

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 8400-19:2014

Xuất bản lần 1

**BỆNH ĐỘNG VẬT – QUY TRÌNH CHẨN ĐOÁN –
PHẦN 19: BỆNH PHÓ THƯƠNG HÀN LỢN**

Animal diseases - Diagnostic procedure - Part 19: Salmonellosis in pig

HÀ NỘI – 2014

Lời nói đầu

TCVN 8400-19:2014 do Trung tâm Chẩn đoán Thú y Trung ương - Cục Thú y biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bệnh động vật - Quy trình chẩn đoán - Phần 19: Bệnh phó thương hàn lợn

Animal diseases - Diagnostio procedure - Part 19: Salmonellosis in pig

CẢNH BÁO – Việc áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không thể đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn sức khỏe thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn quy định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định quy trình chẩn đoán bệnh phó thương hàn do vi khuẩn *Salmonella* gây ra ở lợn.

2 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng thuật ngữ và định nghĩa sau:

Bệnh phó thương hàn lợn (*Salmonellosis in pig*)

Là bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn *Salmonella* gây ra với các thể bệnh chủ yếu là bại huyết do *Salmonella choleraesuis* (*S. choleraesuis*) chủng Kunzendorf và viêm ruột do *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*).

Ngoài ra, *Salmonella typhisuis* (*S. typhisuis*), *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*), *Salmonella dublin* (*S. dublin*), *Salmonella derby* (*S. derby*), *Salmonella heidelberg* (*S. heidelberg*) cũng có thể gây bệnh nhưng bệnh thường biểu hiện thoáng qua hoặc ở dạng nhiễm khuẩn cục bộ như viêm phổi, viêm màng não, ã chảy, hoặc viêm hạch lâm ba.

Đặc biệt các chủng *S. typhimurium*, *S. enteritidis* có khả năng gây bệnh trên người.

Vi khuẩn *Salmonella* thuộc họ Enterobacteriaceae, là vi khuẩn gram âm, có khả năng di động, hiếu khí hoặc yếm khí tùy tiện và không hình thành nha bào. Dựa vào cấu trúc kháng nguyên, chủ yếu là kháng

nguyên thân O (kháng nguyên O), kháng nguyên lông H (kháng nguyên H). Vi khuẩn *Salmonella* được chia thành các nhóm và các typ huyết thanh. Hiện nay đã phát hiện được trên 2400 typ huyết thanh.

3 Thuốc thử và vật liệu thử

Chỉ sử dụng thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng, trừ khi có quy định khác.

3.1 Môi trường thạch máu: Thạch máu cơ bản được bổ sung từ 5 % đến 7 % máu cừu, máu bê, hoặc máu thỏ (pha chế thạch theo hướng dẫn của nhà sản xuất).

3.2 Môi trường nước thịt.

3.3 Thạch MacConkey hay thạch Brilliant green (BG) hoặc môi trường thạch XLD (xylose-lysine-deoxycholate agar).

3.4 Nước peptone (peptone water).

3.5 Bộ kháng huyết thanh chuẩn đơn giá và đa giá định typ kháng nguyên vi khuẩn *Salmonella*.

3.6 Nguyên liệu hóa chất cho các phản ứng sinh hóa (Phụ lục A).

3.7 Nguyên liệu cho PCR (Phụ lục B).

3.8 Môi trường tetrathionate

4 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thí nghiệm sinh học và một số thiết bị, dụng cụ cụ thể như sau:

4.1 Tủ ấm, duy trì nhiệt độ 37 °C.

4.2 Tủ ấm, duy trì nhiệt độ 42 °C.

4.3 Nồi hấp, duy trì ở nhiệt độ 115 °C, 121 °C.

4.4 Phiến kính, sạch.

4.5 Que cấy, vô trùng.

4.6 Ống nghiệm, sạch, vô trùng

4.7 Màng lọc, có kích thước lỗ lọc 0,45 µm.

4.8 Que cấy chích sâu, vô trùng.

5 Cách tiến hành

5.1 Chẩn đoán lâm sàng

5.1.1 Đặc điểm dịch tễ

- Bệnh xảy ra chủ yếu ở lợn con sau cai sữa.
- Lợn khỏe có thể mang mầm bệnh và vi khuẩn thường cư trú tại hạch amidan và các tổ chức lâm ba
- Nguồn lây nhiễm chủ yếu là qua phân của lợn bệnh và lợn mang mầm bệnh.
- Bệnh có tính chất lây lan cục bộ địa phương.

5.1.2 Triệu chứng lâm sàng

Thể bại huyết

- Thể bệnh này thường gặp ở lợn con cai sữa dưới 2 tháng tuổi.
- Dấu hiệu đầu tiên của bệnh là lợn ủ rũ, bỏ ăn, nằm rúc đầu vào góc chuồng, một vài lợn chết có biểu hiện tím tái ở bốn chân và vùng bụng.
- Lợn sốt cao từ 40,5 °C đến 41,5 °C.
- Ho nhẹ, khó thở.
- Tỷ lệ chết cao.
- Lợn trưởng thành khi mắc thể bệnh này thường chết đột ngột hoặc sảy thai.

