

# VAI TRÒ CỦA *ESCHERICHIA COLI* VÀ *SALMONELLA* SPP TRONG HỘI CHỨNG TIÊU CHẢY Ở LỢN RỪNG CON TRƯỚC VÀ SAU CAI SỮA THEO MÔ HÌNH NUÔI BÁN HOANG DÃ

Nguyễn Văn Tuyên<sup>1</sup>, Dương Văn Quảng<sup>2</sup>

## TÓM TẮT

Vai trò của *E.coli*, *Salmonella* spp trong hội chứng tiêu chảy ở lợn con đã được xác định trên đàn lợn rừng lai F2 nuôi tại Chi nhánh nghiên cứu và phát triển động thực vật bản địa. Tỷ lệ mẫu phân lợn con theo mẹ phân lập được *E.coli* là 78,57%; Tỷ lệ này đối với mẫu phân lợn sau cai sữa là 69,23%. Các chủng vi khuẩn *E.coli*, *Salmonella* phân lập được đều thể hiện các đặc tính sinh vật, hóa học đặc trưng và được xác định là nguyên nhân gây nên hội chứng tiêu chảy trên đàn lợn con. Các chủng vi khuẩn phân lập được đều có độc lực cao, gây chết 100% động vật thí nghiệm trong vòng 24-72h sau khi tiêm. Các chủng vi khuẩn *E.coli*, *Salmonella* phân lập được đều mẫn cảm với Amikacin và Ceftiofur (100%) tiếp đến là Flumequine và Norfloxacin. Tuy nhiên 100% chủng kiểm tra đều kháng Colistin, Tetracycline.

*Từ khóa:* Lợn rừng lai, *E.coli*, *Salmonella*, Tỷ lệ nhiễm, Đặc tính sinh vật hoá học. Độc lực, Tính mẫn cảm kháng sinh

## Role of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp in diarrhoeal syndrome in pre and post weaning wild piglets in the semi-wild raising model

Nguyen Van Tuyen, Duong Van Quang

## SUMMARY

The role of *E. coli*, *Salmonella* spp in diarrhoeal syndrome in the piglets was determined from the F2 hybrid wild pig {♂ wild pig x ♀ F1 (♂ wild pig x ♀ local pig)} raising in the Research and Development Branch for Indigenous Flora and Fauna. The rate of piglet fecal sample infected with *E.coli* was 78.57%; Meanwhile, this rate from the weaned pig fecal samples was 69.23%. The isolated *E.coli*, *Salmonella* strains showed the typically biological, chemical characteristics and they were identified as the cause of diarrheal syndrome in the piglets. The isolated *E.coli*, *Salmonella* strains were all the virulent strains, killing 100% of the tested animals within 24-72h after injection. The isolated *E. coli*, *Salmonella* strains were susceptible with Amikacin and Ceftiofur (100%), followed by Flumequine and Norfloxacin. But 100% of these strains were resistant to Colistin and Tetracycline.

*Keywords:* Hybrid wild piglet, *E. coli*, *Salmonella*, Prevalence, Biological and chemical characteristics, Virulence, Antibiotic sensitivity

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở nước ta, nghề chăn nuôi lợn đã có từ lâu đời và ngày càng phát triển. Tuy nhiên, cùng với sự phát triển chăn nuôi thì tình hình dịch bệnh cũng đang diễn biến hết sức phức tạp. Ngoài

một số dịch bệnh nguy hiểm như bệnh tai xanh, lở mồm long móng... hàng năm làm chết nhiều lợn và gây thiệt hại lớn cho người chăn nuôi, một bệnh gây thiệt hại lớn về kinh tế, hay gặp và phổ biến ở lợn con là bệnh tiêu chảy. Bệnh được gọi là hội chứng tiêu chảy do nhiều nguyên nhân gây nên và nhiều yếu tố bất lợi khác tác động như sự

<sup>1</sup> Khoa KHKT - Trường Cao đẳng KTKT Điện Biên

<sup>2</sup> Lớp TY43, Khoa CNTY - Đại học NL Thái Nguyên

thay đổi đột ngột của thời tiết, khí hậu, kết hợp với những sai sót trong chăm sóc, nuôi dưỡng, cùng với điều kiện môi trường chăn nuôi bị ô nhiễm, vệ sinh kém, tạo điều kiện cho sự phát triển của các vi sinh vật phát triển như *E. coli*, *Salmonella*. Bệnh tuy không nổ ra thành dịch lớn, nhưng với đặc điểm dịch tễ hết sức phức tạp, đã và đang gây nên những thiệt hại đáng kể cho người chăn nuôi. Vì vậy việc nghiên cứu, phân lập vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* và các đặc tính gây bệnh của chúng ở lợn, nhằm mục đích phát hiện sớm và tìm ra hướng phòng và trị bệnh có hiệu quả là những việc làm cần thiết.

