



XÁC ĐỊNH ĐỘC LỰC, ĐỘ MÃN CẢM KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *SALMONELLASPP.* PHÂN LẬP TỪ BÊ GIAI ĐOẠN BÚ SỮA BỊ TIÊU CHẢY TẠI HUYỆN ĐỨC TRỌNG TỈNH LÂM ĐỒNG

Nguyễn Xuân Hòa^{1*}, Phạm Đăng Tuấn², Lê Trần Hoàn¹, Lê Quốc Việt¹, Lê Văn Phước¹
Nguyễn Đức Danh³, Phan Vũ Hải¹

¹ Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

² Trạm Thú y Gio Linh, QL1A, Gio Linh, Quảng Trị, Việt Nam

³ Hiệp Thạnh, Đức Trọng, Lâm Đồng, Việt Nam

Tóm tắt: Vi khuẩn *Salmonella* có khả năng sản sinh nội độc tố mạnh, là nguyên nhân viêm ruột và gây nên bệnh tiêu chảy của bò. Nghiên cứu đã phân lập được 38 chủng vi khuẩn *Salmonella* từ 74 mẫu phân bê tiêu chảy tại huyện Đức Trọng, tỉnh Lâm Đồng đạt tỷ lệ 51,35%. Kết quả PCR xác định gene độc tố của vi khuẩn *Salmonella* cho thấy có 12/38 chủng vi khuẩn có gene mã hóa độc tố, trong đó có 8 chủng (21,05%) dương tính với gene quy định độc tố đường ruột Stn, và 8 chủng (21,05%) vi khuẩn mang yếu tố xâm nhập InvA. Đặc biệt, có 4 chủng vi khuẩn đồng thời mang cả yếu tố xâm nhập InvA và độc tố đường ruột Stn (chiếm 10,53%). 8/12 chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ phân bê tiêu chảy đều có độc lực mạnh-giết chết toàn bộ chuột thí nghiệm trong 24–36 giờ. Vi khuẩn *Salmonella* mẫn cảm cao (87,5–100%) với kháng sinh Gentamycin và Enrofloxacin, mẫn cảm trung bình (62,5–75%) với Amoxicillin, Doxycycline và Ceftiofur, trong khi đó kháng hoàn toàn kháng sinh Oxytetracyclin.

Từ khóa: *Salmonella*, tiêu chảy bê sữa, Đức Trọng, mẫn cảm kháng sinh, kháng sinh

1 Đặt vấn đề

Hội chứng tiêu chảy ở gia súc nói chung và ở bê, nghé nói riêng là một hiện tượng bệnh lý rất phức tạp gây ra bởi sự tác động tổng hợp của nhiều nguyên nhân, bao gồm các nhân tố điều kiện ngoại cảnh bất lợi gây ra các stress cho cơ thể như: chăm sóc, quản lý kém, thời tiết... và do bản thân con vật tạo điều kiện thuận lợi cho việc xâm nhập các vi sinh vật gây bệnh vào vật chủ, đặc biệt là các vi sinh vật gây bệnh ở đường tiêu hoá dẫn tới sự nhiễm khuẩn và loạn khuẩn như: *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*... Tỷ lệ lưu hành của từng mầm bệnh và tỷ lệ mắc bệnh có thể khác nhau tùy theo vị trí địa lý của các trang trại, quản lý trang trại và quy mô đàn. Theo Cho và Yoon, do tính chất đa yếu tố của hội chứng tiêu chảy nên việc kiểm soát khó có hiệu quả [9]. Tiêu chảy truyền nhiễm là nguyên nhân quan trọng nhất gây bệnh và tử vong ở bê sữa trên toàn thế giới. Tỷ lệ tử vong ở bê sơ sinh trong tháng tuổi đầu tiên là hơn 80% tổng tỷ lệ tử vong ở bê [8]. Theo Lê Minh Chí thì ở bê, nghé 70–80% tổn thất trong thời kỳ nuôi dưỡng

