

DOI:10.22144/ctu.jsi.2018.062

## PHÂN LẬP VI KHUẨN *Escherichia coli* GÂY BỆNH PHÙ THŨNG TRÊN HEO CON SAU CAI SỮA TẠI TỈNH KIÊN GIANG

Huỳnh Thị Ái Xuyên và Lý Thị Liên Khai\*

Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Lý Thị Liên Khai (email: ltlkhai@ctu.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/05/2018

Ngày nhận bài sửa: 12/06/2018

Ngày duyệt đăng: 03/08/2018

### Title:

Isolation of *Escherichia coli* caused edema disease in post-weaning pigs in Kien Giang province

### Từ khóa:

*Escherichia coli*, bệnh phù thũng, heo sau cai sữa, Kiên Giang, *Stx2e*

### Keywords:

*Escherichia coli*, edema disease, post weaning pig, Kien Giang, *stx2e*

### ABSTRACT

*Escherichia coli* is one of the causative agents of infectious diseases in swine, especially, edema disease in post-weaning pigs with high mortality that caused farmers economic losses. The study was conducted from January 2017 to April 2018 to identify the prevalence, F4, F18 strains containing virulent gene *Stx2e* and their antimicrobial resistance. In total 1,387 piglets from 76 herds at four districts in Kien Giang province were studied. There were 207 sick piglets with 19.47% and no significant difference in four districts. Out of 207 sick piglets, there were 165 dead piglets with 61.11% and was a significant difference by districts. The common typical symptoms were eyelids swelling (90.65%), head edema (80.37%), moving convulsion (69.16%). *E. coli* was isolated from 107/107 samples (100%) including feces and lymph node samples. Gene encoding virulent factor *Stx2e* was high percentage (47.66%); *E. coli* isolated rate was not significantly different by ages; *E. coli* isolated in piglets from households (82.24%) that was higher than that in piglets from the farms (17.76%), and *E. coli* isolated from piglets in rainy season (61.68%) was higher than that in dry season (38.32%). *E. coli* strains were sensitive to 9/12 antibiotics. They were highly resistant to trimethoprim/sulfamethoxazole (95.33%), ampicillin (92.52%) and streptomycin (62.62%). There were 103/107 *E. coli* strains showing multi-resistance to at least 2 to 9 antimicrobial testing and extremely diversified and complicated multi-resistant types.

### TÓM TẮT

Vi khuẩn *Escherichia coli* là một trong những tác nhân gây bệnh truyền nhiễm trên heo, đặc biệt là bệnh phù thũng xảy ra trên heo sau cai sữa với tỷ lệ chết cao gây thiệt hại kinh tế cho nhà chăn nuôi. Đề tài được thực hiện từ 1/2017 đến 4/2018, nhằm xác định tỷ lệ bệnh, các chủng F4, F18, gene độc lực Shiga toxin 2e (*Stx2e*) và sự đề kháng của vi khuẩn. Theo kết quả khảo sát, trong số 1.387 con của 76 đàn heo sau cai sữa tại 4 huyện thuộc tỉnh Kiên Giang, có 207 con bệnh chiếm 19,47% và không khác nhau ở 4 huyện; 165/207 con chết, chiếm 61,11% và có sự khác biệt giữa các huyện. Các triệu chứng đặc trưng phổ biến là mí mắt sưng (90,65%), đầu sưng (80,37%), co giật kiểu bơi (69,16%). *E. coli* phân lập được từ 107/107 heo bệnh (100%) gồm phân và hạch lâm ba màng treo ruột. Gene *Stx2e* trên heo phù thũng chiếm 47,66%. *E. coli* gây bệnh phù thũng trên heo con tại tỉnh Kiên Giang không khác biệt ở các tuần tuổi. *E. coli* phân lập trên heo con ở hộ gia đình (82,24%) cao hơn trang trại (17,76%), mùa mưa (61,68%) cao hơn mùa nắng (38,32%). *E. coli* nhạy cảm cao với 9/12 loại kháng sinh. Chúng đa kháng cao với trimethoprim/sulfamethoxazole (95,33%), ampicillin (92,52%) và streptomycin (62,62%). Có 103/107 chủng đa kháng từ 2 đến 9 loại kháng sinh với kiểu hình đa kháng rất đa dạng và phức tạp.

Trích dẫn: Huỳnh Thị Ái Xuyên và Lý Thị Liên Khai, 2018. Phân lập vi khuẩn *Escherichia coli* gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(Số chuyên đề: Nông nghiệp): 23-32.

## 1 GIỚI THIỆU

Vi khuẩn *Escherichia coli* là một trong những tác nhân gây bệnh truyền nhiễm trên heo, đặc biệt là bệnh phù thũng xảy ra trên heo sau cai sữa với tỷ lệ chết cao, gây thiệt hại kinh tế cho nhà chăn nuôi. Các chủng *E. coli* gây bệnh đặc trưng bởi độc tố Shiga toxin 2e (Stx2e) (Helgerson *et al.*, 2006). Triệu chứng đặc trưng của bệnh là mí mắt sưng, đầu và trán sưng phù, tiếng kêu khàn, rối loạn thần kinh với các cơn co giật, đi loạng choạng và suy hô hấp. Ở thể bệnh quá cấp, heo con chết đột ngột, không có biểu hiện triệu chứng. Bệnh xảy ra lẻ tẻ hoặc có thể ảnh hưởng đến toàn đàn, tỷ lệ heo chết thay đổi từ 50-90% (Zimmerman *et al.*, 2012). Độc tố Stx2e và kháng nguyên F18 đã được tìm thấy ở nhiều heo con sau cai sữa bệnh phù thũng do vi khuẩn *E. coli* gây ra (Coddens *et al.*, 2007). Tuy nhiên, tính miễn cảm của heo đối với bệnh phù thũng phụ thuộc vào một số yếu tố như di truyền, chế độ dinh dưỡng, sức đề kháng và độc tố như Stx2e, LT (độc tố không chịu nhiệt), ST (độc tố chịu nhiệt) (Frydendahl, 2002). Các chủng *E. coli* gây bệnh đều sản sinh ra một hoặc nhiều loại kháng nguyên bám dính F4, F5, F6, F18, trong đó kháng nguyên bám dính đặc trưng của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh phù thũng là F4 và F18 (Carter *et al.*, 1995). Việc xác định các chủng *E. coli* phổ biến gây bệnh phù thũng trên heo con là yêu cầu cấp thiết trong phòng và trị bệnh giúp tăng năng suất và lợi nhuận cho nhà chăn nuôi (Cornick, 2009). Bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa đã được nghiên cứu ở một số tỉnh phía Bắc. Tuy nhiên, có rất ít nghiên cứu về bệnh này ở các tỉnh thuộc Đồng bằng sông Cửu Long, đặc biệt là tỉnh Kiên Giang. Do đó, nghiên cứu được thực hiện tại tỉnh Kiên Giang nhằm xác định tỷ lệ bệnh và định danh các chủng vi khuẩn *E. coli* phổ biến là F4, F18 và xác định gene mã hóa yếu tố độc lực Stx2e gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa, đồng thời kiểm tra sự nhạy cảm của vi khuẩn đối với kháng sinh giúp tăng hiệu quả trong phòng và trị bệnh phù thũng do *E. coli* gây ra trên heo con tại tỉnh Kiên Giang.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu nghiên cứu

