

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA *Escherichia coli* TRÊN VỊT BẦU VÀ VỊT ĐỐM TẠI TRUNG TÂM NGHIÊN CỨU VỊT ĐẠI XUYỀN

Đặng Thị Vui¹, Nguyễn Bá Tiếp^{2*}

¹*Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

²*Học viện cao học, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

Email : nbtiep@vnua.edu.vn*

Ngày gửi bài: 24.05.2016

Ngày chấp nhận: 28.12.2016

TÓM TẮT

Nghiên cứu xác định tỷ lệ nhiễm và đặc điểm sinh học của *Escherichia coli* (*E. coli*) phân lập trên hai giống vịt bản địa (vịt Bầu và vịt Đóm) nuôi bảo tồn tại Trung tâm nghiên cứu vịt Đại Xuyên. Kết quả cho thấy tuổi và giống vịt ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm loài vi khuẩn này. Có sự khác nhau và tỷ lệ phát hiện các serotype kháng nguyên O của các chủng *E. coli* phân lập từ hai giống vịt. Hai serotype thường được phát hiện ở vịt O2 và O78 không được tìm thấy trong nghiên cứu này. Các chủng *E. coli* phân lập kháng lại nhiều kháng sinh thuộc nhóm beta lactam, aminoglycoside, diaminopyrimidine. Đặc biệt 100% chủng kháng lại lincomycin. Hầu hết các chủng *E. coli* phân lập có độc lực trên chuột nhắt trắng. Đây là nghiên cứu đầu tiên về *E. coli* trên hai giống vịt bản địa. Kết quả này có thể là cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo về *E. coli* và các mầm bệnh khác trên đàn giống bản địa nuôi bảo tồn để góp phần tăng tính chủ động trong công tác phòng chống dịch bệnh trên đàn vịt.

Từ khóa: *E. coli*, vịt giống, vịt Bầu, vịt Đóm.

Isolation and Characterization of *Escherichia coli* in of Bau and Dom Ducks at Dai Xuyen Duck Breeding and Research Center

ABSTRACT

The aim of the present study was to isolate and characterize *Escherichia coli* (*E. coli*) from Bau and Dom conservation ducks at Dai Xuyen duck breeding and research center. The results showed that ages and breeds of ducks affected isolation rates. The breed differences in composition of serotypes O were observed. Two common serotypes O2 and O78 were not detected in this study. The bacterial isolates were resistant to β -lactam, aminoglycoside, and diaminopyrimidine antibiotics. Especially, all of the isolates were resistant to lincomycin. Most of the isolates showed toxicity in Swiss albino mice. This is the first study on *E. coli* in Bau and Dom duck breeds. The results can be considered as groundwork for further studies on *E. coli* and other microorganisms infecting conservation breeding flocks.

Keywords: Bau duck breed, breeding ducks, Dom duck breed, *E. coli*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay có nhiều giống vịt nhập ngoại cho năng suất cao đang được nuôi ở Việt Nam. Tuy nhiên, bảo tồn các giống vịt bản địa là biện pháp hiệu quả nhất nhằm lưu giữ nguồn gen quy định các tính trạng phù hợp với điều kiện chăn nuôi của các vùng sinh thái đặc thù và các gen kháng bệnh trên vịt ở nước ta. Đây là mục đích

quan trọng của dự án bảo tồn nguồn gen quốc gia bắt đầu từ 2015 đến 2025 và định hướng đến năm 2030. Vịt Đóm (Pát Lài) có nguồn gốc từ Lạng Sơn và vịt Bầu (Bầu Bẩn) nguồn gốc từ vùng chợ Bến - Hòa Bình đã được đưa vào danh mục các giống được bảo tồn (Nguyễn Đức Trọng, 2009).

Bệnh do *E. coli* là một trong những bệnh quan trọng gây thiệt hại kinh tế cho chăn nuôi

gia cầm trên toàn thế giới. Hơn nữa, *E. coli* độc lực cao là tác nhân gây bệnh cho người (Rodriguez - Siel *et al.*, 2005, Zhao *et al.*, 2009). Xác định các serotype *E. coli* đã được coi là phương pháp phổ biến đánh giá độc lực của các chủng phân lập trong đó các serotype O1, O2, O8, O18 và O78 được phát hiện nhiều hơn các serotype khác (Evers *et al.*, 2007; McPeake *et al.*, 2005). Rất nhiều yếu tố quyết định độc lực của *E. coli* gây bệnh ở các loài gia cầm khác nhau trong đó có yếu tố kháng kháng sinh đã được xác định (Schubert *et al.*, 2004; Belogurov *et al.*, 2009). Đa số các nghiên cứu về vi khuẩn *E. coli* gây bệnh cho các loài thuộc lớp chim được thực hiện trên gà (Germon *et al.*, 2005; McPeake *et al.*, 2005) và chưa có nghiên cứu về *E. coli* gây bệnh trên vịt được công bố. Trong một loài, các giống khác nhau có mức độ miễn cảm với mầm bệnh khác nhau. Đây là tính trạng liên quan đến sự có mặt và biểu hiện của các gen liên quan đến tính cảm nhiễm hay tính kháng đối với mầm bệnh.

