

TRƯỜNG ĐẠI HỌC TRÀ VINH
KHOA NÔNG NGHIỆP – THỦY SẢN



BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP TRƯỜNG

TÊN ĐỀ TÀI

NGHIÊN CỨU TÌNH HÌNH NHIỄM VÀ SỰ
NHẠY CẢM KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *E. coli* GÂY
BỆNH TRÊN ĐÀN VỊT CHẠY ĐỒNG TẠI TỈNH TRÀ VINH

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI: LÊ VĂN ĐÔNG
ĐƠN VỊ: CHI NHÁNH DUYÊN HẢI

Trà Vinh, ngày tháng năm 2011

TRƯỜNG ĐẠI HỌC TRÀ VINH
KHOA NÔNG NGHIỆP – THỦY SẢN



BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP TRƯỜNG

TÊN ĐỀ TÀI

NGHIÊN CỨU TÌNH HÌNH NHIỄM VÀ SỰ
NHẠY CẢM KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *E. coli* GÂY
BỆNH TRÊN ĐÀN VỊT CHẠY ĐỒNG TẠI TỈNH TRÀ VINH

Xác nhận của cơ quan chủ trì

(ký tên và đóng dấu)

Chủ nhiệm đề tài

(ký và ghi rõ họ tên)

LÊ VĂN ĐÔNG

Trà Vinh, ngày tháng năm 2011

LỜI CẢM TẠ

Trước tiên tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám Hiệu Trường Đại học Trà Vinh đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi nghiên cứu khoa học.

- Xin chân thành cảm ơn quý Thầy, Cô Khoa Nông nghiệp – Thủy sản, Phòng Nghiên cứu Khoa học, Phòng Kế hoạch – Tài vụ và các phòng, ban có liên quan, đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình thực hiện đề tài.

- Xin cảm ơn quý Thầy, Cô Khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại Học Cần Thơ, quý Thầy, Cô Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh đã tận tình giảng dạy và truyền đạt những kiến thức từ căn bản đến nâng cao.

- Xin chân thành cảm ơn TS. Nguyễn Đức Hiền, Tổng Giám đốc Công ty Vemedim – Chi cục trưởng Chi cục Thú y Tp. Cần Thơ, chú Nguyễn Ngọc Phú Vinh, cô Nguyễn Thị Ánh Tuyết, các anh, chị Phòng Nghiên cứu vi sinh và toàn thể các anh, chị ở Công ty Vemedim đã tận tình giúp đỡ, tạo điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành quá trình phân tích mẫu tại phòng thí nghiệm.

- Xin cảm ơn các anh, chị ở Cục Thống kê, Chi cục Thú y và các anh, chị phóng viên, đài truyền thanh huyện Trà Cú, đài truyền hình tỉnh Trà Vinh đã đưa tin.

- Xin cảm ơn các anh, chị ở các trạm Thú y, Phòng Nông nghiệp, Phòng Thống kê, Trung tâm khuyến nông các huyện Châu Thành, Trà Cú, Tiểu Cần, Cầu Kè, các anh chị Thú y viên cùng toàn thể các đồng chí là lãnh đạo các xã, đã nhiệt tình giúp đỡ tạo điều kiện cho chúng tôi tiếp xúc trực tiếp với người chăn nuôi và đặc biệt là những nơi đang xảy ra dịch bệnh trên đàn vịt chạy đồng, nhằm kịp thời lấy mẫu đạt tiêu chuẩn; đồng thời cũng chữa trị được rất nhiều đàn vịt khỏi bệnh.

- Đặc biệt hơn tôi xin cảm ơn và biểu dương tinh thần sẵn sàng hợp tác của quý bà con nông dân trong quá trình cung cấp thông tin cũng như công hiến những con vịt có cả vịt bệnh và vịt khỏe mạnh để giải phẫu lấy mẫu xét nghiệm.

- Đồng thời cũng xin cảm ơn các bạn đồng nghiệp Trường Đại học Trà Vinh, các em sinh viên Trường Đại học Trà Vinh và Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh đã nhiệt tình hỗ trợ tôi trong quá trình điều tra hồi cứu.

- Xin tri ân đến công lao nuôi dưỡng của cha mẹ, vợ và anh chị em. Cùng toàn thể các bạn đồng nghiệp đã giúp đỡ, động viên trong quá trình thực hiện đề tài.

- Cuối cùng xin chân thành cảm ơn đến tất cả quý Thầy, Cô các đồng chí đồng nghiệp các bạn sinh viên đã giúp đỡ tôi hoàn thành đề tài Nghiên cứu khoa học này.

Xin chân thành cảm ơn !

TÓM LƯỢC

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 4 năm 2010 đến tháng 4 năm 2011 trên 04 huyện: Châu Thành, Trà Cú, Tiểu Cần, Cầu Kè, thuộc tỉnh Trà Vinh. Mục đích xác định tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh. Định nhóm vi khuẩn gây bệnh và thử kháng sinh đồ trên vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh. Đồng thời đề xuất quy trình phòng và trị bệnh do nhiễm vi khuẩn *E. coli* có thể áp dụng trong chăn nuôi vịt chạy đồng một cách hiệu quả.

Kết quả điều tra cho thấy tổng đàn vịt của tỉnh Trà Vinh đã phát triển rất nhanh từ 1.797.492 con (2007) lên 2.606.530 con (2010). Trong đó đàn vịt chạy đồng chiếm hơn 50% và cao nhất là ở thời điểm tháng 10 năm 2010 (Nguồn Cục Thống kê tỉnh Trà Vinh 2010). Theo kết quả điều tra hồi cứu tình hình dịch bệnh trên đàn vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh (từ 2007 – 2010) cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* chiếm (60,50%) tỷ lệ cao so với các bệnh khác, tỷ lệ bệnh thấp nhất là bệnh phó thương hàn (9,98%) và sự khác biệt rất có ý nghĩa với ($P = 0.001$),

Kết quả phân lập trên 366 mẫu, dương tính với vi khuẩn *E. coli* là 232 mẫu, chiếm tỷ lệ (63,39%). Trong đó: huyện Cầu Kè có tỷ lệ nhiễm cao nhất (74,1 %) và huyện Châu Thành có tỷ lệ nhiễm thấp nhất: (53,1%. Trong đó: vịt khỏe có tỷ lệ nhiễm thấp hơn vịt bệnh (53,3% so với 71.9%) và vịt con có tỷ lệ nhiễm thấp hơn ở vịt thịt và vịt đẻ (47,1% so với 67,3% và 87,7%).

Kết quả định nhóm kháng nguyên với vi khuẩn *E. coli* cho thấy tỷ lệ ngưng kết giữa 4 nhóm với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt chạy đồng ở các huyện khảo sát được tập trung cao nhất ở nhóm II (O186 + O119 + O127) chiếm tỷ lệ 39,89%, kế tiếp là nhóm III (O125 + O126 + O128) chiếm tỷ lệ 39,34%, nhóm I (O1111 + O55 + O26) chiếm tỷ lệ 13,11%, và thấp nhất nhóm IV (O114 + O124 + O142) chiếm tỷ lệ 7,65%..

Qua kết quả kháng sinh đồ cho thấy vi khuẩn nhạy cảm mạnh với Amikacin (97,92%), Colistin (91,67%), nhạy cảm tương đối với Fosformycin (85,42%), Ampicillin+Sulbactam (83,33%), Amoxicillin+Clavulanic acid (72,92%), Cefotaxime (66,67%), Marbofloxacin (66,67%). Đồng thời vi khuẩn đề kháng mạnh với Doxycycline (68,75%), Spectinomycin (66,67%), Thiamphenicol (60,42%). Kết quả kháng sinh đồ trên có ý nghĩa rất quan trọng cho công tác đề xuất quy trình phòng trị bệnh trên đàn vịt đạt hiệu quả cao hơn.

ABSTRACT

This study was carried out from April, 2010 to April, 2011 in four districts: Chau Thanh, Tra Cu, Tieu Can and Cau Ke in Tra Vinh province in order to determine the percentage of duck infected by E. coli to set groups of the bacteria that caused defection and have some that are in affectation of the bacteria E. coli on the duck species eating on the rice fields in Travinh. At the same time, the researcher suggested farmers some methods that prevent and treat because of infecting the E. coli bacteria. It can be applied on raising ducks eating on the fields effectively.

The result of study has shown that the total of ducks in Tra vinh have been developed very quickly from 1.797.492 ducks (2007) to 2.606.530 ducks (2010). In which the ducks eating on the field were 50 percent and the hottest was the time of October 2010 (from the statistics office in Travinh, 2010). According to the result of investigation about the state of sickness of ducks on the field in Travinh province (from 2007 – 2010), the number of ducks infected E. coli was (60,50%) percent comparing to the other diseases, the least ratio is Salmonella (9,98%) percent and the different thing is very meaningful in statistics with (P = 0.001)

The result of establishment positive E. coli bacteria was 232 samples in 366 ones taken 63,39%. In which, the highest of infection was in Cau Ke 74,1% and Chau Thanh was the lowest 53,1%. Heathy ducks infected lower than ill ducks (53,3% in 71.9%) and baby duck infected lower than both of them (47,1%, in 67,3%, and 87,7%).

The result of E. coli setting groups showed that the ratio of the condense among four E. coli groups caused illness in ducks on the field in the survey districts concentrated in group number two most (O186; O119; O127); 39,89%, then group number three (O125; O126; O128); 39,34%, group I (O1111; O55; O26); 13,11%, and the lowest was the fourth group (O114; O124; O142); 7,65%.

The result of antibiotics sensitivity tests showed that E. coli isolates susceptible to Amikacin (97,92%), Colistin (91,67%), intermediate in Florfenicol (85,42%), Ampicillin+Sulbactam (83,33%), Amoxicillin+Clavulanic acid (72,92%), Cefotaxime (66,67%), Marbofloxacin (66,67%). And especially, it strongly resists to Doxycycline (68,75%), Spectinomycin (66,67%), and Thiamphenicol (60,42%). This means the most important thing in the choosing of antibiotics to treat illness successfully.

Key words: *duck on the field, healthy duck, ill duck, E. coli bacteria, antibiotics sensitivity tests*

MỤC LỤC

	Trang
Lời cảm tạ	i
Tóm lược	ii
Abstract	iii
Mục lục	iv
Danh sách bảng	vii
Danh sách hình	Viii
Danh sách biểu đồ	Ix
Danh sách chữ viết tắt	x
CHƯƠNG 1 ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 2 LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU	3
2.1 Vị trí địa lý tỉnh Trà Vinh	3
2.2 Tình hình chăn nuôi vịt tại tỉnh Trà Vinh	4
2.3 Tổng quan về tình hình nghiên cứu trong, ngoài nước và tác nhân gây bệnh của vi khuẩn <i>E. coli</i> trên vịt	5
2.3.1 Lịch sử vi khuẩn <i>E. coli</i>	5
2.3.2 Căn bệnh học của <i>E. coli</i>	6
2.3.3 Hình thái học	6
2.3.4 Đặc tính nuôi cấy	7
2.3.5 Đặc tính sinh hóa của vi khuẩn <i>E. coli</i>	7
2.3.6 Sức đề kháng	8
2.3.7 Cấu trúc kháng nguyên	9
2.3.8 Yếu tố độc lực	11
2.3.9 Khả năng miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn <i>E. coli</i>	12
2.3.10 Khả năng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn <i>E. coli</i>	12
2.4 Tình hình nghiên cứu vi khuẩn <i>E. coli</i> trong nước, ngoài nước	13
2.4.1 Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam về vi khuẩn <i>E. coli</i>	13
2.4.2 Tình hình nghiên cứu trên thế giới về vi khuẩn <i>E. coli</i>	15
2.5 Những dạng nhiễm khuẩn <i>E. coli</i> ở gia cầm	17
2.5.1 Viêm rốn	17
2.5.2 Viêm tế bào	18
2.5.3 Hội chứng sung đầu	21
2.5.4 Bệnh tiêu chảy	21
2.5.5 Bệnh <i>E. coli</i> giao phối	21
2.5.6 Bệnh viêm vòi trứng viêm màng bụng	21
2.5.7 Nhiễm trùng huyết	18
Thở toàn thân	21

	Thở hô hấp	18
	Thở viêm ruột	19
	Thở gia cầm mới nở	19
2.6	Chẩn đoán bệnh do vi khuẩn <i>E. coli</i> trên vịt	19
2.6.1	<i>Chẩn đoán lâm sàng</i>	22
2.6.2	<i>Chẩn đoán phân biệt</i>	19
	<i>Bệnh trúng độc do thức ăn</i>	22
	<i>Bệnh Thương hàn</i>	19
2.6.3	<i>Chẩn đoán xét nghiệm</i>	20
2.6.4	<i>Phòng ngừa, kiểm soát bệnh và điều trị</i>	20
2.6.5	<i>Điều trị</i>	20
CHƯƠNG 3	NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
3.1	Nội dung nghiên cứu	21
3.2	Vật liệu và phương tiện thí nghiệm	21
3.2.1	<i>Đối tượng khảo sát</i>	21
3.2.2	<i>Địa điểm và thời gian thực hiện</i>	21
3.2.3	<i>Trang thiết bị dụng cụ hoá chất</i>	22
	Phương pháp nghiên cứu	22
3.3	Tình hình tổng quát về nhiễm <i>E. coli</i> trên vịt	22
	<i>Mục đích điều tra</i>	22
	<i>Phương pháp điều tra</i>	22
	<i>Địa điểm tiến hành điều tra</i>	23
	<i>Phương tiện điều tra</i>	23
	<i>Số phiếu điều tra</i>	23
3.3.2	<i>Nuôi cấy phân lập vi khuẩn <i>E. coli</i></i>	23
	<i>Công thức lấy mẫu</i>	23
	<i>Phương pháp lấy mẫu và bảo quản</i>	24
	<i>Phương pháp nuôi cấy - phân lập</i>	25
3.3.3	<i>Định nhóm, (xác định nhóm vi khuẩn <i>E. coli</i> gây bệnh trên vịt chạy đồng)</i>	29
3.3.4	<i>Kiểm tra tính nhạy cảm của khuẩn <i>E. coli</i> đối với một số loại kháng sinh</i>	30
3.3.5	<i>Đề xuất quy trình phòng trị</i>	31
3.4	Phương pháp xử lý số liệu	31
CHƯƠNG 4	KẾT QUẢ THẢO LUẬN	32
4.1	Tình hình nhiễm vi khuẩn <i>E. coli</i> trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh qua số liệu điều tra	32

4.2	Một số đặc điểm dịch tễ về bệnh <i>E. coli</i> trên vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh	33
4.2.1	<i>Tình hình nhiễm <i>E. coli</i> theo lứa tuổi vịt</i>	33
4.2.2	<i>Tình hình nhiễm <i>E. coli</i> theo mùa</i>	35
4.3	Kết quả phân lập định danh vi khuẩn <i>E. coli</i> trên vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh	36
4.3.1	<i>Tình hình nhiễm <i>E. coli</i> trên vịt theo địa bàn lấy mẫu qua kết quả phân lập vi khuẩn</i>	36
4.3.2	<i>Tình hình nhiễm <i>E. coli</i> trên vịt theo lứa tuổi qua kết quả phân lập vi khuẩn</i>	38
4.3.3	<i>Tình hình nhiễm <i>E. coli</i> ở vịt bệnh và vịt khỏe theo kết quả xét nghiệm</i>	39
4.4	Kết quả định serotype <i>E. coli</i> đã được phân lập.	40
4.5	Khảo sát mức độ miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn <i>E. coli</i> gây bệnh trên vịt vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh	43
4.6	Xây dựng quy trình phòng trị bệnh	47
4.6.1	<i>Phòng bệnh chung</i>	47
4.6.2	<i>Phòng bệnh bằng Vaccine</i>	47
4.6.3	<i>Phòng bệnh bằng kháng sinh</i>	47
4.6.4	<i>Điều trị</i>	48
CHƯƠNG 5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ		49
5.1	Kết luận	49
5.2	ĐỀ NGHỊ	49
MỘT SỐ HÌNH ẢNH HOẠT ĐỘNG		50
TÀI LIỆU THAM KHẢO		56
PHỤ CHƯƠNG		60
PHỤ LỤC		61
CÁC THÔNG SỐ THỐNG KÊ		67

DANH SÁCH BẢNG

Bảng	Tựa bảng	Trang
1	Tổng đàn vịt tại tỉnh Trà Vinh (từ 2007-2010)	4
2	Đặc tính sinh hóa của vi khuẩn <i>E. coli</i> (Nguyễn Đức Hiền, 2009)	6
3	Tiêu chuẩn sinh hoá của vi khuẩn <i>E. coli</i> (Carter, 1975)	29
4	Tiêu chuẩn đọc kết quả kháng sinh đồ đối với vi khuẩn <i>E. coli</i> . (Trường ĐH Y Dược TP.Hồ Chí Minh, 2001)	31
5	Kết quả điều tra hồi cứu tình hình dịch bệnh trên đàn vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh (từ 2007 - 2010)	32
6	Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn <i>E. coli</i> theo lứa tuổi trên vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh (2007 – 2010)	34
7	Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn <i>E. coli</i> theo mùa trên vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh (2007 – 2010)	35
8	Tỷ lệ dương tính với vi khuẩn <i>E. coli</i> trên vịt theo huyện: (n=366)	36
9	Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn <i>E. coli</i> trên vịt theo lứa tuổi	38
10	Tỷ lệ nhiễm <i>E. coli</i> trên vịt theo tình trạng sức khỏe	39
11	Tỷ lệ ngưng kết giữa 4 nhóm với vi khuẩn <i>E. coli</i> gây bệnh trên vịt theo huyện	40
12	Tỷ lệ ngưng kết giữa các nhóm với vi khuẩn <i>E. coli</i> gây bệnh trên vịt theo lứa tuổi	42
13	Tỷ lệ ngưng kết giữa các nhóm với vi khuẩn <i>E. coli</i> gây bệnh trên vịt khỏe và vịt bệnh	43
14	Tổng hợp kết quả kháng sinh đồ của vi khuẩn <i>E. coli</i> phân lập trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh. (n=48)	44

DANH SÁCH HÌNH

Hình	Tựa hình	Trang
2.1	Bản đồ tỉnh Trà Vinh và các địa phương thực hiện đề tài	3
2.2	Mô hình nuôi vịt chạy đồng theo kiểu truyền thống	4
2.3	Phương thức nuôi ao hồ có kiểm soát	5
2.4	Hình thái vi khuẩn <i>E. coli</i> dưới kính hiển vi điện tử	6
3.1	Đàn vịt chạy đồng ở 3 lứa tuổi lấy mẫu khảo sát	21
3.2	Hình đĩa kháng sinh chuẩn dùng làm kháng sinh đồ	22
3.3	Đàn vịt chọn lấy mẫu (vịt tiêu chảy, vịt bệnh, vịt khỏe)	24
3.4	Mẫu bệnh phẩm trong môi trường ban đầu (Pepton)	26
3.5	Vi khuẩn <i>E. coli</i> trên môi trường EMB và MC	26
3.6	Kết quả sinh hóa <i>E. coli</i>	27
3.7	Định nhóm kháng nguyên Antiserum <i>E. coli</i> , TRIVALENT	29
3.8	Đĩa mẫu kháng sinh đồ (đo đường kính vòng vô khuẩn)	31
5.1-5.6	Một số hình ảnh giải phẫu lấy mẫu	50-51
5.7-5.9	Một số hình ảnh đàn vịt bệnh 21 ngày tuổi	52
5.10-5.12	Một số hình ảnh nội tạng	53
5.13-5.23	Một số hình Ảnh phân lập phòng thí nghiệm	54-55
	Sơ đồ 1: Quy trình nuôi cấy phân lập vi khuẩn <i>E. coli</i>	25

DANH SÁCH BIỂU ĐỒ

Biểu đồ	Tựa biểu đồ	Trang
1	Tỷ lệ phân bố các loại bệnh thường gặp trên vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh	33
2	Tỷ lệ vịt nhiễm <i>E. coli</i> theo lứa tuổi	34
3	Tỷ lệ nhiễm <i>E.coli</i> ở vịt chạy đồng theo mùa trong năm	36
4	Tỷ lệ nhiễm <i>E.coli</i> trên vịt tại các huyện theo mẫu phân lập	37
5	Tỷ lệ nhiễm <i>E.coli</i> mẫu phân lập theo tuổi vịt lấy mẫu xét nghiệm	38
6	Tỷ lệ nhiễm <i>E. coli</i> trên vịt theo tình trạng sức khỏe	39
7	Tỷ lệ nhiễm <i>E. coli</i> trên vịt phân theo các nhóm huyết thanh	41
8	Tỷ lệ nhiễm các nhóm huyết thanh <i>E.coli</i> theo tuổi vịt	42
9	Tỷ lệ nhiễm <i>E. coli</i> theo nhóm huyết thanh ở vịt bệnh và vịt khỏe	43
10	Kết quả kháng sinh đồ của vi khuẩn <i>E. coli</i> trên đàn vịt chạy đồng	45

DANH SÁCH CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Viết đầy đủ
TPHCM	Thành phố Hồ Chí Minh
THT	Tụ huyết trùng
PTH	Phó thương hàn
TTY	Trạm Thú y
CCTY	Chi cục Thú y
MNK	Mẫu ngưng kết
TL	Tỷ lệ %
SL	Số lượng
SM	Số mẫu
SN	Số nhiễm
TSA	Môi trường Trypticase Soy Agar
TSI	Môi trường Triple Sugar Iron Agar
MHA	Môi trường Mueller - Hinton Agar
EMB	Môi trường thạch Eosin Methylene Blue agar
MC	Môi trường thạch (MacConkey)
NA	Môi trường Nutrient Agar
MR-VP	Thuốc thử Methyl Red - Voges
Kovacs	Thuốc thử Kovacs,

CHƯƠNG 1: ĐẶT VẤN ĐỀ

Nền kinh tế phát triển, cùng với hội nhập kinh tế toàn cầu, mức sống của người dân được nâng cao, vai trò của ngành chăn nuôi trở nên quan trọng, nhiệm vụ của công tác chăn nuôi – thú y càng được quan tâm nhiều hơn; bên cạnh việc tăng nhanh về số lượng, phải hết sức chú trọng việc nâng cao chất lượng đàn gia súc, gia cầm.

Trà Vinh là một tỉnh nằm trong khu vực Đồng bằng Sông Cửu Long và có hệ thống sông ngòi khá chằng chịt, diện tích mặt nước, ao hồ, đồng ruộng khá nhiều, rất thuận lợi cho việc phát triển đàn vịt chạy đồng với qui mô lớn. Trong bốn năm qua tổng đàn vịt của tỉnh đã phát triển rất nhanh tính từ năm (2007) tổng đàn có 1.797.492 con đến năm (2010) lên đến 2.606.530 con. Trong đó đàn vịt chạy đồng chiếm hơn 50%, (nguồn Cục thống kê tỉnh Trà Vinh).

Tuy nhiên với tốc độ phát triển của xã hội, có sự tác động của môi trường, dịch bệnh ngày càng gia tăng, ít nhiều cũng làm ảnh hưởng đến sức khỏe nhiều vật nuôi nói chung và đặc biệt là đàn vịt chạy đồng của tỉnh Trà Vinh nói riêng.

Năm 2007 toàn tỉnh có 12 ổ dịch xảy ra trên đàn vịt làm chết hơn 10.000 con và nghi mắc bệnh trên 100.000 con phải tiêu hủy. Trong đó chỉ ghi nhận được một số bệnh như: Cúm, dịch tả, Tụ huyết trùng, Phó thương hàn, còn lại hơn 40.000 con ghi nhận nhiễm những bệnh khác. Năm 2008 toàn tỉnh xảy ra 28 ổ dịch trên đàn vịt làm chết hơn 90.000 con và hơn 60.000 con được ghi nhận do nghi nhiễm một số bệnh khác chưa tìm ra nguyên nhân. Nguồn (Chi cục thú y tỉnh Trà Vinh).

Theo nghiên cứu của Nguyễn Trọng Phước (1997) về tình hình nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên đàn vịt tại tỉnh Long An và các trại tại quận Gò Vấp, quận Thủ Đức thành phố Hồ Chí Minh, tỷ lệ dương tính với vi khuẩn *E. coli* là 74,50%.

Theo nghiên cứu của Nguyễn Xuân Bình *et al*, (2000), về tình hình vịt nhiễm bệnh do vi khuẩn *E. coli* xảy ra tại tỉnh Long An, chiếm tỷ lệ 64,9% và tỷ lệ chết có đàn lên đến 40-50%, gây thiệt hại rất lớn cho người chăn nuôi.

Theo Nguyễn Như Thanh (1997) *E. coli* là loài vi khuẩn luôn hiện diện trong đất, nước, không khí,... Ở môi trường bên ngoài, các chủng *E. coli* độc có thể tồn tại đến 4 tháng.

Theo Nguyễn Đức Hiền, (2009) bệnh nhiễm trùng *E. coli* là bệnh nhiễm khuẩn phổ biến nhất của các loài gia cầm. Vì vậy cho thấy tình hình dịch bệnh chung trên đàn vịt đã hiện diện rõ mầm bệnh do nhiễm vi khuẩn *E. Coli* và chiếm tỷ lệ rất cao.

Xuất phát từ thực tế trên, để đánh giá tình hình nhiễm bệnh do vi khuẩn *E. coli* trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh, chúng tôi thực hiện đề tài

“Nghiên cứu tình hình nhiễm và sự nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn *E. coli*, gây bệnh trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh”

Mục tiêu của đề tài:

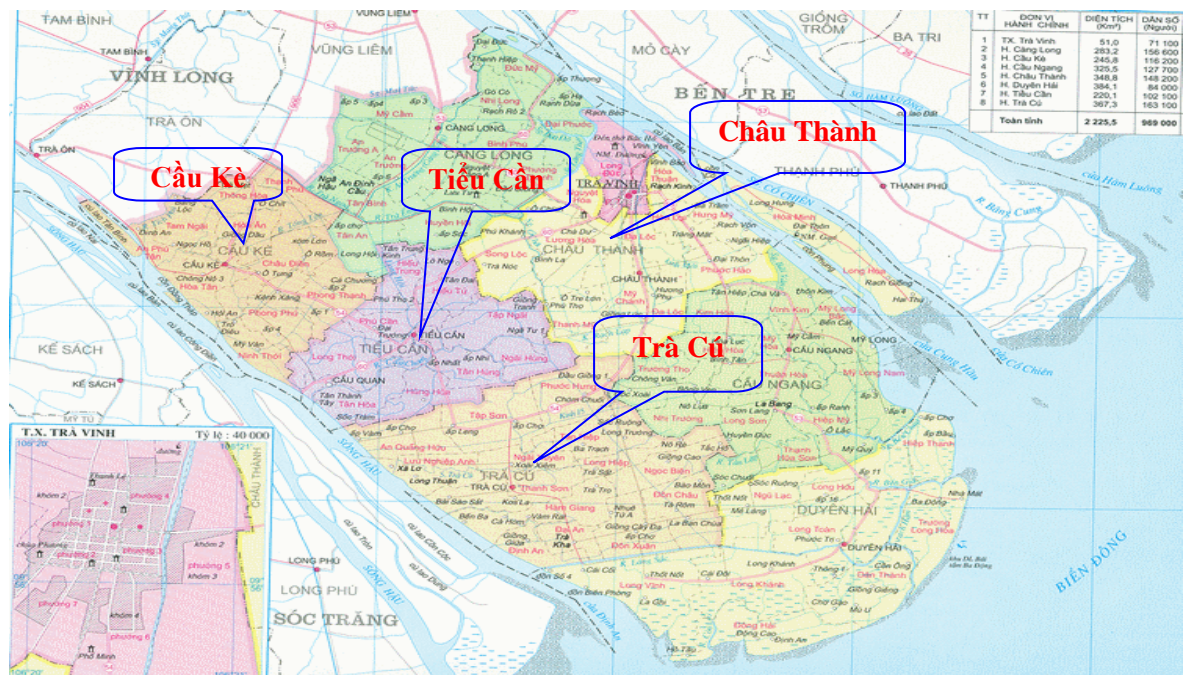
- Xác định tình hình nuôi vịt tại tỉnh Trà Vinh (*tổng đàn, dịch bệnh xảy ra từ năm 2007 - 2010*). Nhằm để xác định vùng lấy mẫu bệnh phẩm xét nghiệm.
- Xác định tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh.
- Định nhóm gây bệnh và tình hình nhạy cảm kháng sinh của Vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh.
- Đề xuất quy trình phòng và trị bệnh do nhiễm vi khuẩn *E. coli* trong nuôi vịt chạy đồng một cách hiệu quả.

