

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA *SALMONELLA* SPP. GÂY TIÊU CHẢY Ở LỢN CON SAU CAI SỮA TẠI MỘT SỐ TRANG TRẠI NUÔI CÔNG NGHIỆP Ở MIỀN BẮC

Nguyễn Mạnh Phương¹, Cũ Hữu Phú²,
Văn Thị Hương², Nguyễn Bá Tiếp³

Tóm tắt

Salmonella spp. phân lập từ phân và cơ quan nội tạng lợn con sau cai sữa bị tiêu chảy tại 9 trang trại chăn nuôi công nghiệp thuộc 6 tỉnh ở Miền Bắc được xác định thuộc 5 serotyp: *S. typhimurium* chiếm tỷ lệ cao nhất (chiếm 51,61%) tiếp theo là *S. anatum* (19,35%), *S. agona* (16,14%), *S. meleagridis* và *S. ruzizi* (cùng có tỷ lệ 6,45%). Các chủng *Salmonella* kháng hoàn toàn với streptomycin, kháng cao với tetracyclin, amoxicillin, ampicillin và sulfatrimethoprim. Tất cả các chủng thể hiện độc lực cao (gây chết 100% động vật thí nghiệm). Các serotype phân lập được mang gen quy định độc tố (*stn*) và yếu tố xâm nhập (*invA*) với tỷ lệ cao trong đó 100% số chủng *S.typhimurium* mang cả hai gen *stn* và *invA*. Kết quả cho thấy cần chú ý vai trò của *S.typhimurium* trong hội chứng tiêu chảy của lợn nuôi theo quy mô công nghiệp ở Miền Bắc.

Từ khóa: Lợn sau cai sữa, Tiêu chảy, *Salmonella*, Serotyp, Tỷ lệ lưu hành, Miền BắcVN

Characteristics of *Salmonella* spp/ causing diarrhea in weaned pigs of some regions of the North Vietnam

Nguytn Manh Phuong, Cu Huu Phu,
Van Thi Huong, Nguyen Ba Tiej

Summary

Salmonella spp. which were isolated from the faeces and organs of diarrheic weaner pigs from 9 farms distributed in 6 provinces of the North Vietnam were identified as belonging to 5 serotypes i.e. *S. typhimurium* (representing 51,61%) ; *S. anatum* (19,35%); *S. agona* (16,14%), *S. meleagridis* and *S. ruzizi* (also, 6,45%). They were completely resistant to streptomycin and highly resistant to tetracyclin, amoxicillin, ampicillin and sulfatrimethoprim. All the isolates were found highly pathogen as they killed 100% of the laboratory animals that were experimentally infected. Also all of them beared either the toxinogenic gene (*stn*) or invasive factor gene (*invA*) and all the *S.typhimurium* isolates beared both genes. The mentioned results highly suggested that the role of *Salmonella* spp. as a cause of the diarrheic syndrome should be paid attention to.

Key words: Weaner, Diarrhea, *Salmonella*, Serotype, Prevalence, North Vietnam.

1. Đặt vấn đề

Phương thức chăn nuôi năng suất cao đã dẫn đến những biến đổi đặc tính sinh học của vi khuẩn *Salmonella* ở lợn (Foley và cs., 2008). Những chỉ tiêu được quan tâm để đánh giá mức độ biến đổi của vi khuẩn bao gồm tỷ lệ lưu hành của các serotype, các đặc tính sinh hóa, độc lực, khả năng đề kháng với các tác nhân hóa học đặc biệt là thuốc sát trùng và kháng sinh. Những biến đổi này làm giảm hiệu quả điều trị của kháng sinh, tăng nguy cơ nhiễm bệnh của vật chủ (EMEA, 2006).

