

ỦY BAN NHÂN DÂN TỈNH BẾN TRE
SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ

Báo cáo tóm tắt tổng kết nhiệm vụ KH&CN:

**NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY BỆNH VÀ XÂY
DỰNG BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ HIỆU QUẢ BỆNH TIÊU
CHẢY TRÊN ĐÀN BÒ NUÔI TẠI TỈNH BẾN TRE**

Chủ nhiệm đề tài/dự án
PGS. TS. Trần Ngọc Bích

Cần Thơ, 08/2022

ỦY BAN NHÂN DÂN TỈNH BẾN TRE
SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ

Báo cáo tóm tắt nhiệm vụ KH&CN:

**NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY BỆNH VÀ XÂY
DỰNG BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ HIỆU QUẢ BỆNH TIÊU
CHẢY TRÊN ĐÀN BÒ NUÔI TẠI TỈNH BẾN TRE**

Chủ nhiệm đề tài/dự án

PGS. TS. Trần Ngọc Bích

CƠ QUAN QUẢN LÝ

CƠ QUAN CHỦ TRÌ

Cần Thơ, 08/2022

THÔNG TIN CHUNG VỀ ĐỀ TÀI

I. THÔNG TIN CHUNG

1. Tên đề tài: *Nghiên cứu xác định tác nhân gây bệnh và xây dựng biện pháp phòng trừ hiệu quả bệnh tiêu chảy trên đàn bò nuôi tại tỉnh Bến Tre*

2. Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS. Trần Ngọc Bích

3. Đơn vị chủ trì: Trường Đại học Cần Thơ

4. Đơn vị phối hợp:

(1) Chi cục Chăn nuôi & Thú y Bến Tre

(2) Trung tâm Nông nghiệp Ứng dụng Công nghệ cao tỉnh Bến Tre

(3) Công Ty TNHH Huỳnh Thanh

5. Thời gian thực hiện: 24 tháng (từ 07/2020 đến 08/2022)

6. Kinh phí được duyệt: 812.144.860 đồng, trong đó:

- Từ Ngân sách nhà nước : 767.164.860 đồng

- Từ nguồn ngoài ngân sách nhà nước : 44.980.000 đồng

7. Danh sách cá nhân tham gia thực hiện đề tài

TT	Họ và tên	Chức danh thực hiện đề tài	Cơ quan công tác
1	PGS.TS Trần Ngọc Bích	Chủ nhiệm	Trường Đại học Cần Thơ
2	TS. Nguyễn Thanh Lâm	Thành viên chính	Trường Đại học Cần Thơ
3	TS. Nguyễn Khánh Thuận	Thành viên chính	Trường Đại học Cần Thơ
4	TS. Nguyễn Phúc Khánh	Thành viên chính	Trường Đại học Cần Thơ
5	KS. Lê Quang Trung	Thành viên chính	Trường Đại học Cần Thơ
6	ThS. Danh Út	Thành viên chính	Trường Đại học Trà Vinh
7	KS. Nguyễn Quốc Thái	Thành viên	Học viên cao học Thú y khóa 26 (Trường Đại học Cần Thơ)
8	KS. Nguyễn Minh Dũng	Thành viên	Chi cục Chăn nuôi Bến Tre
9	ThS. Ngô Hoàng Khanh	Thành viên	Trung tâm Nông nghiệp Ứng dụng Công nghệ cao Bến Tre
10	ThS. Đặng Thị Thắm	Thư ký	Trường Đại học Cần Thơ

II. MỤC TIÊU ĐỀ TÀI

2.1 Mục tiêu chung

Xác định và đánh giá các tác nhân gây bệnh tiêu chảy trên đàn bò từ đó xây dựng các biện pháp phòng và trị bệnh tiêu chảy hiệu quả trên đàn bò nuôi, nâng cao giá trị về năng suất và chất lượng cho sản phẩm từ con bò tại tỉnh Bến Tre.

2.2 Mục tiêu cụ thể:

Điều tra tình hình chăn nuôi bò và tình hình bệnh tiêu chảy trên bò;

Nghiên cứu các tác nhân gây bệnh tiêu chảy trên bò từ virus, vi khuẩn và ký sinh trùng;

Xây dựng quy trình điều trị và phòng bệnh cho các tác nhân virus, vi khuẩn và ký sinh trùng gây bệnh tiêu chảy trên bò;

Chuyển giao quy trình cho cán bộ kỹ thuật và cơ sở chăn nuôi bò trên địa bàn tỉnh Bến Tre.

III. SẢN PHẨM ĐỀ TÀI

TT	Tên sản phẩm	Số lượng theo thuyết minh	Số lượng thực tế	% Đạt
I	Sản phẩm dạng II			
1	Báo cáo tổng kết và báo cáo tóm tắt đề tài	01	01	100 (đạt)
2	Báo cáo chuyên đề:	04	04	100 (đạt)
	<i>Báo cáo chuyên đề 1:</i> Báo cáo tình hình chăn nuôi và tình hình bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre <i>Báo cáo chuyên đề 2:</i> Đặc điểm lưu hành của các tác nhân chủ yếu virus, vi khuẩn và ký sinh trùng gây bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre <i>Báo cáo chuyên đề 3:</i> Quy trình phòng và trị bệnh tiêu chảy hiệu quả trên bò tỉnh Bến Tre <i>Báo cáo chuyên đề 4:</i> Báo cáo tổng kết: Nghiên cứu xác định tác nhân gây bệnh và xây dựng biện pháp phòng trừ hiệu quả bệnh tiêu chảy trên đàn bò nuôi tỉnh Bến Tre.			
3	Đề xuất các giải pháp kỹ thuật chăn nuôi và quản lý Nhà nước trong việc phòng, chống bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre.	01	01	100 (đạt)
II	Sản phẩm dạng III			
1	Bài báo khoa học	02	04	100 (vượt)
2	Đào tạo sau đại học	01	03	100 (vượt)
3	Đào tạo đại học	02	05	100 (vượt)
4	Hội thảo khoa học	01	01	100 (đạt)
5	Tổ chức lớp tập huấn	02	02	100 (đạt)
III	Sản phẩm khác			
1	Đăng ký genbank		05	
2	Sách tham khảo kỹ thuật phòng trị bệnh trên bò		01	

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định tác nhân gây bệnh và xây dựng biện pháp phòng trừ hiệu quả bệnh tiêu chảy trên đàn bò nuôi tại tỉnh Bến Tre. Thời gian nghiên cứu được tiến hành từ 07/2020 đến 08/2022.

Nội dung nghiên cứu thứ nhất được thực hiện qua việc điều tra cắt ngang và phỏng vấn trực tiếp 150 hộ nuôi bò và 25 cán bộ thú y địa phương về tình hình dịch chăn nuôi, dịch bệnh và phòng, chống dịch bệnh trên bò nói chung và bệnh tiêu chảy trên bò nói riêng tại tỉnh Bến Tre. Kết quả cho thấy, tổng đàn và quy mô đàn bò của tỉnh Bến Tre tăng đều qua các năm từ 2018-2020, tăng trung bình 2,0%/năm. Đa số hộ nuôi tại tỉnh Bến Tre có quy mô nuôi <10 con/hộ, chiếm 84,0%. Bò thịt được nuôi có nguồn gốc chủ yếu tại địa phương, tận dụng các nguồn thức ăn có sẵn (cỏ, rơm) kết hợp với thức ăn hỗn hợp và nguồn nước chủ yếu để nuôi bò được lấy từ giếng khoan. Tỷ lệ tiêm phòng trên bò tại tỉnh Bến Tre khá cao (92,0%), tiêm phòng chủ yếu đối với các bệnh Tụ huyết trùng, Lở mồm long móng và Viêm da nổi cục. Bệnh tiêu chảy xảy ra trên bò có tỷ lệ mắc bệnh là 1,14-2,73% và tỷ lệ chết là 0,24-1,41% trên đàn bò toàn tỉnh Bến Tre. Bò mắc bệnh thường có biểu hiện lâm sàng như tiêu chảy phân lỏng hoặc sệt, bỏ ăn hoặc ăn ít, xù lông, mệt mỏi.

Nội dung nghiên cứu thứ hai là xác định sự hiện diện các tác nhân virus, vi khuẩn và ký sinh trùng quan trọng gây bệnh tiêu chảy bò tại tỉnh Bến Tre. Qua khảo sát trên tổng số 249 mẫu phân bò được thu thập tại năm huyện tỉnh Bến Tre, nghiên cứu phát hiện có 238/249 mẫu nhiễm *E. coli* (95,58%) và 65/249 mẫu nhiễm cầu trùng (26,10%); không phát hiện vi khuẩn *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, ký sinh trùng như giun đũa, *Cryptosporidium parvum* và virus BCoV, BRoV, BVDV tại Bến Tre. Kết quả định danh vi khuẩn *E. coli* bằng phương pháp PCR đã ghi nhận được 50/238 (21,01%) thuộc chủng O121, O45 (nhóm Enterohemorrhagic *E. coli*-EHEC) và 85/238 (35,71%) thuộc chủng O8, O9 (nhóm Enterotoxigenic *E. coli*-ETEC). Các chủng *E. coli* thuộc nhóm EHEC và ETEC phân lập được đề kháng với Tetracycline và Ampicillin với 26 kiểu hình đa kháng (từ 2 đến 12 loại kháng sinh). Bên cạnh đó, các chủng này nhạy cảm với các loại kháng sinh Gentamicin, Amikacin, Cefuroxime và Ofloxacin. Thông qua phương pháp PCR, nghiên cứu đã xác định tỷ lệ hiện diện của 6 gene đề kháng kháng sinh (*tetA*, *sulIII*, *strA*, *qnrA*, *blaTEM*, *cat1*) trên chủng *E. coli* phân lập được. Tỷ lệ gene hiện diện cao nhất trên các chủng ETEC là gene *tetA* (31,8%) và EHEC là gene *sulIII* (40,0%).

Nội dung nghiên cứu thứ ba tiến hành bố trí thí nghiệm đánh giá hiệu quả phòng và điều trị bệnh do vi khuẩn gây tiêu chảy trên bò. Thí nghiệm được bố trí thành nghiệm thức NT1: không tác động kháng sinh chỉ dùng probiotic trong phòng và điều trị bệnh do vi khuẩn gây tiêu chảy trên bò, NT2: dùng kháng sinh Gentamicin kết hợp với dùng probiotic trong phòng và điều trị bệnh do vi khuẩn gây tiêu chảy trên bò. Kết quả cho thấy NT2 cho hiệu quả tốt trong điều trị và phòng giúp kéo giảm tỷ lệ hiện diện và nhiễm vi khuẩn *E. coli* có khả năng gây tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre.

MỤC LỤC

LỜI NÓI ĐẦU	1
Chương 1: NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	2
1.1 Nội dung nghiên cứu	2
1.2 Phương pháp nghiên cứu	2
1.2.1 Nội dung 1: Điều tra tình hình chăn nuôi bò và tình hình bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre	2
1.2.2 Nội dung 2: Nghiên cứu các tác nhân gây bệnh tiêu chảy từ virus, vi khuẩn và ký sinh trùng	2
1.2.3 Nội dung 3: Xây dựng quy trình điều trị và phòng bệnh cho các tác nhân gây bệnh từ virus, vi khuẩn và ký sinh trùng	6
1.3 Xử lý số liệu	7
Chương 2: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	8
2.1 Tình hình chăn nuôi bò và tình hình bệnh tiêu chảy trên bò	8
2.1.1 Tổng đàn bò qua các năm tại tỉnh Bến Tre.....	8
2.1.2 Tình hình bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre.....	10
2.1.3 Một số triệu chứng lâm sàng trên bò mắc bệnh tiêu chảy	10
2.1.4 Kết quả khảo sát một số yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre	11
2.2 Các tác nhân gây bệnh tiêu chảy từ virus, vi khuẩn và ký sinh trùng	12
2.2.1 Kết quả khảo sát phát hiện tác nhân gây tiêu chảy.....	12
2.2.2 Thay đổi đặc điểm sinh lý máu của bò tiêu chảy	13
2.2.3 Đặc điểm lưu hành của các tác nhân gây bệnh tiêu chảy tại Bến Tre	14
2.2.4 Kết quả định danh vi khuẩn <i>E. coli</i>	16
2.2.5 Kết quả kiểm tra mối quan hệ phả hệ của <i>E. coli</i> trên bò.....	20
2.2.6 Tỷ lệ hiện diện của cầu trùng (<i>Eimeria</i> spp.) trên bò tỉnh Bến Tre.....	21
2.3 Hiệu quả phòng và trị bệnh do vi khuẩn gây ra trên đàn bò tại huyện Ba Tri tỉnh Bến Tre.....	21
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	23
1. Kết luận.....	23
2. Đề nghị	23
TÀI LIỆU THAM KHẢO	24