Từ tháng 1/2017 đến tháng 4/2018, mẫu được thu thập từ 107 mẫu phân và 101 mẫu hạch lâm ba màng treo ruột của 107 con heo sau cai sữa bệnh phù thũng trên 207 con bệnh được khảo sát tại 42 hộ và 6 trại chăn nuôi ở 4 huyện: Tân Hiệp, Giồng Riềng, Châu Thành và Hòn Đất thuộc tỉnh Kiên Giang.

Các loại kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu gồm amoxicillin/clavulanic acid (Ac) 20/10 µg, colistin (Co) 10 µg, gentamycin (Ge) 10 µg, amikacin (Ak) 30 µg, streptomycin (Sm) 10 µg, tetracycline (Te) 30 µg, doxycycline (Dx) 30 µg, ampicillin (Am) 10 µg, trimethoprim/sulfamethoxazole (bactrim) (Bt) 1,25/23,75 µg, ceftazidime (Cz) 30 µg, cefuroxime (Cu) 30 µg, và levofloxacin (Lv) 5 µg (Công ty Nam Khoa, Việt Nam). Nguyên liệu dùng cho phản ứng PCR: primer (môi xuôi, môi ngược của Stx2e, F4, F18,) (Integrated DNA Technologies, USA); bộ kit PCR, Go Taq® Green Master Mix, 2X (Promega, USA); thang DNA 100 bp (Gel loading buffer – Invitrogen) (Promega, USA).

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Phương pháp lấy mẫu

Phương pháp lấy mẫu được thực hiện theo TCVN 10782:2015 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2015) (ISO 13307:2013). Mẫu phân (25 gram), 2 hạch lâm ba/con đã được thu thập từ heo bệnh phù thũng. Tại mỗi trại hay hộ chăn nuôi heo tiến hành lấy 2-3 con/đàn, trên 1-2 đàn/ trại. Mẫu được bảo quản ở nhiệt độ lạnh.

#### 2.2.2 Phương pháp phân lập và định danh vi khuẩn *E. coli*

Phương pháp phân lập được thực hiện theo TCVN 5155-1990 (Ủy ban Khoa học Nhà nước, 1990), dựa theo hướng dẫn của Barrow và Feltham (2003).

Định danh các chủng *E. coli* phổ biến gồm F4, F18 gây bệnh phù thũng trên heo được thực hiện bằng phản ứng PCR dựa theo mô tả của Boerlin *et al.* (2005) và kiểm tra sự hiện diện của gene mã hóa yếu tố độc lực Stx2e với các cặp môi đặc hiệu được trình bày ở Bảng 1. Kiểm tra sự đề kháng của vi khuẩn *E. coli* đối với các loại kháng sinh dựa trên phương pháp khuếch tán trên thạch theo mô tả của Bauer *et al.* (1966).

#### 2.2.3 Phương pháp định danh các chủng F4, F18 và xác định gene mã hóa yếu tố độc lực Stx2e của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa

Tách chiết DNA của vi khuẩn bằng phương pháp sốc nhiệt dựa theo mô tả của Costa *et al.* (2010). Các bước của phản ứng PCR thực hiện theo TCVN 8400-16:2011 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2011).

**Bảng 1: Các cặp môi xác định kháng nguyên bám dính F4, F18 và gene độc tố Stx2e của vi khuẩn E. coli sử dụng trong phản ứng PCR**

Gene	Trình tự primer (5' - 3')	Kích thước phân tử (bp)	Tài liệu tham khảo
F4	F: GAATCTGTCCGAGAATATCA R: GTTGGTACAGGTCTTAATGG	499	Boerlin <i>et al.</i> (2005)
F18	F: TGGTAACGTATCAGCAACTA R: ACTTACAGTGCTATTCGACG	313	Boerlin <i>et al.</i> (2005)
Stx2e	F: CCTTAACTAAAAGGAATATA R: CTGGTGGTGTATGATTAATA	230	Fratamico <i>et al.</i> (2004)

**2.3 Phương pháp xử lý số liệu**

Số liệu được xử lý thống kê bằng các phương pháp Chi-square, Fisher's exact test bởi phần mềm Minitab 16.0, và Microsoft Excel 2010 ở mức ý nghĩa được xử lý thống kê ở độ tin cậy 95% (p<0,05).

