

KẾT QUẢ PHÂN LẬP, XÁC ĐỊNH ĐẶC TÍNH SINH HỌC VÀ SEROTYP CÁC CHỦNG *SALMONELLA* SPP. Ở LỢN CON TIÊU CHẢY TẠI MỘT SỐ TỈNH PHÍA BẮC

Trần Đức Hạnh¹, Nguyễn Quang Tuyền² và Cù Hữu Phú³

TÓM TẮT

Kết quả phân lập và xác định đặc điểm sinh học, serotyp của các chủng *Salmonella* spp. ở lợn con mắc tiêu chảy tại một số tỉnh phía Bắc cho thấy:

- Xét nghiệm 224 mẫu phân của lợn con tiêu chảy tại một số địa phương thuộc 3 tỉnh (Thái Nguyên, Bắc Giang và Vĩnh Phúc) có 62,50% nhiễm *Salmonella* spp., trong đó cao nhất là ở Bắc Giang (63,51%), tiếp đó là ở Thái Nguyên (62,50%) và thấp nhất là ở Vĩnh Phúc (61,42%), với số lượng vi khuẩn *Salmonella* spp. trung bình là 47,31 triệu/gam phân.

- Ở lợn con bị tiêu chảy, vi khuẩn *Salmonella* spp. có mặt trong hầu hết các cơ quan phủ tạng, tỷ lệ phân lập cao nhất là ở hạch mạc treo ruột (95,23%), tiếp đến là chất chứa ruột già (80,95%), ruột non (57,14%), ở gan (52,38%), ở lách (28,57%) và thấp nhất là ở thận (23,80%).

- Vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập mang đầy đủ các đặc tính sinh vật, hoá học của giống. Trong các chủng *Salmonella* spp. phân lập, có 19 chủng (44,19%) thuộc nhóm C1 là *S. cholerae suis*; 17 chủng (39,53%) thuộc nhóm D1 là *S. enteritidis* và 7 chủng (16,28%) thuộc nhóm B là *S. typhimurium*.

Từ khóa: Lợn con, Tiêu chảy, *Salmonella* spp., Serotyp, Miền Bắc Việt Nam

Results of determination of biological characteristics and serotypes of *Salmonella* spp. isolated from diarrheic piglets in some Northern provinces

Tran Duc Hanh, Nguyen Quang Tuyen and Cu Huu Phu

SUMMARY

Results of isolation and determination of biological characteristics, serotypes of *Salmonella* spp. in piglets with diarrhea in some northern provinces showed that:

- Examination of 224 fecal samples of piglets having diarrhea resulted in 62.50% positive for *Salmonella* spp. The rates of *Salmonella* spp. isolated were different in investigated provinces, the highest in Bac Giang (63.51%), followed by Thai Nguyen (62.50%) and the lowest rate in Vinh Phuc (61.42%) with the *Salmonella* spp. average of 47.31 million/gram of feces.

- In piglets with diarrhea, *Salmonella* spp. were present in most visceral organs. The rate of *Salmonella* spp. isolated were highest in the mesentery ganglia (95.23%), followed in colon filled (80.95%), in intestine (57.14%), in liver (52.38 %), in spleen (28.57%) and lowest in kidney (23.80%).

- Isolated *Salmonella* spp. had carried all bio-chemistry characteristics of the strain. In those *Salmonella* spp. strains isolated, there were 19 strains (44.19%) belong C1 group were *S. cholerae suis*; in D1 group there were 17 *S. enteritidis* strains (39.53%) and in group B there were 7 *S. typhimurium* strains (16.28%).

Key words: Pigs, Diarrhea, *Salmonella* spp., Biological characteristics, Serotype, North Vietnam

¹ Công ty thuốc thú y Marphavet.

² Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.

³ Viện thú y.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng tiêu chảy với đặc điểm dịch tễ hết sức phức tạp đang gây nên những thiệt hại to lớn, làm giảm năng suất, chất lượng đàn vật nuôi nói chung và chăn nuôi lợn nói riêng.