LỜI NÓI ĐẦU

Bến Tre là một trong những tỉnh có ngành chăn nuôi phát triển mạnh ở Đồng bằng sông Cửu Long. Ngành chăn nuôi nói chung và chăn nuôi bò nói riêng ở Bến Tre đang chuyển dịch nhanh từ hệ thống chăn nuôi nhỏ lẻ sang nông hộ chăn nuôi theo hướng trang trại tập trung với quy mô vừa và lớn, đáp ứng mục tiêu nâng cao giá trị gia tăng và phát triển bền vững, từng bước nâng cao thu nhập và cải thiện đời sống cư dân nông thôn, góp phần thực hiện đề án tái cơ cấu ngành nông nghiệp trong tỉnh. Trong đề án tái cơ cấu ngành nông nghiệp của tỉnh thì việc tìm giải pháp phát triển ngành chăn nuôi trong đó đối tượng quan trọng là chăn nuôi bò là một trong những định hướng của ngành đang hướng tới. Mục tiêu phát triển đàn bò của Bến Tre đến năm 2020 khoảng 250 ngàn con. Ưu tiên phát triển tổng đàn ở các vùng nuôi trọng điểm như: Ba Tri là 111 ngàn con, Thạnh Phú 35 ngàn con, Giồng Trôm 20 ngàn con... Xuất phát từ việc gia tăng số lượng đàn bò, yêu cầu đặt ra hiện nay là xây dựng các giải pháp đồng hơn hộ từ công tác quy hoạch, tổ chức sản xuất, chính sách hỗ trợ, trong đó giải pháp mang tính khoa học công nghệ là cực kỳ quan trọng, phù hợp với mục tiêu phát triển của tỉnh. Thực tế cho thấy, thời gian qua đàn bò Bến Tre phát triển khá ấn tượng, nhưng làm sao để có giải pháp nâng cao chất lượng đàn bò từ giải pháp khoa học công nghệ chưa được đặc biệt quan tâm. Đặc biệt, đối với các vấn đề liên quan đến nâng cao hiệu quả chăn nuôi, phòng ngừa dịch bệnh. Trong những năm qua, tình hình dịch bệnh xảy ra trên đàn bò tại tỉnh Bến Tre vẫn diễn biến phức tạp, gây ảnh hưởng đến sức khỏe vật nuôi và thiệt hại kinh tế cho ngành chăn nuôi bò của tỉnh (Võ Minh Thái, 2008).

Bên cạnh những dịch bệnh quan trọng trên đàn bò hiện nay là lở mồm long móng, tụ huyết trùng thì cần phải kể đến những bệnh tiêu chảy trên bò. Tiêu chảy trên bò là hội chứng chung do nhiều nguyên nhân gây ra, trong đó chủ yếu là các tác nhân virus, vi khuẩn và ký sinh trùng gây ra. Bệnh có biểu hiện lâm sàng đa dạng như: xù lông, gầy còm, mất nước, giảm tính thèm ăn, niêm mạc tái nhợt... Bệnh thường xuất hiện tại một số trang trại có tình trạng vệ sinh kém, không đảm bảo an toàn sinh học trong chăn nuôi và một phần nguyên nhân do tập quán của người chăn nuôi. Hiện nay, phương thức chăn nuôi bò chủ yếu của người dân Bến Tre đa phần là bán chăn thả và nuôi nhốt, tận dụng một số phụ phẩm cây trồng như rơm lúa, cỏ trồng, thân bắp, thân chuối, dây đậu phộng làm nguồn thức ăn chính cho đàn bò; sử dụng nguồn nước sông cho việc tắm bò, rửa chuồng cũng như cho bò uống. Đây là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây ra bệnh tiêu chảy trên đàn bò tại địa bàn tỉnh. Mặc dù, bệnh tiêu chảy trên đàn bò rất thường xuyên ra và gây thiệt hại kinh tế đáng kể cho người chăn nuôi tuy nhiên những nghiên cứu bệnh này còn rất nhiều hạn chế tại tỉnh Bến Tre. Đặc biệt, một nghiên cứu mang tính hệ thống, toàn diện là thật sự cần thiết trong giai đoạn phát triển ngành chăn nuôi bò tại tỉnh Bến Tre.

Xuất phát từ những vấn đề thực tiễn nêu trên nhằm mục đích phát triển bền vững, an toàn dịch bệnh, nâng cao giá trị về năng suất và chất lượng của ngành chăn nuôi bò tỉnh Bến Tre, chúng tôi đã tiến hành thực hiện **“Nghiên cứu xác định tác nhân gây bệnh và xây dựng biện pháp phòng trừ hiệu quả bệnh tiêu chảy trên đàn bò nuôi tại tỉnh Bến Tre”** căn cứ số hợp đồng: 1103/HĐ-SKHCN tỉnh Bến Tre.

Chương 1: NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.1 NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Nội dung 1: Điều tra tình hình chăn nuôi bò và tình hình bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre

Nội dung 2: Nghiên cứu các tác nhân gây bệnh tiêu chảy từ virus, vi khuẩn và ký sinh trùng

Nội dung 3: Xây dựng quy trình điều trị và phòng bệnh cho các tác nhân gây bệnh từ virus, vi khuẩn và ký sinh trùng

1.2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.2.1 Nội dung 1: Điều tra tình hình chăn nuôi bò và tình hình bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre

Thời gian: từ tháng 07/2020 – 12/2020

Bố trí điều tra, phỏng vấn, thu thập thông tin từ các hộ chăn nuôi, cán bộ thú y địa phương tại một số huyện thuộc tỉnh Bến Tre.

+ Tổng số phiếu điều tra: **175 phiếu**, trong đó:

+ **Hộ/trại chăn nuôi bò** (mẫu phiếu điều tra 1a) trên địa bàn 5 huyện Ba Tri, Thạnh Phú, Giồng Trôm, Mỏ Cày Nam và Bình Đại với 30 phiếu/huyện (30 phiếu x 5 huyện = **150 phiếu**).

+ **Cán bộ thú y địa phương** (mẫu phiếu điều tra 1b) trên địa bàn 5 huyện Ba Tri, Thạnh Phú, Giồng Trôm, Mỏ Cày Nam và Bình Đại với 5 phiếu/huyện (5 phiếu x 5 huyện = **25 phiếu**).

Nghiên cứu tiến hành xác định, so sánh các yếu tố nguy cơ điều tra được giữa 2 nhóm nguy cơ cao và nguy cơ thấp xuất hiện bệnh tiêu chảy trên bò thông qua phép kiểm định Chi bình phương. Các yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh tiêu chảy sẽ được xác định thông qua ước tính tỷ số chênh (odds ratio, OR) theo công thức:

$$OR = \left(\frac{p1}{1 - p1} \times \frac{1 - p2}{p2} \right)$$

1.2.2 Nội dung 2: Nghiên cứu các tác nhân gây bệnh tiêu chảy từ virus, vi khuẩn và ký sinh trùng

Từ tháng 07/2020 – 10/2020: Lấy mẫu cùng thời điểm với điều tra phỏng vấn tại hộ chăn nuôi.

Từ tháng 10/2020 – 05/2021: Phân tích phòng thí nghiệm, nghiên cứu chuyên sâu và viết báo cáo chuyên đề.

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu đặc điểm sinh học phân tử của các tác nhân gây bệnh được phát hiện.

Bảng 1.1: Tóm tắt dung lượng mẫu, loại mẫu, phương pháp phát hiện một số tác nhân quan trọng gây bệnh tiêu chảy chủ yếu từ virus, vi khuẩn và ký sinh trùng trên bò

Tác nhân gây bệnh tiêu chảy		Loại mẫu	Phương pháp phát hiện	Số mẫu gộp xét nghiệm*
Virus	<i>Bovine viral diarrhea virus</i> (BVDV)	Mẫu máu chống đông, huyết thanh	Phát hiện kháng nguyên bằng RT-PCR	30
	<i>Bovine corona virus</i> (BcoV)	Mẫu phân	Phát hiện kháng nguyên bằng RT-PCR	30
	<i>Bovine rotavirus</i> (BRoV)	Mẫu phân	Phát hiện kháng nguyên bằng RT-PCR	30
Vi khuẩn	<i>E. coli</i>	Mẫu phân, mẫu môi trường	Phát hiện kháng nguyên bằng PCR	30
	<i>Salmonella</i> spp.	Mẫu phân, mẫu môi trường	Phát hiện kháng nguyên bằng PCR	30
	<i>Clostridium perfringens</i>	Mẫu phân, mẫu môi trường	Phát hiện kháng nguyên bằng PCR	30
Ký sinh trùng	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Mẫu phân	Phát hiện kháng nguyên bằng PCR	30
	Cầu trùng	Mẫu phân	Phương pháp phù nổi và định danh	30
	Giun đũa	Mẫu phân	Phương pháp phù nổi và định danh	30
Tổng số mẫu xét nghiệm				270

* Chú thích: mẫu gộp là mẫu gom lại từ 3 mẫu đơn (mỗi mẫu đơn/1 bò). Như vậy, mỗi hộ lấy mẫu 3 con bò/bê (có biểu hiện triệu chứng tiêu chảy), rồi gộp 3 mẫu đơn lại thành 1 mẫu gộp để xét nghiệm.

Ngoài ra, mẫu máu còn được sử dụng để xác định công thức máu và số lượng từng loại tế bào bạch cầu để đánh giá tương quan chỉ tiêu máu và bò bị bệnh tiêu chảy đối với từng loại tác nhân gây bệnh. Tổng số mẫu máu dùng cho phân tích công thức máu: **90 mẫu**.

Nuôi cấy phân lập vi khuẩn (*E. coli*, *Salmonella* spp. và *Clostridium perfringens*)

+ MacConkey (MC) dùng để phân lập *E. coli* và ủ ở 37°C trong 18-24 giờ. Khuẩn lạc điển hình của *E. coli* trên MC: khô, tròn, dẹt, có màu hồng, có vẩy đục mây xung quanh.

+ Brilliant Green agar (BGA/BPLS) dùng để phân lập *Salmonella* spp. và được ủ tiếp tục ở 37°C trong 18-24 giờ. Khuẩn lạc điển hình của *Salmonella* spp. trên BGA: to, tròn, lồi, có màu hồng, làm chuyển màu môi trường xung quanh sang đỏ

+ Thạch máu (Blood agar – BA) dùng để phân lập *Clostridium* spp. và được ủ tiếp tục ở 37°C, 18-24 giờ trong điều kiện yếm khí. Khuẩn lạc điển hình của *Clostridium* spp.: không tròn đều, khô, dẹt hoặc hình dạng không ổn định.

Định danh vi khuẩn (*E. coli*, *Salmonella* spp. , *Clostridium* spp.) và phát hiện virus (BVDV, BcoV, BRoV), ký sinh trùng (*Cryptosporidium parvum*) bằng phương pháp PCR/RT-PCR.

Tách chiết ADN/ARN: Huyền dịch mẫu phân tích bao gồm mẫu phân, máu chống

đồng đã được thu thập và bảo quản. Sau đó, mẫu được dùng để chiết tách ADN hoặc ARN bằng các kit thương mại lần lượt là QIAamp DNA Mini Kit hoặc Qiagen RNeasy Minikit. Quy trình tách chiết thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Mẫu ADN/ARN thu được bảo quản ở 4°C nếu xét nghiệm ngay hoặc bảo quản -20°C trong thời gian dài.