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Kết quả khảo sát tỷ lệ bệnh phù thũng do E. coli trên heo con sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang**

Qua khảo sát 1.387 con heo sau cai sữa ở 4 huyện của tỉnh Kiên Giang, 270 con heo nghi bệnh phù thũng, chiếm tỷ lệ khá cao 19,47%. Zimmerman *et al.* (2012) đã báo cáo bệnh xảy ra lẻ tẻ hoặc có thể ảnh

hưởng đến cả đàn chiếm tỷ lệ từ 10 - 40%, cá biệt có đàn lên đến 80%, bệnh xảy ra quanh năm và chủ yếu xảy ra trên heo sau cai sữa. Tỷ lệ heo sau cai sữa nghi bệnh phù thũng tại tỉnh Kiên Giang khá cao có thể là do chăn nuôi heo ở Kiên Giang chủ yếu là nhỏ lẻ dạng hộ gia đình nên kiến thức về chăm sóc nuôi dưỡng, phòng bệnh còn hạn chế. Mainil *et al.* (2002) cho rằng tính miễn cảm của bệnh phù thũng phụ thuộc vào một số yếu tố như đặc tính di truyền, chế độ dinh dưỡng, các bệnh kế phát, khả năng tiết ra các loại độc tố của vi khuẩn E. coli, sức đề kháng con vật. Tỷ lệ heo con nghi bệnh phù thũng không có sự khác biệt ở các huyện khảo sát với P= 0,052; điều này có thể là do các huyện có vị trí địa lý không cách xa nhau và giống nhau về phương thức chăn nuôi.

**Bảng 2: Kết quả khảo sát tỷ lệ heo nghi bệnh phù thũng do vi khuẩn E. coli gây ra trên heo sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang**

Địa điểm (Huyện)	Số đàn khảo sát	Số heo khảo sát (con)	Heo nghi bệnh (con)		Heo chết nghi do bệnh (con)	
			Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%) *
Châu Thành	18	330	68	20,61	33	48,52
Giồng Riềng	18	324	78	24,07	55	70,51
Tân Hiệp	21	391	67	17,13	37	55,22
Hòn Đất	19	342	57	16,67	40	70,17
				P= 0,052		P = 0,016
Tổng	76	1.387	270	19,47	165	61,11

\* Tỷ lệ heo chết so với heo bệnh.

**Bảng 3: Tần suất xuất hiện các triệu chứng nghi bệnh phù thũng do E. coli gây ra trên heo con sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang (n=107)**

Triệu chứng	Tần suất xuất hiện*	Tỷ lệ (%)
Mí mắt sưng phù	97	90,65
Đầu, trán sưng phù	86	80,37
Cơ giết kiểu bơi	74	69,16
Tiếng kêu khàn	57	53,27
Tiêu chảy	40	37,38
		P=0,000

\* Tần suất xuất hiện được quan sát dựa trên số heo nghi bệnh phù thũng do E. coli c

Tỷ lệ heo chết do nghi bệnh phù thũng tại tỉnh Kiên Giang là rất cao chiếm 61,11% (165/270 con).

Zimmerman *et al.* (2012) đã báo cáo tỷ lệ heo chết dao động từ 50-90%. Heo nghi bệnh phù thũng có tỷ lệ chết cao tại các huyện của tỉnh Kiên Giang có thể là do bệnh thường xảy ra đột ngột, tiến triển nhanh, người chăn nuôi không phát hiện hoặc phát hiện trễ khi heo đã có những triệu chứng thần kinh nên việc can thiệp điều trị không mang lại hiệu quả.

Các triệu chứng thường gặp trên heo bệnh phù thũng tại tỉnh Kiên Giang phổ biến nhất là mí mắt sưng phù (90,65%), đầu, trán sưng phù (80,37%) tiếp theo là cơ giết kiểu bơi (69,16%), tiếng kêu khàn (53,27%) và thấp nhất là tiêu chảy (37,38%); sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê (P=0,000). Điều này có thể do khả năng sản sinh độc tố của các chủng E. coli gây bệnh khác nhau. Gyles and Faibrother (2010) đã chỉ ra rằng khi heo bệnh phù

thũng do *E. coli* sản sinh độc tố hướng mạch máu (Verotoxin), độc tố sẽ được hấp thu vào ruột và sau đó sẽ vào máu làm tổn thương thành mạch, giảm áp suất thẩm thấu làm tràn dịch và tích tụ lại gây phù tại vùng mặt đầu tiên, đây là triệu chứng khởi phát của bệnh. Tiếp theo, khi bệnh trở nên trầm trọng heo bị phù thanh quản làm khàn giọng, khó nuốt, phù não gây triệu chứng thần kinh. Kết quả khảo sát đã cho thấy các triệu chứng trên heo bệnh tại tỉnh Kiên Giang như là mắt sưng, đầu trán sưng phù, co giật kiểu bơi, tiếng kêu khàn là những biểu hiện đặc trưng của bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa.

**3.2 Kết quả phân lập và định danh vi khuẩn *E. coli* gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang**

Tỷ lệ hiện diện của vi khuẩn *E. coli* trên phân là 100% (107/107) do *E. coli* là những vi khuẩn hội sinh chiếm ưu thế nhất trong hệ vi sinh vật đường ruột của động vật kể cả trong cơ thể những con vật khỏe mạnh, do đó vẫn chưa thể khẳng định đây là các chủng *E. coli* gây ra bệnh phù thũng. Nhưng tỷ

lệ phân lập 100% (101/101) có sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* trong hạch lâm ba màng treo ruột đã khẳng định *E. coli* chính là nguyên nhân gây bệnh phù thũng. Bertschinger *et al.* (1992) đã báo cáo rằng ở trạng thái bình thường, hạch lâm ba màng treo ruột không có sự hiện diện vi khuẩn *E. coli*; điều này cũng phù hợp với cơ chế gây bệnh của *E. coli* là vi khuẩn bám dính, xâm nhập và sản sinh độc tố gây bệnh trên tế bào biểu mô niêm mạc ruột. Có 101/107 con chết có sự hiện diện *E. coli* trên hạch lâm ba, có 6/107 con heo bệnh còn sống, đã giúp khẳng định *E. coli* là vi khuẩn gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang. Zimmerman *et al.* (2012) đã cho thấy bệnh phù thũng do *E. coli* gây ra có thể được chẩn đoán dựa vào các triệu chứng, bệnh tích điển hình đặc trưng của bệnh. Kết quả nghiên cứu phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Hoa và *ctv.* (2010), phân lập các bệnh phẩm trên heo có triệu chứng của bệnh đều cho tỷ lệ dương tính với vi khuẩn *E. coli* là 100% ở phân và hạch lâm ba màng treo ruột.

