

KẾT QUẢ PHÂN LẬP, XÁC ĐỊNH SEROTYPE VÀ ĐỘC LỰC CÁC CHỦNG *E. COLI* GÂY TIÊU CHẢY Ở LỢN CON TẠI KHU VỰC THÀNH PHỐ CẨM PHẢ, TỈNH QUẢNG NINH

Phạm Hà Giang¹, Nguyễn Quang Tuyền², Trần Đức Hạnh²,
Luu Đình Tiến², Nguyễn Thị Liên³, Nguyễn Mạnh Cường³

TÓM TẮT

Điều tra tình hình dịch bệnh và phân lập, xác định một số đặc tính sinh vật học của vi khuẩn *E. coli* gây tiêu chảy ở lợn con dưới 2 tháng tuổi tại khu vực thành phố Cẩm Phả, tỉnh Quảng Ninh năm 2014-2015 cho thấy: tỷ lệ lợn mắc tiêu chảy và chết khá cao, tương ứng là 17,37% và 10,22%. Các chủng *E. coli* phân lập được với tỷ lệ trung bình ở mẫu phân là 84,53% và phủ tạng là 82,22%; thuộc các serotype O149, O141, O139, O138, O111 và O8, trong đó serotype O149 chiếm tỷ lệ cao nhất (28,0%) và thấp nhất là O8 (8,0%). Độc lực của các chủng *E. coli* phân lập được trên chuột bạch rất mạnh, gây chết 100% chuột thí nghiệm trong vòng 18-48 giờ.

Từ khóa: lợn con, tiêu chảy, *E. coli*, serotype, độc lực, tỷ lệ nhiễm, TP. Cẩm Phả, Quảng Ninh

Determination of serotype and virulence of *E. coli* strains caused diarrhea in piglets in Cam Pha city, Quang Ninh province

Pham Ha Giang, Nguyen Quang Tuyen, Tran Duc Hanh,
Luu Dinh Tien, Nguyen Thi Lien, Nguyen Manh Cuong

SUMMARY

The result of investigating epidemic situation, isolation and determination of some biological characteristics of *E. coli* bacteria causing diarrhea in the piglets under 2 months old in Cam Pha city, Quang Ninh province from 2014 to 2015 showed that the infection and mortality rate of the piglets was relatively high (17.37% and 10.22%, respectively). The rate of fecal and viscera samples from that the *E. coli* strains were isolated to be 84.53% and 82.22% respectively. The isolated *E. coli* strains belonged to serotypes: O149, O141, O139, O138, O111 and O8, of which serotype O149 accounted for the highest rate (28.0%) and serotype O8 shared the lowest rate (8.0%). The virulence of *E. coli* strains was very strong, these bacteria strains killed 100% of the experimental albino mouse within 18-48 hours.

Keywords: piglet, diarrhea, *E. coli*, serotype, virulence, infection rate, Cam Pha city, Quang Ninh province.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chăn nuôi lợn ở tỉnh Quảng Ninh nói chung và khu vực thành phố Cẩm Phả nói riêng trong những năm vừa qua đã phát triển khá mạnh, tăng nhanh về số lượng và được cải tiến nhiều về chất lượng. Theo báo cáo về tình hình chăn nuôi gia súc, gia cầm giai đoạn 2010 - 2014 của TP. Cẩm

Phả, tổng đàn lợn đạt trên 16.000 con (Thống kê, 2014) Bên cạnh chương trình nạc hoá đàn lợn, đưa nái ngoại vào chăn nuôi ở các trang trại, đến nay đã có rất nhiều cơ sở chăn nuôi lợn sinh sản và lợn thịt với quy mô lớn. Tuy nhiên, tình hình dịch bệnh cũng đã diễn biến phức tạp, hàng năm làm chết nhiều lợn trên địa bàn. Ngoài một số bệnh truyền nhiễm nguy hiểm thì tiêu chảy cũng là bệnh gây thiệt hại lớn về kinh

¹ Hội Nông dân, tỉnh Quảng Ninh

² Công ty cổ phần thuốc thú y Marphavet

³ Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.

té và phổ biến ở lợn con dưới hai tháng tuổi.