Chuẩn bị môi:

Bảng 1.2: Trình tự cặp mồi sử dụng cho phản ứng PCR/RT-PCR tương ứng cho mỗi tác nhân gây bệnh tiêu chảy

Tác nhân gây bệnh	Kí hiệu	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	Tham khảo
BVDV	UTR-F	CATGCCCATAGTAGGAC	288	Harada <i>et al.</i> , 2000
	UTR-R	CCATGTGCCATGTACAG		
BCoV	N-F	GCAATCCAGTAGTAGAGCGT	699	Park và cs., 2006
	N-R	CTTAGTGGCATCCTTGCCAA		
BRoV	Beg9b-F	GGCTTTAAAAGAGAGAATTTCCGTCTGG	294	Gouvea <i>et al.</i> , 1990
	End9b-R	GGTCACATCATACAATTCTAATCTAAG		
<i>E. coli</i>	O8-F	CCAGAGGCATAATCAGAAATAACAG	448	Li <i>et al.</i> , 2010
	O8-R	GCAGAGTTAGTCAACAAAAGGTCAG		
	O9-F	CGTCGGCAAGGCGTATAAATA	1235	Iguchi <i>et al.</i> , 2015
	O9-R	CCCAGAAATCCATGCTC		
	O45-F	TGCAGTAACCTGCACGGGCG	255	DebRoy <i>et al.</i> , 2011
	O45-R	AGCAGGCACAACAGCCACTACT		
	O121-F	TCCAACAATTGGTCGTGAAA	628	
	O121-R	AGAAAGTGTGAAATGCCCGT		
<i>Samonella</i>	invA-F	ACAGTGCTCGTTTACGACCTGAAT	284	Rahn <i>et al.</i> , 1992
	invA-R	AGACGACTGGTACTGATCGATAAT		
<i>C. perfringens</i>	Cpa-F	GCTAATGTTACTGCCGTT GACC	324	Titball RW <i>et al.</i> , 2004
	Cpa-R	TCTGATACATCGTGTAAG		
<i>C. Parvum</i>	BB1-F	GCGAAGATGACCTTTTGATTG	400	Balatb <i>et al.</i> , 1996
	BB2-R	AGGATTTCCTTCTTCTGAGGTTCC		

Tiến hành phản ứng PCR/RT-PCR: Sử dụng cặp mồi đã chuẩn bị và bộ kit thương mại, pha hỗn hợp phản ứng PCR/RT-PCR (master mix) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chạy chu trình nhiệt phản ứng riêng lẻ đã được nghiên cứu trước đó để phát hiện từng tác nhân gây bệnh. Sản phẩm thu được sau phản ứng PCR/RT-PCR, điện di để đọc kết quả.

Mẫu dương tính: có hiển thị vạch sản phẩm với kích thước như mồi thiết kế.

Mẫu âm tính: không có vạch sản phẩm xuất hiện giống mẫu đối chứng âm.

Mẫu nghi ngờ: hiển thị vạch sản phẩm không rõ nét hoặc hiển thị nhiều hơn 1 vạch sản phẩm. Trường hợp này cần xét nghiệm lại hoặc sử dụng các phương pháp khác để khẳng định.

Sản phẩm PCR có kết quả dương tính có chứa đoạn gene chứa vùng trình tự đặc hiệu của từng tác nhân gây bệnh sẽ được tiến hành giải trình tự và đăng ký Genbank.

Phương pháp phù nổi và định danh giun đũa và cầu trùng: Xác định sự có mặt của trứng giun đũa và noãn nang cầu trùng bằng phương pháp phù nổi.

Xác định tính đề kháng sinh của nhóm vi khuẩn gây bệnh đường ruột trên bò:

Các chủng vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella* spp., *C. perfringens* được phân lập tiến hành kiểm tra sự nhạy cảm với 12 loại kháng sinh nhằm xác định khả năng sử dụng kháng sinh trong điều trị bệnh tiêu chảy trên đàn bò do vi khuẩn.

Bảng 1.3: Tiêu chuẩn phân tích kết quả đường kính vòng vô khuẩn (CLSI, 2019)

Kháng sinh	Hàm lượng (µg)	Ký hiệu	Đường kính (mm)	
			Nhạy (S) (≥)	Kháng (R) (≤)
Ampicillin	10	Am	17	13
Amoxicillin/clav.acid*	20/10	Ac	18	13
Ceftazidime	30	Cz	21	17
Cefuroxime	30	Cu	23	14
Colistin	10	Co	15	12
Gentamycin	10	Ge	15	12
Amikacin	30	Ak	17	14
Streptomycin	10	Sm	15	11
Tetracycline	30	Te	15	11
Doxycycline	30	Dx	14	10
Levofloxacin	5	Lv	21	16
Ofloxacin	5	Of	16	12

*Amoxicillin/clavulanic acid

Phương pháp xác định sự hiện diện của một số gene đề kháng kháng sinh trên các chủng *E. coli* phân lập bằng phương pháp PCR được tiến hành theo các bước tương tự như trình bày ở trên Bảng 1.4.

Bảng 1.4: Trình tự các primer tương ứng với các gene đề kháng

STT	Primer	Trình tự nucleotide	Kích thước (bp)	Tham khảo
1	<i>blaTEM</i> -F	ATTCTTGAAGACGAAAGGGC	1.150	Jouini <i>et al.</i> , 2007
	<i>blaTEM</i> -R	ACGCTCAGTGGAACGAAAAC		
2	<i>strA</i> -F	CCTGGTGATAACGGCAATTC	546	Boerlin <i>et al.</i> , 2005
	<i>strA</i> -R	CCAATCGCAGATAGAAGGC		
3	<i>tetA</i> -F	GGTTCACCTCGAACGACGTCA	577	Abdelgader <i>et al.</i> , 2018
	<i>tetA</i> -R	CTGTCCGACAAGTTGCATGA		
4	<i>sulII</i> -F	CGGCATCGTCAACATAACC	722	Gow <i>et al.</i> , 2008
	<i>sulII</i> -R	GTGTGCGGATGAAGTCAG		
5	<i>qnrA</i> -F	AGAGGATTTCTCACGCCAGG	580	Cattoir <i>et al.</i> , 2007
	<i>qnrA</i> -R	TGCCAGGCACAGATCTTGAC		
6	<i>cat1</i> -F	AGTTGCTCAATGTACCTATAACC	547	Van <i>et al.</i> , 2008
	<i>cat1</i> -R	TTGTAATTCATTAAGCATTCTGCC		

Chỉ tiêu theo dõi

Xác định tỷ lệ nhiễm của các tác nhân gây bệnh tiêu chảy chủ yếu từ virus, vi khuẩn và ký sinh trùng trên bò tại tỉnh Bến Tre.

Xác định nguồn gốc xuất hiện và những biến đổi phân tử của các tác nhân gây bệnh tiêu chảy thông qua xây dựng cây phát sinh loài và bảng so sánh độ tương đồng.

Kháng sinh đồ và phác đồ sử dụng trong điều trị bệnh tiêu chảy do vi khuẩn trên đàn bò và điều triệu chứng ở những bệnh do virus.

1.2.3 Nội dung 3: Xây dựng quy trình điều trị và phòng bệnh cho các tác nhân gây bệnh từ virus, vi khuẩn và ký sinh trùng

Thời gian thực hiện: Từ tháng 08/2021 đến 02/2022

Địa điểm thực hiện

Việc triển khai bố trí theo dõi thí nghiệm trên 20 hộ chăn bò tại xã Tân Xuân, huyện Ba Tri, tỉnh Bến Tre. việc lựa chọn 20 hộ chăn nuôi dựa trên tiêu chí tình hình dịch tễ được đánh giá (Nội dung 1 và 2) và số lượng bò >3 con/hộ.

Phương pháp nghiên cứu

Trong số 20 hộ chăn nuôi sẽ được phân chia thành 2 nghiệm thức để đánh giá các mô hình có áp dụng phác đồ điều trị triệu chứng (sử dụng kháng sinh theo khuyến cáo của nhóm nghiên cứu) và kết hợp chăn nuôi an toàn sinh học (nguồn gốc con giống, thức ăn, vệ sinh chuồng trại, kỹ thuật chăn nuôi, tiêm phòng...). Bố trí thí nghiệm được tóm tắt trong Bảng 1.5 như sau:

Bảng 1.5: Bố trí thí nghiệm xây dựng mô hình chăn nuôi bò

Nghiệm thức	Diễn giải	Số hộ	Thời gian theo dõi
I	Mô hình chăn nuôi kết hợp bổ sung chế phẩm probiotics	10	6 tháng
II	Mô hình chăn nuôi kết hợp bổ sung chế phẩm probiotics+ sử dụng kháng sinh gentamicin để phòng, trị theo phác đồ đề xuất của nhóm nghiên cứu	10	6 tháng

* Chú thích: mẫu gộp là mẫu gom lại từ 3 mẫu đơn (mỗi mẫu đơn/1 bò). Như vậy, mỗi hộ lấy mẫu 3 con bò, rồi gộp 3 mẫu đơn lại thành 1 mẫu gộp để xét nghiệm. Tổng số bò được lấy mẫu xét nghiệm của 2 nghiệm thức là 60 con.

Bổ sung chế phẩm probiotics (thành phần: *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus mesentericus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae*)

Chăm sóc nuôi dưỡng

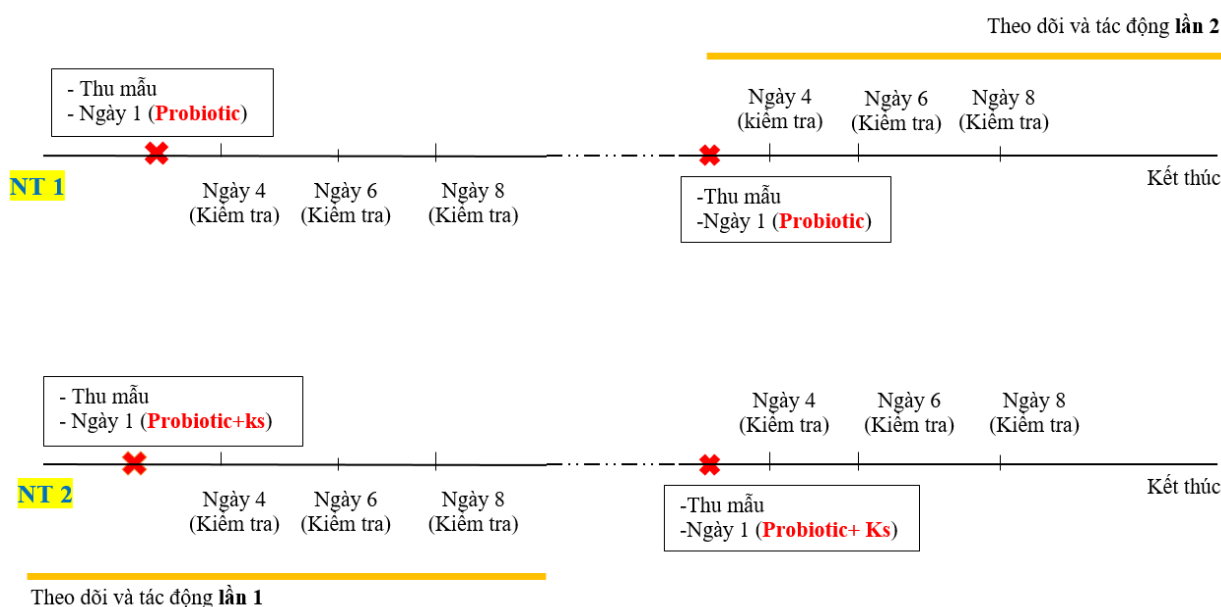
Cả 02 nghiệm thức này đều được nuôi chung qui trình chăm sóc và bò được nuôi và tiêm phòng vaccine (tụ huyết trùng, lở mồm long móng và viêm da nổi cục). Ngoài ra bò được tẩy ký sinh trùng bằng thuốc HAN-DERTIL-B trước khi bắt đầu thí nghiệm, liều sử dụng theo nhà sản xuất. Cho bò ăn và uống tự do theo nhu cầu cơ thể, bắt đầu từ 7 giờ và

kết thúc 18 giờ theo điều kiện chăn nuôi tại từng hộ. Chuồng nuôi, máng ăn được vệ sinh sạch sẽ mỗi ngày, sát trùng định kỳ 2 tuần 1 lần bằng Vime-Kon.

Bò được chăm sóc và nuôi dưỡng ở cả 2 nghiệm thức định kỳ sử dụng bổ sung chế phẩm probiotic vào khẩu phần ăn (bổ sung liên tiếp 3 ngày và định kỳ 2 tuần bổ sung 1 lần) và chế phẩm được pha 20g/lít nước/bò.

Riêng ở nghiệm thức 2 bò được chăm sóc và nuôi dưỡng kết hợp dùng kháng sinh gentamicin (10g/con/ngày) và sử dụng liên tiếp trong 3 ngày và định kỳ 3 tháng/lần.

Thu mẫu kiểm tra sự hiện tác nhân gây bệnh



Hình 1.1: Quy trình theo dõi thu mẫu kiểm tra sự hiện diện tác nhân gây tiêu chảy

Trên mỗi nghiệm thức sẽ có 2 lần tác động, thu mẫu kiểm tra ghi nhận sự hiện diện tác nhân gây tiêu chảy trên bò mỗi lần cách nhau 3 tháng.

