

CÁC YẾU TỐ GÂY BỆNH VÀ VAI TRÒ CỦA *SALMONELLA* TRONG HỘI CHỨNG TIÊU CHẢY CỦA BÈ, NGHÉ

**A Study on pathogenous factors and the role of *Salmonella* spp in causing diarrhea
in cattle and buffalo calves**

Trương Quang, Phạm Hồng Ngân*, Trương Hà Thái**

SUMMARY

A survey was conducted to determine pathogenous factors and the role of *Salmonella* spp in causing diarrhea in cattle and buffalo calves. It was found that the incidence of *Salmonella* spp isolated from cattle and buffalo calves suffering from diarrhea was higher than that from normal animals. At the same time, the incidences of those *Salmonella* strains having pathogenous factors and producing enterotoxins were apparently increased. The results of this study confirmed that *Salmonella* played an important role as a real pathogenous agent causing serious diarrhea in cattle and buffalo calves. The parameters corresponding to normal and diarrheal calves of cattle and buffalo were as follows: i) Total count of *Salmonella* per gram of feces sample: 1.50×10^6 and 1.42×10^6 CFU vs. 2.80×10^6 and 2.52×10^6 CFU ii) The incidence of animals that were positive with *Salmonella* spp: 47.11% and 53.19% vs. 72.26% and 66.66%. iii) The incidence of *Salmonella* isolates having fimbrial antigens: 55.55% and 62.50% vs. 74.19% and 68.42%. iv) The incidence of *Salmonella* strains producing enterotoxins: 18.52% and 25.00% vs. 51.16% and 68.42% producing ST; 22.22% and 25.00% vs. 41.94% and 57.98% producing LT; or 14.81% and 18.75% vs. 29.03% and 47.37% producing both ST and LT. v) Toxicity: 100% *Salmonella* strains isolated from diarrheal animals were able to kill Swiss-mice within 24h to 48h after injection. vi) Antimicrobial susceptibility test showed that 66.66% and 73.33% *Salmonella* strains were sensitive to colistin and norfloxacin.

Key words: *Salmonella*, diarrhea, calves, cattle, buffalo.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tiêu chảy là một hiện tượng bệnh lý phức tạp do nhiều nguyên nhân, hậu quả của nó bao giờ cũng gây ra viêm nhiễm, tổn thương thực thể đường tiêu hoá và cuối cùng là một "quá trình nhiễm trùng". Theo Lê Minh Chí (1995) hội chứng tiêu chảy trầm trọng ở gia súc non, phổ biến ở khắp các vùng sinh thái nước ta, đặc biệt ở bê nghé 70 - 80% tổn thất nằm trong thời kỳ nuôi dưỡng bằng sữa và 80 - 90% trong số đó là hậu quả của hội chứng tiêu chảy. *E.coli* và *Salmonella* là hai thành viên của họ vi khuẩn đường ruột giữ vai trò chủ đạo gây nên quá trình bệnh lý ở đường tiêu hoá của hầu hết các loài gia súc, nhất là gia súc non. Trong nghiên cứu

này, khẳng định vai trò của *Salmonella* trong hội chứng tiêu chảy của bê nghé thông qua việc so sánh tỷ lệ phân lập, số lượng và tỷ lệ các chủng *Salmonella* mang các yếu tố gây bệnh phân lập được từ phân của bê nghé bị tiêu chảy và bê nghé không bị tiêu chảy.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thí nghiệm tiến hành trên bê, nghé dưới 1 năm tuổi bị tiêu chảy và không bị tiêu chảy nuôi trong các gia đình thuộc huyện Gia Lâm, quận Long Biên, TP. Hà Nội và huyện Tiên Du, Từ Sơn, tỉnh Bắc Ninh. Mẫu xét nghiệm *Salmonella* là phân được lấy trực tiếp từ trực

* Khoa Thú y, Trường Đại học Nông nghiệp I- Hà Nội.

tràng hoặc lấy ngay khi bê, ghé thải ra. Nghiên cứu xét nghiệm *Salmonella* từ 121 mẫu phân của bê và 47 mẫu phân của ghé không bị tiêu chảy; 128 mẫu phân của bê và 52 mẫu phân của ghé bị tiêu chảy. *Salmonella* được phân lập, giám định theo Carter G.R (1995).

