệnh viêm vú tại các trang trại bò sữa TH”.

II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn gây bệnh từ các mẫu thu thập được.

Phân loại vi khuẩn lây nhiễm theo nguồn gốc.

2.2. Nguyên liệu

Mẫu sữa bò bị viêm vú tại các trang trại của công ty cổ phần thực phẩm sữa TH tại Nghĩa Đàn - Nghệ An.

Môi trường nuôi cấy vi sinh thường quy.

Trang thiết bị phòng thí nghiệm.

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 8 năm 2019 tới tháng 8 năm 2020.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Để thực hiện nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng phương pháp lấy mẫu và quy trình nuôi cấy, phân lập của phòng thí nghiệm TH.

2.3.1. Phương pháp lấy mẫu

Mẫu lấy phải đảm bảo vệ sinh và không bị tạp nhiễm vi khuẩn từ bên ngoài.

Quá trình lấy mẫu tóm tắt như sau:

Chuẩn bị: Trước khi thực hiện lấy mẫu sữa từ bò bị viêm vú, cần thực hiện chuẩn bị các dụng cụ, vật tư như: ống mẫu vô trùng, bút ghi nhãn, găng tay, bông cotton, khăn sạch, thùng bảo ôn với đá khô lạnh. Nếu bảo quản mẫu lâu thì trang trại phải có tủ mát có khả năng giữ nhiệt độ từ 2 - 8°C, nhưng không quá 24 giờ.

Các bước thực hiện được mô tả ngắn gọn như sau: Ghi nhãn ống mẫu (số tai bò) → Vệ sinh bầu vú → Vắt bỏ từ núm vú cần lấy mẫu 1 vài tia sữa → Nhúng sát trùng núm vú cần lấy → Lau khô bằng khăn sạch → Dùng bông cotton sát trùng lại núm vú và đầu vú → Lấy mẫu bằng cách vắt nghiêng 45 độ giữa ống mẫu và núm vú sao cho tia sữa vào ống đựng → Lưu mẫu vào thùng bảo ôn hoặc tủ lạnh.

Lưu ý khi lấy mẫu: nếu bò bị viêm nhiều vú thì thực hiện lau vú từ phía trước ra sau, khi lấy mẫu thì lấy từ sau ra trước để tránh gây tạp nhiễm lên núm vú do thao tác lấy mẫu.

2.3.2. Quá trình nuôi cấy và phân lập

2.3.2.1. Nuôi cấy và phân lập vi khuẩn hiếu khí

Mẫu sau khi thu thập, được ria cấy (10 - 30μl) lên thạch máu và đem ủ ở 37±1°C trong 18 - 24 giờ, sau đó được đem ra đọc sơ bộ kết quả và thực hiện các bước tiếp theo như sau:

Nếu có trên 3 loại khuẩn lạc thì kết luận mẫu bị tạp nhiễm.

Nếu có từ 3 loại khuẩn lạc trở xuống thì tiến hành đánh giá mật độ và tiến hành các bước nhuộm gram, thực hiện cấy chuyển vào các nhóm môi trường sinh hóa đặc trưng và ủ trong 18 - 24 giờ để định danh ở ngày tiếp theo.

Nếu chưa có khuẩn lạc mọc thì được ủ tiếp thêm 18 - 24 giờ nữa. Sau đó, nếu tiếp tục không mọc thì kết luận mẫu không có mầm bệnh sống. Còn nếu mọc thì tiến hành đánh giá như 2 bước trên.

Đầu ngày thứ 3 hoặc ngày thứ 4, tiến hành đọc kết quả các phản ứng sinh hóa đặc trưng của từng

vi khuẩn để kết luận/ định danh.

Thẩm định ngẫu nhiên 1 số chủng vi khuẩn phân lập được bằng cách sử dụng bộ kit thử API 20E, API 20 Strep, API 20 Staph của hãng BioMérieux.

2.3.2.2. Nuôi cấy và phân lập vi khuẩn *Mycoplasma*

Mẫu sau khi thu thập, được cấy khoảng 100µl vào ống canh thang PPLO (Difco) và ủ trong 5-7 ngày ở 36±1°C với 5-10% CO₂, hàng ngày kiểm tra sự sinh trưởng của vi khuẩn thông qua sự chuyển màu chỉ thị và độ đục của môi trường, sau đó hút 100µl canh thang sau nuôi cấy và cấy trang lên thạch chọn lọc PPLO (Difco) (canh thang và thạch PPLO đều có bổ sung Thalium acetate, huyết thanh ngựa, Penicillin G) và ủ ở 36±1°C với 5-10% CO₂ trong 5-7 ngày, mỗi ngày đem đĩa thạch ra kiểm tra sự hiện diện của khuẩn lạc và thực hiện các bước tiếp theo như sau:

- Soi dưới kính hiển vi soi nổi tìm khuẩn lạc đặc trưng có hình trứng ốp lết (lồi, bám chặt vào mặt thạch).

