

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

TÌNH HÌNH NHIỄM VÀ SỰ NHẠY CẢM KHÁNG SINH CỦA
VI KHUẨN *E.COLI* GÂY BỆNH TIÊU CHẢY TRÊN HEO CON
TỪ 1 – 60 NGÀY TUỔI TẠI TỈNH TRÀ VINH

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI: ThS. Nguyễn Thị Minh Trang
ĐƠN VỊ: Bộ môn Chăn nuôi Thú y

Trà Vinh, ngày 19 tháng 4 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

TÌNH HÌNH NHIỄM VÀ SỰ NHẠY CẢM KHÁNG SINH CỦA
VI KHUẨN *E.COLI* GÂY BỆNH TIÊU CHẢY TRÊN HEO CON
TỪ 1 – 60 NGÀY TUỔI TẠI TỈNH TRÀ VINH

Xác nhận của cơ quan chủ trì
(ký tên và đóng dấu)

Chủ nhiệm đề tài
(ký tên, họ tên)

Nguyễn Thị Minh Trang

Trà Vinh, ngày tháng năm 20...

LỜI CẢM TẠ

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám Hiệu Trường Đại học Trà Vinh đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi thực hiện và hoàn thành nhiệm vụ nghiên cứu khoa học của mình.

Tôi xin cảm ơn quý Thầy, Cô khoa Nông nghiệp – Thủy sản và phòng Nghiên cứu Khoa học và các phòng ban có liên quan, đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình thực hiện đề tài.

Tôi xin cảm ơn tất cả bạn bè cũng như đồng nghiệp và các thành viên trong gia đình đã nhiệt tình giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện đề tài nghiên cứu khoa học.

Xin chân thành cảm ơn!

Nguyễn Thị Minh Trang

TÓM LƯỢC

Nghiên cứu được thực hiện trên 3.713 heo con từ 1-60 ngày tuổi, 136 mẫu phân tiêu chảy và 124 mẫu phân bình thường thuộc các huyện Châu Thành, Càng Long, Tiểu Cần, Cầu Ngang, Cầu Kè, tỉnh Trà Vinh, nhằm xác định tình hình tiêu chảy, vai trò và một số chủng E.coli gây tiêu chảy trên heo con. Đồng thời, khảo sát mức độ đề kháng kháng sinh của vi khuẩn E.coli phân lập được từ mẫu phân heo tiêu chảy.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ heo con tiêu chảy là 25,80% trong đó tỷ lệ heo con trước cai sữa tiêu chảy là 14,25% cao hơn nhóm heo sau cai sữa (11,53%). Tỷ lệ heo con hao hụt do tiêu chảy là 2,02%.

Tỷ lệ heo con tiêu chảy vào mùa nắng là 22,8% thấp hơn vào mùa mưa (28,62%). Tỷ lệ heo con trước, sau cai sữa tiêu chảy và tỷ lệ hao hụt ở phương thức chăn cổ điển lần lượt chiếm tỷ lệ 19,14%; 2,51% và 14,98%; 0,79%, tỷ lệ này cao hơn so với phương thức chăn nuôi cải tiến (10,92%; 0,55% và 9,14%; 0,27%).

Sự chênh lệch số lượng vi khuẩn trong mẫu phân tiêu chảy và mẫu phân bình thường dao động từ 21,44 – 23,34 lần triệu VK/1g phân.

Vi khuẩn đề kháng gần như hoàn toàn với Tetracyclin (97,06%), đề kháng với nhiều loại kháng sinh thông dụng ở địa phương như: Amoxicillin/Clavulanic acid, Enprofloxacin, Trimethoprim/Sulphamethoxazole, Colistin, Gentamycin, Flofenicol và nhạy cảm mạnh với Imipeneme.

Kết quả xác định chủng vi khuẩn E.coli cho thấy có 55,38% mẫu dương tính, trong đó có 40% mẫu dương tính với chủng vi khuẩn E.coli K88, 12,30% mẫu dương tính với chủng E.coli K99 và 3,08% mẫu dương tính với chủng E.coli 987P.

MỤC LỤC

LỜI CẢM TẠ	i
TÓM LƯỢC	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH SÁCH CHỮ VIẾT TẮT	iv
DANH SÁCH BIỂU BẢNG	v
DANH SÁCH HÌNH	vi
DANH SÁCH BIỂU ĐỒ	vii
CHƯƠNG 1 ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 2 CƠ SỞ LÝ LUẬN	2
2.1 Vi khuẩn <i>E.coli</i> gây bệnh đường tiêu hóa.....	2
2.1.1 Đặc điểm hình thái và cấu trúc của vi khuẩn <i>E.coli</i>	2
2.1.2 Một số đặc tính sinh học của vi khuẩn <i>E.coli</i>	4
2.1.3 Đặc tính gây bệnh của vi khuẩn <i>E.coli</i>	4
2.1.4 Khả năng miễn cảm với kháng sinh của vi khuẩn <i>E.coli</i>	6
2.2 Hội chứng tiêu chảy	7
2.2.1 Khái niệm chung về hội chứng tiêu chảy.....	7
2.2.2 Một số nguyên nhân gây tiêu chảy.....	7
2.2.3 Bệnh lý lâm sàng của hội chứng tiêu chảy	10
2.2.4 Đặc điểm dịch tễ của hội chứng tiêu chảy.....	11
2.2.5 Phòng và trị bệnh tiêu chảy cho lợn	12
CHƯƠNG 3 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM.....	15
3.1 Phương tiện.....	15
3.1.1 Thời gian thực hiện.....	15
3.1.2 Địa điểm.....	15
3.1.3 Đối tượng và phương pháp lấy mẫu	15
3.1.4 Thiết bị và dụng cụ.....	15

3.2 Nội dung và phương pháp nghiên cứu	16
<i>3.2.1 Nội dung nghiên cứu</i>	<i>16</i>
<i>3.2.2 Phương pháp nghiên cứu</i>	<i>17</i>
CHƯƠNG 4 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	26
4.1 Tình hình tiêu chảy trên lợn con	26
<i>4.1.1 Tỷ lệ heo tiêu chảy và chết do tiêu chảy tại các hộ chăn nuôi ở các huyện theo phương thức chăn nuôi</i>	<i>26</i>
<i>4.1.2 Tỷ lệ lợn tiêu chảy và hao hụt theo mùa</i>	<i>28</i>
<i>4.1.3 Tỷ lệ lợn tiêu chảy theo hình thức chăn nuôi.....</i>	<i>29</i>
4.2 Vai trò vi khuẩn <i>E.coli</i> đối với tiêu chảy lợn con	30
<i>4.2.1 Kết quả phân lập vi khuẩn <i>E.coli</i> từ mẫu phân lợn bình thường và tiêu chảy</i>	<i>30</i>
<i>4.2.2 Kết quả kiểm tra đặc tính sinh hóa của vi khuẩn <i>E.coli</i></i>	<i>31</i>
<i>4.2.3 Kết quả xác định sự biến động số lượng vi khuẩn <i>E.coli</i> trung bình (triệu VK/1g phân) ở các lứa tuổi của heo con tiêu chảy và bình thường.....</i>	<i>31</i>
<i>4.3 Kết quả xác định khả năng nhạy cảm và đề kháng với các loại kháng sinh của vi khuẩn <i>E.coli</i> phân lập được</i>	<i>33</i>
<i>4.3.1 Kết quả xác định khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn <i>E.coli</i></i>	<i>33</i>
<i>4.3.2 Kết quả xác định khả năng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn <i>E.coli</i> tại các địa phương</i>	<i>35</i>
4.4 Kết quả định danh vi khuẩn <i>E.coli</i> phân lập được từ heo con tiêu chảy.....	36
CHƯƠNG 5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	39
5.1 Kết luận	39
5.2 Đề nghị	39
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ CHƯƠNG	

DANH SÁCH CHỮ VIẾT TẮT

ETEC	Enterotoxigenic <i>E.coli</i>
EMB	Eosin Methyl Blue
MR	Methyl Red
VP	Voges – Proskauer
EPEC	Enteropathogenic <i>E.coli</i>
AEEC	Adherence Enteropathogenic <i>E.coli</i>
VTEC	Verotoxingenic <i>E.coli</i>
ST	Heat stable Toxin
LT	Heat Labile Toxin
KIA	Kligler Iron Agar
TSI	Triple Sugar Iron Agar
SCA	Simmonc Citrate Agar
PBS	Phosphat buffer saline
CK	Huyện Cầu Kè
CN	Huyện Cầu Ngang
CT-CL	Huyện Châu Thành – Huyện Càng Long
TC	Huyện Tiểu Cần

DANH SÁCH BIỂU BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
1	Một số chủng <i>E.coli</i> gây bệnh mang kháng nguyên O và kháng nguyên bám dính ở heo (Wolfgang B., 1988).	3
2	Tiêu chuẩn đánh giá khả năng nhạy cảm/kháng của vi khuẩn <i>E.coli</i> với một số loại kháng sinh thông dụng (CLSI, 2010)	24
3	Tỷ lệ heo tiêu chảy và hao hụt tại các hộ chăn nuôi thuộc các huyện	26
4	Sự hiện diện của vi khuẩn <i>E.coli</i> trong mẫu tiêu chảy và bình thường	30
5	Kết quả kiểm tra đặc tính sinh hóa của vi khuẩn <i>E.coli</i> có trong mẫu phân tiêu chảy và mẫu bình thường	31
6	Kết quả xác định khả năng đề kháng và nhạy cảm với 11 loại kháng sinh của vi khuẩn <i>E.coli</i> phân lập được từ heo tiêu chảy	33
7	Kết quả xác định khả năng đề kháng với kháng sinh của vi khuẩn <i>E.coli</i> ở các huyện	36
8	Kết quả định danh vi khuẩn <i>E.coli</i> phân lập được từ heo tiêu chảy	37

DANH SÁCH HÌNH

Hình	Tựa hình	Trang
1	Pha loãng mẫu	18
2	Đếm khuẩn lạc màu cánh sen	19
3	Nhân số lượng vi khuẩn <i>E.coli</i> trên môi trường Nutrient Agar	20
4	Vi khuẩn <i>E.coli</i> cho phản ứng Indol dương tính	20
5	Vi khuẩn <i>E.coli</i> cho phản ứng MR dương tính	21

6	Vi khuẩn <i>E.coli</i> cho phản ứng VP âm tính	21
7	Vi khuẩn <i>E.coli</i> cho phản ứng dương tính trong môi trường KIA	22
8	Vi khuẩn <i>E.coli</i> cho phản ứng Citrate âm tính	22
9	Kết quả kháng sinh đồ	23
10	Kháng huyết thanh K88, K99, 987P	25
11	Test <i>E.coli</i> K88, K99, 987P bằng phản ứng ngưng kết nhanh trên phiến kính	25
12	Điều kiện chuồng trại tại huyện Cầu Kè	27
13	Tỷ lệ heo con tiêu chảy và hao hụt vào mùa nắng và mùa mưa	28
14	Tỷ lệ heo tiêu chảy và hao hụt theo hình thức chăn nuôi	29
15	Mức độ biến động số lượng vi khuẩn <i>E.coli</i> (triệu VK/1g phân) theo lứa tuổi heo con	32
16	Mức độ đề kháng kháng sinh của vi khuẩn <i>E.coli</i>	34

CHƯƠNG 1: GIỚI THIỆU

Tiêu chảy trên heo con là một trong những nguyên nhân quan trọng gây hao hụt số heo con của ngành chăn nuôi heo trong và ngoài nước. Bệnh là hội chứng phức tạp do nhiều nguyên nhân tác động. Các nguyên nhân này có thể là virus, vi khuẩn, ký sinh trùng,...thời tiết khí hậu, kỹ thuật chăm sóc heo mẹ và heo con, điều kiện chuồng trại, thức ăn, nước uống và chiến lược phòng bệnh ở mỗi hộ chăn nuôi. Trong số những nguyên nhân gây bệnh tiêu chảy, vi khuẩn *E.coli* đóng vai trò quan trọng. Bằng cơ chế tác động của kháng nguyên bám dính (K88, K99, 987P, F41,...) lên bề mặt niêm mạc ruột, giúp *E.coli* định vị và tiết độc tố đường ruột Enterotoxin (ETEC) gây tiêu chảy cho heo con. Mặt khác, độc tố đường ruột do *E.coli* tiết ra còn phá hủy lớp lông nhung của tế bào niêm mạc ruột, gây bào mòn bề mặt niêm mạc ruột, làm giảm diện tích hấp thu ở ruột non. Kết quả là heo con sau tiêu chảy sẽ chậm lớn, gây thiệt hại kinh tế không nhỏ cho người chăn nuôi. Để phòng và trị bệnh tiêu chảy cho heo con trong giai đoạn từ sơ sinh cho đến 2 tháng tuổi, phần lớn người chăn nuôi sử dụng các loại kháng sinh có mặt trên thị trường với số lượng và liều lượng vô chừng. Điều này dẫn đến tình trạng kháng thuốc và biến chủng của vi khuẩn *E.coli*.

Tỉnh Trà Vinh với ngành chăn nuôi heo có chiều hướng phát triển. Cụ thể là, tổng số đầu heo năm 2001 là 232 nghìn con đến năm 2009 có tổng số đầu heo là 409,4 nghìn con, tổng số trang trại chăn nuôi trong cả tỉnh là 158 trang trại. Trong năm 2009 có đến 83 ổ dịch do *E.coli* gây ra, với 901 heo mắc bệnh và gây chết 199 heo (Cục Thống kê Trà Vinh, 2009). Với thực trạng trên chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài “Tình hình nhiễm và sự nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* gây bệnh tiêu chảy trên heo con từ 1 – 60 ngày tuổi tại Tỉnh Trà Vinh”. Đề tài được thực hiện nhằm mục tiêu:

- Xác định các chủng *E.coli* gây tiêu chảy trên heo con
- Xác định tình hình nhạy cảm và đề kháng các loại kháng sinh thông dụng của vi khuẩn *E.coli* gây tiêu chảy trên heo con

CHƯƠNG 2: CƠ SỞ LÝ LUẬN

2.1 Vi khuẩn *E.coli* gây bệnh đường tiêu hóa

Vi khuẩn *Escherichia coli* (*E.coli*) trước đây được gọi là *Bacterium coli commune* hay *Bacillus coli communis*, lần đầu tiên phân lập từ phân trẻ em bị tiêu chảy năm 1885 và đặt tên theo Bác sĩ nhi khoa Đức (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 tiêu hóa và các cơ quan khác (Lê Văn Tạo, 1997a).

Trong điều kiện bình thường *E.coli* khu 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).