* Liên hệ: nguyensexuanhoa@huaf.edu.vn

Nhận bài: 24-02-2020; Hoàn thành phản biện: 11-6-2020; Ngày nhận đăng: 16-6-2020

và 80–90% trong số đó là hậu quả của bệnh tiêu chảy gây ra [1]. Về vai trò của vi sinh khuẩn nói chung và *Salmonella* nói riêng trong Hội chứng tiêu chảy, các nghiên cứu của Nguyễn Quang Tuyên, Nguyễn Văn Quang và Phạm Hồng Ngân đều khẳng định *Salmonella* là nguyên nhân quan trọng gây nên bệnh tiêu chảy ở bê nghé với tỷ lệ phân lập trên 40% [3, 4, 7]. Cùng với đó, số lượng vi khuẩn *Salmonella*/1gam phân ở bê bị tiêu chảy cũng cao gấp khoảng 2 lần so với bê không bị tiêu chảy [2, 4]. Nghiên cứu của Nguyễn Văn Quang và cộng sự cho thấy khi bê bị tiêu chảy số lượng vi khuẩn *Salmonella* có thể tăng lên gấp đôi [4]. Nghiên cứu của Võ Thành Thìn và cộng sự cho thấy những chủng vi khuẩn *Salmonella* mang gene quy định yếu tố xâm nhiễm (InvA); độc tố đường ruột (Stn) có khả năng gây bệnh trên động vật thí nghiệm và gây bệnh trên bê [6]. Lâm Đồng là tỉnh có khí hậu mát mẻ, thích hợp cho phát triển chăn nuôi bò sữa. Bên cạnh đó, các mô hình gia trại chăn nuôi bê theo hướng thịt cũng được người chăn nuôi đầu tư để phát triển kinh tế. Thương hàn bê là bệnh khá phổ biến và gây tổn hại kinh tế lớn cho người chăn nuôi. Việc dùng thuốc kháng sinh để điều trị bệnh tiêu chảy là việc làm phổ biến từ trước đến nay. Tuy nhiên, do vi khuẩn *Salmonella* có khả năng sản sinh nội độc tố và tính kháng thuốc mạnh, nên khi dùng kháng sinh không phù hợp sẽ làm cho việc điều trị không có tác dụng, gây tiêu chảy kéo dài, bê suy nhược dẫn đến chết.

Nghiên cứu này nhằm xác định vai trò gây bệnh và tính miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ bê bị tiêu chảy, để từ đó có cơ sở trong phòng, trị bệnh phù hợp trên bê ở huyện Đức Trọng, tỉnh Lâm Đồng.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu

Mẫu phân bê giai đoạn bú sữa bị bệnh tiêu chảy được thulấy trực tiếp từ trực tràng (trước khi điều trị) thông qua tampon vô trùng, sau đó được bảo quản ở 4°C và vận chuyển về phòng thí nghiệm Vi trùng, khoa Chăn nuôi-Thú y, trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế để tiến hành xét nghiệm.

Các hóa chất: Môi trường SS-agar, Mueller Hinton, LB broth cung cấp bởi hãng Merck; giấy tẩm kháng sinh Công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam Khoa và Công ty TNHH Bioanalyse, Thổ Nhĩ Kỳ cung cấp; Chuột nhắt trắng được cung cấp bởi Viện vắc xin Nha Trang; Các hóa chất sinh phẩm và thiết bị cho phản ứng PCR do công ty Bio-rad cung cấp.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Phân lập và giám định vi khuẩn *Salmonella*

Mẫu bệnh phẩm được ria trực tiếp trên môi trường SS agar, ủ ở 37°C/ 24 giờ; chọn khuẩn lạc không màu có chấm đen ở giữa để kiểm tra hình thái và tính chất sinh hóa.

Phương pháp xác định gene độc tố ở các chủng *Salmonella* phân lập được

DNA của các chủng vi khuẩn *Salmonella* được tách bằng phương pháp sốc nhiệt: dùng 500 µl canh khuẩn ly tâm 5.000 vòng/phút bỏ nước mặt và rửa vi khuẩn 2 lần bằng dung dịch đệm PBS (Phosphate Buffered Saline), cho thêm 200 µl nước cất 2 lần để tái huyền phù, sau đó đun sôi cách thủy, sau 5 phút găm vào đá lạnh và ủ trong 20 phút. Tiến hành ly tâm ở tốc độ 15.000 vòng/phút trong 10 phút để thu dịch nổi có chứa DNA. DNA sẽ được làm khuôn cho phản ứng xác định gene mã hóa độc tố độc tố Stn (*Salmonella* enterotoxin) và yếu tố xâm nhập InvA (Invasion A).