Nghiên cứu kiểm tra 27 chủng *Salmonella* phân lập được từ bê không bị tiêu chảy, 31 chủng từ bê bị tiêu chảy, 16 chủng từ ghé không bị tiêu chảy và 19 chủng từ ghé bị tiêu chảy để xác định khả năng bám dính, độc tố ruột và độc lực. Yếu tố bám dính được xác định bằng phản ứng ngưng kết trực tiếp hồng cầu chuột lang theo Jones (1974), Smith và cs (1976). Độc tố ruột được xác định bằng phương pháp khuếch tán trong da thỏ theo Sandefur (1978). Độc lực của *Salmonella* được xác định như sau: tiêm 0,2 ml canh trùng nuôi cấy 24h/37°C vào phúc xoang chuột nhắt trắng. Theo dõi, đánh giá tỷ lệ chuột chết và thời gian gây chết chuột.

Xác định khả năng miễn cảm kháng sinh của *Salmonella* bằng kỹ thuật khoanh giấy tẩm kháng sinh của Kirby - Bauer, mô tả bởi Cole và Carter (1993).

Xử lý số liệu thu được bằng phương pháp thống kê sinh vật theo Ngô Như Hoà (1981).

3. KẾT QUẢ VÀ PHÂN TÍCH KẾT QUẢ

3.1. Tỷ lệ phân lập và số lượng *Salmonella* trong phân của bê ghé

Khi bê ghé bị ỉa chảy, thì tỷ lệ phân lập và số lượng của *Salmonella* có tăng gấp nhiều lần so với bình thường thường (Bảng 1). Đối với bê, tỷ lệ phân lập là 72,66% so với 47,11%, số lượng vi khuẩn/gam phân: $2,80 \times 10^6$ so với $1,50 \times 10^6$ (gấp 1,87 lần). Mức độ tăng này thấp hơn so với kết quả của Nguyễn Bá Hiên (2001) 7,28 lần và Nguyễn Văn Sửu (2005) 2,73 lần.

Đối với ghé, tỷ lệ phân lập: 66,66% so với 53,19% và số lượng vi khuẩn/gam phân là $2,52 \times 10^6$ so với $1,42 \times 10^6$ (gấp 1,77 lần). Mức độ tăng của *Salmonella* trong phân của ghé bị tiêu chảy so với bình thường thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Bá Hiên (2001) 7,28 lần và Nguyễn Văn Sửu (2005) 3,07 lần.

Bảng 1. Tỷ lệ và số lượng *Salmonella* phân lập từ phân của bê ghé không bị tiêu chảy và bị tiêu chảy

Chỉ tiêu Loài gia súc	Không bị tiêu chảy						Tiêu chảy				
	Đợt thí nghiệm	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)	Số lượng vi khuẩn (vk/gx10 ⁶)	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)	Số lượng vi khuẩn (vk/gx10 ⁶)	Tăng so với bình thường	So sánh thống kê (P)
Bê	I	56	25	44,64	1,43	60	43	71,67	2,78	1,94 lần	< 0,001
	II	65	32	49,23	1,57	68	50	73,53	2,82	1,79 lần	< 0,001
	Tổng hợp	121	57	47,11	1,50	128	93	72,66	2,80	1,87 lần	< 0,001
Nghé	I	25	13	52,00	1,38	27	19	70,37	2,48	1,80 lần	< 0,001
	II	22	12	54,54	1,45	24	15	62,50	2,56	1,76 lần	< 0,001
	Tổng hợp	47	25	53,19	1,42	51	34	66,66	2,52	1,77 lần	< 0,001

3.2. Kết quả xác định một số yếu tố gây bệnh của vi khuẩn phân lập được

3.2.1. Kết quả kiểm tra khả năng bám dính

- Đối với bê, 55,55% số chủng phân lập được từ phân của bê không bị tiêu chảy có

khả năng gây ngưng kết, tuy nhiên hiệu giá ngưng kết rất thấp, tối đa chỉ là 1/16. Nhưng 74,19% số chủng phân lập từ phân của bê bị tiêu chảy, có khả năng gây ngưng kết, trong đó 21,74% ngưng kết ở hiệu giá cao (1/64) (Bảng 2a).

- Đối với nghé, 62,50% số chủng phân lập từ nghé không bị tiêu chảy có khả năng gây ngưng kết, hiệu giá ngưng kết rất thấp, trong đó 70,00% ngưng kết ở hiệu giá 1/16. Ngược lại 68,43% số chủng phân lập từ phân của nghé bị tiêu chảy có khả năng gây ngưng kết,

trong đó 23,08% ngưng kết ở hiệu giá 1/64 (Bảng 2b).