Phòng và điều trị hội chứng tiêu chảy cho các đàn vịt giống nuôi tại Trung tâm Nghiên cứu vịt Đại Xuyên (Phú Xuyên, Hà Nội) vẫn gặp nhiều khó khăn. Hiện nay hội chứng tiêu chảy vẫn thường xảy ra trên đàn vịt giống. Nghiên cứu này được thực hiện trong năm 2013 và 2014 để phân lập, xác định độc lực và mức độ kháng một số kháng sinh được dùng phổ biến của *E. coli* trên vịt Bầu và vịt Đốm khỏe. Kết quả nghiên cứu là cơ sở cho chẩn đoán và điều trị bệnh do *E. coli* trong đó có hội chứng tiêu chảy trên hai giống vịt, góp phần nâng cao chất lượng đàn giống và bảo tồn, phát triển nguồn gen vịt nội.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Các loại môi trường nuôi cấy, phân lập vi khuẩn *E. coli* do hãng Oxoid cung cấp gồm thạch máu, thạch MacConkey, thạch Muller Hinton, môi trường nước thịt thường, môi trường BHI.

Hóa chất, nguyên liệu và dụng cụ thí nghiệm khác: thuốc nhuộm, giấy tẩm kháng

sinh, các hóa chất và dụng cụ khác trong phòng thí nghiệm nghiên cứu vi khuẩn. Các kháng huyết thanh O chuẩn (đa giá và đơn giá) do hãng Denka cung cấp.

Ba nhóm vịt Bầu và vịt Đốm khỏe mạnh thuộc các lứa tuổi từ 1 - 8 tuần (vịt con), 12 tuần tuổi (vịt hậu bị) và 30 tuần tuổi (vịt đẻ).

Chuột nhắt trắng giống Swiss (Swiss albino mice) khỏe mạnh, khối lượng cơ thể từ 18 - 20 g/con.

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1. Phân lập và giám định vi khuẩn *E. coli*

Tổng số vịt được lấy mẫu là 90 thuộc 3 nhóm tuổi (vịt con, vịt hậu bị và vịt đẻ), mỗi lứa tuổi lấy 15 mẫu/giống. Mẫu phân lấy từ ổ nhóp bằng que tăm bông được bảo quản lạnh trong thùng bảo ôn và vận chuyển về phòng thí nghiệm. Các phương pháp nuôi cấy, giám định và giữ giống vi khuẩn thường quy được sử dụng trong nghiên cứu.

2.2.2. Xác định serotype O của các chủng *E. coli* phân lập

Áp dụng phương pháp ngưng kết nhanh trên phiến kính (Sojka *et al.*, 1965) với kháng huyết thanh chuẩn và huyền dịch vi khuẩn cần kiểm tra. Phản ứng dương tính khi hình thành ngưng kết tạo những hạt nhỏ trắng lấm tấm. Căn cứ vào thời gian và độ rõ của hạt ngưng kết, phản ứng dương tính được xác định ở 4 mức +, ++, +++ và +++++. Phản ứng âm tính, huyền dịch vi khuẩn và kháng huyết thanh đục đều, không có hạt ngưng kết.

Với những chủng có ngưng kết với kháng huyết thanh đa giá, tiếp tục thực hiện phản ứng ngưng kết với kháng huyết thanh đơn giá để xác định serotype.

2.2.3. Xác định tính miễn cảm kháng sinh

Sử dụng phương pháp Kirby - Bauer và đánh giá miễn cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được theo Viện tiêu chuẩn lâm sàng và phòng thí nghiệm (CLSI; 2007).

2.2.4. Kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn trên chuột nhắt trắng

Vi khuẩn từ môi trường giữ giống được cấy chuyển vào môi trường BHI, bồi dưỡng ở 37°C trong 24 giờ. Tiêm 0,2 ml canh trùng (10^6 vi khuẩn/ml) vào xoang phúc mạc chuột nhắt trắng. Theo dõi trạng thái chuột, thời gian chết sau khi tiêm. Căn cứ vào số lượng chuột chết, thời gian chết trung bình của mỗi lô để đánh giá độc lực vi khuẩn. Mổ khám chuột chết và phân lập vi khuẩn từ máu tim để xác nhận chuột chết do canh trùng *E. coli*.

2.2.5. Phân tích số liệu

Sai khác có ý nghĩa được kiểm định bằng hàm Khi bình phương (χ^2 test)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập *E. coli* trên vịt Bầu và vịt Đốm khỏe

Kết quả (Bảng 1) cho thấy ở cả hai giống vịt, 100% vịt con (0 - 8 tuần tuổi) nhiễm *E. coli*. Ở nhóm vịt hậu bị (12 tuần tuổi), tỷ lệ phân lập *E. coli* thấp hơn ở vịt con (80% ở cả hai giống vịt). Vịt đẻ (30 tuần tuổi) có tỷ lệ phân lập *E. coli* là 80% (vịt Bầu) và 60% (vịt Đốm). Như vậy, tỷ lệ dương tính *E. coli* của mẫu phân ở nhóp có xu hướng giảm theo tuổi. Tính chung cho các lứa tuổi, không có sự khai thác tỷ lệ mẫu dương tính giữa vịt Bầu và vịt Đốm. So sánh hai giống vịt ở từng nhóm tuổi, vịt Bầu đẻ có tỷ lệ dương tính với *E. coli* cao hơn ở vịt Đốm đẻ.