1.3 XỬ LÝ SỐ LIỆU

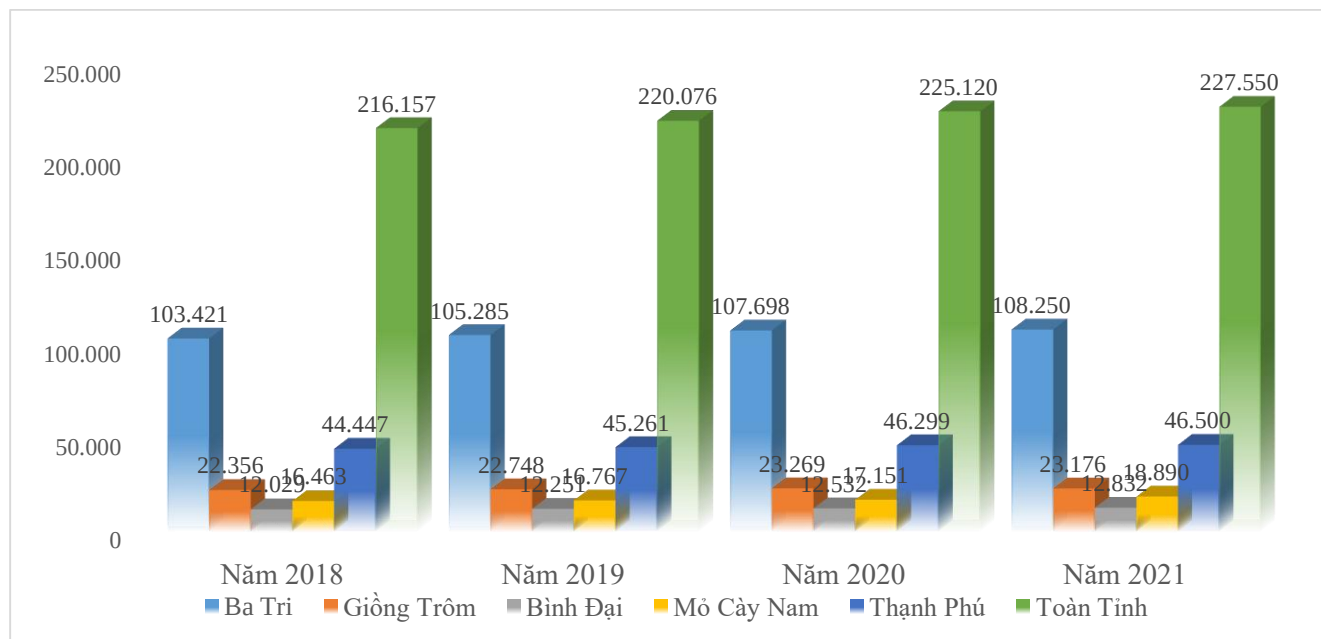
Số liệu điều tra được tổng hợp, xử lý thống kê trên phần mềm Microsoft Excel 2016 sau đó được phân tích theo phương pháp thống kê mô tả, dùng trắc nghiệm Chi bình phương để so sánh các tỷ lệ.

Kết quả giải trình tự các đoạn gene đích được thể hiện và kiểm tra thủ công trên phần mềm BioEdit. Độ tương đồng của đoạn gene được so sánh với các trình tự khác trên ngân hàng gene của NCBI (National Center for Biotechnology Information) bằng chương trình BLASTn. Trình tự của gene đích với trình tự sẵn có được chọn lọc trên ngân hàng gene và được sử dụng để so sánh cặp với nhau bằng phương pháp Clustal W. Kiểu gene của virus, vi khuẩn được xác định qua mức độ tương đồng trên cây phả hệ được xây dựng theo phương pháp maximum likelihood với bootstrap 1.000 lần lặp lại trên phần mềm MEGA X.

Chương 2: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

2.1 TÌNH HÌNH CHĂN NUÔI BÒ VÀ TÌNH HÌNH BỆNH TIÊU CHẢY TRÊN BÒ

2.1.1 Tổng đàn bò qua các năm tại tỉnh Bến Tre



Hình 2.1: Tổng đàn bò của tỉnh Bến Tre qua các năm từ 2018-2021

Tổng đàn bò của tỉnh Bến Tre năm 2018 là 216.157 con, năm 2019 tăng lên 220.076 con (tăng 1,02% so với năm 2018). Năm 2020 tổng số bò trong toàn tỉnh đạt 225.120 con (tăng 2,29% so với năm 2019 và tăng 4,15% so với năm 2018). Trong đó, đàn bò ở huyện Ba Tri chiếm số lượng cao nhất với 107.698 con năm 2020 và thấp nhất ở huyện Bình Đại với 12.532 con năm 2020. Huyện Thanh Phú, Giồng Trôm và Mỏ Cày Nam có số lượng đàn bò dao động từ 17.151 - 46.299 con năm 2020. Nhìn chung, số lượng đàn bò tại tỉnh Bến Tre tăng đều qua các năm từ 2018-2021, tỷ lệ tăng trung bình tương đối ổn định là khoảng 2,0%/năm.

2.1.1.1 Tình hình vệ sinh thú y và phòng, trị bệnh trên đàn bò tại tỉnh Bến Tre

Bảng 2.1: Kết quả điều tra tình hình vệ sinh thú y và phòng, trị bệnh trên đàn bò tại 5 huyện của tỉnh Bến Tre (n=150)

	Chỉ tiêu	Số hộ	Tỷ lệ (%)
Tiêm phòng	Có tiêm phòng vaccine	138	92,0
	Không tiêm phòng vaccine	12	8,0
Sát trùng	Có hồ sát trùng trước trại	38	25,3
	Không có hồ sát trùng trước trại	112	74,7
	Phun thuốc sát trùng định kỳ 1 tháng/lần	30	20,0
	Phun thuốc sát trùng định kỳ 3 tháng/lần	98	65,3

	Phun thuốc sát trùng định kỳ 6 tháng/lần	22	14,7
Vật nuôi	Nuôi nhiều loài vật nuôi	64	42,7
	Chỉ nuôi bò	86	57,3
Điều trị	Nhờ thú y viên	133	88,7
	Tự điều trị bệnh	17	11,3

Qua kết trình bày ở Bảng 2.1 về công tác sát trùng chuồng trại tại tỉnh Bến Tre cho thấy, số hộ có hồ sát trùng trước trại chỉ chiếm 25,3%. Số hộ có phun sát trùng định kỳ 1 tháng/lần là 30/150 hộ (20,0%), số hộ phun sát trùng định kỳ 3 tháng/lần là 98/150 hộ (65,3%) và số hộ phun sát trùng định kỳ trên 6 tháng/lần là 22/150 hộ (14,7%). Theo Nguyễn Xuân Hòa và cs. (2020), vấn đề tiêu độc khử trùng trong và sau dịch bệnh cần phải được tiến hành đồng thời và thường xuyên để hạn chế mầm bệnh lây lan.

2.1.1.2 Tình hình tiêm phòng trên đàn bò

Bảng 2.2: Kết quả điều tra tình hình tiêm phòng trên đàn bò tỉnh Bến Tre (n=150)

Phòng	Có tiêm phòng		Không tiêm phòng	
	Số hộ	Tỷ lệ (%)	Số hộ	Tỷ lệ (%)
Tụ huyết trùng	94	62,7	56	37,3
Lở mồm long móng	105	70,0	45	30,0
Tẩy giun, sán	85	56,7	65	43,3
Viêm da nổi cục	135	90,0	15	10,0

Qua Bảng 2.2 cho thấy đa số các hộ điều tra rất quan tâm đến việc tiêm phòng vaccine bệnh viêm da nổi cục (VDNC) trên bò, có 90,0% số hộ ở cả 5 huyện thực việc tiêm phòng VDNC và có 105/150 hộ (chiếm 70,0%) tiêm phòng vaccine LMLM và đối với bệnh tụ huyết trùng tỷ lệ này chiếm 62,7% và tỷ lệ tẩy giun sán chiếm 56,7% (85/150 hộ khảo sát).

2.1.1.3 Một số loại thuốc kháng sinh sử dụng

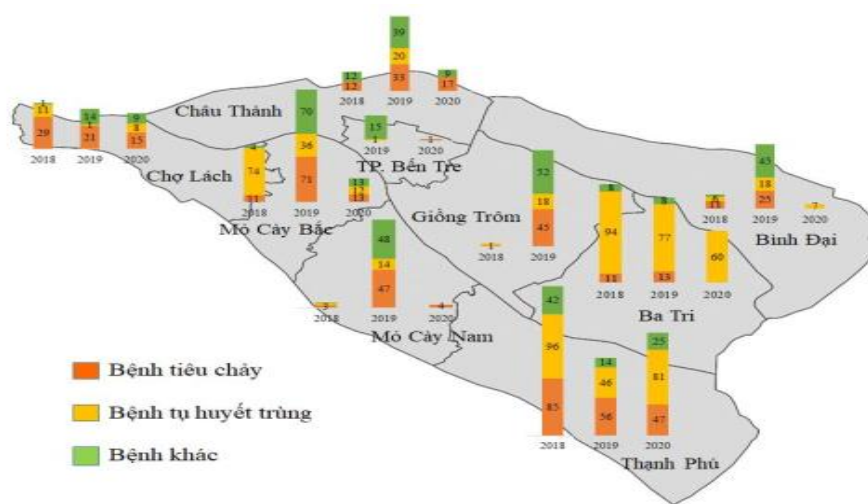
Bảng 2.3: Tần suất sử dụng kháng sinh điều trị bệnh trên bò tại Bến Tre (n=150)

Kháng sinh		Số hộ	Tỷ lệ %
Loại	Ký hiệu		
Colistin	Co	87	58,0
Amoxicillin	Ax	68	45,3
Ampicillin	Am	65	43,3
Tetracycline	Te	61	40,7
Streptomycin	Str	26	17,3
Doxycyclin	Do	18	12,0
Gentamycin	Ge	12	8,0

Kết quả Bảng 2.3 cho thấy số hộ lựa chọn những loại kháng sinh sử dụng nhiều nhất như Co, Ax, Am, Te lần lượt với tỷ lệ là 58,0%; 45,3%; 43,3% và 40,7%. Riêng kháng sinh Co có tỷ lệ số hộ sử dụng cao nhất do cán bộ thú y chọn kháng sinh Co phối hợp với các kháng sinh khác trong điều trị bệnh tiêu chảy trên bò. Theo nghiên cứu của Nguyễn Khánh Thuận và cs. (2021) vi khuẩn *E. coli* từ phân bò có tỷ lệ đề kháng kháng sinh cao với Co (71,4%), Am (61,9%), Te và Str (47,6%).

2.1.2 Tình hình bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre

Qua kết quả Hình 2.2 cho thấy, năm 2018 trên địa bàn tỉnh Bến Tre xảy ra 379 ổ dịch trên đàn bò, năm 2019 tăng lên 1.087 ổ dịch và năm 2020 số ổ dịch giảm xuống còn 223 ổ dịch. Bệnh tiêu chảy trên bò là một trong những bệnh quan trọng trên đàn bò tại tỉnh Bến Tre. Năm 2018 có 163 ổ dịch tiêu chảy xảy ra trên đàn bò của tỉnh, năm 2019 tăng lên 432 ổ dịch (tăng 2,65 lần so với năm 2018). Tuy nhiên, số ổ dịch tiêu chảy giảm mạnh trong năm 2020 với chỉ 100 ổ dịch nổi ra trên địa bàn toàn tỉnh (giảm 4,32 lần so với năm 2019 và 1,63 lần so với năm 2018). Hai huyện Thạnh Phú và Ba Tri có số ổ dịch tiêu chảy cao hơn so với những huyện khác (223 và 113 ổ dịch), trong khi thành phố Bến Tre và huyện Bình Đại có số ổ dịch tiêu chảy thấp nhất trong tỉnh (1 và 36 ổ dịch) trong giai đoạn từ năm 2018-2020.



Hình 2.2: Kết quả điều tra số ổ dịch xảy ra trên đàn bò tại tỉnh Bến Tre 2018-2020

Qua kết quả điều tra hồi cứu cho thấy, tiêu chảy và tụ huyết trùng là hai bệnh xuất hiện phổ biến trên đàn bò tại tỉnh Bến Tre qua các năm từ 2018-2020. Các ổ dịch xảy ra quanh năm ở tất cả những địa bàn có chăn nuôi bò với số lượng lớn cho đến những huyện có mật độ chăn nuôi bò thưa thớt và không theo chu kỳ.