Các kết quả này cao hơn kết quả công bố của Nguyễn Văn Sửu (2005), có 51,57% số chủng ngưng kết ở hiệu giá 1/16.

Bảng 2a. Kết quả kiểm tra khả năng bám dính của các chủng *Salmonella* phân lập từ phân của bê không bị tiêu chảy và bị tiêu chảy

Nguồn gốc phân lập	Đợt thí nghiệm	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu ngưng kết	Tỷ lệ ngưng kết (%)	Hiệu giá ngưng kết							
					1/8		1/16		1/32		1/64	
					n	%	n	%	n	%	n	%
Bê không bị tiêu chảy	I	12	7	58,33	4	57,14	3	42,85	-	-	-	-
	II	15	8	53,33	4	50,00	4	50,00	-	-	-	-
	Tổng hợp	27	15	55,55	8	53,33	7	46,66	-	-	-	-
Bê bị tiêu chảy	I	14	10	71,43	-	-	-	-	8	80,00	2	20,00
	II	17	13	76,47	-	-	-	-	10	76,92	3	23,08
	Tổng hợp	31	23	74,19	-	-	-	-	18	78,26	5	21,74

Bảng 2b. Kết quả kiểm tra khả năng bám dính của các chủng *Salmonella* phân lập từ phân của nghé không bị tiêu chảy và bị tiêu chảy

Nguồn gốc phân lập	Đợt thí nghiệm	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu ngưng kết	Tỷ lệ ngưng kết (%)	Hiệu giá ngưng kết							
					1/8		1/16		1/32		1/64	
					n	%	n	%	n	%	n	%
Nghé không bị tiêu chảy	I	7	4	57,14	1	25,00	3	75,00	-	-	-	-
	II	9	6	66,66	2	33,33	4	66,66	-	-	-	-
	Tổng hợp	16	10	62,50	3	30,00	7	70,00	-	-	-	-
Nghé bị tiêu chảy	I	8	5	62,50	-	-	-	-	4	80,00	1	20,00
	II	11	8	72,72	-	-	-	-	3	75,00	2	25,00
	Tổng hợp	19	13	68,42	-	-	-	-	10	76,92	3	23,08

3.2.2. Kết quả kiểm tra khả năng sản sinh độc tố đường ruột

- Đối với bê: 18,52% số chủng phân lập từ bê không bị tiêu chảy sản sinh độc tố thẩm xuất nhanh; 22,22% sản sinh độc tố thẩm xuất

chậm; 14,81% sản sinh đồng thời cả 2 loại độc tố trên. Ngược lại 51,61% số chủng phân lập từ phân của bê bị tiêu chảy sản sinh độc tố thẩm xuất nhanh (gấp 2,78 lần bình thường); 41,94% sản sinh độc tố thẩm xuất chậm (gấp 1,88 lần bình thường); $P < 0,01$ (Bảng 3a).

Bảng 3a. Khả năng sản sinh độc tố đường ruột của các chủng *Salmonella* phân lập từ phân của bê không bị tiêu chảy và bị tiêu chảy

Nguồn gốc phân lập	Đợt thí nghiệm	Số mẫu kiểm tra	Độc tố thẩm xuất nhanh		Độc tố thẩm xuất chậm		Cả hai loại độc tố	
			Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Bê không bị tiêu chảy	I	12	2	16,67	3	25,00	2	16,67
	II	15	3	20,00	3	20,00	2	13,33
	Tổng hợp	27	5	18,52	6	22,22	4	14,81
Bê bị tiêu chảy	I	14	7	50,00	5	35,71	4	28,57
	II	17	9	52,94	8	47,06	5	29,41
	Tổng hợp	31	16	51,61	13	41,94	9	29,03

- Đối với nghé: 68,42% số chủng phân lập từ phân của nghé bị tiêu chảy sản sinh độc tố thẩm xuất nhanh (gấp 2,73 lần bình thường), 57,89% sản sinh độc tố thẩm xuất chậm (gấp 2,35 lần bình thường), 47,37% sản sinh đồng thời cả 2 loại độc tố trên (gấp 2,52 lần bình thường) $P < 0,01$. Tỷ lệ các chủng phân lập từ phân của nghé không bị tiêu chảy, sản sinh độc tố đường ruột thấp hơn rất nhiều, đều có 25,0% số chủng sản sinh độc tố thẩm xuất nhanh và

độc tố thẩm xuất chậm. Chỉ có 18,75% số chủng sản sinh đồng thời cả hai thành phần độc tố (Bảng 3b).