Từ những kết quả trên cho thấy, tỷ lệ mẫu dương tính không những biến động theo tuổi mà

còn phụ thuộc vào giống vịt. Tỷ lệ phân lập trung bình trong nghiên cứu này tương tự như các công bố của Adzitey *et al.* (2012) khi nhóm tác giả phân lập *E. coli* từ 150 mẫu phân, chất chứa ruột, mẫu đất và nước từ vịt khỏe và môi trường nuôi cho tỷ lệ dương tính 78% trong đó mẫu tắm bông từ ổ nhóp có tỷ lệ phân lập cao nhất (87,9%). Tỷ lệ phân lập *E. coli* từ 60 mẫu tắm bông ổ nhóp vịt ở Nepal và 60 mẫu từ vịt Bangladesh tương ứng là 66,7% và 75% (Avishek *et al.*, 2012).

Nguyễn Trọng Phước (1997) cho thấy tại Long An, vịt con nhiễm *E. coli* với tỷ lệ 71,66%, vịt thịt là 83,33% trong khi Lê Văn Đông (2011) công bố tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh ở 3 lứa tuổi vịt con, vịt hậu bị và vịt đẻ tương ứng là 60,14%; 25,2% và 14,67%. Như vậy, nếu so sánh với kết quả phân lập của Nguyễn Trọng Phước (1997), tỷ lệ nhiễm *E. coli* ở vịt trong nghiên cứu này cao hơn. Có thể vùng sinh thái và phương thức chăn nuôi là những yếu tố ảnh hưởng đến tình hình nhiễm *E. coli* của vịt nuôi.

3.2. Xác định serotype O của các chủng *E. coli* phân lập được trên vịt

Xác định độc lực và yếu tố gây bệnh của vi khuẩn *E. coli* rất cần thiết để chủ động trong công tác phòng trị bệnh ở vịt. Bằng phương pháp ngưng kết nhanh trên phiến kính, xác định được serotype của 36 chủng; chưa xác định được serotype của 3 chủng còn lại (Bảng 2).

Các chủng *E. coli* phân lập từ vịt Bầu thuộc 6 serotype O trong đó O55 chiếm tỷ lệ cao nhất (33,3%), tiếp đến là O125 (25%); O167 (16,7%)

Bảng 1. Kết quả phân lập *E. coli* trên vịt Bầu và vịt Đốm

Nhóm	<i>E. coli</i> từ vịt Bầu (n = 15/nhóm tuổi)		<i>E. coli</i> từ vịt Đốm (n = 15/nhóm tuổi)	
	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Vịt con	15	100	15	100
Vịt hậu bị	12	80	12	80
Vịt đẻ	12	80	9	60
Tính chung	39	86,7	36	80

Bảng 2. Serotype O của vi khuẩn *E. coli* trên vịt Bầu (n = 39)

Serotype	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
O44	3	8,3
O55	12	33,3
O125	9	25
O157	3	8,3
O158	3	8,3
O167	6	16,7
Chưa xác định	3	-

Ghi chú: Tỷ lệ (%) được tính trên tổng số chủng đã xác định được serotype (33 chủng)

Bảng 3. Serotype của vi khuẩn *E. coli* trên vịt Đốm (n = 36)

Serotype	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
O1	3	9,1
O26	9	27,3
O44	6	18,2
O168	12	36,4
O127a	3	9,1
Chưa xác định	3	-

Ghi chú: Tỷ lệ (%) được tính trên tổng số chủng đã xác định được serotype (36 chủng)

và 3 serotype O44, O157, O158 cùng chiếm 8,33%. Serotype O2 và O78 không được tìm thấy trong các chủng phân lập.

Tổng số 33 chủng *E. coli* phân lập trên vịt Đốm (Bảng 3) thuộc về 5 kháng nguyên O. Trong đó, O168 chiếm tỷ lệ cao nhất (36,36%), tiếp đến là O26 (27,3%); O44 (18,2%); O1 và O127a cùng chiếm tỷ lệ 9,1%. Chưa xác định được serotype của 3 chủng còn lại với các kháng huyết thanh hiện có trong phòng thí nghiệm.

Có sự khác nhau về các serotype O trên hai giống vịt. Ở vịt Bầu, O55 chiếm tỷ lệ cao, ở vịt Đốm là O168. Riêng O44 hiện diện ở cả hai giống vịt Bầu và vịt Đốm (tỷ lệ 18,18% ở vịt Bầu và 8,33% ở vịt Đốm). Hai giống vịt này được nuôi dưỡng trong cùng điều kiện, cùng thức ăn và quy trình vệ sinh phòng bệnh. Như vậy, giống là một trong các yếu tố quyết định sự hiện diện các serotype O của vi khuẩn *E. coli*.