Tiêu chảy xảy ra ở các loại lợn và mọi lứa tuổi và thường xuất hiện khi thời tiết thay đổi đột ngột, thức ăn kém phẩm chất, vệ sinh chăm sóc không đảm bảo. Nhiều kết quả của các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước đã cho thấy ngoài một số loài vi khuẩn gây bệnh đường tiêu hóa như *E.coli*, *Cl.perfringens* thì *Salmonella* là căn nguyên gây bệnh chung của nhiều loại vật nuôi và người. Hiện nay, khi Việt Nam gia nhập Tổ chức thương mại thế giới (WTO) thì vấn đề an toàn vệ sinh thực phẩm, trong đó có thịt lợn sạch bệnh, sạch vi khuẩn *Salmonella* là một yêu cầu cấp thiết. Vì vậy, nghiên cứu tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Salmonella*, về một số đặc tính sinh vật hóa học và vai trò gây bệnh của chúng... đối với lợn là việc làm cần thiết, để có cơ sở xây dựng biện pháp phòng, chống bệnh đạt hiệu quả cao, góp phần thúc đẩy chăn nuôi gia súc nói chung và chăn nuôi lợn nói riêng phát triển bền vững, tạo ra sản phẩm an toàn vệ sinh thực phẩm, có sức cạnh tranh cao trên thị trường. Xuất phát từ những vấn đề trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu xác định vi khuẩn *Salmonella* spp. trong hội chứng tiêu chảy ở lợn con theo mẹ tại một số tỉnh phía Bắc với mục tiêu là làm rõ khả năng, vai trò gây bệnh tiêu chảy của chúng, làm căn cứ khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo và công tác chẩn đoán, phòng trị bệnh đạt hiệu quả cao.

II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung

- Phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm và số lượng vi khuẩn *Salmonella* spp. từ các mẫu bệnh phẩm của lợn con tiêu chảy.

- Xác định một số đặc tính sinh vật học và typ huyết thanh của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập.

2.2. Nguyên vật liệu

- Mẫu bệnh phẩm: máu tim, gan, lách, dịch ruột... và phân của lợn con dưới 2 tháng tuổi mắc tiêu chảy nuôi tại tỉnh Thái Nguyên, Bắc Giang và Vĩnh Phúc.

- Các loại môi trường dùng cho nuôi cấy, phân lập và kiểm tra một số đặc tính sinh học của vi khuẩn đường ruột.

- Các kháng huyết thanh chuẩn (O, H).

- Hoá chất, dụng cụ, máy móc... phòng thí nghiệm nghiên cứu vi sinh vật.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Các phương pháp nuôi cấy và giám định vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập theo phương pháp thường quy của Bộ môn vi trùng, Viện thú y.

- Xác định typ huyết thanh của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập được theo phương pháp của White-Kauffmann (WHO, 1983).

- Kết quả được xử lý bằng phương pháp toán học thông dụng và trên chương trình version 4,0; Excel 2003.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ phân lập và số lượng vi khuẩn *Salmonella* spp. ở phân lợn con tiêu chảy

Đã nuôi cấy, phân lập và xác định vi khuẩn *Salmonella* spp. từ 224 mẫu phân của lợn con mắc tiêu chảy nuôi tại Thái Nguyên, Bắc Giang và Vĩnh Phúc để xác định vai trò của chúng trong hội chứng tiêu chảy ở lợn con. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ phân lập và số lượng vi khuẩn *Salmonella* spp. trong phân lợn con tiêu chảy

Địa điểm (tỉnh)	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số lượng VK/g phân (triệu)	
				$\bar{X}$	m_x
Thái Nguyên	80	50	62,50	49,25	1,27
Bắc Giang	74	47	63,51	47,52	1,06
Vĩnh Phúc	70	43	61,42	45,17	1,35
Tính chung	224	140	62,50	47,31	1,23

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, trong 224 mẫu phân lợn con mắc tiêu chảy được xét nghiệm, có 62,50% nhiễm *Salmonella* spp. Tỷ lệ phân lập vi khuẩn *Salmonella* spp. khác nhau ở các tỉnh nghiên cứu, cụ thể nhiễm cao nhất là ở tỉnh Bắc Giang (63,51%), tiếp sau là ở Thái Nguyên (62,50%) và thấp nhất là ở Vĩnh Phúc (61,42%). Sự khác nhau về tỷ lệ lợn mang khuẩn có thể do điều kiện nuôi dưỡng, vệ sinh ở các địa phương. Tác giả Võ Thị Trà An (2006) khi nghiên cứu tỷ lệ nhiễm *Salmonella* ở lợn tại 10 tỉnh phía Nam đã cho biết tỷ lệ nhiễm *Salmonella* ở lợn các nơi khác nhau cũng khác nhau, có thể do điều kiện vệ sinh và khí hậu, biến động từ 13,8 - 84,6%.