CHƯƠNG 2: LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU

2.1 Vị trí địa lý tỉnh Trà Vinh

Trà Vinh là tỉnh Duyên Hải thuộc Đồng bằng sông Cửu Long, diện tích tự nhiên 2.292 km² với dân số khoảng 1,1 triệu người, bao gồm 1 Thành phố trực thuộc tỉnh và 7 huyện, phía Đông giáp Biển Đông, phía Tây giáp Vĩnh Long, phía Nam giáp Sóc Trăng, phía Bắc giáp tỉnh Bến Tre, có 65 km bờ biển. Trà Vinh cách thành phố Hồ Chí Minh gần 200 km đi bằng quốc lộ 53, khoảng cách chỉ còn 130 km nếu đi bằng quốc lộ 60 và cách Thành phố Cần Thơ 95 km. Được bao bọc bởi sông Tiền, sông Hậu với 02 cửa Cung Hầu và Định An nên giao thông đường thủy có điều kiện phát triển. Trà Vinh nằm trong vùng nhiệt đới có khí hậu ôn hòa, nhiệt độ trung bình từ 26 - 27°C, độ ẩm trung bình 80 - 85%/năm, ít bị ảnh hưởng bởi bão, lũ; mùa mưa từ tháng 5 đến tháng 11, mùa khô từ tháng 12 đến tháng 4 (âm lịch) năm sau, lượng mưa trung bình từ 1.400 - 1.600 mm.

Do Trà Vinh có huyện Châu Thành giáp với sông Cổ chiên của tỉnh Bến Tre, huyện Trà Cú, Tiểu Cần, Cầu Kè giáp với Sông Hậu của tỉnh Sóc Trăng, một phần huyện Cầu Kè giáp với tỉnh Vĩnh Long, nên các khu vực này rất dễ xảy ra dịch bệnh khi vận chuyển gia súc gia cầm hoặc giao lưu các hàng hóa, hoặc sử dụng các nguồn nước từ các vùng lân cận...



Hình 2.1: Bản đồ tỉnh Trà Vinh và các địa phương thực hiện đề tài

2.2 Tình hình chăn nuôi vịt tại tỉnh Trà Vinh

Sau khi được phép áp nỏ và nuôi mới trở lại, từ tháng 3 – 2007, nguồn (Bộ Nông nghiệp và phát triển Nông thôn), tình hình chăn nuôi vịt ở tỉnh Trà Vinh đã tăng nhanh về số hộ nuôi cũng như tổng đàn. Tính từ năm 2007 tổng đàn có 1.797.492 con, đến năm 2010 tổng đàn lên đến 2.606.530 con, nguồn (Cục Thống kê tỉnh Trà Vinh) và được nuôi tập trung cao nhất ở các huyện như: Trà Cú, Châu Thành, Tiểu Cần, Cầu Kè, Càng Long, thuộc tỉnh Trà Vinh.

Bảng 1: Tổng đàn vịt tại tỉnh Trà Vinh (từ 2007 - 2010)

Năm	2007	2008	2009	2010
Tổng đàn (Triệu con)	1.797.492	2.026.204	2.113.747	2.606.530

(Nguồn Cục thống kê tỉnh Trà Vinh)



Hình 2.2: Mô hình nuôi vịt chạy đồng theo kiểu truyền thống

Ngoài những phương thức chăn nuôi truyền thống, tại một số địa phương đã xuất hiện phương thức nuôi tập trung trong ao, hồ có kiểm soát do người dân tự đầu tư hoặc có sự hỗ trợ của một số doanh nghiệp. Mô hình này bảo đảm kiểm soát dịch bệnh, hạn chế rủi ro, không lệ thuộc vào mùa vụ. Tuy nhiên, theo người chăn nuôi tính toán thì loại hình chăn nuôi vịt chạy đồng mang lại lợi nhuận cao hơn.



Hình 2.3: Phương thức nuôi tập trung theo ao hồ có kiểm soát

2.3 Tổng quan về lịch sử vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên gia súc gia cầm

2.3.1 Lịch sử vi khuẩn E. coli

Vi khuẩn *E. coli* được mô tả lần đầu tiên vào năm 1885, do một Bác sĩ nhi khoa tên là Theodor Escherich người Đức, được xem là nguyên nhân gây bệnh tiêu chảy ở người và động vật và được tìm thấy từ trong tã lót của trẻ em, sau đó được công bố với tên gọi đầu tiên là *Bacterium coli commune* (Levine, 1987).

Vi khuẩn *E. coli* thường xuất hiện rất sớm ở đường ruột người và động vật sơ sinh (sau khi đẻ 2 giờ). Chúng thường ở phần sau của ruột, ít khi ở dạ dày hay ruột non. Trong nhiều trường hợp còn tìm thấy ở niêm mạc của nhiều bộ phận khác trong cơ thể (Nguyễn Như Thanh và ctv, 1997).

Tính gây bệnh

Hầu hết các loài động vật đều mẫn cảm với bệnh: các loài gia súc, gia cầm, chim muông, loài bò sát, đều có thể nhiễm vi khuẩn *E. coli*. Chúng bị nhiễm bệnh bằng nhiều con đường khác nhau, nhưng chủ yếu là đường tiêu hóa (Đào Trọng Đạt và ctv, 2001).

Vi khuẩn *E. coli* có sẵn trong ruột động vật nhưng chỉ tác động gây bệnh khi sức đề kháng của con vật bị giảm sút (do chăm sóc, nuôi dưỡng, do cảm lạnh hoặc cảm nắng). (Nguyễn Như Thanh và ctv, 1997).

Bệnh do trực khuẩn *E. coli* gây ra có thể xảy ra như một bệnh truyền nhiễm kế phát trên cơ sở thiếu vitamin và mắc các bệnh virus và ký sinh trùng (Nguyễn Như Thanh và ctv, 1997).

Vi khuẩn *E. coli* thường gây bệnh cho súc vật mới đẻ từ 2 – 3 ngày hoặc 4 - 8 ngày (Nguyễn Như Thanh và ctv, 1997).

Người ta thường gọi *Colibacillosis* là một bệnh đường ruột của ngựa, bê, cừu, heo và gia cầm non do *E. coli* gây ra (Nguyễn Như Thanh và ctv, 1997).

Cần biết rằng chủng *E. coli* gây bệnh sau khi duy trì một thời gian trong một cơ sở chăn nuôi sẽ được thay thế bằng một loại *E. coli* gây bệnh khác (Nguyễn Như Thanh và ctv, 1997).

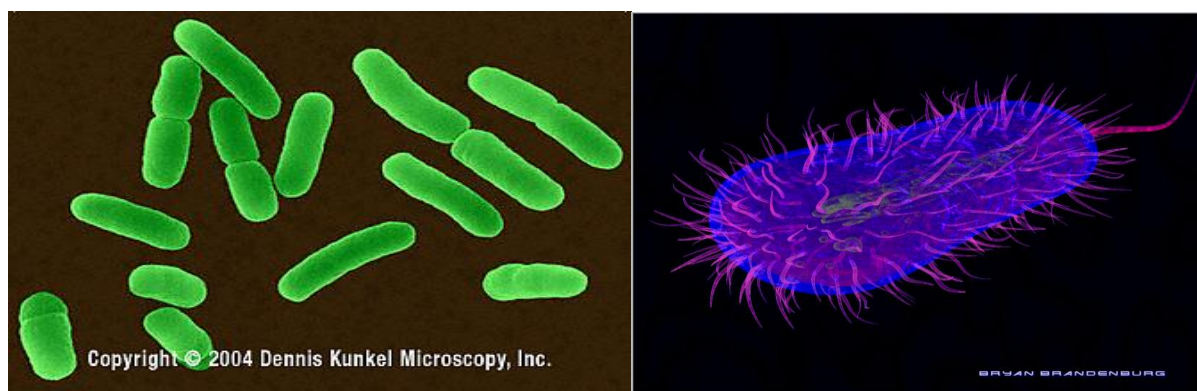
Ở người, đặc biệt là trẻ em dưới một tuổi vi khuẩn có thể gây viêm dạ dày ruột và gây nhiễm độc, viêm túi mật, bàng quang, đường niệu sinh dục và viêm não, đôi khi gây nhiễm trùng huyết trầm trọng (Nguyễn Như Thanh và ctv, 1997).

2.3.2 Căn bệnh học của Vi khuẩn *E. coli*

Vi khuẩn *E. coli* thuộc họ *Enterobacteriaceae*, là vi khuẩn hình que gram âm, không sinh bào tử vi khuẩn có thể tăng trưởng trong môi trường hiếu khí và yếm khí. Vi khuẩn được phân lập từ gia cầm bệnh vào năm (1894) do Lignieres. Vi khuẩn tác động gây bệnh khi gia cầm suy giảm hệ miễn dịch như stress do vận chuyển, thời tiết, suy yếu do mắc các bệnh nhiễm khuẩn khác.

2.3.3 Hình thái học

E. coli là một trực khuẩn hình que ngắn có kích thước 1,1-1,5x2-6 μm (Wolfgang B, 1988). Hầu hết các strain di động và có vành lông rung.



Hình 2.4. Hình thái khuẩn lạc *E. coli* (nguồn từ internet).

Hình thái khuẩn lạc: *E. coli* phát triển trong môi trường dinh dưỡng có nhiệt độ 18 - 44°C. Trên môi trường thạch ủ trong 24 giờ 37°C, khuẩn lạc thấp, lồi, mịn và không có màu sắc, khuẩn lạc màu hồng sáng có viền khi cấy vào môi trường thạch MC

(MacConkey). Có tím ánh kim khi cấy trên môi trường thạch EMB (Cosin-methylen blue agar) và màu vàng trên môi trường thạch terito 1 - 7. Khuẩn lạc thường có đường kính 1 - 3mm có cấu trúc hạt và bờ rìa.

2.3.4 Đặc tính nuôi cấy

E. coli phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Một số chủng có thể phát triển được ở các môi trường tổng hợp đơn giản nên người ta đã chọn chúng làm mẫu để nghiên cứu về sinh vật học.

E. coli là trực khuẩn hiếu khí hoặc yếm khí tùy tiện có thể sinh trưởng ở nhiệt độ từ 5 - 40°C, nhiệt độ thích hợp là 37°C, pH thích hợp là 7,2 - 7,4, có thể phát triển được ở pH từ 5,5 - 8 (Michael *et al.*, 1984).

- Môi trường thạch dinh dưỡng: sau 24 giờ ở 37°C hình thành khuẩn lạc tròn, bóng ướt, không trong suốt màu tro trắng nhạt, hơi lồi, đường kính 1 - 3mm. Thời gian ủ kéo dài thì khuẩn lạc có màu nâu nhạt và mọc lan rộng ra. Chúng ta có thể quan sát thấy cả khuẩn lạc khô nhẵn (dạng R) và dạng trơn, bóng (dạng S) (Barnes *et al.*, 1994).

- Nước thịt: phát triển tốt, môi trường rất đục, có cặn màu tro nhạt, lắng xuống đáy, đôi khi có màng màu xám nhạt trên mặt môi trường, môi trường có mùi phân thối.

- Trong môi trường Mueller Kauffman và môi trường malaschite green *E. coli* không mọc.

- Môi trường Vinson Blai: *E. coli* bị ức chế (Nguyễn Như Thanh *et al.*, 1997).

- Môi trường Endo: *E. coli* có khuẩn lạc màu đỏ ánh kim, bờ tròn đều, đường kính 0,5mm.

- Môi trường EMB: *E. coli* có khuẩn lạc màu tím ánh kim đường kính 0,5mm.

- Môi trường thạch MacConkey: khuẩn lạc *E. coli* tròn, không nhày, có màu đỏ hoặc hồng, có viền mờ của muối mật kết tủa (MacConkey, 1905).

- Môi trường DA (Desoxycholate Agar): *E. coli* có khuẩn lạc có màu, dẹt, tròn và khô đường kính 0,5mm (Lê Đình Hùng, 1997).

2.3.5 Đặc tính sinh hóa của vi khuẩn *E. coli*

Vi khuẩn *E. coli* lên men sinh hơi các loại đường glucose, fructose, levulose, xylose, rammose, mannitol, lactose. Có thể lên men hoặc không lên men các loại đường saccharose, raffinose, xalixin, esculin, duxit, glyxerol. Không lên men dextrin, amidon, glycogen, inosit, α -metylglucosit (Nguyễn Vĩnh Phước, 1977)

Vi khuẩn *E. coli* lên men sinh hơi và acid trong glucose, maltose, mannitol, xylose, glycerol, sorbitol, và arabinose nhưng không trong dextrin, starch, hoặc nositol. *E. coli*

sản sinh indole, phản ứng dương tính methyl red và khử nitrat thành nitrit. Phản ứng Voges Proskauer và oxidase âm tính. Hydrogen sulfide thì không sản sinh trong môi trường Kligler's iron. Vi khuẩn không mọc trong môi trường có sự hiện diện của potassium cyanide, hydrolyze urea (urease âm tính), gelatin lỏng hoặc phát triển trong môi trường citrate.

Kiểm tra sinh hóa có thể dùng phân biệt vi khuẩn *E. coli* từ các loài *Escherichia* và vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae. Vi khuẩn *E. coli* phân lập từ gia cầm có đặc tính sinh hóa tương tự từ các nguồn khác (Nguyễn Đức Hiền, 2009).

Bảng 2. Đặc tính sinh hóa của vi khuẩn *E. coli* (Nguyễn Đức Hiền, 2009)

Test	Kết quả	Test	Kết quả
Catalase	+	Ornithine decarboxylase	Biến đổi
Oxidase	-	Phenylalanine deaminase	-
Nitrate ->Nitrit	+	Glucose	+
Gelatin	-	Lactose	+
Hydrogen sulfide	-	Mannitose	+
Indol	+	Ducitol sucrose	Biến đổi
Methyl red	+	Salicin	Biến đổi
Voges-Proskauer	-	Adonitol	-
Citrate (Simmons)	-	Inositol	-
Urea	-	Lysine decarboxylase	+
KCN medium	-	Succrose	Biến đổi

2.3.6 Sức đề kháng

Vi khuẩn *E. coli* không chịu được nhiệt độ cao. Nhiệt độ tối thiểu là 8 - 15°C, tối ưu trong khoảng 20 - 45°C, tối đa vi khuẩn *E. coli* có thể sống được trong khoảng 40 - 50°C. Ở 60°C *E. coli* chết trong vòng 15 phút và chết ngay ở 100°C. Trong môi trường đất, nước *E. coli* có thể lưu tồn trong vài tháng. Các chất sát trùng như Formol, vôi, NaOH, phenol, acid fenic với nồng độ thường đều tiêu diệt được *E. coli* (Phan Trung Nghĩa, 2002).

Vi khuẩn *E. coli* cũng như những loại vi khuẩn không sinh nha bào khác *E. coli* không chịu được nhiệt độ cao. Nhiệt độ 60 – 70°C, trong 30 giây đến 2 phút bất hoạt một phần vi khuẩn. *E. coli* sống sót trong nhiệt độ lạnh và sự đóng băng, ở 4°C vi khuẩn có thể sống đến 22 tuần. Bị ức chế khi pH < 4,5 và pH > 9. Muối 8,5% sẽ ngăn ngừa sự tăng trưởng nhưng không bất hoạt vi khuẩn. Ở môi trường bên ngoài, các chủng *E. coli* độc có thể tồn tại đến 4 tháng. (Nguyễn Như Thanh, 1997)

2.3.7 Cấu trúc kháng nguyên

Theo Kauffman (1947) người đầu tiên khám phá ra kiểu huyết thanh dựa trên 3 loại kháng nguyên của *E. coli* là: kháng nguyên O (Somatic), kháng nguyên H (Flagellar) và kháng nguyên K (Capsular).

Kháng nguyên O

Kháng nguyên O (kháng nguyên thân, kháng nguyên bề mặt) là kháng nguyên của vách tế bào, cấu tạo bởi polysaccharide. Nó được tìm thấy trên các khuẩn lạc dạng S và chịu được nhiệt độ ở 100°C trong 2 giờ (Woodward và ctv, 1990)

Phần lớn *E. coli* có kháng nguyên K phủ kín kháng nguyên O nên khi còn sống vi khuẩn không gây ngưng kết với kháng nguyên O tương ứng. Mỗi chủng vi khuẩn có một kháng nguyên O riêng, chúng có yếu tố khác nhau ghi bằng số I, II, III, IV (Nguyễn Như Thanh và ctv, 1997). Có trên 170 loại kháng nguyên O đã được biết đến (Bertschinger, 1992).

Kháng nguyên H

Kháng nguyên H (kháng nguyên lông) là kháng nguyên kém chịu nhiệt được cấu tạo bởi protein. Ở 100°C trong 2 giờ 30 phút tính kháng nguyên, khả năng ngưng kết của kháng nguyên đều bị hủy. Các nhóm kháng nguyên O khác nhau của vi khuẩn *E. coli* đều có một loại kháng nguyên H.

Kháng nguyên H có 55 loại đã được xác định (H1 – H56, không có H50)

Kháng nguyên K

Kháng nguyên K (kháng nguyên vỏ, kháng nguyên màng tế bào) được cấu tạo bởi polysaccharide hoặc protein. Loại này chỉ có ở một số ít vi khuẩn đường ruột. Kháng nguyên K được chia làm 3 loại ký hiệu: L, A và B (Woodward và ctv, 1990).

+ Kháng nguyên L không chịu được nhiệt, bị phá hủy khi đun ở 100°C trong vòng 1 giờ kháng nguyên mất khả năng ngưng kết, kết tủa và không giữ được tính kháng nguyên (Đào Trọng Đạt, và ctv, 1999). Kháng nguyên L ngăn không cho hiện tượng ngưng kết O của vi khuẩn sống xảy ra (Nguyễn Như Thanh và ctv, 1997).

+ Kháng nguyên A: chịu được nhiệt tốt, không bị bất hoạt ở 121⁰C trong 2 giờ 30 phút nên vẫn giữ được khả năng ngưng kết và tính kháng nguyên vẫn còn (Woodward và ctv, 1990).

+ Kháng nguyên B: gồm nhiều thành phần B₁, B₂, B₃, B₄ và B₅. Kháng nguyên B cũng ngăn không cho ngưng kết O của vi khuẩn sống xảy ra, đun 100⁰C trong 1 giờ kháng nguyên này bị phá hủy một phần (Nguyễn Như Thanh và ctv, 1997).

Kháng nguyên F (Fimbriae - kháng nguyên pili): ngoài lông ra ở nhiều vi khuẩn gram âm nói chung và vi khuẩn *E. coli* nói riêng còn có những bộ phận khác hình sợi gọi là pili. pili vi khuẩn có bản chất là protein bao phủ trên toàn bộ bề mặt tế bào vi khuẩn. Dưới kính hiển vi điện tử, chúng có hình ảnh giống một chiếc áo lông bao bọc xung quanh vi khuẩn. Pili vi khuẩn đường ruột khác lông ở chỗ nó cứng hơn, không lượn sóng và không liên quan đến chuyển động. Trước đây ký hiệu là K (K88, K99), nay đổi là F như: F4 = K88, F5 = K99, F41,...

- Kháng nguyên F4 (K88): Kháng nguyên F4 có khả năng gây dung huyết hồng cầu, đây là một yếu tố độc lực đối với heo mà không có khả năng gây bệnh đối với các gia súc khác. Kháng nguyên F4 được sản sinh ở nhiệt độ 37⁰C, trong khi ở nhiệt độ phòng (20⁰C) thì vi khuẩn không có khả năng tạo kháng nguyên này. Thông tin di truyền mã hóa cho tổng hợp kháng nguyên nằm ngoài nhiễm sắc thể, trên plasmid (Gyles. G.L, 1992).

- Kháng nguyên F5 (K99): F5 là kháng nguyên bám dính của *E. coli* và gây bệnh ở bê, nghé và cừu. Sự sản sinh của F5 phụ thuộc vào nhiều yếu tố của vi khuẩn như: tốc độ sinh trưởng, pha sinh trưởng, nhiệt độ và alanine trong môi trường, các gen mã hóa cho sự tổng hợp F5 nằm trên ADN của plasmid (Isaacson. R.E, 1983).

- Kháng nguyên F6 (987P): Giống như F4, F5, kháng nguyên F6 thường có mặt ở các nhóm có kháng nguyên O9, O20, O101, O149. Vật liệu di truyền mã hóa quá trình tổng hợp kháng nguyên pili F6 cũng nằm ngoài nhiễm sắc thể, trên plasmid của tế bào vi khuẩn (Orskov *et al.*, 1980).

Các kháng nguyên khuẩn mao liên quan đến bệnh tiêu chảy:

Khuẩn mao (hay Tiêm mao, Nhung mao, Fimbriae) là những sợi lông rất mảnh, rất ngắn mọc quanh bề mặt tế bào nhiều vi khuẩn Gram âm có tác dụng giúp vi khuẩn bám vào giá thể (nhiều vi khuẩn gây bệnh dùng khuẩn mao để bám chặt vào màng nhầy của đường hô hấp, đường tiêu hoá, đường tiết niệu của người và động vật).

Trong đó gồm các dạng: F4 (K88) với các dạng ab, ac, ad; F5 (K99); F6 (987 P); F41; F1413P; F107. Khuẩn mao liên quan đến *E. coli* gây bệnh thủy thủng là F107. (Lê Hồng Hình, 2007; Gross and Rowe, 1985).

Dựa vào cấu tạo kháng nguyên O, *E. coli* được chia làm nhiều nhóm, căn cứ vào cấu tạo kháng nguyên O, K, H của *E. coli* lại chia làm nhiều loại, mỗi loại đều được ghi thứ tự các yếu tố kháng nguyên O, K và H.

Trong 28 loại huyết thanh phổ biến có 8 chủng gây bệnh là O11B4, O86B7, O55B5, O127B8, O26B6 (Mỹ), O128B12 (Anh), 408 và 145. (Nguyễn Như Thanh và cs 1997).

Hiện tại, kháng nguyên của *E. coli* được biết gồm trên 170 loại kháng nguyên O, 72 loại kháng nguyên K, 54 loại kháng nguyên H và 12 loại kháng nguyên F. (Phạm Hồng Sơn, 2005).

2.3.8 Yếu tố độc lực

Độc tố của vi khuẩn *E. coli*:

Độc tố *E. coli* gây bệnh ở gia cầm thì ít độc hơn độc tố của *E. coli* gây bệnh ở loài hữu nhũ. Độc tố được xác định theo loài vi khuẩn gây bệnh.

Enterotoxin: 2 loại là chịu nhiệt (ST: heat stable) và không bền với nhiệt (LT: heat labile), là nguyên nhân gây bệnh tiêu chảy cấp tính.

Verotoxin: gồm VT1, VT2 và VTV2v): độc tố này tương tự như Shiga-toxin của vi khuẩn *Shigella dysenteriae* loại 1 gây xuất huyết tiêu hóa, phổi, thận và tác động đến hệ thần kinh. Necrotoxin: gồm CNF1 CNF2 là độc tố gây hoại tử.

Nhóm độc tố ruột *Enterotoxin* gồm 2 loại:

Độc tố chịu nhiệt (Heat stable Toxin – ST): độc tố này chịu được nhiệt độ 100°C trong vòng 15 phút. Độc tố ST chia làm 2 nhóm ST_a và ST_b dựa trên đặc tính sinh học và khả năng hòa tan trong methanol. ST_a kích thích sản sinh ra GMP mức cao trong tế bào, ngăn trở hệ thống chuyển Na⁺ và Cl⁻, làm giảm khả năng hấp thu chất điện giải và nước trong ruột. ST_a thường thấy ở ETEC gây bệnh trên heo < 2 tuần tuổi và heo lớn hơn. ST_b tìm thấy ở 75% các chủng *E. coli* phân lập từ heo con, 33% phân lập từ heo lớn (Fairbrother và cs, 1992). Cả độc tố ST_a và ST_b đều có vai trò quan trọng trong các trường hợp tiêu chảy do các chủng ETEC gây bệnh trên bê, nghé, dê, cừu, heo con và trẻ sơ sinh.

Độc tố không chịu nhiệt (Heat Labile Toxin – LT): độc tố này bị vô hoạt ở 60°C trong 15 phút. LT cũng có hai nhóm phụ là LT1 và LT2. LT là một trong những yếu tố quan trọng gây tiêu chảy (Fairbrother và cs, 1992). Cả hai loại độc tố đều bền vững ở nhiệt độ âm, có thể đến -20°C.

Yếu tố bám dính:

Có thể là lông nhung hoặc không lông nhung nhưng vai trò của yếu tố lông nhung trong nguyên nhân gây bệnh nhiễm khuẩn *E. coli* ở gia cầm thì không rõ ràng.

2.3.9 Khả năng miễn cảm với kháng sinh của vi khuẩn *E. coli*

Bằng phương pháp khuếch tán trên thạch, tác giả Võ Thị Trà An và cộng sự (2010) cho thấy mức độ miễn cảm của 100 gốc vi khuẩn *E. coli* phân lập từ phân heo giảm dần với các kháng sinh Ceftazidime (93%), Amoxicillin/Clavulanic acid (73%), Norfloxacin (66%), Gentamycin (40%), Chlorphenicol (34%), Kanamycin (33%), Trimethoprim/Sulfamethoxazol (29%), Cephalexin (25%), Ampicilin (21%), Tetracycline (20%) và Colistin (7%), đồng thời cho thấy sự hiện diện của enzyme liên quan đề kháng beta-lactam phổ rộng (ESBL) trong *E. coli* phân lập từ phân heo lần đầu tiên phát hiện tại Việt Nam nhờ phản ứng đĩa hiệp đồng kép.

Võ Thành Thìn (2010) cho biết 184 chủng vi khuẩn *E. coli* được phân lập từ heo con trước và sau cai sữa mắc bệnh tiêu chảy đề kháng cao với nhiều loại kháng sinh thông dụng như Oxacillin, Tetracyclin, Colistin, Streptomycin, Nalidixic acid, Trimethoprim/Sulphamethoxazole. Vi khuẩn miễn cảm mạnh với Imipeneme, Cefepime, Amikacin, Amoxicillin/Clavulanic, Polymycin B, Florphenicol, Ceftazidime và Ceftriaxon.

2.3.10 Khả năng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli*

Để điều trị bệnh do viêm nhiễm, người ta thường sử dụng nhiều loại kháng sinh. Kháng sinh còn được sử dụng trộn vào thức ăn nhằm phòng bệnh và kích thích tăng trọng. Vì vậy, khả năng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* ngày một tăng, làm giảm hiệu quả trong điều trị.

Nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Nhiên và ctv, (2000) cho thấy hầu hết các chủng *E. coli* phân lập được từ gia súc tiêu chảy có khả năng kháng lại với nhiều loại kháng sinh như: Chloramphenicol, Sulphadimethoxine hoặc Tetracycline,...

Trong thực tế lâm sàng, qua thống kê của nhiều nước, hiện tượng kháng thuốc tăng lên rất nhanh. Có loại thuốc mới ra đời không bao lâu đã bị vi khuẩn kháng lại. Điều này tất nhiên phải có những quá trình hình thành, truyền lan khả năng kháng thuốc theo những phương thức khác nữa. Đó là sự “kháng thuốc lan truyền”. Trong thú y trước hết phải kể đến là vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella type himurium* có vai trò nguy hiểm lớn, chúng kết giao với nhau, ngay cả trong môi trường nuôi cấy ở phòng thí nghiệm hay đường tiêu hóa của gia súc gia cầm. Cầu nguyên sinh chất được hình thành, nối hai vi khuẩn với nhau. Thông qua cầu này, các yếu tố kháng thuốc từ vi khuẩn đã có khả năng kháng thuốc truyền sang cho vi khuẩn chưa có. Sự hình thành nên cầu nối nguyên sinh này xảy ra rất nhanh, thậm chí sau mấy phút đã hoàn thành (Phạm Khắc Hiếu *et al*, 1997). Trong quá trình làm thí nghiệm, tìm hiểu bản chất của sự lan truyền tính kháng thuốc giữa các dòng vi khuẩn đều thấy rằng *E. coli* có khả năng cho và nhận sức kháng cao hơn *Salmonella*. Điều này cũng phù hợp với thực tế, khả năng kháng kháng sinh, đặc biệt là hiện tượng đa kháng cũng như sự lan truyền

tính kháng *E. coli* cao hơn *Salmonella* rất nhiều. (Smith và ctv) đã kết luận rằng: “Các chủng *E. coli* là nguồn cung cấp chủ yếu về tính kháng kháng sinh lan truyền trong các chủng vi khuẩn có ở đường tiêu hóa của người và gia súc, gia cầm” (Bùi Thị Tho, 2003).