2.1.3 Một số triệu chứng lâm sàng trên bò mắc bệnh tiêu chảy

Bảng 2.4: Kết quả điều tra, ghi nhận một số triệu chứng lâm sàng thường gặp trên đàn bò mắc bệnh tiêu chảy tại 5 huyện của tỉnh Bến Tre (n=53)

Triệu chứng	Số hộ khảo sát (trại)	Số hộ có biểu hiện (trại)	Tần suất (%)
Tiêu chảy phân lỏng hoặc sệt	53	45	84,91
Bỏ ăn hoặc ăn ít	53	40	75,47
Xù lông	53	34	64,15
Mệt mỏi	53	24	45,28
Tiêu chảy phân máu hoặc có màng nhầy	53	16	30,19
Sốt cao	53	12	22,64

Gây còm	53	9	16,98
Loét miệng lưỡi	53	8	15,09
Vàng da	53	7	13,21

Khi bò có mắc tiêu chảy thường có biểu hiện bỏ ăn hoặc ăn ít, kém hấp thu do đường tiêu hóa bị tổn thương hoặc do ký sinh trùng ký sinh trong đường ruột hút dưỡng chất dẫn đến bò bị sút cân, gây còm (Phạm Sỹ Lăng và cs., 2009). Kết quả khảo sát trình bày ở Bảng 2.4 cho thấy, số hộ có bò tiêu chảy bỏ ăn hoặc ăn ít là 40/53 hộ (75,47%) và số hộ có bò bị tiêu chảy và gây còm là 9/53 hộ (16,98%). Ngoài ra, các triệu chứng vàng da và loét miệng, lưỡi chiếm tỷ lệ từ 13,21 - 15,09%.

2.1.4 Kết quả khảo sát một số yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre

Bảng 2.5: Kết quả phân tích một số yếu tố nguy cơ chính liên quan đến bệnh tiêu chảy trên bò tại tỉnh Bến Tre (n=150)

Yếu tố xem xét		Hộ có bệnh	Hộ không bệnh	OR	P
Xử lý nguồn nước sử dụng	Không	35	60	2,63	0,016
	Có	10	45		
Mua con giống từ bên ngoài không rõ nguồn gốc	Có	7	11	1,63	0,343
	Không	37	95		
Gần chợ mua bán động vật dưới 1 km	Có	10	15	2,67	0,031
	Không	25	100		
Gần đường giao thông chính dưới 1 km	Có	31	48	1,44	0,291
	Không	22	49		
Gần lò giết mổ động vật dưới 1km	Có	10	12	3,80	0,024
	Không	23	105		
Khoảng cách với trại chăn nuôi khác dưới 1 km	Có	47	24	20,1	0,001
	Không	7	72		
Vật nuôi khác trong trại	Có	47	53	1,88	0,079
	Không	16	34		
Con người (thương lái, thú y viên)	Có	46	78	1,15	0,541
	Không	8	18		

Qua kết quả Bảng 2.5 cho thấy, việc sử dụng nguồn nước không được xử lý làm tăng nguy cơ xảy ra bệnh tiêu chảy 2,63 lần so với việc sử dụng nguồn nước đã được xử lý, lò giết mổ gia súc là nơi có rất nhiều mầm bệnh do đó gia súc của những trại xung quanh lò mổ chịu phơi nhiễm các bệnh và khả năng bị bệnh cao hơn những trại khác (3,80 lần), Phân tích yếu tố nguy cơ những trại nuôi bò gần kề nhau trong phạm vi 1 km ghi nhận có nguy cơ cao gấp 20,1 lần so với các trại cách xa ngoài phạm vi 1 km, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

2.2 CÁC TÁC NHÂN GÂY BỆNH TIÊU CHẢY TỪ VIRUS, VI KHUẨN VÀ KÝ SINH TRÙNG

2.2.1 Kết quả khảo sát phát hiện tác nhân gây tiêu chảy

Bảng 2.6: Tỷ lệ hiện diện của các vi khuẩn gây bệnh tiêu chảy trên bò

Vi khuẩn	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
<i>E. coli</i>	249	238	95,58
<i>Salmonella</i>	249	0	0,00
<i>Clostridium perfringens</i>	249	0	0,00

Kết quả kiểm tra 249 mẫu phân bò tỷ lệ nhiễm *E. coli* (95,58%) không ghi nhận nhiễm *Salmonella* và *Clostridium perfringens*. Tỷ lệ hiện diện vi khuẩn *E. coli* trên bò cao bởi vì vi khuẩn *E. coli* là vi khuẩn tồn tại thường trực trong đường tiêu hóa của các loài động vật (Faibrother *et al.*, 2007). Qua đó cần phân tích đánh giá cụ thể nhóm *E. coli* nào có khả năng gây bệnh và không gây bệnh, đồng thời xác định yếu tố đề kháng sinh của những chủng gây bệnh nhằm có biện pháp phòng ngừa, điều trị bệnh hợp lý.

Bảng 2.7: Tỷ lệ hiện diện của các ký sinh trùng gây tiêu chảy trên bò

Ký sinh trùng	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Cầu trùng	249	65	26,10
Giun đũa	249	0	0,00
<i>Cryptosporidium parvum</i>	249	0	0,00

Kết quả Bảng 2.8 ghi nhận số mẫu nhiễm cầu trùng là 65 mẫu chiếm 26,10% không phát hiện trứng giun đũa và *Cryptosporidium parvum* trong mẫu phân. Tỷ lệ nhiễm cầu trùng cao do nôn nang cầu trùng lưu cữu trên sàn chuồng nuôi hoặc kẽ chuồng và đặc biệt nôn nang thường có sức đề kháng rất cao đối với ngoại cảnh (Jahanzaib *et al.*, 2017).

Bảng 2.8: Tỷ lệ hiện diện của các virus gây tiêu chảy trên bò

Virus	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
BCoV	249	0	0,00
BRoV	249	0	0,00
BVDV	249	0	0,00

Kết quả xét nghiệm cho thấy chưa phát hiện có sự lưu hành của virus BCoV, BRoV, BVDV gây bệnh trên bò tại Bến Tre. Do các bệnh này gây tỷ lệ chết và thiệt hại lớn trên bò và hiện nay chưa có vaccine ngừa bệnh, biểu hiện lâm sàng có thể biểu hiện khác nhau tùy theo độc lực của virus và động vật mắc bệnh. Bò mắc bệnh có biểu hiện sốt cao 40°C, bỏ ăn, ủ rũ, tăng tiết dịch mũi, mắt và nước bọt, giảm sản lượng sữa, khó thở, tiêu chảy. Từ đó cho thấy việc quản lý phòng ngừa bệnh thường xuyên vệ sinh chuồng trại, phun thuốc sát trùng và hạn chế các động vật chân đốt hút máu trong chuồng nuôi.

2.2.2 Thay đổi đặc điểm sinh lý máu của bò tiêu chảy

Bảng 2.9: Kết quả phân tích các chỉ số hồng cầu và hemoglobin của bò (n=90)

Chỉ tiêu	Mức sinh lý (*)	Kết quả	Giá trị biến động	Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	5,00-10,10	Thấp	3,91-4,09	42	46,7
		Cao	11,9-16,8	4	4,4
HGB (g/dL)	8,0-15,0	Thấp	4,8-7,3	52	57,8
		Cao	16,6-17,8	5	5,6
HCT (%)	24,0-46,0	Thấp	16,3-23,2	33	36,7
		Cao	47,3-48,1	2	2,2

Ghi chú: RBC: số lượng hồng cầu có trong 1 mm³ máu; HCT: phần trăm thể tích hồng cầu trong máu; HGB: số gam hemoglobin có trong 1 dL máu; (*) Trị số sinh lý tham khảo từ The Merk Veterinary Manual (2013).

Số lượng hồng cầu (RBC) đặc trưng cho loài và ảnh hưởng bởi các yếu tố thuộc về bản thân vật nuôi và yếu tố ngoại cảnh, kết quả cho thấy số lượng hồng cầu của những bò có biểu hiện tiêu chảy giảm thấp hơn so với mức sinh lý chiếm 46,7% và có giá trị biến động 3,91-4,09 $10^6/\text{mm}^3$. Các chỉ tiêu phần trăm thể tích hồng cầu trong máu (HCT) và số gam hemoglobin có trong 1 dL máu (HGB) đây là một yếu tố biểu hiện chức năng của hồng cầu cũng được ghi nhận giảm hơn so với mức sinh lý trên những bò có biểu hiện tiêu chảy. Điều này phù hợp với nghiên cứu các chỉ tiêu sinh lý – huyết học ở bò viêm ruột ỉa chảy, Phạm Ngọc Thạch (1998) cho thấy: trong trường hợp trâu bị viêm ruột tiêu chảy cấp tính các chỉ tiêu số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, tỷ khối huyết cầu đều tăng hơn so với trâu không bị ỉa chảy. Kết quả nghiên cứu các chỉ tiêu sinh lý, hình thái máu bò đối chứng trong thí nghiệm này phù hợp với thông báo của Đỗ Đức Việt (2006).

Bảng 2.10: Chỉ tiêu hệ bạch cầu và tiểu cầu của bò (n=90)

Chỉ tiêu	Mức sinh lý(*)	Kết quả	Giá trị biến động	Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	4,00-12,00	Cao	13,3-21,6	34	37,8
Neu (%)	15,0-65,0	Thấp	6,7-13,6	24	26,7
Lym (%)	40,0-75,0	Thấp	20,4-39,0	12	13,3
Mon (%)	2,0-10,0	Cao	10,6-19,8	45	50,0

Ghi chú: WBC: tổng số bạch cầu; Neutro: bạch cầu đa nhân trung tính; Lym: lâm ba cầu; Mono: bạch cầu đơn nhân lớn; (*) Trị số sinh lý tham khảo từ The Merk Veterinary Manual (2013).

Số lượng bạch cầu (WBC) ghi nhận tăng cao hơn so với mức sinh lý chiếm 34/90 (37,8%) bò khảo sát có hiện tượng tiêu chảy. Kết quả kiểm tra sinh lý máu cũng cho thấy số lượng bạch cầu đa nhân trung tính và lâm ba cầu đều thấp hơn mức sinh lý lần lượt là 26,7% và 13,3% trên tổng số bò khảo sát. Tỷ lệ bạch cầu đa nhân trung tính có sự thay đổi khác nhau tùy theo thời gian mắc bệnh. Tuy nhiên ở bò tiêu chảy kéo dài bạch cầu đơn nhân lớn chiếm tỷ lệ cao hơn với tỷ lệ biến động so với mức sinh lý là 10,6-19,8% và chiếm 50,0% số bò có biểu hiện tiêu chảy khảo sát (n=90).

2.2.3 Đặc điểm lưu hành của các tác nhân gây bệnh tiêu chảy tại Bến Tre

Bảng 2.11: Tỷ lệ phân lập vi khuẩn *E. coli* trên bò tại tỉnh Bến Tre

Huyện	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Ba Tri	102	97	95,10
Giồng Trôm	25	24	96,00
Mỏ Cày Nam	41	38	92,68
Thạnh Phú	39	38	97,44
Bình Đại	42	41	97,62
			(P>0,05)
Tổng	249	238	95,58

Tổng số 249 mẫu phân thu thập trên bò có 238 mẫu dương tính với vi khuẩn *E. coli*, chiếm tỷ lệ 95,16%. Tỷ lệ hiện diện vi khuẩn *E. coli* trên bò cao bởi vì vi khuẩn *E. coli* là vi khuẩn tồn tại thường trực trong đường tiêu hóa của các loài động vật (Faibrother *et al.*, 2007). Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Ngã và cs. (2000) ở bê, nghé khu vực miền Trung, tỷ lệ nhiễm *E. coli* trong phân bê, nghé trung bình là 72,48%. Theo nghiên cứu của Nguyễn Văn Sửu (2005) cho biết tỷ lệ phân lập vi khuẩn *E. coli* ở phân bê là 80,65% và nghé là 77,88%. Nghiên cứu của Bui Phan Thu Hang *et al.* (2019) khi thực hiện khảo sát trên các mẫu phân bò cho thấy, tỷ lệ hiện diện cao của vi khuẩn *E. coli* (95%). Từ đó cho thấy, khả năng lưu hành của vi khuẩn *E. coli* trên bò chiếm tỷ lệ khá cao.

Kết quả kiểm tra kháng sinh đồ của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò

Bảng 2.12: Kết quả kiểm tra sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò (n=238)

Kháng sinh	Nhạy		Kháng	
	Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Tetracycline	162	68,1	76	31,9
Ampicillin	163	68,5	75	31,5
Streptomycin	164	68,9	74	31,1
Colistin	164	68,9	74	31,1
Amoxcillin/clav.acid*	187	78,6	51	21,4
Cefuroxime	199	83,6	39	16,4
Gentamycin	199	83,6	39	16,4
Doxycyline	213	89,5	25	10,5
Ceftazidime	213	89,5	25	10,5
Levofloxacin	214	89,9	24	10,1
Ofloxacin	217	91,2	21	8,8
Amikacin	227	95,4	11	4,6

*Amoxcillin/clavulanic acid

Kết quả khảo sát trên 238 mẫu *E. coli* phân lập cho thấy các chủng vi khuẩn trên đề kháng cao với tetracycline (31,9%) và ampicillin (31,5%), kháng với streptomycin, colistin (31,1%) và amoxcillin/clavulanic acid (21,4%). Tuy nhiên, vẫn còn nhạy cảm cao với 7

loại kháng sinh còn lại (cefuroxime, gentamycin, doxycycline, ceftazidime, levofloxacin, ofloxacin, amikacin).

