

ĐÁNH GIÁ HOẠT LỰC CỦA CAO SEN (*Nelumbo nucifera gaertn*) TRÊN VI KHUẨN *Escherichia coli* GÂY TIÊU CHẢY HEO CON TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM

Đặng Thị Mỹ Tú*, Nguyễn Anh Thi**

ABSTRACT

Diarrhea is one of common symptom in piglets. This symptom is caused by many factors, one of them is *E.coli*. We studied more than 136 piglets at two different pig farms in Long Ho district, there were 78 piglets with diarrhea accounting for 57,35%. Isolation, cultivation and identification of *E.coli* from 46 diarrhea fecal samples, the result showed that the proportion of infected samples was 100% , with average density of *E.coli* was $140,95 \times 10^6$ CFU/gram feces. Testing the susceptibility of *E.coli* to antibiotics by antimicrobial susceptibility testing methods presented that *E.coli* was susceptible to Norfloxacin (60,00%) and Enrofloxacin (50,00%), resistant to Streptomycin (60,00%) and Florfenicol (50,00%). Different parts of *Nelumbo nucifera gaertn* were extracted in ethanol to make jelly. The extracted jelly was used to study the resistance to *E.coli* by Kirby-Bauer method (Bauer et al., 1959; Bauer et al., 1966; Hudzicki, 2014). The experiment was set into three treatments: NT1: extracted jelly of lotus young leaves, NT2: extracted jelly of lotus older leaves, NT3: extracted jelly of lotus seed-pod, ĐC (-): negative control treatment (-) without extracted jelly and ĐC (+): positive control treatment (+) with Amoxcixillin. The results showed that the resistance to *E.coli* of NT1, NT1 and NT3 at MIC = 128 μ g/ml was 25.5 ± 0.33 , 14.6 ± 0.18 ; 7.0 ± 0.81 , respectively. The resistance of extracted jelly of lotus young leaves was lower than commercial antibiotics like amoxicillin (MIC = 64 μ g/ml).

TÓM TẮT

Bệnh tiêu chảy là một trong những bệnh xảy ra thường xuyên trên heo con. Bệnh do nhiều nguyên nhân gây ra, đáng quan tâm là do vi khuẩn *E. coli*. Chúng tôi tiến hành khảo sát trên 136 heo con theo mẹ tại hai cơ sở chăn nuôi thuộc huyện Long Hồ, có 78 heo con bị tiêu chảy chiếm tỷ lệ 57,35%. Bằng phương pháp nuôi cấy, phân lập và định danh vi khuẩn *E. coli* từ 46 mẫu phân heo con tiêu chảy được thu thập, kết quả cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên mẫu phân tiêu chảy là 100%, mật số trung bình là $140,95 \times 10^6$ CFU/gram phân. Kiểm tra tính nhạy cảm của *E. coli* đối với kháng sinh bằng phương pháp kháng sinh đồ cho thấy chúng nhạy cảm với Norfloxacin (60,00%) và Enrofloxacin (50,00%), đề kháng lại kháng sinh

* Thạc sĩ, Khoa khoa học Nông nghiệp, Trường Đại học Cửu Long

** Thạc sĩ, Khoa khoa học Nông nghiệp, Trường Đại học Cửu Long

Streptomycin (60,00%) và *Florfenicol* (50,00%). Các bộ phận khác nhau của cây sen được ly trích bằng dung môi ethanol tạo cao sen. Cao sen sau khi ly trích được sử dụng để khảo sát khả năng kháng lại vi khuẩn *E. coli* bằng phương pháp Kirby-Bauer (Bauer et al., 1959; Bauer et al., 1966; Hudzicki, 2014). Thí nghiệm được bố trí 3 nghiệm thức: NT1: cao lá sen non, NT2: cao lá bánh tẻ, NT3: cao gương sen, ĐC (-): nghiệm thức đối chứng (-) không có cao sen và ĐC (+): nghiệm thức đối chứng (+) - amoxicillin. Kết quả cho thấy hiệu quả kháng khuẩn của NT1, NT2, NT3 ở 128µg/ml có giá trị lần lượt là 25.5 ± 0.33 ; 14.6 ± 0.18 ; 7.0 ± 0.81 . Khả năng kháng khuẩn của cao lá sen non thấp hơn so với kháng sinh thương mại amoxicillin (MIC = 64µg/ml).