2.4 Tình hình nghiên cứu vi khuẩn *E. coli* trong nước, ngoài nước

2.4.1 Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam về vi khuẩn *E. coli*

Theo Nguyễn Đức Hiền, (2009). Vi khuẩn *E. coli* phân bố rộng khắp trên thế giới, hầu hết các loài động vật đều có nhiều loại, *E. coli* thường trú trong ống tiêu hóa. Ở ống tiêu hóa gia cầm, mật độ *E. coli* có thể đến 10^6 /g. Lây nhiễm *E. coli* từ trứng thì phổ biến và là nguyên nhân gây tỷ lệ chết cao. Mầm bệnh *Coliform* thì thường xuyên ở đường ruột gà, vịt mới nở nhiều hơn là trong trứng ấp. Vi khuẩn *Coliform* có thể tìm thấy trong chất độn chuồng và phân. Bụi ở chuồng gia cầm có thể chứa $10^5 - 10^6$ *E. coli*/g. Vi khuẩn tồn tại trong một thời gian dài. Trong điều kiện bụi ướt, vi khuẩn vẫn tồn tại 84 - 97% trong 7 ngày. (*Coliform* là các vi khuẩn hình que gram âm có khả năng lên men lactose để sinh hơi ở nhiệt độ $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$, *coliform* có khả năng sống ngoài đường ruột của động vật (tự nhiên), Nhóm vi khuẩn *coliform* chủ yếu bao gồm các giống như *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* và *Fecal coliforms* (*Coli form* xuất phát từ phân, ví dụ *E.coli*)

Theo Nguyễn Xuân Bình *et al*, (2000) về “tình hình vịt nhiễm bệnh do vi khuẩn *E. coli* và sự nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* trên đàn vịt tại tỉnh Long An” chiếm tỷ lệ 64,9% và tỷ lệ chết có đàn lên đến 40 - 50%, gây thiệt hại rất lớn cho người chăn nuôi. Qua Thử kháng sinh đồ cho thấy nhạy cảm với *E. coli* (75 - 90 %) có các loại kháng sinh như: Norfloxacin, Nitrofuratoin và Flumequin.

Theo Nguyễn Trọng Phước (1997) “Nghiên cứu tình hình nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên đàn vịt tại tỉnh Long An và các trại tại quận Gò Vấp; Thủ Đức thành phố Hồ Chí Minh, tổng số mẫu được phân lập là 249 mẫu dương tính 149 mẫu chiếm tỷ lệ 74,50%. Kháng sinh đồ cho thấy vi khuẩn mẫn cảm với kháng sinh Gentamycin, Nitrofuration... Norfloxacin và đề kháng mạnh với sulfamide, Erythromycine, Trymethoprim, Penicilline, Lincomycin, Vancomycin.

Theo Nguyễn Vĩnh Phước (1998) đã chứng minh vai trò của vi khuẩn *E. coli* thuộc các serotype O8, O138, O141, O145, O147 và O149. Bệnh phù thũng (Edema disease) là bệnh nhiễm độc huyết, gây ra do sự hấp thu từ ruột độc tố của một số chủng vi khuẩn *E. coli* gây ra. Bệnh được Shanks mô tả lần đầu tiên vào năm 1938 ở Ireland. Sau đó, bệnh xảy ra phổ biến ở Châu Âu vào những năm đầu sau thế chiến lần thứ 2, nhất là ở những quốc gia có nền chăn nuôi heo công nghiệp phát triển (Timoney, 1950). Schofield và David (1955) và Gregory (1955) phát hiện có vi khuẩn *E. coli*

dung huyết trong ruột heo chết vì bệnh phù thủng và xác định được một số loại huyết thanh. (Nguyễn Vĩnh Phước, 1974).

Vi khuẩn *E. coli* thuộc họ Enterobacteriaceae, họ vi khuẩn thường trực ở ruột, chiếm đến 80% các vi khuẩn hiếu khí, vừa là vi khuẩn cộng sinh thường trực đường tiêu hóa, vừa là vi khuẩn gây nhiều bệnh ở đường ruột và các cơ quan khác (Lê Văn Tạo, 1997).

Trong điều kiện bình thường, vi khuẩn *E. coli* lưu trú trường xuyên ở phần sau của ruột, ít khi có ở dạ dày hay đoạn đầu của ruột non. Khi gặp điều kiện thuận lợi chúng phát triển nhanh số lượng, độc lực, gây loạn khuẩn, bội nhiễm đường tiêu hóa và trở thành nguyên nhân gây tiêu chảy (Nguyễn Vĩnh Phước, 1974).

Nguyễn Ngọc Hải *et al.*, (2001) nghiên cứu trong 31 gốc *E. coli* thuộc các nhóm kháng nguyên O138, O139, O141 đã được nghiên cứu bằng kỹ thuật PCR với các đoạn mồi của các yếu tố VT2e, F18, K88, LTA, ST-Ib. 13/31 gốc dương tính với đoạn mồi VT2e, 14/31 dương tính với F18, 3/31 dương tính với K88, 6/31 dương tính với ST-Ib và 5/31 dương tính với LTA. 13/13 gốc cho kết quả dương tính cùng lúc với đoạn mồi VT2e và F18, (12/13 gốc thuộc nhóm kháng nguyên O139, 1/13 thuộc nhóm kháng nguyên O141), trong số này có 1/13 gốc cho kết quả dương tính với các đoạn mồi. Các gốc có kết quả dương tính với F18, ST-Ib, LTA hầu hết đều âm tính với VT2e và F18.

Nguyễn Thị Kim Lan (2003) nghiên cứu từ 9/2001 – 8/2002 ở các đàn heo con từ sơ sinh đến 60 ngày tuổi nuôi ở các hộ chăn nuôi ở tỉnh Thái Nguyên cho thấy hầu hết heo bị bệnh đều thể hiện triệu chứng phù mí mắt, mõm, trán (94,57%), tiếp theo là triệu chứng thần kinh thể hiện từ mức độ nhẹ (đi lảo đảo, xiêu vẹo) đến mức độ nặng (liệt 2 chân trước hoặc 4 chân) biến động từ 13,93 - 47,21%. Tiếng kêu thay đổi (khan khan) cũng là một biểu hiện lâm sàng thấy ở heo bệnh (39,88%). Triệu chứng tiêu chảy chiếm tỷ lệ thấp (6,3%). Mô khám 126 heo bị phù đầu có 98,41% thủy thủng vùng mõm, trán, mí mắt; 100% ruột căng phồng chứa đầy dịch và hơi; 99,2% có bệnh tích ở hạch ruột và thủy thủng; 96,82% niêm mạc dạ dày sưng, thủy thủng và phủ dịch nhầy. Các bệnh tích khác biến động từ 15,08% đến trên 90%.

Bùi Trung Trực *et al.*, (2003) nghiên cứu trong 245 mẫu phân heo nái và heo con tại Tiền Giang cho thấy là trong mẫu phân bình thường, số lượng *E. coli* tăng dần từ heo con theo mẹ, heo cai sữa đến heo nái. Trong mẫu phân tiêu chảy, số lượng vi khuẩn cao gấp nhiều lần so với mẫu phân bình thường và phân sau điều trị. Các loại kháng nguyên O139:K82, O138:K81, O64:K142 và O8:K105 hiện diện nhiều nhất ở các mẫu *E. coli* phân lập từ đàn heo của tỉnh Tiền Giang. Các loại kháng nguyên đều gây chết 100% chuột 12 - 24 giờ sau khi tiêm 0,2ml canh khuẩn vào phúc mạc. Qua kết quả kháng sinh đồ, vi khuẩn *E. coli* còn nhạy cảm với Norfloxacin và Colistin.

Trịnh Quang Tuyên (2004) nghiên cứu 325 mẫu phân heo con từ sơ sinh đến 35 ngày tuổi bị tiêu chảy nuôi tại trại heo Tam Điệp (Ninh Bình) được kiểm tra có 259/325 phân lập được *E. coli* chiếm 79,69%, trong đó *E. coli* sinh độc tố ruột (ETEC) chiếm 26,3%. Các chủng phân lập được đều mang các đặc tính sinh hóa điển hình của *E. coli*. Các chủng *E. coli* phân lập được thuộc các nhóm O149, O8 và O64, sản sinh ra các độc tố ruột LT (16,18%), STa (33,82%) và STb (47,06%). Xác định các yếu tố bám dính gồm K88 (44,12%) và K99 (16,88%).

Đỗ Ngọc Thúy (2005) nghiên cứu ứng dụng phản ứng PCR để khảo sát các gen quy định các yếu tố gây bệnh có mang trong 170 chủng phân lập được có 126 chủng có nguồn gốc từ các trại chăn nuôi tập trung thuộc về 7 nhóm tổ hợp các yếu tố gây bệnh và serotype, so với 5 tổ hợp của 44 chủng phân lập được từ các cơ sở chăn nuôi gia đình. Các chủng có mang tổ hợp các yếu tố gây bệnh F4/STa/STb/LT và thuộc serotype kháng nguyên O149:k91 là phổ biến nhất ở cả hai khu vực chăn nuôi. Điều đáng chú ý là sự có mặt của một nhóm chủng *E. coli* (5F/STa/STb/LT, serotype O8) và chỉ phân lập được tại các cơ sở chăn nuôi tập trung mà không phân lập được từ các hộ chăn nuôi gia đình.

Võ Văn Thìn *et al.*, (2009) nghiên cứu sử dụng phương pháp PCR – RFLP để xác định kháng nguyên F4, F18 và các biến thể của chúng ở 148 chủng *E. coli* phân lập từ heo con mắc bệnh tiêu chảy cho thấy có 55/184 chủng (29,89%) mang kháng nguyên F4, trong đó 98,18% thuộc biến thể F4ac. 81/184 chủng (44,02%) mang kháng nguyên F18 trong đó biến thể F18ab (33,33%) và F18ac (66,67%).

Theo Võ Thành Thìn (2010), vi khuẩn *E. coli* mẫn cảm mạnh với Imipeneme, Cefepime, Amikacin, Amoxicillin/Clavulanic, Polymycin B, Flofenicol, Ceftazidime và Ceftriaxon. Vì thế có thể khuyến cáo sử dụng các loại kháng sinh này để điều trị bệnh ở vật nuôi.

2.4.2 Tình hình nghiên cứu trên thế giới về vi khuẩn *E. coli*

Theo Shooter (1970) đã phân lập được vi khuẩn *E. coli* từ gia cầm đóng gói và gia cầm tại lò mổ đã tìm ra nguyên nhân về sự lây lan của vi khuẩn *E. coli* trong các môi trường và xác động vật chết. Các chủng *E. coli* thường được phân lập từ thực phẩm và có bằng chứng cho thấy rằng một số chủng có nguồn gốc từ phân người.

Theo Jesus, (1977) dùng kháng sinh thử nghiệm trên 468 mẫu gia cầm phân lập ở Tây Ban Nha đã cho thấy mức độ kháng vi khuẩn *E. coli* rất cao của các kháng sinh như: Trimethoprim-Sulfamethoxazol (67%) và các Fluoroquinolones mới (13 đến 24%). Do đó, điều trị kháng sinh là một công cụ quan trọng trong việc giảm tổn thất trong ngành chăn nuôi gia cầm gây ra bởi *E. coli*.

Theo Ojeniyi, (1989) phân lập 864 mẫu lấy từ sinh viên tại Đại học Ibadan giảng dạy và nghiên cứu ở trang trại gia cầm và 216 mẫu từ các công nhân tại một trang trại gia cầm thương mại trong Thành phố để kiểm tra *E. coli*, đã được tìm thấy là khả năng kháng Streptomycin, Sulphafurazole và Tetracycline. Ngược lại, phân lập 576 mẫu và 288 mẫu từ người dân làng nuôi gia cầm và người đi lại trong làng để kiểm tra *E. coli* phát hiện nhạy cảm với các loại thuốc này.

A. E. van den Bogaard (1999) nghiên cứu sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* của phân gia cầm, nông trại chăn nuôi gia cầm và lò giết mổ gia cầm. Tỷ lệ các mẫu phân có chứa *E. coli* đề kháng và tỷ lệ kháng *E. coli* ở phân được xác định trong ba loại gia cầm: gà thịt và gà tây thường được cho sử dụng thuốc kháng sinh và gà mái đẻ được điều trị bằng thuốc kháng sinh tương đối thường xuyên. Mẫu phân của 5 loại con người cũng được kiểm tra: nông dân nuôi gà tây, nông dân nuôi gà thịt, gà mái đẻ, công nhân lò mổ gà thịt và công nhân lò mổ gà tây. Ciprofloxacin phân lập từ 3 loại gia cầm và từ 5 loại người có tỷ lệ kháng *E. coli* cao hơn đáng kể ở gà tây và gà thịt hơn so với công nhân làm việc tại đó. Đề kháng với gần như tất cả kháng sinh trong phân *E. coli* của nông dân nuôi gà thịt và nông dân nuôi gà tây, gà tây và gà thịt ở lò mổ cao hơn so với nông dân nuôi chúng.

Barbara E. Murray *et al.*, (1983) nghiên cứu yếu tố kháng nguyên xâm nhiễm I (CFA/I) đóng một vai trò quan trọng trong quá trình gây bệnh tiêu chảy bởi nội độc tố của *E. coli*. Trong nguyên cứu này, họ kiểm tra nội độc tố CFA/II của *E. coli* từ các nhóm O25, O63, O78 và O128 và nhận thấy rằng mất tính tự phát của CFA/I liên quan đến sự mất độc tố chịu nhiệt (LT) và mất một Plasmid đơn với trọng lượng phân tử từ 54 – 60 Megadalton; khi độc tố chịu nhiệt bị mất, điều này liên quan đến việc mất một plasmid khác. Yếu tố R của chủng TX432 (O78:H12:CFA/I+;ST) được huy động với tần suất 20% vào Plasmid CFA/I-ST trong *E. coli* K-12. Những nghiên cứu này cung cấp những minh chứng xa hơn rằng CFA/I là một Plasmid trung gian trong nội độc tố *E. coli* thuộc các Serogroup O25, O63, O78 và O128.

Niconxki.V.V, (1986) đã nghiên cứu bệnh tiêu chảy có ở hầu hết các nước trên thế giới cũng như ở Việt Nam, gây thiệt hại đáng kể cho ngành chăn nuôi. Bệnh xảy ra ở vật nuôi mọi lứa tuổi và đã có nhiều công trình nghiên cứu về bệnh. Các tác giả trong và ngoài nước đều nhấn mạnh vai trò của vi khuẩn *E. coli* trong hội chứng tiêu chảy.

J. C. Nietfeld và T. Yeary (2002) những kết quả nghiên cứu trước đây của Phòng Chẩn đoán Thú y thuộc bang Kansas đối với *E. coli* từ những heo bị tiêu chảy cho thấy: có 111 chủng *E. coli* phân lập được mang gen ở pili kết hợp, một yếu tố thiết yếu để *E. coli* gây bệnh tiêu chảy. Trong 111 chủng phân lập, có 103 chủng có 1 gen pili và 8 chủng mang 2 gen pili. Những kiểu pili phổ biến nhất là pili K88, chiếm 73% trong các chủng phân lập. Hầu như các chủng mang pili K88 cũng mang ít nhất một

gen độc tố và đây là yếu tố hình thành nên độc lực của *E. coli* ở heo. Kiểu pili phổ biến tiếp theo là F18, chiếm tỷ lệ 21%. Tuy nhiên, hơn phân nửa các F18 phân lập được không mang các gen hình thành độc tố. Các kiểu pili F41, K99 và 987P chiếm lần lượt các tỷ lệ 7%, 4% và 2% trong các chủng phân lập. Sự hiện diện của kiểu pili K88 và F41 ở *E. coli* hiện đang được xem là những nguyên nhân chính gây nên bệnh do *E. coli* (colibacillosis) ở heo.

P. Alexa *et al.*, (2005) thực hiện những thí nghiệm nghiên cứu về sự ngăn ngừa bệnh tiêu chảy ở heo sau cai sữa bằng những chủng *E. coli* nội độc tố (ETEC) với yếu tố xâm nhiễm K88(F4). Tiến trình tạo miễn dịch bao gồm việc cấp vào cơ vaccine chết ETEC 1 ngày trước khi cai sữa và cung cấp vaccine qua đường miệng vaccine sống chứa chủng *E. coli* không gây bệnh mang yếu tố xâm nhiễm (O149:K88; STa-, LT-) trong 3 giờ sau khi cai sữa. Sự bài thải những chủng *E. coli* dương tính với K88 được quan sát 3 tuần sau khi cai sữa bằng nuôi cấy và phân lập vi khuẩn này qua tâm bông quệt ở trực tràng. Hiệu quả của quá trình tạo miễn dịch được kiểm tra thông qua sự phơi nhiễm với những chủng *E. coli* nội độc tố O149:K88, LT+ ở ngày thứ 3 hoặc ngày thứ 10 sau khi cai sữa. Sau đó cấp qua đường miệng cho heo chủng *E. coli* không gây độc mang yếu tố gây nhiễm K88, quá trình quan sát sự bài thải các chủng vi khuẩn này được tiến hành liên tục trong 9 ngày. Không hoặc có sự bảo hộ rất nhỏ chống lại bệnh tiêu chảy sau khi phơi nhiễm đối với *E. coli* ETEC được ghi nhận ở các heo được gây miễn dịch.

Mário Paulo A *et al.*, (2005) nghiên cứu là để xác định sự hiện diện của yếu tố xâm nhiễm F42 trong 168 chủng *E. coli* phân lập được từ phân tiêu chảy của heo sơ sinh. Sự hiện diện của F42 trong 12 (7,1%) chủng được phát hiện bằng phản ứng ngưng kết (agglutination test). Các gen mã hóa các nội độc tố ST-I, ST-II, LT-I và LT-II ở các chủng dương tính với F42 được phát hiện thông qua phản ứng PCR. Các gen ST-I/ST-II được tìm thấy ở 50% các chủng, ST-I (16%) và ST-II (25%) chỉ ra sự liên kết chặt chẽ với F42 FC của các nội độc tố chịu nhiệt (91 %). Ngược lại, các gen mã hóa nội độc tố không chịu nhiệt (LT-I và LT-II) không được tìm thấy. Các serogroup của các chủng dương tính với F42 được xác định, group O8 chiếm tỷ lệ cao nhất (41,7%). Các group khác như O9, O11, O18, O32, O98 và O101 cũng được xác định. Vì vậy, F42 FC được khẳng định là một yếu tố bổ sung của độc lực trong quá trình hình thành bệnh tích của bệnh do *E. coli* ở heo.

2.5 Những dạng nhiễm vi khuẩn *E. coli* ở gia cầm

2.5.1 Viêm rốn

Bệnh viêm rốn gia tăng từ khi gia cầm nở ra đến 6 ngày tuổi và sự còi cọc tiếp diễn đến 3 tuần. Chỉ có biểu hiện duy nhất là túi noãn hoàng không tiêu biến và giảm tăng trọng.

Sung phù, tích nước, ửng đỏ và có thể những áp xe nhỏ đặc trưng của viêm rốn cấp tính của gia cầm. Những gia cầm sống sót thường còi cọc, túi lòng đỏ nhỏ dần tạo thành một áp xe tồn tại trong một thời gian dài.

2.5.2 Viêm tế bào

Viêm tế bào do *E. coli* là chứng viêm nội bì lan rộng, phổ biến ở loài gia cầm.

2.5.3 Hội chứng sung đầu

Hội chứng sung đầu (SHS) là một chứng viêm nội bì cấp tính bao gồm viêm ổ mắt và mô nội bì dưới da xung quanh hốc mắt.

2.5.4 Bệnh tiêu chảy

Nội độc tố *E. coli* (ETEC) có khả năng gây ra sự tích tụ chất lỏng trong đường ruột gây nên tiêu chảy. Gia cầm mất nước, ruột nhợt nhạt chứa chất lỏng căng phồng, đặc biệt là manh tràng chứa đầy chất lỏng và có thể có khí. Bệnh trầm trọng và số chết cao khi nhiễm kép với *coronavirus*, *astrovirus*.

2.5.5 Bệnh do vi khuẩn *E. coli* qua giao phối

Đặc trưng bởi sự viêm âm đạo, sa ruột và lỗ huyết, viêm màng bụng, trứng bị dính lại với nhau và trứng bị rơi trong xoang bụng. Số gia cầm chết gia tăng và tỷ lệ loại thải có thể nhiều hơn 8% trong đàn gia cầm có xuất hiện bệnh. Sản lượng trứng thấp hơn bình thường đồng thời số lượng trứng bị loại gia tăng do có kích thước nhỏ.

2.5.6 Bệnh viêm vòi trứng viêm màng bụng

Bệnh xảy ra do *E. coli* xâm nhập từ ổ nhóp lên vòi trứng gây viêm vòi trứng là một trong những nguyên nhân phổ biến gây chết của các loài gia cầm giai đoạn đẻ trứng đặc biệt là vịt và ngỗng.

2.5.7 Nhiễm trùng huyết

Thể toàn thân:

Sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* trong dòng máu là đặc trưng của nhiễm trùng huyết. Những đặc tính điển hình của nhiễm trùng huyết vi khuẩn *E. coli* là hoại tử và mô với sự phát triển đổi màu xanh lục. Bệnh tích viêm màng ngoài tim thường được thấy trong nhiễm trùng huyết vi khuẩn *E. coli*.

Thể hô hấp:

Vi khuẩn *E. coli* tác động gây thiệt hại tới màng nhày hệ hô hấp do sự mở đường của các yếu tố truyền nhiễm như virus IBD (viêm phế quản), NDV (Newcastle), mycoplasma hoặc các yếu tố không truyền nhiễm như tiêm chủng vacxin, NH₃, hít coliform từ bụi bẩn là một trong những nguồn lây nhiễm quan trọng nhất cho sự nhiễm bệnh trên túi khí gia cầm.

Thể viêm ruột:

Gia cầm thường bị nhiễm khuẩn từ thức ăn hoặc nước uống. Bệnh tích điển hình là gan biến màu xanh lục, lách sưng to và tắc nghẽn.

Thể gia cầm mới nở:

Xảy ra trên gia cầm từ 24 – 48 giờ sau khi ấp nở, số chết cao duy trì trong 2 – 3 tuần và tổng cộng số chết khoảng 10 – 20% tổng đàn và có đến 5% số gia cầm trong đàn bị còi cọc cần phải loại thải, những gia cầm không bệnh thì phát triển bình thường..

2. 6 Chẩn đoán bệnh do vi khuẩn *E. coli* trên vịt

2.6.1 Chẩn đoán lâm sàng

Dựa vào triệu chứng như:

Vịt con rút cổ, lông xù, mắt lim dim như buồn ngủ, một số con có triệu chứng cảm cúm, sổ mũi và khó thở, tiêu chảy phân loãng có màu trắng xanh rồi chết. Trước khi chết nhiều con có triệu chứng thần kinh như: co giật, quay đầu, ngoẹo cổ... ở vịt đẻ thì chết lai rai, giảm đẻ, vỏ trứng dính máu.

Dựa vào bệnh tích khi mổ khám như:

Sưng gan và viêm ruột. Nếu bệnh nặng thì cả hai lá gan đều sưng đỏ và xuất huyết lấm tấm, túi mật thường căng to. Nếu bệnh nhẹ thì chỉ thấy phần dưới của gan sưng và xuất huyết còn phần phía trên có màu vàng. Màng bao tim, gan có lớp nhầy trắng. Túi khí có những đốm hoại tử màu vàng. Niêm mạc ruột có màu đỏ, phân có màu trắng. Vịt đẻ buồng trứng bị vỡ và teo lại.

2.6.2 Chẩn đoán phân biệt

Bệnh trúng độc do thức ăn

Bệnh này xảy ra cùng trong thời gian với bệnh *E. coli* nhưng bệnh chết nhanh hơn, có triệu chứng thần kinh nặng hơn, gan sưng và đen toàn bộ, thận sưng và tiêu chảy. Khi ngừng cho ăn bệnh giảm hẳn.

Bệnh Thương hàn

Bệnh này cũng xảy ra cùng thời gian với bệnh do vi khuẩn *E. coli*, triệu chứng giống như bệnh do vi khuẩn *E. coli* nhưng bệnh tích ở gan không có những điểm hoại tử màu trắng, túi khí không có những điểm màu vàng. Ngoài ra có nhiều vi sinh vật khác có khả năng gây bệnh cho vịt với các triệu chứng tương tự như viêm bao hoạt dịch, viêm khớp do *Mycoplasma*, *Salmonella* hoặc nhiễm trùng huyết cấp tính do *Pasteurella*, *Salmonella*, *Streptococci*.

2.6.3 Chẩn đoán xét nghiệm

Chẩn đoán dựa trên nuôi cấy phân lập định danh *E. coli* từ bệnh tích điển hình của bệnh. Cần tránh sự bội nhiễm từ phân của mẫu phân lập.

2.6.4 Phòng ngừa, kiểm soát bệnh và điều trị

Thu nhặt trứng thường xuyên, giữ cho ổ đẻ sạch sẽ, loại bỏ những vật chất có thể gây ô nhiễm.

Cần xông thuốc sát trùng trứng trong vòng 2 giờ sau khi đẻ để giảm bớt sự nhiễm khuẩn từ vỏ trứng. Nếu trứng bị bể trong quá trình ấp hoặc dụng cụ, máy ấp bị nhiễm bẩn sẽ là tạo một nguồn nguy hại cho các trứng ấp chung.

Các phương pháp có thể áp dụng để hạn chế vi khuẩn *E. coli* xâm nhập vào ống tiêu hóa và giảm số lượng vi khuẩn lưu trú trên ruột là:

Vệ sinh chuồng trại, thức ăn nước uống trong chăn nuôi.

Sử dụng probiotic chứa *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus reuteri* để tạo sự cạnh tranh ức chế sự phát triển vi khuẩn *E. coli* ở ruột.

Tiêm vaccin phòng bệnh.

2.6.5 Điều trị

Vi khuẩn *E. coli* có thể được điều trị bằng các loại kháng sinh thông dụng nhưng do vi khuẩn có tính đề kháng nhanh cần làm kháng sinh đồ để xác định kháng sinh phù hợp khi điều trị mới đạt hiệu quả cao.

CHƯƠNG 3: NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1 Nội dung nghiên cứu

- Điều tra tổng quát tình hình nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh.
- Phân lập định danh vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh.
- Định nhóm trên vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh.
- Kiểm tra sự nhạy cảm của vi khuẩn *E. coli* đối với một số loại kháng sinh.
- Đề xuất quy trình phòng trị thích hợp.

3.2 Vật liệu và phương tiện thí nghiệm

3.2.1 Đối tượng khảo sát

Là vịt chạy đồng ở 3 lứa tuổi (vịt con từ 1 - 30 ngày tuổi, vịt thịt lớn hơn 30 ngày tuổi và vịt đẻ). Tất cả các giống vịt được nuôi theo phương thức chạy đồng.



Hình 3.1a: Vịt con
(từ 1 - 30 ngày tuổi)

Hình 3.1b: Vịt thịt
(từ 30 ngày tuổi trở lên)

Hình 3.1c: Vịt đẻ

3.2.2 Địa điểm và thời gian thực hiện:

- Điều tra dịch tễ và lấy mẫu khảo sát trên đàn vịt thuộc 4 huyện Châu thành, Trà Cú, Tiểu Cần, Cầu Kè thuộc tỉnh Trà Vinh.
- Nuôi cấy phân lập vi khuẩn *E. coli* tại phòng nghiên cứu vi sinh, Công ty Vemedim và phòng chẩn đoán bệnh động vật, Chi cục Thú y Thành phố Cần Thơ.
- Định nhóm và thực hiện kháng sinh đồ trên vi khuẩn *E. coli* tại phòng nghiên cứu vi sinh, Công ty Vemedim Thành phố Cần Thơ.
- Thời gian thực hiện từ tháng 4/2010 đến tháng 4/2011

3.2.3 Trang thiết bị, dụng cụ, hoá chất

- **Thiết bị:** Tủ cấy vô trùng, tủ ẩm, tủ sấy, tủ lạnh, autoclave, máy dập mẫu, kính hiển vi, máy quang phổ, máy đo pH, ...

- **Dụng cụ:** khay inox, dao mổ, kéo mổ, pen thẳng, kẹp, pen cong, thùng bảo ôn, túi nylon, găng tay, tâm bông, côn, lam, lame, đĩa petri, ống nghiệm, que cấy, pipet, micropipette, đĩa, ống nghiệm, ...

- **Hóa chất:** Nước Peptone, Lactose Broth, Thạch EMB, MC, NA, TSA, MHA, Lysine Decarboxylase, Triple Sugar Iron, Simmon Citrate, MR-VP, Peptone 1%, Kovac's, Methyl Red, α - naphthol, KOH 40%, Bộ nhuộm Gram, ...