Theo Trịnh Quang Tuyên và cs. (2004) khi tiến hành phân lập vi khuẩn *E. coli* từ các mẫu phân của lợn bị tiêu chảy, đã xác định được tỷ lệ 79,69% mẫu có vi khuẩn *E. coli*. Nguyễn Thị Kim Lan (2004) nghiên cứu lợn mắc tiêu chảy, phù đầu ở tỉnh Bắc Giang và Thái Nguyên đã cho thấy có 100% mẫu phân của lợn mắc bệnh phân lập được vi khuẩn *E. coli*. Để có cơ sở cho việc nghiên cứu và xây dựng những biện pháp phòng và trị tiêu chảy cho lợn con có hiệu quả cao, chúng tôi đã tiến hành phân lập, xác định serotype và và kiểm tra độc lực của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh tại khu vực thành phố Cẩm Phả, tỉnh Quảng Ninh.

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

2.1. Nội dung

- Điều tra một số đặc điểm dịch tễ hội chứng tiêu chảy ở lợn con tại Quảng Ninh.

- Phân lập, xác định serotype của các chủng vi khuẩn *E. coli* gây tiêu chảy ở đàn lợn con tại khu vực thành phố Cẩm Phả, tỉnh Quảng Ninh.

- Xác định độc lực của các chủng *E. coli* phân lập được làm cơ sở cho việc tuyển chọn các chủng phục vụ cho nghiên cứu chế tạo chế phẩm phòng bệnh.

2.2. Nguyên vật liệu

- Mẫu bệnh phẩm: Phù tạng gồm máu tim, lách, gan, hạch ruột, chất chứa ruột non, ruột già và phân của lợn con dưới 2 tháng tuổi mắc tiêu chảy và chết do tiêu chảy.

- Các loại môi trường dùng cho nuôi cấy, phân lập và kiểm tra một số đặc tính sinh học của vi khuẩn đường ruột.

- Các kháng huyết thanh O chuẩn (đa giá và đơn giá).

- Chuột nhắt trắng khỏe mạnh (18-20g/con).

- Các loại giấy tẩm kháng sinh của hãng Oxoid (Anh).

- Hoá chất, dụng cụ, máy móc... phòng thí nghiệm nghiên cứu vi sinh vật.

- Thời điểm tiến hành nghiên cứu từ tháng 6/2014-8/2015.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Điều tra một số đặc điểm dịch tễ hội chứng tiêu chảy ở lợn con theo phương pháp nghiên cứu dịch tễ học của Nguyễn Như Thanh và cs.(2001).

- Nuôi cấy, phân lập và giám định một số đặc điểm sinh vật hóa học, kiểm tra độc lực của các chủng *E. coli* theo quy trình thường quy của Bộ môn Vi trùng, Viện Thú y.

- Số liệu xử lý theo phương pháp toán học thông dụng.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ lợn con mắc tiêu chảy và chết tại địa bàn nghiên cứu

Đã điều tra và xác định tỷ lệ lợn con dưới 2 tháng tuổi mắc và chết do tiêu chảy tại 5 xã/phường thuộc địa bàn nghiên cứu. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ lợn con tiêu chảy và chết tại một số xã, phường thuộc TP. Cẩm Phả

Địa điểm (xã, phường)	Số lợn điều tra	Lợn mắc tiêu chảy		Lợn chết do tiêu chảy	
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Dương Huy	237	46	19,40	4	8,69
Cửa Ông	383	56	14,62	6	10,71
Quang Hanh	224	37	16,51	5	13,51
Cộng Hòa	239	49	20,50	5	10,20
Cẩm Đông	212	38	17,92	3	7,89
Tính chung	1.295	225	17,37	23	10,22

Kết quả bảng 1 cho thấy tỷ lệ đàn lợn con nuôi tại khu vực thành phố Cẩm Phả mắc tiêu chảy

trung bình là 17,37% và tỷ lệ chết là 10,22%. Tỷ lệ lợn mắc tiêu chảy cao nhất là ở Cộng Hòa