Nhiều nghiên cứu ở Việt Nam cho thấy có sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm *Salmonella* ở các lứa tuổi lợn (Nguyễn Bá Hiên, 2001; Trương Quang và Trương Hà Thái, 2007) và giữa các đối tượng lợn nuôi (Trương Quang, 2004). Ngoài ra, độc lực của *Salmonella* phân lập từ lợn bình thường và lợn bị tiêu chảy được xác định có sự khác biệt trên động vật thí nghiệm (Trương Quang, 2004; Trương Quang và Trương Hà Thái, 2007). Hai serotype nhiễm ở lợn với tỷ lệ cao nhất trong số các serotype của các chủng *Salmonella* phân lập được từ các đối tượng lợn nuôi ở Miền Bắc. là *S. cholerasuis* (Lê Văn Tạo và Nguyễn Thị Vui, 1994; Tạ Thị

¹Học viên cao học ngành Thú y Đại học Nông nghiệp Hà Nội,

²Bộ môn Vi trùng Viện Thú y Quốc gia,

³Khoa Thú y Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Vịnh và Đặng Khánh Vân, 1996) và *S. enteritidis* (Trịnh Tuấn Anh và cs., 2010). Cho đến nay, mặc dù tỷ lệ đóng góp của sản phẩm chăn nuôi quy mô công nghiệp ngày càng tăng nhưng chưa có nhiều nghiên cứu về vi khuẩn *Salmonella* đặc biệt là vai trò của các serotype *Salmonella* trong hội chứng tiêu chảy trên các đàn lợn nuôi trong các trang trại lớn có sự kiểm soát chặt chẽ về vệ sinh thức ăn và nước uống. Nghiên cứu này nhằm xác định tỷ lệ lưu hành các serotype của *Salmonella*, các đặc tính sinh hóa, một số yếu tố độc lực và khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ lợn con sau cai sữa mắc tiêu chảy tại các trang trại nuôi theo quy mô công nghiệp ở Miền Bắc.

II. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

-Lợn con sau cai sữa bị tiêu chảy với các triệu chứng lâm sàng điển hình của tiêu chảy do *Salmonella* nuôi từ 9 trang trại tại 6 tỉnh Ninh Bình, Hà Nội, Hòa Bình, Thái Nguyên, Phú Thọ, Vĩnh Phúc.

- Mẫu phân và mẫu bệnh phẩm gồm amidan, gan, lách, hạch mạc treo ruột, chất chứa trong ruột non của lợn con sau cai sữa bị tiêu chảy nặng hoặc chết do tiêu chảy nghi do vi khuẩn *Salmonella*

-Các loại môi trường dùng cho nuôi cấy, phân lập và giám định các đặc tính của vi khuẩn *Salmonella*. Hóa chất, thuốc nhuộm Gram; các loại dung dịch Kovac, Andrader, giấy tẩm kháng sinh của các hãng Eiken, Oxoid, Biorad, Merck, sản xuất.

-Kháng huyết thanh chuẩn do hãng Denka Seiken Co., Ltd, Tokyo (Nhật Bản) sản xuất dùng để định typ kháng nguyên O và H.

-Các nguyên liệu cho phản ứng PCR gồm Taq-DNA polymerase, dNTPs, đệm phản ứng, đệm điện di TAE (Tris-Acetic-EDTA), Gel loading buffer, Ethidium Bromide. Các serotyp đối chứng do Viện Thú y Nhật Bản cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp lấy mẫu

Mẫu phân từ lợn tiêu chảy được lấy bằng cách dùng tăm bông vô trùng ngoáy vào trực tràng, cho vào các ống vô trùng, bảo quản lạnh 4°C. Mẫu cơ quan lấy từ gan, lách, hạch ruột, chất chứa ruột non của lợn chết do tiêu chảy. Các mẫu được đựng riêng trong từng túi nilon chuyên dùng. Máu tim được hút bằng xi-lanh và giữ ở 4°C.

2.2.2 Phương pháp nuôi cấy, phân lập vi khuẩn *Salmonella*

Dựa trên quy trình phân lập và giám định vi khuẩn của Khoa Thú y ứng dụng và sức khỏe cộng đồng, trường Đại học Nông nghiệp và Thú y Obihiro, Nhật Bản

Các chỉ tiêu kiểm tra bao gồm hình thái học, khả năng di động trong môi trường thạch bán cố thể; chuyển hóa các loại đường; phản ứng sinh Indol; Phản ứng sinh H₂S; Phản ứng Oxidaza; Phản ứng Catalaza, phản ứng lên men các loại đường.

