

XÁC ĐỊNH TỶ LỆ NHIỄM VÀ YẾU TỐ ĐỘC LỰC CỦA VI KHUẨN *SALMONELLA* PHÂN LẬP Ở LỢN NUÔI TẠI HUYỆN HIỆP HÒA, TỈNH BẮC GIANG, VIỆT NAM

Đặng Xuân Bình, Nguyễn Thị Thùy Linh
Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã được thực hiện nhằm xác định tỷ lệ nhiễm và độc lực của vi khuẩn *Salmonella* thải trừ từ 256 lợn nái nuôi ở 20 trang trại thuộc huyện Hiệp Hòa, tỉnh Bắc Giang. Kết quả phân tích các mẫu bệnh phẩm cho thấy có 2/166 mẫu dương tính với *Salmonella weltevreden*; 3/166 mẫu dương tính với *Salmonella dublin*; 5/166 mẫu dương tính với *Salmonella anatum* và *Salmonella senftenberg*; 6/166 mẫu dương tính với *Salmonella heidelberg*; 9/166 mẫu dương tính với *Salmonella enteritidis*; 30/166 mẫu dương tính với *Salmonella typhimurium*, 41/166 mẫu dương tính với *Salmonella choleraesuis*, 10/166 mẫu dương tính với *Salmonella* chưa rõ serotype.

Các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được mang gen mã hóa yếu tố độc lực, thể hiện tính gây bệnh, bao gồm: tỷ lệ các chủng *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis* mang gen mã hóa độc tố đường ruột chịu nhiệt *Stn* lần lượt là 73,3%, 88,8%, 92,6%; Tỷ lệ các chủng *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis* mang gen *fimA* lần lượt là 66,6%, 88,8%, 92,6%; Tỷ lệ các chủng *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis* mang gen *InvA* lần lượt là 26,6%, 39,0%, 66,6%.

Tỷ lệ chủng *Salmonella choleraesuis* kháng nalidixic acid là 2,4%; kháng ciprofloxacin, rifampicin, spectinomycin là 7,3%; kháng ceftazidime, oxytetracycline là 9,7%; kháng nitrofurantoin là 12,1%; kháng trimethoprim-sulfamethoxazole là 19,5%; kháng kanamycin là 21,9%.

Tỷ lệ chủng *Salmonella enteritidis* kháng ciprofloxacin, rifampicin, ceftazidime, spectinomycin, nitrofurantoin là 11,1%; kháng trimethoprim-sulfamethoxazole, kanamycin là 22,2%.

Tỷ lệ chủng *Salmonella typhimurium* kháng nitrofurantoin, nalidixic acid và ceftazidime là 3,3%; kháng ciprofloxacin, spectinomycin và rifampicin là 6,6%; kháng trimethoprim-sulfamethoxazole là 16,6%; kháng kanamycin là 20,0%.

Các chủng *Salmonella* phân lập được mẫn cảm mạnh với nalidixic acid, oxytetracycline, ceftazidime, rifampicin, ciprofloxacin và nitrofurantoin; đồng thời biểu hiện kháng lại các kháng sinh này ở mức độ khác nhau, chiếm tỷ lệ cao nhất là trimethoprim-sulfamethoxazole, spectinomycin và kanamycin.

Từ khóa: lợn con, lợn nái, thải trừ, *Salmonella*, vi khuẩn, độc lực

The prevalence and virulence of *Salmonella* isolates from pigs in Hiep Hoa district, Bac Giang province, Viet Nam

Dang Xuan Binh, Nguyen Thi Thuy Linh

SUMMARY

The study was conducted to determine the infection rate and virulent factors of *Salmonella* bacteria isolating from 256 sows in 20 breeding farms in Hiep Hoa district, Bac Giang province, Viet Nam. The studied result showed that the serotype of 2/166 positive samples with *Salmonella weltevreden*; 3/166 positive samples with *Salmonella dublin*; 5/166 positive samples with *Salmonella anatum* and

Salmonella senftenberg; 6/166 positive samples with *Salmonella heidelberg*; 9/166 positive samples with *Salmonella enteritidis*; 30/166 positive samples with *Salmonella typhimurium*, 41/166 positive samples with *Salmonella choleraesuis*, and 10/166 positive samples with *Salmonella* were unknown.

The isolated *Salmonella* strains carried the virulent genes, including the *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* and *Salmonella choleraesuis* strains bearing *Stn* gene (causing enteritidis) accounted for 73.3%, 88.8%, and 92.6%, respectively. The *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis* strains bearing *fimA* gene accounted for 66.6%, 88.8%, and 92.6%, respectively. The *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraesuis* and *Salmonella enteritidis* strains bearing *InvA* gene accounted for 26.6%, 39.0%, and 66.6%, respectively.

The rate of *Salmonella choleraesuis* strain resisting nalidixic acid; ciprofloxacin, rifampicin, spectinomycin; ceftazidime, oxytetracycline; nitrofurantoin; trimethoprim-sulfamethoxazole; kanamycin was 2.4%, 7.3%, 9.7%, 12.1%, respectively. The rate of *Salmonella enteritidis* strain resisting ciprofloxacin, rifampicin, ceftazidime, spectinomycin, nitrofurantoin; trimethoprim-sulfamethoxazole, kanamycin was 11.1%, 22.2%, respectively. The rate of *Salmonella typhimurium* strain resisting nitrofurantoin, nalidixic acid and ceftazidime; ciprofloxacin, spectinomycin and rifampicin; trimethoprim-sulfamethoxazole; kanamycin was 3.3%, 6.6%, 16.6%, 20.0%, respectively.

The isolated *Salmonella* strains were strongly susceptible with nalidixic acid, oxytetracycline, ceftazidime, rifampicin, ciprofloxacin and nitrofurantoin. They also resisted to the above mentioned antibiotics at various levels. Of which, resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole, spectinomycin, and kanamycin accounted for the highest rate.

Keywords: piglet, sow, shedding, *Salmonella*, bacteria, virulence.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Salmonella được Salmon và Smith phân lập lần đầu tiên ở lợn vào năm 1886 (Steven A. Carlson et al., 2012), vi khuẩn cư trú trong đường ruột của cả động vật máu nóng và máu lạnh. Với số lượng hơn 2400 serotype khác nhau, *Salmonella* được xác định gây ra nhiều thể bệnh cho người và động vật. Mặc dù đã được nghiên cứu từ trên 100 năm nhưng đến nay, nhiễm khuẩn *Salmonella* ở động vật và người vẫn tiếp tục được nghiên cứu vì những vấn đề dịch tễ nghiêm trọng có tính chất toàn cầu, ước tính hàng năm trên thế giới có khoảng 155.000 người chết bởi Salmonellosis và ngộ độc thực phẩm (Patchanee, P et al., 2008; G. Evangelopoulou et al., 2015).

Mặc dù có nhiều serotype khác nhau nhưng gây bệnh ở lợn tập trung chủ yếu vào loài *Salmonella choleraesuis* và *Salmonella typhimurium*, chiếm tỷ lệ thấp hơn là *Salmonella derby*, *Salmonella heidelberg*, *Salmonella dublin* và *Salmonella enteritidis*. Có thể nhận thấy, *Salmonella* nhiễm trên lợn nói chung có liên quan đến hai vấn đề, thứ nhất là tác nhân gây bệnh cho lợn, và thứ hai là gây ngộ độc thực

phẩm cho người (Lo Fo Wong, 2002). Trong đó, loài lợn được coi là yếu tố nguồn bệnh, mang trùng và bài xuất mầm bệnh *Salmonella* có độc lực, tạo nguy cơ cao gây bệnh cho gia súc, gia cầm; gây bệnh và gây ngộ độc thực phẩm cho con người (Patchanee, P et al., 2008; Steven A. Carlson et al., 2012).

Đến tháng 12 năm 2016, huyện Hiệp Hòa, Bắc Giang có 97 trang trại và hơn 220 gia trại chăn nuôi gia súc, gia cầm. Trong đó, có 25 trang trại nuôi lợn nái ngoại sinh sản có quy mô từ 50 con trở lên; có trên 150 gia trại nuôi lợn thịt có quy mô từ 100 con trở lên. Cùng đó, trên địa bàn huyện đã xuất hiện nhiều hộ chăn nuôi gia cầm theo hướng chuyên trứng, thịt, con giống với quy mô hàng nghìn con.