2.1.1 Đặc điểm hình thái và cấu trúc của vi khuẩn *E.coli*

E.coli là một trực khuẩn hình gậy ngắn, kích thước 1,1-1,5 x 2-6 μ m (Wolfgang B., 1988), hai đầu tròn, trong cơ thể có hình cầu trực khuẩn, đứng riêng lẻ, đôi khi xếp thành chuỗi ngắn, có lông ở chung quanh thân nên có thể di động, không hình thành nha bào, gram âm trong tổ chức và dịch thấm ra từ bệnh tích, thỉnh thoảng thấy bắt màu ở hai đầu (Nguyễn Vĩnh Phước, 1974).

Trong môi trường nuôi cấy, có khi quan sát thấy những trực khuẩn dài 4-8 μ m và thường gặp trong canh khuẩn già (Nguyễn Như Thanh và cs, 1997).

Vi khuẩn bắt màu Gram âm, có thể bắt màu đều hoặc sẫm ở hai đầu. Nếu lấy vi khuẩn từ khuẩn lạc có thể thấy có giáp mô. Dưới kính hiển vi điện tử người ta còn phát hiện cấu trúc pili – yếu tố mang kháng nguyên bám dính của vi khuẩn *E.coli*.

Vi khuẩn *E.coli* được chia thành các serotype khác nhau dựa vào cấu trúc kháng nguyên thân O, kháng nguyên giáp mô K, kháng nguyên lông H và kháng nguyên bám dính F. Bằng phản ứng ngưng kết các nhà khoa học đã tìm ra 250 serotype O, 89 serotype K, 56 serotype H và một số serotype F (Fairbrother J.M., 1992).

Kháng nguyên O có bản chất là một lipo-polysaccharide, là kháng nguyên chịu nhiệt được tìm thấy ở thành tế bào vi khuẩn và có liên quan trực tiếp đến hệ thống miễn dịch. Kháng nguyên O khi gặp kháng huyết thanh tương ứng sẽ gây ngưng kết. Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên O và kháng huyết thanh tạo thành những hạt nhỏ khó tan.

Kháng nguyên H là thành phần lông của vi khuẩn, có bản chất protein, kém bền vững hơn kháng nguyên O. Kháng nguyên H không phải là yếu tố độc lực của vi

khuẩn nhưng có khả năng tạo miễn dịch mạnh, phản ứng miễn dịch xảy ra nhanh hơn kháng nguyên O. Kháng nguyên H của vi khuẩn *E.coli* không có vai trò bám dính, không có tính độc và không có ý nghĩa trong đáp ứng miễn dịch phòng vệ nên ít được quan tâm nghiên cứu, nhưng có ý nghĩa rất lớn trong xác định giống loài (Orskov, F., 1978).

Kháng nguyên K còn được gọi là kháng nguyên bề mặt hoặc kháng nguyên vỏ bọc. Phần lớn ý kiến thống nhất kháng nguyên K có 2 nhiệm vụ:

Hỗ trợ phản ứng ngưng kết của kháng nguyên O, nên thường ghi liền công thức serotype của vi khuẩn là O_x:K_y. Ví dụ O₁₃₉:K₈₈....

Tạo thành hàng rào chống lại các tác động ngoại cảnh và thực bào, yếu tố phòng vệ của vật chủ.

Dựa vào kháng nguyên O, *E.coli* được chia thành nhiều nhóm, căn cứ vào kháng nguyên O, K, H, *E.coli* được chia thành nhiều type, mỗi type đều ghi thứ tự kháng nguyên O, H, K.

Bảng 1: Một số chủng *E.coli* gây bệnh mang kháng nguyên O và kháng nguyên bám dính ở heo (Wolfgang B., 1988).

Các nhóm <i>E.coli</i> mang kháng nguyên O gây bệnh trên heo			
Nhóm gây chảy trên heo	tiêu	O ₈ :K ₈₇ :K ₈₈ :H ₁₉ ;	O ₁₃₈ :K ₈₈ :(H ₁₄)
		O ₉ :K ₃₅ :K ₉₉ :H-	O ₁₃₉ :K ₈₂ :K ₈₈ :H ₁
		O ₉ :K ₁₀₃ :K _{987P} :H-;	O ₁₄₁ :K ₈₈ :(H ₄)
		O ₂₀ :K ₁₀₁ :K _{987P} :H-	O ₁₄₇ :K ₈₈ :H ₁₉
Nhóm gây phù		O ₁₃₈ :K ₈₁ (B):H-	O ₁₃₉ :K ₈₂ :H ₁
			O ₁₄₁ :K ₈₅ :(H ₄)

Nhóm vi khuẩn *E.coli* mang kháng nguyên bám dính và khả năng dung huyết

K₈₈(ab, ac, ad); P₉₈₇; K₉₉; F₄₁

Hầu hết các chủng *E.coli* gây bệnh đều sản sinh ra một hoặc nhiều kháng nguyên bám dính. Các chủng không gây bệnh thì không có kháng nguyên bám dính. Kháng nguyên bám dính giúp vi khuẩn bám vào các thụ thể đặc hiệu trên bề mặt tế bào biểu mô ruột và trên lớp màng nhày để xâm nhập và gây bệnh, đồng thời chống lại khả năng đào thải vi khuẩn của nhu động ruột. Một số loại kháng nguyên bám dính của vi

khuẩn *E.coli* thuộc nhóm ETEC (Enterotoxigenic *E.coli*) gây bệnh chủ yếu cho heo là F₄(K88), F₅(K99), F₆(987P), F18 và F41.

2.1.2 Một số đặc tính sinh học của vi khuẩn *E.coli*

E.coli là trực khuẩn hiếu khí tùy tiện, có thể sinh trưởng ở nhiệt độ từ 5-40°C, nhiệt độ thích hợp nhất là 37°C. pH thích hợp nhất là 7,2 – 7,4, phát triển được ở pH từ 5,5 – 8.

Vi khuẩn *E.coli* dễ dàng phát triển trên môi trường nuôi cấy thông thường. Trên môi trường thạch thường sau 24 giờ nuôi cấy ở 37°C, vi khuẩn hình thành những khuẩn lạc tròn, ướt bóng láng, không trong suốt, màu tro trắng nhạt và có thể mọc rộng ra, có thể quan sát thấy những khuẩn lạc dạng R (rough) và M (Mucoïd).

Môi trường nước thịt sau 24 giờ nuôi cấy ở 37°C, vi khuẩn phát triển nhanh, môi trường rất đục, có cặn màu tro trắng nhạt lắng xuống đáy, đôi khi có màu xám nhạt trên bề mặt môi trường và có mùi thối.

Trên môi trường Mac-Conkey sau 24 giờ nuôi cấy ở 37°C, khuẩn lạc có màu cánh sen, tròn nhỏ, hơi lồi, không nhày, rìa gọn, không làm chuyển màu môi trường.

Trên môi trường EMB (Eosin Methyl Blue) sau 24 giờ nuôi cấy ở 37°C, vi khuẩn hình thành khuẩn lạc màu tím đen màu ánh kim.

Vi khuẩn *E.coli* lên men sinh hơi các loại đường Lactose, Fructose, Glucose, Levulose, Galactose, Xylose, Manitol, lên men không chắc chắn các loại đường Duncitol, Saccarose và Salixin. Hầu hết các chủng vi khuẩn *E.coli* đều lên men đường Lactose nhanh và sinh hơi. Đây là đặc điểm quan trọng để dựa vào đó phân biệt vi khuẩn *E.coli* và *salmonella*. Một số phản ứng sinh hóa khác Indol và MR dương tính, phản ứng H₂S, VP, Urea âm tính.

2.1.3 Đặc tính gây bệnh của vi khuẩn *E.coli*

Để có thể gây bệnh vi khuẩn *E.coli* phải bám dính vào tế bào nhung mao ruột bằng các yếu tố bám dính như kháng nguyên F. Sau đó, nhờ các yếu tố xâm nhập, vi khuẩn sẽ xâm nhập vào tế bào biểu mô của thành ruột. Ở đó, vi khuẩn phát triển, nhân lên, phá hủy lớp tế bào biểu mô, gây viêm ruột đồng thời sản sinh độc tố đường ruột Enterotoxin. Độc tố đường ruột tác động vào quá trình trao đổi muối, nước làm rối loạn chu trình này. Nước từ cơ thể tập trung vào lòng nhung ruột làm căng ruột, cùng với khí do lên men ở ruột gây nên một tác động cơ học, làm nhu động ruột tăng đẩy nước và chất chứa ra ngoài, gây nên hiện tượng tiêu chảy. Sau khi phát triển ở thành ruột, vi khuẩn vào hệ lâm ba đến hệ tuần hoàn, gây nhiễm trùng máu. Trong máu, vi khuẩn chống lại hiện tượng thực bào gây dung huyết làm cho cơ thể thiếu máu. Từ hệ tuần hoàn, vi khuẩn đến các tổ chức cơ quan. Ở đây vi khuẩn lại phát triển và nhân lên

lần thứ hai, phá hủy tế bào tổ chức, gây viêm và sản sinh độc tố như Enterotoxin, Verotoxin, phá hủy tế bào, tổ chức gây tụ huyết xuất huyết.

Các yếu tố gây bệnh của vi khuẩn *E.coli* bao gồm khả năng đề kháng, yếu tố bám dính, khả năng xâm nhập, yếu tố gây dung huyết và khả năng sản sinh độc tố. Các chủng vi khuẩn *E.coli* không có các yếu tố trên thì không có khả năng gây bệnh.

Dựa vào các yếu tố gây bệnh kể trên, vi khuẩn *E.coli* được phân loại như sau: Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC), Enteropathogenic *E.coli* (EPEC), Adherence Enteropathogenic *E.coli* (AEEC) và Verotoxigenic *E.coli* (VTEC) (Lê Văn Tạo, 1997a). Trong đó các chủng vi khuẩn thuộc nhóm ETEC và VTEC thường gây bệnh tiêu chảy cho heo con sơ sinh và lợn con sau cai sữa (Fairbrother.J.M, 1992).

Yếu tố bám dính

Để gây bệnh, các chủng ETEC phải bám dính lên tế bào biểu mô của ruột non. Hầu hết các chủng mang một hoặc vài yếu tố bám dính như: F₄(K₈₈), F₅(K₉₉), F₆(987P), F₁₇, F₁₈, F₄₁, F₄₂, F₁₆₅.

Tác giả Võ Thành Thìn và cs (2009) đã sử dụng phương pháp PCR-RFLP để xác định kháng nguyên F₄, F₁₈, và các biến thể của chúng ở 184 chủng vi khuẩn *E.coli* phân lập từ heo con mắc bệnh tiêu chảy. Kết quả phân tích cho thấy có 55/184 (29,89%) chủng mang kháng nguyên F₄, trong đó có 98,18% thuộc biến thể F_{4ac} và 81/184 chủng (44,02%) mang kháng nguyên F₁₈, trong đó biến thể F_{18ab} chiếm 33,33% và F_{18ac} là 66,67%.

F₄(K₈₈) là kháng nguyên không chịu nhiệt, kháng nguyên này giúp vi khuẩn bám vào receptor tương ứng của nó trên tế bào biểu mô của lòng nhung ruột non, từ đó vi khuẩn có thể xâm nhập, cố định và phát triển được ở thành ruột non, gây bệnh tiêu chảy trên heo con trước và sau cai sữa.

F₅ (K₉₉), trước kia kháng nguyên này được xem là kháng nguyên bám dính của vi khuẩn *E.coli* chỉ gây bệnh ở bê, nghé và cừu. Tuy nhiên, hiện nay chúng cũng được tìm thấy với tỷ lệ thấp ở các chủng ETEC gây bệnh tiêu chảy ở heo con (Links và cs, 1985). Sự sản sinh 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 Plasmid (Isaacson, 1977, trích từ Lê Thị Hoài, 2008).

F₆ (987P) bám dính ở màng nhày để phân phối độc tố đường ruột tới đa đến vật chủ. F₆ của các chủng ETEC ở heo giúp vi khuẩn bám vào cả receptor cấu tạo bởi glycoprotein và glycolipid trên niêm mạc của các tế bào biểu mô ruột (Dean và cs, 1989, 1994).

F₁₈ là nhân tố bám dính 8813, một loại fimbriae mới được đề nghị công nhận là F_{18ab} và F_{18ac} (Rippinger và cs, 1995). Trong đó F_{18ab} ít thấy thể hiện cả trong thực

tế và trong phòng thí nghiệm. Trong khi F18_{ac} thể hiện rất rõ ở cả trong thực tế và trong phòng thí nghiệm, chúng mang các đặc tính của các chủng ETEC. Một đặc điểm đáng chú ý của F18_{ac} là chúng không bám vào niêm mạc của heo sơ sinh trong điều kiện thực tế và trong phòng thí nghiệm (Nagy và cs, 1996), cũng không tập trung ở lớp màng nhày của ruột ở heo con mới sinh (Casey và cs, 1992), mà chúng bám vào tế bào biểu mô ruột. Khả năng bám này ở heo con cai sữa nhiều hơn ở heo sơ sinh, có thể là do sự tăng dần các receptor đặc hiệu ở lông nhung của ruột heo từ sơ sinh đến 21 ngày tuổi. Sự thiếu hụt các receptor của F18_{ab} và F18_{ac} ở heo từ sơ sinh có thể giải thích lý do vì sao chỉ thấy các chủng VTEC và ETEC ở heo cai sữa (Nagy và cs, 1999).

Độc tố của vi khuẩn E.coli

Vi khuẩn *E.coli* sản sinh nhiều loại độc tố Enterotoxin, Verotoxin, Neurotoxin. Mỗi loại độc tố gắn với một thể bệnh mà chúng gây ra.

Nhóm độc tố ruột Enterotoxin gồm 2 loại:

Độc tố chịu nhiệt (Heat stable Toxin – ST): Độc tố này chịu được nhiệt độ 100⁰C 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 **cGMP** 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 lợn < 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 60⁰C 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 -20⁰C.

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

Để điều trị bệnh đường tiêu hóa, 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 nhóm vi khuẩn đường ruột và vi khuẩn *E.coli* nói riêng đang ngày một tăng, làm hiệu quả điều trị giảm.

Nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Nhiên và cs (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,...

Bằng phương pháp khuếch tán trên thạch, tác giả Võ Thị Trà An và cs (2010) cho thấy mức độ mẫn 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, Trimethoprim/Sulphamethoxazole, Streptomycin, Nalidixic acid. Vi khuẩn mẫn cảm mạnh với Imipeneme, Cefepime, Amikacin, Amoxicillin/Clavulanic, Polymycin B, Flofenicol, Ceftazidime và Ceftriaxon.

2.2 Hội chứng tiêu chảy

2.2.1 Khái niệm chung về hội chứng tiêu chảy

Tiêu chảy là bệnh phổ biến trong các bệnh đường tiêu hóa, xảy ra mọi lúc mọi nơi và đặc biệt là gia súc non với triệu chứng biểu hiện là tiêu chảy, mất nước và chất điện giải, suy kiệt có thể dẫn đến trụy tim mạch (Radostits, O. M. và cs, 1994).