Xác định serotyp hai loại kháng nguyên O và H bằng các phản ứng ngưng kết với kháng huyết thanh chuẩn (hãng Denka, Seiken Co., Ltd. Niigata, Japan); định danh vi khuẩn căn cứ vào bảng phân loại Kauffmann -White (Popoff, 2001). Với kháng nguyên H, lần lượt xác định kháng nguyên H pha 1 tương ứng với các typ sau đó xác định kháng nguyên H pha 2.

Các chỉ tiêu kiểm tra bao gồm hình thái học, khả năng di động trong môi trường thạch bán cố thể; chuyển hóa các loại đường; phản ứng sinh Indol; Phản ứng sinh H₂S; Phản ứng Oxidaza; Phản ứng Catalaza, phản ứng lên men các loại đường.

3.2.3 Phương pháp xác định tính miễn cảm với kháng sinh

Sử dụng phương pháp của Kirby- Bauer đánh giá tính miễn cảm của vi khuẩn với các loại kháng sinh dựa vào bảng đánh giá kết quả của NCCLS (2000).

3.2.4 Phương pháp xác định sự có mặt của gen mã hóa độc tố đường ruột và yếu tố xâm nhập.

Gen mã hóa độc tố đường ruột (*stn*) và yếu tố xâm nhập (*invA*) của các chủng *Salmonella* được xác định bằng phản ứng PCR với các bước tiến hành và trình tự các cặp mồi

theo các nghiên cứu đã được công bố (Cloeckaert và cs., 2006; Skyberg và cs., 2006). Cặp mồi xác định sự có mặt của gen quy định độc tố Stn gồm mồi xuôi (Stn-F) có trình tự 5'-CTT TGG TCG TAA AAT AAG GCG- 3' và mồi ngược (Stn-R), 5'- TGC CCA AAG CAG AGA GAT TC- 3' cho sản phẩm PCR kích thước 259bp. Cặp mồi xác định sự có mặt của yếu tố xâm nhập gồm mồi xuôi (invA- F) có trình tự 5'- TTG TTA CGG CTA TTT TGA CCA- 3' và mồi ngược (invA- R) với trình tự 5'- CTG ACT GCT ACC TTG CTG ATG- 3' cho sản phẩm có kích thước 521bp.

3.2.5 Phương pháp kiểm tra độc lực các chủng *Salmonella* phân lập được bằng phương pháp tiêm truyền động vật thí nghiệm

Vi khuẩn từ môi trường giữ giống được cấy truyền vào môi trường BHI trong bình tam giác 100ml. Canh trùng được nuôi ở 37°C/24 giờ (có rung lắc để kích thích sự tăng sinh của vi khuẩn). Tiêm mỗi chủng vi khuẩn cần nghiên cứu vào xoang phúc mạc 2 chuột nhất trắng (khối lượng 18-20g/con), liều tiêm 0,2ml canh trùng/con. Lô đối chứng gồm 2 chuột được tiêm 0,2ml dung dịch BHI/con. Kiểm tra trạng thái chuột thí nghiệm, ghi thời gian chết sau khi tiêm, số lượng chuột chết trong vòng 7 ngày. Căn cứ vào số lượng chuột chết, thời gian chết trung bình của mỗi lô để đánh giá độc lực của vi khuẩn. Mô khám chuột chết và nuôi cấy phân lập vi khuẩn từ máu tim.

-Sai khác có ý nghĩa được kiểm định bằng hàm (χ^2).

III. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* từ bệnh phẩm của lợn bị tiêu chảy

Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* từ các mẫu phân và cơ quan nội tạng được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* spp. từ phân và nội tạng lợn tiêu chảy

STT	Bệnh phẩm	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
1	Mẫu phân	19	19	100,00 ^a
1	Hạch amidan	12	8	66,67 ^b
2	Gan	12	6	50,00 ^c
3	Lách	12	6	50,00 ^c
4	Hạch màng treo ruột	12	10	83,33 ^d
5	Chất chứa hồi tràng	12	10	83,33 ^d

Ghi chú: ^{a,b,c,d} giá trị khác nhau có ý nghĩa thống kê

Kết quả cho thấy 100% mẫu phân lợn tiêu chảy phân lập được vi khuẩn *Salmonella*. Kết quả này cũng khẳng định nguyên nhân nghi ngờ gây tiêu chảy là *Salmonella* dựa vào những biểu hiện triệu chứng lâm sàng điển hình. Trong số các loại mẫu bệnh phẩm từ cơ quan nội tạng, tỷ lệ phân lập cao nhất ở hạch màng treo ruột và đoạn hồi tràng (83,33%) sau đó là ở hạch hạnh nhân khẩu cái (amidan) (66,67%), thấp nhất từ các mẫu lách và gan (50%).