Tỷ lệ hiện diện các gene đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli*

Bảng 2.13: Tỷ lệ hiện diện các gene đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò (n=238)

Nhóm kháng sinh	Gene đề kháng	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ %
Tetracycline	<i>tetA</i>	155	65,13
Sulfonamides	<i>sulIII</i>	146	61,34
Aminoglycoside	<i>strA</i>	136	57,14
Quinolones	<i>qnrA</i>	116	48,74
β-Lactam	<i>blaTEM</i>	54	22,69
Phenicol	<i>cat1</i>	32	13,45
(P<0,05)			

Trong tổng số 238 mẫu khảo sát trên 6 gene đề kháng kháng sinh cho thấy *tetA* là gene có tỷ lệ hiện diện cao nhất (65,13%), kế đến là *sulIII* (60,34%), mặc dù ở Bảng 2.13 kết quả kháng sinh đồ cho thấy tỷ lệ đề kháng với ampicillin khá cao, nhưng tỷ lệ hiện diện của các gene *blaTEM* (mã hóa cho sự đề kháng với ampicillin) trong nghiên cứu này còn thấp. Vì vậy, sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn còn phụ thuộc vào yếu tố môi trường, áp lực trong quá trình chăn nuôi hoặc do quá trình cộng sinh của các vi khuẩn.

Kiểu hình đa kháng các gene đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò

Bảng 2.14: Kiểu hình đa kháng các gene đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò (n=238)

Số lượng gene	Số kiểu đa kháng	Kiểu hình đa kháng	Số chủng	Tỷ lệ (%)
2	6	<i>strA+tetA</i>	25	15,72
		<i>tetA+sulIII</i>	35	22,01
		<i>tetA+qnrA</i>	6	3,77
		<i>strA+sulIII</i>	11	6,92
		<i>strA+qnrA</i>	10	6,29
		<i>tetA+blaTEM</i>	6	3,77
3	3	<i>strA+tetA+sulIII</i>	46	28,93
		<i>tetA+sulIII+qnrA</i>	6	3,77
		<i>sulIII+qnrA+cat1</i>	8	5,03
4	1	<i>strA+tetA+sulIII+qnrA</i>	6	3,77

Trong tổng số 238 chủng *E. coli* được kiểm tra sự hiện diện của các gene đề kháng kháng sinh có đến 159 chủng (66,81%) có kiểu hình đa kháng. Đa số các chủng đa kháng kháng sinh có sự hiện diện chủ yếu của gene *tetA* hoặc *strA* trong các kiểu hình đa kháng. Đối với các chủng mang 2 gene đề kháng chiếm tỷ lệ cao nhất (58,49%), với 6 kiểu hình đa kháng, trong đó cao nhất là kiểu hình *tetA+sulIII* (22,01%). Theo Enrique *et al.* (2017)

đã nghiên cứu trong số 78 chủng *E. coli* được phân tích có các gene kháng thuốc đã được phát hiện như sau: *blaTEM-1* (7,70%), *tetA* (8,97%), *tetB* (5,13%), *tetA + tetB* (1,28%); *sulIII* (5,13%), *sulI* (3,85%), *sulIII* (2,56%), *sulI + sulIII* (1,28%); Do trong quá trình điều trị bệnh do vi khuẩn gây ra, cán bộ thú ý thường sử dụng nhiều loại kháng sinh trong một lần điều trị, hoặc có thể do các chủng vi khuẩn *E. coli* này đã di truyền và tích lũy các gene đề kháng qua nhiều thế hệ, cho nên một chủng vi khuẩn có thể tích hợp các gene đề kháng khác nhau.

2.2.4 Kết quả định danh vi khuẩn *E. coli*

Trong tổng số 238 chủng *E. coli* dương tính, tỷ lệ hiện diện của các chủng EHEC, ETEC và một số chủng *E. coli* khác chưa được định danh được thể hiện ở Bảng 2.15.

Bảng 2.15: Tỷ lệ hiện diện của vi khuẩn EHEC và ETEC phân lập trên bò tỉnh Bến Tre (n=238)

Chủng	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
EHEC	50	21,01
ETEC	85	35,71
<i>E. coli</i> khác	103	43,28
		(P<0,05)
Tổng	238	100,00

Kết quả cho thấy tỷ lệ hiện diện của hai chủng vi khuẩn EHEC (21,01%) thấp hơn so với chủng ETEC với tỷ lệ nhiễm là 35,71% (P<0,05). ETEC tồn tại và phát triển trong đường ruột của bò, khi gia súc gặp điều kiện bất lợi về sức khỏe, chúng có khả năng gây bệnh. ETEC là nguyên nhân phổ biến nhất gây tiêu chảy do *E. coli* gây ra ở các nông trại gia súc (Gyles & Faibrother, 2010; El-Seedy *et al.*, 2015). Nhìn chung, EHEC không gây bệnh đáng kể cho bò nhưng có thể gây viêm hồi tràng ở bê sơ sinh. Nhưng người dễ nhiễm *E. coli* nhóm EHEC khi nhiễm có biểu hiện viêm ruột xuất huyết (HC) và gây ra hội chứng tan huyết ure huyết (HUS), giảm tiểu cầu huyết khối xuất huyết (TTP) (Kiranmayi *et al.*, 2010).

Kiểm tra tính đề kháng kháng sinh của chủng ETEC

Bảng 2.16: Kết quả đề kháng kháng sinh của vi khuẩn ETEC phân lập trên bò tại tỉnh Bến Tre (n=85)

Kháng sinh	Ký hiệu	Nhạy		Kháng	
		Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Gentamicin	Ge	85	100	0	0
Amikacin	Ak	85	100	0	0
Levofloxacin	Lv	85	100	0	0
Ofloxacin	Of	38	44,7	0	0
Doxycycline	Dx	57	67,1	28	32,9
Ceftazidime	Cz	55	64,7	30	35,3
Cefuroxime	Cu	54	63,5	31	36,5
Colistin	Co	53	62,4	32	37,6
Amoxicillin/clav.acid*	Ac	52	61,2	33	38,8

Tetracycline	Te	48	56,5	37	43,5
Streptomycin	Sm	47	55,3	38	44,7
Ampicillin	Am	42	49,4	43	50,6

*Amoxicillin/clavulanic acid

Kiểm tra tính đề kháng với 12 loại kháng sinh của vi khuẩn ETEC phân lập từ bò tại địa điểm khảo sát cho kết quả đề kháng 9/12 kháng sinh với tỷ lệ thấp từ 32,9% đến 50,6% và nhạy cảm 100,0% với 4 loại kháng sinh gentamicin, amikacin, levofloxacin và ofloxacin. Kết quả được thể hiện trong Bảng 2.16 với chủng ETEC kháng cao nhất với ampicillin (50,6%), tiếp đến là streptomycin (44,7%) và tetracycline (43,5%), vi khuẩn kháng thấp nhất với doxycycline (32,9%).

Kiểm tra tính đa kháng kháng sinh của chủng ETEC

Bảng 2.17: Sự đa kháng kháng sinh của vi khuẩn ETEC phân lập trên bò (n=85)

Số kháng sinh đa kháng	Kiểu hình đa kháng	Số kiểu đa kháng	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Tổng tỷ lệ (%)
2	Am+Te	3	3	6,98	20,93
	Ac+Cu		3	6,98	
	Te+Dx		3	6,98	
3	Am+Ac+Sm	6	5	11,63	51,16
	Am+Sm+Te		2	4,65	
	Am+Cu+Co		5	11,63	
	Am+Ac+Te		3	6,98	
	Am+Sm+Dx		4	9,30	
4	Ac+Sm+Te	2	3	6,98	23,26
	Am+Cz+Co+Sm		4	9,30	
	Am+Ac+Sm+Te		6	13,95	
6	Am+Cz+Cu+Co+Sm+Te	1	2	4,65	4,65
Tổng		13	43	50,6	

Ac: amoxicillin/clavulanic acid; Am: ampicillin; Cz: ceftazidime; Cu: cefuroxime; Co: colistin; Te: tetracycline; Dx: doxycycline; Sm: streptomycin

Dựa trên kết quả kiểm tra sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch, có 43/85 chủng vi khuẩn ETEC cho kết quả đa kháng 2-6 loại kháng sinh ở mức độ khá cao (50,6%) với 12 loại kiểu hình đa kháng. Trong đó đa kháng 3 loại kháng sinh (Am+Ac+Sm, Am+Sm+Te, Am+Cu+Co, Am+Ac+Sm, Am+Sm+Dx và Ac+Sm+Te) với 6 kiểu hình đa kháng chiếm tỉ lệ cao nhất (51,16%) và đa kháng với 6 loại kháng sinh chiếm tỷ lệ thấp nhất (4,65%). Trong tất cả các kiểu hình đa kháng, kiểu hình Am+Ac+Sm+Te có sự xuất hiện nhiều nhất (chiếm tỷ lệ 13,95%) và ampicillin (Am) là kháng sinh có mặt nhiều nhất trong tất cả các kiểu hình đa kháng kháng sinh (11/12), phù hợp với kết quả kiểm tra kháng sinh đồ khi các chủng ETEC khảo sát kháng với ampicillin với tỷ lệ cao nhất 50,6%.

Sự hiện diện các gene đề kháng kháng sinh của vi khuẩn ETEC

Chủng vi khuẩn ETEC cũng có sự hiện diện của các gene đề kháng kháng sinh, được thể hiện ở Bảng 2.18.

Bảng 2.18: Sự hiện diện các gene đề kháng kháng sinh của vi khuẩn ETEC phân lập trên bò (n=85)

Gene đề kháng	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
<i>tetA</i>	27	31,8
<i>strA</i>	25	29,4
<i>sulII</i>	23	27,1
<i>qnrA</i>	13	15,3
<i>cat1</i>	08	9,4
<i>blaTEM</i>	08	9,4
(P<0,05)		

Qua Bảng 2.18 cho thấy có sự khác biệt về tỷ lệ hiện diện giữa các gene đề kháng kháng sinh trên 43 chủng ETEC, trong đó là gene *tetA* có sự hiện diện cao nhất chiếm 31,8%, tiếp theo là *strA* (29,4%) và *sulII* (27,1%), *qnrA* (15,3%) và gen *cat1*; *blaTEM* (9,40%) trên các chủng ETEC khảo sát.

Kết quả kiểm tra kháng sinh đồ trên nhóm EHEC

Qua Bảng 2.19 cho thấy các chủng vi khuẩn EHEC được khảo sát có biểu hiện đề kháng với 11/12 loại kháng sinh.

Bảng 2.19: Tỷ lệ đề kháng kháng sinh của vi khuẩn EHEC phân lập trên bò tỉnh Bến Tre (n=50)

Kháng sinh	Ký hiệu	Nhạy		Kháng	
		Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Doxycycline	Do	50	100,0	0	0
Amikacin	Ak	40	80,0	10	20,0
Gentamicin	Ge	39	78,0	11	22,0
Levofloxacin	Lv	39	78,0	11	22,0
Ofloxacin	Of	39	78,0	11	22,0
Amoxicillin/clav. avid*	Ac	37	74,0	13	26,0
Cefuroxime	Cu	26	52,0	24	48,0
Ceftazidime	Cz	24	48,0	26	52,0
Streptomycin	Sm	21	42,0	29	58,0
Tetracycline	Te	21	42,0	29	58,0
Ampicillin	Am	18	36,0	32	64,0
Colistin	Co	16	32,0	34	68,0

*Amoxcillin/clavulanic acid

Trong đó vi khuẩn đề kháng khá cao với 2 loại kháng sinh là colistin (68,0%) và ampicillin (64,0%) và không có sự đề kháng với doxycycline. Theo Võ Văn Ninh (2001)

cho rằng điều đáng lo ngại là vi khuẩn đề kháng kháng sinh chéo với các kháng sinh trong họ và các tính chất di truyền cũng như tính đề kháng từ một nhóm vi khuẩn này có thể truyền sang một nhóm hoặc loài vi khuẩn khác trong môi trường, đặc biệt giữa các vi khuẩn gram âm do vậy có những vi khuẩn chưa bao giờ tiếp xúc với kháng sinh nhưng đã mang trong mình tính đề kháng do vi khuẩn khác truyền sang. Do đó, các chủng EHEC đề kháng cao với colistin và ampicillin có thể do khả năng đề kháng tự nhiên của chúng.