Đỗ Ngọc Thúy và cs. (2009) cho thấy có 21 serotype O của 58 chủng *E. coli* phân lập từ ngan mắc bệnh từ một số cơ sở chăn nuôi tại Hà Nội và Hà Nam trong đó O8 chiếm tỷ lệ cao nhất

(15,5%), tiếp theo là O167 và O169. Có 11 kháng nguyên O chiếm tỷ lệ 1,7%. Các tác giả thấy có sự xuất hiện của O1 (3,4%); O44 (1,7%); O125 (1,7%); O157 (1,7%); O167 (1,7%). Nghiên cứu này cũng đã phát hiện thấy sự có mặt của các serotype này trên vịt Bầu và vịt Đốm. Như vậy, trong cùng một vùng sinh thái, các serotype O có thể nhiễm trên nhiều loài với tỷ lệ khác nhau.

Nguyễn Thị Liên Hương (2010) xác định serotype O từ ngan khỏe cho thấy: Trong số 12 chủng *E. coli* được kiểm tra, 7 chủng thuộc về 5 serotype O gồm O115 và O169 (16,7%); O8, O29 và O164 (8,3%). Các serotype O trên ngan bệnh gồm O1; O125 và O167. Nghiên cứu trên gà của Võ Thành Thìn và cs. (2008) thấy O8 chiếm tỷ lệ cao nhất (10,42%), tiếp đến là O15 (8,33%), O115 (4,17%), O2 (3,13%), không phát hiện O1 và O78. Các loại serotype O trên gà không được phát hiện trên vịt Bầu và vịt Đốm trong nghiên cứu này.

Theo Khoo *et al.* (2010), trong các chủng *E. coli* gây bệnh ở gia cầm (APEC), các serotype O1, O2, O78 là chiếm đa số. Trong 178 chủng

APEC, O1: K1 chiếm 79%; O2: K1 (9%) và O78: K80 (chiếm 12%). Nghiên cứu này cho thấy O2: K1 và O78: K80 chiếm đa số trong các chủng *E. coli* gây bệnh ở vịt. Wang *et al.* (2010) cho thấy 143 chủng *E. coli* được phân lập từ ổ nhọt của vịt khỏe các chủng O93, O78 và O92 chiếm ưu thế với tỷ lệ tương ứng 13%; 11%; 9,1%. Ở Trung Quốc, đã phát hiện O24, O38, O44, O50, O133, O65, O69, O84, O104, O102, O121, O130, O132 và O139 vào năm 2008 (Giang *et al.*, 2008; Xue *et al.*, 2008).

Theo Catherine *et al.* (2012), trong số 480 chủng *E. coli* phân lập từ gia cầm tại Pháp, Tây Ban Nha và Bỉ có 84 nhóm serotype O. Sáu nhóm chiếm tỷ lệ cao gồm O78 (17,5%), O2 (17,3%), O8 (2%), O18 (9%), O5 (4,5%) và O1 (6%) với 22,5% các chủng gây bệnh thuộc về sáu nhóm huyết thanh này. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy các yếu tố địa lý và loài vật chủ không ảnh hưởng đến sự lưu hành của các nhóm huyết thanh.

Trong các serotype tìm thấy ở gia cầm nói chung và vịt nói riêng, O26; O91 và O78 là mối nguy hiểm đe dọa sức khỏe con người (Seto *et al.*, 2007). Trong nghiên cứu này, Serotype O26 đã được tìm thấy ở vịt Đốm.

Tổng hợp các kết quả nghiên cứu cho thấy hai serotype thường gặp ở vịt là O2 và O78, O1, O44 và O26. Nghiên cứu này phát hiện được O1 (4,3%), O44 (13%) và O26 (13%). Như vậy, một số kháng nguyên O có khả năng gây bệnh cũng đã được phát hiện trên hai giống vịt trong nghiên cứu này.

3.3. Đánh giá tính miễn cảm kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập

Cũng như các đối tượng gia cầm chăn nuôi tập trung khác, điều trị bệnh cho vịt hướng đến đối tượng đàn chứ không thể tách riêng từng cá thể. Lựa chọn thuốc điều trị hiện nay đang được quan tâm do vi khuẩn gây bệnh đã kháng nhiều loại kháng sinh, kể cả một số kháng sinh thế hệ mới (Adzitey *et al.*, 2013; Avishek *et al.* 2012; Lee Ventola, 2015). Nhiều nghiên cứu cho thấy mức độ miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn có sự biến đổi theo các yếu tố không gian và thời gian

cũng như đối tượng vật chủ, khác nhau ở từng cơ sở chăn nuôi (Adzitey *et al.*, 2013; Berglund, 2015). Xác định mức độ kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập tại thực địa được chú trọng và để làm cơ sở cho lựa chọn thuốc điều trị phù hợp. Trong nghiên cứu này, 1/3 số chủng phân lập của mỗi serotype và 3 chủng chưa xác định serotype được chọn ngẫu nhiên để kiểm tra miễn cảm kháng sinh và độc lực trên chuột thí nghiệm (tổng số 25 chủng được kiểm tra). Các kháng sinh đang được dùng rộng rãi trong chăn nuôi được sử dụng trong nghiên cứu này. Kết quả đánh giá tính miễn cảm kháng sinh được trình bày ở bảng 4.