Việc nghiên cứu, xác định vi khuẩn *Salmonella* nhiễm trên lợn nái sinh sản, lợn con sau cai sữa (lợn khỏe và lợn bị bệnh tiêu chảy) để bổ sung tư liệu khoa học về sự lưu hành của căn bệnh (etiology), từ đó mở ra hướng nghiên cứu mới về chẩn đoán, đề xuất biện pháp khống chế hiệu quả tình trạng mang và thải trừ vi khuẩn *Salmonella* gây bệnh cho vật nuôi và gây bệnh và gây ngộ độc thực phẩm cho người.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Tình hình thải trừ *Salmonella* ở lợn nái sinh sản và lợn con
- Tình hình bệnh phó thương hàn ở lợn sau cai sữa
- Đặc tính sinh vật, hóa học của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được
- Xác định serotype của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được
- Độc lực của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được
- Xác định gen mã hóa yếu tố gây bệnh (gen *invA*, *fimA* và *Stn*) của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được
- Đặc tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được.

2.2. Phạm vi nghiên cứu

- Một số xã, thị trấn trên địa bàn huyện Hiệp Hòa, tỉnh Bắc Giang.

2.3. Đối tượng nghiên cứu

- Lợn nái sinh sản và lợn con (lợn con theo mẹ và lợn con sau cai sữa)
- Vi khuẩn *Salmonella*.

2.4. Vật liệu nghiên cứu

- Các loại môi trường thông thường và đặc hiệu

để nuôi cấy, phân lập, chọn lọc và giám định vi khuẩn *Salmonella*; bộ kháng huyết thanh dùng xác định serotype vi khuẩn *Salmonella* phân lập được.

- Máy móc, dụng cụ phòng thí nghiệm; thiết bị PCR System 9700 (Applied Biosystem, Mỹ), máy điện di Powerpac 300 (Bio-Rad, Mỹ), máy soi DNA Mini transilluminator (Bio-Rad, Mỹ), máy chụp ảnh (Amersham Pharmacia Biotech, Thụy Điển), máy Vortex (Mimishaker, IKA, CHLB Đức), máy hút chân không Speed - Vac 110A (Savant, Mỹ), máy ly tâm, máy xung điện Gen Pulser, cùng với các trang thiết bị cần thiết khác.

2.5. Phương pháp nghiên cứu

- Thu thập mẫu phân để xác định số lượng vi khuẩn; lấy mẫu bệnh phẩm để phân lập; giám định đặc tính sinh vật, hóa học; xác định độc lực, thử tính miễn cảm với kháng sinh và hóa được của vi khuẩn *Salmonella* theo Quinn P.J et al., 2002; Wallace H. Andrews, et al., 2016. Bacteriological Analytical Manual (Chapter 5, *Salmonella*).

- Giám định serotype *Salmonella* phân lập được theo bộ kit O antigens, H (antigens phase 1, antigens phase 2) của hãng Bio-Rad (Bacterial serotyping guide for *Salmonella*); Oxoid *Salmonella* Test Kit.

- Ứng dụng kỹ thuật PCR theo Chaudhary. J. H et al., 2015 để xác định gen mã hóa yếu tố độc lực của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được.

- Xử lý thống kê sinh học bằng phần mềm SAS (*SAS 9.3.1 statistical software*).

Bảng 1. Primer sử dụng để xác định yếu tố độc lực của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

Cặp mồi	Trình tự nucleotide (5'→3')	Nhiệt độ ủ (°C)	Kích thước (bp)	TLTK
<i>fimA</i>	F: CCT TTC TCC ATC GTC CTG AA R: TGG TGT TAT CTG CCT GAC CA	56	85	[17]
<i>invA</i>	F: GTG AAA TTA TCG CCA CGT TCG GGC AA R: TCA TCG CAC CGT CAA AGG AAC C	63	284	[13]
<i>stn</i>	F: CTT TGG TCG TAA AAT AAG GCG R: TGC CCA AAG CAG AGA GAT TC	55	260	[16]

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình thải trừ *Salmonella* ở lợn nái sinh sản và lợn con

3.1.1. Tình hình thải trừ *Salmonella* ở lợn nái sinh sản

Đã thu thập mẫu phân từ 265 lợn nái sinh sản được khảo sát tại 20 trại chăn nuôi trên địa bàn 7 xã và 1 thị trấn ở huyện Hiệp Hòa, tỉnh Bắc Giang để đánh giá tình hình và mức độ thải trừ vi khuẩn *Salmonella*. Kết quả trình bày tại bảng 2.

Bảng 2. Thái trừ *Salmonella* ở lợn nái sinh sản theo địa điểm và cá thể

Địa điểm (thị trấn/xã)	Thái trừ <i>Salmonella</i> theo địa điểm			Thái trừ <i>Salmonella</i> theo cá thể		
	Số trại khảo sát	Số trại có lợn nái thái trừ <i>Salmonella</i>	Tỷ lệ (%)	Số lợn nái khảo sát	Số lợn nái thái trừ <i>Salmonella</i>	Tỷ lệ (%)
TT Thắng	2	2	100	31	12	38,7
Đức Thắng	3	3	100	33	9	27,2
Ngọc Sơn	3	3	100	39	15	38,4
Danh Thắng	2	2	100	30	11	36,6
Bắc Lý	3	3	100	30	13	43,3
Đồng Lễ	2	2	100	32	12	37,5
Lương Phong	2	2	100	36	10	27,7
Mai Trung	3	3	100	34	9	26,4
Tính chung	20	20	100	265	91	34,3

Từ bảng 2, kết quả thu được cho thấy: Hiện tượng thái trừ vi khuẩn *Salmonella* xảy ra ở tất cả các trại lợn nái sinh sản (chiếm tỷ lệ 100%). Lợn nái thái trừ *Salmonella* mức thấp nhất 26,4% (trại ở xã Mai Trung) đến mức cao nhất 43,3% (trại ở xã Bắc Lý). Tính chung, tỷ lệ thái trừ vi khuẩn *Salmonella* từ lợn nái ra môi trường chăn nuôi chiếm 34,3%. Với $P > 0,05$, có thể nhận định rằng sự sai khác về mức độ, tỷ lệ thái trừ vi khuẩn *Salmonella* ở lợn nái giữa các trang trại là không rõ rệt. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với thông báo của Lo Fo Wong et al., 2002 về tình hình

thái trừ *Salmonella* ở lợn; trước đó, nghiên cứu của Jerome C. Nietfeld et al., 1998 đã cho biết vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ mẫu tăm bông trực tràng lợn (rectal swab) chiếm 46,6%.

3.1.2. Tình hình thái trừ *Salmonella* ở lợn nái sinh sản theo lứa đẻ

Thu thập mẫu phân từ 240 lợn nái sinh sản địa bàn huyện Hiệp Hòa, Bắc Giang theo mô hình lứa đẻ tại các thời điểm lấy mẫu khác nhau để đánh giá mức độ thái trừ vi khuẩn *Salmonella*. Kết quả trình bày tại bảng 3.