Theo Wilcock và Schwatz (1992), chỉ 2 giờ sau khi gây nhiễm, *Salmonella* đã có mặt ở hạch lympho màng treo ruột. Nếu gây nhiễm theo đường miệng, 24 giờ sau vi khuẩn cũng đã xuất hiện ở hạch lympho màng treo ruột và hạch amidan. Đỗ Trung Cứ và cs. (2001) đã tìm thấy vi khuẩn *Salmonella* ở 9/9 loại phủ tạng gồm chất chứa ruột non, ruột già, hạch lympho màng treo ruột, hạch amidan, gan, lách, thận, máu tim, phổi của lợn từ 2 – 4 tháng tuổi bị tiêu chảy. Trong đó, tỷ lệ cao nhất là hạch lympho màng treo ruột (94,59%), ở gan (91,89%) và thấp nhất là ở thận (27,08%). Tỷ lệ phân lập *Salmonella* từ các mẫu bệnh phẩm trong nghiên cứu này phù hợp với quy luật phân bố vi khuẩn này trong các cơ quan nội tạng của lợn bị tiêu chảy do *Salmonella*.

3.2. Kết quả giám định một số đặc tính nuôi cấy và sinh hóa của các chủng *Salmonella* phân lập được

Kết quả được trình bày ở bảng 2

Bảng 2. Kết quả xác định đặc tính nuôi cấy và sinh hóa của các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

STT	Chỉ tiêu/môi trường kiểm tra	Số chủng kiểm tra	Số chủng dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)
1	Di động	31	31	100,0
2	Nhuộm Gram	31	31	100,0
3	BPW	31	31	100,0
4	RV	31	31	100,0
5	Thạch DHL	31	31	100,0
6	Thạch CHROM™ <i>Salmonella</i>	31	31	100,0
7	Thạch TSI	31	31	100,0
8	Thạch LIM	31	31	100,0
9	Malonate	31	31	100,0

Tất cả các mẫu vi khuẩn đều bắt màu Gram âm với các đặc điểm hình thái điển hình của vi khuẩn *Salmonella*. Trong các môi trường tăng sinh như BPW và R, tất cả các chủng vi khuẩn đều mọc tốt, có khả năng di động, làm đục môi trường, có cặn dưới đáy ống nghiệm sau 24 giờ, tạo màng mỏng trên bề mặt môi trường nuôi cấy. Các chủng vi khuẩn (31/31) khi nuôi cấy trên môi trường thạch DHL tạo khuẩn lạc ở giữa màu đen, xung quanh trong suốt hoặc khuẩn lạc trong suốt không màu. Trên môi trường thạch CHROM™ *Salmonella*, khuẩn lạc có màu tím hồng, dạng S. Tất cả 31 chủng *Salmonella* đều mọc và phát triển tốt trên môi trường TSI, có hoặc không sản sinh H₂S, không làm chuyển màu môi trường LIM và không làm chuyển màu môi trường Malonate.

