

XÁC ĐỊNH CÁC TYPE ĐỘC TỔ CỦA VI KHUẨN *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* TỪ BÊ NGHI MẮC BỆNH VIÊM RUỘT HOẠI TỬ TẠI SÁU TỈNH Ở VIỆT NAM

Nguyễn Thị Thu Hằng¹, Trần Thị Thu Hằng¹, Nguyễn Đức Tân²,
Nguyễn Thị Thắm², Phạm Tùng Lâm¹, Phạm Thị Trang³, Nguyễn Thị Mỹ Linh³

TÓM TẮT

Vi khuẩn *Clostridium perfringens* phân bố rộng rãi trong đường tiêu hóa của người, gia súc và ngoài môi trường và là nguyên nhân gây nhiều bệnh cho động vật như bệnh viêm ruột hoại tử ở bê. Trong nghiên cứu này, 124 mẫu phân và ruột của các bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử từ sáu tỉnh đã được thu thập để phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm *Clostridium perfringens*. Tỷ lệ mẫu thu thập ở Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Đắk Lắk, Khánh Hòa và Cần Thơ dương tính với *Clostridium perfringens* lần lượt là 90%; 90%; 15%; 40%; 37,5% và 65%. Bằng phương pháp multiplex PCR, kết quả nghiên cứu cho thấy vi khuẩn *Clostridium perfringens* type A là type lưu hành chủ yếu trên bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử. Trong 69 chủng phân lập được, chỉ có 3 chủng thuộc type D (4,35%), 6 chủng thuộc type E (8,69%), 60 chủng còn lại đều thuộc type A (86,96%) và không có chủng nào thuộc type C.

Từ khóa: *Clostridium perfringens*, type, bê, viêm ruột hoại tử.

Toxogenic types of *Clostridium perfringens* isolated from calves suspected necrotizing enteritis in six provinces of Viet Nam

Nguyen Thi Thu Hang, Tran Thi Thu Hang, Nguyen Duc Tan,
Nguyen Thi Tham, Pham Tung Lam, Pham Thi Trang, Nguyen Thi My Linh

SUMMARY

Clostridium perfringens is a bacterium widely distributed in the environment, gastrointestinal tract of humans and animal. It is causative agent for many animal diseases, such as necrotizing enterocolitis in calves. In this study, 124 samples, including 45 fecal samples and 79 intestinal samples of calves suspected necrotizing enterocolitis were collected from Ha Noi, Thai Nguyen, Ha Tinh, Dak Lak, Khanh Hoa and Can Tho for isolating *Clostridium perfringens*. The positive sample rates with *Clostridium perfringens* in these localities were 90%, 90%, 15%, 40%, 37.5%, and 65%, respectively. The result of this study also showed that *Clostridium perfringens* type A was the predominant circulating type. Among 69 isolated strains, there were 3 strains of type D (4.35%), 6 strains of type E (8.69%), 60 strains of type A (86.96%) and none of type C.

Keywords: *Clostridium perfringens*, type, calves, necrotic enteritis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn *Clostridium perfringens* (thuộc giống *Clostridium*) là một vi khuẩn phân bố rộng rãi trong đường tiêu hóa của người, gia súc và trong môi trường (đất, nước, phân, thức

ăn...), và là nguyên nhân gây nhiều bệnh như hoại thư sinh hơi, ngộ độc thực phẩm, bệnh nhiễm độc tố ruột huyết, viêm ruột hoại tử và hội chứng đột tử.

Các chủng vi khuẩn *Clostridium perfringens* sản sinh hơn 20 độc tố khác nhau (Revitt-Mills và cs., 2015). Ngoài 4 loại độc tố chính thường gặp phổ biến nhất là alpha (α, cpa), beta (β, cpb), epsilon (ε, etx) và iota (ι, iA) thì vi khuẩn *Clostridium perfringens* còn

¹ Viện Thú y

² Phân viện Thú y miền Trung

³ Khoa CNTY - Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

sản sinh các loại độc tố khác như: gama, delta, eta, theta, kappa, Mu, lambda, Nu, beta2, enterotoxin.... Căn cứ vào khả năng sản sinh bốn loại độc tố chính này, *Clostridium perfringens* đã được phân chia thành 5 type khác nhau là A, B, C, D, E (Carter và cs., 1995). Mỗi type sản sinh ra những độc tố khác nhau và gây ra các thể bệnh khác nhau ở người và động vật.