Thành phần phản ứng PCR bao gồm: 6,25 µl 2x Go taq green master Mix (promega), 0,5 µl mỗi xuôi (10 pmol/ µl), 0,5 µl mỗi ngược (10 pmol/ µl), 2 µl DNA khuôn mẫu và 3,25 µl nước tinh khiết. PCR được thực hiện trong máy luân nhiệt với chu trình nhiệt biến tính.

Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di trên gel agarose 1% trong đệm TAE 1X (40 mM Tris-HCl, 20 mM acetic acid, 1 mM EDTA) ở 100 V trong 35 phút. Gel sau khi điện di

Bảng 1. Thành phần nucleotide các mồi dùng trong phản ứng PCR xác định gene mã hóa độc tố của vi khuẩn *Salmonella*

<i>Salmonella</i>	InvA. F	TTGTTACGGCTATTTGACCA	521 bp [10]
	InvA. R	CTGACTGCTACCTTGCTGATG	
	Stn. F	CTTTGGTCGTAATAAG GCG	260 bp [11]
	Stn. R	TGCCCAAAGCAGAGAGATTC	

Bảng 2. Chu trình nhiệt cho PCR xác định gene mã hóa độc tố

Nhiệt độ	Thời gian	Chu kỳ
InvA và Stn		
95 °C	5 phút	1
95 °C	45 giây	
50 °C	45 giây	30 chu kỳ
72 °C	45 giây	
72 °C	10 phút	
4 °C	Nhiệt độ bảo quản	

được nhuộm bằng Ethidium bromide nồng độ 0,5 µg/ml trong thời gian 15–30 phút trên máy lắc nhẹ. Gel được quan sát và chụp ảnh bằng máy GelDoc (Bio-rad).

Xác định độc lực của chủng vi khuẩn *Salmonella*

Tiến hành tiêm 0,2 ml canh khuẩn (OD₆₀₀ = 1.2) *Salmonella* mang gene độc tố vào phúc mạc chuột nhắt trắng (18–20g). Mỗi chủng vi khuẩn tiêm cho 3 cá thể chuột. Theo dõi thời gian chết và số lượng chuột chết để đánh giá độc lực (chỉ đánh giá những chuột chết sau khi tiêm 4 giờ). Chủng độc là chủng gây chết động vật thí nghiệm ở tỷ lệ cao và thời gian ngắn. Căn cứ vào số lượng chuột chết, giờ chuột chết bình quân để đánh giá độc lực của vi khuẩn. Mổ khám và phân lập vi khuẩn từ gan của chuột bị chết.

Xác định tính mẫn cảm với kháng sinh

Xác định tính mẫn cảm với kháng sinh với một số chủng *Salmonella* có độc lực cao bằng phương pháp khuếch tán kháng sinh trên thạch.

Dùng 0,2 ml canh khuẩn nuôi cấy đạt nồng độ 10⁶CFU/ml gien đều trên mặt thạch Mueller Hinton bằng tampon vô trùng. Dùng kẹp vô trùng đặt khoanh giấy kháng sinh và ấn nhẹ giấy xuống đảm bảo khoanh giấy hoàn toàn tiếp xúc với mặt thạch. Để úp các đĩa thạch vào tủ ấm ở 37°C. Đọc kết quả sau 18–24 giờ bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn và so sánh bằng chuẩn để tính độ nhạy cảm và kháng kháng sinh của vi khuẩn.

Nếu vòng vô khuẩn ≥ đường kính tiêu chuẩn, kết luận vi khuẩn mẫn cảm (MC) với kháng sinh. Nếu vòng vô khuẩn < đường kính tiêu chuẩn, kết luận vi khuẩn đã kháng (K) với kháng sinh.

Phương pháp xử lý số liệu

Các kết quả nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel 2007.