Sau khi xác định đặc tính nuôi cấy của các chủng vi khuẩn *Salmonella*, các đặc điểm sinh hóa đã được kiểm tra. Kết quả được ghi ở bảng 3

Bảng 3. Kết quả giám định một số đặc tính sinh hoá của các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập

STT	Chỉ tiêu kiểm tra	Số lượng mẫu	Số chủng dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)
1	Indol	31	0	0
2	Oxidaza	31	0	0
3	Catalaza	31	31	100,0
4	H ₂ S	31	23	74,19
5	Glucose	31	31	100,0
6	Mantol	31	31	100,0
7	Lactose	31	0	0
8	Sorbitol	31	31	100,0
9	Dextrose	31	31	100,0
10	Sucrose	31	0	0
11	Galactose	31	31	100,0
12	Manitol	31	31	100,0
13	Arabinose	31	31	100,0

Kết quả bảng 3 cho thấy 31 chủng kiểm tra đều lên men sinh hơi các đường glucose, mantol, sorbitol, dextrose, galactose, manitol, arabinose...nhưng không lên men đường lactose, sucrose. Tất cả các chủng *Salmonella* phân lập được đều không sản sinh indol, phản ứng oxidaza âm tính, catalaze dương tính, 100% số chủng có khả năng di động, 83,01% các chủng sinh H₂S.

Như vậy, đặc tính sinh vật hoá học của các chủng *Salmonella* phân lập được mang đặc điểm chung của giống *Salmonella* và phù hợp với những đặc điểm về hình thái, nuôi cấy, đặc tính sinh hoá của vi khuẩn này theo như mô tả của Cù Hữu Phú và cs. (2000), Đỗ Trung Cứ (2001), Quinn và cs. (2002)

3.3. Kết quả xác định serotyp của các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

Kết quả được trình bày ở bảng 4

Bảng 4. Kết quả xác định serotype của các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập

Số chủng kiểm tra	Công thức kháng nguyên			Kết quả		Kết luận về serotyp
	KN O	KN H		Số chủng dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)	
		Pha 1	Pha 2			
n=31	4	i	1,6	5	16,14 ^a	<i>S.agona</i>
	3,10	e,h	L,w	2	6,45 ^b	<i>S.meleagridis</i>
	3,10	1	z6	2	6,45	<i>S.ruzizi</i>
	4	i	1,2	16	51,61 ^c	<i>S.typhimurium</i>
	3,10	e,h	1,6	6	19,35	<i>S.anatum</i>

Ghi chú: ^{a,b,c,d} giá trị khác nhau có ý nghĩa thống kê

Sự có mặt của các thành phần kháng nguyên O và kháng nguyên H là căn cứ để xác định serotyp của vi khuẩn *Salmonella*. Kết quả ở bảng 4. cho thấy, chiếm cao nhất là *S. typhimurium*:16/31 chủng (51,61%); 6 chủng là *S.anatum* (19,35%); 5 chủng là *S agona* (16,14%); 2 chủng là *S.meleagridis* (6,45%) và 2 chủng là *S.ruzizi* (chiếm 6,45%). Nghiên cứu của Laval (2000) cho thấy *S.choleraesuis* là tác nhân gây bệnh thể cấp tính và được tìm thấy với tỷ lệ cao nhất.

Theo Lê Văn Tạo và Nguyễn Thị Vui (1994), *Salmonella* ở lợn chủ yếu là *S. choleraesuis*. Phân lập từ 75 mẫu phân ở một số vùng thuộc Ba Vì (Hà Tây cũ), Tạ Thị Vinh và Đặng Khánh Vân (1996) cùng cho biết *S.choleraesuis* chiếm tỷ lệ cao nhất (60%) trong khi Trịnh Tuấn Anh và cs.(2010) phát hiện *S. enteritidis* có tỷ lệ cao nhất trong các chủng *Salmonella* phân lập được. Tuy nhiên, trong số chủng chúng tôi phân lập ở nghiên cứu này không tìm thấy *S.choleraesuis* trong khi *S.typhimurium* chiếm tỷ lệ cao. Theo thông tin từ Trung tâm phòng chống dịch bệnh Mỹ (CDC) công bố năm 2006, *S.typhimurium* là typ *Salmonella* phổ biến nhất ở lợn tiêu chảy. Một thông tin thú vị hơn (Foley và cs., 2008), cũng tại Mỹ, trong những năm gần đây, *S.typhimurium* đã thay thế *S.choleraesuis* để trở thành serotyp gây bệnh phổ biến nhất trên lợn. Như vậy có thể nhận xét rằng tỷ lệ lưu hành các serotyp của vi khuẩn *Salmonella* trên lợn (hay ít nhất là trên đàn lợn sau cai sữa nuôi tại các trang trại chăn nuôi theo quy mô công nghiệp) có thể đã có sự thay đổi. Tuy nhiên với lượng mẫu/chủng phân lập trong nghiên cứu còn hạn chế nên cần có những nghiên cứu tiếp theo để khẳng định.