Các kết quả của chúng tôi thấp hơn so với kết quả của Nguyễn Quang Tuyên, 1996 (77,14% số chủng sản sinh độc tố thẩm xuất nhanh, 68,57% số chủng sản sinh độc tố thẩm xuất chậm và 57,14% số chủng sản sinh cả hai thành phần độc tố).

Bảng 3b. Khả năng sản sinh độc tố đường ruột của các chủng *Salmonella* phân lập từ phân của nghé không bị tiêu chảy và bị tiêu chảy

Nguồn gốc phân lập	Đợt thí nghiệm	Số mẫu kiểm tra	Độc tố thẩm xuất nhanh		Độc tố thẩm xuất chậm		Cả hai loại độc tố	
			Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Nghé không bị tiêu chảy	I	7	2	28,57	1	14,29	2	28,57
	II	9	2	22,22	3	33,33	1	11,11
	Tổng hợp	16	4	25,00	4	25,00	3	18,75
Nghé bị tiêu chảy	I	8	5	62,50	4	50,00	4	50,00
	II	11	8	72,72	7	63,63	5	45,45
	Tổng hợp	19	13	68,42	11	57,89	9	47,37

3.2.3. Kết quả kiểm tra độc lực

Salmonella phân lập từ phân bê nghé bị tiêu chảy có độc lực rất mạnh, 64,52% số chủng phân lập từ phân của bê bị tiêu chảy gây chết 100% chuột bạch thí nghiệm, 11 chủng còn lại gây chết 50% số chuột thí nghiệm trong vòng 18-36 giờ. Ngược lại chỉ có 29,63% số chủng phân lập từ phân bê không bị tiêu chảy gây chết 50% số chuột thí nghiệm trong vòng

24-48 giờ, 70,37% số chủng còn lại không có khả năng giết chết chuột thí nghiệm (Bảng 4a). Trên nghé, 68,75% số chủng phân lập không bị tiêu chảy không có khả năng giết chết chuột, 31,25% giết chết 50% số chuột thí nghiệm trong vòng 24-48 giờ, 73,68% số chủng phân lập từ phân nghé bị tiêu chảy giết chết 100% số chuột thí nghiệm; 26,32% số chủng giết chết 50% số chuột, trong vòng 18-36 giờ (Bảng 4b).

Bảng 4a. Kết quả kiểm tra độc lực của các chủng *Salmonella* phân lập từ phân của bê không bị tiêu chảy và bị tiêu chảy

Nguồn gốc phân lập	Đợt TN	Số mẫu kiểm tra	Số chuột được tiêm (con)	Kết quả kiểm tra độc lực						
				Giết chết 100% (2/2) số chuột		Giết chết 50% (1/2) số chuột		Thời gian giết chết chuột sau tiêm (giờ)	Không giết chết chuột	
				Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)		Số chủng	Tỷ lệ (%)
Bê không bị tiêu chảy	I	12	24	-	-	3	25,00	24-48	9	75,00
	II	15	30	-	-	5	33,33	24-48	10	66,66
	Tổng hợp	27	54	-	-	8	29,63	24-48	19	70,37
Bê bị tiêu chảy	I	14	28	9	64,29	5	35,71	24-36	-	-
	II	17	34	11	64,71	6	35,29	18-36	-	-
	Tổng hợp	31	62	20	64,52	11	35,48	18-36	-	-

Bảng 4b. Kết quả kiểm tra độc lực của các chủng *Salmonella* phân lập từ phân của nghé không bị tiêu chảy và bị tiêu chảy

Nguồn gốc phân lập	Đợt thí nghiệm	Số mẫu kiểm tra	Số chuột được tiêm (con)	Kết quả kiểm tra độc lực						
				Giết chết 100% (2/2) chuột		Giết chết 50% (1/2 số chuột)		Thời gian giết chết chuột sau tiêm (giờ)	Không giết chết chuột	
				Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)		Số chủng	Tỷ lệ (%)
Nghé không bị tiêu chảy	I	7	14	-	-	2	28,57	24-48	5	71,43
	II	9	18	-	-	3	33,33	24-48	6	66,66
	Tổng hợp	16	32	-	-	5	31,25	24-48	11	68,75
Nghé bị tiêu chảy	I	8	16	6	75,00	2	25,00	18-36	-	-
	II	11	22	8	72,72	3	27,27	24-36	-	-
	Tổng hợp	19	38	14	73,68	5	26,32	18-36	-	-