- Khi phát hiện khuẩn lạc đặc trưng thì tiến hành thực hiện cấy chuyển vào môi trường sinh hóa.

- Đọc kết quả sinh hóa để định danh.

- Thẩm định ngẫu nhiên 1 số chủng vi khuẩn phân lập được bằng kỹ thuật PCR.

2.3.2.3. Đánh giá cường độ nhiễm

Để có số liệu về cường độ nhiễm, phòng thí nghiệm đã thực hiện đếm sơ bộ số khuẩn lạc mọc trên môi trường thạch máu và xác định mật độ theo quy định như sau:

Bảng 1. Quy định về xác định mật độ vi khuẩn

Mật độ	Diễn giải
1+	3-5 khuẩn lạc/mẫu
2+	5-10 khuẩn lạc/mẫu
3+	10-20 khuẩn lạc/mẫu
4+	>20 khuẩn lạc/mẫu

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ phân lập các vi khuẩn theo tháng

Trong giai đoạn thực hiện theo dõi, có tổng số

18.131 mẫu được thu thập và đã phân lập được 18.365 chủng loại vi khuẩn. Kết quả được tổng hợp ở bảng 2.

Với số lượng mẫu bình quân 1.400 mẫu/tháng, chúng tôi nhận thấy:

Nhóm các vi khuẩn gây bệnh từ môi trường bao gồm 1 số loài *Streptococcus* (hay còn gọi là *Streptococci* môi trường, phân biệt với *Streptococcus agalactiae*), và vi khuẩn dạng *Coliforms* chiếm tới hơn 51,57% số lượng các chủng vi sinh phân lập được. Trong bảng số liệu này, chúng bao gồm: *Bacillus*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacteriaceae* khác, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus* khác, *Yeast* (nấm men), *Fungi* (nấm).

Simon Dufour và cs. (2019) cho biết các mầm bệnh môi trường chủ yếu là *E. coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, một số cầu khuẩn gram dương có phản ứng catalase âm tính (còn gọi là *Streptococci* khác) khi nghiên cứu cách thức kiểm soát mầm bệnh viêm vú.

Nhóm các vi khuẩn cơ hội bao gồm các loại *Staphylococcus* khác ngoài *Staphylococcus aureus*, chúng thường là các loại *Staphylococci* âm tính với Coagulase – còn được gọi là CNS (Coagulase negative *Staphylococci*). CNS đang chiếm khoảng 4,6% số chủng vi khuẩn phân lập được từ các mẫu trong giai đoạn theo dõi. Nghiên cứu của D. W. Harjanti (2017) ở Indonesia cho biết tỷ lệ này là 26,7%.

Nhóm các vi khuẩn lây nhiễm (bao gồm *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium*). Trong thời gian nghiên cứu, các số liệu mới chỉ ra rằng số lượng các tác nhân gây bệnh có tính chất lây nhiễm chỉ chiếm khoảng 0,19% và mới chỉ có 2 loài được xác định là *Mycoplasma bovis* và *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus và *Streptococcus agalactiae* là 2 mầm bệnh lây nhiễm phổ biến và lây truyền giữa các gia súc thông qua tiếp xúc với sữa chứa mầm bệnh. Đây là 2 mầm bệnh quan trọng do chúng gây ra viêm vú cận lâm sàng và thường khó phát hiện (Cristina Bogni và cs., 2011).

Nhóm vi khuẩn gây bệnh từ cơ thể bò như *Pasteurella* cũng được xác định và chiếm khoảng 0,19%. Đây là vi khuẩn từ đường hô hấp của bò hoặc từ chim muông trong trang trại.