## II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nội dung nghiên cứu

- Phân lập vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* từ lợn rừng lai F2 {♂ rừng x ♀ F1 (♂ rừng x ♀ địa phương)}

- Xác định một số đặc tính sinh vật hóa học và xác định khả năng miễn cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập.

- Xác định độc lực của các chủng vi khuẩn phân lập và gây bệnh thực nghiệm.

### 2.2. Vật liệu

Các loại môi trường dùng cho nuôi cấy, phân lập và giám định các đặc tính của vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella*. Các vật liệu khác gồm

Glucose, Mantol, Lactose, Sucrose, Galactose, Mannitol; thuốc nhuộm, dung dịch Kovac.

Giấy tẩm kháng sinh của Oxoid (Anh).

Chuột bạch khoẻ mạnh, có khối lượng cơ thể từ 18-20 g/con.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Phân lập và giám định vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella*

Mẫu phân lợn tiêu chảy được lấy từ trực tràng (bằng tăm bông vô trùng) của lợn con theo mẹ (đến 21 ngày tuổi) và lợn con sau cai sữa (đến 60 ngày tuổi) bị mắc tiêu chảy tại Chi nhánh nghiên cứu & phát triển động thực vật bản địa.

Các phương pháp nuôi cấy và giám định vi khuẩn được thực hiện theo quy trình thường quy. Các chỉ tiêu kiểm tra bao gồm hình thái học, khả năng di động; chuyển hóa các loại đường; phản ứng sinh indol; phản ứng sinh H<sub>2</sub>S; phản ứng oxidase; phản ứng catalase, phản ứng lên men các loại đường.

#### 2.3.2. 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 Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và phòng thí nghiệm.

Kết quả được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1. Tiêu chuẩn đánh giá mức độ miễn cảm của vi khuẩn với một số loại kháng sinh**

TT	Loại kháng sinh	Hàm lượng (µg)	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
			Mẫn cảm cao	Mẫn cảm trung bình	Kháng thuốc
1	Colistin	10	> 15	13 – 14	< 12
2	Gentamycin	10	> 15	13 – 14	< 12
3	Flumequine	20	> 18	14 – 17	< 13
4	Amikacin	25	> 18	15 – 17	< 14
5	Norfloxacine	10	> 17	13 – 16	< 12
6	Enrofloxacin	30	> 17	13 – 16	< 12
7	Tetracycline	30	> 15	12 – 14	< 11
8	Ceftiofur	10	> 17	14 – 16	< 13

### 2.3.3. Kiểm tra độc lực các chủng vi khuẩn 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 bồi dưỡng ở 37°C/24 giờ (có rung lắc để kích thích sự tăng sinh của vi khuẩn). Tiêm mỗi chủng vi khuẩn kiểm tra vào xoang phúc mạc 2 chuột nhắt trắng có 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. Chuột được theo dõi trong vòng 7 ngày sau khi tiêm. Các chỉ tiêu kiểm tra bao gồm trạng thái chuột thí nghiệm, thời gian chết sau khi tiêm. Căn cứ vào số lượng chuột chết, thời gian

chết trung bình của mỗi lô để đánh giá độc lực của vi khuẩn. Mổ khám chuột chết và nuôi cấy phân lập vi khuẩn từ máu tim.

### 2.3.4. Phương pháp phân tích số liệu

Các kết quả thu được qua các thí nghiệm được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học của Nguyễn Văn Thiện (2000) [9], Minitab, Excel ...