3.3. Kết quả kiểm tra khả năng miễn cảm với kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập được từ bê, nghé bị tiêu chảy

Bảng 5. Kết quả kiểm tra khả năng miễn cảm của các chủng *Salmonella* phân lập được từ phân của bê, nghé tiêu chảy

Loại kháng sinh	Số chủng kiểm tra	Mức độ miễn cảm					
		Rất miễn cảm		Miễn cảm trung bình		Kháng	
		n	%	n	%	n	%
Kanamycin	15	0	0	2	13,33	13	86,66
Tetramycin	15	2	13,33	10	66,66	3	20,00
Neomycin	15	3	20,00	11	73,33	1	6,66
Norfloxacin	15	11	73,33	4	26,66	0	0
Erythromycin	15	1	6,66	11	73,33	3	20,00
Streptomycin	15	1	6,66	10	66,66	4	26,66
Colistin	15	10	66,66	4	26,66	1	6,66
Ampicilline	15	2	13,33	3	20,00	10	6,66
Lincomycin	15	0	0	6	40,00	9	60,00
Penicillin	15	0	0	0	0	15	100

Norfloxacin và Colistin là hai loại kháng sinh có tác dụng rất tốt đối với các chủng *Salmonella* phân lập được từ phân của bê nghé bị tiêu chảy. 66,66% rất mẫn cảm với Colistin, 73,33% rất mẫn cảm với Norfloxacin (Bảng 5).

4. KẾT LUẬN

Từ các chỉ tiêu nghiên cứu về *Salmonella* phân lập từ bê nghé bị tiêu chảy so với bê nghé không bị tiêu chảy như: tỷ lệ phân lập: 72,66% và 66,66% so với 47,11% và 53,19%; Số lượng vi khuẩn/1 gam phân: $2,80 \times 10^6$ và $2,52 \times 10^6$ so với $1,50 \times 10^6$ và $1,42 \times 10^6$ (gấp 1,87 và 1,77 lần); Tỷ lệ các chủng mang kháng nguyên bám dính: gấp 1,33 lần và 1,09 lần, độc tố thẩm xuất nhanh gấp 2,78 lần và 2,73 lần so với bình thường; Độc tố thẩm xuất chậm gấp 1,87 lần và 2,31 lần so với bình thường; Cả hai loại độc tố trên gấp 1,96 lần và 1,63 lần so với bình thường; Độc lực: 100% có khả năng giết chết chuột thí nghiệm sau 24-48 giờ so với 29,63% và 31,25% có khả năng giết chết 50% số chuột., chúng tôi khẳng định *Salmonella* có vai trò đặc biệt quan trọng và thực sự là tác nhân làm cho quá trình tiêu chảy ở bê, nghé càng trầm trọng thêm.

Khả năng mẫn cảm của các chủng *Salmonella* phân lập được là tương đối cao (66,66% đối với Colistin và 73,33% đối với Norfloxacin). Vì vậy, khi bê, nghé bị tiêu chảy, có thể tìm các loại thuốc thương phẩm có chứa các loại kháng sinh trên để điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Minh Chí (1995). *Bệnh tiêu chảy ở gia súc*, Tài liệu Cục Thú y tháng 3/1995
- Nguyễn Bá Hiền (2001). *Một số vi khuẩn thường gặp và biến động số lượng của chúng ở gia súc khoẻ mạnh và bị tiêu chảy nuôi tại vùng ngoại thành Hà Nội*. Điều trị thử nghiệm. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, ĐH Nông nghiệp I- Hà Nội
- Ngô Như Hoà (1981). *Thống kê trong nghiên cứu y học*, tập I, NXB Y học, Hà Nội
- Nguyễn Văn Sửu (2005). *Nghiên cứu tình hình tiêu chảy của bê nghé dưới 6 tháng tuổi tại 3 tỉnh miền núi phía Bắc và xác định một số yếu tố gây bệnh của vi khuẩn E.coli, Salmonell và Cl perfringens phân lập được*, Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Thú y, Hà Nội.
- Nguyễn Quang Tuyên (1996). *Nghiên cứu đặc tính của một số chủng vi khuẩn Salmonella gây bệnh tiêu chảy ở bê nghé và biện pháp phòng trị*, Luận án PTS Nông nghiệp, Hà Nội.