

# Sử dụng kháng sinh đồ để phân lập vi khuẩn *Escherichia Coli* phục vụ sinh viên Trường Đại học Trà Vinh thực tập và làm việc tại các doanh nghiệp ngành Chăn nuôi thú y

Hồ Quốc Đạt

Trường Đại học Trà Vinh

Received: 2/1/2024; Accepted: 5/1/2024; Published: 8/1/2024

**Abstract:** Instructing students in the Co-op veterinary program to use antibiograms to isolate *E. coli* bacteria in ducks in the laboratory. Results of liver, spleen, and bone marrow samples tested and treated with several antibiotics showed that *E. coli* bacteria were highly resistant to Tetracycline (85.71%) and Norfloxacin (64.29%); At the same time, highly sensitive to Colistin (100%), Amikacin (100%), Fosfomycin (78.57%); Relatively sensitive to Cefuroxime (42.85%). One of the antibiotics Colistin, Amikacin, Fosfomycin can be used to treat *E. coli* disease in ducks. Teachers need to guide Co-op students to vaccinate ducks and prepare antibiograms to select effective treatment drugs.

**Keywords:** Antibiogram, *E. coli* bacteria, isolation and infection rate.

## 1. Đặt vấn đề

Để chăn nuôi vịt có được năng suất cao thì phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố, trong đó yếu tố phòng bệnh cho đàn vịt là một trong những việc làm rất quan trọng, rất cần thiết cho sức khỏe đàn vịt. Chăn nuôi vịt vào thời điểm hiện nay, do biến đổi khí hậu bất thường nên hiện tượng xác định bệnh trên đàn vật nuôi cũng đang gặp một số khó khăn, sự biến đổi của gen vi khuẩn, virus sẽ làm giảm hiệu quả của việc điều trị bệnh trên vịt, hiện tượng kháng thuốc của vi khuẩn. Để ngăn ngừa phát triển sự đề kháng của vi khuẩn đối với kháng sinh việc dùng thuốc phối hợp, thay đổi kháng sinh sau một thời gian sử dụng nhất định, biến một chủng kháng thuốc thành chủng nhạy bằng cách thay đổi chuyên hóa của nó. Vì vậy, việc hướng dẫn sinh viên (SV) co-op (Hợp tác với doanh nghiệp) sử dụng kháng sinh đồ để phân lập vi khuẩn *Escherichia coli* trên vịt thành công nhằm để lựa chọn kháng sinh điều trị hợp lý và hiệu quả nhất trong giai đoạn hiện nay, đáp ứng sự mong đợi của nhà trường đáp ứng được yêu cầu của giáo dục hiện nay là SV tự nghiên cứu, tự học, tự phát triển tư duy, sáng tạo và đáp ứng được yêu cầu của nhà tuyển dụng khi ra trường.

## 2. Nội dung nghiên cứu.

### 2.1. Dạy học theo phương pháp hiện đại:

Việc sử dụng các phương pháp (PP) tích cực vào giảng dạy thực hành chăn nuôi gia cầm cho sinh viên Co-op (Cooperative - Hợp tác với doanh nghiệp) ngành Chăn nuôi thú y hiện nay là rất cần thiết và đang được các thành viên của Khoa Nông nghiệp

Thủy Sản - Trường Đại học Trà Vinh mong đợi và hưởng ứng. Đây cũng là sứ mạng của Khoa Nông nghiệp Thủy Sản trong thời kỳ hội nhập để có đủ tầm, đáp ứng cho sản xuất chăn nuôi không chỉ ở tỉnh Trà Vinh mà còn góp phần thiết thực cho phát triển kinh tế đối ngoại của Đồng bằng sông Cửu Long. Theo khuyến cáo của Spickler T.R. (1984), sự đổi mới về PP giảng dạy cần được thực hiện thỏa mãn tính được “tính cơ bản, tính hiện đại và tính bản địa”, “tư duy khoa học”, “tính trung thực” và “tư duy sáng tạo” và “field trip”. Vì vậy, việc đổi mới PP giảng dạy đối với SV Co-op ngành Chăn nuôi thú y, học phần Chăn nuôi gia cầm, giảng viên (GV) cần hướng đến các kỹ thuật cao, gắn liền với thực tế là rất cần thiết cho SV.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### \*Lấy mẫu bệnh phẩm

Chọn mẫu: Chọn vịt bệnh chưa điều trị và chưa dùng kháng sinh.

