

TÌNH HÌNH NHIỄM VÀ SỰ NHẠY CẢM ĐỐI VỚI KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *SALMONELLA* SPP. TRÊN HEO TIÊU CHẢY TỪ 1-3 THÁNG TUỔI TẠI TỈNH TRÀ VINH

THE PREVALENCE AND ANTIBIOTIC SENSIBILITY OF *SALMONELLA* SPP. ISOLATED FROM 1-3 MONTHS OLD DIARRHEA PIGLETS IN TRA VINH PROVINCE

Nguyễn Văn Khanh ^(**), Trần Thị Phận ^(*), Nguyễn Thị Đấu ^(*)

^(**) Khoa Chăn nuôi Thú Y, Đại học Nông Lâm TP.HCM

ĐT: 0913922670, E.mail: khanhnguyen51@yahoo.com

^(*) Bộ môn Thú Y, Khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Đại học Cần Thơ

ĐT: 0918179530

ABSTRACT

This study was carried out from August, 2006 to March, 2007 in Tra Vinh province. 150 samples (50 mesenteric lymph nodes, 50 feces, 50 spleens) from 50 piglets were collected at farms and slaughterhouses, the infection rate of *Salmonella* spp. was 42% (21/50). The infection rate of *Salmonella* from the mesenteric lymph nodes was 24%, from excrement 22% and from spleen 20%. The infection rates of *Salmonella* spp. was found in the 30–90 days old piglets was highly from 37,50% to 47,61%. From those samples, 4 serovars were identified by specific antisera O and H. The predominant serovars were *Salmonella typhimurium* 67,6%, *Salmonella cholerae suis* 16,2%, *Salmonella weltevreden* 13,5%, *Salmonella* spp. (O9,46) 2,7%. All serovars were sensitive to antibiotics such as Norfloxacin 100%, Ofloxacin 100%, Ciprofloxacin 100%, followed by Gentamycin 97,29%. *Salmonella* isolates were resistant to Tetracycline, Streptomycin, Ampicillin, Amoxicillin and Cephalixin by 40,54%, 29,73%, 18,91%, 13,51% and 10,81%, respectively.

MỞ ĐẦU

Tại Trà Vinh, đã phát hiện bệnh phó thương hàn qua chẩn đoán lâm sàng từ năm 2004 đến 2006 khoảng 600 heo (Chi cục Thú Y Trà Vinh, 2007). Vi khuẩn *Salmonella* spp. gây tiêu chảy trên heo từ 1- 3 tháng tuổi chiếm tỉ lệ khá cao, làm giảm trọng lượng heo, ảnh hưởng đến năng suất và hiệu quả kinh tế trong chăn nuôi. Tuy nhiên, việc xác định vi khuẩn *Salmonella* và serotyp phổ biến gây bệnh trên heo cũng như sự nhạy cảm và đề kháng kháng sinh của vi khuẩn này là những vấn đề quan trọng nhưng chưa được nghiên cứu ở tỉnh Trà Vinh.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Thời gian: thực hiện từ tháng 8 năm 2006 đến tháng 03 năm 2007.

Địa điểm

+ Trại chăn nuôi và các cơ sở giết mổ tại huyện Châu Thành, Càng Long, thị xã Trà Vinh, tỉnh Trà Vinh.

+ Phòng thí nghiệm Vi sinh, Bộ môn Thú Y, Đại học Cần Thơ.

Đối tượng nghiên cứu: kiểm tra 50 heo từ 1-3 tháng tuổi có dấu hiệu bệnh đường ruột. Heo được ghi nhận để lấy mẫu có triệu chứng tiêu chảy, xuất huyết da, gầy ốm và có bệnh tích ở lách và hạch.

Nội dung nghiên cứu

- + Phân lập tìm vi khuẩn *Salmonella* spp.
- + Định type huyết thanh học vi khuẩn *Salmonella* spp.
- + Kiểm tra sự nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* spp.

Chỉ tiêu theo dõi

- Tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp.
- Theo mẫu bệnh phẩm
- Trên heo từ 1-3 tháng tuổi
- Theo lứa tuổi (giai đoạn nuôi)
- Tần suất xuất hiện triệu chứng và bệnh tích
- Xác định type huyết thanh học
- Sự nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* spp.