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn từ các mẫu phân lợn mắc hội chứng tiêu chảy

Kiểm tra vi khuẩn của 40 mẫu phân của lợn mắc tiêu chảy tại trại chăn nuôi động vật bán hoang dã. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2. Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella***

Loại lợn	Số mẫu	Phân lập được <i>E. coli</i>		Phân lập được <i>Salmonella</i>	
		Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Lợn con theo mẹ	14	11	78,57	0	0
Lợn sau cai sữa	26	18	69,23	2	7,69
<b>Tính chung</b>	<b>40</b>	<b>29</b>	<b>72,5</b>	<b>2</b>	<b>7,69</b>

Kết quả phân lập cho thấy mẫu phân từ các lợn tiêu chảy phân lập được *E. coli* với tỷ lệ cao, trong đó tỷ lệ mẫu dương tính từ lợn con theo mẹ cao hơn ở lợn sau cai sữa ( $P < 0,05$ ), trong khi *Salmonella* chỉ có mặt ở 2 trong tổng số 26 mẫu của lợn sau cai sữa.

Như vậy, tỷ lệ phân lập được *E. coli* cao hơn rất nhiều so với *Salmonella*. Có thể do khi lợn nhiễm một chủng vi khuẩn *E. coli* gây bệnh thì các vi khuẩn này sẽ phát triển trong cơ thể lợn, tăng nhanh về số lượng và độc lực, thậm chí có thể lấn át hoặc kìm hãm sự phát triển của các loại vi khuẩn khác. Nghiên cứu của Cù Hữu Phú và cs (1999) [6] khi tiến hành phân lập *E. coli* từ các mẫu phân của lợn từ 3,5 đến 4 tháng tuổi bị tiêu chảy, đã xác định được 60/70 mẫu có *E. coli*, chiếm tỷ lệ 85,71%; Lý Thị Liên Khai (2001) [3] cũng phân lập được 42/50 mẫu phân có *E. coli*, chiếm tỷ lệ 84%. Kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Cù Hữu Phú và cs (2004) [7] đã xác định được tỷ lệ của *E. coli* tới 79,75% trong tổng số lợn

tiêu chảy; Trịnh Quang Tuyên và cs (2004) [10] đã xác định được 259/325 mẫu phân lợn con mắc tiêu chảy có *E. coli*, chiếm tỷ lệ 79,69%. Trong khi đó Nguyễn Thị Kim Lan (2004) [4] và Trương Quang (2005) [8] cho biết 100% mẫu phân lợn con mắc phù đầu tại Bắc Giang, Thái Nguyên và 100% mẫu phân lợn con mắc tiêu chảy tại Hà Nội phân lập được *E. coli*.

Theo Nguyễn Thị Oanh (2003) [5], tỷ lệ nhiễm *Salmonella* ở lợn mắc tiêu chảy tại Đăk Lăk là 23,68%. Như vậy, tỷ lệ mẫu phân dương tính với *Salmonella* trong nghiên cứu này thấp hơn nhiều so với các kết quả đã công bố trước đây.

Từ kết quả này có thể nhận xét rằng *E. coli* là nguyên nhân chủ yếu gây hội chứng tiêu chảy cho đàn lợn con tại trại nghiên cứu. Theo chúng tôi, cần có nhiều nghiên cứu tiếp theo về ảnh hưởng của điều kiện chăn nuôi đến sự hiện diện của *Salmonella* và vai trò của vi khuẩn này trong hội chứng tiêu chảy ở lợn con.

### 3.2. Kết quả giám định đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập được

Kết quả được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3. Kết quả giám định đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập được**

Tên phản ứng	Kết quả			
	<i>E. coli</i> (n=29)		<i>Salmonella</i> spp (n=2)	
	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
Tính di động	-	-	2	100
Phản ứng oxydase	-	-	0	0
Khả năng dung huyết	17	58,62	0	0
Phản ứng Citrate	0	0	2	100
Lên men Glucose	29	100	2	100
Lên men Lactose	29	100	0	0
Lên men Sucrose	29	100	2	100
Sản sinh Indol	29	100	0	0
Sản sinh H <sub>2</sub> S	-	-	2	100
Sản sinh Urease	-	-	0	0
MR	29	100	2	100
VP	0	0	0	0

Kết quả bảng 3 cho thấy :Tất cả các chủng *Salmonella* kiểm tra đều cho các phản ứng MR, Citrate và TSI dương tính, còn các phản ứng Indol và VP âm tính. Các chủng đều lên men các loại đường glucose, sucrose. Riêng với đường lactose, đều cho kết quả âm tính.

Căn cứ kết quả giám định đặc tính sinh hóa của 29 chủng *E. coli* và 2 chủng *Salmonella* spp phân lập được, có thể thấy các chủng vi khuẩn phân lập được đều có đặc điểm điển hình của vi

khuẩn *E. coli* và *Salmonella* spp.