Kiểm tra tính đa kháng kháng sinh của chủng EHEC

Kết quả phân tích cho thấy các chủng EHEC có 34/50 chủng (chiếm 68,0%) đa kháng từ 2 đến 7 loại kháng sinh với 13 kiểu hình đa kháng.

Bảng 2.20: Sự đa kháng kháng sinh của vi khuẩn EHEC phân lập trên bò (n=50)

Số lượng kháng sinh	Kiểu hình đa kháng	Số kiểu đa kháng	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Tổng (%)
2	Cz+Co	1	6	17,65	17,64
3	Am+Co+Te	2	4	11,76	14,71
	Am+Cu+Co		1	2,94	
4	Am+Cz+Co+Sm	3	1	2,94	11,76
	Am+Cu+Sm+Te		1	2,94	
	Am+Ac+Sm+Te		2	5,88	
5	Am+Cz+Cu+Co+Sm	4	4	11,74	32,35
	Am+Ac+Co+Ge+Sm		2	5,88	
	Am+Cz+Co+Sm+Te		1	2,94	
	Am+Cu+Co+Sm+Te		4	11,74	
6	Am+Cz+Cu+Co+Sm+Te	1	3	8,82	8,82
7	Am+Ac+Co+Ak+Te+Lv+Of	2	2	5,88	14,71
	Am+Ac+Ge+Sm+Te+Lv+Of		3	8,82	
Tổng		13	34	68,0	

Ac: amoxicillin/clavulanic acid; Am: ampicillin; Cz: ceftazidime; Cu: cefuroxime; Co: colistin; Ge: gentamicin; Te: tetracycline; Cl: chloramphenicol; Lv: levofloxacin; Sm: streptomycin; Of: ofloxacin

Kiểu hình đa kháng Cz+Co xuất hiện nhiều nhất (17,65%) và hầu hết trong tất cả các kiểu hình đa kháng có sự hiện diện của ampicillin (12/13 kiểu hình) và colistin (10/13 kiểu hình), phù hợp với kết quả kiểm tra kháng sinh đồ khi tỷ lệ đề kháng khá cao với colistin (68,0%) và ampicillin (64,0%) (Bảng 2.19). Điều này cho thấy các chủng vi khuẩn EHEC này có khả năng tiếp xúc, trao đổi gene kháng kháng sinh với hệ vi sinh vật đường ruột để tạo nên nhiều kiểu hình đa kháng. Vi khuẩn phát triển đề kháng với thuốc kháng sinh thông qua đột biến hoặc thông qua việc thu nhận các gene kháng thuốc (Liu & Pop, 2009). Sự gia tăng kiểu đề kháng đa thuốc có thể là do sự tích tụ của các gene mã hóa cho

sự kháng thuốc kháng sinh, trên nhiễm sắc thể của vi khuẩn hoặc plasmid (Yamamoto *et al.*, 2014).

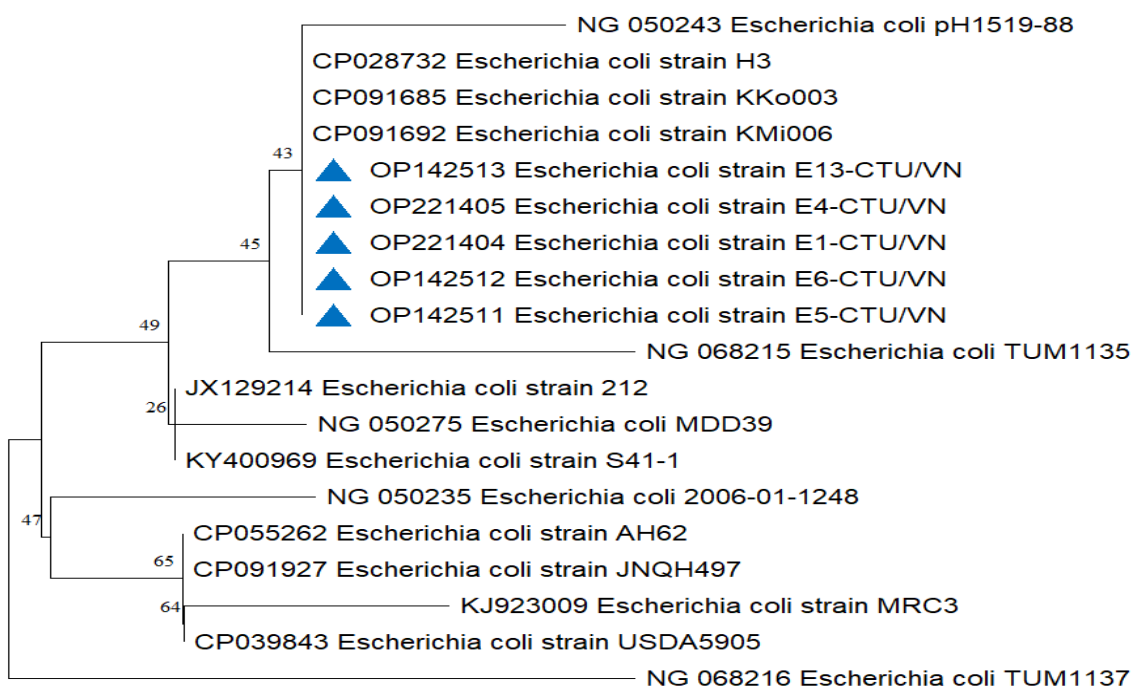
Sự hiện diện các gene đề kháng kháng sinh của vi khuẩn EHEC

Bảng 2.21: Tỷ lệ hiện diện các gene đề kháng kháng sinh của vi khuẩn EHEC phân lập trên bò (n=50)

Gene đề kháng	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ tần suất (%)
<i>sulII</i>	20	40,0
<i>strA</i>	19	38,0
<i>tetA</i>	19	38,0
<i>qnrA</i>	11	22,0
<i>cat1</i>	4	8,00
<i>blaTEM</i>	2	4,00

Kết quả từ Bảng 2.21 cho thấy trên các chủng EHEC, gene *cat1* (8,0%) và *blaTEM* (4,0%) có tỷ lệ hiện diện thấp trong 34 mẫu khảo sát và kế đó là gene *qnrA* chiếm tỷ lệ (22,0%). Tuy nhiên, gene *sulII* được phát hiện với tỷ lệ cao nhất (40,0%), kế đến gene *strA* và *tetA* (38,0%). Theo Iweriebor *et al.* (2014) khảo sát trên các cá thể bò đã xác định được sự hiện diện của các gene: *blaTEM* (27,00%) và *tetA* (70,00%) và gene *strA* (80,00%).

2.2.5 Kết quả kiểm tra mối quan hệ phả hệ của *E. coli* trên bò



Hình 2.3: Xây dựng cây di truyền phả hệ dựa vào trình tự gene *blaTEM*

Cây phả hệ được xây dựng bằng phần mềm MEGA. X với phương pháp ước lượng hợp lý cực đại (Maximum Likelihood method) và hệ số Bootstrap 1.000 lần lặp lại. Các chủng vi khuẩn *E. coli* được phân lập tại Bến Tre được biểu thị bằng tam giác màu xanh

Qua kết quả phân tích phả hệ cho thấy những chủng *E. coli* phân lập trên bò tại Bến Tre (ON221404, ON221405, OP142511, OP142512, OP142513) có mối quan hệ gần với những chủng *E. coli* tại Nhật Bản (CP091685, CP091692, NG068216) và chủng CP028732 tại Trung Quốc. Qua đó cho thấy những chủng *E. coli* trên bò tại Việt Nam có mối quan hệ gần với các chủng phân lập tại Trung Quốc và Nhật Bản do thứ nhất là có đường biên giới tiếp giáp với Việt Nam, thứ hai là việc giao thương buôn bán trao đổi hàng hóa và nhập giống bò chăn nuôi.

2.2.6 Tỷ lệ hiện diện của cầu trùng (*Eimeria* spp.) trên bò tỉnh Bến Tre

Kết quả xét nghiệm cầu trùng trên bò tại tỉnh Bến Tre được thể hiện qua Bảng 2.22

Bảng 2.22: Tỷ lệ hiện diện của các ký sinh trùng gây tiêu chảy trên bò (n=249)

Ký sinh trùng	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Ba Tri	102	24	23,5
Giồng Trôm	25	8	32,0
Mỏ Cày Nam	41	12	29,3
Thanh Phú	39	10	25,6
Bình Đại	42	11	26,2
Tổng	249	65	26,1

Kết quả cho thấy tỷ lệ nhiễm cầu trùng trung bình là 26,1% ở Giồng Trôm có tỷ lệ nhiễm cầu trùng 32,0% kết đó là Mỏ Cày Nam 29,3% và ở Bình Đại, Ba Tri, Thanh Phú tỷ lệ bò nhiễm cầu trùng dao động 23,5-26,2% ($P < 0,05$). Kết quả có sự chênh lệch do thực hiện thu mẫu ở Mỏ Cày Nam và Giồng Trôm chủ yếu trên bò <1 năm tuổi nên ghi nhận tỷ lệ nhiễm cao hơn so ba huyện còn lại, theo Daugschies *et al.* (2004) và Bruhn *et al.* (2011) cầu trùng thường gây bệnh cho gia súc (<1 tuổi), tuy nhiên các bò >1 năm tuổi vẫn có thể nhiễm và bài thải noãn nang và được coi là nguồn tàng trữ căn bệnh.

2.3 HIỆU QUẢ PHÒNG VÀ TRỊ BỆNH DO VI KHUẨN GÂY RA TRÊN ĐÀN BÒ TẠI HUYỆN BA TRI TỈNH BẾN TRE

Bảng 2.23: Tỷ lệ hiện diện của các vi khuẩn gây bệnh đường ruột trên bò trước khi thí nghiệm

Vi khuẩn	Số mẫu	NT1	NT2	P
<i>E. coli</i>	10	90,0% (9/10)	100%(10/10)	($P > 0,05$)
<i>Salmonella</i>	10	0	0	-
<i>Clostridium perfringens</i>	10	0	0	-

Qua khảo sát không ghi nhận sự xuất hiện của vi khuẩn *Clostridium perfringens* và *Salmonella* giữ hai nghiệm thức. Qua Bảng 2.23 cho thấy sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* là 90,0% ở NT1 và 100% ở NT2 nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 2.24: Tỷ lệ hiện diện của chủng vi khuẩn *E. coli* O8, O9 trên hộ thí nghiệm (n=20)

Nghiệm thức	Số hộ	Trước tác động	Sau tác động		P
			Lần 1	Lần 2	
O8	NT1	9	6/9 (66,7%)	6/9 (66,7%)	P>0,05
	NT2	10	7/10 (70,0%)	3/10 (30,0%)	
O9	NT1	9	3/9 (33,3%)	3/9 (33,3%)	P<0,05
	NT2	10	2/10 (20,0%)	2/10 (20,0%)	

Qua kết quả Bảng 2.24 ghi nhận sự hiện diện của nhóm vi khuẩn ETEC (*E. coli* O8, O9) trên hai nghiệm thức trước khi tác động, khác biệt không có ý nghĩa trong đó, tỷ lệ hiện diện của *E. coli* O8 ở NT1 là 66,7% và 70% ở NT2, kể đó là *E. coli* O9 với tỷ lệ xuất hiện 33,3% ở NT1 và 20% ở NT2. Kết quả khảo sát sự hiện diện *E. coli* O8, O9 sau khi tác động lần 1 và lần 2 ở NT1 vẫn ghi nhận sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli*, nhưng ở NT2 không phát hiện sự hiện diện của *E. coli* O8, O9 trên các hộ thí nghiệm, cho thấy rằng kháng sinh gentamicin có tác động lớn đến vi khuẩn *E. coli*. Theo ghi nhận của Yamamoto *et al.* (2014) các chủng vi khuẩn *E. coli* được phân lập trên bò tại Nhật Bản còn nhạy cảm cao với các loại kháng sinh ceftiofur (95,8%), enrofloxacin (90,6%) và gentamicin (79,8%). Qua đó cho thấy hiệu quả của gentamicin trong điều trị dự phòng *E. coli* gây bệnh trên bò.