1. Đặt vấn đề

Tiêu chảy trên heo con rất được các nhà chăn nuôi quan tâm và kháng sinh thường được sử dụng để điều trị, nhưng hiện nay sự phụ thuộc quá nhiều vào việc sử dụng kháng sinh không những làm tăng chi phí sản xuất, mà còn gây ra những tác hại không chỉ đối với động vật mà cả với con người như dư lượng kháng sinh trong sản phẩm động vật. Dư lượng kháng sinh trong sản phẩm động vật gây độc và gây dị ứng với người sử dụng, ngoài ra, còn gây ra những tác hại lớn hơn như gây ra hiện tượng kháng thuốc, làm khó khăn trong điều trị bệnh. Vì vậy, việc sử dụng các loại thảo dược có sẵn trong tự nhiên hay các chế phẩm sinh học để phòng và trị bệnh cho vật nuôi đã và đang được áp dụng rộng rãi.

Ở Việt Nam, có nhiều loại cây cỏ được sử dụng trị bệnh cho cả người và gia súc. Trong dân gian cũng rất hay sử dụng các loại thực vật để phòng trị bệnh tiêu chảy cho cả người và động vật, ví dụ như vỏ trái măng cụt, lá ổi,... Hiện nay, cây sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn) được sử dụng rộng rãi hơn trong y học cổ truyền và kinh nghiệm dân gian để trị mất ngủ, cầm máu, và trị tiêu chảy trên người, dù chưa có những nghiên cứu khoa học chứng minh về hiệu quả điều trị. Theo Văn Quốc Hoàng (2012)

khi khảo sát các thành phần có trong lá sen thì lá sen chứa 0,2 - 0,3% tanin, 0,77 - 0,84% alkaloid, trong đó có nuciferin (chủ yếu), nor-nuciferin, roemerin, pro-nuciferin, vitamin C, các acid citric, tartaric, succinic. Ngoài ra, còn có quercetin, isoquercitrin, nelumbosid, leucocyanidin, leuco-delphinidin. Tỷ lệ hoạt chất có trong lá sen non cao hơn sen bánh tẻ và lá già.

2. Phương tiện và phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương tiện

Dụng cụ và trang thiết bị được sử dụng trong thí nghiệm gồm: đĩa petrifilm 3M (U.S.A), autoclave (tủ hấp ướn), tủ cấy vô trùng, tủ ẩm, cân điện tử, ống nghiệm, pipet, que cấy, đèn cồn, kẹp, tấm bông vô trùng, thang đo pH và một số vật dụng khác.

Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm gồm: cồn, HCl 1N, NaOH 1N, dung dịch muối sinh lý (0,85 - 0,9%), nước cất, bộ test sinh hóa IDS 14 GNR (Việt Nam sản xuất), các loại kháng sinh dùng để làm kháng sinh đồ Florfenicol, Enrofloxacin, Streptomycin, Norfloxacin, hai loại kháng sinh được dùng tại hai trại là Gentamycin + B. Complex (trại A), Oxytetracycline dihydrate + Bio Coc (trại

B). Môi trường: TSA (Tryptone soya agar), Mueller - Hinton agar (MHA)

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp thực hiện và thu mẫu

Trực tiếp quan sát để phát hiện heo tiêu chảy, phỏng vấn chủ trại chăn nuôi về những thông tin cần thiết; thông tin điều tra được ghi vào phiếu điều tra có nội dung in sẵn (số heo mắc tiêu chảy, các triệu chứng, số heo chết...)

Thu thập 46 mẫu phân heo con bị tiêu chảy giai đoạn theo mẹ từ sơ sinh đến 21 ngày hoặc 28 ngày. Dùng tăm bông vô trùng ngoáy sâu vào trực tràng heo mắc tiêu chảy và chưa dùng thuốc điều trị, cho tăm bông thấm ướt phân heo, lấy ra cho ngay vào type hay ống nghiệm vặn chặt, ghi ký hiệu mẫu hay dùng bọc nylon sạch lấy mẫu phân vừa mới thải ra từ hậu môn heo con. Mỗi mẫu lấy khoảng 2 - 3 gram phân. Bảo quản lạnh 4 - 8°C và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 24 giờ. Mẫu được phân tích trong ngày.