### 3.3. Kết quả kiểm tra độc lực của một số chủng *E. coli* và *Salmonella* phân lập được

Từ các kết quả nghiên cứu về đặc tính hình thái, nuôi cấy, tính chất sinh vật hóa học, 11 chủng vi khuẩn *E. coli* có các đặc tính sinh vật hóa học điển hình và 2 chủng *Salmonella* đã được kiểm tra độc lực trên chuột nhắt trắng.

Kết quả được trình bày ở bảng 4.

**Bảng 4. Kết quả kiểm tra độc lực của một số chủng *E. coli* và *Salmonella* phân lập được**

Vi khuẩn phân lập	Nguồn gốc	Số chuột tiêm	Số chủng	Kết quả thử độc lực						Thời gian chết sau tiêm (giờ)
				Giết 100% chuột		Giết 50% chuột		Không làm chết chuột		
				Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)	
<i>E. coli</i>	LCTM	14	7	4	57,1	2	28,6	1	14,3	24-72
	LSCS	8	4	3	75,0	1	25,0	0	0	24-72
	Tính chung	22	11	7	63,6	3	27,3	1	9,1	24-72
<i>Salmonella</i>	LSCS	4	2	2	100	0	0	0	0	24-72

Ghi chú: LCTM = lợn con theo mẹ; LSCS = lợn sau cai sữa

Kết quả bảng 4 cho thấy chỉ có 1 chủng *E. coli* phân lập từ lợn con theo mẹ không gây chết chuột; đa số các chủng gây chết toàn bộ chuột thí nghiệm. Thời gian gây chết chuột sớm nhất là 24 giờ và muộn nhất là 72 giờ sau khi tiêm truyền.

Nghiên cứu của Trương Quang (2005) [8] cho thấy trong 30 chủng *E. coli* phân lập được từ phân của lợn từ 1-60 ngày tuổi bị tiêu chảy tại Hà Nội, có 27 chủng gây chết 100% và 3 chủng gây chết 50% chuột thí nghiệm sau tiêm 24-72

giờ, không phân biệt nguồn gốc giữ lại từ lợn con theo mẹ hay từ lợn con sau cai sữa. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các chủng *E. coli* phân lập từ lợn con theo mẹ mắc hội chứng tiêu chảy có thể có độc lực cao hơn các chủng phân lập từ lợn con sau cai sữa mắc hội chứng này.

### 3.4. Kết quả xác định tính miễn cảm với một số kháng sinh của các chủng *E. coli* và *Salmonella* phân lập được

Kết quả được trình bày ở bảng 5.

**Bảng 5. Kết quả xác định tính miễn cảm với một số kháng sinh của các chủng *E. coli* và *Salmonella* phân lập được**

TT	Tên kháng sinh & hóa dược	<i>E. coli</i> (n=29)				<i>Salmonella</i> (n=2)			
		Miễn cảm		Kháng		Miễn cảm		Kháng	
		Số chủng	(%)	Số chủng	(%)	Số chủng	(%)	Số chủng	(%)
1	Colistin	0	0	29	100	0	0	2	100
2	Gentamycin	7	24,1	22	75,9	1	50,0	1	50,0
3	Flumequine	25	86,2	4	13,8	2	100	0	0
4	Amikacin	29	100	0	0	2	100	0	0
5	Norfloxacin	22	75,9	7	24,1	2	100	0	0
6	Enrofloxacin	19	65,5	10	34,5	1	50,0	1	50,0
7	Tetracycline	0	0	29	100	0	0	2	100
8	Ceftiofur	29	100	0	0	2	100	0	0

Kết quả bảng 5 cho thấy: Các chủng *E. coli* phân lập được đặc biệt miễn cảm với Amikacin và Ceftiofur (100% số chủng), tiếp đến là Flumequine và Norfloxacin. Tuy nhiên, 100% chủng kiểm tra đều kháng Colistin, Tetracycline. Với kháng sinh thông dụng như Gentamycin, tỷ lệ số chủng kháng đều chiếm gần 80% số chủng kiểm tra. Tương tự, tất cả các chủng *Salmonella* phân lập được miễn cảm với Flumequine, Amikacin, Norfloxacin, Ceftiofur và kháng Tetramycin, Colistin.