3.4. Kết quả kiểm tra mức độ miễn cảm của các chủng *Salmonella* phân lập được với một số loại kháng sinh

Chúng tôi cũng chọn ngẫu nhiên 31 chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được để kiểm tra mức độ miễn cảm với 14 loại kháng sinh và hóa dược theo phương pháp của Kirby-Bauer (1996).

Kết quả được ghi ở bảng 5.

Bảng 5. Kết quả kiểm tra mức độ miễn cảm với một số loại kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập được

TT	Tên kháng sinh	Số chủng kiểm tra	Miễn cảm		Kháng	
			Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)

1	Gentamycin	31	11	35,48	20	64,52
2	Colistin	31	15	48,39	16	51,61
3	Tetracyclin	31	1	3,23	30	96,77
4	Kanamycin	31	9	29,03	22	70,97
5	Streptomycin	31	0	0,00	31	100,00
6	Sulfatrimethoprim	31	2	6,45	29	93,55
7	Norfloxacin	31	16	51,61	15	48,39
8	Amoxicillin	31	1	3,23	30	96,77
9	Ampicillin	31	1	3,23	30	96,77
10	Apramicin	31	18	58,06	13	41,94
11	Enrofloxacin	31	4	12,90	27	87,10

Kết quả bảng 5 cho thấy các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được kháng hoàn toàn với Streptomycin. Tỷ lệ kháng Tetracyclin, Amoxicillin và Ampicillin là (96,77%), kháng Sulfatrimethoprim là 93,55%. Mức mẫn cảm cao nhất của vi khuẩn phân lập được với Apramicin (58,06%) so với tỷ lệ các chủng mẫn cảm với Norfloxacin (51,61%) và Colistin (48,39%) và các kháng sinh còn lại. Theo Phùng Quốc Chương (1995), vi khuẩn *Salmonella* mẫn cảm nhất với Norfloxacin và Ciprofloxacin. Kết quả nghiên cứu của Tô Liên Thu (2005) cho biết *Salmonella* phân lập được từ thịt lợn mẫn cảm cao với Norfloxacin (90%), Ofloxacin (90%) và Gentamycin (90%). Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, nếu không xét riêng từng chủng vi khuẩn, đã có sự thay đổi về tỷ lệ các chủng *Salmonella* mẫn cảm với các loại kháng sinh (tỷ lệ mẫn cảm giảm so với các nghiên cứu đã được công bố). Như vậy có thể thấy tác dụng của nhiều loại kháng sinh đối với vi khuẩn *Salmonella* đã giảm.

3.5. Kết quả kiểm tra độc lực các chủng *Salmonella* phân lập được

Trong số 5 serotype được phát hiện, mỗi serotype chúng tôi chọn ngẫu nhiên 2 chủng để kiểm tra độc lực bằng phương pháp tiêm truyền qua chuột nhắt trắng (2ml canh trùng /chuột; tiêm phúc mạc); 2 chuột đối chứng (2ml môi trường BHI /chuột; tiêm phúc mạc).

Kết quả được ghi ở bảng 6

Bảng 6. Kết quả kiểm tra độc lực các chủng *Salmonella* phân lập được bằng phương pháp tiêm truyền qua chuột nhắt trắng

Serotype	Liều tiêm (ml)	Đường tiêm	Số chuột thử	Kết quả theo dõi				Kết quả phân lập vi khuẩn
				Thời gian chuột chết sớm nhất	Thời gian chuột chết muộn nhất	Số con chết	Tỷ lệ	
<i>S. agona</i>	0,2	Phúc mạc	4	13	17	4	100,0	+
<i>S. meleagridis</i>	0,2	Phúc mạc	4	15	20	4	100,0	+
<i>S. ruzizi</i>	0,2	Phúc mạc	4	16	20	4	100,0	+
<i>S. typhimurium</i>	0,2	Phúc mạc	4	8	12	4	100,0	+
<i>S. anatum</i>	0,2	Phúc mạc	4	10	14	4	100,0	+
Đối chứng(BHI)	0,2	Phúc mạc	2	0	0	0	0,0	