Bảng 3. Tiêu chuẩn của các loại kháng sinh theo quy định của nhà sản xuất

Kháng sinh	Nhà sản xuất	Đường kính tiêu chuẩn (mm)
Amoxicillin (10 µg)		12-22
Gentamycin (30 µg)	Công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam Khoa	19-26
Doxycycline (10 µg)		18-24
Ceftiofur (30 µg)		24
Oxytetracycline (30 µg)	Công ty TNHH Bioanalyse, Thổ Nhĩ Kỳ	24
Enrofloxacin (10 µg)		24

3 Kết quả nghiên cứu

3.1 Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* từ mẫu bệnh phẩm

Từ 74 mẫu phân bê tiêu chảy thu thập được tại huyện Đức Trọng, tỉnh Lâm Đồng tiến hành phân lập vi khuẩn trên môi trường SS-agar. Kết quả đã có 38 chủng vi khuẩn *Salmonella*, chiếm tỷ lệ 51,35% (38/74). Theo Nguyễn Quang Tuyên, tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trong hội chứng tiêu chảy ở bê nghé tại các tỉnh phía bắc là 61,95% [7]. Năm 2004, khi nghiên cứu tại các tỉnh Nam Trung Bộ, Nguyễn Văn Quang cho rằng 40,54% bò, bê tiêu chảy là do *Salmonella* [4]. Phạm Hồng Ngân phân lập được *Salmonella* với tỷ lệ 61,35% từ các mẫu phân bê tiêu chảy [3]. Có sự sai khác này theo chúng tôi có thể độ tuổi nghiên cứu, giống bê, phương thức chăn nuôi, nguồn sữa cho bê uống không giống nhau.

3.2 Kết quả giám định một số đặc tính sinh vật học của vi khuẩn *Salmonella*

Tiến hành giám định một số đặc tính sinh vật học của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được. Kết quả được trình bày trong Bảng 4.

Kết quả giám định cho thấy, tất cả các chủng vi khuẩn phân lập được đều đồng nhất một số tính nhất như: bắt màu Gram âm; âm tính với phản ứng sinh indol; không lên men đường lactose; lên men glucose; không phân giải ure; di động. Có 35/38 chủng (92,11%) vi khuẩn *Salmonella* sinh H₂S và 3/38 chủng (7,89%) vi khuẩn *Salmonella* không sinh H₂S. Kết quả này là hoàn toàn phù hợp với đặc tính của vi khuẩn *Salmonella* đã được các tác giả mô tả trước đó.

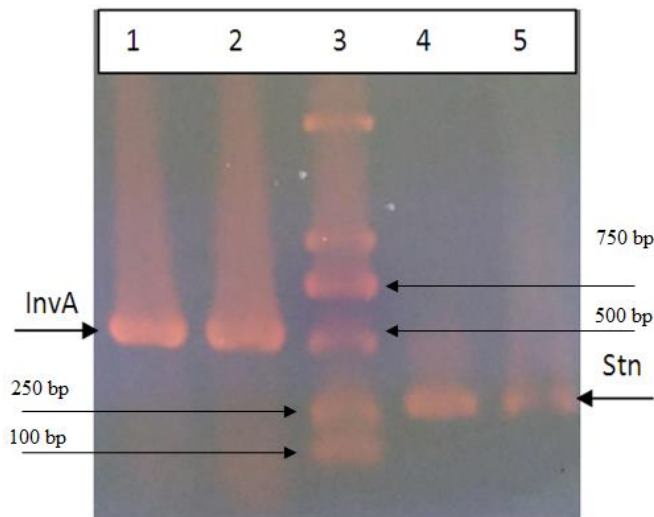
Bảng 4. Kết quả giám định một số đặc tính sinh vật học của các chủng *Salmonella* phân lập từ phân bê

TT	Thử nghiệm	Kết quả giám định				
		Số chủng kiểm tra	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)	Số chủng âm tính	Tỷ lệ (%)
1	Tính chất bắt màu Gram âm	38	38	100	38	0
2	Sản sinh indol	38	0	0	38	100
3	Lên men lactose	38	0	0	38	100
4	Lên men glucose	38	38	100	0	0
5	Sản sinh H ₂ S	38	35	92,11	3	7,89
6	Phân giải ure	38	0	0	38	100
7	Khả năng di động	38	38	100	0	0

3.3 Kết quả xác định sự có mặt các gene độc của vi khuẩn *Salmonella*

Độc tố đường ruột Stn (*Salmonella* enterotoxin) và yếu tố xâm nhập InvA (Invasion A) là hai yếu tố quyết định độc lực của vi khuẩn *Salmonella*. Vì vậy, việc phát hiện gene mã hóa của các loại độc tố trong vi khuẩn như một chỉ tiêu để đánh giá khả năng gây bệnh của chủng vi khuẩn.