Bảng 2. Tỷ lệ vi khuẩn phân lập được theo tháng

Tháng	8/19	9/19	10/19	11/19	12/19	1/20	2/20	3/20	4/20	5/20	6/20	7/20	8/20	Trung bình
Số mẫu	1126	1008	1171	1158	1302	1253	1574	1805	1570	1896	1534	1295	1439	1395
<i>Bacillus</i>	0,27%	0,91%	0,68%	0,85%	0,23%	1,03%	0,57%	0,11%	0,32%	0,30%	0,45%	0,61%	0,55%	0,53%
<i>E. coli</i>	6,46%	8,08%	9,00%	11,96%	9,30%	12,33%	11,70%	8,56%	9,32%	8,04%	4,67%	4,61%	7,18%	8,55%
<i>Klebsiella</i>	23,55%	23,06%	27,25%	26,47%	16,46%	26,48%	28,11%	31,13%	25,49%	22,37%	18,95%	19,37%	20,58%	23,79%
<i>Enterobacter</i>	1,35%	1,00%	1,61%	1,45%	1,83%	1,82%	1,95%	1,20%	1,84%	1,04%	0,58%	1,15%	1,52%	1,41%
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,99%	0,61%	0,25%	0,26%	0,30%	0,16%	0,57%	0,27%	0,63%	0,50%	0,26%	0,46%	0,41%	0,44%
<i>Pseudomonas</i>	0,81%	1,55%	0,17%	0,34%	0,53%	0,47%	0,50%	0,33%	0,76%	0,84%	0,78%	0,23%	0,76%	0,62%
<i>Streptococcus uberis</i>	8,09%	4,85%	7,81%	9,56%	4,42%	4,58%	7,10%	7,52%	7,55%	11,66%	14,67%	13,22%	15,75%	8,98%
<i>Streptococcus</i> spp.	3,40%	3,41%	3,06%	4,70%	3,73%	3,87%	4,52%	4,96%	3,55%	5,56%	4,67%	6,92%	6,01%	4,49%
CNS	4,76%	4,84%	4,07%	2,82%	4,12%	3,40%	4,28%	5,29%	3,68%	5,26%	6,81%	6,46%	4,21%	4,62%
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,09%	0,10%	0,17%	0,26%	0,08%	0,40%	0,31%	0,11%	0,06%	0,25%	0,19%	0,31%	0,07%	0,18%
<i>Mycoplasma</i>	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,06%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Nấm	2,78%	3,37%	2,89%	2,65%	2,59%	3,40%	2,58%	2,89%	3,36%	2,53%	2,47%	2,46%	1,80%	2,75%
Nấm men	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
<i>Pasteurella</i>	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,05%	0,19%	0,55%	0,52%	0,77%	0,35%	0,19%
Không mọc	43,59%	45,58%	40,92%	36,72%	55,41%	40,87%	36,49%	36,04%	41,98%	39,34%	42,76%	42,20%	38,81%	41,59%
Tạp nhiễm	3,88%	2,63%	2,12%	1,96%	0,76%	1,11%	1,13%	1,42%	1,01%	1,79%	2,08%	1,23%	2,00%	1,78%
Không định danh được	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,23%	0,08%	0,13%	0,11%	0,25%	0,00%	0,13%	0,00%	0,00%	0,07%

Ngoài ra, còn lại 1 số lượng rất ít các tác nhân mà hiện tại phòng thí nghiệm chưa xác định (định danh) được; chiếm khoảng 0,07%.

Tỷ lệ tạp nhiễm chiếm 1,78% trong những mẫu thu thập (có từ 3 loại mầm bệnh cùng mọc trên môi trường nuôi cấy đầu tiên).

Tỷ lệ mẫu không phát hiện mầm bệnh sống trên môi trường nuôi cấy đầu tiên chiếm tới 41,59%. Nguyên nhân của việc không phát hiện mầm bệnh có thể là do lấy mẫu sai thời điểm, môi trường/ điều kiện nuôi cấy không phù hợp, bò đã được điều trị. František Zigo và cs. (2017) khi nghiên cứu trên đàn

bò ở phía Đông Slovakia cho biết tỷ lệ không phát hiện vi sinh chiếm tới 80,5% (1031/1280 mẫu).

Carla M. Duarte và cs. (2015) cũng cho biết về tỷ lệ không mọc (không phát hiện mầm bệnh) có thể tới 30%. Nhưng kỹ thuật PCR với độ nhạy tốt để phát hiện được các mầm bệnh bị ức chế phát triển hoặc khó phát hiện.

3.2. Tỷ lệ phân lập các vi khuẩn theo trang trại

Tỷ lệ phân lập các mầm bệnh theo các trang trại được thống kê thông qua bảng số liệu sau (Trang trại 1 và 2 được hợp nhất với nhau và hình thành nên trang trại 1+2).