Khả năng kháng kháng sinh của *E. coli* và *Salmonella* có thể thay đổi phụ thuộc vào địa phương và thời điểm làm kháng sinh đồ và loài vật nuôi (Phùng Quốc Chương, 2005) [1]. Xác định tính miễn cảm với kháng sinh của các

chủng *Salmonella* phân lập được, nhiều tác giả đã khẳng định nhiều loại kháng sinh thông thường như: Streptomycin, Ampicillin... đã bị *Salmonella* kháng lại với tỷ lệ cao (Cù Hữu Phú và cs, 1999 [5]; Đỗ Trung Cứ và cs, 2004) [2].

Như vậy các chủng vi khuẩn phân lập miễn cảm cao với một số loại kháng sinh mới xuất hiện trên thị trường Việt Nam như Ceftiofur, Amikacin, trong khi có tính kháng cao với những loại kháng sinh khác.

## IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* là những yếu tố đóng vai trò quan trọng trong hội chứng tiêu chảy ở lợn con.

- Tỷ lệ phân lập *E. coli* cao ở cả 2 lứa tuổi và ở lợn con theo mẹ cao hơn lợn sau cai sữa.

- Các chủng vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* phân lập được đều thể hiện các đặc tính sinh vật, hóa học đặc trưng như các tài liệu trong và ngoài nước đã mô tả.

- Tất cả các chủng đem thử độc lực đều có độc lực cao, gây chết 100% động vật thí nghiệm trong vòng 24-72h.

- Các chủng vi khuẩn phân lập được đều mẫn cảm với Amikacin và Ceftiofur (100%); Flumequine (86,2%) và Norfloxacin (75,9%). Tuy nhiên 100% chủng kiểm tra đều kháng Colistin, Tetracycline.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phùng Quốc Chương (2005) Kết quả kiểm tra tính mẫn cảm của một số thuốc kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ vật nuôi tại Đăk Lăk”. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, 1: 53.
2. Đỗ Trung Cứ (2004), Phân lập xác định vai trò gây bệnh của vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* trong hội chứng tiêu chảy ở lợn nuôi tại một số tỉnh phía Bắc và biện pháp phòng trị, Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Thú y Quốc gia, Hà Nội, tr 73 - 79.
3. Lý Thị Liên Khai (2001). Phân lập xác định độc tố ruột của các chủng *E. coli* gây bệnh tiêu chảy cho heo con. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, 8(3),13-28
4. Nguyễn Thị Kim Lan (2004). Thử nghiệm phòng và trị bệnh coli dung huyết cho lợn con ở Thái Nguyên và Bắc Giang, *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, 12(3): 35 – 39.
5. Nguyễn Thị Oanh (2003). Tình hình nhiễm và một số yếu tố gây bệnh của vi khuẩn *Salmonella* ở vật nuôi (Lợn, trâu, bò, nai, voi) tại Đăk Lăk. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Hà Nội.
6. Cù Hữu Phú, Nguyễn Ngọc Nhiên, Vũ Bình Minh và Đỗ Ngọc Thuý (1999). Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella* ở lợn mắc tiêu chảy, xác định một số đặc tính sinh vật hoá học của chủng vi khuẩn phân lập được và biện pháp phòng trị. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, 47-51.
7. Cù Hữu Phú, Nguyễn Ngọc Nhiên, Đỗ Ngọc Thuý, Âu Xuân Tuấn, Nguyễn Xuân Huyền, Văn Thị Hương, Đào Thị Hảo (2004). Lựa chọn chủng *E. coli* để chế tạo Autovacxin phòng bệnh tiêu chảy cho lợn con theo mẹ. Viện Thú y 35 năm xây dựng và phát triển (1969 - 2004), NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
8. Trương Quang (2005). Kết quả nghiên cứu vai trò gây bệnh của *E. coli* trong hội chứng tiêu chảy ở lợn 1 - 60 ngày tuổi. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, 12(1): 27-32.
9. Nguyễn Văn Thiện (2008), Phương pháp nghiên cứu trong chăn nuôi, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
10. Trịnh Quang Tuyên (2004). Phân lập và xác định các yếu tố gây bệnh của vi khuẩn *E. coli* từ lợn con bị tiêu chảy nuôi tại trại lợn Tam Điệp. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y* (4), 22-28.

Nhận ngày 21-6-2016

Phản biện ngày 30-8-2016