- **Kháng sinh:** các đĩa tẩm kháng sinh dùng làm kháng sinh đồ gồm 12 loại:

1/. Amikacin 30 μ g

2/. Amox+Clavulanic acid
20/10 μ g

3/. Ampi+Sulbactam 10/10 μ g

4/. Ceftiofur 30 μ g

5/. Colistine 50 μ g

6/. Doxycycline 30 μ g



7/. Enrofloxacin 5 μ g

8/. Florfenicol 30 μ g

9/. Fosfomycine 50 μ g

10/. Marbofloxacin 5 μ g

11/. Spectinomycine 30 μ g

12/. Thiamphenicol 30 μ g

Hình 3. 3 Hình đĩa kháng sinh chuẩn dùng làm kháng sinh đồ

3.3 Phương pháp nghiên cứu

3.3.1 Điều tra tổng quát về tình hình nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên đàn vịt chạy đồng

Mục đích điều tra

Xác định vùng nuôi vịt chạy đồng tại các nông hộ thuộc khu vực khảo sát. Việc điều tra nhằm ghi nhận cách thức chăn nuôi vịt chạy đồng của người dân như: chọn giống, hình thức nuôi, kỹ thuật chăm sóc nuôi dưỡng, lịch tiêm phòng và những bệnh thường xảy ra, cách điều trị và hiệu quả như thế nào... Đặc biệt là các triệu chứng bệnh điển hình mà người chăn nuôi thường gặp nhất theo mẫu điều tra (phụ lục đính kèm).

Phương pháp điều tra

Điều tra hồi cứu để xác định tổng đàn vịt của tỉnh với quy mô được nuôi theo hình thức nào và lịch tiêm phòng hàng năm...

Đồng thời phối hợp với cán bộ Phòng Nông nghiệp – Phát triển Nông thôn; Trạm Thú y của 04 huyện, mỗi huyện chọn 04 xã để tiến hành điều tra. Tại mỗi xã, chúng tôi đã phối hợp với cán bộ Thú y xã, để tuyển chọn và tiến hành phỏng vấn tại nông hộ nhằm thu thập thông tin.

Địa điểm tiến hành điều tra

Việc điều tra tại nông hộ được thực hiện trên 4 huyện của tỉnh Trà Vinh, mỗi huyện điều tra 64 phiếu trên 4 xã. Chi tiết các xã trong huyện như sau:

- Huyện Châu Thành: xã Song Lộc, Lương Hòa A, Mỹ Chánh, Hòa Lợi
- Huyện Trà Cú: xã Tân Hiệp, Phước Hưng, Tập Sơn, Tân Sơn
- Huyện Tiểu Cần: xã Hiếu Tử, Ngãi Hùng, Phú Cần, Tập Ngãi
- Huyện Cầu Kè: xã Phong Phú, Phong Thạnh, Thông Hòa, Châu Điền

Phương tiện điều tra

Phiếu điều tra nhanh được tiến hành điều tra tại Chi cục Thú y tỉnh Trà Vinh và Phòng Nông nghiệp – Phát triển Nông thôn; Phòng Thống kê; Trạm Thú y ở 4 huyện: Châu Thành, Trà Cú, Tiểu Cần và Cầu Kè (theo mẫu 1 và 2 ở phần phụ lục đính kèm).

Phiếu điều tra chi tiết để phỏng vấn trực tiếp nông hộ, nhằm thu thập các thông tin chung về tình hình chăn nuôi vịt, thông tin về cách chăm sóc nuôi dưỡng, phòng trị và một số dịch bệnh xảy ra trên địa bàn trong thời gian qua tại các nông hộ. (Theo mẫu 3 phần phụ lục đính kèm).

Số phiếu điều tra

Tổng số phiếu được điều tra tại nông hộ nuôi vịt của 4 huyện là 256 phiếu.

Kết quả điều tra thu nhận dùng ước lượng bước đầu về lưu hành bệnh do nhiễm vi khuẩn *E. coli* và một số bệnh khác trên đàn vịt chạy đồng.

3.3.2 Lấy mẫu - Nuôi cấy - phân lập vi khuẩn E. coli

Tiêu chuẩn lấy mẫu (Theo TCVN 4886 - 89)

Dung lượng mẫu được xác định dựa trên cơ sở xác định tỷ lệ bệnh trong quần thể: (Nguyễn Minh Thông, 2005).

$$n = Z_{\alpha/2}^2 \frac{p(1-p)}{l^2} \quad \text{Trong đó:}$$

n : là tổng số mẫu

$Z_{\alpha/2}^2$: là trị số phân phối chuẩn 1.96

l : là độ chính xác

p : là tỷ lệ bệnh

Từ công thức trên ước tính tỷ lệ nhiễm bệnh 85%, thì số lượng mẫu cần lấy là: 195,9 mẫu, tương đương (Số mẫu dự kiến 50 mẫu/huyện x 4 huyện = 200 mẫu).

Phương pháp lấy mẫu và bảo quản mẫu:

Chọn mẫu: tiến hành lấy song song trên 2 loại (vịt khỏe và vịt bệnh).

Trên vịt bệnh chọn những vịt có triệu chứng tiêu chảy nặng, phân có dịch nhầy màu nâu, xanh, trắng, gầy yếu, giảm cân, hoặc mới chết đột ngột.

Mẫu bệnh phẩm bao gồm: gan, lách, ruột, phổi, mẫu phân từ hậu môn.



Hình 3.3: Đàn vịt chọn lấy mẫu

Các dụng cụ cần chuẩn bị như: thùng đá trữ mẫu, nước đá khô, côn 70⁰C, găng tay, khẩu trang, bông thấm, bọc lớn – nhỏ, chai đựng côn, ghim bấm, nhãn ghi mẫu, viết không phai, kẹp cong, kẹp thẳng, kéo mổ đầu tù, kéo mổ nhọn, cán dao mổ, lưỡi dao mổ, khay dụng cụ, ... và chọn vịt cần lấy mẫu.

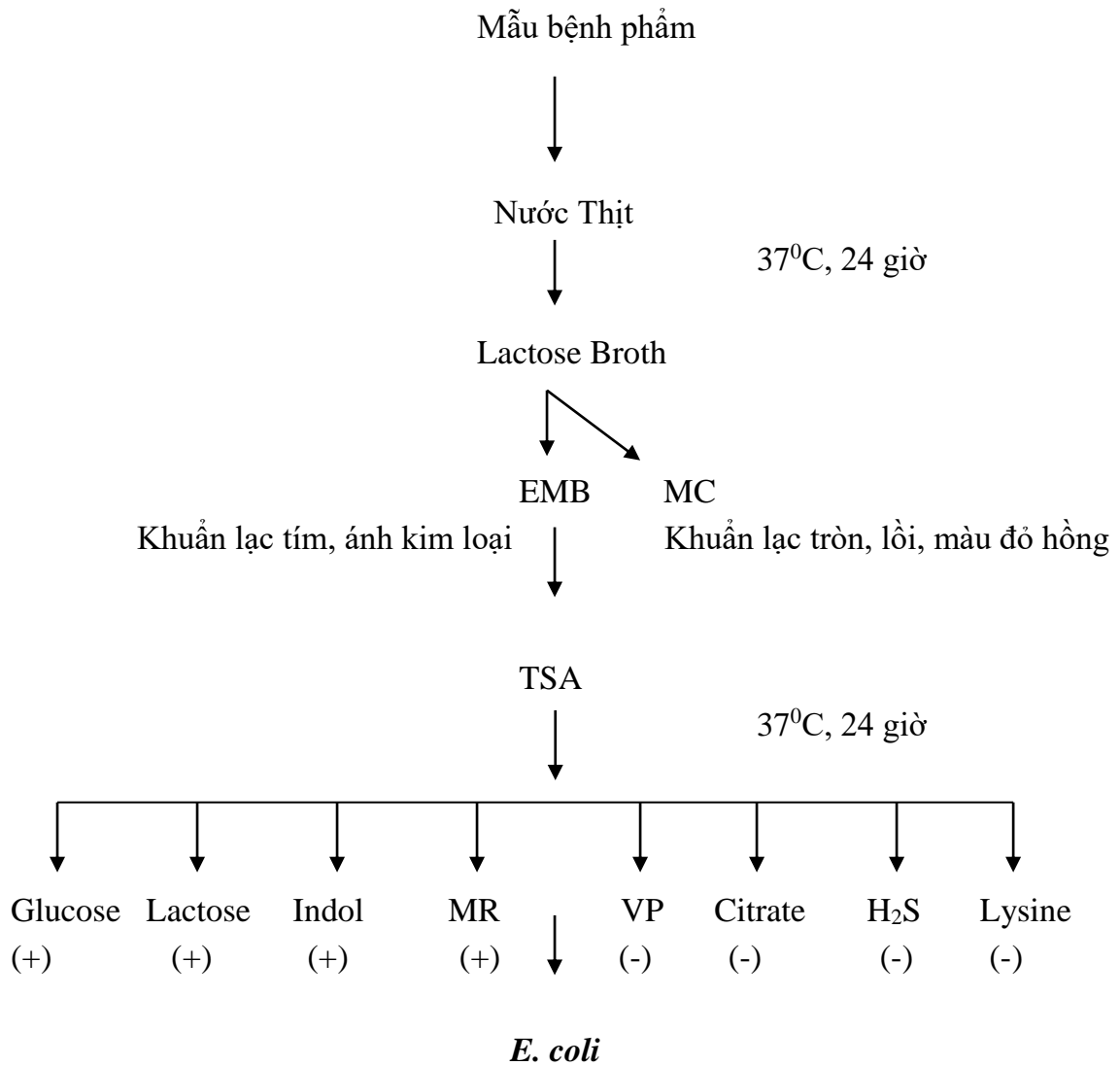
- Nếu vịt còn sống tiến hành hủy tủy hoặc cắt lấy hết tiết, nhổ hoặc cạo sạch lông vùng bụng, dùng dao lam mổ một đường ngang khoảng 3 - 5cm, cách hậu môn 3 - 5cm, tùy theo vịt lớn hay nhỏ. Dùng kéo đầu tù cắt hết phần ức lật lên sao cho lộ rõ các nội tạng cần lấy. Dùng kéo, pen đã sát trùng bằng côn, cắt mẫu cần lấy đưa vào túi nylon nhỏ hàn kín miệng. Mẫu bệnh phẩm của từng con vịt được đưa riêng vào từng túi nylon nhỏ, hàn kín đầu sau đó đưa vào một túi nylon lớn hơn, giữa 2 lớp túi nylon là tờ giấy ghi lý lịch mẫu và ký hiệu mẫu. Túi nylon đựng mẫu sẽ được đưa vào thùng bảo ôn chứa nước đá khô (hoặc nước đá thường giả nhỏ), vận chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 12 giờ sau khi mổ khám lấy mẫu.

- Nếu là vịt bệnh, mẫu được lấy ngay khi mổ khám vịt bệnh hoặc vịt bệnh vừa chết, quá trình lấy mẫu phải đúng kỹ thuật, bảo đảm mẫu không nhiễm tạp khuẩn từ môi trường.

✚ Các bước tiến hành giải phẫu vịt lấy mẫu xét nghiệm (ảnh minh họa phần phụ lục).

Phương pháp nuôi cấy phân lập.

Thực hiện theo quy trình của phòng Chẩn đoán bệnh động vật, Chi cục Thú y và Phòng nghiên cứu vi sinh, Công ty Vemedim Thành phố Cần Thơ.



Sơ đồ 1: Quy trình nuôi cấy phân lập *E. coli*

Bước 1: Tăng sinh và tăng sinh chọn lọc

- Cấy mẫu ban đầu vào môi trường Peptone, ủ mẫu ở 37⁰C/24 giờ
- Sau 24 giờ nếu canh khuẩn đục thì dùng pipet hút 1ml cho vào môi trường tăng sinh chọn lọc Lactose Broth, ủ mẫu ở 37⁰C/24 giờ.
- Sau 24 giờ nếu môi trường Lactose Broth trong suốt, không có váng thì sơ bộ kết luận không có vi khuẩn trong bệnh phẩm.
- Nếu sau 24 giờ canh khuẩn đục do vi khuẩn trong bệnh phẩm phát triển, tiếp tục thực hiện các bước kế tiếp.



Hình 3.4: Mẫu bệnh phẩm trong môi trường ban đầu (Pepton)

Bước 2: Nuôi cấy phân lập

- Dùng que cấy, cho vào ống môi trường Lactose Broth lấy 1 vòng cấy, cấy ria lên đĩa thạch MC và EMB, ủ 37⁰C/24 giờ.
- Nếu không có khuẩn lạc đặc trưng của vi khuẩn *E. coli* mọc trên 2 loại môi trường thì kết luận canh khuẩn không có *E. coli*.
- Nếu có khuẩn lạc màu tím ánh kim trên môi trường EMB, khuẩn lạc màu đỏ, tròn lồi trên môi trường MC thì nghi ngờ có vi khuẩn *E. coli*.



Hình 3.5a: *E. coli* trên môi trường EMB



Hình 3.5b: *E. coli* trên môi trường MC

Bước 3: Nuôi cấy thuần

- Lấy những khuẩn lạc điển hình trên hai môi trường EMB và MC, cấy lại trên môi trường thạch dinh dưỡng NA/TSA, ủ 37⁰C trong 24 giờ.
- Lấy khuẩn lạc trên môi trường thạch NA/TSA nhuộm Gram và thực hiện thử sinh hóa.

Bước 4: Phương pháp nhuộm Gram

- Dùng lame sạch, que cấy tiệt trùng, cho một ít nước muối sinh lí hoặc nước cất lên lame.
- Cho một ít vi khuẩn lên dàn mỏng (để khô tự nhiên).
- Hơ lame qua đèn cồn để cố định vi khuẩn (để nguội).
- Nhuộm Crystal violet trong 1 phút.
- Rửa lại bằng nước (nhuộm Lugol 2 phút).
- Rửa lại bằng cồn (rửa lại bằng nước để khô).
- Nhuộm Safranin 1 phút.
- Rửa lại bằng nước (để khô).
- Quan sát trên kính 100X có giọt dầu.
- Kết quả: Gram dương màu tím, Gram âm màu đỏ hoặc hồng.

Bước 5: Các thử nghiệm sinh hoá định danh



Hình 3.6: Kết quả sinh hóa *E. coli*

✚ **Môi trường TSI:** được hấp khử trùng và cho vào ống nghiệm vô trùng để tạo ống thạch nghiêng sao cho đỉnh thạch cách nắp ống nghiệm khoảng 2.5cm và phần sâu có chiều cao 2.5cm. Dùng que cấy thẳng lấy sinh khối vi khuẩn không quá 24h từ đĩa NA/TSA cấy vào phần sâu của ống thạch nghiêng nhưng tránh chạm đáy ống, sau đó ria cấy trên bề mặt thạch nghiêng. Ủ ống nghiệm vừa cấy ở 37°C trong 24 giờ.

Đọc kết quả:

+ Nếu vi sinh vật chỉ lên men Glucose không lên men Lactose, sau 24 giờ nuôi cấy phần thạch nghiêng trở nên kiềm có màu đỏ, còn phần thạch đứng trở nên acid có màu vàng (Lactose (-), Glucose (+))

+ Nếu vi sinh vật chỉ lên men Glucose và Lactose, sau 24h nuôi cấy thì phần thạch nghiêng và phần thạch đứng trở nên acid có màu vàng (Lactose (+), Glucose (+))

+ Nếu vi khuẩn có sinh H₂S thì xuất hiện tủa màu đen trong ống nghiệm sau 24h nuôi cấy H₂S (+), nếu không xuất hiện tủa màu đen trong ống nghiệm là H₂S (-).

✚ **Môi trường Simmon Citrate:** lấy sinh khối vi khuẩn không quá 24h trên đĩa NA ria cấy trên mặt thạch nghiêng của ống nghiệm chứa môi trường Simmon Citrate đã tiệt trùng; ủ ống nghiệm vừa cấy ở 37°C trong 24 giờ.

Đọc kết quả:

+ Citrate (+): Nếu môi trường chuyển từ màu xanh lá cây sang màu xanh dương.

+ Citrate (-): Môi trường vẫn giữ nguyên màu xanh lá ban đầu.

✚ **Môi trường Peptone:** lấy sinh khối vi khuẩn không quá 24 giờ trên đĩa NA cấy vào ống nghiệm chứa môi trường Peptone 1% đã tiệt trùng ủ ống nghiệm vừa cấy ở 37°C trong 24 giờ.

Đọc kết quả:

- Nhỏ 2 - 3 giọt thuốc thử Kovacs, vào ống nghiệm có chứa vi khuẩn đã ủ ở 37°C trong 24 giờ.

+ Indole (+): nếu có vòng màu đỏ xuất hiện trên bề mặt môi trường.

+ Indole (-): nếu có vòng màu vàng xuất hiện trên bề mặt môi trường.

✚ **Môi trường MR – VP:** lấy sinh khối vi khuẩn không quá 24h trên đĩa NA cấy vào 02 ống nghiệm chứa môi trường MR – VP đã tiệt trùng ủ các ống nghiệm vừa cấy ở 37°C trong 24 giờ.

Đọc kết quả:

* Thử nghiệm VP: nhỏ 2 – 3 giọt dung dịch naphthol sau đó nhỏ tiếp 2 – 3 giọt KOH 40%:

+ VP (+): nếu có xuất hiện vòng đỏ trên bề mặt môi trường.

+ VP (-): nếu bề mặt môi trường không đổi màu.

* Thử nghiệm Methyl red: nhỏ 2-3 giọt thuốc thử Methyl Red:

+ MR (+): khi môi trường có màu đỏ.

+ MR (-): khi môi trường có màu vàng.

✚ **Môi trường Lysine Decarboxylase:** lấy sinh khối vi khuẩn không quá 24h trên đĩa NA cấy vào ống nghiệm chứa môi trường Lysine Decarboxylase đã tiệt trùng ủ ống nghiệm vừa cấy ở 37°C trong 24 giờ.

Đọc kết quả:

+ Lysine (+): nếu môi trường trở nên đục và có màu tím.

+ Lysine (-): nếu môi trường trong và có màu vàng.

Bảng 3: Tiêu chuẩn sinh hoá của vi khuẩn *E. coli* (Carter, 1975)

Glucose	Lactose	Lysine	Citrate	Indol	VP	MR	Di động	H ₂ S
+	+	-	-	+	-	+	+	-

3.3.3 Định nhóm (xác định nhóm vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt chạy đồng)

Bước 1: Chuẩn bị canh khuẩn

Vi khuẩn sau khi đã định danh, tiến hành cấy chuyển trên môi trường TSA/NA cho vào tủ ấm 37°C trong 24 giờ. Sau đó dùng que cấy hoặc tăm bông vô trùng chuyển khuẩn lạc vào ống nghiệm chứa (4ml nước muối sinh lý 9⁰/₀₀ đã được hấp ở 221°C). Tiếp tục đem hấp ở 221°C ... để nguội.

Bước 2: Thực hiện định nhóm



Hình 3.7: Tiến hành định nhóm kháng nguyên Antiserum *E. coli*, TRIVALENT I, II, III, IV

- Nhỏ 1 giọt tương đương 50 μ l kháng nguyên Antiserum *E. coli*, TRIVALENT I, II, III, IV lần lượt vào giếng.

- Vi khuẩn từ ống nghiệm đã được diệt chết và để nguội dùng pipet hút 50 μ l cho vào giếng khuấy đều để yên ở môi trường mát... sau 6 - 8 giờ đọc kết quả.

Bước 2: Đọc kết quả

- Nếu vi khuẩn ngưng kết sẽ đóng thành từng mảng hoặc hình hoa hồng ở phía dưới đáy giếng.

- Nếu không ngưng kết thì đáy giếng sẽ trong suốt hoặc có chấm tròn, sau đó kết luận là vi khuẩn ngưng kết với nhóm nào (I, II, III, IV).

3.3.4 Kiểm tra tính nhạy cảm của vi khuẩn E. coli đối với một số loại kháng sinh

Sử dụng quy trình kháng sinh đồ tại phòng Nghiên cứu vi sinh, Công ty Vemedim Thành phố Cần Thơ để xác định một số kháng sinh nhạy cảm với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh.

Bước 1: Chuẩn bị canh khuẩn

Vi khuẩn khi định danh, tiến hành cấy chuyển trên môi trường TSA, cho vào tủ ấm 37 $^{\circ}$ C trong 24 giờ. Sau đó dùng que cấy tẩm bông vô trùng chuyển khuẩn lạc vào ống nghiệm chứa (2 - 5ml nước muối sinh lý 9 $^{\circ}$ / $_{00}$ đã được hấp khử ở 221 $^{\circ}$ C), lắc đều cho đến khi độ đục trong ống nghiệm bằng với độ đục của ống dung dịch chuẩn Mac Farland 0,5.

Bước 2: Thực hiện làm kháng sinh đồ

Canh khuẩn đã được chuẩn bị. Dùng pipet hút 0,2ml dung dịch từ ống canh khuẩn cho vào môi trường MHA, sau đó dàn đều lên mặt thạch MHA. Chờ cho mặt thạch khô và tiến hành đặt đĩa kháng sinh lên mặt thạch sao cho hai đĩa cách nhau 2,5 – 3,5cm và cách rìa đĩa thạch 2 – 2,5cm. Đem ủ ở 37 $^{\circ}$ C /24 giờ, đọc kết quả (Nguyễn Thanh Bảo, 2003).

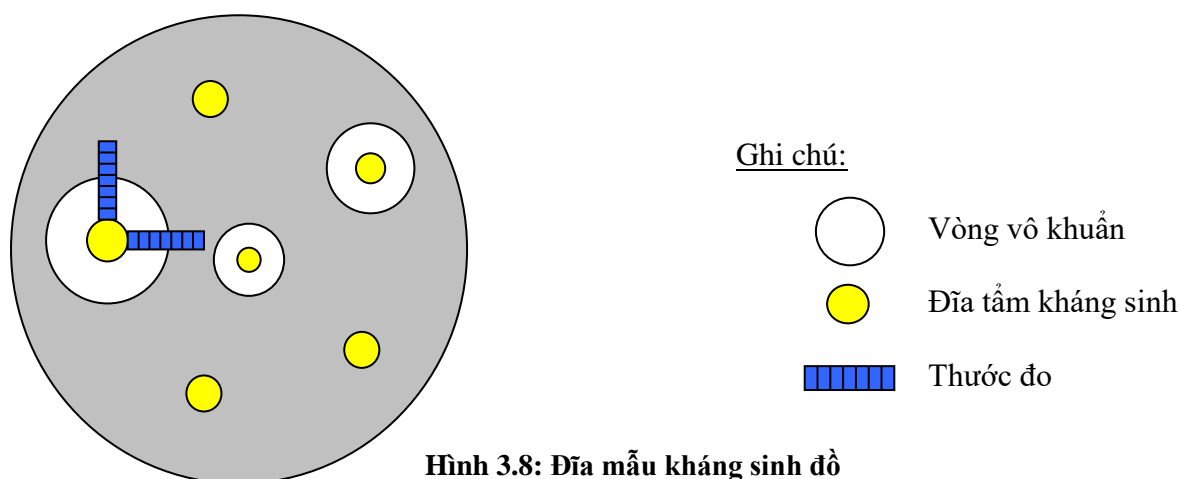
Bước 3: Đọc kết quả

- 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*) để kết luận vi khuẩn nhạy cảm, trung gian hay kháng đối với kháng sinh đó.

Bảng 4: Tiêu chuẩn đọc kết quả kháng sinh đồ đối với vi khuẩn *E. coli*. (Trường ĐH Y Dược TP. Hồ Chí Minh, 2001 và theo tiêu chuẩn nhà sản xuất).

STT	Kháng sinh	Ký hiệu	Đường kính (mm)		
			Nhạy (\geq)	Trung gian	Kháng (\leq)
1	Amikacin 30 μ g	An	17	15-17	14
2	Amox+Clavulanic acid 20/10 μ g	AC	18	14-17	13
3	Ampi+Sulbactam 10/10 μ g	Sam	15	12-14	11
4	Ceftiofur 30 μ g	Xnl	21	18-20	17
5	Colistine 50 μ g	Co	14	12-13	11
6	Doxycycline 30 μ g	Do	14	11-13	10
7	Enrofloxacin 5 μ g	Enr	18	15-17	14
8	Florfenicol 30 μ g	Ffc	19	15-18	14
9	Fosfomycine 50 μ g	Fos	16	13-15	12
10	Marbofloxacin 5 μ g	Mr	15	15-17	18
11	Spectinomycine 30 μ g	Sp	18	15-17	14
12	Thiamphenicol 30 μ g	Th	18	13-17	12



Hình 3.8: Đĩa mẫu kháng sinh đồ

3.3.5 Đề xuất quy trình phòng trị

Từ kết quả phân lập và kháng sinh đồ sẽ đề xuất quy trình phòng trị bệnh do vi khuẩn *E. coli* trên vịt chạy đồng.

3.4 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo phương pháp Chi-square, Chi-square Yates bởi phần mềm Excel 2003 và Minitab 14,0.

CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ THẢO LUẬN

4.1 Tình hình nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên đàn vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh

Qua thực hiện điều tra hồi cứu tình hình dịch bệnh trên đàn vịt chạy đồng tại 4 huyện tỉnh Trà Vinh, kết quả ghi nhận như sau:

Bảng 5: Kết quả điều tra hồi cứu tình hình dịch bệnh trên đàn vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh (từ 2007 - 2010), tại nông hộ.

Huyện	Số hộ ĐT	Tổng đàn (con)	Số vịt nhiễm bệnh (con)	Tỷ lệ bệnh chung (%)	Trong đó nghi bệnh/tổng bệnh chung (%)			
					<i>E. coli</i>	<i>THT</i>	<i>PTH</i>	Khác
Tiểu Cần	64	54.862	2.147	3,91	60,69	13,04	5,79	20,47
Câu Kè	64	84.462	12.229	14,48	57,53	16,24	13,41	12,82
Trà Cú	64	129.112	3.216	2,49	64,70	16,79	3,51	15,0
Châu Thành	64	88.127	2.147	2,44	71,06	6,64	4,3	18,0
Tổng cộng	256	356.563	19.739	5,53	60,50	14,93	9,98	14,58

THT: bệnh Tụ huyết trùng; PTH: bệnh Phó thương hàn

Kết quả tại bảng 5 cho thấy tỷ lệ bệnh chung trên tổng đàn vịt điều tra là 5,53%, trong đó nghi nhiễm cao nhất là *E. coli* (60,50%), thấp nhất là bệnh phó thương hàn (9,98%), bệnh tụ huyết trùng (14,93%), các bệnh khác là 14,58% và sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê ($p=0,001$).

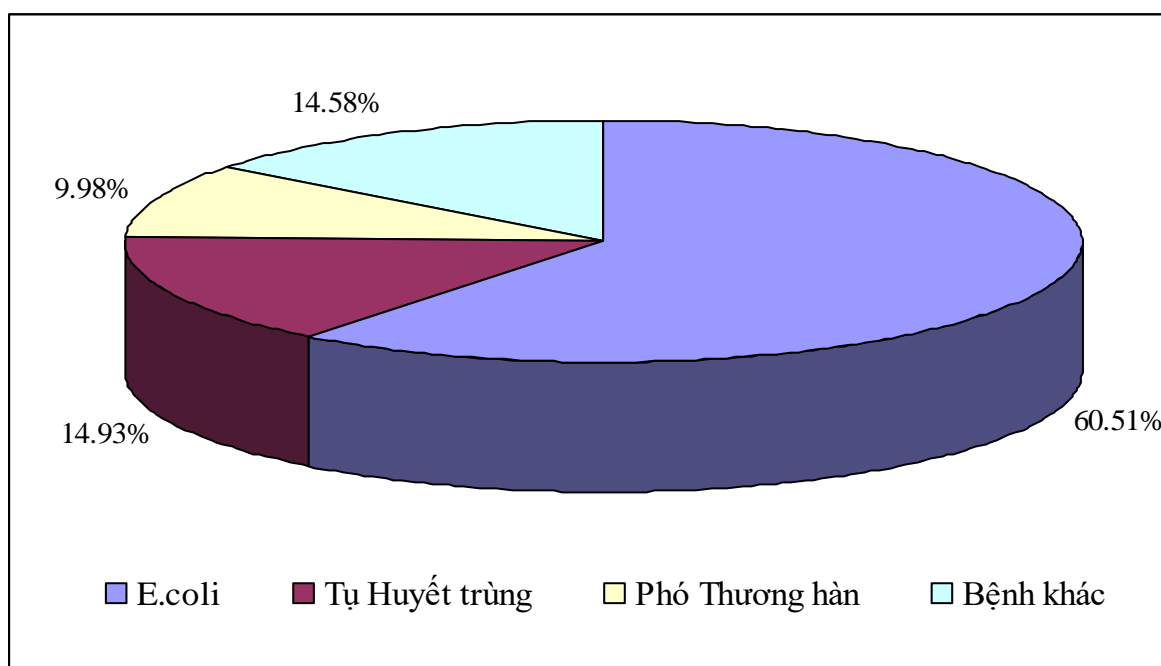
Kết quả này phù hợp với một số tác giả khác khi nghiên cứu về tình hình nhiễm *E. coli* trên vịt như nghiên cứu của Nguyễn Xuân Bình *et al*, (2000) cho thấy đàn vịt tại tỉnh Long An nhiễm *E. coli* đến 64,9% và tỷ lệ chết có đàn lên đến 40 - 50% và Nguyễn Trọng Phước (1997), vịt nuôi tại tỉnh Long An, Gò Vấp, Thủ Đức (TP.HCM) nhiễm đến 74,50%.