Bảng 3. Tỷ lệ vi khuẩn phân lập được theo trang trại

Trang trại	1+2	3	4	5	6	8	Hữu cơ	Cách ly
Số mẫu	6439	1275	2224	2278	2520	2982	185	228
<i>Bacillus</i>	0,40%	1,25%	0,41%	0,66%	0,46%	0,40%	0,00%	0,42%
<i>E. coli</i>	7,19%	24,08%	12,04%	6,50%	6,99%	4,20%	8,02%	19,92%
<i>Klebsiella</i>	25,64%	9,66%	21,20%	18,10%	16,38%	41,89%	8,56%	4,24%
<i>Enterobacter</i>	1,54%	1,48%	2,02%	1,14%	0,91%	1,33%	1,60%	0,00%
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,37%	0,70%	0,41%	0,53%	0,30%	0,37%	3,21%	0,00%
<i>Pseudomonas</i>	0,60%	0,78%	0,54%	0,44%	1,08%	0,23%	0,53%	2,12%
<i>Streptococcus uberis</i>	8,24%	7,72%	1,35%	10,51%	14,50%	11,11%	8,56%	22,46%
<i>Streptococcus spp.</i>	4,74%	4,45%	1,39%	4,90%	8,19%	3,57%	2,67%	2,12%
CNS	3,35%	6,87%	4,80%	5,09%	8,39%	2,37%	10,16%	7,63%
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,15%	0,00%	0,00%	0,31%	0,23%	0,37%	0,00%	0,00%
<i>Mycoplasma</i>	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,04%	0,00%	0,00%	0,00%
Nấm	3,26%	1,72%	3,11%	2,27%	3,03%	1,57%	5,35%	3,81%
Nấm men	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
<i>Pasteurella</i>	0,17%	0,08%	0,09%	0,22%	0,23%	0,10%	0,00%	4,24%
NG	42,82%	39,26%	49,53%	48,05%	37,24%	31,15%	47,06%	31,78%
Tạp nhiễm	1,40%	1,96%	3,11%	1,29%	1,93%	1,31%	4,28%	0,85%
Không định danh được	0,14%	0,00%	0,00%	0,00%	0,11%	0,03%	0,00%	0,42%

Từ bảng số liệu trên, chúng ta thấy sự phân bố của một số mầm bệnh chính như sau:

E. coli xuất hiện hầu hết ở các trại nhưng nhiều nhất vẫn là tại trại số 3 (24,08%) và trại cách ly (19,92%). Cùng về vi khuẩn này, Trương Quang và cs. (2008) khi nghiên cứu tại các nông hộ chăn nuôi bò ở Gia Lâm và Long Biên cho biết tỷ lệ nhiễm *E. coli* là 30%.

Klebsiella phân bố chủ yếu ở trang trại số 8 với tỷ lệ 41,89%, điều này cho thấy vấn đề ô nhiễm nền chuồng do *Klebsiella* ở trại này rất cần xem xét và kiểm soát. Ngoài ra, trại số 1+2 và số 4 cũng có tỷ lệ nhiễm cao (lần lượt là 25,64% và 21,20%).

Jian Gao và cs. (2017) khi nghiên cứu về các loại mầm bệnh gây viêm vú lâm sàng tại các trang trại lớn của Trung Quốc cũng cho biết tỷ lệ nhiễm

E. coli là 14,4%; còn *Klebsiella* là 13%.

Streptococcus uberis chủ yếu được phát hiện tại trang trại cách ly (22,46%), đây là trang trại nuôi bò mới nhập khẩu vào theo quy định. Ngoài ra thì trại số 6 cũng có tỷ lệ nhiễm *Streptococcus uberis* (14,5%) và các loại *Streptococci* khác (8,19%) cao. D. W. Harjanti (2017) khi nghiên cứu ở Indonesia cho biết tỷ lệ nhiễm *Streptococcus uberis* là 13,3% số mẫu thu thập được ở tất cả 10 nông hộ khảo sát.

CNS là mầm bệnh có tỷ lệ phân bố cao tại trang trại số 6 (8,39%) và hữu cơ (10,16%).