Mẫu bệnh phẩm: Mỗi con vịt bệnh lấy 5 loại bệnh phẩm là gan, lách, phổi, tủy xương và ruột. Chọn vịt bệnh có triệu chứng tiêu chảy nặng, phân màu trắng xanh, gầy yếu, nằm một chỗ hoặc vịt vừa mới chết nhưng nghi do *E. coli*.

#### \*Cách lấy bệnh phẩm.

Lấy phủ tạng: dùng kéo vô trùng cắt một mẫu gan, phổi, tim khoảng 5-10g cho vào túi nilon vô trùng, ghi thông tin rồi giữ trong nước đá bảo quản lạnh. Với lách làm tương tự như với gan và phổi nhưng lấy cả phần lách.

Lấy tủy: bóc lộ tủy sống, dùng kéo cong cắt các dây thần kinh, lấy tủy sống cho vào túi vô trùng.

Lấy phân: cắt một đoạn ruột già, dùng tăm bông vô trùng ngoáy sâu vào rồi cho vào túi nilon vô trùng, ghi thông tin sau đó bảo quản trong nước đá.

#### **\*Nuôi cấy phân lập vi khuẩn và làm kháng sinh đồ**

Mẫu bệnh phẩm được phân lập tại phòng thí nghiệm Bộ môn Thú y, Khoa Nông nghiệp và Sinh Học Ứng Dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

Mẫu bệnh phẩm được cấy trực tiếp trên môi trường TBX đem ủ ở 37°C trong 24 giờ. Chọn các khuẩn lạc E. coli to, tròn, hơi lồi, màu xanh nhạt, môi trường xung quanh khuẩn lạc cũng chuyển sang màu xanh. Sau đó chọn 3-5 khuẩn lạc điển hình cấy thuần trên môi trường NA đem ủ ở 37°C trong 24 giờ. Sau đó giữ giống và cấy trên môi trường TSA ủ ở 37°C trong 24 giờ làm kháng sinh đồ (Nguyễn Vĩnh Phước, 1997).

#### **\*Chuẩn bị canh khuẩn**

Vi khuẩn sau khi thử đặc tính sinh hóa, tiến hành cấy chuyển trên môi trường TSA cho vào ống nghiệm chứa 2-2,5ml nước muối sinh lý 0,9% vô trùng, lắc đều bằng máy vortex, so sánh với ống độ đục chuẩn McFarland 0,5% (đã pha sẵn). Huyền dịch được sử dụng trong vòng 30 phút.

#### **\*Thực hiện làm kháng sinh đồ**

Dùng que tăm bông vô trùng nhúng vào ống nghiệm chứa huyền dịch vi khuẩn, ép vào thành ống cho bớt nước rồi dàn đều khắp mặt thạch MHA. Đợi mặt thạch khô, dùng kẹp vô trùng lấy các đĩa giấy kháng sinh đặt lên mặt thạch sao cho 2 đĩa cách nhau 2,5-3,5cm và cách rìa đĩa thạch 2-2,5cm. Đem ủ ở 37°C trong 24 giờ, đọc kết quả (Nguyễn Thanh Bảo, 2004).