**Bảng 4: Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang**

Địa điểm (Huyện)	Số heo khảo sát (con)	Mẫu phân			Hạch lâm ba màng treo ruột		
		Số mẫu phân lập	Số mẫu dương	Tỷ lệ (%)	Số mẫu phân lập	Số mẫu dương	Tỷ lệ (%)
Châu Thành	330	26	26	100	20	20	100
Giồng Riềng	324	27	27	100	27	27	100
Hòn Đất	342	26	26	100	26	26	100
Tân Hiệp	391	28	28	100	28	28	100
				P>0,05			P>0,05
Tổng	1.387	107	107	100	101	101	100

**Bảng 5: Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa theo phương thức nuôi**

Phương thức nuôi	Số đàn khảo sát	Số heo khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Hộ gia đình	42	934	88	82,24
Trang trại	6	453	19	17,76
				P=0,000
Tổng	48	1.387	107	100,00

Heo con sau cai sữa bị bệnh phù thũng xảy ra tại các hộ gia đình (82,24%) có tỷ lệ *E. coli* dương tính cao hơn heo tại các trang trại (17,76%) và sự khác biệt này là rất có ý nghĩa thống kê (P=0,000). Điều này có thể là do người chăn nuôi ở các hộ gia đình còn hạn chế về kỹ thuật và quy trình chăm sóc nuôi dưỡng heo. Mặt khác, tại các địa điểm thu mẫu khảo sát, phần lớn chuồng nuôi là chuồng sàn bằng gỗ hoặc xi măng đã xuống cấp, rất bất tiện nên hiệu quả trong vệ sinh sát trùng kém, do phân hay nước bắn đọng lại làm cho ẩm độ của chuồng nuôi tăng cao, tạo điều kiện dễ dàng cho vi khuẩn *E. coli* tồn tại, xâm nhập và gây bệnh. Trái lại, ở các trang trại,

người chăn nuôi rất quan tâm đến chuồng trại, cơ sở vật chất, các quy trình kỹ thuật chăm sóc nuôi dưỡng và quản lý dịch bệnh như vệ sinh và khử trùng chuồng trại, phòng bệnh chủ động, theo dõi để phát hiện sớm và điều trị kịp thời khi heo bệnh. Swords *et al.* (1993) cho rằng những yếu tố stress liên quan đến nuôi dưỡng, chăm sóc trong thời kỳ cai sữa như vận chuyển, thay đổi khẩu phần thức ăn,... đã ảnh hưởng đến khả năng đề kháng, tạo điều kiện cho *E. coli* phát triển và gây bệnh.

Trong 107 mẫu phân lập, tỷ lệ bệnh ở heo con sau cai sữa 1-2 tuần tuổi là 48,6% tương đương với heo con trên 2 tuần tuổi (51,4%) với P=0,682.



Bertschinger *et al.* (1992) cho rằng bệnh phù thũng trên heo xảy ra phổ biến ở heo 1-2 tuần tuổi sau cai sữa và phát triển mạnh nhất vào 3-5 tuần sau cai sữa. Kết quả khảo sát này cho thấy heo con sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang bệnh phù thũng chủ yếu ở heo từ 1- 2 tuần và trên 2 tuần tuổi. Heo bệnh tập trung vào các tuần tuổi này có thể là do tập quán chăn nuôi nhỏ lẻ của các hộ gia đình có thời gian cai sữa dài hơn khoảng từ 28 ngày trở lên trong khi tại các trang trại, cai sữa vào 21 ngày tuổi. Báo cáo của Wilson and Francis (1986) cho thấy ở những nơi thực hiện việc cai sữa trễ, heo có tỷ lệ mắc bệnh phù thũng cao.

**Bảng 6: Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa theo tuần tuổi tại tỉnh Kiên Giang**

Tuần tuổi sau cai sữa	Số mẫu nhiễm	Tỷ lệ (%)
1-2 tuần	52	48,60
> 2 tuần	55	51,40
		P= 0,682
Tổng	107	100,00

**Bảng 7: Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa theo mùa tại tỉnh Kiên Giang**

Mùa	Số mẫu dương	Tỷ lệ (%)
Mùa nắng (tháng 12-4)	41	38,32
Mùa mưa (tháng 5-11)	66	61,68
		P=0,003
Tổng	107	100,00

Tỷ lệ *E. coli* dương tính trên heo con bệnh phù thũng ở mùa nắng có tỷ lệ 38,32%, thấp hơn mùa mưa (61,68%) với P=0,003. Điều này có thể do Kiên Giang có khí hậu nóng ẩm quanh năm, vào mùa mưa độ ẩm tăng lên làm cho mầm bệnh tồn tại lâu hơn, đồng thời, đây cũng là thời điểm có nhiệt độ và lượng mưa cao nhất trong năm, là điều kiện tốt cho mầm bệnh phát triển gây bệnh; trong khi khả năng điều tiết thân nhiệt của heo con sau cai sữa kém nên dễ mắc bệnh. Điều này cũng phù hợp với nhận định Zimmerman *et al.* (2012) rằng các yếu tố stress trong thời gian cai sữa có liên quan đến mức độ của bệnh phù thũng và những yếu tố stress phổ biến ảnh hưởng đến heo cai sữa như thay đổi thời tiết và heo bị nhiễm lạnh thì làm giảm nhu động ruột làm tăng vi khuẩn đường ruột như *E. coli* nên bệnh dễ xảy ra.