Vật liệu

- Môi trường: tiên tăng sinh, tăng sinh, môi trường phân lập chuyên biệt

- Thuốc thử phản ứng sinh hóa
- Kháng huyết thanh đa giá: O, H (Viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh)
- Địa kháng sinh (phương pháp Kirby – Bauer)

Phương pháp tiến hành

Thu thập mẫu

+ Phân tươi: 50 mẫu (mỗi mẫu 5g) cho vào túi vô trùng hoặc dùng tăm bông vô trùng lấy phân cho vào môi trường Carry-Blair.

+ Lách 50 mẫu: bệnh phẩm 5g cho vào túi vô trùng

+ Hạch 50 mẫu: bệnh phẩm 5g cho vào túi vô trùng

Tất cả bệnh phẩm được trữ lạnh 4-8°C và vận chuyển về phòng Vi sinh, Bộ môn Thú Y Trường Đại học Cần Thơ xét nghiệm trong vòng 24 giờ.

Xử lí số liệu

Dùng trắc nghiệm Chi-square để so sánh các tỉ lệ, sử dụng phần mềm Minitab 13.0.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1. Tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. theo mẫu bệnh phẩm

Loại mẫu	Số mẫu	Dương tính	Tỉ lệ %
Hạch ruột	50	12	24
Lách	50	10	20
Phân	50	11	22
Tổng	150	33	22

Kết quả bảng 1 cho thấy vi khuẩn *Salmonella* spp. được tìm thấy trên 33 mẫu bệnh phẩm, vi khuẩn được tìm thấy nhiều nhất ở hạch ruột với 24% (12/50), kế đến là phân với 22% (11/50) và lách là 20% (10/50), (Harvey và ctv, 2001) cũng xác định *Salmonella* spp. được tìm thấy nhiều nhất ở hạch manh tràng (61%).

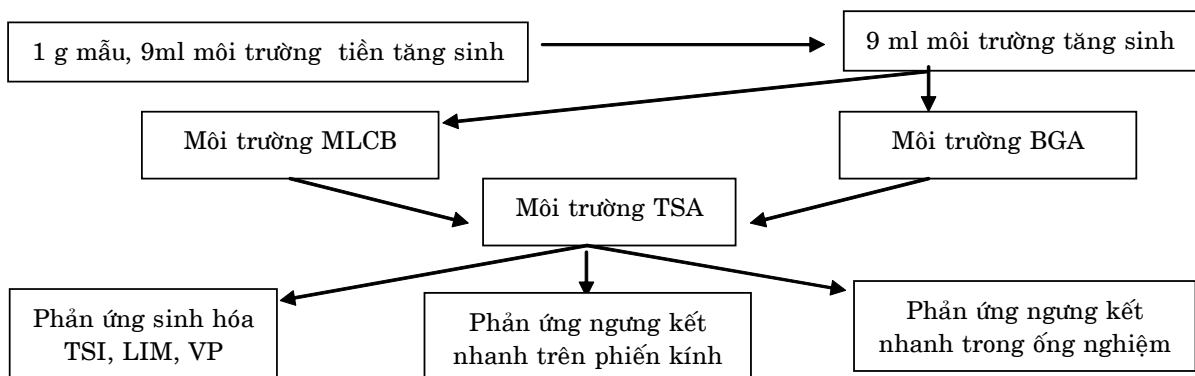
Bảng 2. Tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. trên heo tiêu chảy từ 1-3 tháng tuổi (n=50)

Vị trí phân lập	Số heo nhiễm	Tỉ lệ %
Hạch	4	8
Lách	4	8
Phân	3	6
Hạch – lách	2	4
Lách – phân	2	4
Hạch – phân	4	8
Hạch – lách – phân	2	4
Tổng	21	42

Kết quả bảng 2 cho thấy có 21/50 heo nhiễm vi khuẩn *Salmonella* spp. (42%), những vị trí nhiễm *Salmonella* spp. nhiều nhất là hạch, lách, phân; trên heo cùng lúc có thể tìm thấy vi khuẩn ở 3 nhóm này vì độc lực khác nhau của các serotyp và sức đề kháng của vật chủ. Vi khuẩn có độc lực cao sẽ tấn công vào hạch lâm ba và gây bại huyết, đối với những gia súc khỏi bệnh, vi khuẩn có thể cư trú vào hạch lâm ba và sau đó được bài xuất qua phân (Rubin và ctv, 1977, theo Trần Đình Từ, 2002).