#### **\*Phương pháp đọc kết quả kháng sinh đồ**

Nếu xung quanh đĩa kháng sinh không có vòng vô khuẩn thì vi khuẩn kháng với kháng sinh đó. Nếu xung quanh đĩa kháng sinh có vòng vô khuẩn thì ta tiến hành đo đường kính vòng vô khuẩn (tính bằng mm) so sánh với bảng tiêu chuẩn (CLSI, 2014) để kết luận vi khuẩn nhạy cảm, trung gian hay kháng với kháng sinh đó.

#### **\*Phương pháp xử lý số liệu**

Số liệu được nhập bằng phần mềm microsoff excel 2010 và xử lý số liệu theo PP Chi - square test bằng phần mềm Minitab 16.0.

## **2. 2. Kết quả nghiên cứu**

### **2.2.1. Kết quả điều tra về thực trạng chăn nuôi vịt**

Qua kết quả điều tra cho thấy các giống vịt được nuôi ở huyện Càng Long có 3 giống chính: giống Supper Meat chuyên thịt, giống vịt cỏ và giống CV 2000 Layer chuyên trứng. Trong đó, giống Supper

Meat chiếm 20,11%, giống vịt cỏ chiếm 27,81% và giống CV 2000 Layer chiếm 52,08%. Các giống này được nuôi trong thời gian dài và đã thích nghi với khí hậu ở địa phương con giống chủ yếu được mua tại các lò ấp địa phương hoặc từ các huyện lân cận nên vấn đề chất lượng con giống chưa thật sự đảm bảo. Một số rất ít vịt được mua từ Long An, trong quá trình điều tra vịt làm 3 lứa tuổi: vịt con (mới nở đến 30 ngày tuổi), vịt thịt (30 ngày đến xuất bán) và vịt đẻ. Kết quả nghiên cứu ghi nhận tỷ lệ vịt đẻ chiếm 78,01%, kể đến là vịt thịt chiếm 19,21% và vịt con chiếm 2,79%. Vịt thịt được nuôi nhiều chủ yếu theo phương thức chạy đồng, tận dụng thức ăn trên đồng ruộng sau khi thu hoạch, vịt thịt và vịt con chủ yếu được nuôi nhốt sử dụng thức ăn công nghiệp là chính.

### **2.2.2. Về phương thức nuôi vịt**

Kết quả điều tra ghi nhận tại huyện Càng Long vịt được nuôi theo phương thức chạy đồng là chủ yếu, chiếm tỷ lệ 74,96%, vịt nuôi nhốt chiếm 25,04%. Trong đó, xã An Trường A có vịt chạy đồng chiếm 64,79%, vịt nuôi nhốt chiếm 35,21%; xã Tân An vịt chạy đồng chiếm 54,48%, vịt nuôi nhốt chiếm 45,52%; xã Huyền Hội có vịt chạy đồng chiếm 76,09%, vịt nuôi nhốt chiếm 23,91%; xã Tân Bình có vịt chạy đồng chiếm 92,45%, vịt nuôi nhốt chiếm 7,55%. Phương thức nuôi nhốt chủ yếu là ở các hộ chăn nuôi nhỏ lẻ, thường số lượng vịt được nuôi không nhiều trên dưới 50 con/hộ. Tuy nhiên, các hộ chăn nuôi đã dần chuyển sang phương thức nuôi nhốt với số lượng vịt được nuôi nhiều hơn từ 300 đến 500 con/hộ. Đây có thể được xem là bước khả quan trong việc chuyển phương thức chăn nuôi từ chạy đồng sang nuôi nhốt tập trung. Phương thức nuôi vịt chạy đồng đã có từ lâu đời, đến nay vẫn còn chiếm tỷ lệ cao trong chăn nuôi vịt.