Bảng 2.25: Diễn biến hiệu quả phòng *E. coli* trên hộ nuôi bò

Nghiệm thức	Số hộ	Thời gian theo dõi				Tỷ lệ (%) bò không có <i>E. coli</i>	P
		Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7		
Lần 1	NT1	10	9	9	9	1 (10,0%) ^b	P<0,05
	NT2	10	9	6	4	7 (70,0%) ^a	
Lần 2	NT1	10	6	6	6	4 (40,0%) ^b	P<0,05
	NT2	10	3	3	3	7 (70,0%) ^a	

Qua kết quả theo dõi thí nghiệm số hộ ghi nhận có xuất hiện *E. coli* trên mẫu phân qua các ngày giữa hai lần tác động trên hai nghiệm thức thấy rằng, ở NT1 giữa hai lần theo dõi thu mẫu thì thấy vi khuẩn *E. coli* vẫn được phát hiện, nhưng ở NT2 ghi nhận số hộ ghi nhận sự xuất hiện của *E. coli* được kéo giảm cụ thể ở lần thứ 1 đến ngày thứ 7 và lần 2 ở ngày thứ 5 không còn ghi nhận sự xuất hiện của *E. coli*. Qua đó cho thấy hiệu quả của việc điều trị dự phòng cao nhất được ghi nhận ở NT2, đồng thời chứng tỏ rằng việc sử dụng kháng sinh gentamicin có hiệu quả trong phòng *E. coli* trên bò.

Kết quả trên cho thấy kháng sinh gentamicin kết hợp với chế phẩm probiotics có hiệu quả cao trong việc phòng bệnh *E. coli* trên bò. Đồng thời qua kết quả thấy được, việc phòng bệnh giúp bò giảm stress do tiêm vaccine, cai sữa.... giúp cải thiện sự cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột của bê, tăng khả năng tiêu hóa hấp thu, tăng cường hệ miễn dịch của bê, giúp cho gia súc khỏe mạnh và hạn chế stress.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. KẾT LUẬN

Tổng đàn bò tỉnh Bến Tre tăng đều qua các năm 2018-2021 là trung bình 2,0%/năm. Bệnh tiêu chảy trong đàn bò toàn tỉnh chiếm tỷ lệ 1,14-2,73%, xảy ra nhiều nhất giai đoạn bê dưới 12 tháng tuổi. Việc chọn kháng sinh sử dụng chủ yếu là theo cán bộ thú y và có 4 loại kháng sinh sử dụng phổ biến nhất: colistin, ampicillin, tetracycline, streptomycin.

Tỷ lệ hiện diện của nhiễm *E. coli* (95,58%) và cầu trùng (26,10%). Không phát hiện vi khuẩn *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, ký sinh trùng như: giun đũa, *Cryptosporidium parvum*; không có sự lưu hành của virus BCoV, BRoV, BVDV gây bệnh tiêu chảy trên bò tại Bến Tre. Tỷ lệ hiện diện vi khuẩn *E. coli* các chủng EHEC là 21,01% và 35,71% ở các chủng ETEC.

Vi khuẩn *E. coli* phân lập được còn nhạy cảm với nhiều loại kháng sinh khảo sát; trong đó nhạy cảm cao đối với gentamicin, amikacin, doxycycline, amikacin, cefuroxime và ceftazidime nhưng đã đề kháng cao đối với ampicillin, tetracycline và streptomycin. Tỷ lệ hiện diện của các gene đề kháng kháng sinh trên chủng *E. coli* phân lập tỷ lệ hiện diện cao nhất trên các chủng ETEC là gene *tetA* (31,8%) và EHEC là gene *sulIII* (40,0%). Ngoài ra, 6 gene khảo sát thì trên các chủng *E. coli* có sự hiện diện từ 2 đến 4 gene đề kháng với 10 kiểu hình gene đa kháng.

Mô hình chăn nuôi an toàn sinh học kết hợp việc sử dụng kháng sinh gentamicin và chế phẩm probiotic giúp giảm tỷ lệ hiện diện *E. coli* gây bệnh và có hiệu quả trong việc điều trị, phòng bệnh trên bò.

2. ĐỀ NGHỊ

Cơ quan/Tổ chức quản lý nhà nước:

Đề xuất cơ quan quản lý thực hiện các giải pháp phòng, chống bệnh tiêu chảy trên bò là sản phẩm của đề tài. Song song đó cần có những nghiên cứu mới về những bệnh mới nổi trên bò hiện nay.

Đề xuất cơ quan quản lý Chi Cục Chăn nuôi-Thú y tỉnh cần định kỳ lấy mẫu xét nghiệm nhằm giám sát, cảnh báo sớm trong phòng, chống dịch bệnh tiêu chảy trên bò.

Tập huấn ứng dụng sản phẩm của đề tài vào sản xuất và thực hiện chăn nuôi theo hướng an toàn sinh học cho người chăn nuôi.

Người chăn nuôi:

Khuyến cáo sử dụng kháng sinh kết hợp chế phẩm probiotics dùng trong điều trị bệnh đường ruột và một số loại kháng sinh Gentamicin, Doxycycline, Amikacin, Cefuroxime và Ceftazidime dùng trong điều trị bệnh vi khuẩn gây ra trên đàn bò tại, tỉnh Bến Tre.

Cần kiểm soát, vệ sinh sát trùng chuồng trại, dụng cụ chăn nuôi để tránh phát tán các chủng đề kháng kháng sinh ra môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdelgader, S.A., Shi, D., Chen, M., Zhang, L., Hejair, H., Muhammad, U. and Zhang, W., (2018). Antibiotics resistance genes screening and comparative genomics analysis of commensal *Escherichia coli* isolated from poultry farms between China and Sudan. *BioMed research international*, (20)18

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

Bruhn F.R.P, Lopes M.A., Demeu F.A., Perazza C.A., Pedrosa M.F. and Guimarães A.M. (2011). Frequency of species of *Eimeria* in females of the Holstein-Friesian breed at the post-weaning stage during autumn and winter. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 20(4): 303-307.

Bui Phan Thu Hang., Ewa, W., Stefan, B., Kerstin, S.S., Johan, D. and Anna, D., (2019). High level of multidrug-resistant *Escherichia coli* in young dairy calves in southern Vietnam. 51(6): tr 1405-1411.

Cattoir, V., Poirel, L., Rotimi, V., Soussy, C.J. and Nordmann, P., (2007). Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 60(2): 394-397.

CLSI, (2019). “Performance Standard for Antimicrobial” Susceptibility Testing 28th edition. Clinical and Laboratory Standard Institute. M100S, Wayne, PA, USA.

Daugischies A., Imarom S., Ganter M. and Bollwahn W. (2004). Prevalence of *Eimeria* spp. in sows at piglet-producing farms in Germany. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 51(3): 135-139.

DebRoy, C., Roberts, E. and Fratamico, P.M., (2011). Detection of O antigens in *Escherichia coli*. *Animal health research reviews*, 12(2): 169.

Đỗ Đức Việt (2006). Nghiên cứu một số chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa, hình thái máu bò sữa Holstein Friesian (HF) nhập nội nuôi thích nghi ở một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học công nghệ cấp bộ, mã số B.2004 – 32 – 58, 34 tr.

El-Seedy, F.R., Abed, A.H., Yanni, H.A. and Abd El-Rahman, S.A.A., (2015). Prevalence of *Salmonella* and *E. coli* in neonatal diarrheic calves. *Beni Suef Univ j Basic Appl Sci*, 5(1): 45-51.

Enrique, V.N., Alonso, C.A., Sanz, S., Sara, H.S., Olarte, C. and Torres, C., (2017). Molecular characterization of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains from a dairy cattle farm and its surroundings. 97(1): tr 362-365.

Fairbrother, J., Hamelin, K., Bruant, G., El-Shaarawi, A., Hill, S., Edge, T. A., & Brousseau, R. (2007). Occurrence of virulence and antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* isolates from different aquatic ecosystems within the St. Clair River and Detroit River areas. *Applied and environmental microbiology*, 73(2): 477.

Gouvea, V., Glass, R.I., Woods, P., Taniguchi, K., Clark, H.F., Forrester, B., Fang, Z.Y., (1990). Polymerase chain reaction amplification and typing of *Rotavirus* nucleic acid from stool specimens. *Journal of clinical microbiology*. 28, 276-282.

Gow, S.P., Waldner, C.L., Harel, J. and Boerlin, P., (2008). Associations between antimicrobial resistance genes in fecal generic *Escherichia coli* isolates from cow-calf herds in western Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(12): 3658.

Gyles, C.L. and J.M Fairbrother, (2010). *Escherichia coli*. In: Edited by: C.L. Gyles, J.F. Prescott, J.G. Songer and C.O. Thoen (Editors). Pathogenesis of bacterial infections in animal 4th (ed). Wiley-Blackwell. 643 pp.

Harada, T., Tautz, N., Thiel, H.J., (2000). E2-p7 region of the Bovine viral diarrhea virus polyprotein: processing and functional studies. *Journal of virology*. 74.

Iguchi, A., Iyoda, S., Seto, K., Morita-Ishihara, T., Scheutz, F. and Ohnishi, M., (2015). *Escherichia coli* O-genotyping PCR: a comprehensive and practical platform for molecular O serogrouping. *Journal of clinical microbiology*, 53(8): 2427.

Jahanzaib M.S., Avais M., Khan M.S., Atif F.A., Ahmad N., Ashraf K. & Zafar M.U. (2017). Prevalence and risk factors of coccidiosis in buffaloes and cattle from Ravi river region, Lahore, Pakistan. *Buffalo Bulletin* (April-June). 36(2).

Jouini, A., Vinué, L., Slama, K.B., Saenz, Y., Klibi, N., Hammami, S. And Torres, C., (2007). Characterization of CTX-M and SHV extended spectrum β -lactamases and associated resistance genes in *Escherichia coli* strains of food samples in Tunisia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(5): 1137-1141.

Kiranmayi, C.B., Krishnaiah, N. and Mallika, E.N., (2010). *Escherichia coli* O157: H7-An emerging pathogen in foods of animal origin. *Veterinary World*, 3(8):382-389.

Li, D., Liu, B., Chen, M., Guo, D., Guo, X., Liu, F. and Wang, L., (2010). A multiplex PCR method to detect 14 *Escherichia coli* serogroups associated with urinary tract infections. *Journal of microbiological methods*, 82(1): 71-77.

Liu, B. and Pop, M., (2009). ARDB – antibiotic resistance genes database. *Nucleic acids research*, 37(1): 443-447.

Nguyễn Khánh Thuận, Võ Thị Thanh Tiên, Trần Ngọc Bích và Lý Thị Liên Khai (2021). Sự hiện diện của một số gene beta-lactamase và sự đề kháng sinh của vi khuẩn *Enterohemorrhagic E. coli* và *Enterotoxigenic E. coli* phân lập từ bò tại tỉnh Bến Tre. *Tạp chí KH Trường Đại học Cần Thơ*, 57(6B): 115-24.

Nguyễn Ngã , Nguyễn Thiên Thu, Lê Lập, Lê Thị Thi, Vũ Khắc Hùng, (2000). điều tra nghiên cứu hệ vi khuẩn trong hội chứng vẩy nhiễm vi khuẩn E .coli của bê, nghé khu vực miền Trung, *tạp chí KHKT Thú y*, 7(2), tr 36-40.

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*,

Salmonella và *Clostridium perfringens* phân lập được, Luận án tiến sĩ Nông nghiệp, Hà Nội.

Nguyễn Xuân Hòa, Phạm Đăng Tuấn, Lê Trần Hoàn, Lê Quốc Việt, Thượng Thị Thanh Lễ, Phan Vũ Hải và Trần Quang Vui (2020). Độc lực và tính miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập từ bê sữa bị tiêu chảy. *Tạp chí KHKT Thú y*, 7: 24-30.

Phạm Ngọc Thạch (1998). Một số chỉ tiêu lâm sàng, phi lâm sàng ở trâu viêm ruột ỉa chảy và biện pháp phòng trị. Luận án tiến sĩ nông nghiệp, tr: 61 – 65.

Phạm Sỹ Lăng, Nguyễn Thị Kim Lan, Lê Ngọc Mỹ, Nguyễn Thị Kim Thành, Nguyễn Văn Thọ và Chu Đình Tới (2009). *Ký sinh trùng và bệnh ký sinh trùng ở vật nuôi. Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam*. Hà Nội. 303 trang.

Van, T.T.H., Chin, J., Chapman, T., Tran, L.T. and Coloe, P.J., (2008). Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *International journal of food microbiology*, 124(3): 217-223.

Võ Văn Ninh, 2001. Kháng sinh trong thú y. Nhà xuất bản Trẻ. Trang 20-21.

Yamamoto, S., Nakano, M., Kitagawa, W., Tanaka, M., Sone, T., Hirai, K., and Asano, K., (2014). Characterization of multi-antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from beef cattle in Japan. *Microbes and environments*, 29(2): 136-144.