Viêm ruột do *Clostridium perfringens* là một bệnh thường xảy ra ở động vật non cũng như ở gia súc nhai lại trưởng thành. Bệnh có thể do tất cả các type độc tố của *Clostridium perfringens* gây ra. Trong đó đối với bê, *Clostridium perfringens* type A là nguyên nhân chủ yếu của bệnh viêm ruột hoại tử, chỉ có một số ít trường hợp bệnh xảy ra là do *Clostridium perfringens* type C và D (Simpson và cs., 2018). *C. perfringens* type E cũng được coi là một nguyên nhân không thường xuyên của bệnh viêm ruột hoại tử và đột tử ở bê sơ sinh, tuy nhiên một số báo cáo cũng mô tả bệnh nhiễm độc tố ruột type E ở bò trưởng thành (Goossens và cs., 2017).

Viêm ruột hoại tử ở bê thường thấy nhất ở bê từ 0 đến 7 ngày tuổi. Bệnh có diễn biến cấp tính và được đặc trưng bởi cái chết đột ngột hoặc tiêu chảy cấp tính thường kèm theo xuất huyết (Valgaeren, 2015). Do vậy, bệnh gây nhiều thiệt hại về kinh tế cho người chăn nuôi bò. Tuy nhiên, các báo cáo, nghiên cứu về bệnh này trên bê được công bố tại Việt Nam vẫn còn ít, chỉ có một số báo cáo về bệnh trên bê từ một số tỉnh miền núi phía Bắc, tại Hà Nội và vùng lân cận (Bắc Ninh, Vĩnh Phúc) và một số tỉnh duyên hải miền Trung (Lê Lập và cs., 2007; Huỳnh Thị Mỹ Lệ và cs., 2012; Lê Văn Tạo và cs., 2007). Xuất phát từ thực tế đó, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành thu thập mẫu phân và mẫu ruột từ các bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử từ sáu tỉnh Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Khánh Hòa, Đắk Lắk và Cần Thơ, đại diện cho miền Bắc, miền Trung và miền Nam Việt Nam để phân lập và xác định các type *Clostridium perfringens* lưu hành chủ yếu hiện nay trên cả nước nói chung và tại sáu tỉnh nói riêng.

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

2.1. Nội dung nghiên cứu

Phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Clostridium perfringens* từ bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử tại sáu tỉnh Hà Nội, Thái Nguyên, Hà

Tĩnh, Khánh Hòa, Đắk Lắk, Cần Thơ.

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

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

2.2. Vật liệu nghiên cứu

2.2.1. Mẫu

Tổng số 124 mẫu, bao gồm 45 mẫu phân và 79 mẫu ruột được lấy từ các bê khác nhau nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử tại sáu tỉnh Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Khánh Hòa, Đắk Lắk, Cần Thơ trong năm 2020.

2.2.2. Môi trường hóa chất

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

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phân lập và nuôi cấy vi khuẩn *Clostridium perfringens*

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

2.3.2. Xác định một số đặc tính sinh hóa và định danh bằng kit API20A

Tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

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

- Tách chiết DNA: Sử dụng bộ kit Genomic DNA Purification kit (Thermo Fisher, Mỹ), thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Phương pháp PCR:

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

+ Thành phần phản ứng PCR

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

Sử dụng phản ứng PCR đa mồi (multiplex PCR). Tổng lượng phản ứng là 50 μ l/phản ứng, bao gồm: 25 μ l Master mix, các mồi xuôi Cpa, mồi ngược Cpa, mồi xuôi Cpb, mồi ngược Cpb, mồi xuôi lap, mồi ngược lap, mồi xuôi Etx và mồi ngược Etx với nồng độ 10 pmol/ μ l, DNA mẫu và lượng nước vừa đủ.