Tần suất xuất hiện các bệnh tích trên heo con bệnh phù thũng do vi khuẩn *E. coli* gây ra tại Kiên Giang dao động từ 55,14-72,90% và sự sai khác này là rất có ý nghĩa thống kê (P=0,000). Điều này có thể giải thích là do cơ chế gây bệnh của vi khuẩn *E. coli* là nhiễm độc huyết, tác động của yếu tố bám dính; vi khuẩn xâm nhập vào hệ thống tiêu hóa và

tác động của độc tố Stx2e làm tổn thương các cơ quan phủ tạng khác nhau ở các vật chủ khác nhau. Gyles and Faibrother (2010) cho rằng vi khuẩn *E. coli* tác động lên bề mặt niêm mạc ruột non, đặc biệt là giữa không tràng và hồi tràng, rồi vào niêm mạc ruột, hệ thống lâm ba vào máu và gây sung huyết, xuất huyết và sưng phù hạch lâm ba màng treo ruột do vi khuẩn *E. coli* từ ruột di chuyển lên các hạch bạch huyết màng treo ruột sinh độc tố Stx2e, chất độc được hấp thụ vào máu làm tổn hại các thành mạch dẫn đến tổn thương các cơ quan nội tạng. Kết quả khảo sát này tương tự với mô tả của Zimmerman *et al.* (2012), bệnh tích rõ nhất trên heo là phù mắt, tim nhão, xoang ngực, xoang bụng tích nước, viêm hạch lâm ba màng treo ruột.

**Bảng 8: Tần suất xuất hiện các bệnh tích của heo nghi bệnh phù thũng do *E. coli* gây ra trên heo sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang (n=107)**

Bệnh tích	Tần suất*	Tỷ lệ (%)
Ruột sung phù, xuất huyết	78	72,90
Xoang ngực tích nước	74	69,19
Màng treo ruột xuất huyết, phù	74	69,16
Xoang bụng tích nước	68	63,55
Dạ dày xuất huyết	65	60,75
Xoang bao tim tích nước	59	55,14
		P=0,000

\* Tần suất xuất hiện được khảo sát dựa trên số heo nghi bệnh *E. coli* được mổ khám

### 3.3 Kết quả định danh các chủng F4, F18 và gene mã hóa yếu tố độc lực Stx2e của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang

Chủng *E. coli* phổ biến gây bệnh phù thũng trên heo sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang là F18 chiếm 55,14% (59/107), cao hơn F4 chiếm 9,34% (10/107). Có 17/107 mẫu ghép 2 chủng F4 và F18, chiếm 15,89%. Kết quả cho thấy F18 không chỉ là chủng phổ biến gây bệnh phù thũng cho heo con sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang mà còn là chủng gây bệnh ghép với F4 đã làm cho heo bệnh thêm trầm trọng hơn và gây chết cao. Zimmerman *et al.* (2012) đã cho rằng F18 là chủng xuất hiện chủ yếu ở heo con bệnh phù thũng.

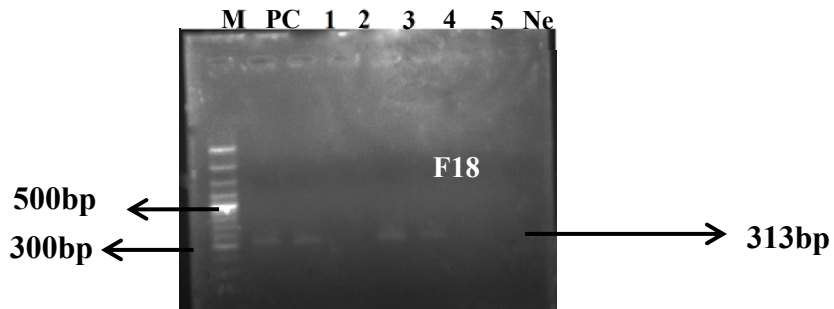
Yếu tố đặc trưng để gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa ngoài kháng nguyên bám dính F18 và F4 còn có độc tố Stx2e. Kết quả Bảng 9 cho thấy mối liên quan giữa các chủng *E. coli* gây bệnh với độc tố Stx2e, qua kết quả phân tích cho thấy chủng *E. coli* F18 là chủng phổ biến, nhưng khả năng gây bệnh khi có sự hiện diện của độc tố Stx2e giữa 2 chủng F18 (62,71%) và F4 (70%) là không khác

nhau; các chủng F4, F18 dù phân bố riêng lẻ trên đàn heo con sau cai sữa bệnh phù thũng hay ghép

giữa F4 và F18 thì khả năng gây bệnh trên heo con tại tỉnh Kiên Giang là như nhau.

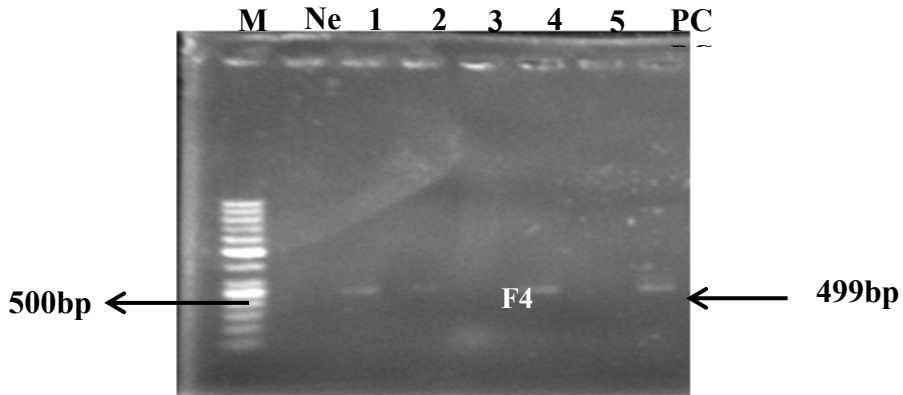
**Bảng 9: Kết quả định danh các chủng F4, F18, F4 và F18 và sự hiện diện gene Stx2e của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang**

Chỉ tiêu kiểm tra	Chủng <i>E. coli</i> dương tính (n=107)		Stx2e dương tính		
	Số mẫu dương	Tỷ lệ (%)	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương	Tỷ lệ (%)
F4	10	9,34	10	7	70,00
F18	59	55,14	59	37	62,71
F4+18	17	15,89	17	13	76,47
		P=0,000			P=0,552