2.2.2. Phương pháp định lượng và định danh vi khuẩn *E. coli*

- *Pha loãng mẫu*: Chuẩn bị 6 ống nghiệm và cho vào các ống nghiệm là 9 ml nước muối sinh lý đem vô trùng. Cân 1 gram mẫu cho vào ống nghiệm đầu tiên, lắc kỹ ống nghiệm cho mẫu phân tan. Dùng pipet hút 1ml cho vào ống nghiệm thứ 2, trình tự được thực hiện tương tự cho đến ống nghiệm thứ 6. Như vậy mẫu đã được pha loãng thành dãy các nồng độ thập phân 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000, 1/1000000. Trãi đều 1ml mẫu ở ống nghiệm thứ 6 lên đĩa petrifilm và tiến hành ủ mẫu trong tủ ấm ở 37°C, 24 giờ. Đĩa petrifilm có thể đếm khuẩn lạc bằng mắt thường hay máy đếm. Đếm

số khuẩn lạc có màu xanh có bọt khí. Các khuẩn lạc có thể lấy ra được để định danh. Kéo tấm màng phía trên và lấy khuẩn lạc từ lớp gel.

- *Phương pháp nhân số lượng vi khuẩn *E. coli**: Trên cơ sở xác định số lượng vi khuẩn *E. coli* ở trên, dùng que cấy vòng phết nhẹ vào khuẩn lạc mọc riêng lẻ nghi là *E. coli* trên đĩa petrifilm sau đó cấy vào môi trường thạch TSA (Tryptone soya agar). Ủ mẫu ở 37°C trong 24 giờ, vi khuẩn sẽ mọc dọc đường cấy và có màu trắng đục.

- *Phương pháp định danh vi khuẩn *E. coli* bằng bộ kit IDS 14 GNR*: Vi khuẩn *E. coli* được định danh bằng các phản ứng sinh hóa trên bảng nhựa của bộ kit IDS 14 GNR. Dùng tăm bông vô trùng lấy khúm khuẩn lạc trên môi trường TSA cho vào 5ml nước muối sinh lý vô trùng để làm thành dịch vi khuẩn *E. coli*, độ đục của dịch vi khuẩn tương đương với Mc Farland 0,5. Dùng micropipet lấy 200µl dịch vi khuẩn cho vào 10 giếng trên bản nhựa. Giếng 1,4 cho 2 giọt thuốc thử parafilm; giếng 2 cho 1 giọt Nitrite; giếng 5 cho 1 giọt FeCl₃; giếng 8 cho 1 giọt Kovac; giếng 9 cho 1 giọt KOH và α-naphttol. Đậy nắp bảng nhựa lại và ủ trong tủ 35 - 37°C/12 - 24 giờ. Đọc kết quả sau khi ủ đối với những giếng không cần thuốc thử, đối với những thử nghiệm cần thuốc thử thì đọc kết quả sau khi thêm thuốc thử.

2.2.3. Phương pháp thực hiện kháng sinh đồ:

Nguyên tắc: Tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm của một chất được xác định dựa trên sự khuếch tán của chất thử thể hiện qua vòng kháng khuẩn hoặc kháng nấm xung quanh một đĩa giấy đặt trên mặt thạch hoặc một lỗ cắt từ thạch. Đường kính vòng kháng khuẩn, kháng

nằm được dùng để đánh giá hoạt lực của chất thử (Marie B. Coyle et al, 2005 và Mary Jane Ferraro, 2009)

Phương pháp: Canh khuẩn chuẩn bị chứa vi khuẩn khoảng 10^8 CFU/ml (độ đục tương đương với ống McFarland 0.5). Dùng pipet hút 10 μ l canh khuẩn cho lên bề mặt thạch dùng que chan trải đều lên khắp mặt thạch Mueller - Hinton agar (MHA). Đặt các đĩa kháng sinh lên mặt thạch sao cho hai đĩa cách nhau 2,5cm - 3,5cm và cách mép hộp thạch 2 cm - 2,5cm, phải đảm bảo các đĩa kháng sinh tiếp xúc phẳng với mặt thạch. Đem ủ ở 37°C trong 24 giờ. Sau đó tiến hành đọc kết quả. Đọc kết quả kháng sinh đồ được thực hiện bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn sau đó so sánh với bảng tiêu chuẩn đường kính vòng vô khuẩn của kháng sinh (CLSI, 2015).