Bảng 3. Thái trừ *Salmonella* ở lợn nái sinh sản theo lứa đẻ

Thời điểm lấy mẫu	Lợn nái đẻ 1 lứa			Lợn nái đẻ từ 2 đến 5 lứa			Lợn nái đẻ > 5 lứa			Tính chung
	Số nái khảo sát	Số nái thái trừ (+)	Tỷ lệ (%)	Số nái khảo sát	Số nái thái trừ (+)	Tỷ lệ (%)	Số nái khảo sát	Số nái thái trừ (+)	Tỷ lệ (%)	
Trước đẻ 2 tuần	12	3	25,0	28	14	50,0	24	4	16,6	21/64 (32,8%)
Sau đẻ 1 tuần (7 - 14 ngày)	13	5	38,4	31	16	51,6	25	5	20,0	26/69 (37,6%)
Sau đẻ 2 tuần (14 - 21 ngày)	11	2	18,1	29	18	62,0	22	5	22,7	25/62 (40,3%)
Sau cai sữa lợn con 1 tuần (21 - 28 ngày)	14	2	14,2	35	12	34,2	21	5	23,8	19/70 (27,1%)

Kết quả bảng 3 cho thấy tình hình thái trừ vi khuẩn *Salmonella* ở lợn nái sinh sản theo các giai đoạn trước đẻ 2 tuần, sau đẻ 1 tuần (lợn con từ 7 đến 14 ngày tuổi), sau cai sữa lợn con 1 tuần (lợn

con từ 21 đến 28 ngày tuổi). Cụ thể như sau:

Trước khi đẻ 2 tuần, thái trừ *Salmonella* chiếm tỷ lệ 25,0% ở lợn nái đẻ 1 lứa; 50,0% ở lợn nái đẻ từ 2 đến 5 lứa; chiếm tỷ lệ 16,6% ở lợn nái đẻ trên

5 lứa (Tính chung ở lợn nái trước khi đẻ 1 tuần thải trừ vi khuẩn *Salmonella* chiếm tỷ lệ 32,8%).

Sau đẻ 1 tuần, thải trừ *Salmonella* chiếm tỷ lệ 38,4% ở lợn nái đẻ 1 lứa; 51,6% ở lợn nái đẻ từ 2 đến 5 lứa; chiếm tỷ lệ 20,0% ở lợn nái đẻ > 5 lứa (Tính chung ở lợn nái sau đẻ 1 tuần thải trừ vi khuẩn *Salmonella* chiếm tỷ lệ 37,6%).

Sau đẻ 2 tuần, thải trừ *Salmonella* chiếm tỷ lệ 18,1% ở lợn nái đẻ 1 lứa; 62,0% ở lợn nái đẻ từ 2 đến 5 lứa; chiếm tỷ lệ 22,7% ở lợn nái đẻ > 5 lứa (Tính chung ở lợn nái sau khi đẻ 2 tuần thải trừ vi khuẩn *Salmonella* chiếm tỷ lệ 40,3%).

Sau cai sữa lợn con 1 tuần, thải trừ *Salmonella* chiếm tỷ lệ 14,2% ở lợn nái đẻ 1 lứa; 34,2% ở lợn nái đẻ từ 2 đến 5 lứa; chiếm tỷ lệ 23,8% ở lợn nái đẻ > 5 lứa (Tính chung ở lợn nái sau cai sữa lợn con 1 tuần thải trừ vi khuẩn *Salmonella* chiếm tỷ lệ 27,1%).

Với giá trị $P < 0,05$ cho thấy sự sai khác có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ thải trừ *Salmonella* giữa các giai đoạn của lợn nái sinh sản. Kết quả này có sự tương đồng với thông báo của Tran TP et

al., 2004 về tình hình thải trừ *Salmonella* ở lợn, gà, vịt trong một nghiên cứu tại đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam; và nghiên cứu của Chiara F. Magistrali et al., 2011 về tình hình thải trừ vi khuẩn *Salmonella* các nhóm lợn nái sinh sản tại Italy. Họ cho biết tỷ lệ vi khuẩn *Salmonella* thải trừ chiếm 33,3% ở trong nhóm lợn nái đẻ 1 lứa (in primiparous), 28,8% ở lợn nái đẻ từ 2 đến 5 lứa (in pluriparous), và chiếm 4,6% ở lợn nái đã đẻ trên 5 lứa (in old sows).

3.1.3. Tình hình thải trừ *Salmonella* ở lợn nái sinh sản theo mùa

Do đặc điểm thời tiết khí hậu của huyện Hiệp Hòa, Bắc Giang thuộc khu vực miền núi phía Bắc Việt Nam có 4 mùa rõ rệt nên chúng tôi đã bố trí thí nghiệm thu thập mẫu phân lợn nái sinh sản nuôi tại 8 xã và thị trấn trên địa bàn nghiên cứu là thị trấn Thắng (T), các xã Đức Thắng (ĐT), Ngọc Sơn (NS), Danh Thắng (DT), Bắc Lý (BL), Đông Lễ (ĐL), Lương Phong (LP) và xã Mai Trung (MT) để xác định mức độ thải trừ vi khuẩn *Salmonella* theo mùa, kết quả trình bày tại bảng 4.

Bảng 4. Thải trừ *Salmonella* ở lợn nái sinh sản theo mùa

Địa điểm khảo sát	Tình hình thải trừ <i>Salmonella</i> ở lợn nái sinh sản theo mùa											
	Xuân (tháng 2-4)			Hè (tháng 5-7)			Thu (tháng 8-10)			Đông (tháng 11-1)		
	Số lợn nái kiểm tra	Số lợn thải trừ	Tỷ lệ (%)	Số lợn nái kiểm tra	Số lợn thải trừ	Tỷ lệ (%)	Số lợn nái kiểm tra	Số lợn thải trừ	Tỷ lệ (%)	Số lợn nái kiểm tra	Số lợn thải trừ	Tỷ lệ (%)
T	8	5	62,5	6	3	50,0	9	3	33,3	8	1	12,5
ĐT	9	4	44,4	9	3	33,3	8	2	25,0	7	0	0
NS	11	6	54,5	9	4	44,4	10	4	40,0	9	1	11,1
DT	8	5	62,5	6	2	33,3	8	2	25,0	8	2	25,0
BL	7	5	71,4	7	4	57,1	8	3	37,5	8	1	12,5
ĐL	8	5	62,5	6	3	50,0	9	2	22,2	9	2	22,2
LP	10	4	40,0	9	3	33,3	8	2	25,0	9	1	11,1
MT	8	3	37,5	8	3	37,5	9	3	33,3	9	0	0

Kết quả trình bày ở bảng 4 cho thấy có sự biến động về tình hình thải trừ vi khuẩn *Salmonella* ở lợn nái sinh sản theo các mùa xuân (từ tháng 2 đến tháng 4); hè (từ tháng 5 đến tháng 7); thu (từ tháng

8 đến tháng 10); đông (từ tháng 11 đến tháng 1 năm sau) theo hướng chiếm tỷ lệ cao trong mùa xuân, hè; giảm trong mùa thu, đông. Cụ thể như dưới đây:

Trong mùa xuân, lợn nái sinh sản thải trừ *Salmonella* thấp nhất, chiếm 37,5% (xã MT), cao nhất chiếm 71,4% (xã BL); mùa hè tình hình thải trừ *Salmonella* có dấu hiệu giảm nhưng chưa biểu hiện rõ ($P>0,05$), tỷ lệ thải trừ thấp nhất chiếm 33,3% (các xã LP, DT, ĐT), cao nhất chiếm 57,1% (xã BL); mùa thu, tỷ lệ thải trừ *Salmonella* ở lợn nái sinh sản giảm rõ rệt ($P<0,05$), tỷ lệ thải trừ thấp nhất là 22,5% (xã ĐL), thải trừ mức cao nhất chiếm 40,0% (xã NS); mùa đông, tình hình thải trừ *Salmonella* tiếp tục giảm, và tương tự mùa thu ($P<0,05$), tỷ lệ thải trừ thấp nhất 0% (xã MT, ĐT), mức thải trừ cao nhất chiếm 25,0% (DT). Kết quả thu được trong chi tiêu này có sự phù hợp với nghiên cứu của Wendy Wilkins et

al., 2010 ở Alberta và Saskatchewan, Canada về tình hình dương tính với vi khuẩn *Salmonella* trong chăn nuôi lợn: tỷ lệ mẫu thu thập dương tính với *Salmonella* chiếm 36%, trong đó tỷ lệ phân lập được *Salmonella* từ lợn nái chiếm 43%, lợn sữa chiếm 29%, lợn trưởng thành tỷ lệ thải trừ *Salmonella* chiếm 28%; tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *Salmonella* từ trong môi trường chăn nuôi của trang trại nằm trong khoảng từ 1% đến 79%.