Trong số các kháng sinh nhóm beta lactam được kiểm tra, tỷ lệ số chủng *E. coli* miễn cảm giảm dần (đồng nghĩa với tỷ lệ kháng tăng dần) theo thứ tự amoxicillin > ceftriaxone > cephalothin > ampicillin > penicillin G. Với các kháng sinh nhóm aminoglycoside, tỷ lệ chủng miễn cảm giảm dần theo thứ tự gentamycin > amikacin > spectinomycin > streptomycin > neomycin. Có 21 trong 25 (84%) số chủng miễn cảm với colistin (nhóm polypeptide) và ofloxacin (thuộc nhóm fluoroquinolone), trong khi tỷ lệ số chủng kháng tetracycline (nhóm tetracycline) và erythromycin (nhóm macrolide) lần lượt là 48% và 72%. Đặc biệt, đã có 72% số chủng kháng erythromycin và 16% số chủng kháng ofloxacin (một kháng sinh thế hệ thứ 2). Đây là những bằng chứng về nguy cơ kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh.

Nguyễn Thị Liên Hương và cs. (2009) đã kiểm tra tính miễn cảm của 58 chủng *E. coli* phân lập từ ngan bệnh với 13 loại kháng sinh cho thấy tỷ lệ miễn cảm là rất thấp đối với kháng sinh thuộc nhóm cephalosporin. Các chủng *E. coli* đã kháng hoàn toàn tetracyclin và ceftiofour (100%), tiếp đến là streptomycin và apramycin (96,6%), sulfamethaxazol/trimethoprim (82,8%). Ngoại trừ ceftriaxone với tỷ lệ số chủng kháng là 16%, mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* rất cao, từ 56,9 - 100%.

Theo Avishek *et al.* (2012), các chủng *E. coli* phân lập từ vịt ở Nepal và Bangladesh rất miễn cảm với cloramphenicol, amoxycillin và

Bảng 4. Kết quả kiểm tra tính mẫn cảm với một số loại kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được

Nhóm	Kháng sinh	Số chủng kiểm tra	Mẫn cảm		Kháng	
			Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Beta lactam	Amoxicillin	25	25	100	0	0
	Ceftriaxone	25	21	84	4	16
	Cephalothin	25	15	60	10	40
	Ampicillin	25	4	16	21	84
	Penicillin G	25	2	8	23	92
	Gentamycin	25	21	84	4	16
Aminoglycoside	Amikacin	25	19	76	6	24
	Spectinomycin	25	13	52	12	48
	Streptomycin	25	5	20	20	80
	Neomycin	25	2	8	23	92
Polypeptide	Colistin	25	21	84	4	16
Fluoroquinolone	Ofloxacin	25	21	84	4	16
Tetracycline	Tetracycline	25	13	52	12	48
Macrolide	Erythromycin	25	7	28	18	72
Diaminopyrimidine	Trimethoprim + Sulfamethoxazole	25	2	8	23	92
Lincosamides	Lincomycin	25	0	0	25	100

Ghi chú: “Mẫn cảm” được tính từ mẫn cảm trung bình đến mẫn cảm cao

cephalexin (100%). Riêng các chủng *E. coli* có nguồn gốc từ Nepal mẫn cảm với kháng sinh cotrimoxazole (100%). Tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* trung bình là 50% kháng sinh kiểm tra. Adzitey *et al.* (2013) đã đánh giá tính mẫn cảm kháng sinh của 55 chủng *E. coli* phân lập từ vịt ở Penang (Malaysia) cho thấy 100% số chủng kháng vancomycin; 92,7% các chủng kháng tetracyclin, tiếp đến là ampicillin (72,7%); streptomycin và sulfamethoxazole - trimethoprim (67,3%). Vi khuẩn *E. coli* mẫn cảm nhất với nitrofurantoin (61,8%), tiếp đến là ofloxacin (84%) và gentamycin (52,7%).

Kết quả nghiên cứu từ các nghiên cứu khác cũng cho thấy tỷ lệ kháng thuốc của *E. coli* phân lập từ vịt cao (Adzitey *et al.*, 2013; Avishek *et al.*, 2012; Lê Văn Đông, 2011), số lượng kháng sinh bị kháng ngày càng tăng. Tuy nhiên, mức độ kháng thuốc của vi khuẩn này khác nhau ở các quốc gia có thể nguy cơ kháng kháng sinh phản ánh thực tế tình hình sử dụng kháng sinh ở mỗi nước. Tổ chức y tế thế giới cho rằng tình

trạng kháng thuốc của vi sinh vật phụ thuộc vào nhiều yếu tố trong đó có các hoạt động quản lý sản xuất, kinh doanh và sử dụng thuốc.

Khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* có chiều hướng tăng nhanh theo thời gian sử dụng thuốc đã được nhiều tác giả đề cập (Houndt and Ochman, 2000; Berglund, 2015). Nghiên cứu ở mức phân tử cho thấy gen sản sinh yếu tố kháng thuốc nằm trong Plasmid R. Plasmid này có thể di truyền dọc và truyền ngang trong đó phương thức truyền ngang quan trọng nhất. Cần phải có một chiến lược cụ thể giám sát chặt chẽ việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi, đặc biệt với các đàn giống gốc như vịt Bầu và vịt Đốm để góp phần ngăn chặn hiện tượng kháng thuốc của vi khuẩn gây bệnh.