Bảng 3. Tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. theo lứa tuổi

Ngày tuổi	Dương tính	Tỉ lệ (%)
25-30 (n=16)	6	37,50
>30-60 (n=21)	10	47,61
>60-90 (n=13)	5	38,46



Sơ đồ quy trình phân lập và định type *Salmonella*

BGA: Brilliant Green Agar; TSA: Trypticase Soy Agar; TSI: Triple Sugar Iron Agar;
 VP: Voges-Proskauer; LIM: Lysin Indole Motility Medium;
 MLCB: Manitol Lysin Crystal Violet ; Brilliant Green

Bảng 4. Tần suất xuất hiện triệu chứng, bệnh tích trên heo nhiễm *Salmonella* spp. (n=21)

Triệu chứng / Bệnh tích		Dương tính	Tần suất xuất hiện (%)
Thể trạng	Gây ốm	12	57,10
	Không gây	9	42,90
Da	Xuất huyết từng mảng	11	52,40
	Xuất huyết điểm	2	9,50
Hạch	Xuất huyết tím bầm	13	61,90
	Sưng	2	9,50
Lách	Xuất huyết ở rìa	11	52,40
	Sưng	6	28,60

Bảng 5. Kết quả định type huyết thanh vi khuẩn *Salmonella* (n=37)

Serotype	Dương tính	Tỉ lệ (%)
<i>S. typhimurium</i>	25	67,6
<i>S. cholerae suis</i>	6	16,2
<i>S. weltevreden</i>	5	13,5
<i>Salmonella</i> spp.	1	2,7

Bảng 6. Tính nhạy cảm và đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* spp. (n=37)

Kháng sinh	Nhạy cảm		Trung gian		Kháng	
	Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Ampicillin	28	75.68	2	5,41	7	18,92
Amoxicillin	28	75.68	3	8,11	6	16,22
Tetracycline	21	56.76	0	0	16	43,24
Cephalexin	31	83.78	3	8,11	3	8,11
Ofloxacin	37	100	0	0	0	0
Norfloxacin	37	100	0	0	0	0
Ciprofloxacin	37	100	0	0	0	0
Streptomycin	7	18.92	20	54,05	10	27,03
Gentamycin	36	97.29	0	0	1	2,7

Kết quả bảng 3.3 cho thấy heo từ ngày tuổi 25-30 nhiễm với tỉ lệ 37,50% (6/16); giai đoạn từ 30-60 ngày nhiễm với tỉ lệ 47,61% (10/21) và trong giai đoạn từ 60-90 ngày tuổi, tỉ lệ nhiễm là 38,46% (5/13). Qua phân tích thống kê cho thấy tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. không có ý nghĩa khác biệt theo lứa tuổi ($P>0,05$).

Hầu hết các tác giả nghiên cứu về bệnh phó thương hàn ở heo đều cho rằng bệnh chủ yếu xảy ra trên heo sau cai sữa đến 3 tháng tuổi (Barnes, Sorensen, 1975; Wilcock, Schwartz, 1992; Plonait, Birkhardt, 1997; Laval, 2000, trích theo Đỗ Trung Cứ và ctv, 2002)

21 heo nhiễm *Salmonella* spp. có tần suất xuất hiện các triệu chứng và bệnh tích: heo tiêu chảy 61,9%, hạch xuất huyết tím bầm 61,9%, heo có dáng vẻ gầy ốm (57,1%), da xuất huyết mảng (52,4%), lách xuất huyết ở rìa (52,4%).

Kết quả này phù hợp với Nguyễn Thị Oanh, 2003 cho rằng tỉ lệ các chủng *Salmonella* spp. có độc lực cao dễ phân lập từ heo tiêu chảy cao hơn nhiều so với heo không bị tiêu chảy.

Kết quả 4 type huyết thanh định danh được gồm có: *Salmonella typhimurium* (25/37) chiếm 67,6%; *S. cholerae suis* (6/37) chiếm 16,2%; *S. weltevreden* (5/37) chiếm 13,5%, *Salmonella* spp. thuộc nhóm có cấu trúc kháng nguyên O 9,46 (1/37) chiếm 2,7%. Những mẫu phân thu từ heo có biểu hiện gầy ốm, tiêu chảy có tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. rất cao nhất là *S. typhimurium*.

Các nghiên cứu của Milcock, Heardetal (1965), Gooch và Haddock (1969), cũng cho rằng *S. typhimurium* ngày càng có xu hướng tăng lên và là nguyên nhân gây viêm ruột trên heo.