3.1.4. Tình hình thải trừ *Salmonella* ở lợn con

Đã thu thập mẫu phân từ lợn sau cai sữa để giám sát thải trừ vi khuẩn *Salmonella* trong phân trước và sau khi bị tiêu chảy nghi mắc phó thương hàn (Salmonellosis). Kết quả trình bày tại bảng 5.

Bảng 5. Thải trừ *Salmonella* ở lợn con trước và sau cai sữa

Địa điểm khảo sát	Trước cai sữa (7-14 ngày tuổi)						Sau cai sữa (21-35 ngày tuổi)					
	Lợn khỏe			Lợn tiêu chảy			Lợn khỏe			Lợn tiêu chảy		
	Số lợn kiểm tra	Số lợn thải trừ	Tỷ lệ (%)	Số lợn kiểm tra	Số lợn thải trừ	Tỷ lệ (%)	Số lợn kiểm tra	Số lợn thải trừ	Tỷ lệ (%)	Số lợn kiểm tra	Số lợn thải trừ	Tỷ lệ (%)
T	42	1	2,3	2	0	0	42	5	11,9	3	3	100
ĐT	51	2	3,9	3	1	33,3	51	3	5,8	3	3	100
NS	39	0	0	2	0	0	39	4	10,2	2	2	100
DT	36	1	2,7	3	0	0	36	5	13,8	4	4	100
BL	44	1	2,2	3	0	0	44	4	9,0	3	3	100
ĐL	49	0	0	4	1	25,0	49	4	8,1	4	4	100
LP	50	1	2,0	2	0	0	50	6	12,0	3	3	100
MT	46	0	0	3	0	0	46	5	10,8	3	3	100

Kết quả tại bảng 5 cho thấy sự biến động rõ rệt ($P<0,05$) về thải trừ vi khuẩn *Salmonella* ở lợn khỏe và lợn tiêu chảy nghi mắc phó thương hàn ở cả 2 giai đoạn trước cai sữa và sau cai sữa, cụ thể như sau:

Giai đoạn trước cai sữa (7 đến 14 ngày tuổi): tỷ lệ thải trừ *Salmonella* ở lợn khỏe (không có triệu chứng tiêu chảy) thấp nhất, chiếm từ 2,0% (xã LP) đến cao nhất chiếm 3,9% (xã ĐT), có 3 xã không có mẫu dương tính với *Salmonella* (xã MT, NS và xã ĐL), tính chung tỷ lệ thải trừ *Salmonella* ở giai đoạn này ở lợn khỏe là 6/357, chiếm 1,68%; tỷ lệ mẫu dương tính *Salmonella*

ở lợn tiêu chảy thấp nhất chiếm 25,0% (lợn tiêu chảy xã ĐL) đến 33,3% (lợn tiêu chảy xã ĐT), lợn tiêu chảy ở các xã còn lại đều cho kết quả âm tính với *Salmonella* (các xã MT, LP, BL, DT, NS, T), tính chung tỷ lệ thải trừ *Salmonella* ở giai đoạn này ở lợn tiêu chảy là 2/22, chiếm 9,0%. Việc không phân lập được vi khuẩn *Salmonella* ở lợn có triệu chứng tiêu chảy trong giai đoạn này hoàn toàn phù hợp với đặc điểm bệnh phó thương hàn ở lợn (Salmonellosis), thường chỉ xảy ra ở lợn sau cai sữa (Steven A. Carlson et al., 2012); bệnh phân trắng lợn con (Colibacillosis) trong giai đoạn trước cai sữa thường do vi khuẩn *E. coli* gây ra (John M. Fairbrother và Carlton L. Gyles, 2012).

Lợn con sau cai sữa (21 đến 35 ngày tuổi): tỷ lệ thải trừ *Salmonella* ở lợn khỏe thấp nhất chiếm 5,8% (xã ĐT), cao nhất chiếm 13,8% (xã DT), tính chung tỷ lệ thải trừ *Salmonella* ở lợn khỏe giai đoạn này là 36/357, chiếm 10,0%; tỷ lệ thải trừ *Salmonella* ở lợn con tiêu chảy là 100%. Như vậy, kết quả chỉ tiêu này của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với thông báo của Wendy Wilkins et al., 2010; Tran TP et al., 2004; Chiara F. Magistrali et al., 2011; và Pires AF et al., 2013 và Li Bai et al., 2015 về tình hình thải trừ *Salmonella* ở lợn tại nhiều khu vực chăn nuôi trên thế giới.

3.1.5. Biến động về số lượng vi khuẩn *Salmonella* thải trừ qua phân ở lợn con sau cai sữa

Từ kết quả thu được tại bảng 5, đã thu thập mẫu phân từ nhóm lợn sau cai sữa khỏe và đang bị tiêu chảy do mắc bệnh phó thương hàn để giám sát sự biến động tăng hoặc giảm số lượng mầm bệnh vi khuẩn *Salmonella* thải trừ trong 1 gram phân. Chỉ tiêu này một mặt nhằm đánh giá mức độ thải trừ về số lượng vi khuẩn *Salmonella*, mặt khác đánh giá vai trò của vi khuẩn *Salmonella* gây bệnh phó thương hàn ở lợn con sau cai sữa. Kết quả thu được trình bày tại bảng 6.

Bảng 6. Biến động số lượng vi khuẩn *Salmonella* thải trừ ở lợn con sau cai sữa

Địa điểm khảo sát	Lợn khỏe			Lợn tiêu chảy (Salmonellosis)		
	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Số lượng vi khuẩn <i>Salmonella</i> /g phân	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Số lượng vi khuẩn <i>Salmonella</i> /g phân
T	42	5	$0,32 \times 10^6$	3	3	$0,65 \times 10^9$
ĐT	51	3	$0,93 \times 10^6$	3	3	$0,29 \times 10^9$
NS	39	4	$0,28 \times 10^6$	2	2	$0,34 \times 10^9$
DT	36	5	$0,51 \times 10^6$	4	4	$0,46 \times 10^9$
BL	44	4	$0,83 \times 10^6$	3	3	$0,18 \times 10^9$
ĐL	49	4	$0,68 \times 10^6$	4	4	$0,23 \times 10^9$
LP	50	6	$0,39 \times 10^6$	3	3	$0,56 \times 10^9$
MT	46	5	$0,62 \times 10^6$	3	3	$0,75 \times 10^9$

Kết quả tại bảng 6 cho thấy: Số lượng vi khuẩn *Salmonella* thải trừ từ lợn bị phó thương hàn từ $0,18 \times 10^9$ CFU/g phân đến $0,75 \times 10^9$ CFU/g phân, cao hơn so với số lượng vi khuẩn *Salmonella* thải trừ từ lợn khỏe, chỉ từ $0,28 \times 10^6$ CFU/g phân đến $0,93 \times 10^6$ CFU/g phân ($P < 0,05$). Như vậy, số lượng vi khuẩn *Salmonella* do lợn bệnh thải trừ có sự biến động tăng giữa lợn khỏe (từ $0,28 \times 10^6$ CFU/g đến $0,93 \times 10^6$ CFU/g) và lợn bệnh (từ $0,23 \times 10^9$ CFU/g đến $0,75 \times 10^9$ CFU/g), tương tự với thực nghiệm của Nicole C. Burdick Sanchez et al., 2017 về đánh giá mức thải trừ vi khuẩn *Salmonella* qua phân tại các thời điểm 24h, 48h, và 72h sau khi lợn được gây nhiễm *Salmonella* (từ $3,9 \times 10^9$ CFU/g đến $4,1 \times 10^9$ CFU/g) và phù hợp với thông báo của Pires AF, et al., 2013 về tình hình thải trừ *Salmonella* ở lợn thịt trưởng thành.

Bên cạnh đó, có thể thấy chỉ tiêu số lượng *Salmonella* thải trừ qua phân ở lợn sau cai sữa mắc bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi đã tiệm cận ngưỡng dùng để gây bệnh thực nghiệm cho lợn sau cai sữa của Walsh. M. C et al., 2010; Nicole C. Burdick Sanchez et al., 2017, họ đã lần lượt gây nhiễm cho lợn con sau cai sữa bằng cách cho uống canh khuẩn với liều 10^{10} CFU/lợn và $4,7 \times 10^9$ CFU/lợn chủng *Salmonella typhimurium*.