Tiêu chảy còn là một hiện tượng bệnh lý phức tạp gây ra bởi sự tác động tổng hợp của nhiều yếu tố. Các yếu tố này bao gồm những tác động bất lợi của ngoại cảnh, gây stress cho cơ thể, mặt khác các khâu chăm sóc nuôi dưỡng gia súc, chuồng trại không thường xuyên vệ sinh sạch sẽ, thức ăn nước uống bị nhiễm khuẩn,... cũng tạo điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật gây bệnh xâm nhập vào cơ thể vật chủ, đặc biệt là vi sinh vật gây bệnh đường tiêu hóa dẫn đến sự nhiễm khuẩn và loạn khuẩn đường tiêu hóa. Bệnh lý xuất hiện thường là ở thể cấp tính hoặc mãn tính, tùy thuộc vào tính chất và nguyên nhân gây bệnh tác động. Đặc điểm của sự rối loạn đường tiêu hóa thường gây tiêu chảy nhiều lần trên ngày, trong phân có nhiều nước so với bình thường và tăng tiết dịch ruột (Blackwell, 1989).

2.2.2 Một số nguyên nhân gây tiêu chảy

Môi trường là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sức đề kháng của gia súc. Khi có thay đổi các yếu tố môi trường như nhiệt độ, ẩm độ, mưa, nắng và điều kiện chuồng nuôi đều ảnh hưởng đến sức đề kháng của heo, đặc biệt là heo con theo mẹ, do cấu tạo và chức năng sinh lý chưa ổn định và hoàn thiện, khi gặp các yếu tố bất lợi sẽ dễ bị stress dẫn đến nhiều bệnh trong đó có tiêu chảy. Ẩm độ tác động lên gia súc bị nhiễm

lạnh kéo dài sẽ làm giảm phản ứng miễn dịch, giảm tác dụng thực bào và gia súc dễ bị nhiễm khuẩn gây bệnh.

Khi gặp điều kiện ngoại cảnh không thuận lợi, thay đổi đột ngột về thức ăn, vitamin, đạm, vận chuyển,... làm giảm sức đề kháng của con vật thì các vi khuẩn thường trực sẽ tăng độc tố và gây bệnh (Bùi Quý Huy, 2003).

Khẩu phần thức ăn cho vật nuôi không thích hợp, thức ăn kém chất lượng như mốc, thối, nhiễm các tạp chất, các vi sinh vật có hại dễ dẫn đến rối loạn tiêu hóa, viêm ruột, tiêu chảy ở gia súc (Trịnh Văn Thịnh, 1985; Hồ Văn Nam, 1997).

Vi sinh vật bao gồm virus và vi khuẩn, chúng vừa là nguyên nhân nguyên phát vừa là nguyên nhân thứ phát gây tiêu chảy.

Tiêu chảy do vi khuẩn

Bình thường trong đường tiêu hóa của gia súc có hệ vi khuẩn gọi là vi khuẩn đường ruột được chia làm hai loại. Các vi khuẩn có lợi có tác dụng lên men phân giải chất dinh dưỡng, giúp cho quá trình tiêu hóa được thuận lợi và vi khuẩn có hại khi gặp điều kiện thuận lợi thì sẽ gây bệnh.

Vi khuẩn đường ruột là họ vi khuẩn cộng sinh thường trực trong đường ruột. Các vi khuẩn này, muốn từ vi khuẩn cộng sinh trở thành vi khuẩn gây bệnh phải có 3 điều kiện.

Trên cơ thể vật chủ có cấu trúc giúp vi khuẩn thực hiện được chức năng bám dính.

Vi khuẩn có khả năng sản sinh yếu tố gây bệnh, đặc biệt là sản sinh độc tố, trong đó quan trọng là độc tố đường ruột Enterotoxin có khả năng xâm nhập vào lớp biểu mô của niêm mạc ruột, từ đó phát triển nhân lên.

Một số vi khuẩn đường ruột là *E.coli*, *salmonella sp.*, *Shigella*, *C. perfringens* luôn là nguyên nhân gây nên sự rối loạn về tiêu hóa, viêm ruột và tiêu chảy ở người và vật nuôi.

Nhóm vi khuẩn đường ruột gồm *E.coli*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella* phân lập từ mẫu phân heo con tiêu chảy lần lượt chiếm tỷ lệ 66,66%, 3,7%, 40,74%, 3,7% (Lý Thị Liên Khai, 2003).

Theo Đào Trọng Đạt, (1996) Vi khuẩn *E.coli* là một trong số các vi khuẩn đường ruột gây bệnh tiêu chảy chiếm tỷ lệ cao nhất (45,6%). Và vi khuẩn đường ruột có vai trò không thể thiếu trong bệnh tiêu chảy (Hồ Văn Nam và cs, 1997).

Khi nghiên cứu về *E.coli* và *Salmonella* ở heo con tiêu chảy Tác giả Vũ Bình Minh và Cù Hữu Phú cho biết tỷ lệ phát hiện *E.coli* độc trong phân là 80 – 90% mẫu xét nghiệm (Vũ Bình Minh, Cù Hữu Phú, 1999).

Theo Lê Văn Dương và cs kết luận rằng heo con dưới hai tháng tuổi mắc bệnh tiêu chảy và chết với tỷ lệ khá cao, tương ứng là 30,73% và 4,42% (Lê Văn Dương và cs, 2010).

Tiêu chảy do virus

Đã có nhiều công trình nghiên cứu khẳng định vai trò của một số virus như Rotavirus, Enterovirus, Transmissible Gastroenteritis (TGE) là những nguyên nhân chủ yếu gây viêm dạ dày ruột và gây triệu chứng tiêu chảy đặc trưng ở heo. Các virus này tác động gây viêm ruột và gây rối loạn quá trình tiêu hóa, hấp thu của heo và cuối cùng dẫn đến tiêu chảy.

Theo tài liệu của Bergeland (1980) (Trích theo Đào Trọng Đạt, 1996) trong số những mầm bệnh thường gặp ở heo trước và sau cai sữa mắc tiêu chảy có rất nhiều loại virus: 20,9% lợn bệnh phân lập được Rotavirus, 11,2% có virus viêm dạ dày-ruột truyền nhiễm, 2% có Enterovirus, 0,7% có Parvovirus.

Tiêu chảy do ký sinh trùng

Có nhiều ký sinh trùng gây tiêu chảy cho lợn như: Cầu trùng (Eimeia, Isospora suis), Crystosporidium, Ascaris Suum, Trichuris suis,... hoặc một số loại giun tròn khác thuộc lớp Nematoda.

Bệnh do Isospora suis, Crystosporidium thường tập trung vào giai đoạn heo con từ 5 – 25 ngày tuổi, còn ở heo trên 2 tháng tuổi do cơ thể đã tạo được miễn dịch đối với bệnh cầu trùng, nên lợn chỉ mang mầm bệnh mà ít xuất hiện triệu chứng tiêu chảy (Nguyễn Như Pho, 2003).

Đặc điểm chủ yếu của tiêu chảy do ký sinh trùng là con vật mắc bệnh nhưng không tiêu chảy liên tục, cơ thể thiếu máu, da nhợt nhạt, con vật kém ăn, thể trạng sa sút.

Khi nghiên cứu vai trò ký sinh trùng đường tiêu hóa trong hội chứng tiêu chảy ở heo sau cai sữa và biện pháp phòng trị. Tác giả Thân Thị Đang và cs (2010) cho biết cả heo bình thường và heo tiêu chảy đều bị nhiễm cầu trùng và nhiều loại giun tròn nhưng tỷ lệ và mức độ của lợn bị tiêu chảy đều cao hơn bình thường.

Như vậy, quá trình nhiễm khuẩn đường tiêu hóa do nhiều nguyên nhân và vi khuẩn kè phát gây viêm ruột dẫn đến tiêu chảy, con vật có thể chết hoặc viêm ruột tiêu chảy mãn tính.

2.2.3 Bệnh lý lâm sàng của hội chứng tiêu chảy

Bệnh tiêu chảy xảy ra khi có sự rối loạn chức phận của bộ máy tiêu hóa và nhiễm khuẩn.

Bệnh tiêu chảy do *E.coli* gây sung huyết, không thấy xuất huyết, không thấy có vết loét hoặc hoại tử như trong bệnh phó thương hàn (Nguyễn Như Pho, 2003).

Sự mất nước kéo theo mất các chất điện giải, đặc biệt là các ion HCO_3^- , K^+ , Na^+ , Cl^- ,... Đồng thời khi gia súc tiêu chảy cũng làm cản trở sự tái hấp thu nước, nếu lượng dịch mất đi trong đường ruột vượt quá lượng dịch đưa vào khi ăn uống, thân sẽ cố gắng bù lại bằng cách cô đặc nước tiểu, giảm lượng nước thải ra. Nếu thân không bù được thì mức dịch thể trong tổ chức bị giảm và máu bị đặc lại. Hiện tượng này gọi là mất nước và triệu chứng lâm sàng là yếu, bỏ ăn, thân nhiệt hạ thấp, có thể bị trụy tim, mắt hõm sâu, nhìn lờ đờ, da khô khi véo lên lớp da chậm trở lại vị trí cũ (Archie, H. (2000), trích theo Lê Thị Hoài, (2008)).

Phân heo con tiêu chảy do *E.coli* nhão, màu trắng xám, có mùi tanh đặc hiệu. Heo nhanh chóng bị mất nước, lông xù, suy nhược, đi lại lảo đảo, nằm cụp lại một chỗ, hậu môn dính đầy phân. Heo bệnh chết nhanh, những con điều trị khỏi thường chậm lớn. Mổ khám trong dạ dày thấy chất chứa vón như bã đậu, màu vàng, mùi chua hắc (Phạm Sỹ Lăng, 2009).

Hậu quả trực tiếp và nặng nề của hiện tượng tiêu chảy là sự mất nước và mất các chất điện giải của cơ thể, kéo theo hàng loạt các biến đổi bệnh lý. Gia súc non dự trữ dịch thể tương đối thấp nên đặc biệt mẫn cảm với sự mất nước.

Heo bị tiêu chảy giảm khả năng tiêu hóa, chuyển hóa và hấp thu các chất dinh dưỡng nên heo gây còm, chậm tăng trọng, dễ dàng mắc các bệnh khác (Phạm Sỹ Lăng và cs, 1997).

Hiện tượng tiêu chảy ở heo thường có quá trình nhiễm khuẩn, khi đó các triệu chứng trầm trọng hơn, hậu quả để lại nặng nề hơn, có thể kể phát nhiều bệnh khác. Bệnh gây tổn thất kinh tế trầm trọng cho người chăn nuôi do ảnh hưởng đến tỷ lệ nuôi sống của heo con, chậm lớn, còi cọc, giảm sức đề kháng tự nhiên, tạo điều kiện cho các bệnh khác phát sinh (Phạm Sỹ Lăng, 2009).

2.2.4 Đặc điểm dịch tễ của hội chứng tiêu chảy

Các yếu tố như tuổi, mùa vụ, thức ăn, điều kiện chuồng trại, chăm sóc, nuôi dưỡng... đều có ảnh hưởng đến hội chứng tiêu chảy ở gia súc.

Ở heo, hội chứng tiêu chảy xảy ra ở mọi lứa tuổi. Bệnh thường xuất hiện ở 3 giai đoạn phát triển của heo: Giai đoạn sơ sinh từ 1-4 ngày tuổi; giai đoạn heo con theo mẹ từ 5-21 ngày tuổi và giai đoạn sau cai sữa lớn hơn 21 ngày tuổi.

Tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy trong một số cơ sở chăn nuôi heo phụ thuộc vào điều kiện chăm sóc, vệ sinh thú y. Tỷ lệ chết, mức độ trầm trọng của bệnh ở một đàn còn phụ thuộc vào giai đoạn mắc bệnh (Đào Kim Dung, 2003).

Khi nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ hội chứng tiêu chảy từ sau cai sữa của các hộ chăn nuôi gia đình tại Thái Nguyên, Nguyễn Thị Kim Lan và cs (2006) cho rằng bệnh chịu ảnh hưởng rõ rệt của lứa tuổi mắc bệnh, mùa vụ trong năm, các loại thức ăn, nền chuồng và tình trạng vệ sinh thú y.

Về độ tuổi mắc bệnh, tỷ lệ heo tiêu chảy giảm theo tuổi, cao nhất ở giai đoạn sau cai sữa đến 2 tháng (13,9%), sau đó giảm dần và chỉ còn 5,55% ở heo trên 6 tháng tuổi (Nguyễn Thị Kim Lan và cs, 2006).

Về mùa vụ, bệnh tiêu chảy ở heo con theo mẹ xảy ra quanh năm nhưng cao nhất là từ tháng 5-8 (Hoàng Văn Tuấn và cs, 1998). Trong năm, heo nuôi ở mùa xuân và mùa hè (13,67%-14,75%) mắc tiêu chảy cao hơn so với 2 mùa còn lại (9,18%-9,68%) (Nguyễn Thị Kim Lan, 2006b).

Về thức ăn, heo nuôi thức ăn tổng hợp dạng viên, không qua chế biến, mắc tiêu chảy với tỷ lệ 8,96%. Tỷ lệ này tăng khi ăn thức ăn truyền thống mang tính tận dụng và rau sống (16,1%) (Nguyễn Thị Kim Lan và cs, 2006b).

Theo Nguyễn Thị Kim Lan và cs, 2006b điều kiện chuồng trại vệ sinh cũng có ảnh hưởng khá rõ rệt đến tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy ở heo. Heo nuôi trong điều kiện nền lát gạch có tỷ lệ tiêu chảy là 9,49%, tăng lên ở chuồng có nền láng xi măng (12,64%) và cao nhất ở chuồng nền đất nện (20,37%). Heo được nuôi ở điều kiện vệ sinh thú y tốt tỷ lệ tiêu chảy thấp (8%), thấp hơn rõ rệt so với nuôi trong điều kiện vệ sinh thú y kém (20,35%).

Kết quả xác định serotype và kiểm tra độc lực các chủng vi khuẩn *E.coli* gây bệnh tiêu chảy ở heo con tại Tỉnh Bắc Giang của tác giả Lê Văn Dương và cộng sự (2010) cho thấy heo con dưới 2 tháng tuổi mắc tiêu chảy và chết với tỷ lệ khá cao (trung ứng là 30,73% và 4,42%), cao nhất ở lứa tuổi từ 31-60 ngày (37,75%). Tỷ lệ phân lập các chủng *E.coli* từ phủ tạng là 70,67% và mẫu phân là 85,83%, các chủng *E.coli* thuộc các serotype O₈, O₁₁₁, O₁₃₈, O₁₃₉, O₁₄₁, và O₁₄₉. Có 77,78% chủng gây chết 100% chuột thí nghiệm trong vòng 12-48 giờ.