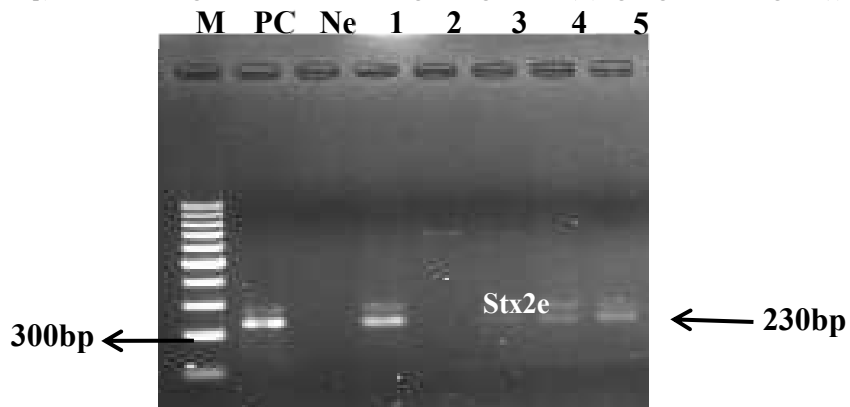
**Hình 1: Sản phẩm PCR của gene F18 sau quá trình điện di**

(M: DNA marker, Ne: đối chứng âm F18, PC: đối chứng dương F18, F18 (+): giếng 1, 3, 4; F18 (-): giếng 2, 5)



**Hình 2: Sản phẩm PCR của gene F4 sau quá trình điện di**

(M: DNA marker (100 bp), Ne: đối chứng âm F4, PC: đối chứng dương F4, F4 (+): giếng 1, 4; Giếng F4 (-): 2, 3, 5)



**Hình 3: Sản phẩm PCR của gene Stx2e sau quá trình điện di**

(M: DNA marker, Ne: đối chứng âm Stx2e, PC: đối chứng dương Stx2e, Stx2e (+): giếng 1, 3, 4, 5; Stx2e (-): giếng 2)

**3.4 Kết quả khảo sát sự đề kháng của E. coli đối với kháng sinh tại tỉnh Kiên Giang**

Vi khuẩn *E. coli* gây bệnh phù thũng trên heo con tại tỉnh Kiên Giang còn nhạy với 9/12 loại kháng sinh kiểm tra với tỷ lệ từ 54,21-99,07%; trong đó, nhạy cao với doxycycline (99,07%), amikacin (98,13%), ceftazidime (94,39), cefuroxime (91,59) amoxicillin/clavulanic acid (91,59%), colistin (83,18), nhạy vừa với levofloxacin (74,77%), tetracycline (64,49%) và nhạy trung bình với gentamycin (54,21%). Tuy nhiên, *E. coli* đã đề kháng cao với bactrim (95,33%), ampicillin (92,52%), streptomycin (62,62%). Kết quả khảo sát tại Kiên Giang cho thấy các loại kháng sinh mạnh như: ceftazidime, doxycycline, amoxicillin/

clavulanic acid,... là những kháng sinh còn mới ít được sử dụng nên vi khuẩn vẫn nhạy cảm cao. Gentamycin, tetracycline, bactrim, ampicillin là các loại thuốc thường xuyên được sử dụng để điều trị bệnh do *E. coli* gây ra cũng như các bệnh nhiễm khuẩn khác tại các hộ chăn nuôi và trang trại trên địa bàn nghiên cứu; vì vậy đã tạo nên sự kháng thuốc và điều này đã gây khó khăn cho công tác điều trị. Oanh T. K. N et al., (2010) đã nghiên cứu cho thấy các chủng *E. coli* phân lập được từ 92 heo con bệnh phù thũng đã kháng với các kháng sinh phổ biến như gentamycin (32,8%), streptomycin (70,4%). Hanchun Yang et al. (2004) nghiên cứu ở Trung Quốc trên 89 heo cai sữa bị bệnh cho thấy *E. coli* đã đề kháng cao với tetracycline (98%), sulfathaxazole (84%), ampicillin (79%) và bactrim (76%).

**Bảng 10: Kết quả kiểm tra sự nhạy cảm và đề kháng của E. coli gây bệnh phù thũng trên heo sau cai sữa đối với kháng sinh tại tỉnh Kiên Giang (n=107)**

TT	Tên kháng sinh	Ký hiệu	Nhạy***		Kháng***	
			Số lượng mẫu	Tỷ lệ (%)	Số lượng mẫu	Tỷ lệ (%)
1	Ampicillin	Am	8	7,48	99	92,52
2	Amox-Clav*	Ac	98	91,59	9	8,41
3	Gentamycin	Ge	58	54,21	49	45,79
4	Colistin	Co	89	83,18	18	16,82
5	Amikacin	Ak	105	98,13	2	1,87
6	Levofloxacin	Lv	80	74,77	27	25,23
7	Bactrim**	Bt	5	4,67	102	95,33
8	Ceftazidime	Cz	101	94,39	6	5,61
9	Cefuroxime	Cu	98	91,59	9	8,41
10	Doxycycline	Dx	106	99,07	1	0,93
11	Tetracycline	Te	69	64,49	38	35,51
12	Streptomycin	Sm	40	37,38	67	62,62

\*: Amoxicillin/clavulanic acid \*\*: Trimethoprim/Sulfamethoxazole

\*\*\*: Tiêu chuẩn xác định độ mẫn cảm và đề kháng của E. coli theo tiêu chuẩn CLSI, 2016

Vi khuẩn *E. coli* phân lập được trên heo con bệnh phù thũng đã đề kháng từ 2-9 loại kháng sinh. Có 103 chủng đa kháng với 45 kiểu hình đa kháng khác nhau, rất đa dạng và phức tạp, trong đó đa kháng từ 3-6 loại kháng sinh là phổ biến. Nguyên nhân có thể là do trong điều trị các nhà chăn nuôi và cán bộ thú y phối hợp nhiều kháng sinh cùng một lúc hay bổ sung kháng sinh vào thức ăn và nước uống hoặc đã

sử dụng trong thời gian dài. Sự khác nhau về mức độ đa kháng thuốc và kiểu hình đa kháng đã phản ánh tình trạng sử dụng kháng sinh tại các trại cũng như các hộ chăn nuôi tại tỉnh Kiên Giang. Nghiên cứu của Lý Thị Liên Khai và ctv. (2015) cho thấy các chủng *E. coli* được phân lập trên heo tại tỉnh Vĩnh Long và Đồng Tháp hầu hết đã đa kháng từ 2-7 loại kháng sinh.