3.2. Tình hình bệnh phó thương hàn ở lợn sau cai sữa

3.2.1. Một số đặc điểm dịch tễ bệnh phó thương hàn ở lợn sau cai sữa

Tiến hành điều tra tình hình bệnh phó thương hàn ở lợn con sau cai sữa (21 ngày tuổi) đến khi xuất chuồng (4 tháng), kết quả trình bày tại bảng 7.

Bảng 7. Tình hình bệnh phó thương hàn ở lợn con sau cai sữa

Địa điểm điều tra	Số lợn khảo sát (con)	Số lợn bị phó thương hàn (con)	Tỷ lệ mắc bệnh (%)	Số lợn chết (con)	Tỷ lệ chết (%)
TT Thắng	42	3	7,1	1	33,3
Đức Thắng	51	3	5,8	0	0
Ngọc Sơn	39	2	5,1	0	0
Danh Thắng	36	4	11,1	1	25,0
Bắc Lý	44	3	6,8	0	0
Đông Lỗ	49	4	8,1	0	0
Lương Phong	50	3	6,0	1	33,3
Mai Trung	46	3	6,5	0	0

Tại bảng 7, kết quả thu được cho thấy lợn sau cai sữa mắc phó thương hàn chiếm tỷ lệ từ 5,1% (xã Ngọc Sơn) đến 11,1% (xã Danh Thắng); tỷ lệ chết chiếm từ 25,0% (xã Danh Thắng) đến 33,3% (xã Lương Phong và thị trấn Thắng), các xã khác (Đức Thắng, Ngọc Sơn, Bắc Lý, Đông Lỗ, Mai Trung) tỷ lệ chết của lợn mắc phó thương hàn là 0%. Kết quả về chỉ tiêu này của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu tổng hợp của Steven A. Carlson et al., 2012 về bệnh do vi khuẩn *Salmonella* gây ra ở

lợn sau cai sữa.

3.2.2. Phân lập vi khuẩn *Salmonella* từ mẫu bệnh phẩm lợn con sau cai sữa bị tiêu chảy

Tiến hành mổ khám, thu thập mẫu bệnh phẩm (gan, thận, máu trong tim, hạch ruột, dịch ruột non, dịch ruột già, phân tiêu chảy), mỗi loại lấy 30 mẫu từ lợn sau cai sữa mắc bệnh phó thương hàn (*Salmonellosis*) để phân lập vi khuẩn *Salmonella*, kết quả trình bày tại bảng 8.

Bảng 8. Phân lập vi khuẩn *Salmonella* từ bệnh phẩm lợn con sau cai sữa bị phó thương hàn

Loại mẫu	Số lượng	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Gan	30	16	53,3
Thận	30	18	60,0
Máu trong tim	30	22	73,3
Hạch ruột	30	20	66,6
Dịch ruột non	30	30	100
Dịch ruột già	30	30	100
Phân tiêu chảy	30	30	100
Tính chung	210	166	79,0

Kết quả ở bảng 8 cho thấy tỷ lệ phân lập vi khuẩn *Salmonella* đạt từ 53,3% (mẫu gan), đến 60,0% (mẫu thận), 66,6% (mẫu hạch ruột), 73,3% (mẫu máu trong tim), các mẫu dịch ruột non, dịch ruột già, phân tiêu chảy, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *Salmonella* đạt 100%. Tương tự kết quả ở bảng 6, chỉ tiêu này hoàn toàn phù hợp với thông

báo của Nguyễn Mạnh Phương và cs., 2012; nghiên cứu tổng hợp của Steven A. Carlson et al., 2012 về khả năng xâm nhập của vi khuẩn *Salmonella* và khảo sát của Nicole C. Burdick Sanchez et al., 2017 về tỷ lệ phân lập *Salmonella* trong các mẫu bệnh phẩm gan, lách, thận, ruột già, hạch ruột, và mẫu phân sau khi gây bệnh thực nghiệm cho lợn.

3.2.3. Giám định đặc tính sinh vật, hóa học của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

Tiến hành giám định đặc tính sinh vật, hóa học của các chủng *Salmonella* phân lập được (91 chủng). kết quả trình bày tại bảng 9.

Bảng 9. Đặc tính sinh vật, hóa học của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

Các thử nghiệm đặc tính sinh vật, hóa học	Kết quả		
	Số chủng giám định	Phản ứng dương tính	Tỷ lệ (%)
Sinh trưởng, phát triển trong môi trường <i>Rappaport-Vassiliadis</i> ở 42°C	166	166	100
Tính chất bắt màu Gram âm	166	166	100
Khả năng di động	166	58	34,9
Khả năng dung huyết trên thạch máu	166	0	0
Lên men đường Lactose	166	0	0
Sản sinh H ₂ S	166	166	100

Kết quả trình bày ở bảng 9 cho thấy vi khuẩn *Salmonella* phân lập được có đặc tính sinh vật, hóa học đặc trưng và điển hình của giống (Genus); 100% số chủng phân lập được sinh trưởng, phát triển tốt trong môi trường *Rappaport-Vassiliadis* ở 42°C; Gram âm (bắt màu đỏ safranin của thuốc nhuộm Gram); 34,9% có khả năng di động; không gây dung huyết trên môi trường thạch máu; không lên men đường lactose; 100% số chủng được thử sản sinh H₂S. Kết quả giám định này hoàn toàn

phù hợp với tài liệu của Quinn P. J et al., 2002; Steven A. Carlson et al., 2012 về đặc tính sinh vật học của vi khuẩn *Salmonella* gây bệnh ở lợn và gây ngộ độc thực phẩm ở người.

3.2.4. Độc lực của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

Bổ trí thí nghiệm để thử độc lực của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được trên chuột bạch sạch bệnh (SPF). Kết quả trình bày tại bảng 10.

Bảng 10. Độc lực của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

Nguồn gốc phân lập vi khuẩn	Số lượng chủng	Số chuột thử (con)	Liều tiêm xoang bụng (ml/con)	Số chuột chết sau khi gây nhiễm (cộng dồn)					Tỷ lệ chết (%)
				8 giờ	24 giờ	32 giờ	48 giờ	6 ngày	
Gan	16	32	0,2	18	23	32		32	100
Thận	18	36	0,2	12	26	36		36	100
Máu trong tim	22	44	0,2	19	28	35	43	43	97,7
Hạch ruột	20	40	0,2	19	28	40		40	100
Dịch ruột non	30	60	0,2	36	48	55	56	56	93,3
Dịch ruột già	30	60	0,2	34	43	51	53	53	88,3
Phân tiêu chảy	30	60	0,2	38	53	56	51	51	85,0

Tại bảng 10, các kết quả thu được cho thấy vi khuẩn *Salmonella* phân lập được có độc lực mạnh với chuột bạch thí nghiệm. Sau 48 giờ kể từ khi gây nhiễm

đã có tới 85,0% chuột thí nghiệm bị chết bởi chủng phân lập từ phân tiêu chảy; 88,3% số chuột bị chết do chủng *Salmonella* phân lập từ dịch ruột già; 93,3% số

chuột thí nghiệm bị chết do chủng *Salmonella* phân lập từ dịch ruột non; 97,7% số chuột bị chết do chủng *Salmonella* phân lập từ máu trong tim; và 100% số chuột thí nghiệm đã bị chết do chủng *Salmonella* phân lập từ hạch ruột, thận, gan. Chuột thí nghiệm chết mổ khám và phân lập lại được vi khuẩn *Salmonella* trong các mẫu bệnh phẩm tương tự.

3.2.5. Xác định serotype của vi khuẩn *Salmonella*

phân lập được

Tiến hành xác định serotype của 166 chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được bằng phản ứng ngưng kết nhanh trên phiến kính với kit kháng huyết thanh chuẩn O, H (H antigens phase 1, H antigens phase 2) của Bio-Rad Laboratories, Inc. Kết quả trình bày tại bảng 11.