+ Chu trình nhiệt

Chu kỳ nhiệt của phản ứng PCR được thực hiện với 1 tiền chu kỳ và 40 chu kỳ phản ứng: (i) đun chảy ở 94°C trong 60 giây; (ii) bắt cặp ở 55°C, 60 giây; (iii) sinh tổng hợp ở 72°C trong 60 giây.

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

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi

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

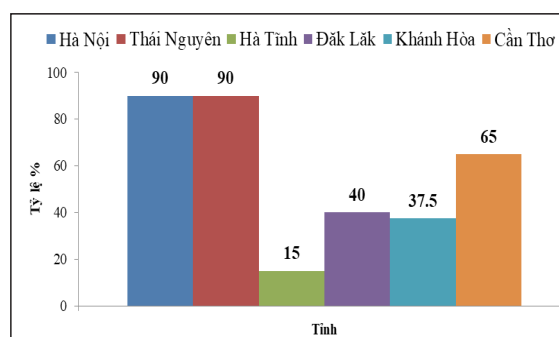
2.3.4. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Clostridium perfringens* trên bề mặt bệnh viêm ruột hoại tử tại sáu tỉnh Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Khánh Hòa, Đắk Lắk, Cần Thơ

124 mẫu đã được thu thập từ sáu tỉnh tại Việt Nam, bao gồm các mẫu phân và ruột của bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử để tiến hành phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Clostridium perfringens*. Kết quả được trình bày trên bảng 2 và hình 1.



Hình 1. Tỷ lệ phân lập *Clostridium perfringens* từ các mẫu bề mặt bệnh viêm ruột hoại tử

Kết quả tại bảng 2 và hình 1 cho thấy có 69/124 mẫu thu thập phân lập được vi khuẩn *Clostridium perfringens*; chiếm tỷ lệ 55,6%. Tỷ lệ này dao

động từ 15 – 90%, khác nhau giữa các tỉnh. Trong đó, tỷ lệ cao nhất là từ các mẫu tại Hà Nội và Thái

Nguyên (90%), thấp nhất là từ các mẫu thu thập tại Hà Tĩnh (15%).

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

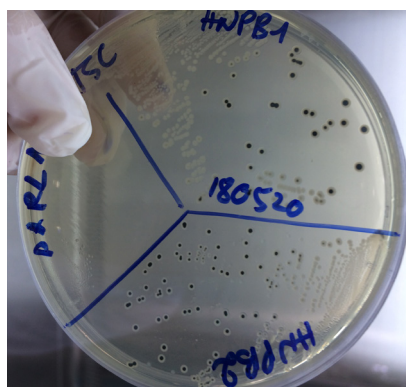
Tỉnh	Số mẫu thu thập (n)	Kết quả phân lập	
		Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Hà Nội	20	18	90
Thái Nguyên	20	18	90
Hà Tĩnh	20	3	15
Đắk Lắk	20	8	40
Khánh Hòa	24	9	37,5
Cần Thơ	20	13	65
Tổng số	124	69	55,6

Năm 2008 tại Brazil, từ 141 mẫu phân bê tiêu chảy và 129 mẫu phân bê khỏe mạnh, MC Ferrarezi và cs. đã phân lập

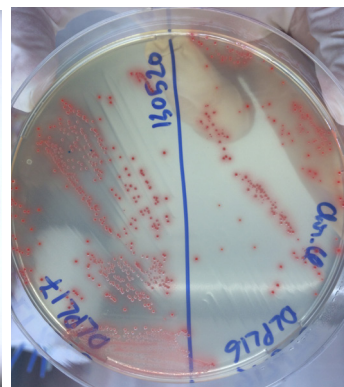
được 36,2% và 30,2% mẫu dương tính với *Clostridium perfringens* (Ferrarezi và cs., 2008).