3.4. Kết quả kiểm tra độc lực của các chủng *E. coli* phân lập được trên chuột

Tiêm 2 ml canh trùng của 25 chủng vi khuẩn phân lập (trong nước thịt pepton, ở 37°C trong 24 giờ với mật độ vi khuẩn đạt 10^6 vi

khuẩn/ml) vào xoang phúc mạc của chuột nhắt trắng. Trong số 25 chủng được kiểm tra độc lực, 3 chủng thuộc serotype O44; 3 chủng thuộc serotype O26; 1 chủng thuộc serotype O1; 4 chủng thuộc serotype O168; 1 chủng thuộc serotype O127a; 3 chủng thuộc serotype O125; 1 chủng thuộc serotype O158; 1 chủng thuộc serotype O157; 2 chủng thuộc serotype O167; 4 chủng thuộc serotype O55 và 2 chủng không xác định được serotype. Theo dõi số lượng chuột chết ở các thời điểm, sau tiêm mổ khám bệnh tích, lấy máu tim và phân lập ngược để xác định sự có mặt của vi khuẩn *E. coli*. Khả năng gây chết chuột của các chủng *E. coli* phân lập từ vịt Bầu và vịt Đốm được trình bày ở bảng 5 và bảng 6.

Các chủng *E. coli* thuộc serotype O125, O157 gây chết 100% chuột. Riêng O158 không gây chết chuột thí nghiệm. Như vậy có 5 trong 6 serotype O (gồm O125; O44; O167; O157 và O55) phát hiện trên vịt Bầu có khả năng gây chết chuột, tỷ lệ chuột chết chiếm 62,5%. Các chuột chết đều cho kết quả dương tính với vi khuẩn *E. coli*. Những chuột không chết cho kết

quả âm tính với *E. coli*. Như vậy, 5 serotype nêu trên có khả năng gây bệnh tiêu chảy ở vịt Bầu.

Theo kết quả từ bảng 6, serotype O127a gây chết 100% chuột. Các serotype O1; O26; O44 và O127a phân lập từ vịt Đốm đều có khả năng gây chết chuột trước 36 giờ sau khi tiêm; tỷ lệ chết biến động từ 12,5 - 100%. Riêng O168 gây chết chuột ở 48 giờ sau khi tiêm. Trung bình tỷ lệ chuột chết/chuột thí nghiệm là 38,5%. Tỷ lệ này thấp hơn tỷ lệ trên vịt Bầu. Như vậy, các serotype đều có khả năng gây bệnh cho động vật thí nghiệm.

Nguyễn Thị Liên Hương và cs. (2010) đã kiểm tra độc lực của các chủng *E. coli* phân lập từ gan bệnh (có các yếu tố độc lực O1; O8; O15; O115 và O143 trên phôi gan, vịt và gà ở 11 ngày tuổi cho thấy tất cả các chủng gây chết phôi rất sớm (12 - 24 giờ sau khi tiêm, muộn nhất ở 5 ngày). Số lượng phôi chết chủ yếu ở ngày thứ 2 đến ngày thứ 4 sau khi tiêm. Các chủng *E. coli* có các yếu tố độc lực O1; O8; O15; O115 và O143 đều gây chết phôi gan, vịt và gà. Ban đầu có thể đánh giá các yếu tố độc lực trên

Bảng 5. Độc lực của các chủng *E. coli* phân lập từ vịt Bầu trên chuột nhắt

Serotype	Số chủng kiểm tra	Số chuột thí nghiệm	Số chuột chết	Tỷ lệ chết (%)	Thời gian chết sau tiêm (giờ)	Phân lập vi khuẩn
O44	1	4	2	50	24 - 36	+
O55	4	16	10	62,5	12 - 48	+
O125	3	12	12	100	12 - 48	+
O157	1	4	4	100	24 - 36	+
O158	1	4	0	0	-	-
O167	1	4	2	50	36	+
Không xác định	1	4	0	0	-	-

Bảng 6. Độc lực của các chủng *E. coli* phân lập từ vịt Đốm trên chuột nhắt trắng

Serotype	Số chủng kiểm tra	Số chuột thí nghiệm	Số chuột chết	Tỷ lệ chết (%)	Thời gian chết sau tiêm (giờ)	Phân lập vi khuẩn
O1	1	4	2	50	24 - 36	+
O26	3	12	8	66,7	24 - 36	+
O44	2	8	4	50	24 - 36	+
O168	4	16	2	12,5	48	+
O127a	1	4	4	100	24 - 36	+
Không xác định	2	8	0	0	-	-

có khả năng gây bệnh cho động vật thí nghiệm. Trần Thị Hương Giang và Huỳnh Thị Mỹ Lê (2012) cho thấy 100% các chủng *E. coli* phân lập từ thịt lợn, bò và thịt gà đều gây chết chuột trước 36 giờ sau khi tiêm. Cần lưu ý rằng các serotype O26; O55; O157 đều có khả năng gây nguy hiểm cho người, đặc biệt O55 gây tiêu chảy cho trẻ em dưới 2 tuổi, O157 gây viêm ruột, ngoài ra O157: H7 gây biến chứng làm hư thận như hội chứng xuất huyết, ure huyết (Lim *et al.*, 2010).