Kết quả PCR xác định gene mã hóa độc tố của vi khuẩn *Salmonella* cho thấy có 12 chủng vi khuẩn có gene mã hóa độc tố, trong đó có 8 chủng (21,05 %) dương tính với gene quy định độc tố đường ruột Stn và 8 chủng (21,05%) vi khuẩn mang yếu tố xâm nhập Inv A. Đặc biệt có 4 chủng vi khuẩn đồng thời mang yếu tố xâm nhập Inv A và độc tố đường ruột Stn (10,53%). Tỷ lệ phát hiện gene độc tố của vi khuẩn *Salmonella* trong nghiên cứu này thấp hơn nghiên cứu của Võ Thanh Thìn và cộng sự (2009) là 45,45% (25/55) vi khuẩn *Salmonella* xét nghiệm mang độc tố đường ruột (Stn) trong khi đó với độc tố InvA là 34,55% (19/55) [6]. Tỷ lệ phân lập *Salmonella* khá



1, 2: Các mẫu DNA vi khuẩn *Salmonella* được PCR bằng cặp mồi InvA
 3: DNA marker (AI2000, Aidlab, Trung Quốc)
 4, 5: Các mẫu DNA vi khuẩn *Salmonella* được PCR bằng cặp mồi Stn

Hình 1. Kết quả PCR xác định gene mã hóa độc tố của vi khuẩn *Salmonella*

Bảng 5. Kết quả PCR xác định gene mã hóa độc tố ở vi khuẩn *Salmonella*

Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số chủng vi khuẩn mang gene mã hóa độc tố					
			Stn	Tỷ lệ (%)	Inv A	Tỷ lệ (%)	Stn + Inv A	Tỷ lệ (%)
38	12	31,58	8	21,05	8	21,05	4	10,53

cao, tuy nhiên kiểm tra gene độc lại thấp. Điều này cho thấy, đối với vi khuẩn *Salmonella* ngoài những nhóm mang gene sản sinh độc tố có khả năng gây bệnh, thì kể cả khi không mang gen độc tố nhưng khi gặp những điều kiện bất lợi cho động vật dẫn đến sức đề kháng giảm, nhóm lợi khuẩn giảm. Điều này được giải thích là trong điều kiện bất lợi, cơ hội cho các nhóm vi khuẩn đường ruột sinh sôi, với số lượng lớn sẽ bám lên bề mặt ruột gây rối loạn trao đổi nước và điện giải dẫn đến tiêu chảy. Vì vậy, cần thiết lập hệ vi sinh vật có lợi trong đường ruột để làm tăng khả năng tăng sinh về số lượng của các nhóm vi khuẩn cơ hội như *E. coli*, *Salmonella*.

3.4 Kết quả xác định độc lực của các chủng vi khuẩn *Salmonella* mang gene độc tố

Tất cả 8 mẫu *Salmonella* dương tính với gene độc đều được sử dụng để tiến hành tiêm truyền động vật thí nghiệm nhằm xác định độc lực của mầm bệnh *Salmonella*. Nhóm đối chứng sử dụng 2 chủng vi khuẩn âm tính với các gene độc. Chủng vi khuẩn phân lập được bồi dưỡng trong môi trường LB tại 37°C, lắc 200 vòng/phút trong 16 giờ. Chuẩn độ mật độ vi khuẩn ($OD_{600}=1.2$) ở bước sóng 600 nm. Tiến hành tiêm vào xoang phúc mạc chuột nhắt trắng (18–20g), mỗi chủng vi khuẩn tiêm cho 3 cá thể chuột. Theo dõi thời gian chết và số lượng chuột chết để đánh giá độc lực.

Kết quả kiểm tra độc lực của 12 chủng *Salmonella* phân lập được có 8 chủng vi có độc lực mạnh, giết chết toàn bộ chuột thí nghiệm, 2 chủng vi khuẩn có độc lực yếu, chỉ làm chết 1/3 chuột thí nghiệm và 2 chủng vi khuẩn không làm chết chuột. Trong 8 chủng vi khuẩn độc lực mạnh, có 4 chủng có độc lực rất mạnh giết chết chuột thí nghiệm trong 24 giờ và 4 chủng giết chết chuột thí nghiệm 25–36 giờ (Bảng 6). Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự kết quả của Võ Thành Thìn và cộng sự khi kiểm tra độc lực của *Salmonella* cho thấy 8/10 chủng có khả năng giết chết 100% chuột thí nghiệm, 2/10 chủng giết chết 50% chuột thí nghiệm, thời gian chết chuột là 12–36 giờ [6]. Kết quả mổ khám chuột bị chết do tiêm vi khuẩn *Salmonella* cho thấy phúc mạc, tim, phổi chuột vẫn bình thường, nhưng gan xung huyết và hoại tử nặng, dạ dày và ruột phình to, đầy hơi.