Số liệu điều tra cũng cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* của huyện Châu thành là cao nhất (71,06%), nhưng số lượng vịt mắc bệnh chung trên tổng đàn lại thấp hơn một số huyện khác như Câu kè (2,44% so với 14,48%). Sự khác biệt này có thể do vịt di chuyển từ huyện này sang huyện khác từ cánh đồng này sang cánh đồng khác trong

thời gian tiến hành điều tra hoặc do có sự sai khác khi đánh giá về biểu hiện bệnh trên đàn vịt của cán bộ chuyên môn.

Khi phân loại về bệnh trong tổng số bệnh xảy ra trong đàn thì tỷ lệ nhiễm *E. coli* cao hơn hẳn so với các bệnh khác như phó thương hàn, tụ huyết trùng, bệnh khác. Kết quả này có thể được giải thích là do vi khuẩn *E. coli* là loài vi khuẩn luôn hiện diện trong đất, nước, không khí, và các chủng *E. coli* độc có thể tồn tại đến 4 tháng ở môi trường ngoài (Nguyễn Như Thanh, 1997) trong khi đó vịt chạy đồng sống gắn liền với môi trường tự nhiên cho nên tỷ lệ nhiễm cao hơn.

Tuy nhiên, do kết quả điều tra hồi cứu chủ yếu dựa vào phỏng vấn và xác định bằng kinh nghiệm của cán bộ thú y tham gia phỏng vấn nên độ chính xác không cao. Để xác định chính xác hơn chúng tôi đã thực hiện tiếp điều tra cắt ngang bằng cách lấy mẫu xét nghiệm trên một số đàn vịt để đối chiếu, so sánh và các số liệu này được trình bày ở phần sau.



Biểu đồ 1: Tỷ lệ phân bố các loại bệnh thường gặp trên vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh

4.2 Một số đặc điểm dịch tễ về bệnh do nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh

*4.2.1. Tình hình nhiễm *E. coli* theo lứa tuổi vịt*

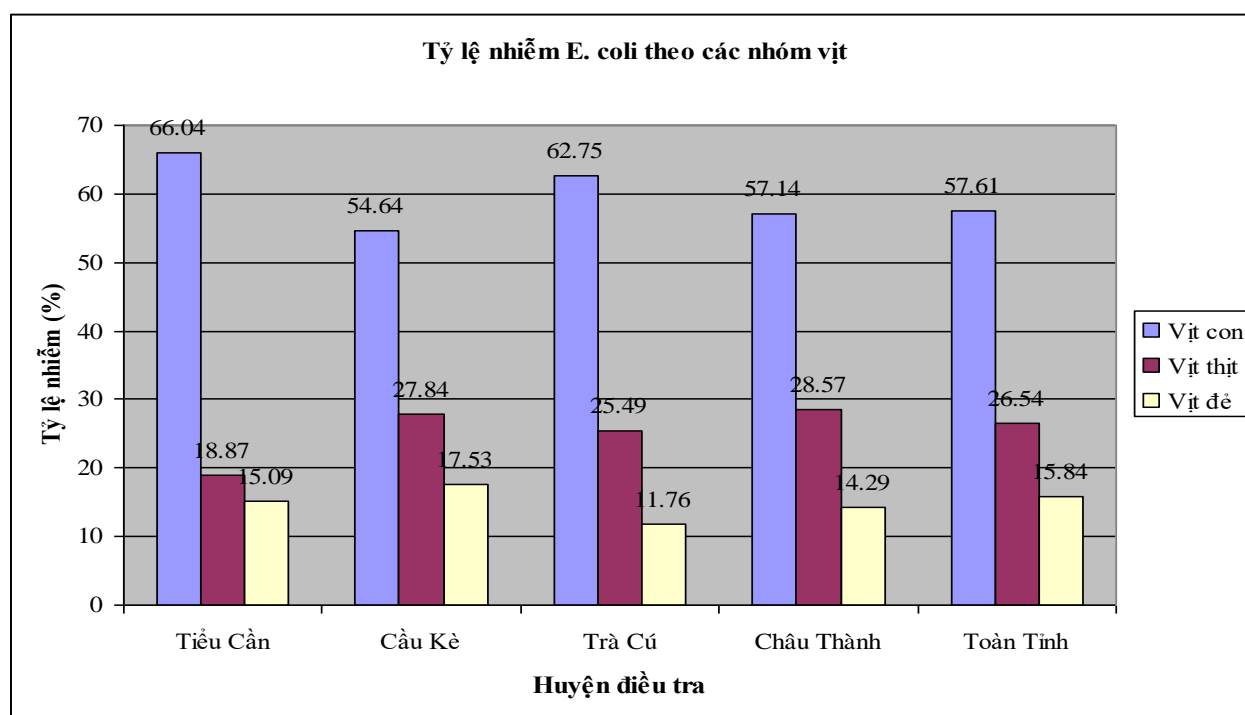
Phân tích số liệu điều tra về số vịt nhiễm *E. coli* theo lứa tuổi là: vịt con (1 - 30 ngày), vịt thịt (30 ngày đến xuất bán) và vịt đẻ. Kết quả được trình bày ở bảng 6:

Bảng 6: Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* theo lứa tuổi trên vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh (từ 2007 – 2010)

Địa điểm điều tra (huyện)	Tổng số vịt điều tra	Tổng số vịt nghi nhiễm <i>E. coli</i>	Tỷ lệ %	Kết quả tỷ lệ vịt nghi nhiễm <i>E. Coli</i> xảy ra theo lứa tuổi (%)		
				Vịt con	Vịt thịt	Vịt đẻ
Tiểu Cần	54.862	1.303	2,38	66,04	18,87	15,09
Cầu Kè	84.462	7.035	8,33	54,64	27,84	17,53
Trà Cú	129.112	2.081	1,61	62,75	25,49	11,76
Châu Thành	88.127	1.525	1,73	57,14	28,57	14,29
Tổng	356.563	11.944	3,35	57,61	26,54	15,84

Vịt con từ 1 - 30 ngày tuổi, vịt thịt từ 30 ngày tuổi đến xuất bán và vịt đẻ

Kết quả điều tra thể hiện tỷ lệ nhiễm bệnh *E. coli* trên vịt con chiếm 57,61% cao hơn so với vịt thịt 26,54%, và vịt đẻ 15,84%. Sự khác biệt này rất có ý nghĩa ($p = 0,001$).



Biểu đồ 2: Tỷ lệ vịt nhiễm *E.coli* theo các nhóm vịt

Tỷ lệ nhiễm ở vịt con tương đối cao phù hợp với nhận định về dịch tễ học bệnh do nhiễm *E. coli* trên gia cầm của Nguyễn Đức Hiền (2009) và nhiều tác giả khác cho rằng ở ống tiêu hóa gia cầm, mật độ *E. coli* có thể đến 10^6 CFU/g và lây nhiễm *E. coli* từ trứng thì phổ biến và là nguyên nhân gây tỷ lệ chết cao cho gia cầm mới nở.

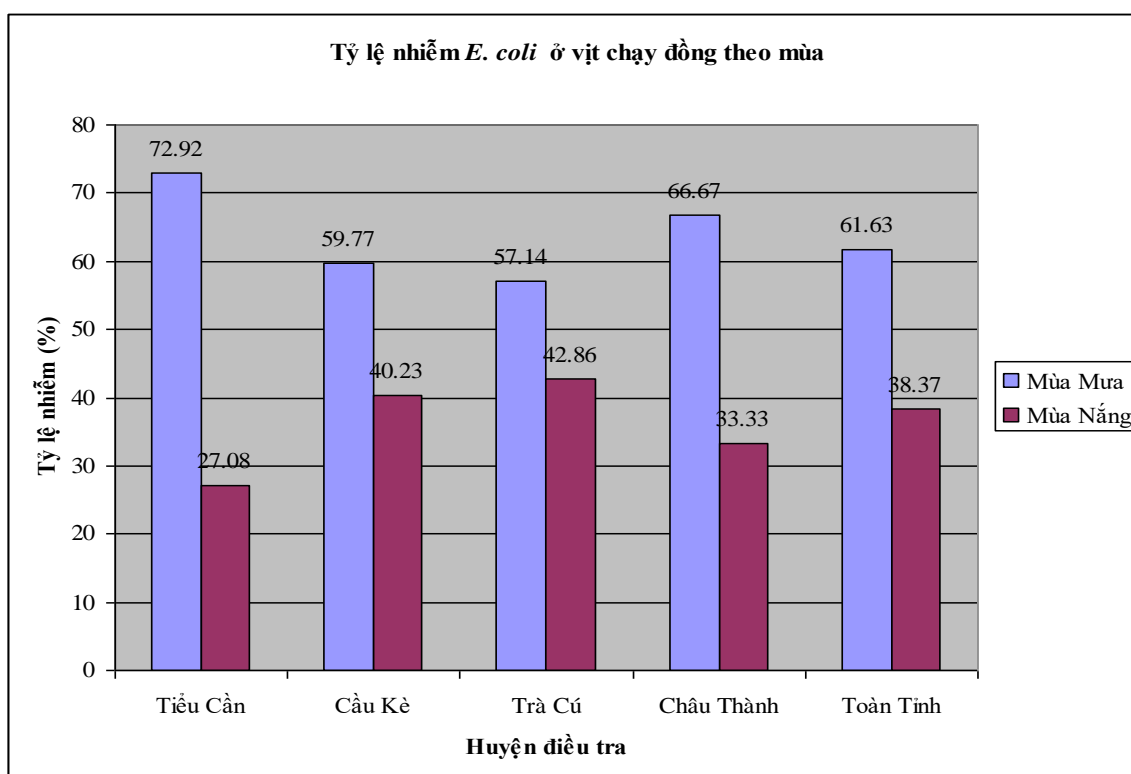
4.2.2. Tình hình nhiễm *E. coli* trên vịt theo mùa

Cũng từ kết quả điều tra hồi cứu, khi phân tích theo thời gian xảy ra bệnh theo mùa mưa (từ tháng 5 - 10) và mùa nắng (từ tháng 11 - 4) âm lịch năm sau, chúng tôi ghi nhận được kết quả sau:

Bảng 7: Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* theo mùa trên vịt chạy đồng (từ 2007 – 2010)

Địa điểm điều tra (huyện)	Tổng số vịt điều tra	Tổng số vịt nghi nhiễm <i>E. coli</i>	Tỷ lệ %	Kết quả tỷ lệ vịt nghi nhiễm <i>E. coli</i> xảy ra theo mùa (%)	
				Mùa Mưa	Mùa Nắng
Tiểu Cần	54.862	1.303	2,38	72,92	27,08
Cầu Kè	84.462	7.035	8,33	59,77	40,23
Trà Cú	129.112	2.081	1,61	57,14	42,86
Châu Thành	88.127	1.525	1,73	66,67	33,33
Tổng	356.563	11.944	3,35	61,63	38,37

Kết quả từ bảng 7 cho thấy tỷ lệ nhiễm bệnh do vi khuẩn *E. coli* xảy ra vào mùa mưa cao hơn mùa nắng, mùa mưa chiếm 61,63% so với mùa nắng là 38,37%. Sự khác biệt này rất có ý nghĩa về mặt thống kê với ($p = 0,001$). Do có sự khác biệt rõ rệt về đặc điểm khí hậu ở các mùa trong năm, đặc biệt là ở Đồng bằng Sông Cửu Long. mùa mưa kéo dài từ tháng 5 (âm lịch) đến tháng 10 (âm lịch), lượng mưa nhiều và dày đặc do đó tạo không khí lạnh và ẩm. Theo Nguyễn Đức Hiền, (2009), bụi ở chuồng gia cầm có thể chứa $10^5 - 10^6$ *E. coli/g* và trong điều kiện bụi ướt, vi khuẩn vẫn tồn tại 84 - 97% trong 7 ngày hay theo Dho-Moulin và Fairbrother (1999) ở Trung tâm Tours (Nouzilly, France) cho rằng *E. coli* gây bệnh gia cầm trong hầu hết các trường hợp bệnh đều liên quan đến yếu tố môi trường. Do đó trong điều kiện mùa mưa thì thuận lợi cho vi khuẩn *E. coli* cũng như nhiều mầm bệnh khác phát triển gây bệnh hơn ở mùa nắng.



Biểu đồ 3: Tỷ lệ nhiễm *E. coli* ở vịt chạy đồng theo mùa trong năm

4.3 Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* trên vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh

Để có cơ sở khoa học cho đánh giá tình hình nhiễm *E. coli* trên vịt một cách chính xác hơn, chúng tôi tiến hành lấy mẫu xét nghiệm trên vịt tại các hộ được xem là có xảy ra bệnh do nhiễm vi khuẩn *E. coli* chiếm tỷ lệ cao. Kết quả được trình bày qua các bảng sau:

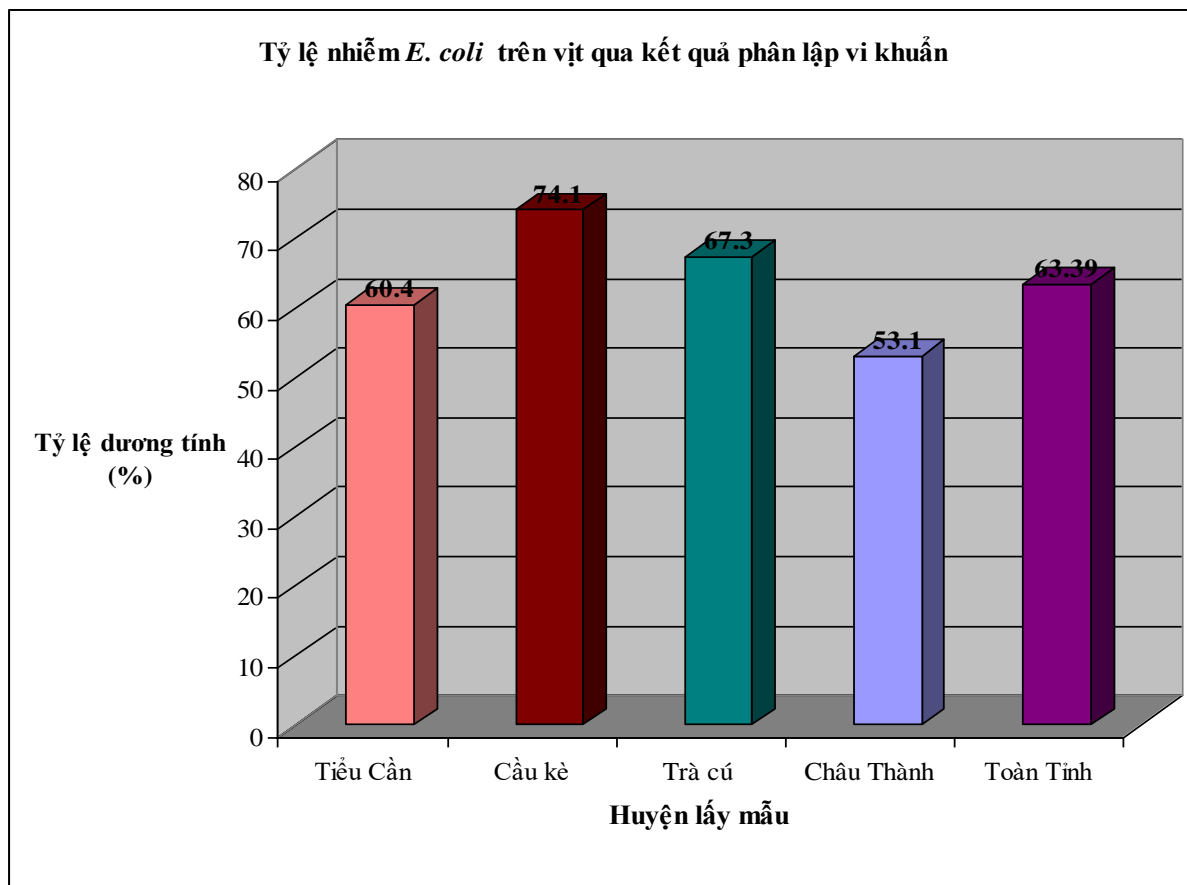
*4.3.1. Tình hình nhiễm *E. coli* trên vịt theo địa bàn lấy mẫu qua kết quả phân lập vi khuẩn.*

Phân chia số mẫu xét nghiệm theo địa bàn lấy mẫu, tỷ lệ nhiễm *E. coli* ghi nhận được theo bảng 8.

Bảng 8: Tỷ lệ dương tính với vi khuẩn *E. coli* trên vịt theo huyện: (n=366)

Huyện	Tổng số mẫu Xét nghiệm	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ %
Tiểu Cần	91	55	60,4
Cầu Kè	81	60	74,1
Trà Cú	98	66	67,3
Châu Thành	96	51	53,1
Tổng	366	232	63,39

Qua Bảng 8 cho thấy tổng số mẫu phân lập là 366 mẫu trong đó tổng số mẫu dương tính là 232 mẫu, chiếm tỷ lệ 63,39%. Trong đó huyện Cầu Kè có tỷ lệ nhiễm cao nhất là: 74,1% và huyện Châu Thành có tỷ lệ nhiễm thấp nhất là 53,1%. và khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p = 0,025$).



Biểu đồ 4: Tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên vịt tại các huyện theo mẫu phân lập

Kết quả này tương đối phù hợp với kết quả điều tra hồi cứu (60,50% so với 63,39%) và cho thấy kết quả điều tra hồi cứu có độ tin cậy khá. Ngoài ra kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Xuân Bình *et al* (1997 - 2000) khảo sát trên đàn vịt tại tỉnh Long An có tỷ lệ dương tính với vi khuẩn *E. coli* là 64,90% và Nguyễn Trọng Phước (1997) trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Long An, Gò Vấp, Thủ Đức (thành phố Hồ Chí Minh) là 74,50% cho thấy tình hình nhiễm *E. coli* trên vịt tại Trà Vinh cũng tương đương với một số tỉnh trong khu vực. Do vậy biện pháp phòng chống nhiễm khuẩn *E. coli* trên vịt chạy đồng cần được thực hiện cùng lúc tại nhiều tỉnh trong khu vực thì mới đạt được hiệu quả cao

4.3.2. Tình hình nhiễm *E. coli* trên vịt theo lứa tuổi qua kết quả phân lập vi khuẩn

Phân nhóm kết quả xét nghiệm *E. coli* theo nhóm tuổi vịt kết quả ghi nhận được theo bảng 9.

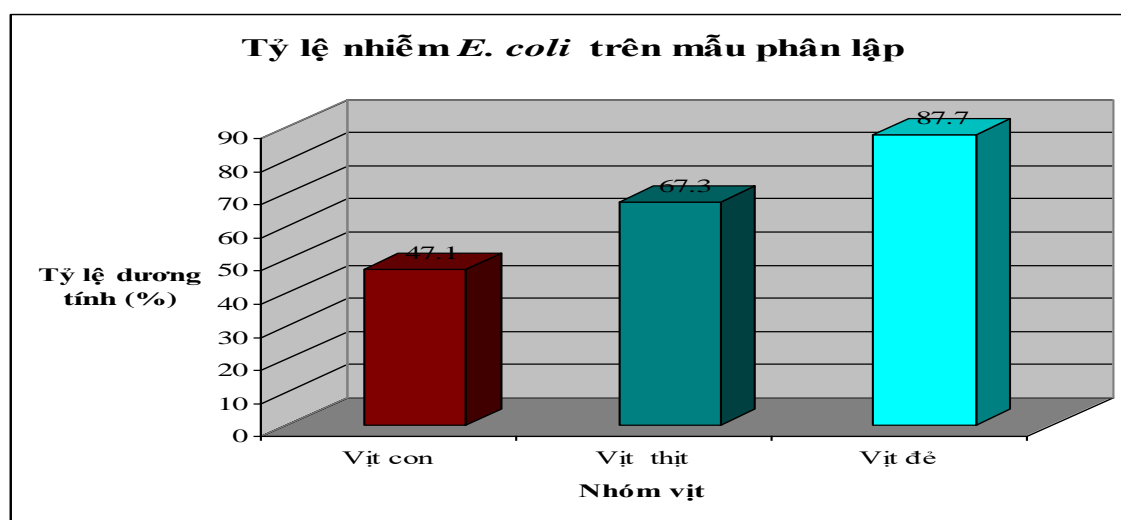
Bảng 9: Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên vịt theo lứa tuổi

Huyện	TS	SN	TL	Vịt con			Vịt thịt			Vịt đẻ		
				SM	SN	TL	SM	SN	TL	SM	SN	TL
Tiểu Cần	91	55	60,4	30	14	46,7	52	33	63,4	9	08	88,9
Cầu Kè	81	60	74,1	28	12	42,9	38	35	92,1	15	13	86,7
Trà Cú	98	66	67,3	38	19	50,0	38	28	73,7	22	19	86,4
Châu Thành	96	51	53,1	40	19	47,5	37	15	40,5	19	17	89,5
Tổng	366	232	63,39	136	64	47,1	165	111	67,3	65	57	87,7

TS: tổng số mẫu; SM: số mẫu xét nghiệm; SN: số mẫu nhiễm; TL: tỷ lệ %

Qua bảng 9 cho thấy tổng số mẫu xét nghiệm là 366 mẫu có 232 mẫu dương tính *E. coli* chiếm 63,39%. Trong đó vịt con chiếm tỷ lệ 47,1%, vịt thịt chiếm tỷ lệ 67,3%, vịt đẻ chiếm tỷ lệ 87,7%. Kết quả trên cho thấy tỷ lệ dương tính với vi khuẩn *E. coli* trên vịt con thấp hơn vịt thịt và vịt đẻ và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($P = 0,02$).

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của tác giả Nguyễn Xuân Bình *et al.* trên đàn vịt tỉnh Long An (2000) cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* ở vịt con là 47,2%, ở vịt đẻ là 57,5% hay của Nguyễn Trọng Phước (1997) trên đàn vịt tỉnh Long An, quận Gò Vấp Thủ Đức, thành phố Hồ Chí Minh, tỷ lệ nhiễm *E. coli* của vịt con là 71,66% và vịt thịt là 83,33%.



Biểu đồ 5: Tỷ lệ nhiễm *E. coli* mẫu phân lập theo tuổi vịt lấy mẫu xét nghiệm

Các nghiên cứu cùng cho kết quả là vịt đẻ có tỷ lệ nhiễm cao hơn vịt con là hợp lý vì *E. coli* là loài vi khuẩn luôn hiện diện trong đất, nước, không khí,... Ở môi trường bên ngoài, các chủng *E. coli* độc có thể tồn tại đến 4 tháng (Nguyễn Như Thanh, 1997). Cho nên vi khuẩn thường hiện diện tỷ lệ cao đối với những con vịt có ngày tuổi lớn hơn. Tuy nhiên kết quả này cho thấy có sự khác biệt với với kết quả điều tra hồi cứu là vịt con có tỷ lệ nhiễm cao hơn vịt đẻ (57,61 so với 15,84%) cho thấy sự nhận định của người dân và chẩn đoán của cán bộ điều tra chưa chính xác, có thể nhầm lẫn với một số bệnh khác có biểu hiện tương tự ở vịt con do nhóm vi khuẩn đường ruột.

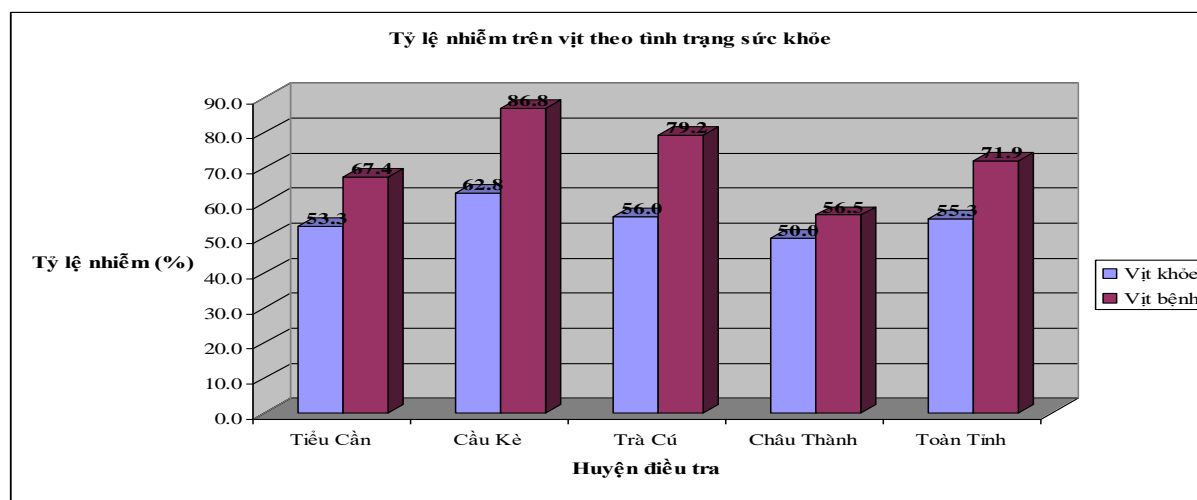
4.3.3. Tình hình nhiễm *E.coli* ở vịt bệnh và vịt khỏe theo kết quả xét nghiệm

Bảng 10: Tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên vịt theo tình trạng sức khỏe

Huyện	Tổng số mẫu	Vịt Khỏe			Vịt Bệnh		
		SM	SN	Tỷ lệ (%)	SM	SN	Tỷ lệ (%)
Tiểu Cần	91	45	24	53,3	46	31	67,4
Cầu Kè	81	43	27	62,8	38	33	86,8
Trà Cú	98	50	28	56,0	48	38	79,2
Châu Thành	96	50	25	50,0	46	26	56,5
Tổng	366	188	104	55,3	178	128	71,9

SM: số mẫu xét nghiệm; SN: số mẫu nhiễm

Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* từ vịt khỏe chiếm tỷ lệ 55,3% và vịt bệnh là 71,9%. Kết quả trên cho thấy vi khuẩn *E. coli* là vi khuẩn thường trú trong hệ tiêu hoá ở vịt chúng hiện diện ở vịt bệnh lẫn vịt khỏe mạnh. Do vậy chỉ cần vịt suy giảm sức đề kháng hay bị stress thì lập tức *E. coli* sẽ phát triển gia tăng mật số và gây bệnh, do đó áp dụng các biện pháp phòng bệnh *E. coli* thường xuyên trong nuôi vịt chạy đồng là rất cần thiết.