Các kết quả nghiên cứu cho thấy O26, O55, O157, O127a và O125 đều mang các yếu tố độc lực có khả năng gây bệnh. Hạn chế của nghiên cứu này là chưa tìm được mối liên quan giữa các serotype và các yếu tố độc lực như kháng nguyên bám dính, khả năng thu nhận sắt, độc tố chịu nhiệt... Song có thể bước đầu khẳng định đây là các serotype có chứa các yếu tố độc lực, có khả năng gây bệnh.

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ phân lập *E. coli* từ mẫu ở nhóp vịt Bầu và vịt Đốm khỏe cao nhất ở vịt con (100%), giảm ở giai đoạn hậu bị và thấp nhất ở vịt đẻ. Ở nhóm vịt đẻ, tỷ lệ mẫu dương tính với *E. coli* ở vịt Bầu cao hơn ở vịt Đốm (tỷ lệ tương ứng là 80% và 60%).

Thành phần và tỷ lệ các serotype kháng nguyên O của các chủng *E. coli* phân lập từ hai giống vịt có sự khác nhau. Ở giống vịt Bầu, serotype O55 chiếm tỷ lệ cao nhất, tiếp đó là O125, O167, O44, O157 và O158. Ở giống vịt Đốm, serotype chiếm tỷ lệ cao nhất là O168, tiếp đó lần lượt là O26, O44 và O1, O127a. Hai serotype thường thấy trên vịt O2 và O78 không được tìm thấy trong nghiên cứu này.

Các chủng *E. coli* phân lập được từ hai giống vịt mẫn cảm có tính kháng cao với nhiều nhóm kháng sinh trong đó kháng cao nhất với lincomycin. Kháng sinh có tác dụng tốt nhất với các chủng phân lập là amoxicillin và gentamycin

Hầu hết các chủng *E. coli* phân lập đều có độc lực với chuột nhắt trắng. Các chủng serotype O125 và O157 phân lập từ vịt Bầu,

serotype O127a từ vịt Đốm gây chết 100% chuột thí nghiệm. Trong số các chủng đã xác định serotype O, O158 từ vịt Bầu không gây chết động vật thí nghiệm.

Đây là nghiên cứu đầu tiên về *E. coli* trên hai giống vịt bản địa. Kết quả này là cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo về *E. coli* và những vi sinh vật gây bệnh cho đàn giống gốc, góp phần bảo tồn các giống bản địa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adzitey, F., Ali, G.R.R., Huda, N. and Ting, S.L. (2013). Antibiotic resistance and plasmid profile of *Escherichia coli* isolated from ducks in Penang, Malaysia. *International Food Research Journal*, 20(3): 1473 - 1478.
- Avishek, S., Shahidu Rahman Khan, Md., Sukumar, S., Jayedul, H. and Urmi R. (2012). Isolation and Detection of Antibiotic Sensitivity Pattern of *Escherichia coli* from Ducks in Bangladesh and Nepal, *Microbes and Health*, 1(1): 6 - 8.
- Belogurov, G.A., Mooney, R.A., Svetlov, V., Landick, R. and Artsimo - vitch I. (2009). Functional specialization of transcription elongation factors. *EMBO Journal*, 28: 112 - 122.
- Berglund B. (2015). Environmental dissemination of antibiotic resistance genes and correlation to anthropogenic contamination with antibiotics. *Infect Ecol Epidemiol.*, 5: 10.3402/iee.v5.28564
- Catherine S., Brigitte S., Annie B., Azucena M., Ghizlane D., Francois B., Jacques M., Eric O., Jorge B. and Maryvonne M.S. (2012). Diagnostic strategy for identifying avian pathogenic *Escherichia coli* Based on four patterns of virulence genes, *Journal of Clinical Microbiology*, 50(5): 1673 - 1678.
- CLSI (2007) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Seventeenth informational supplement M100 - S17 Vol. 27 No. 1. Replaces M100 - S16 Vol. 26 No. 3. Truy cập tại địa chỉ <http://www.microbiolab-bg.com/CLSL.pdf>.
- Đỗ Ngọc Thúy, Nguyễn Thị Liên Hương, Lê Minh Hằng, Trần Việt Dũng Kiên (2009). Một số đặc tính của chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ ngan mắc bệnh colibacillosis. *Tạp chí khoa học Kỹ thuật thú y*, 16(4): 32 - 38.
- Ewers C., Li G., Wilking H., Kiessling S., Alt K., Anta'o E.M. Laturusa C., Diehla I., Gloddea S., Homeiera T., Böhnke U., Steinrückb H., Philipp H.C., Wielera L. H. (2007). Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis - causing