(a) Khuẩn lạc dung huyết kép trên thạch máu



(b) Khuẩn lạc màu đen trên thạch TSC



(c) Khuẩn lạc màu đỏ trên thạch CHROMagar™ *C.perfringens*

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

Từ năm 2011 đến năm 2014, sáu trang trại nuôi bò ở Bỉ đã có 13 trường hợp mắc viêm ruột hoại tử do *Clostridium perfringens* trên bê được báo cáo. Tất cả các bê bệnh đều chết trong vòng từ 3 đến 30 tiếng sau khi có các dấu hiệu như chán ăn, nhiễm toan nặng, niêm mạc nhợt nhạt, bụng sưng tấy... mặc dù một số trường hợp đã được điều trị bằng penicillin (Valgaeren và cs., 2015).

Tại Việt Nam, Lê Văn Tạo và cs. cũng đã điều tra, nghiên cứu và xác định được rằng bệnh viêm ruột hoại tử xảy ra quanh năm trên đàn trâu bò và tất cả các lứa tuổi đều có khả năng mắc bệnh, nhưng tập trung chủ yếu ở độ tuổi dưới 2 năm; chiếm tỷ lệ 43,08% (Lê Văn Tạo và cs., 2007). Theo Huỳnh Thị Mỹ Lệ và cs. (2012), từ 128 mẫu phân bê tiêu chảy và 42 mẫu phân bê khỏe mạnh thu

thập từ các bê nuôi tại Hà Nội và vùng lân cận (Bắc Ninh, Vĩnh Phúc), tỷ lệ phân lập được *Clostridium perfringens* lần lượt là 58,59% và 35,71%.

3.2. Kết quả xác định đặc tính sinh hóa của các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được

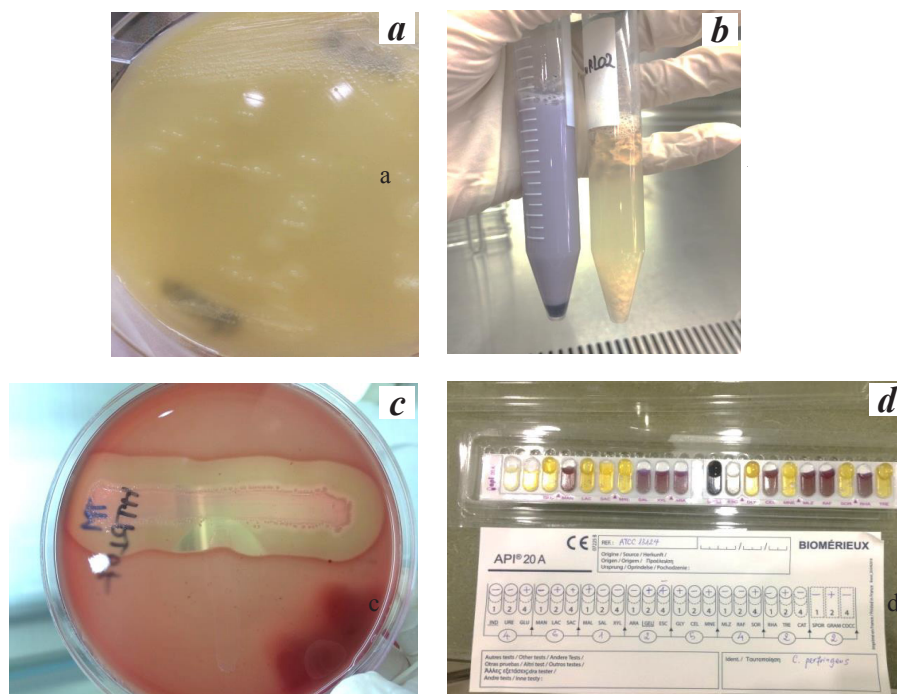
Kết quả xác định các đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập được trình bày trên bảng 3.