Số lượng vi khuẩn *Salmonella* spp. trung bình ở lợn con tiêu chảy là 47,31 triệu/g phân, trong đó cao nhất ở tỉnh Thái Nguyên (49,25 triệu/g) và thấp nhất ở Vĩnh Phúc (45,17 triệu/g). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với

kết quả nghiên cứu của một số tác giả như Hồ Văn Nam và cs (1997) cho thấy trong phân lợn tiêu chảy ở lứa tuổi từ 22 - 60 ngày có 46,95 triệu vi khuẩn/g phân; ở lứa tuổi trên 60 ngày có 46,36 triệu vi khuẩn/g phân; Tô Thị Phụng (2006) nghiên cứu *Salmonella* ở lợn trên 60 ngày tuổi bị tiêu chảy thấy có 41,48 triệu vi khuẩn/g phân.

3.2. Tỷ lệ phân lập *Salmonella* spp. ở một số bệnh phẩm của lợn con tiêu chảy

Để tìm hiểu sự phân bố của *Salmonella* spp. trong một số cơ quan phủ tạng của lợn mắc tiêu chảy; chúng tôi đã lấy bệnh phẩm là gan, lách, thận, hạch màng treo ruột, phổi, chất chứa ruột non ở 21 lợn con mắc tiêu chảy bị chết để tiến hành xét nghiệm. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ phân lập vi khuẩn *Salmonella* spp. ở một số bệnh phẩm từ lợn con chết do tiêu chảy

Bệnh phẩm	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)
Máu tim	21	5	23,80
Gan	21	11	52,38
Lách	21	6	28,57
Thận	21	5	23,80
Hạch màng treo ruột	21	20	95,23
Ruột non	21	12	57,14
Ruột già	21	17	80,95

Kết quả bảng 2 cho thấy, ở lợn con bị tiêu chảy vi khuẩn *Salmonella* spp. có mặt trong hầu hết các cơ quan phủ tạng, trong đó cao nhất là ở hạch màng treo ruột (95,23%), tiếp đến là chất chứa ruột già (80,95%), ruột non (57,14%), ở gan (52,38%), ở lách (28,57%) và thấp nhất ở thận (23,80%).

Wilcock B.P. (1995) làm thí nghiệm gây nhiễm *Salmonella* vào các đoạn ruột thất của lợn đã thấy sự xâm nhập của vi khuẩn *Salmonella*

vào hạch màng treo ruột là rất nhanh, chỉ 2 giờ sau khi gây nhiễm. Nếu gây nhiễm qua đường miệng thì 24 giờ sau vi khuẩn cũng đã xuất hiện ở hạch màng treo ruột và hạch amidan. Đỗ Trung Cứ và cs (2001) đã phân lập vi khuẩn *Salmonella* ở 9/9 loại phủ tạng của lợn từ 2 - 4 tháng tuổi bị tiêu chảy, trong đó cao nhất là ở hạch ruột (94,59%) và ít nhất là ở thận (27,08%). Như vậy, kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả trên.

3.3. Kết quả giám định một số đặc tính sinh vật, hoá học của các chủng *Salmonella* spp. phân lập từ lợn bị tiêu chảy

Chúng tôi đã kiểm tra khả năng lên men và sinh hơi một số loại đường, tính chất nhuộm màu,

khả năng di động và một số phản ứng sinh hoá của 75 chủng *Salmonella* spp. phân lập. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả kiểm tra một số đặc tính sinh vật, hoá học của các chủng *Salmonella* spp. phân lập

TT	Chỉ tiêu kiểm tra	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)
1	Hình thái (trực khuẩn)	75	75	100,0
2	Nhuộm màu Gram (-)	75	75	100,0
3	Di động	75	75	100,0
4	H ₂ S	75	65	86,67
5	Indol	75	0	0
6	Oxidase	75	0	0
7	Catalase	75	75	100,0
8	Glucose	75	75 (h)	100,0
9	Manitol	75	75	100,0
10	Lactose	75	0	0
11	Sorbitol	75	75	100,0
12	Dextrose	75	75	100,0
13	Sucrose	75	0	0
14	Galactose	75	75 (h)	100,0
15	Arabinose	75	75	100,0

Kết quả bảng 3 cho thấy 100% các chủng *Salmonella* spp. phân lập đều là trực khuẩn, bắt màu Gram âm, có khả năng di động. Tất cả các chủng *Salmonella* spp. phân lập đều có đặc tính sinh hoá như sinh H₂S, không sinh indol, phản ứng oxydase âm tính, phản ứng catalase dương tính; lên men sinh hơi đường glucose, galactose và manitol; không lên men đường lactose.