(20,50%); tiếp đến là Dương Huy (19,40%) và thấp nhất là Cửa Ông (14,62%). Tỷ lệ lợn con chết cao nhất là ở Quang Hanh (13,51%), tiếp đến là ở Cửa Ông (10,71%) và thấp nhất là ở Cẩm Đông (7,89%). Qua điều tra cho thấy nguyên nhân là do chăn nuôi lợn còn quy mô nhỏ ở hộ gia đình, điều kiện chăm sóc, nuôi dưỡng, vệ sinh... còn hạn chế nên hội chứng tiêu chảy vẫn thường xuyên xảy ra. Kết quả này của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả của một số tác giả như Trần Trung Mỹ (2010) cho thấy tỷ lệ lợn con mắc tiêu chảy tại một số huyện thuộc tỉnh Thái Nguyên là 27,81%, tỷ lệ chết do tiêu chảy là 5,12%; Nguyễn Chí Dũng (2013) cho biết tiêu chảy ở lợn con xuất hiện phổ

biến ở cả ba huyện thuộc tỉnh Vĩnh Phúc với tỷ lệ khá cao (26,76%); tỷ lệ chết là 5,03% trong tổng số lợn điều tra. Kết quả trên đã cho thấy, tại các địa phương, khi điều kiện chăn nuôi, công tác vệ sinh thú y, phòng chống dịch bệnh còn hạn chế thì tỷ lệ lợn con mắc bệnh tiêu chảy cao.

3.2. Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* từ phân lợn con tiêu chảy

Tiến hành phân lập vi khuẩn *E. coli* từ 142 mẫu bệnh phẩm (97 mẫu phân và 45 mẫu dịch ruột non hoặc ruột già) được lấy từ lợn con tiêu chảy tại 5 xã/phường, kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* ở lợn con tiêu chảy

TT	Lứa tuổi (ngày)	Mẫu phân			Mẫu phủ tạng		
		Số mẫu nghiên cứu	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu nghiên cứu	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
1	Sơ sinh-20	30	29	96,66	15	14	93,33
2	21-40	35	29	82,85	15	12	80,00
3	41-60	32	25	78,12	15	11	73,33
	Tính chung	97	82	84,53	45	37	82,22

Kết quả bảng 2 cho thấy trong 142 mẫu bệnh phẩm được thu thập, vi khuẩn *E. coli* xuất hiện ở các mẫu phân, chiếm tỷ lệ trung bình là 84,53% và ở các mẫu phủ tạng là 82,22%. Ở các lứa tuổi lợn cho thấy ở giai đoạn từ sơ sinh đến 20 ngày tuổi có tỷ lệ phân lập vi khuẩn *E. coli* là cao nhất: từ mẫu phân là 96,66% và mẫu phủ tạng là 93,33%; thấp hơn là ở giai đoạn từ 21 đến 40 ngày tuổi (tương ứng là 82,85 và 80,00%) và thấp nhất là ở giai đoạn từ 41 đến 60 ngày tuổi (tương ứng là 78,12 và 73,33%). Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Trịnh Quang Tuyên (2004) khi phân lập *E. coli* từ các mẫu phân của lợn bị tiêu chảy đã xác định được 79,69% mẫu có vi khuẩn *E. coli* và Trương Quang (2005) cũng cho thấy 100% mẫu phân của lợn bị tiêu chảy và phủ đầu trên địa bàn phân lập được vi khuẩn *E. coli*.

3.3. Kết quả xác định serotype kháng nguyên O của các chủng *E. coli* phân lập được

Lựa chọn từ mỗi phường/xã 20 chủng *E. coli*

(tổng số 100 chủng) phân lập được mang đủ những đặc tính sinh học điển hình để xác định serotype kháng nguyên O. Kết quả được trình bày trên bảng 3.

Kết quả bảng 3 cho thấy trong 100 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được khi kiểm tra, có 75 chủng cho kết quả dương tính với một trong 6 serotype kháng huyết thanh O. Trong đó các chủng thuộc serotype O149 chiếm tỷ lệ cao nhất (21,0%); tiếp theo là các chủng thuộc serotype O141 (17,0%), O139 (13,0%), O138 (10,0%), O111 (8,0%), và thấp nhất là serotype O8 (6,0%), còn 25 chủng (25,0%) chưa được xác định serotype.

Kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với một số kết quả nghiên cứu trước đây, phần lớn các tác giả đều cho thấy serotype kháng nguyên O149 chiếm tỷ lệ cao và là serotype chủ yếu gây bệnh cho lợn. Theo Fairbrother J.M. (1992), các serotype O138, O139, O141 và O149 thuộc nhóm vi khuẩn ETEC và VTEC là các nhóm thường hay gặp gây tiêu chảy cho lợn con. Lê Văn Dương (2010) cũng cho thấy trong 248 chủng *E. coli* phân lập từ lợn con tiêu

Bảng 3. Kết quả xác định serotype kháng nguyên O của các chủng *E.coli* phân lập được

Địa điểm (xã, phường)	Số chủng kiểm tra	Serotype kháng nguyên													
		O8		O111		O138		O139		O141		O149		Chưa xác định	
		n (+)	Tỷ lệ (%)	n (+)	Tỷ lệ (%)	n (+)	Tỷ lệ (%)	n (+)	Tỷ lệ (%)	n (+)	Tỷ lệ (%)	n (+)	Tỷ lệ (%)	n (+)	Tỷ lệ (%)
Dương Huy	20	1	5,0	2	10,0	2	10,0	3	15,0	3	15,0	4	20,0	5	-
Cửa Ông	20	1	5,0	1	5,0	2	10,0	3	15,0	4	20,0	4	20,0	5	-
Quang Hanh	20	2	10,0	1	5,0	2	10,0	2	10,0	3	15,0	5	25,0	5	-
Cộng Hòa	20	1	5,0	2	10,0	1	5,0	3	15,0	4	20,0	4	20,0	5	-
Cẩm Đông	20	1	5,0	2	10,0	3	15,0	2	10,0	3	15,0	4	20,0	5	-
Tính chung	100	6	6,0	8	8,0	10	10,0	13	13,0	17	17,0	21	21,0	25	25,0

chảy tại Bắc Giang đều cho kết quả dương tính với 1 trong 6 serotype kháng huyết thanh O, trong đó các chủng thuộc serotype O149 chiếm tỷ lệ cao nhất (31,45%); thấp hơn là các chủng thuộc serotype O141 (27,42%). Các serotype O139, O111 và O138 lần lượt có tỷ lệ tương ứng là 16,13%; 12,90% và 9,68%; serotype O8 chiếm tỷ lệ thấp nhất (8,47%).

3.4. Kết quả kiểm tra độc lực của một số chủng vi khuẩn *E.coli* phân lập được

Đã lựa chọn 16 chủng *E. coli* phân lập được từ lợn mắc tiêu chảy có đầy đủ các đặc tính sinh vật, hóa học điển hình để nghiên cứu. Kết quả được trình bày trên bảng 4.

Bảng 4. Kết quả kiểm tra độc lực của một số chủng vi khuẩn *E.coli* trên chuột bạch

Ký hiệu chủng	Số chuột tiêm	Liều tiêm (ml)	Đường tiêm	Số chuột chết	Tỷ lệ (%)	Thời gian chết (giờ)	Phân lập lại VK
E-qn03	2	0,2	Phúc xoang	2/2	100	< 18	+
E-qn06	2	0,2		1/2	50	25 - 30	+
E-qn08	2	0,2		2/2	100	18 - 24	+
E-qn12	2	0,2		2/2	100	31 - 48	+
E-qn15	2	0,2		2/2	100	18 - 24	+
E-qn18	2	0,2		1/2	50	25 - 30	+
E-qn23	2	0,2		2/2	100	< 18	+
E-qn34	2	0,2		2/2	100	18 - 24	+
E-qn39	2	0,2		1/2	50	25 - 30	+
E-qn45	2	0,2		2/2	100	< 18	+
E-qn46	2	0,2		2/2	100	31 - 48	+
E-qn52	2	0,2		2/2	100	< 18	+
E-qn56	2	0,2		1/2	50	18 - 24	+
E-qn66	2	0,2		2/2	100	25 - 30	+
E-qn69	2	0,2		2/2	100	18 - 24	+
E-qn70	2	0,2		2/2	100	< 18	+

Kết quả bảng 4 cho thấy 100% chủng *E. coli* phân lập được từ lợn con dưới 2 tháng tuổi ở Quảng