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

Đặc tính sinh hóa		Số chủng kiểm tra	Kết quả sinh hóa	
			Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
Lethicinas		69	69	100
Lipase		69	0	0
Phân giải casein		69	69	100
CAMP ngược		69	69	100
Kit API20A	Indole (IND)	69	0	0
	Urease (URE)	69	0	0
	Glucose (GLU)	69	69	100
	Manitol (MAN)	69	0	0
	Lactose (LAC)	69	69	100
	Saccharose (SAC)	69	69	100
	Maltose (MAL)	69	69	100
	Salicin (SAL)	69	0	0
	Xylose (XYL)	69	0	0
	Arabinose (ARA)	69	0	0
	Gelatin (GEL)	69	69	100
	Eesculin (ESC)	69	0	0
	Glycerol (GLY)	69	54	78,2
	Cellobiose (CEL)	69	0	100
	Mannose (MNE)	69	69	100
	Melezitose (MLZ)	69	0	100
	Raffinose (RAF)	69	0	100
	Sorbitol (SOR)	69	0	0
	Rhamnose (RHA)	69	0	0
	Trehalose (TRE)	69	64	92,75
	Catalase (CAT)	69	0	0

Số liệu ở bảng 3 cho thấy, các chủng được kiểm tra đều có các đặc tính sinh hóa như mô tả trong TCVN 8400-28:2014 và khi

định danh bằng kit API20A (bioMérieux, Pháp) cũng cho kết quả đúng là các chủng *Clostridium perfringens*.



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

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

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

Sau khi kiểm tra các đặc tính sinh hóa, chúng tôi

tiến hành phản ứng multiplex PCR xác định type của các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được.

Kết quả được trình bày tại bảng 4 và hình 4.

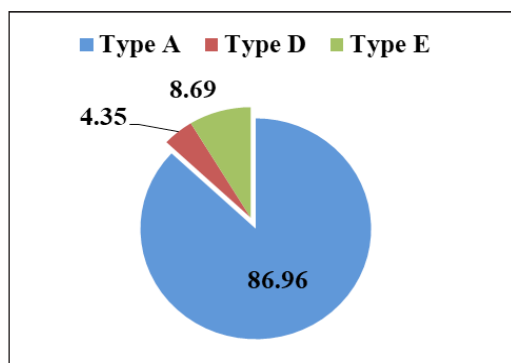
Bảng 4. Kết quả định type các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được từ bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử

Nguồn gốc chủng	Số chủng kiểm tra	Type A		Type C		Type D		Type E	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Phân bê	28	22	78,57	0	0	0	0	6	21,43
Ruột bê	41	38	92,68	0	0	3	7,32	0	0
Tổng số	69	60	86,96	0	0	3	4,35	6	8,69

Ghi chú: n: Số chủng dương tính, %: Tỷ lệ (%)

Kết quả cho thấy, trong 69 chủng *Clostridium perfringens* phân lập được, chỉ có 3 chủng thuộc type D, chiếm tỷ lệ 4,35%;

6 chủng thuộc type E, chiếm tỷ lệ 8,69% còn lại 60 chủng đều thuộc type A, chiếm tỷ lệ 86,96% và không có chủng nào thuộc type C.



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



Hình 5. Kết quả điện di sản phẩm PCR với 4 cặp mồi cpa, cpb, lap và etx

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

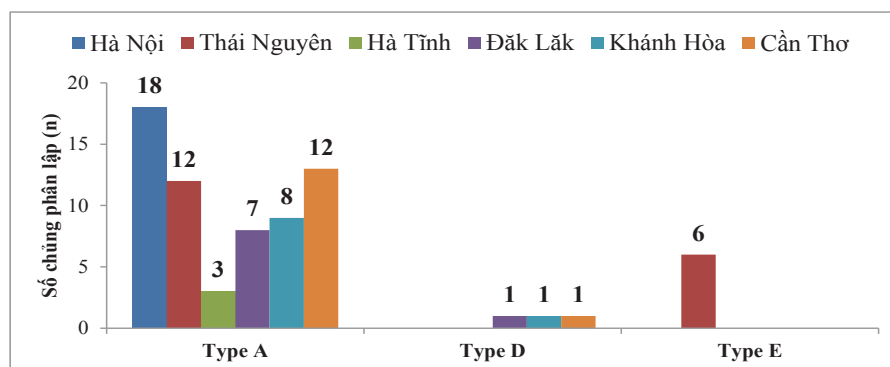
Cả 3 chủng thuộc type D phân lập được đều có nguồn gốc từ mẫu ruột bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử. 78,57% các chủng phân lập từ mẫu phân bê bệnh là các chủng thuộc type A và 21,43% các