Biểu đồ 6: Tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên vịt theo tình trạng sức khỏe

4.4 Kết quả định serotype *E. coli* đã được phân lập.

Sử dụng các kháng huyết thanh chuẩn *E. coli* do công ty Biorad sản xuất. Gồm 12 serotype phân chia thành 4 nhóm: Nhóm I (O111 + O55 + O26), nhóm II (O86 + O119 + O127) nhóm III (O125 + O126 + O128) và nhóm IV (O114 + O124 + O142) để định nhóm serotype cho 232 phân lập *E. coli* từ vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh. Kết quả ghi nhận được theo bảng sau:

Bảng 11: Tỷ lệ ngưng kết giữa 4 nhóm với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt theo huyện

Huyện	Tổng mẫu XN	Tổng mẫu NK	Tỷ lệ %	Trong đó chia ra							
				Nhóm I		Nhóm II		Nhóm III		Nhóm IV	
				NK	TL%	NK	TL%	NK	TL%	NK	TL%
Tiểu Cần	55	42	76,36	5	11,90	16	38,10	19	45,24	2	4,76
Cầu Kè	60	42	70,00	5	11,90	18	42,86	15	35,71	4	9,52
Trà Cú	66	50	83,33	6	12,00	20	40,00	18	36,00	6	12,00
Châu Thành	51	49	96,08	8	16,33	19	38,78	20	40,82	2	4,08
Tổng	232	183	78,88	24	13,11	73	39,89	72	39,34	14	7,65

XN: xét nghiệm; NK: ngưng kết; NK: mẫu ngưng kết, TL%: tỷ lệ %; nhóm I (O111; O55; O26), nhóm II (O186; O119; O127), nhóm III (O125; O126; O128) nhóm IV (O114; O124; O142)

Qua kết quả trình bày ở bảng 11 cho thấy có tổng số mẫu định type là: 232 mẫu, tổng số mẫu ngưng kết là: 183 mẫu, chiếm tỷ lệ 78,88%. Trong đó nhóm II (O186 + O119 + O127) và nhóm III (O125 + O126 + O128) ngưng kết cao với tỷ lệ là 39,89% và 39,34% một cách tương ứng. Hai nhóm còn lại là nhóm I (O111 + O55 + O26) và IV (O114 + O124 + O142) ngưng kết thấp với tỷ lệ 13,11%, và 7,65% một cách tương ứng. So với một số kết quả định serotype *E. coli* gây bệnh trên gia cầm như :

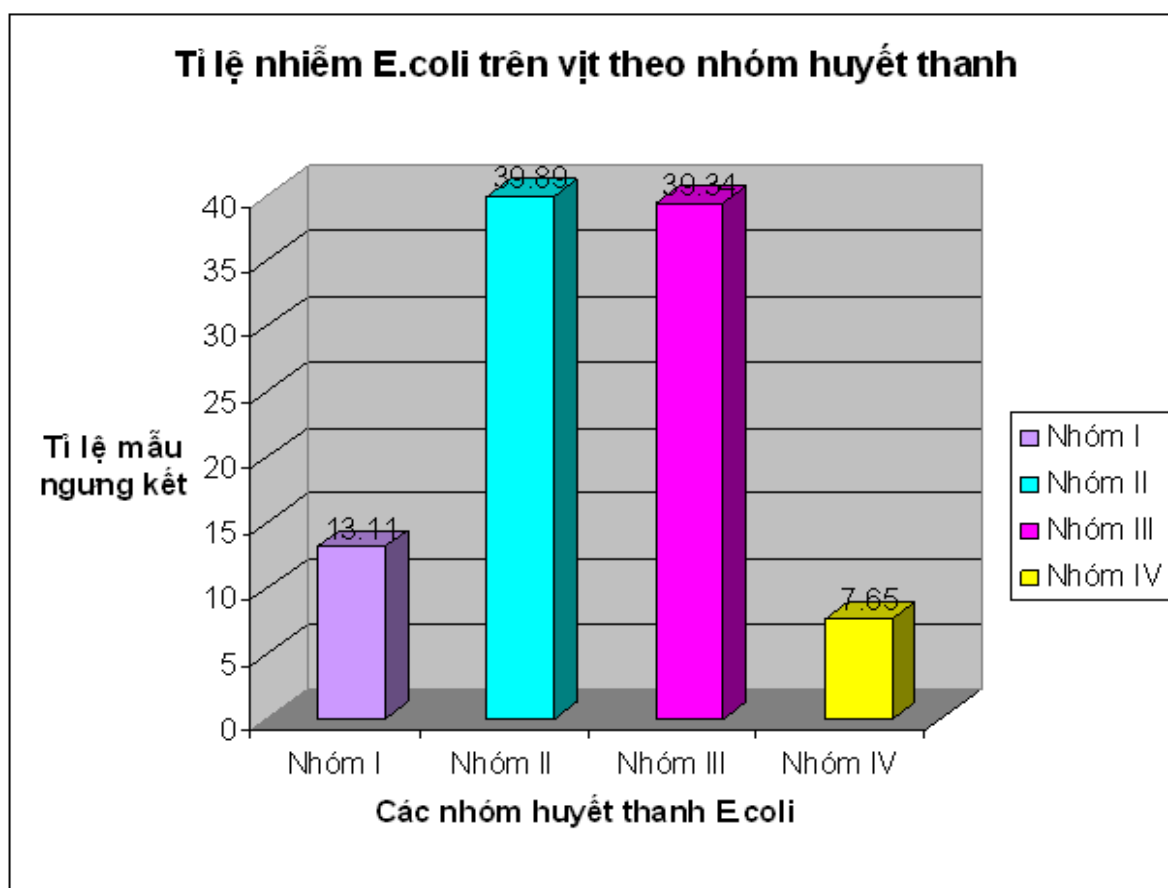
- Dho-Moulin và Fairbrother (1999) nghiên cứu tại Pháp cho rằng hầu hết các Nhóm huyết thanh gây bệnh cho gia cầm là O1, O2, và O78. Tuy nhiên Ewers *et al* (2004) nghiên cứu tại Đức thì cho rằng chỉ có 49,6% của các phân lập dương tính với nhóm huyết thanh O1, O2, và O78 hay Zhao *et al* (2005) nghiên cứu trên 95 phân lập *E. coli* ở Bắc Georgia (Hoa kỳ) từ năm 1996 - 2000 đã xác định được gia cầm nhiễm 20 tít huyết thanh khác nhau, trong đó O78 chiếm 12%.

- Wang *et al* (2010) khi nghiên cứu về phân bố các tít huyết thanh và độc tính liên quan đến gen gây bệnh của *E. coli* phân lập từ vịt ở Trung Quốc cho thấy nhóm huyết thanh O93, O78 và O92 chiếm ưu thế hay cũng trong năm 2010, các nhà khoa học Trung Quốc tại Trung tâm Quốc gia về an toàn thuốc thú y của Đại học Nông nghiệp Nam Trung Quốc đã công bố rằng trên 148 phân lập *E. coli* trên vịt được thu thập từ

2005 đến năm 2008 tại tỉnh Quảng Đông . Kết quả cho thấy 148 phân lập thuộc 21 nhóm huyết thanh khác nhau, trong đó có đến 81% là thuộc một trong tám nhóm huyết thanh: O65 (27%), O78 (10%), O8 (9%), O120 (9%), O2 (7%), O92 (6%), O108 (5%), và O26 (5%).

Từ những nghiên cứu được công bố trên và các serotype chúng tôi định chủng được cho thấy các chủng *E. coli* gây bệnh trên vịt rất đa dạng. Mặc dầu phạm vi khảo sát của chúng tôi không có các serotype O1, O2, và O78 như ở châu Âu, châu Mỹ hay các serotype được định chủng tại Trung Quốc (do không tìm được nguồn cung cấp) nhưng qua kết quả định chủng được chúng tôi cho là có một số serotype lưu hành trên vịt Trà Vinh khác với các chủng phân lập tại Châu Âu, Hoa kỳ hay Trung Quốc. Kết quả này cho thấy cần khảo sát hiệu lực của các loại vacxin phòng bệnh *E. coli* có nguồn gốc từ nước ngoài trước khi áp dụng cho đàn vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh.

Ngoài ra, qua kết quả ngưng kết từ 4 nhóm kháng huyết thanh với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt chạy đồng tại các huyện điều tra vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh chủ yếu nhiễm các serotype O186; O119; O127 (39,89%), O125; O126; O128 (39,34%) và tỷ lệ nhiễm các serotype O114; O124; O142 thì rất thấp (7,65%).

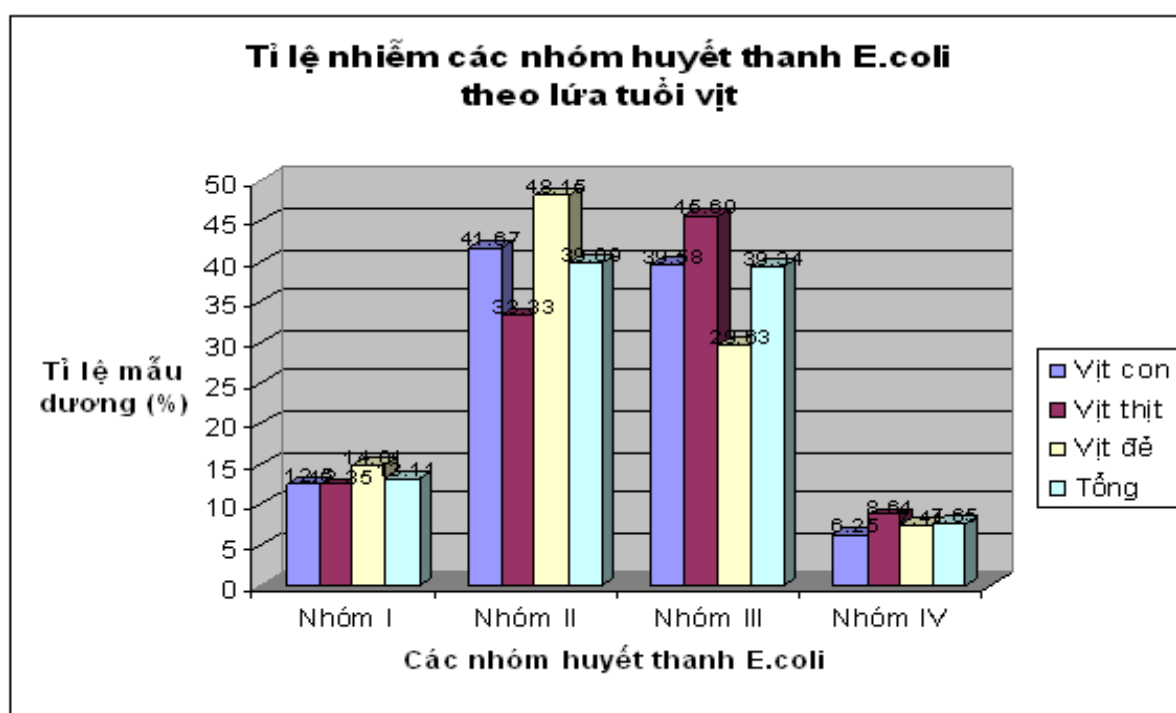


Biểu đồ 7: Tỷ lệ nhiễm *E.coli* trên vịt phân theo các nhóm huyết thanh

Bảng 12: Tỷ lệ ngưng kết các nhóm với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt theo lứa tuổi

Lứa tuổi	Tổng mẫu XN	Tổng mẫu NK	Tỷ lệ %	Trong đó chia ra							
				Nhóm 1		Nhóm 2		Nhóm 3		Nhóm 4	
				NK	TL%	NK	TL%	NK	TL%	NK	TL%
Vịt con từ 1- 30 ngày	64	48	75,00	6	12,50	20	41,67	19	39,58	3	6,25
Vịt thịt > 30 ngày	111	81	72,97	10	12,35	27	33,33	37	45,69	7	8,64
Vịt đẻ	57	54	94,74	8	14,81	26	48,15	16	29,63	4	7,41
Tổng	232	183	78,88	24	13,11	73	39,89	72	39,34	14	7,65

XN: xét nghiệm; NK: ngưng kết; NK: mẫu ngưng kết, TL%: tỷ lệ %



Biểu đồ 8: Tỷ lệ nhiễm các nhóm huyết thanh *E. coli* theo tuổi vịt

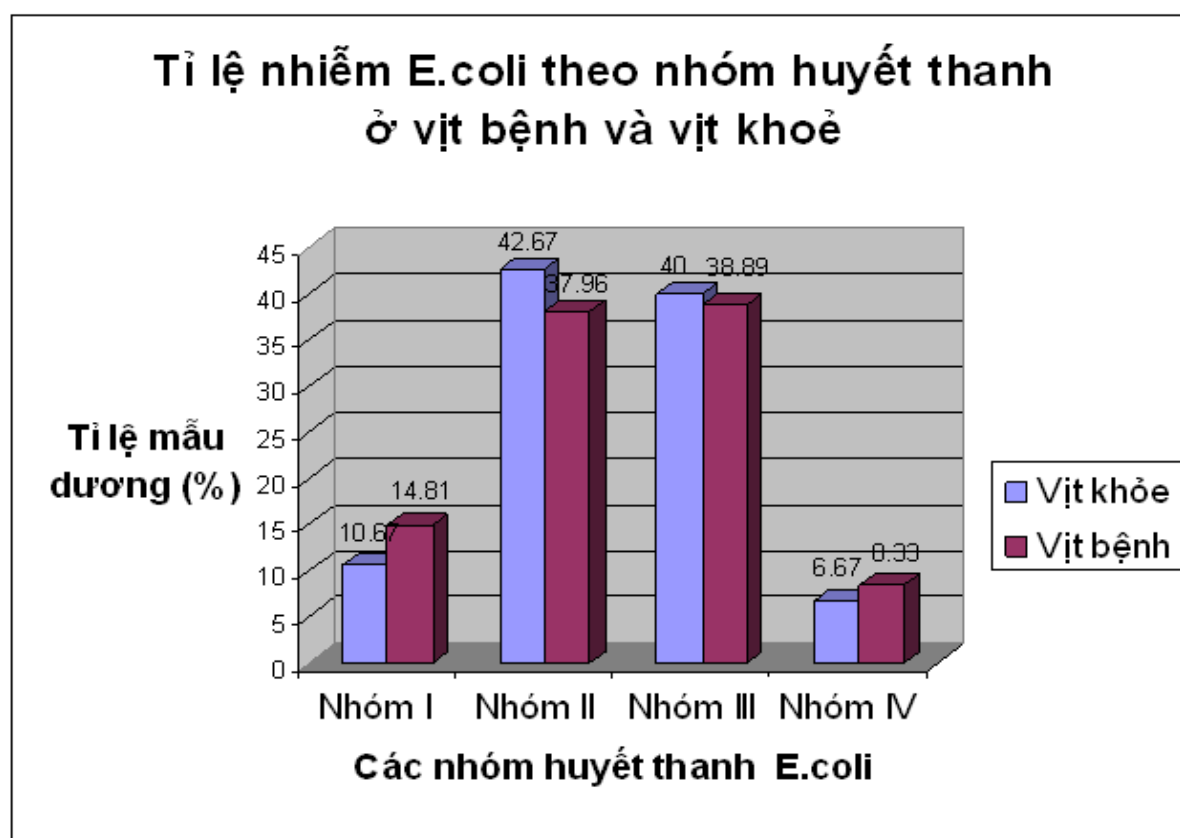
Tiếp tục phân nhóm mẫu dương tính trong phản ứng ngưng kết cho thấy tổng số mẫu ngưng kết là: 183/232 mẫu xét nghiệm chiếm tỷ lệ 78,88%, trong đó, vịt con ngưng kết 48/64 mẫu, chiếm tỷ lệ 75,00%; vịt thịt ngưng kết 81/111 mẫu, chiếm tỷ lệ 72,97%; vịt đẻ ngưng kết 54/57 mẫu, chiếm tỷ lệ 94,74%. Kết quả khác biệt có ý nghĩa ($p = 0,003$) trong các nhóm tuổi vịt cho thấy vịt con có nguy cơ nhiễm bệnh do *E. coli* nhiều hơn vịt thịt và vịt đẻ. Kết quả tạo cơ sở khuyến cáo người chăn nuôi vịt tăng cường các biện pháp phòng bệnh *E. coli* ở vịt con dưới 30 ngày tuổi.

Bảng 13: Tỷ lệ ngưng kết giữa các nhóm với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt khỏe và vịt bệnh

Loại vịt	Tổng mẫu XN	Tổng mẫu NK	Tỷ lệ %	Trong đó chia ra							
				Nhóm 1		Nhóm 2		Nhóm 3		Nhóm 4	
				NK	TL%	NK	TL%	NK	TL%	NK	TL%
Vịt khỏe	104	75	72,12	8	10,67	32	42,67	30	40,00	5	6,67
Vịt bệnh	128	108	84,38	16	14,81	41	37,96	42	38,89	9	8,33
Tổng	232	183	78,88	24	13,11	73	39,89	72	39,34	14	7,65

XN: xét nghiệm; NK: ngưng kết; NK: mẫu ngưng kết, TL%: tỷ lệ %

Phân nhóm mẫu ngưng kết với các nhóm huyết thanh *E. coli* theo nhóm vịt bệnh và vịt khỏe khi lấy mẫu xét nghiệm tại bảng 13 cho thấy vịt khỏe ngưng kết 75/104 mẫu, chiếm tỷ lệ 72,12%; vịt bệnh ngưng kết 108/128 mẫu, chiếm tỷ lệ 84,38%. Kết quả trên cho thấy 12 serotype *E. coli* được khảo sát đặc biệt là các serotype O186; O119; O127 (nhóm II) và O125; O126; O128 (nhóm III) thì có liên quan đến các trường hợp bệnh do *E. coli* trên đàn vịt tỉnh Trà Vinh.



Biểu đồ 9: Tỷ lệ nhiễm *E. coli* theo nhóm huyết thanh ở vịt bệnh và vịt khỏe

4.5 Khảo sát mức độ mẫn cảm kháng sinh với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh

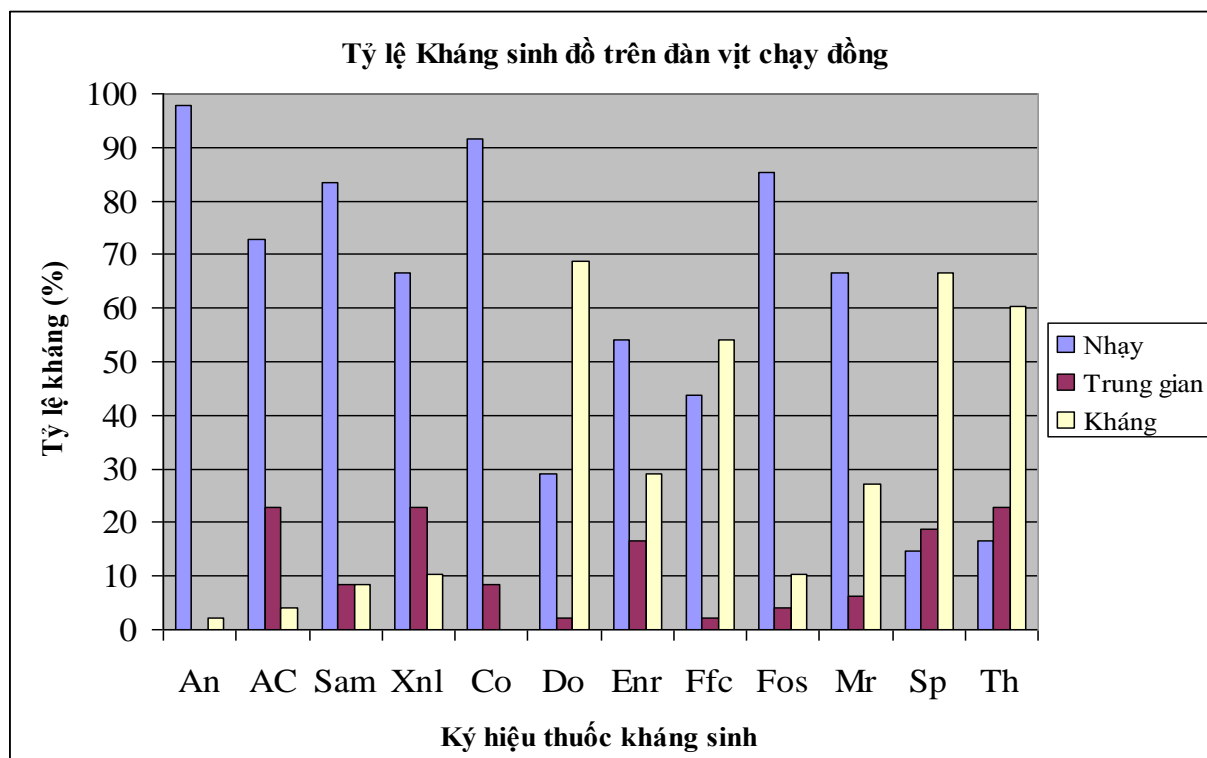
Bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch, chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* từ 48 mẫu phân lập trên vịt với 12 loại kháng sinh được sử dụng phổ biến trong thú y. Kết quả được trình bày qua bảng 16:

Bảng 14. Tổng hợp kết quả kháng sinh đồ của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh ($n=48$)

TT	Kháng sinh khảo sát	Ký hiệu	Đánh giá xếp loại					
			Nhạy		Trung gian		Kháng	
			SL	TL%	SL	TL%	SL	TL%
1	Amikacin 30 μ g	An	47	97,92	0	00	1	2,08
2	Amox+Clavulanic acid 20/10 μ g	AC	35	72,92	11	22,92	2	4,17
3	Ampi+Sulbactam 10/10 μ g	Sam	40	83,33	4	8,33	4	8,33
4	Ceftiofur 30 μ g	Xnl	32	66,67	11	22,92	5	10,42
5	Colistin 50 μ g	Co	44	91,67	4	8,33	0	00
6	Doxycyclin 30 μ g	Do	14	29,17	1	2,08	33	68,75
7	Enrofloxacin 5 μ g	Enr	26	54,17	8	16,67	14	29,17
8	Florfenicol 30 μ g	Ffc	21	43,75	1	2,08	26	54,17
9	Fosfomycin 50 μ g	Fos	41	85,42	2	4,17	5	10,42
10	Marbofloxacin 5 μ g	Mr	32	66,67	3	6,25	13	27,08
11	Spectinomycin 30 μ g	Sp	7	14,58	9	18,75	32	66,67
12	Thiamphenicol 30 μ g	Th	8	16,67	11	22,92	29	60,42

SL: số lượng ; TL: tỷ lệ

Qua bảng 14 kết quả cho thấy vi khuẩn *E. coli* nhạy cảm cao với Amikacin (97,92%), Colistin (91,67%), nhạy cảm tương đối với Fosformycin (85,42%), Ampi+Sulbactam (83,33%), Amox+Clavulanic acid (72,92%), Ceftiofur (66,67%), Marbofloxacin (66,67%). Đồng thời *E. coli* đề kháng mạnh với Doxycyclin (68,75%), Spectinomycin (66,67%), Thiamphenicol (60,42%).



Biểu đồ 10: Kết quả kháng sinh đồ của vi khuẩn *E. coli* trên đàn vịt chạy đồng

Kết quả kháng sinh đồ trên so sánh với một số tác giả cùng nghiên cứu về độ nhạy của kháng sinh *E. coli* đối với gia cầm chúng tôi thấy có một số tương đồng, tuy nhiên cũng có một số khác biệt, ví dụ như:

- Đối với kháng sinh nhóm Fluoroquinolones: Chúng tôi khảo sát Marbofloxacin là một kháng sinh nhóm Fluoroquinolones thế hệ mới cho kết quả tỷ lệ nhạy 66,67%, trung bình 6,25% và kháng là 27,08%. Kết quả này so với Jesus, (1977) thì cao hơn, vì khi khảo sát 468 mẫu *E. coli* phân lập trên gia cầm ở Tây Ban Nha Jesus công bố rằng tỷ lệ kháng Fluoroquinolones từ 13 - 24%, hoặc khi so với Zhao et al (2005) thì tỷ lệ kháng kháng sinh của vi khuẩn gây *E. coli* trên đàn vịt Bắc Georgia (Hoa kỳ) từ năm (1996) và năm (2000) trên kháng sinh nhóm Fluoroquinolones khác nhau tùy loại sử dụng. Cụ thể difloxacin (57%), Enrofloxacin (16%), gatifloxacin (2%), levofloxacin (2%). Trong khi đó hoàn toàn ngược lại là kết nghiên cứu của Nguyễn Xuân Bình et al (2000) thì *E. coli* gây bệnh trên đàn vịt tại tỉnh Long An nhạy cảm Norfloxacin và Flumequin (kháng sinh nhóm Fluoroquinolones) với tỷ lệ là 75 – 90%.

- Đối với kháng sinh nhóm Phenicol, chúng tôi khảo sát Forphenicol và Thiamphenicol là 2 kháng sinh phổ rộng được phép sử dụng trong chăn nuôi và được người chăn nuôi ưa chuộng vì thuốc hấp thu tốt khi dùng qua đường uống (là đường cấp thuốc thuận tiện cho nuôi vịt chạy đồng). Theo kết quả kháng sinh đồ chúng tôi thực hiện tại bảng 16 thì 2 kháng sinh này có tỷ lệ kháng khá cao 54,17% và 60,42%. Tuy nhiên theo nghiên cứu của Võ Thành Thìn, Lê Đình Hải, Vũ Khắc Hùng (2010)

thì vi khuẩn *E. coli* miễn cảm mạnh hoặc Ozawa et al (2008), báo cáo về tính nhạy cảm kháng sinh của *E. coli* gây bệnh gia cầm phân lập ở Nhật Bản thì tỷ lệ kháng Florfenicol chỉ có 6,0%.

- Đối với các kháng sinh có độ nhạy cao trong nghiên cứu này là Amikacin (97,92%), Colistin (91,67%) thì chúng tôi có sự tương đồng với một số tác giả như Võ Thị Trà An (2010) khi thực hiện khảo sát trên 100 phân lập *E. coli*.

- Đối với kháng sinh được sử dụng phổ biến trong một thời gian dài là kháng sinh nhóm Cycline, (trong khảo sát chúng tôi chọn Doxycyclin), kết quả của chúng tôi có tỷ lệ kháng là 68,75%. Kết quả này thì tương tự với nhiều nghiên cứu tính kháng thuốc của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên gia cầm như Wang et al (2010) khi khảo sát 148 phân lập *E. coli* trên vịt được thu thập từ 2005 đến năm 2008 tại tỉnh Quảng Đông cho thấy tỷ lệ kháng Tetracycline lên đến 97% hoặc nghiên cứu của Zhao et al (2005) thuộc Cục Quản lý Thực phẩm và Dược Phẩm Hoa Kỳ khi khảo sát 95 phân lập *E. coli* thu từ các trường hợp chẩn đoán là gia cầm bệnh *E. coli* ở Bắc Georgia từ năm (1996) và năm (2000) cho tỷ lệ kháng Tetracycline là 87%.

Ngoài Doxycycline có tỷ lệ kháng cao trong kết quả ở bảng 16 (68,75%) còn có Spectinomycin có tỷ lệ kháng đến 66,67% nhưng có rất ít tài liệu khảo sát về độ nhạy của kháng sinh này đối với *E. coli* gây bệnh trên gia cầm nên cũng không so sánh được sự thay đổi mức đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* trong các nghiên cứu tương tự. Tuy nhiên tỷ lệ kháng cao như trên chứng tỏ người nuôi đã sử dụng rất nhiều loại kháng sinh trong quá trình điều trị bệnh cho vịt.

Sự khác biệt trong kết quả kháng sinh đề đối với các phân lập *E. coli* từ vịt bệnh cho thấy sự phát triển đặc tính kháng thuốc của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên gia cầm có sự thay đổi và khác nhau ở từng vùng và từng đối tượng khảo sát. Ví dụ như Ojeniyi, (1989) khảo sát trên 864 mẫu lấy từ giáo viên giảng dạy và nghiên cứu ở trang trại gia cầm thuộc Đại học Ibadan và 216 mẫu từ các công nhân tại một trang trại gia cầm thương mại trong Thành phố để kiểm tra *E. coli*, thì thấy là khả năng kháng Streptomycin, Sulphafurazole và Tetracycline. Ngược lại, khi khảo sát 576 mẫu từ người dân làng nuôi gia cầm và 288 mẫu từ người đi lại trong làng để kiểm tra *E. coli* phát hiện nhạy cảm với các loại thuốc này.

Ngoài ra, trong khảo sát tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt tỉnh Trà Vinh chúng tôi có đưa vào 2 công thức kháng sinh dùng phổ biến ở người là Amox+Clavulanic acid và Ampicillin+Sulbactam. Đây là 2 kháng sinh thuộc nhóm β -lactam có tác dụng trên thành tế bào vi khuẩn kết hợp 2 hoạt chất Clavulanic acid và Sulbactam có tác dụng làm mất hoạt tính của β -lactamase, một enzym do vi khuẩn tiết ra để phá hủy thuốc do đó kết hợp này làm tăng tác dụng của thuốc. Trong kết quả kháng sinh đề ở bảng 16, hai công thức kết hợp này có tỷ lệ nhạy cao (72,92 % và

83,33%). Tuy nhiên, kết quả trên chỉ có tính tham khảo vì khi ứng dụng trong điều trị bệnh cho vịt chạy đồng có thể sẽ không kinh tế vì giá thành cao.

Do việc sử dụng kháng sinh không đúng nguyên tắc nên hiện nay việc kháng thuốc của vi khuẩn *E. coli* rất phổ biến. Và vi khuẩn không chỉ kháng 1 mà có thể kháng cùng lúc nhiều kháng sinh làm cho việc điều trị càng trở nên khó khăn hơn.