Ninh có độc lực mạnh. Trong 16 chủng *E. coli* tiêm cho chuột bạch có 10 chủng có độc lực cao,

giết chết 100% chuột sau khi tiêm trong vòng 18-48 giờ, chiếm tỷ lệ 62,5%. Đặc biệt có 5 chủng có độc lực mạnh là *E-qn03*, *E-qn23*, *E-qn45*, *E-qn52* và *E-qn70* gây chết 100% chuột trong vòng 18 giờ sau tiêm, trong đó có 3 chủng thuộc serotype O149 và 2 chủng thuộc serotype O141. Có 4 chủng *E.coli* độc lực yếu hơn gây chết 50% chuột thí nghiệm trong 18-24 giờ, tỷ lệ 25,0%, trong đó có 1 chủng thuộc serotype O141 và 3 chủng thuộc serotype O139. Chuột bạch sau khi tiêm canh khuẩn bị ủ rũ, kém vận động, lông xù, run rẩy và chết sau 18-48 giờ. Các chuột chết được mổ khám đều có bệnh tích điển hình như bụng chướng to, viêm phổi, gan sưng, tụ huyết, ruột xuất huyết, tim nhỏ. Lấy máu tìm cấy trên thạch máu và MacConkey đều phân lập lại được vi khuẩn *E.coli*.

Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả của một số tác giả như Trương Quang (2005) khi kiểm tra độc lực của 30 chủng *E.coli* phân lập được từ phân của lợn từ 1-60 ngày tuổi mắc tiêu chảy tại Hà Nội cho thấy 90% gây chết 100% và 3 chủng (100%) gây chết 50% chuột sau tiêm canh khuẩn từ 24-72 giờ; và theo Hồ Soái và cs. (2005) kiểm tra độc lực 5 chủng *E.coli* phân lập từ phân lợn bị tiêu chảy ở Quảng Trị đã cho thấy 4 chủng gây chết 100% và 1 chủng gây chết 50% chuột được tiêm.

IV. KẾT LUẬN

- Lợn con dưới hai tháng tuổi nuôi tại một số xã, phường thuộc khu vực thành phố Cẩm Phả, tỉnh Quảng Ninh mắc tiêu chảy và chết với tỷ lệ khá cao, tương ứng là 17,37% và 10,22%.

- Vi khuẩn *E.coli* phân lập được ở hầu hết các mẫu bệnh phẩm của lợn con mắc tiêu chảy, tỷ lệ trung bình ở mẫu phân là 84,53% và ở phủ tạng là 82,22%.

- Các chủng *E. coli* phân lập được thuộc các serotype O149, O141, O139, O138, O111 và O8, trong đó serotype O149 chiếm tỷ lệ cao nhất (21,0%) và thấp nhất là O8 (6,0%). Độc lực của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được trên chuột bạch rất mạnh, gây chết 100% chuột thí nghiệm trong vòng 18-48 giờ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fairbrother J.M. (1992), Enteric colibacillosis diseases of swine. IOWA State University Press/AMES, IOWA U.S.A 7th Edition, page.489-496.
2. Nguyễn Chí Dũng (2013), Nghiên cứu vai trò gây bệnh của vi khuẩn *E. coli* trong hội chứng tiêu chảy ở lợn con nuôi tại tỉnh Vĩnh Phúc và biện pháp phòng trị. Luận văn thạc sĩ Thú y, Đại học Thái Nguyên.
3. Lê Văn Dương (2010), Phân lập, xác định vai trò gây bệnh của *Escherichia coli* trong hội chứng tiêu chảy ở lợn con tại một số huyện của tỉnh Bắc Giang và biện pháp phòng trị. Luận văn thạc sĩ Thú y, Đại học Thái Nguyên.
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, tập XII (3), tr. 35- 39*.
5. Trần Trung Mỹ (2010), Phân lập và xác định vai trò của vi khuẩn *E. coli* trong hội chứng tiêu chảy ở lợn con dưới 2 tháng tuổi tại một số huyện của tỉnh Thái Nguyên và biện pháp phòng trị. Luận văn thạc sĩ Thú y, Đại học Thái Nguyên.
6. Trương Quang (2005), “Kết quả nghiên cứu vai trò gây bệnh của *E.coli* trong hội chứng tiêu chảy ở lợn từ 1-60 ngày tuổi”, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, tập XII, (1), tr 27-32*.
7. Hồ Soái, Đinh Thị Bích Liên (2005), “Xác định nguyên nhân chủ yếu gây tiêu chảy ở lợn con tại xí nghiệp lợn giống Triệu Hải, Quảng Trị và thử nghiệm phác đồ điều trị”, *Tạp chí KHKT Thú y, tập XII, (5), tr 26- 34*
8. 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), tr. 22 - 28*.

Nhận ngày 15-1-2017

Phản biện ngày 5-3-2017