- Escherichia coli*: how closely related are they? International Journal of Medical Microbiology, 297: 163 - 176.
- Germon P., Chen Y.H., He L., Blanco J.E., Bree A., Schouler C., Huang SH, Moulin-Schouleur M. (2005). *ibeA*, a virulence factor of avian *Escherichia coli*. Microbiology, 151: 1179 - 1186.
- Giang J.Q., Zou, M. and Zhao H.Z. (2008). Serotype identification and emulsion inactive polyvaccine of avian *Escherichia coli*, Chinese journal of Animal Health inspection, 25: 46 - 47.
- Houndt T. and Ochman H. (2000). Long - Term Shifts in Patterns of Antibiotic Resistance in Enteric Bacteria. Appl Environ Microbiol., 66(12): 5406 - 5409.
- Khoo L.L., Hasnah Y., Rosnah Y., Saiful N., Maswati M.A. and Ramlan M. (2010). The Prevalence of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) in peninsular Malaysia, Malaysian journal of verterinary research, 1(1): 27 - 31.
- Lê Văn Đông (2011). Tình hình nhiễm và sự nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh trên đàn vịt chạy đồng tại tỉnh Trà Vinh, Khoa học công nghệ, 1: 33 - 41.
- Lim J. Y., Yoon J.W., Hovde C.J. (2010). A Brief Overview of *Escherichia coli* O157: H7 and Its Plasmid O157. J. Microbiol Biotechnol., 20(1): 5 - 14.
- McPeake S.J., Smyth J.A. and Ball H.J. (2005). Characterisation of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) associated with colisepti - caemia compared to faecal isolates from healthy birds. Veterinary Microbiology, 110: 245 - 253.
- Nguyễn Thị Liên Hương, Cù Huy Phú, Đỗ Ngọc Thúy, Lê Thị Minh Hằng, Trần Việt Dũng Kiên (2009). Tỷ lệ phân lập và khả năng miễn cảm kháng sinh của chủng *E. coli* phân lập từ gan mắc trực khuẩn *E. coli*, Tạp chí khoa học Kỹ thuật thú y, 16(6): 20 - 24.
- Nguyễn Thị Liên Hương, Đỗ Ngọc Thúy và Lê Thị Minh Hằng (2010). Kết quả gây nhiễm thử nghiệm một số chủng vi khuẩn *E. coli* gây bệnh cho gan trên phôi trứng. Tạp chí khoa học Kỹ thuật thú y, 17(2): 58 - 59.
- Nguyễn Đức Trọng (2009). Báo cáo kết quả bảo tồn quỹ gen các giống vịt Bầu và Vịt Đốm. Hội thảo Bảo tồn nguồn gen vật nuôi tại Việt Nam 2009.
- Nguyễn Trọng Phước (1997). Bước đầu khảo sát tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên vịt ở tỉnh Long An, quận Gò Vấp - Thành phố Hồ Chí Minh, Báo cáo tốt nghiệp Bác sỹ thú y - Trường Đại học Nông - Lâm thành phố Hồ Chí Minh, 54 tr.
- Rodriguez - Siek K.E., Giddings C.W., Doetkott C., Johnson T.J., Fakhr M.K. and Nolan L.K. (2005a). Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. Microbiology, 151: 2097 - 2110.
- Schubert S., Rakin A. and Heesemann J. (2004). The *Yersinia high* - pathogenicity island (HPI): evolutionary and functional aspects. International Journal of Medical Microbiology, 294: 83 - 94.
- Steo K., Taguchi M., Kobayashi K. and Kozaki S. (2007). Biochemical and molecular characterization of monor serogroups of Shiga toxin - producing *Escherichia coli* isolated from humans Osaka prefecture, Journal of veterinary Medical Science, 69: 1215 - 1222.
- Trần Thị Hương Giang và Huỳnh Thị Mỹ Lệ (2012). Xác định tỷ lệ nhiễm và độc lực của vi khuẩn *E. coli* phân lập được từ thịt (lợn, bò, gà) ở một số huyện ngoại thành Hà Nội, Tạp chí Khoa học và Phát triển, 10(2): 295 - 300.
- Võ Thành Thìn, Ellen Ons, Bruno Goddeeris. (2008). Một số yếu tố độc lực của các chủng vi khuẩn *E. coli* gây bệnh tại gà nuôi ở Khánh Hòa và Phú Yên. Tạp chí khoa học Kỹ thuật thú y, 15(6): 38 - 48.
- Xue J.L., Zhang L.J., Wang C.X., Jan L.E., Tian L.J. and Li H.L. (2008). Isolation and analysis of biological characteristics of pathogenic *Escherichia coli* of chicken in Shanxi Province, Chinese Journal of Veterinary Medicine, 44: 45 - 47.
- Ying W., Cheng T., Xuehui Y., Mengyun X. and Hua Y. (2010). Distribution of serotypes and virulence - associated genes in pathogenic *Escherichia coli* isolated from ducks, Avian Pathology, 39(4): 297 - 302.
- Zhao L., Gao S., Huan H., Xu X., Zhu X., Yang W., Gao Q, Liu X. (2009). Comparison of virulence factors and expression of specific genes between uropathogenic *Escherichia coli* and avian pathogenic *E. coli* in a murine urinary tract infection model and a chicken challenge model. Microbiology, 155: 1634 - 1644.