Chúng tôi đã ghi nhận sự xuất hiện của *Mycoplasma bovis* tại trang trại số 6, đây là mầm bệnh có tính chất lây lan rất mạnh và ít đáp ứng với điều trị. Trang trại cần tập trung các biện pháp để phòng tránh, điều trị bệnh một cách hợp lý. Khi nghiên cứu về vi khuẩn này ở Australia bằng kỹ

thuật PCR, Abd Al-Bar Al-Farha (2017) cho biết tỷ lệ nhiễm *Mycoplasma* spp. lên tới 76,7% (221/228 mẫu); trong đó *Mycoplasma bovis* chiếm 6,2%.

Tỷ lệ mẫu bị tạp nhiễm ở trại hữu cơ đang cao nhất (4,28%) và thấp nhất là trại cách ly (0,85%). Tỷ lệ này theo Zigo F và cs. (2019) là 7,8% (12/156 mẫu).

Zigo F và cs. (2019) khi nghiên cứu về vi khuẩn gây bệnh tại 2 đàn ở Slovakia đã cho biết: tỷ lệ nhiễm *E. coli* ở đàn 1 là 5,8% và ở đàn 2 là 5,3%; đối với *Streptococcus uberis* ở đàn 1 là 1,9% trong khi không phát hiện mầm bệnh này ở đàn thứ 2. Đối với tỷ lệ tạp nhiễm, đàn thứ nhất là 7,8% và đàn thứ 2 là 6,6%.

3.3. Cường độ nhiễm các tác nhân gây bệnh

Kết quả theo dõi cường độ nhiễm các tác nhân gây bệnh được tổng hợp tại bảng 4.

Bảng 4. Kết quả xác định mật độ vi khuẩn phân lập được

Vi khuẩn	1+	2+	3+	4+
<i>Bacillus</i>	19,6%	38,3%	39,1%	3,0%
<i>E. coli</i>	18,8%	24,3%	16,7%	40,3%
<i>Klebsiella</i>	17,8%	23,4%	13,8%	45,0%
<i>Enterobacter</i>	18,2%	22,6%	26,9%	32,4%
<i>Enterococcus faecalis</i>	19,2%	45,0%	12,9%	22,9%
<i>Pseudomonas</i>	21,9%	36,5%	23,8%	17,7%
<i>Streptococcus uberis</i>	6,7%	18,6%	14,8%	59,9%
<i>Streptococcus</i> spp.	10,0%	26,0%	16,1%	47,9%
CNS	23,3%	45,8%	24,9%	6,0%
<i>S. aureus</i>	7,3%	5,0%	59,4%	28,4%
<i>Mycoplasma</i>	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%
Nấm	37,0%	47,5%	10,5%	5,0%
Nấm men	-	-	-	-
<i>Pasteurella</i>	12,1%	12,1%	12,1%	63,6%
Tạp nhiễm	35,3%	44,0%	10,2%	10,5%
Không định danh được	20,4%	12,9%	6,5%	60,2%

Từ bảng số liệu trên, chúng tôi thấy nhóm *E. coli* và *Klebsiella* đang là nhóm có cường độ nhiễm cao (ở mức 4+), đây cũng đang là nhóm vi sinh có tỷ lệ nhiễm cao tại các trang trại.

Ngoài ra, nhóm *Streptococci* cũng có cường độ

nhiễm mạnh (mức 4+), tuy chưa phân lập được *Streptococcus agalactiae* nhưng *Streptococci* môi trường (*Streptococcus uberis* và các *Streptococci* khác) cũng chiếm vai trò quan trọng trong việc gây bệnh trên đàn.

Mycoplasma mới được đưa vào quy trình phân lập, số lượng mẫu còn ít nên số liệu thống kê chưa có độ tin cậy.

IV. KẾT LUẬN

Quy trình nuôi cấy phân lập đang áp dụng được xây dựng ngắn gọn, đáp ứng nhu cầu phân tích, phục vụ sản xuất của công ty Cổ phần thực phẩm sữa TH.

Tỷ lệ nhiễm các vi khuẩn gây bệnh từ môi trường đang chiếm tỷ lệ lớn (51,57%), điều đó thể hiện tác động của yếu tố môi trường (thời tiết, khí hậu, ô nhiễm nền chuồng...) tác động mạnh tới tỷ lệ mắc bệnh viêm vú trên đàn bò.

Nhóm các vi khuẩn gây bệnh mang tính chất cơ hội còn thấp, chiếm khoảng 4,6%.