Thể viêm ruột

- Thể bệnh này thường gặp ở lợn con từ cai sữa đến 4 tháng tuổi.
- Lợn ỉa chảy phân loãng màu vàng có khi dính máu, màng nhầy và fibrin, có thể bị đi bị lại vài lần và kéo dài đến vài tuần.
- Lợn mất nước, gầy, sốt từng cơn.
- Tỷ lệ chết thấp và chỉ xảy ra sau khi đi ỉa chảy vài tuần, còn phần lớn các lợn có thể hồi phục và trở thành vật mang trùng.

5.1.3 Bệnh tích đại thể

Thể bại huyết

- Tim tái ở tai, chân, đuôi, bụng.
- Lách, hạch màng treo ruột sưng to.
- Gan có các điểm hoại tử nhỏ.
- Phổi xung huyết, xuất huyết.
- Có khi có xuất huyết điểm ở miền vỏ thận, hoại tử ở ruột non.

Thể viêm ruột

- Tổn thương chủ yếu là hoại tử điểm hay tràn lan ở ruột già (kết tràng hoặc manh tràng). Hoại tử có khi có dạng loét cục áo.
- Niêm mạc ruột dày lên phủ dịch nhầy màu đỏ có những mảnh màu vàng xám.
- Hạch màng treo ruột và đặc biệt là hạch hồi mang tràng sưng to.

5.2 Chẩn đoán trong phòng thí nghiệm

5.2.1 Lấy mẫu

Lợn chết nghi mắc bệnh thể bại huyết lấy bệnh phẩm là: máu, lách, gan, phổi. Mỗi loại bệnh phẩm được lấy vô trùng từ 50 g đến 100 g.

Lợn chết nghi mắc bệnh thể viêm ruột lấy bệnh phẩm là ruột hoặc chất chứa ruột vùng hồi tràng, hạch lympho vùng hồi manh tràng.

Lợn sống: lấy mẫu là phân trực tràng (lấy khoảng 10 g), dịch ngoáy họng vùng amidan.

Cho mỗi loại bệnh phẩm vào từng lọ hay túi ni lon vô trùng riêng biệt, đậy kín, bảo quản trong điều kiện lạnh từ 2 °C đến 8 °C và gửi về phòng thí nghiệm chậm nhất 24 h sau khi lấy mẫu.

Gửi kèm theo bệnh phẩm giấy yêu cầu xét nghiệm có ghi rõ triệu chứng, bệnh tích và đặc điểm dịch tễ.

5.2.2 Phân lập vi khuẩn

Bệnh phẩm được cấy vào các môi trường: môi trường nước thịt (xem 3.2), môi trường thạch máu (xem 3.1), môi trường chọn lọc (thạch MacConkey, thạch Brilliant green, thạch XLD (xem 3.3)), nuôi cấy hiếu khí trong tủ ấm ở 37 °C (xem 4.1) trong 24 h.

Với những bệnh phẩm là phân, dịch ruột, dịch ngoáy họng hoặc bệnh phẩm phủ tạng nghi bị nhiễm tạp khuẩn, cấy vào môi trường tăng sinh như môi trường tetrathionate (xem 3.8), nuôi cấy hiếu khí trong tủ

ấm ở 42 °C (xem 4.2) từ 36 h đến 48 h. Sau đó cấy chuyển vào môi trường thông thường và môi trường chọn lọc.

Sau 24 h nuôi cấy, hình thái khuẩn lạc *Salmonella* trên các môi trường phân lập như sau:

Trên môi trường thạch máu (xem 3.1): khuẩn lạc có hình tròn, trơn, mặt vồng và màu trắng hơi đục.

Trên môi trường thạch MacConkey (xem 3.3): khuẩn lạc có hình tròn, trơn, hình vòm màu trắng hơi đục.

Trên môi trường thạch Brilliant green (xem 3.3): khuẩn lạc có hình tròn, trơn, màu hồng đậm.

Trên môi trường thạch XLD (xem 3.3): khuẩn lạc có hình tròn, trơn, màu đỏ có nhân đen.

Chọn khuẩn lạc nghi ngờ cấy vào môi trường thạch máu (xem 3.1), nước peptone (xem 3.4) hoặc môi trường nước thịt (xem 3.2), nuôi trong tủ ấm (xem 4.1) từ 18 h đến 24 h để kiểm tra đặc tính sinh hóa hay giám định vi khuẩn bằng phương pháp PCR (Polymerase Chain Reaction) (xem Phụ lục B).

5.2.3 Xác định vi khuẩn

5.2.3.1 Kiểm tra các đặc tính sinh hóa

Bảng 1- Một số đặc tính sinh hoá đặc trưng của vi khuẩn *Salmonella*

Tính chất	<i>Salmonella Sp.</i>	<i>S. choleraesuis</i> chủng <i>Kunzendorf</i>	<i>S. choleraesuis</i>	<i>S. typhimurium</i>
Indol	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-
H ₂ S (TSI)	+	+	-	±
Glucose	+	+	+	+
Citrate	+	+	+	-
Lysine	+	+	+	-
Mannitol	+	+	+	-

Chú thích : Dương tính: + ; Âm tính: - ; Phản ứng thay đổi: (±)

Kiểm tra các đặc tính sinh hóa theo qui định tại Phụ lục A.