Bảng 11. Serotype của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ bệnh phẩm lợn phó thương hàn

Serotype	Nguồn gốc phân lập của chủng <i>Salmonella</i>						Phân tiêu chảy	Tổng
	Gan	Thận	Máu tim	Hạch ruột	Dịch ruột non	Dịch ruột già		
<i>Salmonella anatum</i>	1	-	-	2	-	-	2	5
<i>Salmonella choleraesuis</i>	3	2	1	9	11	9	6	41
<i>Salmonella enteritidis</i>	1	-	-	-	3	2	3	9
<i>Salmonella dublin</i>	-	2	1	-	-	-	-	3
<i>Salmonella heidelberg</i>	-	-	-	2	1	1	2	6
<i>Salmonella typhimurium</i>	2	1	3	5	8	6	5	30
<i>Salmonella senftenberg</i>	1	-	-	2	-	-	2	5
<i>Salmonella weltevreden</i>	1	1	-	-	-	-	-	2
<i>Salmonella unknown</i>	2	1	1	-	2	2	2	10
Tổng	11	7	6	20	25	20	22	111

Từ bảng 11 kết quả thu được cho thấy có 2 chủng dương tính với serotype *Salmonella weltevreden*; 3 chủng *Salmonella dublin*; 5 chủng dương tính với serotype *Salmonella anatum* và *Salmonella senftenberg*; 6 chủng dương tính với *Salmonella heidelberg*; 9 chủng với *Salmonella enteritidis*; chiếm tỷ lệ cao nhất thuộc về 2 serotype *Salmonella typhimurium* (30 chủng), và *Salmonella choleraesuis* (41 chủng); nhóm *Salmonella* chưa biết (unknown) có 10 chủng.

Kết quả xác định serotype vi khuẩn *Salmonella* của chúng tôi có sự tương đồng với Tran TP et al., 2004 về tỷ lệ xác định đối với serotype *Salmonella weltevreden*, nhưng khác về việc phát hiện serotype *Salmonella heidelberg* (6/166); Patchanee, P. Et al., 2008 về serotype *Salmonella heidelberg*; Wendy Wilkins et al., 2010 về tỷ lệ các serotype *Salmonella typhimurium*; Uzzau S et al., 2000; Sylvie Côté et al., 2004; và Steven

A. Carlson et al., 2012 về tỷ lệ các serotype *Salmonella dublin*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella anatum*, và một số chủng *Salmonella* chưa xác định serotype.

3.2.6. Xác định yếu tố độc lực của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

Tiến hành phản ứng PCR để xác định DNA mang gen mã hóa sản sinh các yếu tố độc lực bao gồm độc tố đường ruột enterotoxin Stn, yếu tố bám dính fimA, khả năng xâm nhập InvA của 111 chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ bệnh phẩm lợn con sau cai sữa bị phó thương hàn, kết quả trình bày tại bảng 12.

Kết quả trình bày tại bảng 12 cho thấy DNA mang gen mã hóa độc tố đường ruột Stn, yếu tố bám dính fimA, khả năng xâm nhập InvA được phát hiện ở tất cả các serotype *Salmonella* phân lập được, cụ thể như sau:

Bảng 12. Tần suất phát hiện gen mã hóa sản sinh yếu tố gây bệnh Stn, fimA, InvA của vi khuẩn *Salmonella* gây bệnh phó thương hàn ở lợn con sau cai sữa

Serotype <i>Salmonella</i> phân lập được	Số chủng kiểm tra	Tần suất phát hiện gen độc lực					
		Stn		fimA		InvA	
		Số chủng mang gen mã hóa	Tỷ lệ %	Số chủng mang gen mã hóa	Tỷ lệ %	Số chủng mang gen mã hóa	Tỷ lệ %
<i>Salmonella anatum</i>	5	4	80,0	4	80,0	2	40,0
<i>Salmonella choleraesuis</i>	41	38	92,6	38	92,6	16	39,0
<i>Salmonella enteritidis</i>	9	8	88,8	8	88,8	6	66,6
<i>Salmonella dublin</i>	3	2	66,6	1	33,3	1	33,3
<i>Salmonella heidelberg</i>	6	4	66,6	4	66,6	2	33,3
<i>Salmonella typhimurium</i>	30	22	73,3	20	66,6	8	26,6
<i>Salmonella senftenberg</i>	5	4	80,0	4	80,0	2	40,0
<i>Salmonella weltevreden</i>	2	1	50,0	1	50,0	1	50,0
<i>Salmonella unknown</i>	10	8	80,0	6	60,0	3	30,0
Tổng	111	91	81,9	86	77,4	41	36,9

Độc tố đường ruột Stn: *Salmonella weltevreden* có DNA mang gen sản sinh Stn chiếm tỷ lệ 50,0%; *Salmonella dublin* và *Salmonella heidelberg* chiếm tỷ lệ 66,6%; *Salmonella typhimurium* chiếm 73,3%; *Salmonella senftenberg*, *Salmonella anatum*, *Salmonella unknown* chiếm 80,0%; serotype *Salmonella enteritidis* chiếm 88,8%; và serotype *Salmonella choleraesuis* có DNA mang gen sản sinh Stn chiếm 92,6%. Tính chung, tỷ lệ số chủng *Salmonella* có gen mã hóa độc tố đường ruột Stn chiếm 81,9%.

Yếu tố bám dính fimA: *Salmonella dublin* mang gen mã hóa yếu tố bám dính fimA chiếm tỷ lệ thấp nhất (33,3%); *Salmonella weltevreden* chiếm 50,0%; *Salmonella unknown* chiếm 60,0%; *Salmonella typhimurium* và *Salmonella heidelberg* chiếm 66,6%; *Salmonella senftenberg* và *Salmonella anatum* chiếm 80,0%; *Salmonella enteritidis* chiếm 88,8%; và serotype *Salmonella choleraesuis* mang DNA có gen mã hóa yếu tố bám dính fimA chiếm 92,6%. Tính chung, tỷ lệ số chủng *Salmonella* có gen mã hóa yếu tố bám dính fimA chiếm 77,4%.

Khả năng xâm nhập InvA: *Salmonella typhimurium* mang gen mã hóa khả năng xâm nhập InvA chiếm 26,6%; *Salmonella unknown* chiếm

30,0%; *Salmonella heidelberg* và *Salmonella dublin* chiếm 33,3%; *Salmonella choleraesuis* chiếm 39,0%; *Salmonella anatum* và *Salmonella senftenberg* chiếm 40,0%; *Salmonella weltevreden* chiếm 50,0%; và serotype *Salmonella enteritidis* có DNA mang gen mã hóa khả năng xâm nhập InvA chiếm 66,6%.

Như vậy, so với kết quả khảo sát của Chaudhary. J. H et al., 2015 về khả năng sản sinh Stn, fimA, InvA của vi khuẩn *Salmonella typhimurium* và *Salmonella enteritidis* phân lập từ thịt lợn và lò mổ ở Ahmedabad, Gujarat, kết quả của chúng tôi có sự tương đồng về định tính, nhưng lại thấp hơn về tỷ lệ phát hiện DNA mang gen mã hóa (của họ đều ở mức 100% về các chỉ tiêu này); và cũng thấp hơn so với kết quả của Arunava Das et al., 2012 trong nghiên cứu về yếu tố độc lực của vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ thịt lợn, bò và thịt gia cầm tại Tamil Nadu, India về chỉ tiêu Stn (100%), InvA (100%), nhưng có sự tương đồng về tỷ lệ sản sinh yếu tố bám dính (plasmid encoded fimbriae *pefA*, chiếm 51,42%).

3.2.7. Xác định tính kháng thuốc với một số loại kháng sinh và hóa dược của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

Đã tiến hành thí nghiệm xác định tính mẫn

cảm với một số loại kháng sinh và hóa được của 86 chủng *Salmonella* đã xác định serotype và chiếm tỷ lệ cao trong tổng số 166 chủng *Salmonella* giám định (*Salmonella*

choleraesuis, 41 chủng; *Salmonella enteritidis*, 9 chủng; *Salmonella typhimurium*, 30 chủng; *Salmonella heidelberg*, 6 chủng). Kết quả trình bày ở bảng 13.