### **2.2.3. Tình hình nhiễm vi khuẩn E. coli trên đàn vịt**

Kết quả điều tra cho thấy tình hình nhiễm bệnh do E. coli trên tổng đàn vịt điều tra chiếm tỷ lệ là 2,37%. Trong đó, xã Huyền Hội có tỷ lệ nhiễm cao nhất chiếm 3,00%, thấp nhất là xã Tân An chiếm 1,33%. Sự khác biệt này rất có ý nghĩa ( $P < 0.01$ ), cho thấy có sự lưu hành của vi khuẩn E. coli gây bệnh trên vịt tại huyện Càng Long. Tại thời điểm nghiên cứu ghi nhận Xã Huyền Hội có tỷ lệ nhiễm bệnh cao nhất là do số lượng vịt nuôi trong đàn lớn, tổng đàn trên 1000 con/hộ, nuôi chủ yếu theo phương thức chạy đồng vì vậy vịt bị bệnh thường khó phát hiện, khả năng vi khuẩn lây lan trong đàn cao, bệnh khó điều trị và khó chặn đứng bệnh lây lan trực tiếp từ bệnh sang con khỏe nên số lượng vịt bệnh cao.

#### 2.2.4. Kết quả phân lập *E. coli* gây bệnh trên vịt

Qua kết quả tổng số mẫu phân lập được trên 14 con vịt bệnh là 70 mẫu trong đó số mẫu cho kết quả dương tính là 60 mẫu, chiếm tỷ lệ 87,14%. Trong đó, xã Tân Bình có tỷ lệ nhiễm 93,33%, kể đến là xã An Trường A có tỷ lệ là 92%, Huyện Hội và Tân An có tỷ lệ nhiễm là 80%. Sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $P>0,05$ ). Kết quả này cho thấy tỷ lệ nhiễm bệnh ở các xã khá cao. Nguyên nhân có thể do vi khuẩn có sẵn trong đường tiêu hóa của vịt cũng như luôn hiện diện trong đất, nước, không khí kết hợp chăm sóc nuôi dưỡng theo phương thức chạy đồng nên vi khuẩn dễ dàng gây bệnh.

#### 2.2.5. Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* theo lứa tuổi

Kết quả phân lập vịt thịt và vịt đẻ, phân lập 70 mẫu có 61 mẫu dương tính với *E. coli* chiếm 87,14%. Trong đó vịt thịt chiếm 88,89%, vịt đẻ chiếm 84% và sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $P>0,05$ ). Kết quả cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên vịt không phụ thuộc vào lứa tuổi, vịt ở mọi lứa tuổi đều có thể mắc bệnh. Vi khuẩn *E. coli* thường tồn tại trong đường ruột vịt. Trong trường hợp có ảnh hưởng của yếu tố khách quan như: khí hậu thay đổi đột ngột, mưa nhiều, thức ăn chất lượng kém, vận chuyển, tiêm chủng đã làm giảm sức đề kháng, vịt ở trạng thái căng thẳng (stress) lập tức vi khuẩn *E. coli* dễ dàng xâm nhập vào cơ thể qua niêm mạc ruột và gây bệnh (Lê Hồng Mận và cs, 1999). Vì vậy cần chăm sóc tốt cho vịt, thường xuyên phòng bệnh cho vịt cũng như sát trùng chuồng trại để hạn chế bệnh xảy ra và lây lan trong đàn.

#### 2.2.6. Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* theo mẫu bệnh phẩm

Kết quả cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* ở ruột là 100%, phôi là 92,86%, kết quả ở lách, tủy xương giống nhau chiếm 85,71% và ở gan chiếm 71,43%, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê, có thể là do vịt bệnh ở thể nhiễm trùng huyết, vi khuẩn vào máu đi khắp các cơ quan trong cơ thể dẫn đến có sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* trong phủ tạng. Vi khuẩn *E. coli* có sẵn trong ruột của động vật khỏe nên luôn luôn có sự hiện diện của vi khuẩn trong phân và có thể dựa bệnh tích có thể dễ dàng phân lập vi khuẩn trong phủ tạng của vịt bệnh.