2.2.5 Phòng và trị bệnh tiêu chảy cho heo

Các biện pháp phòng bệnh xoay quanh các vấn đề về môi trường, vật chủ và mầm bệnh.

Phạm Sỹ Lăng (2009) cho rằng khâu phòng bệnh cần được chú trọng đến biện pháp kỹ thuật chăn nuôi sinh sản và biện pháp kỹ thuật thú y bảo vệ sức khỏe heo con.

Trong đó biện pháp kỹ thuật chăn nuôi sinh sản gồm các yếu tố như:

Có chuồng nái chò đẻ;

Có nhà chuồng hộ sinh phải thoáng, ẩm và khô;

Tuân thủ chế độ cùng vào cùng ra;

Vệ sinh chuồng trại và dụng cụ chăn nuôi theo đúng qui định vệ sinh;

Điều tiết chế độ ăn trước và sau cai sữa phù hợp;

Tập ăn sớm cho heo nhằm kích thích hệ thống tiêu hóa của heo phát triển sớm hoàn thiện về tổ chức và chức năng hoạt động nhằm cho heo sớm thích ứng với điều kiện sống.

Biện pháp thú y nhằm tăng sức đề kháng, tăng miễn dịch phòng bệnh cho heo con bằng các cách sau:

Kịp thời xử lý sót nhau, tránh ảnh hưởng đến khả năng tiết sữa của heo mẹ, ảnh hưởng tới heo con.

Cho bú sữa đầu để kịp thời bổ sung năng lượng dự trữ cho heo con sơ sinh, đồng thời còn nhằm cung cấp lượng kháng thể kháng các vi khuẩn từ sữa đầu của heo mẹ đã được tiêm phòng đối với các chủng *E.coli* gây bệnh.

Tiêm bổ sung sắt cho heo con. Sắt là nguyên nhân gây thiếu máu của heo con, thiếu sắt làm bạch cầu trung tính giảm khả năng tiêu diệt vi khuẩn.

Tiêm vaccine *E.coli* cho heo mẹ: Mũi thứ nhất 21 ngày trước khi đẻ, tiêm nhắc lại lúc 7 ngày trước khi đẻ để tạo hàm lượng kháng thể cao truyền qua sữa đầu cho heo sơ sinh.

Các tác giả khác như Trịnh Văn Thịnh (1985b), Đào Trọng Đạt (1985) đề xuất biện pháp phòng bệnh là giữ ấm và sưởi cho heo con sơ sinh vào mùa đông, dọn phân, rác thải trong chuồng, đem ủ nhiệt sinh vật, định kỳ tẩy uế tiêu độc chuồng trại và dụng cụ chăn nuôi.

Phạm Khắc Hiếu (1998) cho rằng để phòng bệnh tiêu chảy cần hạn chế loại trừ các yếu tố stress sẽ mang lại hiệu quả tích cực, đồng thời khắc phục những yếu tố khí hậu, thời tiết bất lợi để tránh rối loạn tiêu hóa, giữ ổn định trạng thái cân bằng giữa cơ thể và môi trường. Heo con đẻ ra phải được sưởi ấm ở nhiệt độ 37°C trong 7 ngày, sau đó giảm nhiệt độ dần nhưng không được thấp hơn 30°C.

Một số tác giả tập trung nghiên cứu chế tạo và sử dụng vaccine phòng bệnh nhằm kích thích cơ thể chủ động tạo kháng thể chống lại mầm bệnh.

Nguyễn Thị Nội (1985) dựa trên kết quả xác định tần suất các serotype O của *E.coli* gây bệnh phân trắng heo con để chọn các serotype O có tần suất xuất hiện cao chế vaccine.

Lê Văn Tạo (1996) đã chọn chủng vi khuẩn *E.coli* mang kháng nguyên kết hợp với ít nhất 2 yếu tố gây bệnh khác nhau là Ent và Hly dùng để sản xuất vaccine cho uống và tiêm phòng bệnh cho heo con phân trắng.

Nguyễn Ngọc Hải (2010) đã điều chế vaccine chủng phòng bệnh tiêu chảy do *E.coli* trên heo con theo mẹ bằng cách tạo huyền dịch canh khuẩn của 7 gốc *E.coli* phân lập từ mẫu phân heo con tiêu chảy được bất hoạt và hòa với chất bổ trợ Montanide theo tỷ lệ 50/50. Nhằm so sánh hiệu quả phòng bệnh và giá thành trong phòng bệnh của loại vaccine chủng và vaccine thương phẩm.

Ngoài sử dụng vaccine, một số tác giả đi sâu nghiên cứu một số chế phẩm dùng để phòng bệnh tiêu chảy. Đỗ Trung Cứ và cs (2000) đã sử dụng chế phẩm Biosubtyl phòng bệnh tiêu chảy cho heo con, làm giảm 42% số lợn tiêu chảy ở heo con giai đoạn từ 1-60 ngày tuổi.

Tạ Thị Vịnh, Đặng Thị Hòe (2002) đã sử dụng chế phẩm VITOM 1.1 (có chứa bacillus subtilis chủng VKPMV-7092) để phòng bệnh tiêu chảy cho heo con từ sơ sinh đến 3 tuần tuổi.

Trần Thị Hạnh và cs (2002) đã chế tạo sinh phẩm *E.coli*-sữa và *C.perfringens*-toxoid dùng phòng bệnh tiêu chảy cho heo con.

Nhằm phòng bệnh heo con phân trắng tác giả Nguyễn Thị Thanh Hà, Bùi Thị Tho (2009) đã chế biến cao lỏng mật bò và cho heo con từ sơ sinh đến 21 ngày tuổi uống, kết quả cho thấy rằng cao lỏng mật bò ở nồng độ 20% cho hiệu quả phòng bệnh tốt nhất, tỷ lệ mắc bệnh giảm còn 30,2% so với lô đối chứng.

Theo Phạm Ngọc Thạch (2005) điều trị hội chứng tiêu chảy nên tập trung vào 3 khâu là:

Loại trừ sai sót trong nuôi dưỡng như: loại bỏ thức ăn kém phẩm chất (ôi mốc), loại bỏ thức ăn không tiêu hóa được đang lên men trong đường ruột, chăm sóc nuôi dưỡng tốt.

Khắc phục rối loạn tiêu hóa và chống nhiễm khuẩn.

Điều trị hiện tượng mất nước và chất điện giải.

Theo Đặng Xuân Bình (2004) có thể dùng kháng thể chống *E.coli* chế tạo qua lòng đỏ trứng gà để điều trị, cho hiệu quả tốt, không tồn dư kháng sinh, không gây còi cọc heo sau điều trị.

Theo Lâm Nguyễn Lan Chi (2010) sản phẩm Shield Zn được bổ sung cho heo con sẽ làm giảm một cách có ý nghĩa tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy trên heo con sau cai sữa và còn cải thiện chỉ số chuyển hóa thức ăn.

Kết quả nghiên cứu của tác giả Huỳnh Kim Diệu (2007) cho thấy sử dụng dịch chiết lá xuân hoa ở liều 0,05g/kgTT tốt hơn cotrimoxazol liều 0,01g/kgTT hoặc colinorgent ở liều 0,1g/kgTT. Ngoài ra kết quả kháng sinh đồ cho thấy vi khuẩn phân lập từ thực địa phát triển sức đề kháng với Cotrimoxazol và Coli-norgent nhưng chưa phát hiện tính kháng thuốc đối với chiết chất lá xuân hoa.

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.

CHƯƠNG 3: PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

3.1 Phương tiện

3.1.1 Thời gian thực hiện

Thí nghiệm được tiến hành từ tháng 04/2010 đến tháng 3/2011.

3.1.2 Địa điểm

Đề tài được triển khai thực hiện trên 10 trại chăn nuôi và 20 hộ chăn nuôi với phương thức chăn nuôi cổ điển và phương thức chăn nuôi cải tiến thuộc các huyện Càng Long, Tiểu Cần, Châu Thành, Cầu Ngang và Cầu kè Tỉnh Trà Vinh.

Phương thức chăn nuôi cổ điển: Nền chuồng xi măng hoặc nền gạch, còn sử dụng máng ăn máng uống, sử dụng thức ăn nước gồm thức ăn đậm đặc và phụ phẩm tại địa phương và phân heo chưa được xử lý.

Phương thức chăn nuôi có cải tiến: Nền chuồng sàn, có nùm uống, sử dụng thức ăn khô và phân heo được xử lý bằng hầm ủ Biogas.

Kiểm nghiệm vi khuẩn *E.coli* được thực hiện tại phòng Thí nghiệm Bộ môn Thú y, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

3.1.3 Đối tượng và phương pháp lấy mẫu

Heo con đang trong giai đoạn theo mẹ đến 60 ngày tuổi trong phạm vi khảo sát có biểu hiện tiêu chảy.

Heo con bình thường trong đàn có heo tiêu chảy cùng thời điểm.

Mẫu phải được lấy ngay sau khi heo bị tiêu chảy

Dùng bọc nylon sạch lấy mẫu phân vừa mới thải ra từ hậu môn hoặc dùng tấm bông ngoáy sâu vào hậu môn heo con. Mỗi mẫu lấy khoảng 5-10 gram phân.

Bảo quản mẫu trong thùng đá lạnh và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 24 giờ.

3.1.4 Thiết bị và dụng cụ

Thiết bị

Bao gồm: Tủ sấy, tủ ấm, nồi hấp tiệt trùng ướt, tủ trữ đông (-20°), máy lắc.

Dụng cụ và hóa chất

Bao gồm micropipette, đĩa petri, que cấy, ống nghiệm, que chan, thước đo, bình nấu môi trường, cốc, que cấy, đèn cồn, thùng trữ mẫu, bao tay, khẩu trang, bọc, viết, nhãn, tấm bông, nước cất, cồn 70° .

Môi trường và thuốc thử dùng trong kiểm nghiệm vi khuẩn *E.coli*

Một số môi trường, thuốc thử và kháng huyết thanh được sử dụng trong qui trình kiểm nghiệm vi khuẩn *E.coli* gồm:

- Môi trường Mac-Conkey (MC), môi trường Nutrient Agar (NA), môi trường nước tryptone, môi trường MR-VP Broth, môi trường Kligler Iron Agar (KIA), môi trường Triple Sugar Iron Agar (TSI), môi trường Simmonc Citrate Agar (SCA), môi trường Mueller-Hinton (MHA)

- Thuốc thử methyl red, thuốc thử Koblentz, thuốc thử là Kovacs

- Kháng huyết thanh K88, K99, 987P

3.2 Nội dung và phương pháp nghiên cứu

3.2.1 Nội dung nghiên cứu

Đánh giá tình hình bệnh tiêu chảy trên heo con từ sơ sinh - 60 ngày tuổi

- Ghi nhận tất cả trường hợp tiêu chảy trên heo con từ sơ sinh – 60 ngày tuổi trong phạm vi nghiên cứu.

- Thu mẫu mang về phòng thí nghiệm

- Phân lập vi khuẩn *E.coli* từ mẫu phân tiêu chảy và bình thường sau đó xác định số lượng vi khuẩn *E.coli* (triệu VK/1g phân) có trong mẫu phân

Xác định các chủng *E.coli* K88, K99, 987P gây tiêu chảy trên heo bằng phản ứng ngưng kết nhanh trên phiến kính

Kiểm tra sự nhạy cảm của vi khuẩn *E.coli* đối với kháng sinh

Các chỉ tiêu theo dõi

- Tỷ lệ heo con tiêu chảy được tính theo công thức

$$\text{Tỷ lệ tiêu chảy} = \frac{\text{Tổng số heo tiêu chảy}}{\text{Tổng số heo điều tra}} \times 100$$

- Số lượng vi khuẩn *E.coli* biến động trong mẫu bình thường và mẫu tiêu chảy của heo con ở các giai đoạn tuổi.

- Các chủng *E.coli* hiện diện trong mẫu phân tiêu chảy theo tuổi của heo con

- Tình hình nhạy cảm và đề kháng các loại kháng sinh thông dụng của vi khuẩn *E.coli* phân lập được từ heo con tiêu chảy

3.2.2 Phương pháp nghiên cứu

Trước khi bố trí địa điểm lấy mẫu chúng tôi tiến hành khảo sát và lựa chọn những hộ chăn nuôi có phương thức chăn nuôi khác nhau (cổ điển và cải tiến) ở các huyện Cầu Kè, Cầu Ngang, Châu Thành, Càng Long và Tiểu Cần.

Bằng phương pháp điều tra cắt ngang, chúng tôi lấy mẫu và ghi nhận tình hình tiêu chảy, điều kiện chăn nuôi tại thời điểm lấy mẫu thông qua phiếu thông tin mẫu (phụ lục đính kèm).

Bên cạnh đó chúng tôi còn ghi nhận tình hình tiêu chảy và hao hụt của heo con theo từng bầy thông qua sổ nhật ký nông hộ (phụ lục đính kèm).

Dung lượng mẫu

Dung lượng mẫu được xác định dựa trên cơ sở xác định tỷ lệ bệnh trong quần thể như sau (Trần Thị Dân, 2000).

Công thức:

$$n_{inf} = P(1-P)Z^2/d^2$$

Trong đó:

- n_{inf} là dung lượng mẫu từ quần thể lớn
- P là tỷ lệ bệnh ước tính
- $Z= 1,96$ là độ tin cậy 95%
- d mức khác biệt tối đa giữa tỷ lệ bệnh quan sát được và tỷ lệ bệnh có thật.

Để xác định dung lượng từ quần thể nhỏ 3713 con trong phạm vi 05 huyện tại tỉnh Trà Vinh.

Công thức: $n_{fin} = n_{inf}/1 + (n_{inf} - 1)/N$

Trong đó: N là số thú ở quần thể nhỏ

Từ công thức trên với tỷ lệ bệnh ước tính là 10%, mức độ khác biệt giữa tỷ lệ bệnh quan sát và tỷ lệ bệnh có thật là 5% thì số lượng mẫu cần lấy trong quần thể khảo sát là 132 mẫu.

Số mẫu phân heo bình thường được thu thập như mẫu đối chứng với những trường hợp tiêu chảy trong đàn. Ở mỗi trường hợp tiến hành lấy mẫu tiêu chảy đều phải lấy song song những mẫu bình thường trong đàn hoặc trong cùng chuồng nuôi.