2.2.4. Phương pháp ly trích cao sen

Lá sen bánh tẻ (không già, không non), lá sen non, gương sen (bỏ hạt) được thu hái ở ao sen trường Đại học Cửu Long. Nguyên liệu sen sau khi thu hái được rửa sạch để loại bỏ tạp chất và được cắt thành sợi với chiều rộng khoảng 3-5mm để chuẩn bị cho quá trình sấy. Sấy nguyên liệu ở $60 \pm 2^\circ\text{C}$ trong 16 giờ nhằm mục đích bảo quản. Sau đó, nguyên liệu được nghiền nhỏ tạo thuận lợi cho quá trình trích ly. Sau sấy nguyên liệu được bảo quản ở nhiệt độ khoảng 10°C trong tủ mát để tiến hành ly trích. Mỗi thí nghiệm được thực hiện với 10g nguyên liệu và 250ml dung môi (cồn 70%). Sau khi ly trích bằng Soxhlet, dịch trích được cô đặc trên bếp. Cuối cùng sấy phần cao lá sen thu được ở nhiệt độ $105 \pm 2^\circ\text{C}$ đến khối lượng không đổi thu được phần chất khô (Hồ Công Trục, 2016).

2.2.5. Phương pháp xác định hoạt tính kháng *E.coli*:

Hút 20 μ l dịch huyền phù của chủng vi khuẩn thử nghiệm có số lượng tế bào của vi khuẩn khoảng 10^8 CFU/ml nhỏ vào môi trường và trải đều trên mặt thạch cho đến khi khô bằng que chan. Dùng khoan nút chai vô trùng đường kính 6mm đục 1 lỗ thạch ở giữa đĩa. Nhỏ vào lỗ thạch 100 μ l dung dịch cao chiết. Lặp lại 3 lần với mỗi loại cao thử nghiệm. Ủ mẫu ở điều kiện 37°C trong 24-48h rồi kiểm tra, đo đường kính vòng vô khuẩn, chụp hình và ghi lại kết quả.

2.2.6. Phương pháp xác định nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu (MIC):

- *Chuẩn bị cao chiết:* cao chiết được pha với dung môi ethanol 70° thành các nồng độ 8, 16, 32, 64, 128 $\mu\text{g/ml}$. Dịch nuôi vi khuẩn được pha loãng trong nước muối sinh lý tương đương độ đục $\geq 0,5$ Mc Farland mật số vi khuẩn là 10^8 CFU/ml được trải đều trên môi trường MHA. Đĩa thạch được để khô 15 phút trước khi đặt khoanh giấy có tẩm cao sen.

- Cao sen ở các nồng độ khác nhau (100 μ l) được cho lên khoanh giấy (đường kính 6mm) vô trùng. Ở NT đối chứng do sử dụng ethanol để pha cao chiết nên ảnh hưởng của ethanol lên sự phát triển của vi khuẩn cũng được khảo sát. Mỗi đĩa thạch được đặt từ 3 - 4 khoanh giấy tẩm cao chiết, sau đó để khô. Các nồng độ 80, 160, 320, 640, 1280 $\mu\text{g/ml}$ được sử dụng trong khảo sát, mỗi nồng độ được lặp lại 3 lần. Các đĩa thạch được ủ ở 37°C trong 24 - 48 giờ. Đo đường kính vòng vô khuẩn, đường kính vùng ức chế được đo bằng thước đo đơn vị mm, chụp hình và ghi lại kết quả.

- Kháng sinh amoxicillin cũng được sử dụng trong thí nghiệm như đối chứng dương nhằm đánh giá và so sánh hiệu quả của cao sen và kháng sinh thương mại. Amoxicillin cũng được pha thành các nồng độ tương tự như cao chiết để khảo sát MIC của kháng sinh này. MIC được tính ở đĩa có nồng độ cao sen pha loãng thấp nhất mà tại đó xuất hiện vòng vô khuẩn, nên nồng độ ức chế tối thiểu càng thấp thì khả năng kháng khuẩn càng cao.