chủng còn lại được xác định là các chủng thuộc type E mặc dù type E là một type rất hiếm gặp, xuất hiện như một nguyên nhân không phổ biến gây ra chứng nhiễm độc ruột ở bê. Kết quả này cũng có sự tương đồng với một số nghiên cứu trước đây trên thế giới.

Năm 2009, từ 23 chủng *Clostridium perfringens* phân lập được từ các bê chết đột ngột tại Brazil, Miyashiro S và cs. (2009) đã báo cáo rằng có 2 chủng thuộc type E; chiếm tỷ lệ 8,7%; 2 chủng thuộc type D; chiếm tỷ lệ 8,7%; còn lại là 82,6% các chủng thuộc type A.

Từ 190 mẫu phân bê dương tính với *Clostridium perfringens*, Nora M.K. và cs. cũng đã xác định được có 150 chủng thuộc type A (chiếm tỷ lệ 78,9%) và 40 chủng thuộc các type khác; chiếm tỷ lệ 21,1%. Đối với các mẫu ruột bê dương tính, tỷ lệ các chủng thuộc type A là 88,8%; type D là 2,22% (Nora và cs., 2014).

Tại Việt Nam, theo báo cáo trước đây của Lê Lập và cs. (2007) và của Nguyễn Quang Tính (2007), các chủng phân lập từ bê đều là các chủng thuộc type A. Đến năm 2012, Huỳnh Thị Mỹ Lệ và cs. đã lần đầu tiên báo cáo về việc phân lập được các chủng thuộc type C và type D từ bê nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận (Bắc Ninh, Vĩnh Phúc) (Huỳnh Thị Mỹ Lệ và cs., 2012). Kết quả này cũng có sự sai khác với nghiên cứu của chúng tôi khi ngoài những chủng thuộc type A và type D, không có chủng type C nào được phát hiện nhưng lần đầu phát hiện có sự xuất hiện của các chủng thuộc type E. Nguyên nhân của sự sai khác này có thể là do đa dạng về sự phân bố khu vực địa lý của các type *C. perfringens*.



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

Cả 6 chủng type E trong nghiên cứu đều được xác định từ các mẫu phân bê lấy từ Thái Nguyên,

qua đó có thể kết luận được rằng có sự lưu hành của các chủng *Clostridium perfringens* type E gây bệnh

viêm ruột hoại tử trên đàn bê nuôi tại tỉnh này. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong việc nghiên cứu dịch tễ học về bệnh trong các năm tiếp theo.

Tỷ lệ phân lập type A cao cũng chỉ ra đây là type lưu hành chính trên bê tại Việt Nam.

IV. KẾT LUẬN

Từ 124 mẫu lấy từ các bê nghi mắc bệnh viêm ruột hoại tử tại sáu tỉnh Hà Nội, Thái Nguyên, Hà Tĩnh, Khánh Hòa, Đắk Lắk và Cần Thơ, chúng tôi đã phân lập được 69 chủng *Clostridium perfringens* với tỷ lệ nhiễm tương ứng là 55,6%. Trong đó, tỷ lệ phân lập từ các mẫu Hà Nội và Thái Nguyên là 90%, từ các mẫu Hà Tĩnh là 15%, từ các mẫu Đắk Lắk là 40%, từ các mẫu Khánh Hòa là 37,5% và tỷ lệ này từ các mẫu Cần Thơ là 65%.

Các chủng *Clostridium perfringens* phân lập được đều có đầy đủ các đặc tính sinh hóa đặc trưng như các tài liệu trong và ngoài nước mô tả.