Theo kết quả bảng 6 các chủng nghiên cứu đều gây chết 100% chuột nhắt trắng. Thời gian gây chết chuột sớm nhất là 10 giờ sau tiêm (đối với *S. typhimurium* và *S. anatum*) và muộn nhất ở 26 giờ sau tiêm (đối với *S. ruzizi*). Tất cả các mẫu máu từ chuột chết đều phân lập được vi khuẩn *Salmonella*. Các chủng *Salmonella* phân lập được đều thể hiện độc lực cao chứng tỏ vi khuẩn *Salmonella* là một nguyên nhân quan trọng gây tiêu chảy trên các đàn lợn tại các trang trại thuộc nghiên cứu này.

3.6. Kết quả xác định các gen mã hóa một số yếu tố độc lực của các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

Gen quy định độc tố (*Salmonella* toxin; *stn*) và yếu tố xâm nhập (Invasion A; *invA*) được xác định bằng phương pháp PCR (bảng 7).

Bảng 7. Kết quả xác định các gen mã hóa một số yếu tố độc lực của các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được

TT	Serotyp	Số chủng kiểm tra	Yếu tố gây bệnh			
			<i>Stn</i>		<i>InvA</i>	
			(+)	(%)	(+)	(%)
1	<i>S.agona</i>	5	4	80,00	5	100,00
2	<i>S.meleagridis</i>	2	1	50,00	2	100,00
3	<i>S.ruzizi</i>	2	1	50,00	1	50,00
4	<i>S.typhimurium</i>	16	16	100,00	16	100,00
5	<i>S.anatum</i>	6	5	83,33	6	100,00
Tổng		31	27	87,10*	30	96,77*

Ghi chú: * biểu thị giá trị trung bình

Tất cả các chủng thuộc serotyp *S. typhimurium* được kiểm tra có mang cả hai gen *stn* và *invA*. Tất cả 6 chủng *S.anatum* mang gen *invA* trong đó 5 chủng mang gen *stn* (83,33%). Trong số 5 chủng thuộc serotyp *S.agona*, 4 chủng mang gen *stn* (chiếm 80%) nhưng tất cả các chủng mang gen *invA*. Cả hai chủng *S.meleagridis* mang gen *invA* trong đó 1 chủng mang gen *stn*. Trong số 2 chủng *S.ruzizi* được kiểm tra thì 1 chủng mang gen *stn* và 1 chủng có gen *invA*. Như vậy, hầu hết các chủng *Salmonella* mang gen mã hóa yếu tố xâm nhập (tỷ lệ chung mang gen này tới 96,77%, chỉ có một chủng thuộc serotyp *S.ruzizi* không mang gen này) và tỷ lệ cao các chủng mang gen quy định độc tố đường ruột (87,10%). Các chủng thuộc serotyp *S. typhimurium* đều mang cả hai gen quy định độc tố. Tỷ lệ các chủng mang gen quy định độc tố cao ở serotyp *S.anatum* và *S.agona*. Đối với *S.meleagridis* và *S.ruzizi*, có thể do số chủng nghiên cứu chưa còn ít (2 chủng) nên chưa đủ để kết luận về tỷ lệ mang các yếu tố độc lực và yếu tố xâm nhập. Kết quả xác định gen quy định yếu tố xâm nhập và gen quy định độc tố cho thấy khả năng gây bệnh cao của *Salmonella* tại các cơ sở chăn nuôi. Đặc biệt với *S.typhimurium*, serotype vừa có tỷ lệ phát hiện cao trong các mẫu nghiên cứu vừa có tỷ lệ mang yếu tố độc lực và yếu tố xâm nhập cao

IV. KẾT LUẬN

Các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ lợn sau cai sữa bị tiêu chảy với các triệu chứng điển hình do vi khuẩn *Salmonella* mang đầy đủ các đặc tính sinh vật, hóa học điển hình. Mặc dù số lượng mẫu còn ít nhưng đây là nghiên cứu đầu tiên cho thấy *S.typhimurium* chiếm tỷ lệ cao nhất trong các serotyp phân lập được. Các chủng vi khuẩn phân lập được đều có độc lực cao khi tiêm truyền động vật thí nghiệm.