#### 2.2.7. Kết quả kháng sinh đồ của vi khuẩn *E. coli* phân lập từ vịt bệnh

Kết quả cho thấy vi khuẩn *E. coli* đề kháng cao với Tetracyclin (85,71%) và Norfloxacin (64,29%); đồng thời nhạy cảm cao với Colistin (100%), Amikacin (100%), Fosfomycin (78,57%); nhạy tương đối với

Cefuroxim (57,15%). Kết quả kháng và nhạy đạt mức độ rất cao là do sự hạn chế về số lượng mẫu ( $n=14$ ) dẫn đến kết quả có phần hạn hẹp so với những nghiên cứu trước đó. Theo nghiên cứu của Trần Thị Quân (2015) đã nghiên cứu tình hình nhiễm *E. coli* trên đàn vịt huyện Trà Cú tỉnh Trà Vinh với 70 mẫu được phân lập 45 mẫu nhiễm chiếm 64,28%, kết quả kiểm tra kháng sinh đồ của 14 vi khuẩn *E. coli* phân lập nhạy cảm cao với Amikacin (100%), Fosfomycin (85,71%), nhạy cảm trung bình với Colistin (78,6%) và Doxycylin (78,6%). Kết quả nghiên cứu của Lê Văn Đông (2011), thực hiện nghiên cứu tình hình nhiễm *E. coli* trên đàn vịt chạy đồng tại 4 huyện Châu Thành, Trà Cú, Cầu Kè, Tiểu Cần thuộc tỉnh Trà Vinh phân lập 366 mẫu, dương tính là 232 mẫu chiếm tỉ lệ 63,39%, kết quả kháng sinh đồ cho thấy vi khuẩn nhạy cảm cao với Amikacin (97,92%), Colistin (91,67%), nhạy cảm tương đối với Fosfomycin (85,42%), Ampicillin+Sulbactam (83,33%), Amoxicillin+Clavulanic Acid (72,92%), Cefotaxim (66,67%), Marbofloxacin (66,67%). Đề kháng cao với Doxycylin (68,75%), Thiamphenicol (60,42%). Tuy nhiên, kết quả trên cũng phần nào cho thấy mức độ kháng và nhạy của một số loại kháng sinh mà chúng ta có thể tham khảo để sử dụng trong phòng và trị bệnh.

### 3. Kết luận

Qua kết quả điều tra tỷ lệ nghi nhiễm bệnh do *E. coli* là 2,37%. Phân lập tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên vịt bệnh là 87,14%, phân lập *E. coli* trên ruột chiếm tỷ lệ 100%, trên lách, tủy xương chiếm tỷ lệ tương nhau là 85,71%. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy vi khuẩn đề kháng cao với Tetracycline (85,71%) và Norfloxacin (64,29%); đồng thời nhạy cảm cao với Colistin (100%), Amikacin (100%), Fosfomycin (78,57%); nhạy cảm tương đối với Cefuroxim (42,85%). Có thể dùng các loại kháng sinh Colistin, Amikacin, Fosfomycin để phòng và trị bệnh cho vịt. Cần thực hiện tiêm phòng vaccine cho vịt và làm kháng sinh đồ để lựa chọn thuốc điều trị có hiệu quả.

#### Tài liệu tham khảo

1. Huỳnh Kim Diệu (2012). *Giáo trình Dược lý thú y*. NXB Cần Thơ, tr. 135-142. Cần Thơ
2. Nguyễn Vĩnh Phước (1997). *Giáo trình Vi sinh vật học Thú y*. Trường Đại học Cần Thơ, tr. 135-141. Cần Thơ
3. Nguyễn Thanh Bảo (2004). *Vi khuẩn học. Bộ môn Vi sinh*, Trường ĐH Y-Dược TPHCM, tr. 139-159. TP Hồ Chí Minh
4. Lê Hồng Mận, Phương Song Liên (1999). *Bệnh gia cầm và biện pháp phòng trị*. NXB Nông nghiệp tr. 74-78. Hà Nội