4.6 Đề xuất quy trình phòng trị bệnh

4.6.1 Phòng bệnh chung:

- Do vịt con rất dễ mắc cảm với vi khuẩn nên chăm sóc ngay từ những ngày đầu, không để vịt con lạnh và ăn thức ăn đậm động vật tươi sống quá sớm như (tép sống, cá sống...). Vệ sinh chuồng trại, thức ăn nước uống trong chăn nuôi.
- Các phương pháp có thể áp dụng để hạn chế vi khuẩn *E. coli* xâm nhập vào ống tiêu hóa và giảm số lượng vi khuẩn lưu trú trên ruột là: sử dụng Probiotic chứa *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus reuteri* để tạo sự cạnh tranh ức chế sự phát triển vi khuẩn *E. coli* ở ruột. (Hoặc trộn hành lá băm nhuyễn với tấm ngâm cho ăn từ ngày thứ 2) nhằm tăng sức đề kháng cho vịt.
- Cần xông thuốc sát trùng trứng trong vòng 2 giờ sau khi vịt đẻ để giảm bớt sự nhiễm khuẩn từ vỏ trứng. Nếu trứng bị bể trong quá trình ấp hoặc dụng cụ, máy ấp bị nhiễm bẩn sẽ tạo một nguồn nguy hại cho các trứng ấp chung.
- Thu nhặt trứng thường xuyên, giữ cho ổ đẻ sạch sẽ, loại bỏ những vật chất có thể gây ô nhiễm.

4.6.2 Phòng bệnh bằng Vaccine: Aviocolivac Neotyphomix do Pháp sản xuất

Lần 1: Tiêm bắp hay dưới da liều 0,2-0,3ml/con lúc 2 tuần tuổi

Lần 2: Sau lần 1 từ 3-5 tuần tiêm bắp hay dưới da liều 0,3ml/con

Lần 3: Trước khi đẻ 2 tuần tiêm bắp hay dưới da liều 0,5ml/con.

4.6.3 Phòng bằng kháng sinh:

Có thể trộn kháng sinh vào thức ăn cho vịt con từ 01 - 10 ngày tuổi sau đó dùng liên tiếp 3 - 4 ngày/tuần/tháng đầu, 3 - 4 ngày/tháng thứ 2. (Kháng sinh sử dụng: Amikacin, Colistin, Fosformycin, Ampicillin+Sulbactam, Amoxicillin+Clavulanic acid, hoặc Cefotaxime. Liều lượng tuân thủ theo hướng dẫn sử dụng trên từng loại thuốc). Tuy nhiên việc phòng bệnh bằng kháng sinh nên hạn chế, tốt nhất nên sử dụng hành lá băm nhuyễn trộn vào thức ăn ngay từ những ngày đầu tập ăn, nhằm giúp tăng cường sức đề kháng cho vịt.

4.6.4 Điều trị

Thông qua kết quả kháng sinh đồ đề nghị sử dụng những loại kháng sinh nhạy cảm cao với vi khuẩn *E. coli* như: Amikacin, Colistin, Ceftiofur, Amox+Clavulanic acid, Fosfomycin, Ampicillin+Sulbactam.

- Cho uống, tiêm hoặc trộn vào thức ăn, tùy theo loại kháng sinh dùng liên tục ít nhất là 5 ngày hoặc cho đến khi bệnh khỏi hẳn. Trường hợp nặng có thể phối hợp 2 loại kháng sinh với nhau để mang lại hiệu quả cao hơn, (liều dùng tùy theo sự hướng dẫn sử dụng ghi trên từng loại thuốc.)

Trong quá trình điều trị có thể phối hợp hai phương pháp tiêm và uống với nhau để mang lại hiệu quả cao và nhanh hơn. Nên bổ sung các loại khoáng, vitamin, C, K và nhóm B trong suốt thời gian điều trị.

TÓM TẮT LỊCH TIÊM VACCINE CHUNG CHO VỊT THỊT VÀ VỊT ĐẼ

Ngày tuổi	Phòng bệnh	Loại Vaccine	Cách dùng
VỊT THỊT			
7	Dịch tả vịt lần 1	Vaccine dịch tả vịt đông khô (đông lạnh).	Pha nước sinh lý theo chỉ định sao cho mỗi liều là 0,25 ml. Tiêm dưới da.
10	<i>E. coli</i> lần 1	Aviocolivac Neotypomix (Pháp sản xuất).	Tiêm bắp hay dưới da liều 0,2-0,3ml/con.
14	Cúm gia cầm lần 1	Vaccine H5N1	Tiêm dưới da cổ phía trên, 0,5 ml/con.
21	Dịch tả vịt lần 2	Vaccine dịch tả vịt đông khô (đông lạnh).	Pha nước sinh lý theo chỉ định sao cho mỗi liều là 0,5 ml. Tiêm dưới da.
30	<i>E. coli</i> lần 2	Aviocolivac Neotypomix (Pháp sản xuất).	Tiêm bắp hay dưới da liều 0,3ml/con.
42	Cúm gia cầm lần 2	Vaccine H5N1	Tiêm vào cơ ngực, 1 ml/con
60	Tụ huyết trùng	Vaccine Tụ huyết trùng keo phèn.	Tiêm bắp hoặc dưới da, 1ml/con.
VỊT ĐẼ			
1- 60	Sử dụng lịch tiêm phòng giống như vịt thịt.		
> 60	Tái chủng vaccine cúm gia cầm, dịch tả vịt, tụ huyết trùng 4 tháng/lần, mỗi loại tiêm cách nhau 1 tuần. Tiêm ngừa vaccine <i>E. coli</i> lần 3: cho vịt trước khi đẻ 2 tuần, tiêm bắp hay dưới da liều 0,5ml/con.		

Nguồn trích từ Nguyễn Đức Hiền (2009) “Bệnh truyền nhiễm trên gia cầm” và “Quy trình tiêm phòng & sử dụng thuốc cho đàn vịt chạy đồng do Công ty Vemedim xuất bản”.

CHƯƠNG 5: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

5.1 Kết luận:

Chăn nuôi vịt chạy đồng là một phương thức chăn nuôi truyền thống và được đa số người dân lựa chọn. Bởi lẽ theo tính toán của người dân thì loại hình chăn nuôi này đầu tư thấp, chăm sóc nuôi dưỡng đơn giản. Trong một thời gian ngắn có thể mang lại lợi nhuận khá cao so với các mô hình chăn nuôi khác trên vịt. Tuy nhiên về mặt dịch tễ thì loại hình chăn nuôi này khá phức tạp và khó kiểm soát, đồng thời nó cũng rất dễ lây lan và phát tán mầm bệnh trên diện rộng.

Cụ thể qua số liệu điều tra cho thấy tình hình dịch bệnh trên đàn vịt trong những năm gần đây có chiều hướng gia tăng và đặc biệt là trên đàn vịt chạy đồng, kết quả đã ghi nhận được tỷ lệ nhiễm bệnh do *E. coli* là rất cao chiếm 60,5%. Đồng thời kết quả xét nghiệm cũng cho thấy tỷ lệ nhiễm là 63,39%. Hai kết quả trên cho thấy mức độ nhiễm *E. coli* trên vịt chạy đồng có độ chính xác khá cao.

Kết quả định nhóm 12 loại kháng nguyên với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh đã xác định được các Serotype II(O186+O119+O127) và III(O125+O126+O128) chiếm tỷ lệ 39,94–39,89%. Các Serotype I(O1111+O55+O26) IV(O114+O124+O142) nhiễm tương đối thấp chiếm tỷ lệ (7,65 - 13,11%).

Qua kết quả kháng sinh đồ cho thấy vi khuẩn *E. coli* nhạy cảm mạnh với kháng sinh Amikacin (97,92%), Colistin (91,67%) và nhạy cảm tương đối với Fosformycin (85,42%), Ampicillin+Sulbactam (83,33%), Amoxicillin+Clavulanic acid (72,92%), Cefotaxime và Marbofloxacin (66,67%). Đồng thời vi khuẩn đề kháng mạnh với Doxycycline (68,75%), Spectinomycin (66,67%), Thiamphenicol (60,42%).

5.2 Đề nghị

Tình trạng vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt đề kháng mạnh với một số loại kháng sinh được thử nghiệm, cho thấy cần tiếp tục nghiên cứu sâu hơn để có thể áp dụng trong công tác điều trị có hiệu quả cao hơn.

Do nguồn kháng huyết thanh chuẩn để định chủng *E. coli* gây bệnh trên vịt trong đề tài chỉ mới giới hạn ở 12 serotype, cho nên cần tiếp tục xác định chủng *E. coli* gây bệnh cho đàn vịt ở một phạm vi khảo sát rộng hơn để có cơ sở cho sự lựa chọn vaccin có chứa serotype *E. coli* gây bệnh phù hợp.

Khuyến cáo người chăn nuôi phải tuân thủ quy trình trình đăng ký chăn thả với địa phương cũng như tiêm phòng đầy đủ các loại Vaccine bắt buộc. Sử dụng các loại kháng sinh có tính nhạy cảm cao để phòng trị đúng quy trình, nhằm tránh tình trạng kháng sinh bị đề kháng nhanh với vi khuẩn.

MỘT SỐ HÌNH ẢNH GIẢI PHẪU LẤY MẪU

Bước 1: Hình 5.1: Giết vịt chết bằng cách hủ tủy



Bước 2: Hình 5.2: Giết chết bằng cách cắt tiết



Bước 3: Hình 5.3a: Nhổ sạch lông vùng bụng

Hình 5.3b: Sát trùng trước khi mổ



Bước 4: Hình 5.4: Tiến hành giải phẫu lấy mẫu



Bước 5: Hình 5.5: Chọn mẫu cần lấy và sát trùng mẫu bằng cồn 70°C



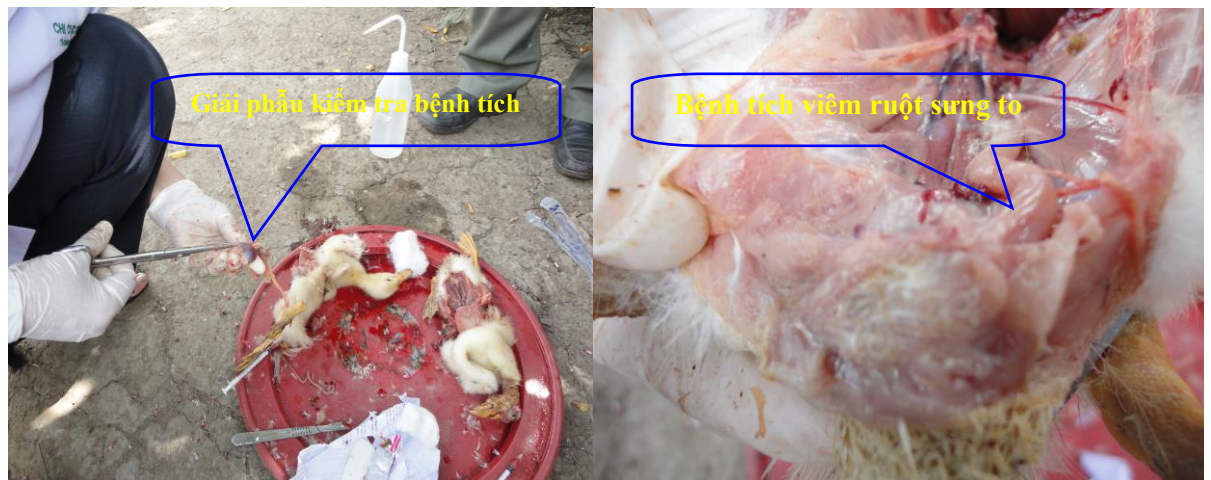
Bước 6: Hình 5.6: Cho mẫu bệnh phẩm vào túi nilon nhỏ hàn kín miệng trừ vào thùng đá



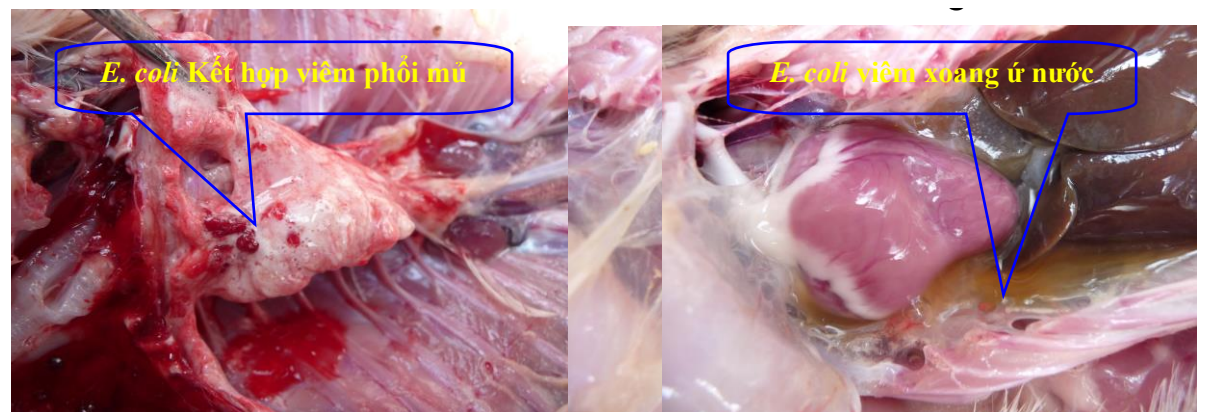
MỘT SỐ HÌNH ẢNH TRÊN ĐÀN VỊT BỆNH 21 NGÀY TUỔI



Hình 5.7: Vịt có triệu chứng bệnh



Hình 5.8: Giải phẫu kiểm tra bệnh tích

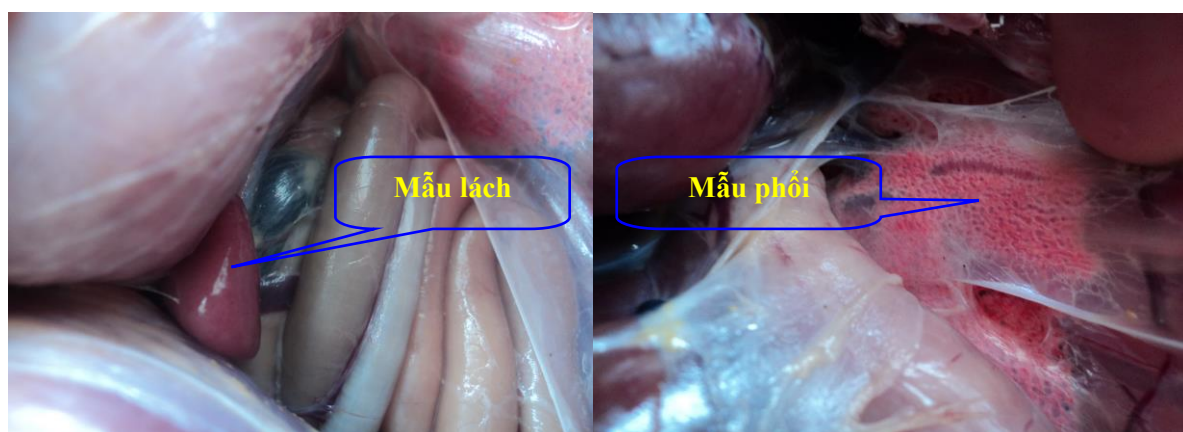


Hình 5.9: Bệnh tích điển hình trên nội tạng

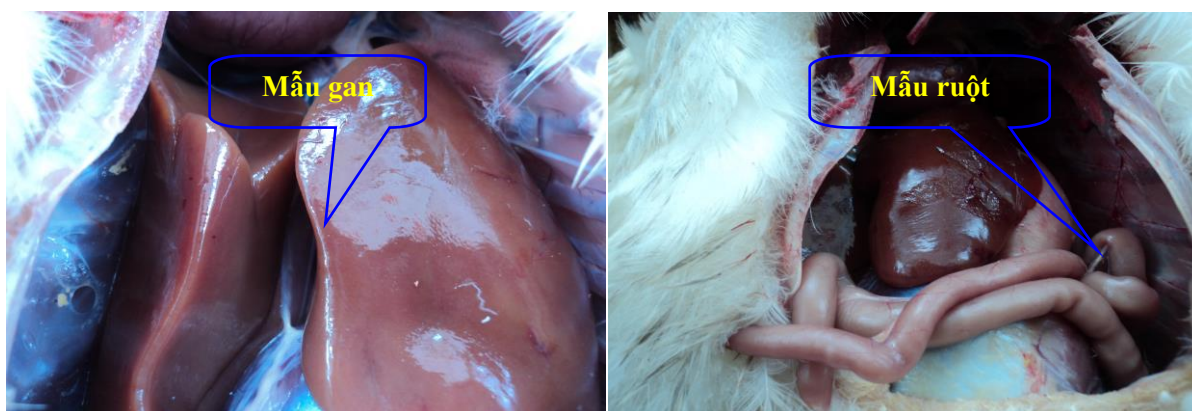
MỘT SỐ HÌNH ẢNH NỘI TẠNG



Hình 5.10: Bệnh tích điển hình



Hình 5.11: Mẫu phân lập (Lách, Phổi)



Hình 5.12: Mẫu phân lập (Gan, Ruột)

MỘT SỐ HÌNH ẢNH PHÂN LẬP PHÒNG THÍ NGHIỆM



Hình 5.13: Cân và môi trường



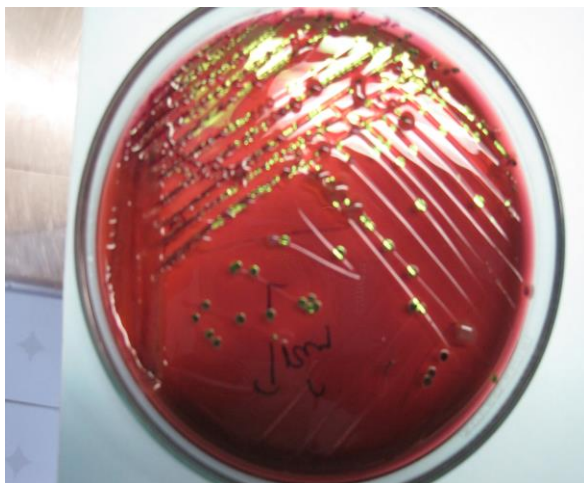
Hình 5.14: Đổ môi trường



Hình 5.15: Bệnh phẩm trong môi trường ban đầu Pepton)



Hình 5.16: Giai đoạn cấy chuyển...



Hình 5.17: *E. coli* trên môi trường EMB



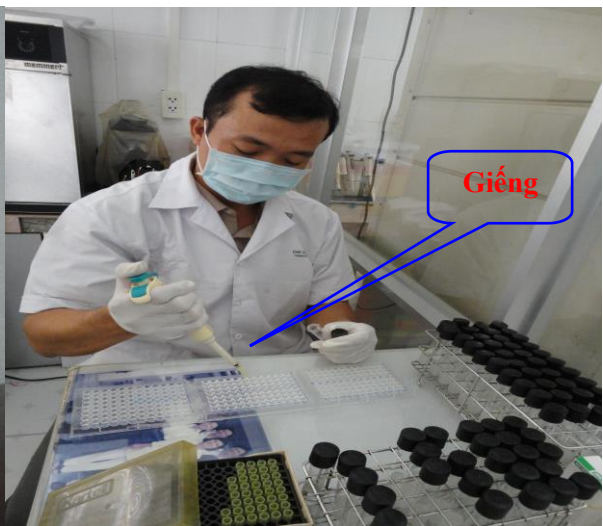
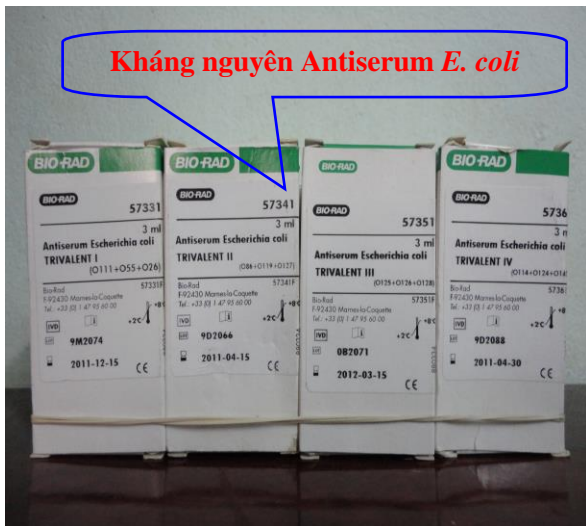
Hình 5.18: *E. coli* trên môi trường MC



Hình 5.19: Quan sát trên kính hiển vi



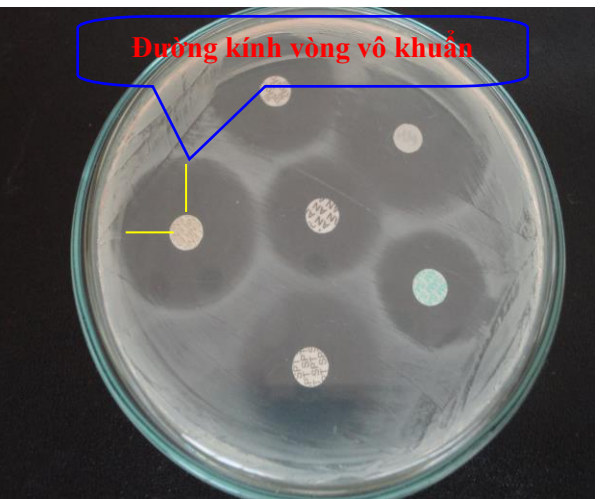
Hình 5.20: Kết quả sinh hóa *E. coli*



Hình 5.21: Định nhóm kháng nguyên Antiserum *E. coli*



Hình 5.22: Kháng sinh trên môi trường MHA



Hình 5.23: Kết quả kháng sinh đồ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

- Bùi Thị Tho, 2003. Thuốc kháng sinh và nguyên tắc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi. NXB Hà Nội.
- Bùi Trung Trực, Nguyễn Việt Nga, Thái Quốc Hiếu, Lê Thanh Hiếu, Nguyễn Ngọc Tuấn, Trần Thị Dân (2003), “*Phân lập và định type kháng nguyên vi khuẩn E. coli trong phân heo nái, heo con tại tỉnh Tiền Giang*“, Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y, Tập XI (số 1 – 2004, tr 12 – 19).
- Đào Trọng Đạt, Phan Thanh Phương (1985), “*Bệnh đường tiêu hoá ở lợn,*” NXB Nông nghiệp, Hà Nội
- Đỗ Ngọc Thúy, Darren Trott, Alan Frost, Kirsty Townsend, Cù Hữu Phú, Nguyễn Ngọc Nhiên, Nguyễn Xuân Huyền, Âu Xuân Tuấn, Văn Thị Hường và Vũ Ngọc Quý (2005), “*Tình kháng kháng sinh của các chủng E. coli phân lập từ heo tiêu chảy ở một số tỉnh miền Bắc Việt Nam*”, Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, Tập IX, (số 2), tr 21 – 27.
- Đỗ Ngọc Thúy, Darren Trott, Cù Hữu Phú, Nguyễn Xuân Huyền, Âu Xuân Tuấn, Văn Thị Hường và Vũ Ngọc Quý (2005), “*Ứng dụng PCR để xác định các yếu tố độc lực của vi khuẩn E. coli gây bệnh tiêu chảy heo con ở một số tỉnh miền Bắc Việt Nam*”, Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, Tập XII, số 5 – 2005, tr 13 – 17.
- Lê Đình Hùng, (1997), “*Đại cương về phương pháp kiểm tra vi sinh thực phẩm*”, Trung tâm KTCL và VSTS (Nafiqacen) chi nhánh IV Tp HCM, 87 – 107.
- Lê Hồng Hinh, 2007. *Vi sinh*, NXB Y học, Tr 30-45
- Lê Văn Tạo, Khương Bích Ngọc, Nguyễn Thị Vui, Đoàn Thị Băng Tâm (1993), “*Nghiên cứu chế tạo vaccin E. coli uống phòng bệnh phân trắng heo con*”, Tạp chí Khoa học công nghệ và quản lý kinh tế, tr 324 – 326.
- Lê Văn Tạo, Khương Bích Ngọc, Nguyễn Thị Vui, Đoàn Thị Băng Tâm (1996), “*Xác định các yếu tố gây bệnh di truyền bằng Plasmid trong vi khuẩn E. coli phân lập từ lợn con bị bệnh phân trắng chọn chủng sản xuất vaccine*” Báo cáo tại Hội thảo REI, Hà Nội.
- Nguyễn Đức Hiền (2009), *Bệnh truyền nhiễm trên gia cầm* Trường Đại học Cần Thơ
- Nguyễn Ngọc Hải và A.milon (2001), “*Ứng dụng kỹ thuật PCR trong nghiên cứu vi khuẩn E. coli gây phù trên heo sau cai sữa*”, Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, Tập VII, số 1 – 2001, tr 27 – 32.
- Nguyễn Ngọc Nhiên, Cù Hữu Phú, Khương Bích Ngọc, Phạm bảo Ngọc, Đỗ Ngọc Thúy, Đào Thị hào, 2000. Kết quả phân lập xác định một số đặc tính sinh hóa của vi khuẩn gây bệnh viêm vú bò sữa và biện pháp phòng trị. Kết quả nghiên cứu KHKT Thú y, Hà Nội, pp.161-170.
- Nguyễn Như Thanh, Nguyễn Bá Hiền, Trần Thị Lan Hương, (1997), “*Vi Sinh Vật Thú Y*”, NXB Nông Nghiệp Hà Nội, pp. 5 – 11, 81 – 85.

- Nguyễn Thị Kim Lan (2003), “*Những biểu hiện lâm sàng và bệnh tích của heo con bị bệnh phù đầu do E. coli ở Thái Nguyên*”, Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, Tập X, số 3 – 2003, tr 57 – 60.
- Nguyễn Thị Kim Lan (2005), “*Một số đặc điểm của vi khuẩn E. coli gây bệnh phù đầu heo con ở Thái Nguyên và Bắc Giang*”, Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, Tập XII số 3 – 2005, tr 29 – 33.
- Nguyễn Trọng Phước (1992-1997) *Bước đầu khảo sát tỷ lệ nhiễm E. coli trên vịt ở tỉnh Long An; quận Gò Vấp; Tp. Hồ Chí Minh*; Luận văn tốt nghiệp Bác sỹ thú y trường Đại Học Nông lâm Tp. Hồ Chí Minh, tr 01-54.
- Nguyễn Vĩnh Phước (1970), *Vi sinh vật học thú y*, tập 1, NXB Đại học và THCN Hà Nội.
- Nguyễn Vĩnh Phước (1977), *Vi sinh vật học thú y*, tập 2, NXB Đại học và THCN Hà Nội.
- Nguyễn Vĩnh Phước (1978), *Vi sinh vật học thú y*, tập 3, NXB Đại học và THCN Hà Nội.
- Nguyễn Xuân Bình; Nguyễn Văn Cường; Lê Thị Mai Khanh; Trần Xuân Hạnh; Tô Thị Phấn; Phùng Duy Hồng Hà (1997- 2000) “*khảo sát tình hình nhiễm E. coli trên đàn vịt tại tỉnh Long An*”.
- Phạm Khắc Hiếu, 1997. Ứng dụng chế phẩm sinh vật hữu hiệu EM phòng trị hội chứng tiêu chảy ở lợn con. Báo cáo khoa học tại hội nghị tổng kết năm 1998 chương trình nghiên cứu đề tài khoa học cấp nhà nước về EM, Hà Nội.
- Phan Trung Nghĩa (2002) *khảo sát tình hình bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa tại Bến Tre và bước đầu tìm hiểu một số tính chất của vi khuẩn E. coli gây bệnh*, Luận văn thạc sĩ khoa học nông nghiệp.
- Trịnh Quang Tuyên (2004) “*Nghiên cứu tình hình tiêu chảy trên heo con từ sơ sinh đến 35 ngày tuổi*” nuôi tại trại heo Tam Điệp (Ninh Bình).
- Võ Thành Thìn (2010), “*Xác định sự nhạy cảm của vi khuẩn E. coli với một số loại kháng sinh Imipeneme, Cefepime, Amikacin, Amoxicillin/Clavulanic, Polymycin B, Flofenicol, Cefprozidime và Ceftriaxon*”.
- Võ Thị Trà An, Đào Thị Phương Lan, Lê Hữu Ngọc và Nguyễn Ngọc Tuấn (2010), “*Đề kháng kháng sinh của E. coli phân lập từ vật nuôi và sự hiện diện của β -Lactamase phổ rộng (ESBL)*”, Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y, Tập XVII, số 2 – 2010, tr 42 – 46.
- Võ Văn Thìn *et al.*, (2009) “*Nghiên cứu sử dụng phương pháp PCR – RFLP để xác định kháng nguyên F4, F18 và các biến chủng E. coli phân lập từ heo con mắc bệnh tiêu chảy*”
- Vũ Khắc Hùng, Lê Văn Tạo, E.Philipinec (2005), “*Xác định các loại độc tố thường gặp của vi khuẩn E. coli phân lập từ heo con bị bệnh tiêu chảy bằng phương pháp PCR*”, Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, Tập XII, số 2 – 2005, tr 54 – 62.
- Vũ Khắc Hùng, Lê Văn Tạo, E.Philipinec (2005), “*Xác định các loại kháng nguyên bám dính thường gặp ở vi khuẩn E. coli phân lập từ heo con bị bệnh tiêu chảy bằng phương pháp PCR*”, Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y, Tập XII, số 3 – 2005, tr 22 – 28.