Chủng thuộc các serotype mang gen quy định độc tố và yếu tố xâm nhập với tỷ lệ cao. Đặc biệt 100% số chủng *S.typhimurium* được phát hiện mang cả hai gen quy định độc tố và yếu tố xâm nhập. Cùng với tỷ lệ phát hiện cao, có thể cho rằng cần chú ý vai trò của *S.typhimurium* trong chăn nuôi lợn theo quy trình công nghiệp. Nghiên cứu cũng cho thấy khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* có chiều hướng tăng.

Trong nghiên cứu này chúng tôi chưa xác định được những yếu tố khác của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được như yếu tố bám dính, độc tố thẩm xuất và đặc biệt là gen kháng kháng sinh. Đây cũng là những nội dung cần được đặt ra trong các nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trịnh Tuấn Anh, Cù Hữu Phú, Văn Thị Hương, Nguyễn Văn Sửu. (2010). Tình hình tiêu chảy ở lợn con và kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* tại một số địa phương tỉnh Thái Nguyên. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y – Tập XVII – Số 4*, 41-48.
2. Đỗ Trung Cứ, Trần Thị Hạnh, Nguyễn Quang Tuyên (2001), “ Kết quả phân lập và xác định một số yếu tố gây bệnh của vi khuẩn *Salmonella* spp gây bệnh phó thương hàn lợn ở một số tỉnh miền núi phía Bắc”. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, số 3, tr. 10-17.

3. Foley S.L., Lynne A.M., and Nayak R. (2008). Salmonella challenges: Prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. *Journal of Animal Science* 86 (E.Suppl.) E149-E162
4. Trần Xuân Hạnh (1995), “Phân lập và giám định vi khuẩn *Salmonella* trên lợn ở tuổi giết thịt”. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, số 3, tr. 89-93.
5. Nguyễn Bá Hiên (2001), Một số vi khuẩn đường ruột thường gặp và biến động của chúng ở gia súc khỏe mạnh và bị tiêu chảy nuôi tại vùng ngoại thành Hà Nội. Luận án Tiến sỹ Nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp I, Hà Nội.
6. Trương Quang, Trương Hà Thái (2007). Biến động của một số vi khuẩn đường ruột và vai trò của *Salmonella* trong hội chứng tiêu chảy của lợn 2-4 tháng tuổi. *Tạp chí KHKT Thú y*, tập XIV, số 6, 52-57
7. Cù Hữu Phú, Nguyễn Ngọc Nhiên, Vũ Bình Minh, Đỗ Ngọc Thuý (2000), “Phân lập vi khuẩn *E.coli* và *Salmonella* ở lợn mắc bệnh tiêu chảy, xác định một số đặc tính sinh vật hoá học của các chủng vi khuẩn phân lập được và biện pháp phòng trị”. Kết quả nghiên cứu Khoa học kỹ thuật thú y (1996-2000), NXB Nông nghiệp, Hà Nội, tr. 171-176.
8. Lê Văn Tạo, Nguyễn Thị Vui (1994), “Phân lập và định typ vi khuẩn *Salmonella* gây bệnh cho lợn”. *Tạp chí Nông nghiệp và công nghiệp thực phẩm*, số 11, tr. 430- 431.
9. Tô Liên Thu (2005), “ Nghiên cứu tình trạng ô nhiễm một số vi khuẩn vào thịt lợn, thịt gà sau giết mổ ở Hà Nội và một số phương pháp làm giảm sự nhiễm khuẩn trên thịt”. Luận án Tiến sỹ Nông nghiệp, Viện Thú y Quốc gia Hà Nội.
10. Tạ Thị Vịnh, Đặng Khánh Vân (1996), “Bước đầu thăm dò và xác định *E.coli* và *Salmonella* trên lợn bình thường và lợn mắc hội chứng tiêu chảy tại Hà Tây và Hà Nội”. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, số 1, tr. 41- 44.