Bảng 6. Kết quả kiểm tra độc lực vi khuẩn *Salmonella* mang gene độc tố

Số chủng kiểm tra	Số chủng giết chết chuột						Số chủng không giết chết chuột		Thời gian chuột chết (giờ)	Phân lập lại vi khuẩn
	Giết 3/3 chuột		Giết 2/3 chuột		Giết 1/3 chuột		Số chủng	Tỷ lệ (%)		
	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)				
12	4	33,33	0	0	0	0	2	16,67	8-24	+
	4	33,33	0	0	2	16,67			25-36	
Tổng	8	66,66	0	0	2	16,67	2	16,67		

3.5 Kết quả xác định tính miễn cảm kháng sinh của một số chủng vi khuẩn *Salmonella* mang gene độc tố

Những chủng vi khuẩn phân lập được có độc lực cao được kiểm tra tính miễn cảm kháng sinh, kết quả thể hiện qua bảng 7.

Kết quả phân tích tính miễn cảm kháng sinh trên 8 chủng vi khuẩn *Salmonella* mang gene độc tố có độc lực cao cho thấy, vi khuẩn *Salmonella* miễn cảm cao (87,5-100%) với 2 loại kháng sinh Gentamycin và Enrofloxacin; miễn cảm trung bình với Amoxicillin, Doxycycline và Ceftiofur và đề kháng hoàn toàn kháng sinh Oxytetracycline. Nghiên cứu của Nguyễn Văn Sửu (2005) đã cho biết tình trạng kháng kháng sinh ngày càng gia tăng của các chủng *Salmonella* phân lập được từ gia súc mắc bệnh [5].

4 Kết luận

Từ 74 mẫu phân bê bị bệnh tiêu chảy nuôi tại Đức Trọng, Lâm Đồng đã phân lập được 38 chủng *Salmonella* mang đầy đủ các đặc tính sinh vật, hóa học của vi khuẩn như các tài liệu đã mô tả.

Kết quả PCR xác định gene độc tố của vi khuẩn *Salmonella* cho thấy có 12 chủng vi khuẩn có gene mã hóa độc tố, trong đó có 8 chủng (21,05 %) mang gene Stn và 8 chủng (21,05%) mang gene Inv A. 4/12 chủng vi khuẩn đồng thời mang yếu tố xâm nhập Inv A và độc tố đường ruột Stn (10,53%).

Vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ phân bê tiêu chảy đều có độc lực mạnh, giết chết toàn bộ chuột thí nghiệm trong 24-36 giờ.

Bảng 7. Kết quả đánh giá tính miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella*

TT	Kháng sinh	Số chủng kiểm tra	Đánh giá độ miễn cảm của <i>Salmonella</i>			
			Miễn cảm		Kháng	
			n	Tỷ lệ (%)	n	Tỷ lệ (%)
1	Amoxicillin	8	6	75,00	2	25,00
2	Gentamycin	8	7	87,50	1	12,50
3	Doxycycline	8	6	75,00	2	25,00
4	Ceftiofur	8	5	62,50	3	37,50
5	Oxytetracycline	8	0	0,00	8	100,00
6	Enrofloxacin	8	8	100,00	0	0,00

Những chủng *Salmonella* mang độc lực có khả năng gây tiêu chảy, mẫn cảm cao 87,5–100% với 2 loại kháng sinh Gentamycin và Enrofloxacin, mẫn cảm trung bình (62,5–75%) với Amoxicillin, Doxycycline và Ceftiofur, trong khi đó kháng hoàn toàn kháng sinh Oxytetracycline.