**Bảng 11: Kết quả khảo sát tính đa kháng của vi khuẩn *E. coli* phân lập được với một số loại kháng sinh (n=107)**

Số kháng sinh đa kháng	Kiểu hình đa kháng	Số kiểu kháng	Số chủng kháng	Tỷ lệ (%)	Tỷ lệ chung (%)
2	Am+Bt	5	12	11,21	15,24
	Am+ Sm		1	0,93	
	Sm+Te		1	0,93	
	Am+Cu		1	0,93	
	Ge+Bt		1	0,93	
	Am+Sm+Bt		10	9,35	
	Am+ Bt+ Lv		2	1,87	
3	Co+Bt+Lv	8	1	0,93	21,90
	Am+Ge+Sm		3	2,80	
	Am+Te+Bt		5	0,93	
	Am+Ge+Bt		1	0,93	
	Am+Te+Ak		1	0,93	
	Am+Co+Bt		1	0,93	
	Am+Te+Bt+Lv		1	0,93	
	Am+Co+Te+Bt		2	1,87	
	Am+Ge+Sm+Bt		13	12,15	
	Am+Ge+Te+Bt		3	2,80	
4	Am+Sm+Te+Bt	8	4	3,74	26,17
	Am+Te+Ax+Bt		1	0,93	
	Sm+Te+Cu+Bt		1	0,93	
	Sm+Am+Co+Bt		3	2,80	
	Am+Ge+Sm+Bt+Lv		2	1,87	
	Am+Ge+Te+Bt+Lv		1	0,93	
	Am+Sm+Te+Bt+Lv		1	0,93	
	Am+Ge+Sm+Te+Bt		5	4,76	
	Am+Ge+Te+Bt+Ax		1	0,93	
	Am+co+Sm+Te+Bt		1	0,93	
	Am+Sm+Te+Ax+Bt		1	0,93	
	Am+Ge+Sm+Co+Bt		3	2,80	
	Am+Co+Te+Bt+Lv		3	0,93	
	Am+Co+Sm+Te+Bt		2	1,87	
5	Am+Ge+Te+Ak+Bt+Lv	10	1	0,93	18,10
	Am+Ge+Sm+Te+Bt+Lv		4	3,74	
	Am+Co+Sm+Te+Bt+Lv		1	0,93	
	Am+Co+Ge+Sm+Te+Bt		1	0,93	
	Am+Cu+Cz+Ge+Bt+Ax		1	0,93	
	Am+Ge+Sm+Cu+Bt+Lv		1	0,93	
	Am+Cu+Ge+Sm+Bt+Ax+Lv		1	0,93	
	Am+Cu+Cz+Bt+Dx+Ax+Lv		1	0,93	
	Am+Cz+Cu+Te+Ax+Bt+Sm		1	0,93	
	Am+Ge+Co+Te+Sm+Bt+Lv		1	0,93	
6	Am+Ge+Cz+Cu+Sm+Te+Bt+Lv	7	1	0,93	11,43
	Am+Co+Sm+Te+Bt+Lv		1	0,93	
	Am+Co+Ge+Sm+Te+Bt		1	0,93	
	Am+Cu+Cz+Ge+Bt+Ax		1	0,93	
	Am+Ge+Sm+Cu+Bt+Lv		1	0,93	
7	Am+Cu+Ge+Sm+Bt+Ax+Lv	4	1	0,93	3,81
	Am+Cz+Cu+Te+Ax+Bt+Sm		1	0,93	
	Am+Ge+Co+Te+Sm+Bt+Lv		1	0,93	
	Am+Ge+Cz+Cu+Sm+Te+Bt+Lv		1	0,93	
8	Am+Ge+Cz+Cu+Sm+Ax+Bt+Lv	2	1	0,93	1,90
	Am+Ge+Cz+Cu+Sm+Ax+Bt+Lv		1	0,93	
9	Am+Ge+Cz+Cu+Am+Sm+Te+Ax+Bt+Lv	1	1	0,93	0,95
<b>TỔNG</b>		<b>45</b>	<b>103</b>		

**4 KẾT LUẬN**

Tỷ lệ bệnh phù thũng trên heo con sau cai sữa do vi khuẩn *E. coli* gây ra tại tỉnh Kiên Giang là khá cao 19,47%, không phụ thuộc vào địa điểm, tỷ lệ heo

chết cao (61,11%) và khác biệt giữa các huyện. Heo bệnh phù thũng có các triệu chứng mí mắt sưng phù, đầu, trán sưng phù bệnh tích đặc trưng như ruột, màng treo ruột sưng phù, xuất huyết, xoang ngực, xoang bụng tích nước do *E. coli* gây ra. Các chủng



F4, F18 và F4 ghép F18 là nguyên nhân gây bệnh phù thũng trên heo cai sữa tại tỉnh Kiên Giang và F18 là chủng phổ biến, khả năng gây bệnh của F4 và F18 là không khác nhau.