Tất cả 37 mẫu được định type huyết thanh đều được đem thử kháng sinh đồ. Kết quả được trình bày qua bảng 6.

Kết quả cho thấy tất cả các chủng đã định type đều mẫn cảm cao với Norfloxacin 100%, Ofloxacin 100%, Ciprofloxacin 100% và kế tiếp là Gentamycin 97,29%, Cephalexin 83,78%, Amoxicillin và Ampicillin 75,68%.

Các chủng *Salmonella* đều bị kháng với Tetracycline, Streptomycin những loại kháng sinh được sử dụng thường xuyên trong thú y. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nadeau (2000) ở Canada, Pejsak (2001) ở Ba Lan, Thong và ctv (2002) ở Malaysia, Soo Jing Yang (2002) ở Hàn Quốc.

Ngoài ra, các chủng này còn đề kháng với Ampicillin ở mức 18,92%, Amoxicillin 16,22% và Cephalexin 8,11%.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết luận

- Trong 150 mẫu bệnh phẩm, có 33 mẫu nhiễm vi khuẩn *Salmonella* spp.
- Trên heo từ 1-3 tháng tuổi có tiêu chảy có tỉ lệ nhiễm *Salmonella* chung trên 3 cơ quan (hạch, lách, phân) là 42% (21/50).
- Heo từ 25-90 ngày tuổi nhiễm *Salmonella* ở mức 37,5% đến 47,61%.
- Vi khuẩn tìm thấy nhiều ở heo tiêu chảy (61,9%), hạch xuất huyết tím bầm (61,9%), heo gầy ốm (57,1%).
- Các serotyp xác định được: *Salmonella typhimurium* (67,6%), *S. cholerae suis* (16,2%), *S. weltevreden* (13,5%), chủng chưa xác định (2,7%)
- Có 100% chủng nhạy cảm với Norfloxacin, Ofloxacin, Ciprofloxacin và Gentamycin 97,29%.
- Tỷ lệ các chủng đề kháng với kháng sinh: Tetracyclin (43,24%), Streptomycin (27,03%), Ampicillin (18,92%) và Amoxicillin (16,22%).

Đề nghị

- Nghiên cứu sự lưu hành của các serotyp *Salmonella* trên heo ở các lứa tuổi khác nhau.

- Kiểm tra kỹ hơn sự đề kháng kháng sinh để có thể điều trị hiệu quả hơn bệnh do vi khuẩn *Salmonella*.

- Khuyến khích chăn nuôi không phụ thuộc kháng sinh, giám sát việc vệ sinh phòng bệnh trong chăn nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đỗ Trung Cú, Trần Thị Hạnh, Nguyễn Quang Tuyên, 2002. *Kết quả phân lập và xác định một số yếu tố gây bệnh của vi khuẩn Salmonella spp. gây bệnh phó thương hàn lợn ở một số tỉnh miền núi phía Bắc*. Tạp chí Khoa học Kỹ Thuật Thú Y, số 4-2002.

Nguyễn Thị Oanh, 2003. *Tình hình nhiễm và một số yếu tố gây bệnh của vi khuẩn Salmonella ở vật nuôi (lợn, trâu, bò, nai, voi) tại Đắc Lắc*. Luận án tiến sĩ nông nghiệp, trường Đại học Nông Nghiệp I – Hà Nội, trang 80, 91.

Trần Đình Từ, 2002. *Bệnh lý thú y*. Tài liệu giảng dạy trường Đại học Nông Lâm Tp.HCM.

Harvey. R.B, Anderson. R.C, Nisbet. D.J, 2001. *Comparison of GN Hajna and tetrathionate as initial enrichment for Salmonella recovery from swine lymph nodes and cecal contents collected at slaughter*. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 13(3) 258-263.

Nadeau. M, Cote G and Higgings R., 2000. *Surveillance of antibiotic resistance in bacteria isolated from pigs and poultry in Quebec from 1993 to 1999*. Medecin Vétérinaire du Quebec.

Soo Jin Yang, Kyoung Yoon Park, So Hyun Kim And Yong Ho Park, 2002. *Antimicrobial resistance in Salmonella enterica serovars Enteritidis and Typhimurium isolated from animals in Korea: comparison of phenotypic and genotypic resistance characterization*.

Thong et al, 2002. *Genetic diversity of clinical and environment strains of Salmonella enterica serotypes Weltevreden isolated in Malaysia*, J. Clin. Microbiol, 40: 2498-2503.