2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý bằng Excel và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích

Anova. So sánh tỷ lệ tiêu chảy và tỷ lệ tiêu chảy theo độ tuổi của hai trại, tỷ lệ chữa khỏi bằng phương pháp chi bình phương χ^2 (Chi - Square test) trên phần mềm thống kê Minitab version 16.0.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả khảo sát tỷ lệ hội chứng tiêu chảy trên heo con theo mẹ

Qua khảo sát 136 heo con giai đoạn theo mẹ đến 28 ngày tuổi tại hai trại heo nuôi thương mại trên địa bàn huyện Long Hồ, kết quả ghi nhận được 78 heo con bị tiêu chảy

Bảng 1. Tỷ lệ tiêu chảy và chết do tiêu chảy trên heo con theo mẹ tại hai trại chăn nuôi ở huyện Long Hồ tỉnh Vĩnh Long

Địa điểm	Số heo con khảo sát (con)	Số heo con tiêu chảy (con)	Tỷ lệ (%)	Số con chết do tiêu chảy	Tỷ lệ (%)
Trại A	47	12	25,53 ^b	0	00,00
Trại B	89	66	74,15 ^a	5	7,57
Tổng số	136	78	57,35	5	7,57

(a,b: Các giá trị trong cùng một cột mang các số mũ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$)

Ghi chú: trại A: Hoàng Anh; trại B: Hoàng Thanh

Heo con tiêu chảy từ sơ sinh đến 28 ngày tuổi xuất hiện ở cả hai cơ sở chăn nuôi thuộc huyện Long Hồ, tỉnh Vĩnh Long. Tỷ lệ tiêu chảy ở heo con từ sơ sinh đến 28 ngày tuổi là khá cao, với tỷ lệ tiêu chảy trung bình tại hai cơ sở là 57,35%. Trong đó, heo con tại trại B có tỷ lệ mắc tiêu chảy là 74,15% cao hơn so với trại A là 25,53%. Tỷ lệ tiêu chảy của heo con ở hai trại khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Lý Thị Liên Khai (2009), tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên heo con theo mẹ bị tiêu

chảy ở Bến Tre là 37,83%. Qua ghi nhận thực tế tại hai trại, thì ở trại B có heo con chết do tiêu chảy chiếm 7,57%.

Theo Hồ Văn Nam và *ctv.*, (1997) và Trịnh Văn Thịnh (1985) thì các yếu tố ngoại cảnh: khí hậu, ẩm độ, điều kiện chuồng nuôi, chăm sóc, khẩu phần ăn không thích hợp... làm giảm khả năng miễn dịch ảnh hưởng đến sức khỏe của heo con, khi gặp các điều kiện bất lợi vi sinh vật gây bệnh có cơ hội xâm nhập và nhân mật số dẫn đến nhiều bệnh trong đó có tiêu chảy chiếm tỷ lệ khá cao. Theo Nguyễn Thị

Kim Lan và *ctv.*, (2006) thì điều kiện chuồng trại, điều kiện vệ sinh thú y tốt tỷ lệ tiêu chảy là 8%, thấp hơn rõ rệt so với nuôi trong điều kiện vệ sinh thú y kém (20,35%). Theo khảo sát thì tại trại B chuồng trại chật hẹp, ẩm thấp, khâu vệ sinh chuồng trại chưa chặt chẽ, chăm

sóc chưa tốt, heo con chưa được giữ ấm nên tỷ lệ tiêu chảy và chết do tiêu chảy của trại B cao hơn trại A và cũng là nguyên nhân dẫn đến tình trạng trại B có heo con chết do tiêu chảy.