Vi khuẩn *E.coli* còn nhạy cảm cao 9/12 loại kháng sinh gồm doxycycline (99,07%), amikacin (98,13%), ceftazidime (94,39), cefuroxime (91,59) amoxicillin/clavulanic acid (91,59%), colistin (83,18), nhạy vừa với levofloxacin (74,77%), tetracycline (64,49%) và nhạy trung bình với gentamycin (54,21%). Vi khuẩn đã đề kháng cao với bactrim (95,33%), ampicillin (92,52%), streptomycin (59,81%), gentamycin (45,79%) và đã đề kháng với 2-9 loại kháng sinh với 45 kiểu hình đa kháng rất đa dạng và phức tạp.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Barrow, G.I and Feltham, R.K.A., 2003. Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria, Thrid Edition. Carbridge university press, 353 pages.

Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C and Tuck, M., 1996. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. American Journal of clinical Pathology. 45(4): 493-496.

Bertschinger, H.U., Faibrother, J.M., Nielsen, N.O. and Pohlenz, J.F., 1992. Escherichia coli infection. Diseases of swine, Seventh Edition. Iowa State University press, pp. 487 - 488 .

Boerlin, P., Travis, R., Gyles, C.L., Reid-Smith, R., Lim, N. J. H., Nicholson, V., ... & Archambault, M. (2005) et al., 2005. Antimicrobial resistance and virulence genes of Escherichia coli isolates from swine in Ontario. Applied and Enviromental Microbiology. 71(11): 6753-6761.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing twenty-fourth informational supplement, CLSI document M100-S26. Clinical and laboratory standalds institute, Wayne, Pennsylvania. 34: 226.

Carter, G.R., Chengappa, M.M., and Roberts, A.W., 1995. Enterobacteriaceae. In: Essentials of Veterinary Microbiology, Fifth Edition. Baltimore: Williams & Wilkins, pp. 115–120.

Coddens, A., Verdonck, F., Tiels, P., Rasschaert, K., Goddeeris, B.M. and Cox, E., 2007. The age-dependent expression of the F18+ E. coli receptor on porcine gut epithelial cells is positively correlated with the presence of histo-blood group antigens. Veterinary Microbiology. 122(3-4): 332-341.

Costa, M. M., Derescher, G., Maboni, F., et al., 2010. Virulence factors, antimicrobial resistance genes in faecal Escherichia coli isolates recovered from healthy pets. Veterinary Microbiology. 127: 97-105.

Cornick N., 2009. Role of Role of F4/F18 negative E. coli in post-weaning diarrhea and edema disease. Research report of Iowa State University. Accessed on 9 May 2018 Available from <https://www.pork.org/wp-content/uploads/2010/02/07-015-Cornick-Isu.pdf>.

Fratamico P. M., Bagi L., Bush E. J. and Solow B. T., 2004. Prevalence and Characterization of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in Swine Feces Recovered in the National Animal Health Monitoring System's Swine 2000 Study. Applied and environmental microbiology. 70: 7173–7178.

Frydendahl, K., 2002. Prevalence of serogroups and virulence genes in Escherichia coli associated with postweaning diarrhoea and Edema disease in pigs and comparison of diagnostic approaches. Veterinary microbiology. 85(2): 169-182.

Gyles, C.L and Faibrother, J.M., 2010. Escherichia Coli. In: Gly, C.L, Prescott, J.F, Songer, JG., Thoen, C.O., (Eds.). Pathogenic of bacterial infections in animals. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 664 pages

Helgerson, A.F., Sharma V., Dow, A.M, Schroeder R., Post K., and Cornick, N.A., 2006. Edema Disease Caused by a Clone of Escherichia coli O147. Journal of Clinical Microbiology. 44: . 3074–3077.

Hanchun Y., Sheng C., David G.W., et al., 2004. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant Escherichia coli isolates from diseased chickens and swine in China. Journal of Clinical Microbiology. 42(8): 3483-3489.

Lý Thị Liên Khai, Nguyễn Thị Hạnh Chi và Nguyễn Thanh Lâm, 2015. Khảo sát tỷ lệ nhiễm và xác định Enterotoxigenic Escherichia coli trên heo con tiêu chảy tại tỉnh Vĩnh Long và Đồng Tháp. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 39(2015): 7-17.

Mainil, J.G, Jacquemin, E., Pohl, P., Kaeckenbeeck and A., Benz, I., 2002. DNA sequences coding for the F18 fimbriae and AIDA adhesion are localized on the same plasmid in Escherichia coli isolates from piglets. Veterinary Microbiology. 86: 303-311.

Oanh, T. K. N., Nguyen, V. K., Do, T. N., Goddeeris, B. M., & De Greve, H. (2010). Escherichia coli strains causing edema disease in northern Vietnam share an identical verotoxin 2e. Tropical animal health and production, 42(8), 1797-1804 Nguyễn Thị Thanh Hoa, Nguyễn Văn Sửu và Nguyễn Thị Kim Oanh, 2010. Xác định yếu tố gây bệnh của vi khuẩn E. coli trong bệnh phù thũng heo con ở Phú Thọ. Tạp chí KHKT chăn nuôi, số 11:8-11.

Swords, W. E., Wu, C. C., Champlin, F. R. and Buddington, R. K., 1993. Postnatal changes in selected bacterial groups of the pig colonic microflora. Neonatology, 63(3), 191-200.

- Ủy ban Khoa học Nhà nước, 1990. TCVN5155:1990. Thịt và sản phẩm của thịt. Phương pháp phát hiện và đếm số *Escherichia coli*.
- Bộ Khoa học và Công nghệ, 2015. TCVN 10782:2015 (ISO 13307:2013). Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Giai đoạn sản xuất ban đầu - Kỹ thuật lấy mẫu.
- Bộ Khoa học và Công nghệ, 2011. TCVN 8400-16:2011. Bệnh động vật – quy trình chẩn đoán – phần 16: Bệnh phù ở heo do vi khuẩn *E. coli*.

- ilson, R.A., Francis, D.H., 1986. Fimbriae and enterotoxins associated with *Escherichia coli* serogroups isolated from pigs with colibacillosis. *American Journal of Veterinary*. 47(2): 213- 217.
- Zimmerman, J.Z, Faibrother, Karriker L.A, Alejandro Ramirez and Schwartz, J. K, 2012. *Disease of swine*, Tenth Edition. Iowa State University Press, 1012 pages.