Như vậy, đặc tính sinh vật hoá học của các chủng *Salmonella* spp. phân lập được đều mang đặc điểm chung của giống *Salmonella* và phù hợp với những đặc điểm về hình thái, nuôi cấy, đặc tính sinh vật, hoá học như những tài liệu trong và ngoài nước đã mô tả. Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả của một

số tác giả như Phùng Quốc Chương (1995), Cù Hữu Phú và cộng sự (2000), Đỗ Trung Cứ (2004) khi nghiên cứu về vi khuẩn *Salmonella* gây bệnh ở lợn.

3.4. Kết quả xác định serotyp của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập

Chúng tôi đã chọn 60 chủng *Salmonella* spp. thể hiện các đặc tính sinh vật, hoá học điển hình để xác định serotyp của các chủng vi khuẩn này bằng phương pháp huyết thanh học. Trên cơ sở phân loại của White-Kauffmann (WHO, 1983), chúng tôi tiến hành xác định nhóm vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập theo hướng dẫn của hãng Remel. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả xác định nhóm kháng nguyên O của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập (n=60)

TT	Nhóm huyết thanh	Dương tính (+)	Tỷ lệ (%)
1	B (1, 4, 5, 12)	9/60	15,00
2	C1 (6, 7)	28/60	46,67
3	D1 (1, 9, 12)	15/60	25,00
4	S.spp.	8/60	13,33

Kết quả ở bảng 4 cho thấy trong 60 chủng *Salmonella* spp. phân lập ở lợn con tiêu chảy, có 46,67% số chủng thuộc nhóm huyết thanh C1, tiếp sau là nhóm D1 (25,00%) và thấp nhất là các chủng thuộc nhóm B (15%). Còn lại 8 chủng *Salmonella* (13,33%) chưa xác định. Sau khi xác

định nhóm các chủng *Salmonella* bằng kháng huyết thanh O đơn giá, chúng tôi tiến hành tiếp bằng kháng huyết thanh H pha 1 và pha 2, theo sơ đồ 2, 4, 5, 6 của White-Kauffmann (WHO, 1983) để xác định serotyp vi khuẩn *Salmonella* phân lập. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Kết quả xác định serotyp của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập (n=60)

Chủng <i>Salmonella</i>	Kháng nguyên H		Số chủng xác định	Tỷ lệ (%)
	pha 1	pha 2		
<i>S. typhimurium</i>	i	1, 2	9/60	15,00
<i>S. cholerae suis</i>	c	1, 5	28/60	46,67
<i>S. enteritidis</i>	g, m	1, 7	8/60	13,33
<i>S. dublin</i>	g,p	1, 6	7/60	11,67
<i>Salmonella</i> spp.	-	-	8/60	13,33

Kết quả ở bảng 5 cho thấy trong 60 chủng *Salmonella* spp. nghiên cứu, đã xác định có 28 chủng thuộc nhóm C1 là *S.cholerae suis*, chiếm tỷ lệ 46,67%; tiếp sau là nhóm B có 9 chủng (16,28%) là *S.typhimurium*. Trong nhóm D1 có 8 chủng (13,33%) là *S.enteritidis* và 7 chủng (11,67%) là *S.dublin*. Như vậy, các chủng *Salmonella* thuộc nhóm C1 có tỷ lệ cao nhất trong bệnh phẩm của lợn tiêu chảy tại các địa điểm nghiên cứu.

Một số tác giả nghiên cứu xác định serotyp của các chủng *Salmonella* gây bệnh tiêu chảy ở lợn con như Lê Văn Tạo và cs (1994) cũng cho biết ở bệnh phó thương hàn, chủng *S.cholerae*

suis có tới 50%, *S.typhimurium* chỉ xuất hiện 6,25%. Trần Xuân Hạnh (1995) xác định serotyp vi khuẩn *Salmonella* phân lập ở lợn bị tiêu chảy và chết ở các tỉnh xung quanh thành phố Hồ Chí Minh đã thông báo *S.cholerae suis* chiếm 38,7% (ở lợn khỏe 2,8%), tiếp đó là *S.typhimurium* 16,9%, *S.derby* 11,3%, còn lại là một số chủng khác. Tạ Thị Vịnh và cs (1996) khi nghiên cứu vi khuẩn *Salmonella* trên lợn bình thường và lợn tiêu chảy ở Ba Vì và Gia Lâm, Hà Nội cho biết vi khuẩn *Salmonella* thuộc nhóm C là nhiều nhất (60,0%), nhóm B và nhóm D chiếm tỷ lệ 20,0%. Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng như kết quả của các tác giả trên.