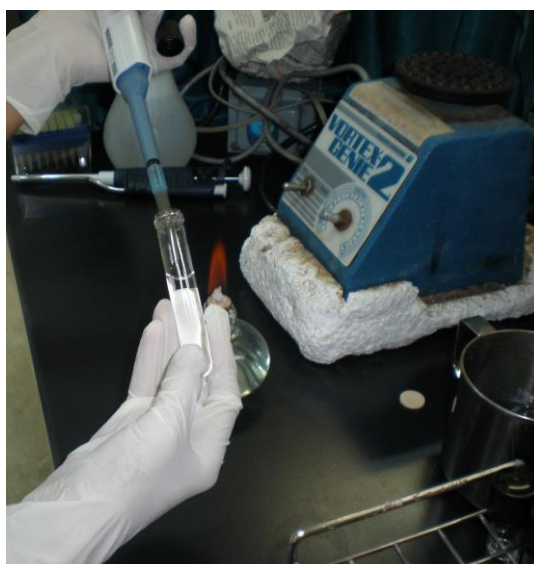
Như vậy tổng số mẫu tiêu chảy được lấy từ thực tế là 136 mẫu và tổng số mẫu bình thường là 124 mẫu.

Kiểm nghiệm vi khuẩn *E.coli* tại phòng thí nghiệm

*(1) Phương pháp định lượng vi khuẩn *E.coli**

Các bước thực hiện

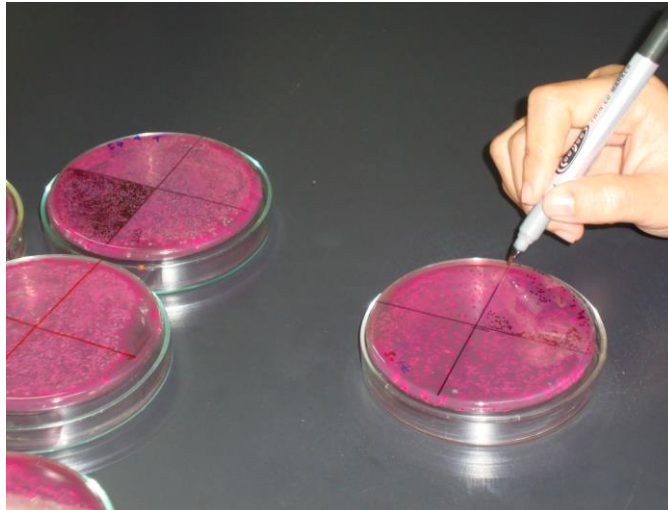
Chuẩn bị 5 ống nghiệm vô trùng, cho vào mỗi ống nghiệm 9ml dung dịch pepton. Cân 1 gram mẫu phân cho vào ống nghiệm đầu tiên, lắc thật kỹ ống nghiệm này bằng máy lắc. Dùng pipet hút 1ml mẫu cho vào ống nghiệm thứ 2, trình tự được thực hiện tương tự cho đến ống nghiệm thứ 5. Như vậy mẫu đã được pha loãng thành dãy các nồng độ thập phân 1/10, 1/100, 1/1000,...



Hình 1: Pha loãng mẫu

Trải 0,1ml mẫu lên môi trường thạch đĩa (Mac Conkey) bằng phương pháp hộp trải tương ứng cho từng bậc pha loãng (1/10, 1/100,...). Lặp lại những đĩa có số lượng vi khuẩn nằm trong khoảng cho phép đếm được (25 – 250 khuẩn lạc/đĩa).

Ủ mẫu trong tủ ấm ở 37°C, 24 giờ. Đếm số khuẩn lạc có màu cánh sen.



Hình 2: Đếm khuẩn lạc màu cánh sen

Tính kết quả

Số lượng vi khuẩn trong mẫu ban đầu tính từ số liệu của độ pha loãng D_1 được tính theo công thức là:

$$M_i \text{ (CFU/ml)} = A_i \times D_i / V$$

Trong đó A_i là số khuẩn lạc trung bình/đĩa, D_i là độ pha loãng và V là dung tích huyền phù tế bào cho vào mỗi đĩa (ml).

Số lượng vi khuẩn trung bình M_I trong mẫu ban đầu là trung bình cộng của M_i ở các nồng độ pha loãng khác nhau.

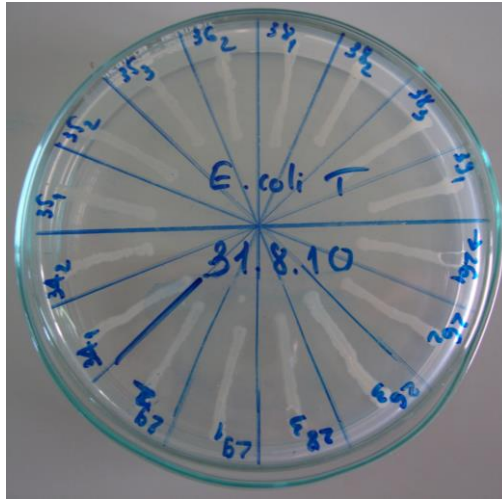
(2) Phương pháp nhân số lượng vi khuẩn E.coli

Trên cơ sở xác định số lượng vi khuẩn *E.coli* ở mục (1), dùng que cấy vòng phết nhẹ vào khuẩn lạc mọc riêng lẻ có màu cánh sen trên môi trường thạch Mac-Conkey, sau đó cấy khuẩn lạc này trên môi trường thạch dinh dưỡng (Nutrient Agar) bằng đường cấy thẳng.

Cấy ít nhất 3 khuẩn lạc cho mỗi mẫu

Ủ mẫu ở 37°C trong 24 giờ

Vi khuẩn sẽ mọc dọc theo đường cấy và có màu trắng đục.



Hình 3: Nhân số lượng vi khuẩn *E.coli* trên môi trường Nutrient Agar

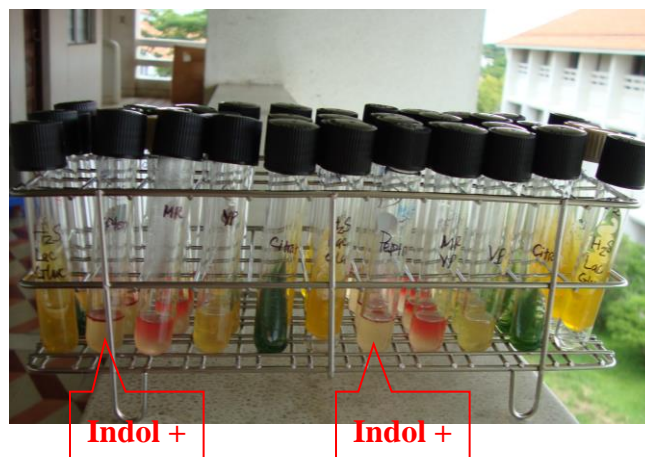
(3) Phương pháp thử sinh hóa vi khuẩn *E.coli*

Để phân biệt *E.coli* với vi khuẩn đường ruột khác người ta thường dùng thử nghiệm các phản ứng sinh hóa đặc trưng như: indole, methyl red, Vosges – Proskauer, citrate.

*Phản ứng indol

Vi khuẩn *E.coli* được phân lập ở mục (2) được cấy vào ống môi trường lỏng tryptone, ủ ở nhiệt độ 37⁰C trong 24 – 48 giờ. Nhỏ 5 giọt thuốc thử vào ống dịch nuôi cấy, để yên vài phút, theo dõi sự tạo màu đỏ trong lớp dung môi hữu cơ.

Thử nghiệm là dương tính (+) khi có sự xuất hiện của lớp màu đỏ trên bề mặt môi trường.



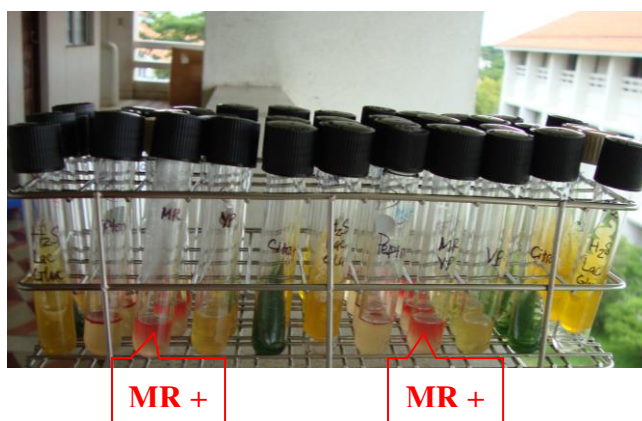
Hình 4: Vi khuẩn *E.coli* cho phản ứng Indol dương tính

* Thử nghiệm MR (Methyl Red)

Dùng que cấy vòng cấy một lượng nhỏ sinh khối từ khuẩn lạc thuần vào môi trường lỏng Glucose Phosphate (MR-VP Broth), ủ ở 37⁰C trong 24 giờ. Sau đó thêm

vào vài giọt thuốc thử methyl red (0,02% trong hỗn hợp cồn nước có tỷ lệ 3:2, bảo quản ở 4⁰C). Đọc kết quả ngay.

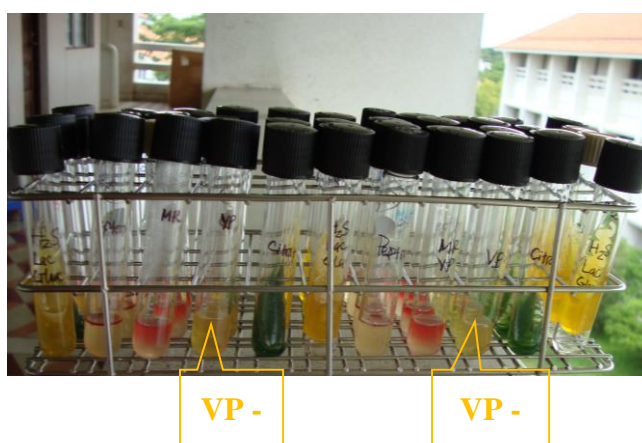
Thử nghiệm MR là (+) khi môi trường có màu đỏ sau khi bổ sung thuốc thử.



Hình 5: Vi khuẩn *E.coli* cho phản ứng MR dương tính

*Thử nghiệm VP (Voges – Proskauer)

Dùng que cấy vòng cấy vào môi trường MR-VP một ít sinh khối vi khuẩn *E.coli* đã được ủ ở 37⁰, trong 18-24 giờ trong môi trường KIA hoặc TSI. Ủ các ống môi trường này ở 37⁰ trong 18-24 giờ, sau đó bổ sung thuốc thử Koblentz trực tiếp vào môi trường. Đọc kết quả sau 20 phút.



Hình 6: Vi khuẩn *E.coli* cho phản ứng VP âm tính

*Thử nghiệm KIA và TSI

Môi trường KIA hay TSI được pha chế, hấp khử trùng và chuyển vào ống nghiệm vô trùng để tạo thành ống thạch nghiêng. Dùng que cấy thẳng cấy sinh khối vi khuẩn *E.coli* vào phần sâu của ống thạch nghiêng nhưng tránh chạm vào đáy ống nghiệm, sau đó ria trên bề mặt thạch nghiêng. Ủ các ống thạch nghiêng ở 37⁰C trong 24 giờ. Ghi nhận sự biến đổi màu môi trường và sự sinh hơi bên dưới hoặc trong môi trường thạch.

Môi trường thử nghiệm sẽ chuyển sang màu vàng: Glucose, lactose dương tính;
Trong môi trường thạch nghiêng có sinh hơi, H₂S dương tính.

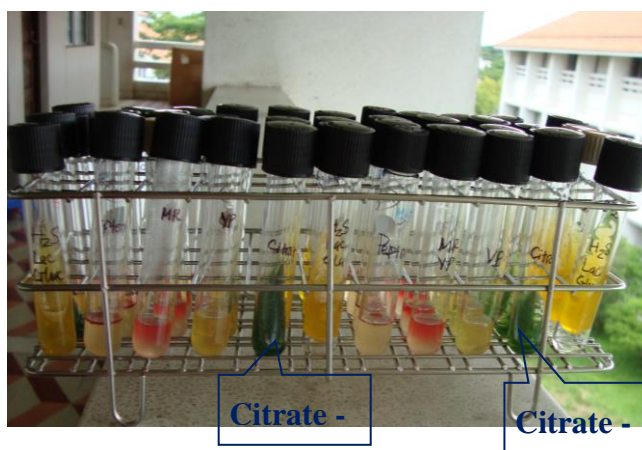


Hình 7: Vi khuẩn *E.coli* cho phản ứng dương tính trong môi trường KIA

*Thử nghiệm khả năng biến dưỡng Citrate

Cấy ria vi khuẩn *E.coli* lên môi trường Simmon Citrate Agar (SCA) trong ống thạch nghiêng, ủ ống thạch nghiêng ở 35⁰C trong 24 giờ rồi đọc kết quả.

Vi khuẩn *E.coli* cho phản ứng âm tính nên môi trường ống thạch nghiêng giữ nguyên màu môi trường ban đầu (màu xanh lục) và không có khuẩn lạc mọc trên bề mặt.



Hình 8: Vi khuẩn *E.coli* cho phản ứng Citrate âm tính

(4) Phương pháp thử kháng sinh đồ vi khuẩn *E.coli*

Trên cơ sở ghi nhận từ thực tế tại các địa phương chúng tôi đã lấy mẫu cho thấy, các loại kháng sinh thường được sử dụng trong điều trị và phòng ngừa gồm: Amoxicillin LA, Colistin, Gentamycin, Oxytetracyclin, Trimethoprim/Sulphamethoxazole, Enprofloxacin. Do đó, khi thực hiện kháng sinh đồ nhằm kiểm tra mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* trong phạm vi lấy mẫu chúng tôi đặc biệt chú ý đến những loại kháng sinh này.

Các bước thực hiện

Dùng que cấy vòng chấm vào khuẩn lạc để lấy một lượng sinh khối vi khuẩn và hòa tan vào ống nghiệm chứa 1ml PBS pH 7,2 - 7,4. Lắc đều ống nghiệm chứa hỗn dịch này và so độ đục với dung dịch Mc Farland 0,5 (tương đương 10^8 vi khuẩn). Sau đó dùng pipettes Pasteur lấy một giọt tương đương 0,05 ml cho vào 5ml PBS để được độ pha loãng 1/100, tương đương 10^6 VK/1ml.

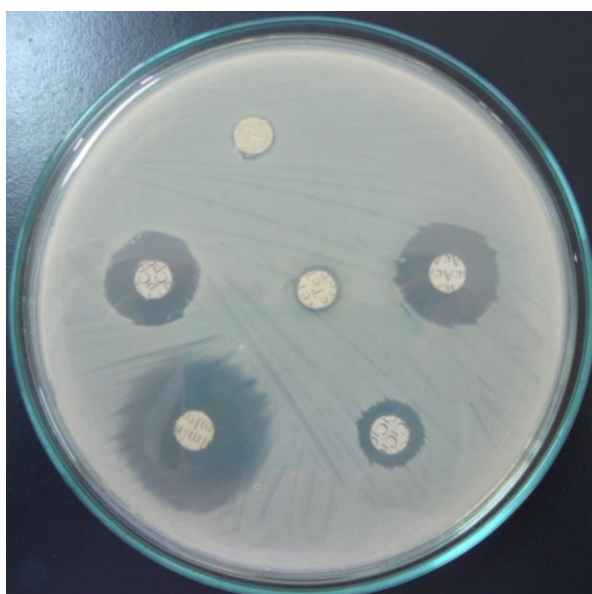
Dùng tăm bông chấm vào ống hỗn dịch rồi ép nhẹ vào thành ống nghiệm, sau đó dàn đều hỗn dịch vi khuẩn lên môi trường thạch, để khô mặt thạch bằng cách đặt chúng trong tủ ẩm 15 phút trước khi đặt khoanh giấy kháng sinh.