Trong 69 chủng phân lập này, có 60 chủng được xác định thuộc type A (chiếm tỷ lệ 86,96%), 6 chủng được xác định thuộc type E (chiếm tỷ lệ 8,69%), 3 chủng được xác định thuộc type D (chiếm tỷ lệ 4,35%) và không có chủng nào được xác định thuộc type C.

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

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Lập, Nguyễn Đức Tân, Lê Văn Sơn, Lê Đình Hải, Đặng Thanh Hiền, Đào Duy Hưng, Trương Công Thôi, Võ Thành Thìn, 2007. Phân lập và xác định typ độc tố (Toxinotyp) của vi khuẩn *Clostridium perfringens* ở động vật nhai lại bằng kỹ thuật Multiplex PCR. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 45-49.
2. Nguyễn Quang Tính, 2007. *Xác định vai trò gây bệnh đường tiêu hóa của vi khuẩn Clostridium perfringens ở trâu, bò, dê tại tỉnh Thái Nguyên và biện pháp phòng*

trị. Luận án Tiến sỹ Nông nghiệp. Viện Thú y,

3. Carter, G.R., Chengappa, M., Roberts, A.W., Claus, G.W., Rikihisa, Y., 1995. *Essentials of veterinary microbiology*.
4. Ferrarezi, M.C., Cardoso, T.C., Dutra, I.S., 2008. Genotyping of *Clostridium perfringens* isolated from calves with neonatal diarrhea. *Anaerobe* 14, 328-331.
5. Goossens, E., Valgaeren, B.R., Pardon, B., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., Deprez, P.R., Van Immerseel, F., 2017. Rethinking the role of alpha toxin in *Clostridium perfringens*-associated enteric diseases: a review on bovine necro-haemorrhagic enteritis. *Veterinary research* 48, 1-17.
6. Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Đỗ Ngọc Thúy, Nguyễn Bá Hiên, 2012. Genotyping of *Clostridium perfringens* isolated from cattle and pigs with diarrhea in Hanoi and surrounding areas, Vietnam. *J. Sci. & Devel.* 10, 627-632.
7. Lê Văn Tạo, Phạm Thị Thanh, Nguyễn Văn Vui, Phạm Ngọc Long, Hoàng Thị Minh, 2007. Nghiên cứu đặc điểm dịch tễ học bệnh nhiễm độc tố ruột gây đột tử trâu bò các tỉnh phía Bắc. *Khoa học kỹ thuật Thú y* 14, 65-73.
8. Miyashiro, S., Baldassi, L., Nassar, A., 2009. Genotyping of *Clostridium perfringens* associated with sudden death in cattle. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 15, 491-497.
9. Nora, M.K., Ebeid, M.H., Galila, E., El Elsify, A., Mustafa, A.-M.M., El-Meneisy, A.A.F., 2014. Studies on enterotoxaemia in calves. *Benha Veterinary Medical Journal* 26, 150-158.
10. Revitt-Mills, S.A., Rood, J.I., Adams, V., 2015. *Clostridium perfringens* extracellular toxins and enzymes: 20 and counting. *Microbiology Australia* 36, 114-117.
11. Simpson, K.M., Callan, R.J., Van Metre, D.C., 2018. Clostridial abomasitis and enteritis in ruminants. *Veterinary Clinics.: Food Animal Practice* 34, 155-184.
12. Valgaeren, B., 2015. *New insights into the pathogenesis of gastrointestinal Clostridium perfringens infections in veal calves*. Ghent University,
13. Valgaeren, B., Pardon, B., Verherstraeten, S., Goossens, E., Timbermont, L., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., Van Immerseel, F., Deprez, P., 2015. Haemorrhagic enteritis in newborn calves associated with *Clostridium perfringens* and colostrum delivery. *JMM Case Reports* 2.

Ngày nhận 10-3-2022

Ngày phản biện 25-3-2022

Ngày đăng 1-7-2022