Bảng 13. Tính kháng thuốc của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

Kháng sinh	<i>S. choleraesuis</i>			<i>S. enteritidis</i>			<i>S. typhimurium</i>			<i>S. heidelberg</i>		
	Số chủng thử	Số kháng thuốc	Tỷ lệ (%)	Số chủng thử	Số kháng thuốc	Tỷ lệ (%)	Số chủng thử	Số kháng thuốc	Tỷ lệ (%)	Số chủng thử	Số kháng thuốc	Tỷ lệ (%)
Nitrofurantoin	41	5	12,1	9	1	11,1	30	1	3,3	6	0	0
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	41	8	19,5	9	2	22,2	30	5	16,6	6	1	16,6
Ciprofloxacin	41	3	7,3	9	1	11,1	30	2	6,6	6	0	0
Ceftazidime	41	4	9,7	9	1	11,1	30	1	3,3	6	0	0
Kanamycin	41	9	21,9	9	2	22,2	30	6	20,0	6	2	33,3
Rifampicin	41	3	7,3	9	1	11,1	30	2	6,6	6	0	0
Nalidixic acid	41	1	2,4	9	0	0	30	1	3,3	6	0	0
Oxytetracycline	41	4	9,7	9	0	0	30	0	0	6	0	0
Spectinomycin	41	3	7,3	9	1	11,1	30	2	6,6	6	1	16,6

Từ bảng 13, các kết quả cho thấy vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ lợn sau cai sữa mắc bệnh phó thương hàn đã biểu hiện kháng lại các kháng sinh thông dụng ở mức độ khác nhau theo từng loại như thông báo trong nghiên cứu tổng hợp của Quinn P. J et al., 2002; Cheng-Hsun Chiu et al., 2004; Patchanee, P et al., 2008; Steven A. Carlson et al., 2012 và nhiều tác giả khác trên thế giới. Cụ thể như sau:

Serotype *Salmonella choleraesuis* có 1/41 chủng kháng nalidixic acid (2,4%); 3/41 kháng ciprofloxacin, rifampicin, spectinomycin (7,3%); 4/41 kháng ceftazidime, oxytetracycline (9,7%); 5/41 kháng nitrofurantoin (12,1); 8/41 kháng trimethoprim-sulfamethoxazole (19,5%); và 9/41 chủng kháng kanamycin (21,9%).

Serotype *Salmonella enteritidis* không có chủng nào kháng nalidixic acid và oxytetracycline (0%); 1/9 đã kháng ciprofloxacin, rifampicin, ceftazidime, spectinomycin và nitrofurantoin (11,1%); 2/9 chủng kháng trimethoprim-sulfamethoxazole và kanamycin (22,2%).

Serotype *Salmonella typhimurium* không có

chủng nào kháng oxytetracycline (0%); 1/30 kháng nitrofurantoin, nalidixic acid và ceftazidime (3,3); 2/30 kháng ciprofloxacin, spectinomycin và rifampicin (6,6%); 5/30 kháng trimethoprim-sulfamethoxazole (16,6%); 6/30 chủng kháng kanamycin (20,0%).

Serotype *Salmonella heidelberg* không có chủng nào kháng rifampicin, nalidixic acid, oxytetracycline, ceftazidime, ciprofloxacin và nitrofurantoin (0%); 2/6 đã kháng kanamycin (33,3%); 1/6 chủng kháng trimethoprim-sulfamethoxazole, spectinomycin (16,6%).

Như vậy, kết quả khảo sát tính kháng thuốc của các serotype *Salmonella* phân lập được hoàn toàn phù hợp với thông báo của Li Bai et al., 2015 trong một nghiên cứu gần đây về tính kháng thuốc của các serotype *Salmonella typhimurium*, *Salmonella derby* và *Salmonella enteritidis* phân lập từ gà và lợn thịt tại lò mổ, cho biết các serotype vi khuẩn này đã kháng lại ciprofloxacin từ 8,6% và 10,0%, đã kháng ciprofloxacin từ 8,6% đến 10,0%; kháng lại cefotaxime từ 5,5 đến 8,6%; tương tự, trước đó,

David M Onyango et al., 2014 cũng cho biết serotype *Salmonella choleraesuis* phân lập từ lợn đã kháng kanamycin (80,0%), kháng spectinomycin (31,6%), kháng sulfamethoxazole-trimethoprim (32,6%), kháng cephalothin (7,4%), ofloxacin (24,2%), kháng ciprofloxacin và norfloxacin (21,1%).

IV. KẾT LUẬN

Lợn nái sinh sản thải trừ vi khuẩn *Salmonella* xảy ra ở tất cả các trại chăn nuôi lợn nái sinh sản tại huyện Hiệp Hòa, Bắc Giang, Việt Nam (100%); mức thấp nhất 26,4%, cao nhất 43,3%. Tính chung tỷ lệ thải trừ vi khuẩn *Salmonella* từ lợn nái ra môi trường chăn nuôi chiếm 34,3%.

Thải trừ vi khuẩn *Salmonella* ở lợn nái có sự biến động theo thời gian và lứa đẻ:

Trước khi đẻ 2 tuần, thải trừ *Salmonella* chiếm 25,0% ở lợn nái đẻ 1 lứa; 50,0% ở lợn nái đẻ từ 2 đến 5 lứa; chiếm 16,6% ở lợn nái đẻ trên 5 lứa (Tính chung, lợn nái trước khi đẻ 2 tuần thải trừ vi khuẩn *Salmonella* chiếm 32,8%).

Sau đẻ 1 tuần (lợn con từ 7 đến 14 ngày tuổi), thải trừ *Salmonella* chiếm 38,4% ở lợn nái đẻ 1 lứa; 51,6% ở lợn nái đẻ từ 2 đến 5 lứa; chiếm 20,0% ở lợn nái đẻ > 5 lứa (Tính chung, lợn nái sau đẻ 1 tuần tỷ lệ thải trừ vi khuẩn *Salmonella* chiếm 37,6%).

Sau đẻ 2 tuần (lợn con từ 14 đến 21 ngày tuổi), thải trừ *Salmonella* chiếm 18,1% ở lợn nái đẻ 1 lứa; 62,0% ở lợn nái đẻ từ 2 đến 5 lứa; chiếm 22,7% ở lợn nái đẻ > 5 lứa (Tính chung, lợn nái sau khi đẻ 2 tuần tỷ lệ thải trừ vi khuẩn *Salmonella* chiếm 40,3%).

Sau cai sữa lợn con 1 tuần (lợn con từ 21 đến 28 ngày tuổi), thải trừ *Salmonella* chiếm 14,2% ở lợn nái đẻ 1 lứa; 34,2% ở lợn nái đẻ từ 2 đến 5 lứa; 23,8% ở lợn nái đẻ > 5 lứa (Tính chung, lợn nái sau cai sữa lợn con 1 tuần, tỷ lệ thải trừ vi khuẩn *Salmonella* chiếm 27,1%).

Mùa xuân, lợn nái sinh sản thải trừ *Salmonella* từ 37,5% đến 71,4%; mùa hè 33,3% đến 57,1%; mùa thu từ 22,5% đến 40,0%; mùa đông từ 0%, mức thải trừ cao nhất chiếm 25,0%.

Ở lợn con trước cai sữa không tiêu chảy, vi khuẩn *Salmonella* xuất hiện ở trong phân chiếm từ 2,0% đến 3,9%, trung bình chiếm 1,68%; ở lợn con tiêu chảy từ 25,0% đến 33,3%, trung bình chiếm 9,0%.

Lợn con sau cai sữa, tỷ lệ thải trừ *Salmonella* ở lợn khỏe từ 5,8% đến 13,8%, trung bình chiếm 10,0%; thải trừ *Salmonella* ở lợn con tiêu chảy chiếm 100%.