Các khoanh giấy kháng sinh được đặt một cách chắc chắn và đều nhau bằng một khoảng cách 24mm kể từ cạnh khoanh này đến khoanh khác trên mặt thạch đĩa petri có đường kính 9cm. Như vậy có 6 khoanh giấy kháng sinh được đặt trên mỗi đĩa.

Dùng kẹp đầu nhọn vô trùng để đặt khoanh giấy nhẹ nhàng, rồi ấn nhẹ khoanh giấy xuống bảo đảm tiếp xúc hoàn toàn với mặt thạch. Không dịch chuyển khoanh giấy nếu như nó đã tiếp xúc với mặt thạch.

Để các đĩa petri ở nhiệt độ phòng khoảng 30 phút để đảm bảo cho kháng sinh từ các khoanh giấy khuếch tán ra một cách đồng đều ở thạch.

Úp ngược và ủ ấm các đĩa này ở 37°C trong vòng 18 – 20 giờ. Sau đó dùng thước đo đo đường kính vòng vô khuẩn và tính ra mm. Đường kính vòng vô khuẩn được ghi lại cho từng loại kháng sinh trong bảng tiêu chuẩn.



Hình 9: Kết quả kháng sinh đồ

Bảng 2: Tiêu chuẩn đánh giá khả năng nhạy cảm/kháng của vi khuẩn *E.coli* với một số loại kháng sinh thông dụng (CLSI, 2010).

T T	Tên kháng sinh	Hàm lượng (μg)	Tiêu chuẩn (mm)		
			Kháng	Mẫn cảm trung bình	Mẫn cảm cao
1	Amoxicillin/Clavulanic acid	20/10	≤ 13	14-17	≥ 18
2	Cephalothin	30	≤ 14	15-17	≥ 18
3	Colistin	10	≤ 8	9-10	≥ 11
4	Flofenicol	30	≤ 12	13-17	≥ 18
5	Gentamycin	10	≤ 12	13-14	≥ 15
6	Imipeneme	10	≤ 13	14-15	≥ 16
7	Streptomycin	300	≤ 11	12-14	≥ 15
8	Tetracyclin	30	≤ 14	15-18	≥ 19
9	Trimethoprim/ Sulphamethoxazole	1,25/23,75	≤ 10	11-15	≥ 16
10	Ciprofloxacin		≤ 15	16-20	≥ 21
11	Enprofloxacin		≤ 14	15-17	≥ 18

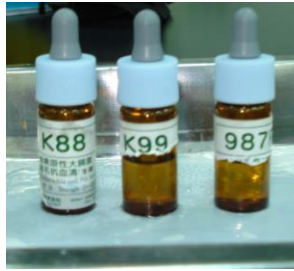
*(5) Phương pháp định danh vi khuẩn *E.coli**

Test gây ngưng kết nhanh trên phiến kính được thực hiện qua hai bước như sau:

Bước 1: *E.coli* được phân lập từ mẫu được sử dụng để tạo nguồn kháng nguyên K88, K99, 987P trên những môi trường nutrient Agar.

Bước 2: Tìm kháng nguyên K88, K99, 987P

Sử dụng nguồn kháng nguyên đã tạo ở bước 1 để thực hiện test ngưng kết nhanh trên phiến kính đối với từng chủng *E.coli*.



Hình 10: Kháng huyết thanh K88, K99, 987P

Các bước thực hiện

Dùng một lam sạch để trên mặt bàn bằng phẳng, đủ ánh sáng để quan sát.

Nhỏ một giọt nước muối sinh lý, dùng que vấy vòng lấy một ít vi khuẩn (phân lập từ mẫu ở bước 1) hòa vào giọt nước muối sinh lý, khuấy đều. Lúc này ta thấy giọt huyền phù màu trắng đục không kết tủa, được dùng làm đối chứng âm.

Tiếp tục nhỏ một giọt kháng huyết thanh (K88 hoặc K99 hoặc 987P) lên lam kính (vị trí gần đó), lấy một ít vi khuẩn hòa vào giọt huyết thanh này và khuấy đều. Nếu giọt huyền phù vẫn đục giống như giọt huyền phù đối chứng. Kết luận âm tính. Ngược lại, giọt huyền phù có kết tủa lợn cợn, giọt huyền phù trong hơn giọt huyền phù đối chứng. Kết luận dương tính.



Hình 11: Test *E.coli* K88, K99, 987P bằng phản ứng ngưng kết nhanh trên phiến kính

(6) Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng chương trình Excel và chương trình Minitab 14 (Stat/Basic Statistics/ Display descriptive Statistics và Stat/Basic Statistics/2-sample t).

CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1 Tình hình tiêu chảy trên heo con

4.1.1 Tỷ lệ heo tiêu chảy và chết do tiêu chảy tại các hộ chăn nuôi ở các huyện theo phương thức chăn nuôi

Để đánh giá tình hình tiêu chảy trên heo con từ sơ sinh đến 60 ngày tuổi tại tỉnh Trà Vinh, chúng tôi đã tiến hành điều tra trên 3713 heo con tại các hộ có phương thức chăn nuôi cổ điển và các trại chăn nuôi có phương thức chăn nuôi cải tiến thuộc các huyện Châu Thành, Càng Long, Tiểu Cần, Cầu Kè, Cầu Ngang. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3: Tỷ lệ heo tiêu chảy và hao hụt tại các hộ chăn nuôi thuộc các huyện

stt	Địa điểm	Số heo con điều tra	TL heo tiêu chảy		TL heo tiêu chảy trước cai sữa		TL heo tiêu chảy sau cai sữa		TL hao hụt	
			SL	TL (%)	SL	TL (%)	SL	TL (%)	SL	TL (%)
1	CK	1200	387	32,25	222	18,50	165	13,75	39	3,25
2	CN	961	278	28,93	147	15,30	131	13,63	14	1,46
3	CT-CL	1043	191	18,31	103	9,88	88	8,44	15	1,44
4	TC	509	102	20,04	58	11,39	44	8,64	7	1,38
5	Tính chung	3713	958	25,80	530	14,27	428	11,53	75	2,02

SL: Số lượng; TL: Tỷ lệ; CK: huyện Cầu Kè; CN: huyện Cầu Ngang; CT-CL: huyện Châu Thành và Càng Long; TC: huyện Tiểu Cần

Tiêu chảy ở heo từ sơ sinh đến 60 ngày tuổi xảy ra ở tất cả các hộ chăn nuôi với tỷ lệ khá cao. Qua kết quả ghi nhận ở bảng 3 cho thấy tỷ lệ tiêu chảy là 25,80%, trong đó tỷ lệ heo con trước cai sữa tiêu chảy là 14,25% cao hơn nhóm heo sau cai sữa (11,53%). Tỷ lệ heo con hao hụt do tiêu chảy là 2,02%. Các tỷ lệ này biến động theo hình thức chăn nuôi ở các địa phương.

Tại huyện Cầu Kè chiếm tỷ lệ cao nhất (32,25%), trong đó tỷ lệ heo tiêu chảy trước cai sữa và sau cai sữa lần lượt chiếm tỷ lệ là 18,50% và 13,75%. Sở dĩ nơi đây có tỷ lệ tiêu chảy cao là do chúng tôi chọn những hộ chăn nuôi dưới phương thức chăn

nuôi cổ điển, các hộ chăn nuôi tương đối gần nhau, điều kiện chuồng trại chưa cải tiến, còn có những hộ chưa trang bị núng uống cho heo con, chất thải được thải trực tiếp ra sông rạch. Điều này còn cho thấy tỷ lệ heo con hao hụt do tiêu chảy cũng chiếm tỷ lệ cao nhất so với các hình thức chăn nuôi khác (3,25%).



Hình 12: Điều kiện chuồng trại tại huyện Cầu Kè

Tại huyện Cầu Ngang có tỷ lệ tiêu chảy là 28,93%, trong đó tỷ lệ heo con tiêu chảy trước cai sữa và sau cai sữa lần lượt là 15,30% và 13,63%. Tỷ lệ heo con hao hụt do tiêu chảy là 1,46%. Tỷ lệ này được xác định ở một số hộ chăn nuôi nhỏ lẻ và một trại chăn nuôi.

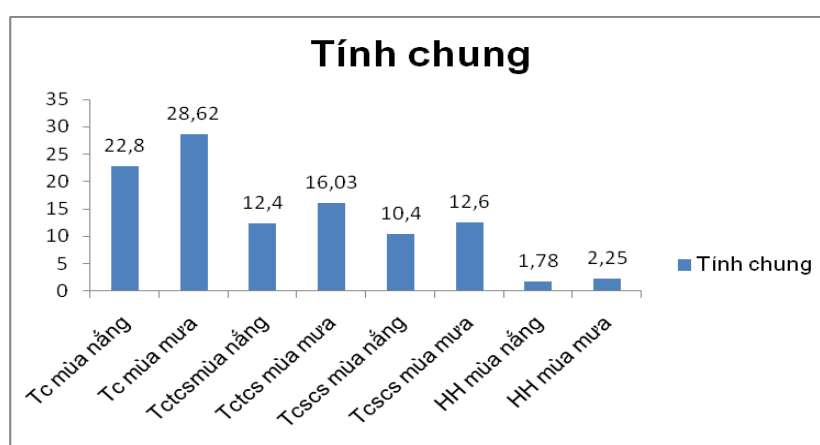
Tại huyện Châu Thành và Càng Long thì chúng tôi đã chọn những trại chăn nuôi có phương thức chăn nuôi cải tiến, có kết cấu, điều kiện vệ sinh chuồng trại gần giống nhau, do đó tỷ lệ tiêu chảy ở khu vực này là 18,31%, trong đó tỷ lệ heo con tiêu chảy trước cai sữa là 9,88% và 8,44%. Tỷ lệ heo con hao hụt do tiêu chảy là 1,44%. Tương tự, tại huyện Tiểu Cần, chúng tôi cũng đã lấy mẫu và điều tra trên những trại chăn nuôi có phương thức chăn nuôi cổ điển. Ở đây tỷ lệ tiêu chảy là 20,4% trong đó tỷ lệ heo tiêu chảy trước cai sữa và sau cai sữa lần lượt là 11,39% và 8,64%. Tỷ lệ hao hụt là 1,38%.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Cảnh Dũng và Cừ Hữu Phú (2011), tỷ lệ tiêu chảy ở heo con sau cai sữa nuôi tại Lâm Đồng là 11,41%. Theo Lê Thị Hoài (2008) tại tỉnh Hưng Yên, cho thấy tỷ lệ tiêu chảy của heo con từ sơ sinh đến 60 ngày tuổi là 30,30% và tỷ lệ hao hụt do tiêu chảy là 5,07%. Theo Nguyễn Thị Ngũ (2005), tại Hà Tây, tỷ lệ heo từ sơ sinh đến 60 ngày tuổi tiêu chảy chiếm tỷ lệ 38,61%, tỷ lệ hao hụt là 5,36%.

4.1.2 Tỷ lệ heo tiêu chảy và hao hụt theo mùa

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 (dương lịch) đến tháng 11 (dương lịch), lượng mưa nhiều và dày đặc do đó tạo không khí lạnh và ẩm. Đây là điều kiện thuận lợi cho mầm bệnh lan truyền, trong đó có vi khuẩn *E.coli*. Mặt khác, với điều kiện chuồng trại thấp, kém vệ sinh, thiếu che chắn, việc chăm sóc nuôi dưỡng và công tác phòng chống bệnh chưa tốt sẽ là các yếu tố gây stress cho vật nuôi, đặc biệt là heo con sơ sinh và theo mẹ.

Qua ghi nhận tình hình tiêu chảy ở heo con vào mùa nắng và mùa mưa tại Trà Vinh, kết quả ghi nhận được trình bày trong hình 13.



Hình 13: Tỷ lệ heo con tiêu chảy và hao hụt vào mùa nắng và mùa mưa

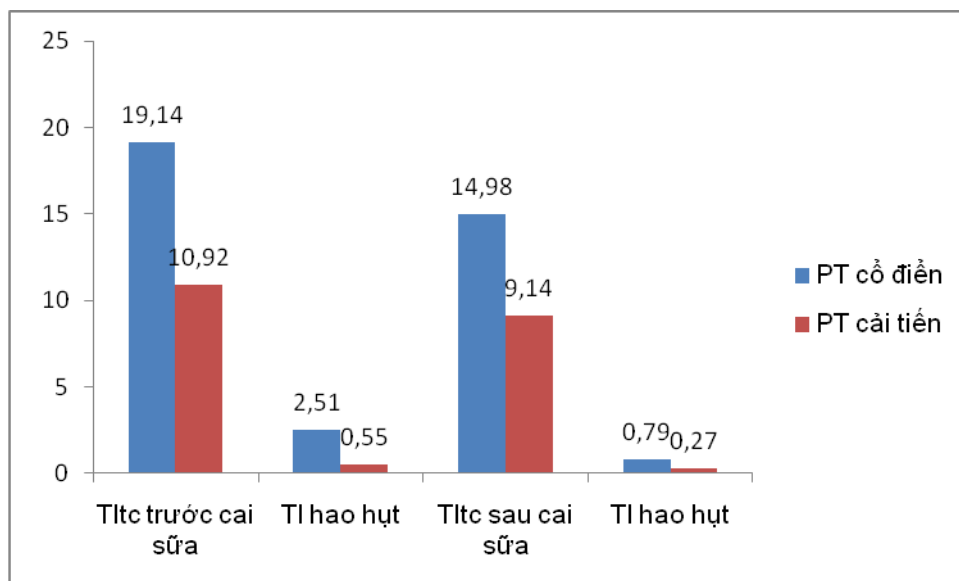
TC: Tiêu chảy; TCTCS: Tiêu chảy trước cai sữa; TCSCS: Tiêu chảy sau cai sữa; HH: Hao hụt

Qua kết quả ở hình 13 cho thấy:

Tỷ lệ heo con tiêu chảy vào mùa nắng là 22,8%, trong đó tỷ lệ heo con tiêu chảy trước cai sữa và sau cai sữa lần lượt là 12,4%, 10,4%, tỷ lệ hao hụt là 1,78%. Tuy nhiên tỷ lệ tiêu chảy ở heo con vào mùa mưa cao hơn (28,62%) nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p=0,22$), trong đó tỷ lệ heo tiêu chảy trước và sau cai sữa lần lượt là 16,3% và 12,6%, tỷ lệ hao hụt vào mùa mưa cũng cao hơn (2,25%).