IV. KẾT LUẬN

Qua kết quả nghiên cứu thu được như trên, chúng tôi bước đầu có một số kết luận sau:

- Đàn lợn con mắc tiêu chảy nuôi tại một số tỉnh phía Bắc xét nghiệm mẫu phân có 62,50% nhiễm *Salmonella* spp., trong đó cao nhất là ở Bắc Giang (63,51%), tiếp sau là ở Thái Nguyên (62,50%) và thấp nhất là ở Vĩnh Phúc (61,42%) với số lượng vi khuẩn *Salmonella* spp. trung bình là 47,31 triệu/gam phân.

- Ở lợn con bị tiêu chảy, vi khuẩn *Salmonella* spp. có mặt trong hầu hết các cơ quan phủ tạng. Tỷ lệ phân lập được *Salmonella* cao nhất là ở hạch màng treo ruột (95,23%), tiếp đến là chất chứa ruột già (80,95%), ruột non (57,14%), ở gan (52,38%), ở lách (28,57%) và thấp nhất là ở thận (23,80%).

- Vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập ở lợn con tiêu chảy tại một số tỉnh phía Bắc mang đầy đủ các đặc tính sinh vật, hoá học của giống. Trong các chủng *Salmonella* spp. phân lập, có 19 chủng (44,19%) thuộc nhóm C1 là *S.cholerae suis*; ở nhóm D1 có 17 chủng (39,53%) là *S.enteritidis* và nhóm B có 7 chủng (16,28%) là *S.typhimurium*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Thị Trà An (2006). Tình hình nhiễm *Salmonella* trong phân và thân thịt (bò, heo, gà) tại một số tỉnh phía Nam. *Tạp chí KHKT thú y*, XIII, số 2.
2. Phùng Quốc Chương (1995). Tình hình nhiễm *Salmonella* ở lợn tại vùng Tây Nguyên và khả năng phòng trị. Luận án PTS khoa học NN, Trường đại học Nông nghiệp Hà Nội.
3. Đỗ Trung Cứ, Trần Thị Hạnh, Nguyễn Quang Tuyên (2001). 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 KHKT thú y*, VIII, số 3, tr. 10-17.
4. Đỗ Trung Cứ (2004). Phân lập và xác định yếu tố gây bệnh của *Salmonella* ở lợn tại một số tỉnh miền núi phía Bắc và biện pháp phòng trị. Luận án Tiến sỹ nông nghiệp, Viện thú y.
5. Trần Xuân Hạnh (1995). Phân lập và giám định vi khuẩn *Salmonella* trên lợn ở tuổi giết thịt. *Tạp chí KHKT thú y*, II, số 3, tr. 89-93.
6. Hồ Văn Nam, Nguyễn Thị Đào Nguyên, Trương Quang, Phùng Quốc Chương, Chu Đức Thắng, Phạm Ngọc Thạch (1997). Bệnh viêm ruột ỉa chảy ở lợn. *Tạp chí KHKT thú y*, IV, số 2, tr. 39-45.
7. Cù Hữu Phú, Nguyễn Ngọc Nhiên, Vũ Bình Minh, Đỗ Ngọc Thuý (2000). Phân lập vi khuẩn *E.coli* và *Salmonella* ở lợn mắc bệnh tiêu chảy, xác định một số đặc tính sinh hoá học của các chủng vi khuẩn phân lập được và biện pháp phòng trị. *Kết quả nghiên cứu KHKT thú y (1996-2000)*, Viện thú y, NXB Nông nghiệp Hà Nội, tr. 171-176.
8. Tô Thị Phượng (2006). Nghiên cứu tình hình hội chứng tiêu chảy ở lợn ngoại hướng nạc tại Thanh Hoá và biện pháp phòng, trị. Luận văn Thạc sỹ NN, Trường đại học Nông nghiệp Hà Nội.
9. Lê Văn Tạo, Nguyễn Thị Vui (1994). Phân lập và định typ vi khuẩn *Salmonella* gây bệnh cho lợn. *Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm*, số 11.
10. Tạ Thị Vịnh, Đặng Khánh Vân (1996). Bước đầu thăm dò và xác định *E.coli* trên lợn bình thường và lợn mắc hội chứng tiêu chảy tại Hà Tây và Hà Nội. *Tạp chí KHKT thú y*, III, số 1.