Tài liệu tham khảo

1. Lê Minh Chí (1995), *Bệnh tiêu chảy ở gia súc*, Báo cáo hội thảo khoa học, Bộ nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm, 20–22.
2. Vũ Thị Lê Na (2014), *Vai trò của E. coli và Salmonella spp. trong hội chứng tiêu chảy trên bê hướng sữa tại công ty cổ phần thực phẩm sữa TH*, Luận văn thạc sỹ, chuyên ngành Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.
3. Phạm Hồng Ngân (2008), *Phân lập, xác định serotype và một số yếu tố gây bệnh của Salmonella từ bê dưới 6 tháng tuổi*, *Khoa học kỹ thuật Thú y*, 15(2), 39–44.
4. Nguyễn Văn Quang (2004), *Vai trò của Salmonella và E. coli trong hội chứng tiêu chảy của bò, bê ở các tỉnh Nam Trung Bộ và bước đầu chế tạo thử kháng thể phòng trị bệnh*, Luận án tiến sĩ khoa học nông nghiệp, Viện thú y Hà Nội.
5. 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.
6. Võ Thanh Thìn, Lê Đình Hải và Đặng Văn Tuấn (2009), *Phân tích một số yếu tố độc lực của vi khuẩn Salmonella phân lập từ bê dưới 6 tháng tuổi mắc bệnh tiêu chảy tại Nam trung bộ và Tây Nguyên*, *Khoa học kỹ thuật Thú y*, 16(2), 32–36.
7. Nguyễn Quang Tuyên (1996), *Nghiên cứu đặc tính của một số chủng vi khuẩn Salmonella gây bệnh tiêu chảy ở bê, nghé và biện pháp phòng trị*, Luận án phó tiến sĩ khoa học nông nghiệp, Viện thú y Hà Nội.
8. Anwarullah M., Khan J. A., Khan M. S., Ashraf K. and Avais M. (2014), *Prevalence of Salmonella and Escherichia coli associated with diarrhea in buffalo and cow calves*, *Buffalo Bulletin*, 33(3), 332–336.
9. Cho Y. and Yoon K. J. (2014), *An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis and intervention*, *J. Vet Sci*, 15(1), 1–17.
10. Makino S., Kurazono H., Chongsanguam M., Hayashi H., Cheun H., Suzuki S. and Shirahata T. (1999), *Establishment of the PCR system specific to Salmonella spp. and its application for the inspection of food and fecal samples*, *J. Vet. Med. Sci.*, 61(11), 1245–1247.
11. Swamy S. C., Barnhard H. M., Lee H. D., Dresen D. W. (1996), *Virulence determinant invA and spvC in salmonella isolated from poultry product, waste water, and human sources*, *App. Environ. Microbiol.*; 62, 3768–3771.

DETERMINATION OF TOXICITY AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *SALMONELLA* SPP. STRAINS ISOLATED FROM DIARRHOEIC DAIRY CALVES IN DUC TRONG DISTRICT, LAM DONG PROVINCE

Nguyen Xuan Hoa^{1*}, Pham Dang Tuan², Le Tran Hoan¹, Le Quoc Viet¹, Le Van Phuoc¹,
Nguyen Duc Danh, Phan Vu Hai¹

¹ University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

² Veterinary Station in Gio Linh district, Quang Tri province

³ Hiep Thanh, Duc Trong district, Lam Dong province

Abstract: *Salmonella* has a strong ability to produce endotoxins, which is the cause of enteritis leading to cow diarrhea. By doing isolation of 74 diarrhoeic calf samples in Duc Trong district, Lam Dong province, Vietnam, the *Salmonella* infection rate of calves was 51.35%. The PCR result that identified the toxin gene of *Salmonella* showed that there were 12/38 bacteria strains with gene encoding the toxin, of which 8 strains (21.05%) were positive for the gene responsible for Stn, and 8 strains (21.05%) of bacteria had InvA. Especially, there were 4 strains of bacteria (10.53%) simultaneously having both invasion factor (InvA) and enterotoxin (Stn). 8/12 strains of *Salmonella* isolated from feces of diarrhoeic calves were highly virulent by killing all mice within 24-36 hours. *Salmonella* was highly sensitive (87.5–100%) with Gentamycin and Enrofloxacin, moderate susceptible (62.5–75%) to Amoxicillin, Doxycycline and Ceftiofur, while completely resistant to Oxytetracycline.

Key words: *Salmonella spp.*, Diarrhea, Duc Trong, Antimicrobial, Antibiotic