4.1.3 Tỷ lệ heo tiêu chảy theo phương thức chăn nuôi

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành ghi nhận tình hình tiêu chảy heo con dưới hai phương thức chăn nuôi cổ điển và cải tiến. Kết quả được trình bày trong hình 14.



Hình 14: Tỷ lệ heo tiêu chảy và hao hụt theo phương thức chăn nuôi

Tlct: Tỷ lệ tiêu chảy; Tl: Tỷ lệ

Với phương thức chăn nuôi cổ điển, heo nái và heo con được nuôi trên nền xi măng hoặc gạch, lồng úm heo con đơn giản, máng ăn, máng uống được sử dụng chung và được bố trí bên trong chuồng, chất thải chăn nuôi được thải trực tiếp ra sông rạch, nguồn nước sử dụng rửa chuồng trại là nước sông, thức ăn phối trộn hoặc công nghiệp nhưng thường thay đổi giữa các Công ty sản xuất. Điều này ảnh hưởng lớn đến vấn đề tiêu chảy và hao hụt do tiêu chảy ở heo con, cụ thể qua hình 14 cho thấy tỷ lệ heo tiêu chảy trước và sau cai sữa lần lượt là 19,14% và 14,98%. Tỷ lệ hao hụt là 2,51% cao hơn so với phương thức chăn nuôi cải tiến.

Tỷ lệ heo tiêu chảy trước và sau cai sữa ở phương thức chăn nuôi cải tiến lần lượt là 10,92% và 9,14%, thấp hơn tỷ lệ chung (14,27% và 11,53%) vì qua khảo sát cho thấy các hộ chăn nuôi này đã trang bị điều kiện chuồng trại tương đối tốt hơn, phần lớn heo con được nuôi trên nền sàn, lồng úm heo con cách nền chuồng, có trang bị núm uống đảm bảo cung cấp đủ nước sạch cho heo con và heo mẹ, thức ăn chủ yếu là thức ăn công nghiệp được sử dụng tương đối ổn định về nơi sản xuất. Do đó tỷ lệ heo con tiêu chảy giảm thấp ít nhiều có liên quan đến các yếu tố trên.

4.2 Vai trò vi khuẩn *E.coli* đối với tiêu chảy heo con

4.2.1 Kết quả phân lập vi khuẩn *E.coli* từ mẫu phân heo bình thường và tiêu chảy

Để xác định vai trò của vi khuẩn *E.coli* trong hội chứng tiêu chảy heo con từ sơ sinh đến 60 ngày tuổi, chúng tôi xác định sự hiện diện của vi khuẩn *E.coli* có trong 136 mẫu phân tiêu chảy và 124 mẫu bình thường của heo con tiêu chảy và bình thường từ 1 – 60 ngày tuổi theo qui trình thường qui của phòng vi sinh Bộ môn Thú y, Khoa Sinh học và Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ. Kết quả được trình bày qua bảng 4.

Bảng 4: Sự hiện diện của vi khuẩn *E.coli* trong mẫu tiêu chảy và bình thường

STT	Địa điểm	Mẫu tiêu chảy			Mẫu phân bình thường		
		Số mẫu	Số mẫu (+)	TL (%)	Số mẫu	Số mẫu (+)	TL (%)
1	CK	46	46	100	53	53	100
2	CN	49	49	100	20	20	100
3	CT-CL	25	25	100	27	27	100
4	TC	16	16	100	24	24	100
5	Tính chung	136	136	100	124	124	100

TL: Tỷ lệ; CK: huyện Cầu Kè; CN: huyện Cầu Ngang; CT-CL: huyện Châu Thành và Càng Long; TC: huyện Tiểu Cần

Qua bảng 4 cho thấy vi khuẩn *E.coli* hiện diện trong tất cả mẫu phân của heo tiêu chảy và bình thường (100%). Theo Hồ Văn Nam và cs (1996), vi khuẩn *E.coli* là vi khuẩn thường trực trong ruột heo bú sữa và bội nhiễm khi tiêu chảy phân trắng và còn được tìm thấy trong 100% mẫu phân heo ở những lứa tuổi lớn hơn.

Nghiên cứu của Trương Quang (2005) trên heo tiêu chảy tại Hà Nội kết luận rằng 100% mẫu phân heo tiêu chảy phân lập được vi khuẩn *E.coli*. Theo Lê Thị Hoài (2008) nghiên cứu tại Hưng Yên cũng kết luận rằng 100% mẫu phân heo từ 1 – 60 ngày tuổi khỏe mạnh và tiêu chảy phân lập được vi khuẩn *E.coli*.

Nhìn chung kết quả phân lập được vi khuẩn *E.coli* trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu của các tác giả vừa nêu trên.

4.2.2 Kết quả kiểm tra đặc tính sinh hóa của vi khuẩn *E.coli*

Để khẳng định sự hiện diện của vi khuẩn *E.coli* có trong mẫu kiểm nghiệm, chúng tôi tiến hành thử các đặc tính sinh hóa điển hình của vi khuẩn *E.coli*. Kết quả ghi nhận được trình bày trong bảng 5.

Bảng 5: Kết quả kiểm tra đặc tính sinh hóa của vi khuẩn *E.coli* có trong mẫu phân tiêu chảy và mẫu bình thường

STT	Đặc tính Sinh hóa	KQ KT	Mẫu tiêu chảy			Mẫu phân bình thường		
			SM	SM (+)	TL (%)	SM	SM (+)	TL (%)
1	Indol	+	136	136	100	124	124	100
2	MR	+	136	136	100	124	124	100
3	VP	-	136	136	100	124	124	100
4	Citrat	-	136	136	100	124	124	100
5	Lactose	+	136	136	100	124	124	100
6	Glucose	+	136	136	100	124	124	100
7	Sinh hơi	+	136	136	100	124	124	100

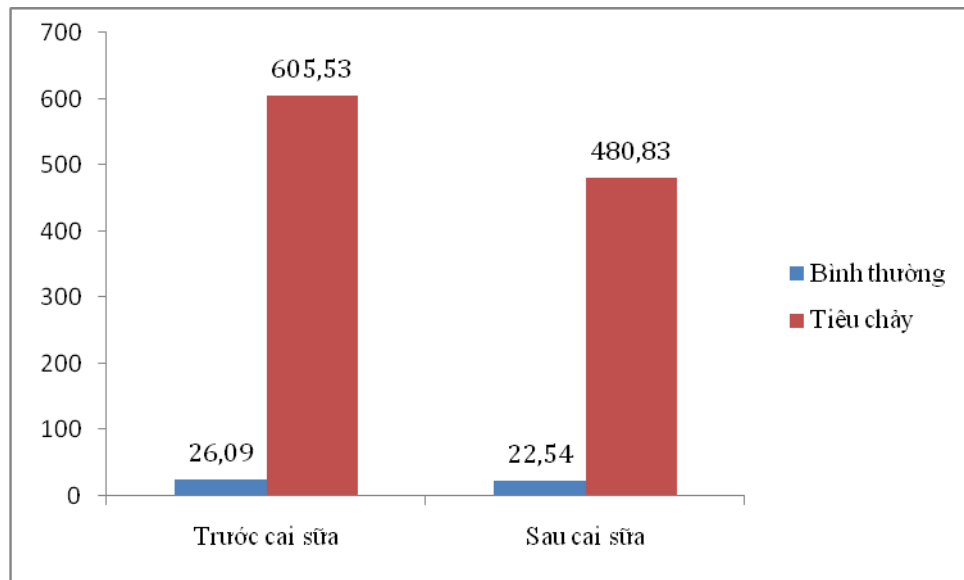
SM: Số mẫu; TL: tỷ lệ; KQKT: Kết quả kiểm tra

Qua kết quả bảng 5 cho thấy:

Vi khuẩn *E.coli* phân lập được trong tất cả mẫu phân tiêu chảy và bình thường đều cho phản ứng sinh Indol và MR dương tính, còn các phản ứng VP và Citrate đều cho kết quả âm tính. Ngoài ra vi khuẩn *E.coli* còn biến đổi màu môi trường nuôi cấy KIA và sinh hơi, chứng tỏ vi khuẩn có khả năng sử dụng đường Glucose và Lactose.

4.2.3 Kết quả xác định sự biến động số lượng vi khuẩn *E.coli* trung bình (triệu VK/1g phân) ở các lứa tuổi của heo con tiêu chảy và bình thường

Để khẳng định vai trò của vi khuẩn *E.coli* trong hội chứng tiêu chảy heo con từ 1- 60 ngày tuổi, chúng tôi xác định sự gia tăng đột biến số lượng vi khuẩn trong mẫu bình thường và mẫu tiêu chảy bằng phương pháp đếm khuẩn lạc. Kết quả được trình bày trong hình 15.



Hình 15: Mức độ biến động số lượng vi khuẩn *E.coli* (triệu VK/1g phân) theo lứa tuổi heo con

Ở heo con bình thường trước cai sữa, số lượng vi khuẩn trung bình (triệu VK/1g phân) là $26,09 \pm 3,02$ và số lượng vi khuẩn trong trường hợp tiêu chảy tăng lên rất nhiều lần (605,53 (tăng 23,21 lần)). Trường hợp heo con bình thường sau cai sữa, số lượng vi khuẩn trung bình (triệu VK/1g phân) là $22,54 \pm 3,27$, số lượng vi khuẩn này tăng lên đến $480,83 \pm 127,79$ (21,23 lần) so với trường hợp bình thường.

Kết quả nghiên cứu này phù hợp với các tác giả đã nghiên cứu ở nhiều địa phương khác nhau trong cả nước.

Theo Lê Thị Hoài (2008) thì số lượng vi khuẩn trung bình đếm được trong 1 gam phân của heo bình thường từ 1 – 21 ngày tuổi, 22 – 45 ngày tuổi và 46 – 60 ngày tuổi lần lượt là 6,7; 8,2 và 5,9 triệu VK/1g phân. Số lượng vi khuẩn tăng lên rất nhiều lần trong trường hợp tiêu chảy ở các lứa tuổi tương ứng (161,2 (tăng 24,1 lần); 149,5 (tăng 18,2 lần); 138,7 (tăng 23,5 lần) triệu VK/g phân).

Theo Hồ Soái và Đinh Thị Bích Liên (2005) cho rằng, số lượng vi khuẩn phân lập được từ heo bị tiêu chảy ở heo từ 1- 45 ngày tuổi là 132,79 triệu VK/1g phân và ở lợn 45 – 60 ngày tuổi là 124,08 triệu VK/1g phân, tăng gấp 2,37 lần và 1,39 lần so với mẫu không tiêu chảy.

Theo Trương Quang (2005), khi kiểm tra số lượng vi khuẩn *E.coli*/1g phân từ 314 mẫu phân heo không bị tiêu chảy và 312 mẫu của heo tiêu chảy, kết quả cho thấy rằng số lượng vi khuẩn ở heo từ 1- 21 ngày tuổi cao gấp 2,46 – 2,73 lần và từ 22 – 60 ngày tuổi là 1,88 – 2,10 lần so với không bị tiêu chảy.

Các kết quả trên cho thấy vi khuẩn *E.coli* có vai trò trong những trường hợp tiêu chảy heo con.

4.3 Kết quả xác định khả năng nhạy cảm và đề kháng với các loại kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* phân lập được

4.3.1 Kết quả xác định khả năng đề kháng và nhạy cảm với các loại kháng sinh của vi khuẩn *E.coli*

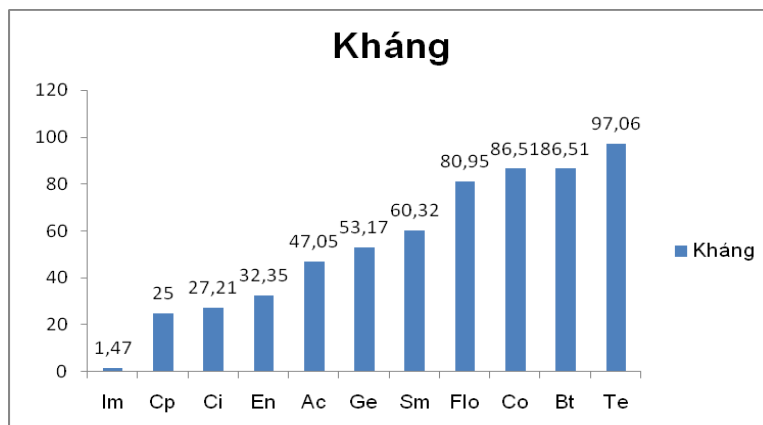
Trước tình hình dịch bệnh trong chăn nuôi hiện nay, kháng sinh đóng vai trò quan trọng và được sử dụng theo nhiều mục đích khác nhau trong phòng và trị bệnh cho vật nuôi, kháng sinh còn được bổ sung vào thức ăn không hạn chế đã làm cho vi khuẩn đề kháng với nhiều loại kháng sinh. Bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch, khả năng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* phân lập được từ 136 mẫu phân heo từ 1 – 60 ngày tuổi tiêu chảy đã được xác định trên 11 loại kháng sinh sau: Tetracyclin, Gentamycin, Flofenicol, Trimethoprim/Sulphamethoxazole, Streptomycin, Colistin, Cephalothin, Amoxicillin/Clavulanic acid, Ciprofloxacin, Enprofloxacin, Imipeneme. Kết quả được trình bày trong bảng 6 dưới đây.

Bảng 6: Kết quả xác định khả năng đề kháng và nhạy cảm với 11 loại kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* phân lập được từ heo tiêu chảy

STT	Loại KS	TSM	R	TL (%)	I	TL (%)	S	TL (%)
1	Im	136	2	1,47	2	1,47	132	97,06
2	Cp	136	34	25	75	55,15	27	19,85
3	Ci	136	37	27,21	46	33,82	53	38,97
4	En	136	44	32,35	48	35,29	44	32,35
5	Ac	136	64	47,05	31	22,79	41	30,15
6	Ge	126	67	53,17	1	0,79	58	46,03
7	Sm	126	76	60,32	0	0,00	50	39,68
8	Flo	126	102	80,95	18	14,28	6	4,76
9	Co	126	109	86,51	2	1,59	15	11,90
10	Bt	126	109	86,51	3	2,38	14	11,11
11	Te	136	132	97,06	2	1,47	2	1,47

TSM: Tổng số mẫu; KS: Kháng sinh; R: kháng; I: Trung gian; S: mẫn cảm; TL: Tỷ lệ

Im: Imipeneme; Cp: Cephalothin; Ci: Ciprofloxacin; En: Enprofloxacin; Ac: Amoxicillin/Clavulanic acid; Ge: Gentamycin; Sm: Streptomycin; Flo: Flofenicol; Co: Colistin; Bt: Trimethoprim/Sulphamethoxazole; Te: Tetracyclin



Hình 16: Mức độ đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli*

Qua bảng 6 và hình 16 cho thấy:

Vi khuẩn nhạy cảm mạnh với Imipeneme (97,06%), nhạy cảm tương đối với Gentamycin (46,03%), Streptomycin (39,68%), Ciprofloxacin (38,97%), Enprofloxacin (32,35%), Amoxicillin/Clavulanic acid (30,15%). Vi khuẩn đề kháng cao với nhiều loại kháng sinh gồm Tetracyclin (97,06%), Trimethoprim/Sulphamethoxazole (86,51%), Colistin (86,51%), Flofenicol (80,95%), Streptomycin (60,32%), Gentamycin (53,17%), Cephalothin (25%).