Lợn bị phó thương hàn, số lượng vi khuẩn *Salmonella* thải trừ có sự biến động, tăng từ $0,18 \times 10^9$ CFU/g phân đến $0,75 \times 10^9$ CFU/g phân, cao hơn so với số lượng vi khuẩn *Salmonella* thải trừ từ lợn khỏe (không biểu hiện triệu chứng), chỉ từ $0,28 \times 10^6$ CFU/g phân đến $0,93 \times 10^6$ CFU/g phân.

Lợn sau cai sữa mắc phó thương hàn chiếm từ 5,1% đến 11,1%; tỷ lệ chết chiếm từ 25,0% đến 33,3%.

Tỷ lệ phân lập vi khuẩn *Salmonella* đạt từ 53,3% (mẫu gan), đến 60,0% (mẫu thận), 66,6% (mẫu hạch ruột), 73,3% (mẫu máu trong tim), các mẫu dịch ruột non, dịch ruột già, phân tiêu chảy, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *Salmonella* đạt 100%.

Salmonella phân lập được có độc lực mạnh với chuột bạch thí nghiệm. Sau 48 giờ gây nhiễm 85,0% chuột thí nghiệm bị chết bởi chủng phân lập từ phân tiêu chảy; 88,3% số chuột bị chết do chủng *Salmonella* phân lập từ dịch ruột già; 93,3% số chuột thí nghiệm bị chết do chủng *Salmonella* phân lập từ dịch ruột non; 97,7% số chuột bị chết do chủng *Salmonella* phân lập từ máu trong tim; và 100% số chuột thí nghiệm đã bị chết do chủng *Salmonella* phân lập từ hạch ruột, thận, gan.

Đã phát hiện 2/166 serotype *Salmonella weltevreden*; 3/166 *Salmonella dublin*; 5/166 *Salmonella anatum* và *Salmonella typhisuis*; 6/166 *Salmonella heidelberg*; 9/166 *Salmonella enteritidis*; 30/166 *Salmonella typhimurium*, 41/166 *Salmonella choleraesuis*, 10/166 *Salmonella* chưa rõ serotype.

Salmonella weltevreden mang gen Stn chiếm tỷ lệ 50,0%; *Salmonella dublin* và *Salmonella heidelberg* 66,6%; *Salmonella typhimurium* 73,3%; *Salmonella senftenberg*, *Salmonella anatum*, *Salmonella unknown* 80,0%; *Salmonella enteritidis* chiếm 88,8%; *Salmonella choleraesuis* có DNA mang gen sản sinh Stn chiếm 92,6%. Tính chung, tỷ lệ số chủng *Salmonella* có gen mã hóa độc tố đường ruột Stn chiếm 81,9%.

Salmonella dublin mang gen fimA chiếm 33,3%; *Salmonella weltevreden* 50,0%; *Salmonella unknown* 60,0%; *Salmonella typhimurium* và *Salmonella heidelberg* 66,6%; *Salmonella senftenberg* và *Salmonella anatum* 80,0%; *Salmonella enteritidis* 88,8%; *Salmonella choleraesuis* 92,6%.

Salmonella typhimurium mang gen InvA chiếm 26,6%; *Salmonella unknown* 30,0%; *Salmonella heidelberg* và *Salmonella dublin* 33,3%; *Salmonella choleraesuis* 39,0%; *Salmonella anatum* và *Salmonella senftenberg* 40,0%; *Salmonella weltevreden* 50,0%; *Salmonella enteritidis* 66,6%.

Salmonella choleraesuis có 1/41 chủng kháng nalidixic acid (2,4%); 3/41 kháng ciprofloxacin, rifampicin, spectinomycin (7,3%); 4/41 kháng ceftazidime, oxytetracycline (9,7%); 5/41 kháng nitrofurantoin (12,1%); 8/41 kháng trimethoprim-sulfamethoxazole (19,5%); và 9/41 chủng kháng kanamycin (21,9%).

Salmonella enteritidis không có chủng nào kháng nalidixic acid và oxytetracycline; 1/9 đã kháng ciprofloxacin, rifampicin, ceftazidime, spectinomycin và nitrofurantoin (11,1%); và 2/9 chủng kháng trimethoprim-sulfamethoxazole và kanamycin (22,2%).

Serotype *Salmonella typhimurium* không có chủng nào kháng oxytetracycline; 1/30 kháng nitrofurantoin, nalidixic acid và ceftazidime (3,3%); 2/30 kháng ciprofloxacin, spectinomycin và rifampicin (6,6%); 5/30 kháng trimethoprim-sulfamethoxazole (16,6%); và 6/30 chủng kháng kanamycin (20,0%).

Lời cảm ơn: Tập thể tác giả xin được trân trọng cảm ơn Bộ môn Công nghệ Vi sinh, Viện Khoa học Sự sống, Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, Phòng Hệ gen học Vi sinh, Viện thú y Quốc gia, Viện nghiên cứu Hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Arunava Das, S. Sree Hari, U. Shalini, A. Ganeshkumar and M. Karthikeyan, 2012. Molecular Screening of Virulence Genes from *Salmonella enterica* Isolated from Commercial Food Stuffs. *Biosciences biotechnology research Asia*, June 2012. Vol. 9(1), 363-369.

2. Chaudhary. J. H, J. B. Nayak, M. N. Brahmabhatt, and P. P. Makwana (2015). Virulence genes detection of *Salmonella* serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat. *Vet World*. 2015 Jan; 8(1): 121–124. Published online 2015 Jan 30. doi: 10.14202/vetworld. 2015.121-124.
3. David M Onyango, Violet M Ndeda, Sarah A Wandili, Sifuna A Wawire, Philip Ochieng, 2014. Antimicrobial profile of *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis from free-range swine in Kakamega fish market, western Kenya. *J Infect Dev Ctries* 2014; 8(11):1381-1390.
4. Evangelopoulou. G, S. Kritas, G. Christodouloupoulos, and A. R. Burriel, 2015. The commercial impact of pig *Salmonella* spp. infections in border-free markets during an economic recession. *Vet World*. 2015 Mar; 8(3): 257–272.
5. Kumar K, Saklani A.C, Singh S, Singh V.P., 2008. Evaluation of specificity for *inv A* gene PCR for detection of *Salmonella* spp. [November 07-09-2008];Proceeding of VIIIth Annual Conference of Indian Association of Veterinary Public Health Specialists (IAVPHS) 2008.
6. Li Bai, Ruiting Lan, Xiuli Zhang, Shenghui Cui, Jin Xu, Yunchang Guo, Fengqin Li, Ding Zhang, 2015. Prevalence of *Salmonella* Isolates from Chicken and Pig Slaughterhouses and Emergence of Ciprofloxacin and Cefotaxime Co-Resistant *S. enterica* Serovar Indiana in Henan, China. *Plos One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.014453>. Published: December 9, 2015.
7. Lo Fo Wong, T. Hald, P.J. van der Wolf, M. Swanenburg, 2002. Epidemiology and control measures for *Salmonella* in pigs and pork. *Livestock Production Science* 76 (2002) 215–222.
8. Makino S, Kurazono H, Chongsanguam M, Hayashi H, Cheun H, Suzuki S, Shirahata T., 1999. Establishment of the PCR system specific to *Salmonella* spp. and its application for the inspection of food and fecal samples. *J. Vet. Med. Sci.* 1999;61(11):1245–1247.
9. Naravaneni R, Jamil K., 2005. Rapid detection of food-borne pathogens by using molecular techniques. *J. Med. Microbiol.* 2005;54:51–54.
10. Quinn P. J., Carter M. E., Markey B. K., Carter G. R. (2002). “*Clinical Veterinary Microbiology*”. Wolfe publishing. Mosby-Year Book Europe Limited, pg. 199 - 202.
11. Tran TP, Ly TL, Nguyen TT, Akiba M, Ogasawara N, Shinoda D, Okatani TA, Hayashidani H., 2004. Prevalence of *Salmonella* spp. in pigs, chickens and ducks in the Mekong Delta, Vietnam. *J Vet Med Sci.* 2004 Aug;66(8):1011-4.

Ngày nhận 10-7-2017

Ngày phản biện 5-12-2017

Ngày đăng 1-1-2018