Tiếng nước ngoài.

- Alexa P., K. Stouracova, J. Hamrik, E. Salajka (2002), *Gene seotyping of the colonisation factors F18 of Escherichia coli isolated from piglets suffering from post-weaning oedema disease*, Vet. Med. – Czech, 47, 2002 (5), pp 132 – 136
- Barbara E. Murray, Doyle J. Evans, Maria E. Penaranda and Dolores G. Evans (1983), CFA/I-ST Plasmids, *Comparison of Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) of Serogroups 025, 063, 078, and 0128 and Mobilization from an R Factor-Containing Epidemic ETEC Isolate*, journal of bacteriology, Jan. pp. 566 – 570.
- Barnes, H.J., and F. Lozano, 1994. Colibacillosis in poultry. In Pfizer Veterinary Practicum, Pfizer Animal Health
- Bertschinger H.U, Bachmann M, Mettler C, Pospischil A, Schraner E.M, Stamm M, Sydler T, and Wild P (1990), *Vet Microbiol 25, Adhesive fimbriae produced in vivo by Escherichia coli O139: K12(B):H1 associated with enterotoxaemia (edema disease) in pigs*. pp. 267 – 281.
- Bertschinger H.U, Eggenberger U, Jucker H., and Pfirter H. P. (1978), *"Evaluation of low nutrient, high fibre diets for the prevention of porcine Escherichia coli enterotoxaemia"*, *Vet Microbiol 3*: pp 281 – 290.
- Bertschinger H.U and Polenz J. (1983), *"Bacterial colonization and morphology of the intestine in porcine Escherichia coli enterotoxaemia (edema disease)"*, *Vet Pathol 20*: pp 99 – 110.
- Dho-Moulin M, Fairbrother JM. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet Res.* 1999 Mar-Jun;30(2-3):299-316.
- Ewers C, Janssen T, Kiessling S, Philipp HC, Wieler LH. Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. *Vet Microbiol.* 2004 Nov 30;104(1-2):91-101
- Faibrother. J. M., Bertschinger H. U., Nielsen N. O., and Pohlens J. E. (1992), *Escherichia coli infection*, Diseases of Swine, seventh edition.
- Isaacson R. E (1983), Regulation of expression of *Escherichia coli* pilus K99, *Infect, Immun*, pp. 633 – 639
- Jesus E. Blanco, Miguel Blanco, Azucena Mora, and Jorge Blanco (1997), *Prevalence of Bacterial Resistance to Quinolones and Other Antimicrobials among Avian Escherichia coli Strains Isolated from Septicemic and Healthy Chickens in Spain*, *Journal of clinical microbiology*, Aug.1997, pp.2184-2185. Vol.35, No.8
- Levine, M. M (1987), *Escherichia coli that cause diarrhea: enterotoxin, enteropathogenic, enterovasive, enterohemorrhagic and enteroadherent*, *Journal of infectious diseases*: pp. 377-380.
- MacConkey J. H. 5:33. 1905. Joseph Md. State. Dept. Health. Procedures, 1960. European Pharmacopoeia 6.3

- MacLeod D.L., and Gyles C.L.(1990), "*Purification and characterization of an E. coli Shiga-like toxin II variant*", *Infect Immun* 58: 1232 – 1239.
- Mário Paulo A. Penatti, Alex S. Silva, Geórgio F. Valadares and Domingos S. Leite (2005), "*Occurrence of F42 colonization factor in Escherichia coli strains isolated from piglets with diarrhea*" *Pesq. Vet. Bras.* 25(1):31-33, jan./mar.
- Michael P.Doyle và Jean L.Shoent, 1984. Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis.
- Nietfeld J. C. and T. Yeary (2002), "*Pilus Genes in Escherichia coli isolated from pigs with diarrhea*", *Swine Day: pp60 – 62*.
- Orskov., Andersen. A (1980), Comparison of *Escherichia coli* fimbriae antigen F7 with type I. Fimbriae, *Infect. Immun*, pp. 657 – 666.
- Ozawa M, Harada K, Kojima A, Asai T, Sameshima T. Antimicrobial susceptibilities, serogroups, and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates in Japan. *Avian Dis.* 2008 Sep;52(3):392-7.
- Shooter, R. A., E. M. Cooke, S. O'Farrell, K. A. Bettelheim, M. E. Chandler, and F. M. Bushrod. (1974), "*The isolation of Escherichia coli from a poultry packing station and an abattoir*". *J. Hyg.* 73:245-247.
- Smith H.W., and Halls . (1968), "*The production of oedema disease and diarrhea in weaned pigs by the oral administration of Escherichia coli: Factors that influence the course of the experimental disease*", *Med Microbiol*, pp 45 – 59.
- Smith, K. E., J. M. Besser, C. W. Hedberg, F. T. Leano, J. B. Bender, J. H. Wicklund, B. P. Johnson, K. A. Moore, M. T. Osterholm, and T. I. Team. (1999), "*Quinolone-resistant Campylobacter jejuni infections in Minnesota, 1992-1998*". *N. Engl. J. Med.* 340:1525-1532.
- Van Den Bogaard A. E., N. London, C. Driessen and E. E. Stobberingh. (1999), "*Antibiotic resistance of faecal Escherichia coli in poultry, poultry farmers and slaughterers*", **University Hospital Maastricht, Department of Medical Microbiology, PO Box 5800, 6202 AZ Maastricht, The Netherlands**

Internet

- <http://www.ioit-hcm.ac.vn/thong-tin-cong-nghe/cong-nghe-moi/168-luu-tru-thong-tin-tren-vi-khuan.html>
- <http://www.fuga.ru/tok/2003/11/e-coli-small.jpg>
- <http://cdybinhduong.edu.vn/home/index.php?ns=cuocsong&task=/20110618110657646p61c67/nhiem-vi-khuan-ecoli-tai-chau-au-ecoli-bien-the-va-khang-thuoc.htm>
- http://bantin.com/thumb_articles/2011/06/07/thumb_120_90/chung-e-coli-cuc-doc-hoanh-hanh-o-0.jpg
- <http://www.baoangiang.com.vn/resources/newsimg/001/03186/86t3.jpg>
- http://enews.agu.edu.vn/uploads/imgposts/u10836_t1301036986_W2aMb.JPG
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1489605/>
- <http://www.3dscience.com>
- http://www.en.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

PHỤ CHƯƠNG

PHIẾU LẤY MẪU XÉT NGHIỆM

Số:...../BB-KTLM

Hôm nay, lúc.....giờ.....ngày.....tháng.....năm.....

Tại địa điểm:.....

Chúng tôi gồm:

1. Ông/bà:.....**Chức vụ:**.....

Là thực hiện đề tài.

2. Ông/bà:.....là chủ vật nuôi (hoặc người đại diện)

Địa chỉ.....:

Điện thoại:.....Fax:.....Email:.....

Chúng tôi đã tiến hành kiểm tra và lấy mẫu bệnh phẩm sau đây để xét nghiệm:

Lấy mẫu xét nghiệm bao gồm:

- Đối tượng:

- Tháng tuổi:

- Tình trạng:

- Giống vịt:

- Thú khác:

- Loại mẫu cần lấy: ví dụ: (Gan; Lách; Phổi; Ruột; Phân...)

- Số lượng mẫu:.....

- Ký hiệu mẫu:.....

- Thời gian trả lời kết quả vào ngày.....tháng.....năm.....

Chủ vật nuôi (hoặc người đại diện)

(Ký, ghi rõ họ tên)

Người lấy mẫu

(Ký, ghi rõ họ tên)

**MẪU TỔNG HỢP ĐIỀU TRA VỀ TÌNH HÌNH
CHĂN NUÔI & DỊCH BỆNH TRÊN ĐÀN VỊT TỈNH TRÀ VINH**

1. Ngày: .../...../20....

2. Địa điểm:

3. Thành phần tham gia:

Họ tên Cá nhân/Đơn vị	Địa chỉ
	Phòng nghiệp vụ Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn Tỉnh.
	Chi cục Thú y
	Trung tâm Khuyến nông.

4. Số lượng vịt nuôi tại tỉnh Trà Vinh (2010)

Hình thức nuôi	Tổng đàn	Trong đó chia ra			
		Vịt thịt	Vịt đẻ	Vịt xiêm	khác
Nuôi chạy đồng					
Nuôi nhốt chuồng					
Hình thức khác					

5. Tình hình nhiễm bệnh trước đây (2007 - 2010)

Phương thức nuôi	Tỷ lệ bệnh chung	Trong đó chia ra (%)			
		<i>E. coli</i>	<i>THT</i>	<i>PTH</i>	Bệnh khác
Vịt nuôi chạy đồng					
Vịt nuôi nhốt chuồng					
Hình thức khác					

6. Kết quả chẩn đoán bệnh vệt thực hiện tại các phòng mạch và cửa hàng thuốc thú y, huyện, Thành phố...

Nơi mổ khám chẩn đoán	Số vệt mổ khám	Kết quả chẩn đoán qua mổ khám			
		<i>E. coli</i>	<i>THT</i>	<i>PTH</i>	Bệnh khác

Người thực hiện

Người cung cấp thông tin

MẪU TỔNG HỢP ĐIỀU TRA CẤP HUYỆN
VỀ TÌNH HÌNH CHĂN NUÔI & DỊCH BỆNH TRÊN ĐÀN VỊT

1. Ngày:/...../ 20.....

2. Huyện:

3. Thành phần tham gia:

Họ tên	Địa chỉ
	Phòng Nông nghiệp
	Trạm Thú y
	Trạm Khuyến nông

4. Số lượng thủy cầm nuôi tại huyện (2010)

Hình thức nuôi	Tổng đàn	Trong đó chia ra			
		Vịt thịt	Vịt đẻ	Vịt xiêm	khác
Nuôi chạy đồng					
Nuôi nhốt chuồng					
Hình thức khác					

5. Tình hình nhiễm bệnh trong 4 năm (2007 - 2010)

Phương thức nuôi	Tỷ lệ bệnh chung	Trong đó chia ra (%)			
		<i>E. COLI</i>	<i>THT</i>	<i>PTH</i>	khác
Vịt nuôi chạy đồng					
Vịt nuôi nhốt chuồng					
Hình thức khác					

6. Tình hình sử dụng thức ăn

- Thức ăn công nghiệp
- Thức ăn tự chế biến
- Kết hợp cả 02 loại trên (tỷ lệ %) thức ăn công nghiệp ...% thức ăn tự chế biến ..%
- Thứ khác.....

7. Các giống vịt thường được nuôi

.....

.....

.....

Người thực hiện

Người cung cấp thông tin

**MẪU ĐIỀU TRA VỀ TÌNH HÌNH CHĂN NUÔI
& DỊCH BỆNH TRÊN ĐÀN VỊT TẠI XÃ VÀ CÁC HỘ CHĂN NUÔI**

1. Thông tin chung

1. Họ tên chủ hộ:	Mã phiếu điều tra: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
	Cán bộ điều tra không ghi vào ô này
2. Tên ấp:	3. Tên xã:
4. Tên huyện:	5. Ngày điều tra: ngày...tháng ...năm 20..
6. Kinh nghiệm chăn nuôi vịt?	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Năm
7. Có tập huấn kỹ thuật chăn nuôi vịt?	Có <input type="checkbox"/> , không <input type="checkbox"/>
8. Tổng đàn vịt nông hộ đang nuôi?	<input type="text"/> Con
9. Trong đó:	Thịt <input type="text"/> con Đẻ <input type="text"/> con

10. Tình hình nhiễm bệnh trong 4 năm gần đây nhất.

Các dữ liệu thu nhận	Tình hình bệnh qua các năm			
	2007	2008	2009	Ngày lúc điều tra/2010
Tổng đàn (con)				
Tổng bệnh (con)				
Thời gian xảy ra bệnh (tháng mấy trong năm)
Loại vịt mắc bệnh (vịt con, vịt thịt, vịt đẻ)

Triệu chứng
Bệnh tích
Thuốc sử dụng điều trị (tên thuốc)
Hiệu quả thuốc điều trị

11. Tình hình sử dụng thức ăn

- Thức ăn công nghiệp Thức ăn tự chế biến
- Kết hợp cả 02 loại trên (tỷ lệ %) Thức ăn công nghiệp% Thức ăn tự chế biến..... %
- Thứ khác.....

12. Tiêm phòng các bệnh trước và trong thời gian nuôi (đánh chéo vào bệnh có tiêm ở ô phía dưới).

Loại	Dịch tả	Tụ huyết trùng	Cúm	Khác

Người phỏng vấn

Người cung cấp thông tin ký tên

CÁC THÔNG SỐ CHẠY THỐNG KÊ

Bảng 7. Kết quả điều tra hồi cứu tình hình dịch bệnh trên đàn vịt chạy đồng tỉnh Trà Vinh (từ 2007 - 2010).

Chi-Square Test: *E. coli*, THT, TH, khác (so sánh *E. coli* với bệnh khác)

	<i>E. coli</i>	TH	PTH	Bệnh khác	Total	
Tiểu Cần	1303	280	124	440	2147	
	1299.14	320.65	214.28	312.93		
Cầu Kè	7035	1986	1640	1568	12229	
	7399.73	1826.39	1220.48	1782.40		
Trà Cú	2081		540	113	482	3216
	1945.99		480.31	320.96	468.74	
Châu Thành	1525	142	93	387	2147	
	1299.14	320.65	214.28	312.93		
Total	11944	2948	1970	2877	19739	

Chi-Sq = 0.011 + 5.154 + 38.034 + 51.599 + 17.977 + 13.949 + 144.200 + 25.790 + 9.367 + 7.419 + 134.748 + 0.375 + 39.266 + 99.537 + 68.640 + 17.532 = 673.597
 DF = 9, P-Value = 0.000

Chi-Square Test: Tiểu Cần, Cầu Kè, Trà Cú, Châu Thành (*E. coli* giữa các huyện)

	Tiểu Cần	Cầu Kè	Trà Cú	Châu Thành	Total	
<i>E. coli</i>	1303	7035	2081	1525	11944	
	1300.60		7262.23	1996.89	1384.29	
Bệnh chung	2147	12229		3216	2147	19739
	2149.40	12001.77		3300.11		2287.71
Total	3450	19264		5297	3672	31683

Chi-Sq = 0.004 + 7.110 + 3.543 + 14.303 + 0.003 + 4.302 + 2.144 + 8.655 = 40.064
 DF = 3, P-Value = 0.000

Bảng 8: Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* theo lứa tuổi trên vịt chạy đồng (2007 – 2010)

Chi-Square Test: Vịt con, Vịt thịt, Vịt đẻ

	Vịt con	Vịt thịt	Vịt đẻ	Total	
Tiểu cần	860	246	197	1303	
	749.91		345.61	207.48	
Cầu kè	3844	1958	1233	7035	
	4048.82		1865.98	1120.20	
Trà cú	1205		489	226	1920
	1105.01		509.27	305.73	
Châu thành	774	387	193	1354	
	779.26		359.14	215.60	
Total	6683	3080	1849	11612	

Chi-Sq = 16.162 + 28.710 + 0.529 + 10.361 + 4.538 + 11.359 + 9.048 + 0.806 + 20.790 + 0.036 + 2.161 + 2.369 = 106.870
 DF = 6, P-Value = 0.000

Chi-Square Test: Vit con, Vit thit

	Vit con	Vit thit	Total
Tieu can	860 246		1106
	757.08	348.92	
Cau ke	3844 1958	5802	
	3971.60	1830.40	
Tra cu	1205	489	1694
	1159.58	534.42	
Chau thanh	774	387	1161
	794.73	366.27	
Total	6683 3080	9763	

$$\text{Chi-Sq} = 13.991 + 30.357 + 4.100 + 8.896 + 1.779 + 3.860 + 0.541 + 1.173 = 64.696$$

$$\text{DF} = 3, \text{P-Value} = 0.000$$

	m=6683	n=3080
Trị số Chi Bình Phương	64.69	
Độ Tự do	3	
P (Ho) =	0.001	**

Chi-Square Test: Vit de, Vit con

	Vit de	Vit con	Total
Tieu can	197 860		1057
	229.07	827.93	
Cau ke	1233 3844	5077	
	1100.25	3976.75	
Tra cu	226	1205	1431
	310.12	1120.88	
Chau thanh	193 774	967	
	209.56	757.44	
Total	1849 6683	8532	

$$\text{Chi-Sq} = 4.489 + 1.242 + 16.016 + 4.431 + 22.816 + 6.313 + 1.309 + 0.362 = 56.977$$

$$\text{DF} = 3, \text{P-Value} = 0.000$$

	m=1849	n=6683
Trị số Chi Bình Phương	56,977	
Độ Tự do	3	
P (Ho) =	0.001	**

Chi-Square Test: Vit thit, Vit de

	Vit thit	Vit de	Total
Tieu can	246 197	443	
	276.82	166.18	
Cau ke	1958 1233	3191	
	1993.97	1197.03	
Tra cu	489 226	715	
	446.78	268.22	
Chau thanh	387 193	580	

	362.43	217.57
Total	3080	1849 4929

Chi-Sq = 3.431 + 5.715 + 0.649 + 1.081 + 3.989 + 6.645 + 1.666 + 2.775 = 25.951
 DF = 3, P-Value = 0.000

	m=3080	n=1849
Trị số Chi Bình Phương	25.95	
Độ Tự do	3	
P (Ho) =	0.001	**

Chi-Square Test: Tiêu cần, Câu Kè, Trà Cú, Châu Thành

	Tieu can	Cau ke	Tra cu	Chau thanh
Total				
Nhiem <i>E.coli</i>	1303 7035	1920	1354 11612	
	2820.56	4293.99	1790.87	2706.58
Khong nhiem	88127 129112	54862	84462 356563	
	86609.44	1.32E+05	54991.13	83109.42
Total	89430 136147	56782	85816 368175	

Chi-Sq = 816.504 + 1.7E+03 + 9.311 + 675.936 + 26.591 + 56.981 + 0.303 + 22.013 = 3357.329
 DF = 3, P-Value = 0.000

Bảng 9: Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* theo mùa trên vịt chạy đồng (từ 2007 – 2010)

Chi-Square Test: Mua, Nang

	Mua	Nang	Total
Tieu can	950	353	1303
	802.87	500.13	
Cau ke	4205	2830	7035
	4334.78	2700.22	
Tra cu	1097	823	1920
	1183.05	736.95	
Chau thanh	903	451	1354
	834.30	519.70	
Total	7155	4457	11612

Chi-Sq = 26.961 + 43.282 + 3.885 + 6.237 + 6.259 + 10.048 + 5.657 + 9.082 = 111.412
 DF = 3, P-Value = 0.000

	m=7155	n=4457
Trị số Chi Bình Phương	111.412	
Độ Tự do	3	
P (Ho) =	0.001	**

Chi-Square Test: Tiêu cần, Cầu kè, Trà cú, Châu thành

	Tieu can	Cau ke	Tra cu	Chau thanh	Total
nang	353	2830	823	451	4457
	500.13	2700.22	736.95	519.70	
Mua	950	4205	1097	903	7155
	802.87	4334.78	1183.05	834.30	
Total	1303	7035	1920	1354	11612

Chi-Sq = 43.282 + 6.237 + 10.048 + 9.082 + 26.961 + 3.885 + 6.259 + 5.657 = 111.412
 DF = 3, P-Value = 0.000

Bảng 10: Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên vịt theo huyện: (n=366)

Chi-Square Test: Duongtin, AmTinh

Expected counts are printed below observed counts

	Duongtin	AmTinh	Total
Tiểu Cần	55	36	91
	57.68	33.32	
Cầu Kè	60	21	81
	51.34	29.66	
Trà Cú	66	32	98
	62.12	35.88	
Châu Thành	51	45	96
	60.85	35.15	
Total	232	134	366

Chi-Sq = 0.125 + 0.216 + 1.459 + 2.526 + 0.242 + 0.420 + 1.595 + 2.762 = 9.345
 DF = 3, P-Value = 0.025

	m=232	n=134
Trị số Chi Bình Phương	9.345	
Độ Tự do	3	
P (Ho) =	0.025	*

Chi-Square Test: Tieu can, Cau ke, Tra cu, Chau thanh

	Tieu can	Cau ke	Tra cu	Chau thanh	Total
Duong tinh	58	51	63	60	232
	57.68	51.34	62.12	60.85	
Am tinh	33	30	35	36	134
	33.32	29.66	35.88	35.15	
Total	91	81	98	96	366

Chi-Sq = 0.002 + 0.002 + 0.012 + 0.012 + 0.003 + 0.004 + 0.022 + 0.021 = 0.078
 DF = 3, P-Value = 0.994

Bảng 11: Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên vịt theo lứa tuổi

Chi-Square Test: Vit con, Vit Thit, Vit De

Expected counts are printed below observed counts

	Vit con	Vit Thit	Vit De	Total
Tieu Can	14	33	8	55
	15.17	26.31	13.51	
Cau Ke	12	35	13	60
	16.55	28.71	14.74	
Tra Cu	19	28	19	66
	18.21	31.58	16.22	
Chau Thanh	19	15	17	51
	14.07	24.40	12.53	
Total	64	111	57	232

$$\text{Chi-Sq} = 0.091 + 1.698 + 2.249 + 1.252 + 1.380 + 0.206 + 0.035 + 0.405 + 0.478 + 1.728 + 3.622 + 1.594 = 14.738$$

DF = 6, P-Value = 0.022

Chi-Square Test: Tieu can, Cau ke, Tra cu, Chau thanh cua vit con

Expected counts are printed below observed counts

	Tieu can	Cau ke	Tra cu	ChauThan	Total
Nhiem	14	12	19	19	64
	14.12	13.18	17.88	18.82	
Khong Nhiem	16	16	19	21	72
	15.88	14.82	20.12	21.18	
Total	30	28	38	40	136

$$\text{Chi-Sq} = 0.001 + 0.105 + 0.070 + 0.002 + 0.001 + 0.093 + 0.062 + 0.001 = 0.335$$

DF = 3, P-Value = 0.953

	m=64	n=72
Trị số Chi Bình Phương	0.335	
Độ Tự do	3	
P (Ho) =	0.953	NS

Chi-Square Test: Tieu can_t, Cke_t, Tra cu_t, Chau thanh_t cua vit thit

Expected counts are printed below observed counts

	Tieu can	Cau ke	Tra cu	ChauThan	Total
Nhiem	33	35	28	15	111
	34.98	25.56	25.56	24.89	
Khong Nhiem	19	3	10	22	54
	17.02	12.44	12.44	12.11	
Total	52	38	38	37	165

$$\text{Chi-Sq} = 0.112 + 3.483 + 0.232 + 3.930 + 0.231 + 7.160 + 0.477 + 8.079 = 23.705$$

DF = 3, P-Value = 0.000

Chi-Square Test: Tcan_d, Cke_d, Tracu_d, Chthanh_d của vit de

	Tcan_d	Cke_d	Tracu_d	Chthanh_	Total
Nhiem	8	13	19	17	57
	7.89	13.15	19.29	16.66	
Khongnhiem	1	2	3	2	8
	1.11	1.85	2.71	2.34	
Total	9	15	22	19	65

Chi-Sq = 0.001 + 0.002 + 0.004 + 0.007 + 0.010 + 0.013 + 0.032 + 0.049 = 0.118
 DF = 3, P-Value = 0.990

Bảng 12: Tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên vịt theo tình trạng sức khỏe

Chi-Square Test: Vitkhoe, vitbenh

	Vitkhoe	vitbenh	Total
Tieu can	24	34	58
	26.11	31.89	
	0.171	0.140	
Cauke	24	27	51
	22.96	28.04	
	0.047	0.038	
Tra cu	28	34	62
	27.91	34.09	
	0.000	0.000	
Chauthanh	28	32	60
	27.01	32.99	
	0.036	0.030	
Total	104	127	231

Chi-Sq = 0.462, DF = 3, P-Value = 0.927

Bảng 13: Tỷ lệ ngưng kết giữa 4 nhóm với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt theo huyện

Chi-Square Test: Nket, KgNket

	Nket	KgNket	Total
Tieu can	42	16	58
	45.75	12.25	
Cau ke	42	9	51
	40.23	10.77	
Tra cu	50	13	63
	49.69	1	3.31
Chau thanh	49	11	60
	47.33	12.67	
Total	183	49	232

Chi-Sq = 0.307 + 1.148 + 0.078 + 0.291 + 0.002 + 0.007 + 0.059 + 0.221 = 2.113
 DF = 3, P-Value = 0.549

Chi-Square Test: Tcan, Cke, Tracu, Chthanh

	Tcan	Cke	Tracu	Chthanh	Total
Ngung ket	42	42	50	49	183
	45.75	40.23	49.69	47.33	
KgNgung ket	16	9	13	11	49
	12.25	10.77	13.31	12.67	
Total	58	51	63	60	232

$$\text{Chi-Sq} = 0.307 + 0.078 + 0.002 + 0.059 + v1.148 + 0.291 + 0.007 + 0.221 = 2.113$$

$$\text{DF} = 3, \text{P-Value} = 0.549$$

Bảng 14: Tỷ lệ ngưng kết các nhóm với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt theo lứa tuổi

Chi-Square Test: Vit con, Vit thit, Vit de

	Vit con	Vit thit	Vit de	Total
Ngung ket	48	81	54	183
	50.48	87.56	44.96	
Kg Ngung ket	16	30	3	49
	13.52	23.44	12.04	
Total	64	111	57	232

$$\text{Chi-Sq} = 0.122 + 0.491 + 1.817 + 0.456 + 1.833 + 6.786 = 11.506$$

$$\text{DF} = 2, \text{P-Value} = 0.003$$

Chi-Square Test: Ngung ket, Khong Ngung ket

	Nket	KgNket	Total
Vit con	48	16	64
	50.48	13.52	
Vit thit	81	30	111
	87.56	23.44	
Vit de	54	3	57
	44.96	12.04	
Total	183	49	232

$$\text{Chi-Sq} = 0.122 + 0.456 + 0.491 + 1.833 + 1.817 + 6.786 = 11.506$$

$$\text{DF} = 2, \text{P-Value} = 0.003$$

Chi-Square Test: *E.Coli 1*, *E.Coli 2*, *E.Coli 3*, *E.Coli 4*

	<i>E.Coli 1</i>	<i>E.Coli 2</i>	<i>E.Coli 3</i>	<i>E.Coli 4</i>	Total
Vit con	6	20	19	3	48
	6.30	19.15	18.89	3.67	
Vit thit	10	27	37	7	81
	10.62	32.31	31.87	6.20	
Vit de	8	26	16	4	54
	7.08	21.54	21.25	4.13	
Total	24	73	72	14	183

$$\text{Chi-Sq} = 0.014 + 0.038 + 0.001 + 0.123 + 0.037 + 0.873 + 0.826 + 0.104 + 0.119 + 0.923 + 1.295 + 0.004 = 4.357$$

$$\text{DF} = 6, \text{P-Value} = 0.628$$

Bảng 15: Tỷ lệ ngưng kết giữa các nhóm với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên vịt khỏe và vịt bệnh

Chi-Square Test: Nket, KgNket

	Nket	KgNket	Total
Vịt khỏe	75	29	104
	82.03	21.97	
Vịt bệnh	108	20	128
	1	00.97	27.03
Total	183	49	232

Chi-Sq = 0.603 + 2.253 + 0.490 + 1.830 = 5.177

DF = 1, P-Value = 0.023

	m=104	n=128
Trị số Chi Bình Phương	5.177	
Độ Tự do	1	
P (Ho) =	0.023	NS

Chi-Square Test: *E.Coli 1*, *E.Coli 2*, *E.Coli 3*, *E.Coli 4*

	<i>E.Coli 1</i>	<i>E.Coli 2</i>	<i>E.Coli 3</i>	<i>E.Coli 4</i>	Total
Vịt khỏe	8	32	30	5	75
	9.84	29.92	29.51	5.74	
Vịt bệnh	16	41	42	9	108
	14.16	43.08	42.49	8.26	
Total	24	73	72	14	183

Chi-Sq = 0.343 + 0.145 + 0.008 + 0.095 + 0.238 + 0.101 + 0.006 + 0.066 = 1.001

DF = 3, P-Value = 0.801