Nhóm nghiên cứu Võ Thành Thìn, Lê Đình Hải, Vũ Khắc Hùng (2010) đã thử nghiệm trên 23 loại kháng sinh với 184 chủng *E.coli* phân lập được từ heo con tiêu chảy và kết luận rằng: Hầu hết các chủng vi khuẩn đề kháng cao với nhiều loại kháng sinh thông dụng như Oxacillin, Tetracyclin, Colistin, Trimethoprim/Sulphamethoxazole, Streptomycin, Nalidixic acid. Vi khuẩn mẫn cảm mạnh với Imipeneme, Ceftazidime và Cefepime, Amikacin, Amoxicillin/Clavulanic, Polymycin B, Florfenicol và Ceftriaxon.

Nhóm nghiên cứu của Võ Thị Trà An (2010) đã thử nghiệm 11 loại kháng sinh trên 100 gốc vi khuẩn *E.coli* phân lập được từ phân heo và bò trên địa bàn TP. Hồ Chí Minh và các tỉnh lân cận, cho thấy rằng. Mức độ nhạy cảm của vi khuẩn *E.coli* giảm dần với kháng sinh Ceftazidime (93,7%), Amoxicillin/clavulanic acid (73%), Norfloxacin (66%), Getamycin (40%), Chloramphenicol (34%), Kanamycin (33%), Trimethoprim/sulfamethoxazol (29%), Cephalexin (25%), Ampicilin (21%), Tetracycline (20%) và Colistin (7%).

Tác giả Lý Thị Liên Khai (2003) nghiên cứu về mức độ nhạy cảm với kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* phân lập được từ heo con tiêu chảy trên 10 hộ chăn nuôi tại xã Tân Phú Thạnh, huyện Châu Thành, tỉnh Cần Thơ cho thấy rằng vi khuẩn mẫn cảm

với Amikacin (100%), Bactrim (8,33%), Ciprofloxacin (33,33%), Colistine (33,33%), Gentamycin (63,63%), Neomycin (33,33%), Norfloxacin (54,54%).

Như vậy qua tham khảo nhiều kết quả nghiên cứu và đối chiếu với kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rằng vi khuẩn *E.coli* đã đề kháng mạnh với nhiều loại kháng sinh, đặc biệt là Tetracycline vi khuẩn đã kháng hoàn toàn với loại kháng sinh này ở nhiều địa phương khác nhau. Tương tự, kháng sinh Flofenicol cũng cho kết quả kháng mạnh trong nghiên cứu này so với các nghiên cứu trước đây ở những vùng miền khác nhau.

Trái lại, vi khuẩn nhạy cảm mạnh với Imipeneme vì đây là kháng sinh thế hệ mới, hiện nay chỉ được khuyến cáo sử dụng trong điều trị một số bệnh nhiễm khuẩn và tiêu chảy nặng ở người. Đây là loại kháng sinh có hoạt phổ kháng khuẩn mạnh và phổ tác dụng rộng, có thể sử dụng trong điều trị bệnh nhiễm khuẩn Gram+ và Gram-. Qua kết quả kháng sinh đồ trong nghiên cứu này, loại kháng sinh này đã có dấu hiệu kháng (4/136 mẫu). Do đó chúng ta nên tiếp tục nghiên cứu và đề xuất sử dụng trong điều trị bệnh tiêu chảy ở heo con. Bên cạnh đó, chúng ta có thể sử dụng các loại kháng sinh ở nhóm nhạy cảm tương đối bằng phương pháp phối hợp kháng sinh nhằm tăng tác dụng hiệp đồng của kháng sinh, tăng tính kháng khuẩn thông qua việc kết hợp nhiều loại kháng sinh trong điều trị bệnh tiêu chảy ở heo con.

4.3.2 Kết quả xác định khả năng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn E.coli tại các địa phương

Khả năng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* ở những địa phương khác nhau thể hiện mức độ sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi ở địa phương đó. Kết quả được trình bày trong bảng 7.

Bảng 7: Kết quả xác định khả năng đề kháng với kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* ở các huyện

stt	Loại KS	Huyện Châu Thành, Càng Long và Tiểu Cần			Huyện Cầu Kè			Huyện Cầu Ngang		
		TS	R	TL (%)	TS	R	TL (%)	TS	R	TL (%)
1	Ac	41	26	63,41	46	14	30,43	49	24	48,98
2	Cp	41	17	41,46	46	7	15,18	49	9	18,37
3	Im	41	1	2,44	46	0	0,00	49	0	0,00
4	Te	41	40	97,56	46	43	93,48	49	49	100,00
5	Ci	41	12	29,3	46	9	19,56	49	13	26,53
6	En	41	16	39,02	46	11	23,91	49	16	32,65
7	Ge	40	25	62,5	43	27	62,79	43	15	34,88
8	Bt	40	30	75	43	42	97,67	43	37	86,05
9	Co	40	34	85	43	38	88,37	43	37	86,05
10	Sm	40	25	62,5	43	27	62,79	43	24	55,81
11	Flo	40	34	85	43	40	93,02	43	28	65,12

Bảng 7: Mức độ đề kháng các loại kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* tại các huyện

CT-TC-CL: Huyện Châu Thành – Tiểu Cần – Càng Long; CK: Huyện Cầu Kè; CN: Huyện Cầu Ngang

Ac: Amoxicillin/Clavulanic acid; Cp: Cephalothin; Im: Imipeneme; Te: Tetracyclin; Ci: Ciprofloxacin; En: Enprofloxacin; Ge: Gentamycin; Bt: Trimethoprim/Sulphamethoxazole; Co: Colistin; Sm: Streptomycin; Flo: Flofenicol

Qua bảng 7 cho thấy có sự khác nhau về khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* ở các địa phương. Tại các trại chăn nuôi ở các huyện Châu Thành, Càng Long và Tiểu Cần cho thấy vi khuẩn kháng với hầu hết các loại kháng sinh ở tỷ lệ cao hơn so với vi khuẩn phân lập được từ các hộ chăn nuôi nhỏ tại Cầu Kè và cầu Ngang. Sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê ($P=0,78$ và $P=0,5$). Tuy nhiên, kết quả cho thấy có sự phù hợp với những ghi nhận của chúng tôi. Tại các trại chăn nuôi, heo

thường được bổ sung kháng sinh trong thức ăn và các loại kháng sinh sử dụng trong điều trị là các loại kháng sinh thế hệ mới như amoxicilin LA, ampicilin + colistin, enrofloxacin,...

4.4 Kết quả định danh vi khuẩn *E.coli* phân lập được từ heo con tiêu chảy

Dựa vào cấu trúc kháng nguyên thân O, kháng nguyên giáp mô K, kháng nguyên lông H và kháng nguyên bám dính F, vi khuẩn *E.coli* được chia thành nhiều serotype khác nhau. Bằng phản ứng ngưng kết, các nhà khoa học đã tìm ra được 250 serotype O, 89 serotype H và một số serotype F (Fairbrother. J.M, 1992). Trong đó kháng nguyên F hay còn gọi là kháng nguyên bám dính có mặt ở hầu hết các chủng *E.coli* gây bệnh. Trong phạm vi nghiên cứu này, bằng phản ứng ngưng kết nhanh trên phiến kính chúng tôi tiến hành xác định sự hiện diện kháng nguyên bám dính K88, K99 và 987P của vi khuẩn *E.coli* phân lập được từ mẫu phân heo con tiêu chảy. Kết quả được trình bày trong bảng 7.

Bảng 8: Kết quả định danh vi khuẩn *E.coli* phân lập được từ heo tiêu chảy

Lứa tuổi heo con	TSM	SM (+)	TL (%)	K88 TL (%)	K99 TL (%)	987P TL (%)			
Tính chung	65	36	55,38	26	40,00	8	12,30	2	3,08
1-7 ngày	7	4	57,14	3	42,86	1	14,29	0	0,00
8-15 ngày	25	12	48,00	10	40,00	1	4,00	1	4,00,
16-60 ngày	33	20	60,60	13	39,39	6	18,18	1	3,03

TSM: Tổng số mẫu; SM: Số mẫu; TL: Tỷ lệ

Qua kết quả bảng 8 cho thấy:

Trong tổng số 65 mẫu vi khuẩn *E.coli* phân lập từ phân heo tiêu chảy (1 – 60 ngày tuổi) được thử phản ứng với kháng huyết thanh K88, K99 và 987P cho thấy có 36 mẫu dương tính chiếm tỷ lệ 55,38%, Trong đó, Vi khuẩn *E.coli* K88 chiếm tỷ lệ cao nhất (40%), *E.coli* K99 chiếm 12,30% và *E.coli* 987P chiếm 3,08%.

Xét về lứa tuổi của heo cho thấy:

Heo từ 1 – 7 ngày tuổi có tỷ lệ phát hiện chủng *E.coli* K88, K99 cao nhất (4/7 mẫu) chiếm 57,14%, và không phát hiện có *E.coli* 987P ở lứa tuổi này. Trong đó, *E.coli* K88 được phát hiện với tỷ lệ nhiều hơn *E.coli* K99 (42,86% so với 14,29%.

Heo từ 8 – 15 ngày tuổi với tỷ lệ phát hiện là 48% (12/25 mẫu), trong đó *E.coli* K88 chiếm 40%, *E.coli* K99 (4%), *E.coli* 987P (4%).

Ở heo từ 16 – 60 ngày tuổi với tỷ lệ phát hiện là 60,60% (20/33 mẫu), trong đó *E.coli* K88 chiếm 39,39%, *E.coli* K99 (18,18%) và *E.coli* 987P (3,03%).

Theo Lê Văn tạo và cs (1993), trong số 50 chủng *E.coli* phân lập từ heo con theo mẹ thì có 15 chủng mang kháng nguyên bám dính K88 thuộc các serotype O141, O149, O1, O111, O86, O55, O26.

Theo nghiên cứu của Cừ Hữu Phú và cs (2003) có 38/84 chủng *E.coli* mang kháng nguyên F4, chiếm tỷ lệ 42,5%, và 14/84 chủng *E.coli* mang kháng nguyên F5 (K99), chiếm tỷ lệ 16,7%, không có chủng nào mang kháng nguyên F6 (987P) và F41.

Do và cs (2006) nghiên cứu trên heo con từ sơ sinh đến cai sữa tại 5 tỉnh ở miền bắc cho thấy độc tố gây tiêu chảy của vi khuẩn *E.coli* gồm các serogroups O149, K91 (F4 STa/STb/LT chiếm 33,3%); O64 (F5/STa chiếm 16,7%); O8:G7 (F4/STa/STb chiếm 1,1%) và O101 (F4/STa/STb chiếm 3,2%). Kháng nguyên thường xuyên phân lập thấy là O8 (STa/STb/LT, chiếm 22,2%).

Với mục đích xác định sự hiện diện của các chủng *E.coli* K88, K99, 987P gây bệnh tiêu chảy trên heo con tại tỉnh Cần Thơ, tác giả Lý Thị Liên Khai (2007) cho thấy các chủng *E.coli* K88, K99, 987P phân lập được lần lượt chiếm tỷ lệ 7,32%, 18,29%, 13,41% mẫu phân lợn tiêu chảy.

Theo Lê Thị Hoài (2008) trong số 30 chủng *E.coli* phân lập từ heo con tiêu chảy cho thấy có 12 chủng mang yếu tố gây bệnh là F4 (K88), chiếm tỷ lệ 40,0%, và 9 chủng mang F18 chiếm tỷ lệ 30,0%.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có nhiều khác biệt với những nghiên cứu trước đây có thể giải thích là do lấy mẫu ở những địa phương khác nhau, thời điểm lấy mẫu khác nhau, việc sử dụng vaccin ở các địa phương khác nhau nên vi khuẩn *E.coli* có nhiều biến chủng mới.

CHƯƠNG 5: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

5.1 Kết luận

Qua khảo sát tình hình tiêu chảy tại các hộ chăn nuôi tỉnh Trà Vinh chúng tôi nhận thấy:

Tỷ lệ heo con tiêu chảy là 25,80% trong đó tỷ lệ heo con trước cai sữa tiêu chảy là 14,25% cao hơn nhóm lợn sau cai sữa (11,53%). Tỷ lệ heo con hao hụt do tiêu chảy là 2,02%.

Khảo sát tình hình tiêu chảy theo mùa cho thấy, tỷ lệ heo con tiêu chảy vào mùa nắng là 22,8% thấp hơn vào mùa mưa (28,62%). Tỷ lệ tiêu chảy trên heo con ở phương thức chăn nuôi cổ điển cao hơn so với phương thức chăn nuôi cải tiến.

Sự chênh lệch số lượng vi khuẩn trong mẫu phân tiêu chảy và mẫu phân bình thường dao động từ 21,44 – 23,34 lần triệu VK/1g phân.

Vi khuẩn đề kháng gần như hoàn toàn với Tetracyclin (97,06%), đề kháng với nhiều loại kháng sinh thông dụng ở địa phương như: Amoxicillin/Clavulanic acid, Enprofloxacin, Trimethoprim/Sulphamethoxazole, Colistin, Gentamycin, Flofenicol và miễn cảm mạnh với Imipeneme.

Kết quả xác định chủng vi khuẩn *E.coli* cho thấy có 55,38% mẫu dương tính, trong đó có 40% mẫu dương tính với chủng vi khuẩn *E.coli* K88, 12,30% mẫu dương tính với chủng *E.coli* K99 và 3,08% mẫu dương tính với chủng *E.coli* 987P.

5.2 Đề nghị

Cần tiếp tục nghiên cứu các yếu tố gây bệnh khác trên *E.coli* phân lập được từ nhiều loại bệnh phẩm của heo con tiêu chảy và vai trò của các nguyên nhân gây tiêu chảy khác trên heo con trong giai đoạn từ sơ sinh đến 2 tháng tuổi nhằm mục đích hướng tới chế vaccine chủng ngừa bệnh tiêu chảy trên heo con.

Các cơ quan chức năng khuyến cáo người chăn nuôi cải tiến điều kiện chăn nuôi và hướng đến chăn nuôi heo theo phương thức công nghiệp, đảm bảo qui trình an toàn sinh học trong chăn nuôi heo.