Nhóm các vi khuẩn có tính lây nhiễm mạnh như *Mycoplasma*, *Staphylococcus aureus* có tỷ lệ nhiễm rất thấp, điều đó cho thấy đàn bò đang được nuôi dưỡng, chăm sóc tốt, tình trạng vệ sinh thú y được đảm bảo.

Hầu hết các trang trại đang gặp vấn đề với *E. coli* và *Klebsiella*, đây là 2 mầm bệnh chủ yếu từ nền chuồng xâm nhiễm vào bầu vú và gây bệnh.

Cường độ nhiễm chủ yếu của nhóm vi khuẩn từ môi trường và cơ hội là 4+. Điều đó cho thấy mức độ ô nhiễm vi sinh của nền chuồng là khá lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abd Al-Bar Al-Farha, Farhid Hemmatzadeh, Manouchehr Khazandi, Andrew Hoare and Kiro Petrovski, 2017. Evaluation of effects of *Mycoplasma* mastitis on milk composition in dairy cattle from South Australia. *BMC Veterinary Research*, 13:351
2. Alysia M. Parker, John K. House, Mark S. Hazelton, Katrina L. Bosward, Paul A. Sheehy, 2017. Comparison of culture and a multiplex probe PCR for identifying *Mycoplasma* species in bovine milk, semen and swab samples. *PLoS One*.
3. Bernard Poutrel and Helena Z Ryniewicz, 1984. Evaluation of the API 20 Strep system for species identification of streptococci isolated from bovine mastitis. *American society for Microbiology*, Vol 19, No 2, p 213-214.
4. Cristina Bogni *et al.*, 2011. War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 483-494.
5. D W Harjanti¹, R Ciptaningtyas, F Wahyonol, ET Setiatin, 2017. Isolation and identification of bacterial pathogen from mastitis milk in Central Java, Indonesia. *International Symposium on Food and Agro-biodiversity (ISFA)*.
6. František Zigo, Milan Vasil', Juraj Elečko, Martina Zígová and Zuzana Farkašová, 2017. Mastitis pathogens isolated from samples of milk in dairy cows and their resistance against antimicrobial agents. *Journal of Food Science and Engineering*, 7 - 110-113
7. H. Castañeda Vázquez, S. Jäger, W. Wolter, M. Zschöck, M.A. Castañeda Vazquez, A. El-Sayed, 2013. Isolation and identification of main mastitis pathogens in Mexico. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.2, p.377-382
8. J. Kvapilík, O. Hanus, M. V Klimesova, P. Roubal, 2015. Mastitis of dairy cows and financial losses: an economic meta-analysis and model calculation. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21 (No 5), 1092-1105 Agricultural Academy.
9. Jian Gao, Herman W. Barkema, Limei Zhang, Gang Liu, Zhaoju Deng, Lingjie Cai, Ruixue Shan, Shiyao Zhang, Jiaqi Zou, John P. Kastelic, and Bo Han, 2017. Incidence of clinical mastitis and distribution of pathogen on large Chinese dairy farms. *Journal of Dairy Science* Vol. 100 No. 6, 2017
10. Pamela R F Adkins *et al.*, 2017. Laboratory handbook on bovine mastitis, Third edition.
11. Simon Dufour, Josée Labrie, Mario Jacques, 2019. The mastitis pathogens culture collection. *American society for microbiology & Microbiology resources announcements*, Volume 8 Issue 15.
12. T. Halasa, K. Huijps, O. Østerås, H. Hogeveen – 2007 - Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review - *Veterinary Quarterly*; 29(1): 18-31.
13. Trương Quang, Đỗ Trung Đông, Trương Hà Thái, 2008. Kết quả chẩn đoán phi lâm sàng và xác định những vi khuẩn chủ yếu gây bệnh viêm vú bò sữa. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 2008: Tập VI, Số 3: 274-278, Đại học Nông nghiệp Hà Nội.
14. Trương Văn Dung, Ogawa Takashi, 2002. Bệnh viêm vú bò sữa. Tài liệu dự án tăng cường năng lực nghiên cứu Viện Thú y quốc gia.
15. Zigo F, Elečko J, Vasil' M, Ondrašovičová S, Zígová M, Takáč L, Takáčová J and Vlastimil Šimek, 2019. Mastitis pathogens isolated from samples of milk in dairy cow herds of Slovak spotted cattle. *Veterinary Sciences and Medicine*, Volume 2(1)

Ngày nhận 27-9-2020

Ngày phản biện 9-10-2020

Ngày đăng 1-11-2020