3.2. Phân lập và định danh vi khuẩn *E.coli*

Bảng 2. Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* trên phân heo con theo mẹ tại huyện Long Hồ tỉnh Vĩnh Long

Địa điểm	Số mẫu khảo sát	<i>E. coli</i> dương tính	
		Số lượng (mẫu)	Tỷ lệ (%)
Trại A	11	11	100
Trại B	35	35	100
Tổng số	46	46	100

Ghi chú: trại A: Hoàng Anh; trại B: Hoàng Thanh

Kết quả bảng 2 cho thấy, tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên phân heo con theo mẹ tại hai trại chiếm tỷ lệ (100%). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Lý Thị Liên Khai (2009) tỷ lệ dương tính với vi khuẩn *E. coli* trên heo con theo mẹ ở tỉnh Bến Tre là 100%. Điều này phù hợp với nhận định của Đào Trọng Đạt (1999) *E.coli* sinh sống bình thường trong ruột già

của động vật, khi các điều kiện nuôi dưỡng, khẩu phần thức ăn, vệ sinh thú kém, sức chống đỡ bệnh tật của con vật yếu thì *E. coli* trở nên cường độc và có khả năng gây bệnh. Và kết quả này phần nào chứng tỏ rằng vi khuẩn *E. coli* yếu tố gây bệnh tiêu chảy cho heo từ sơ sinh đến cai sữa nuôi tại hai trại chăn nuôi.

Bảng 3. Kết quả định lượng vi khuẩn *E. coli* trong mẫu phân heo con bị tiêu chảy của hai cơ sở chăn nuôi

Trại	Số mẫu	10 ⁶ CFU/g phân
A	11	185,0
B	35	127,1
Tổng	46	140,95
Ghi chú: trại A: Hoàng Anh; trại B: Hoàng Thanh		

Số lượng vi khuẩn *E. coli* có trong đường ruột của heo bị tiêu chảy rất cao là 140,95x10⁶ CFU/gram phân, trong đó mật độ của trại A là 185,0 x10⁶ CFU/gram phân cao hơn trại B là

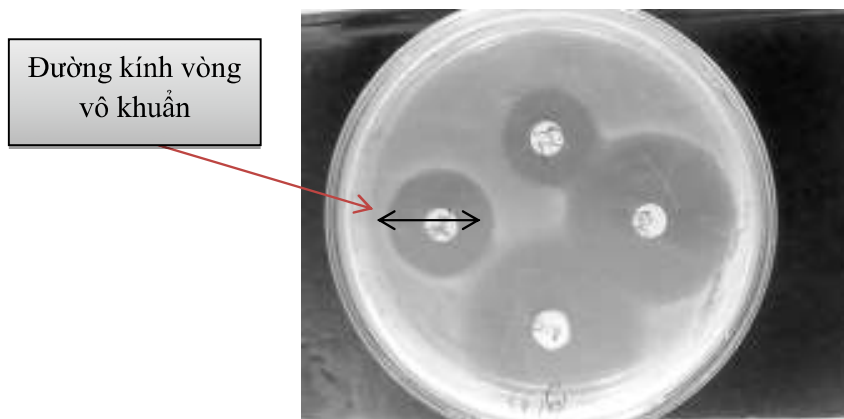
127,1x10⁶ CFU/gram phân. Kết quả này cũng phù hợp với nhận định của Bùi Trung Trực và *ctv.*, (2004), trong phân heo con theo mẹ bình thường có số lượng vi khuẩn *E. coli* trung bình

là $50,03 \times 10^6$ CFU /gram phân. Trong khi đó số lượng *E. coli* trên phân heo tiêu chảy khá lớn ($138,97 \times 10^6$ CFU)/gram phân. Kết quả này cũng phù hợp với một số tác giả khác, đó là sự tăng lên về số lượng của vi khuẩn trong đường ruột của heo mắc tiêu chảy, theo nghiên cứu của Hồ Soái và Đinh Thị Bích Liên (2005) cũng phân lập *E. coli* ở heo từ sơ sinh đến 42 ngày là $132,79 \times 10^6$ CFU/gram phân, cao gấp 2,37 lần so với heo không bị tiêu chảy.

Từ dẫn chứng các nghiên cứu khoa học trên cùng với kết quả của nghiên cứu này, cho thấy có sự tăng lên về số lượng vi khuẩn *E. coli* trong phân heo con bị tiêu chảy và mật số này khác nhau giữa các trại. Các yếu tố như thể trạng, điều kiện chăm sóc nuôi dưỡng, tập quán chăn nuôi... có ảnh hưởng đến số lượng vi khuẩn gây bệnh.

3.3. Khảo sát sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli*

Sự đề kháng kháng sinh Streptomycin và Florfenicol của vi khuẩn *E. coli* phân lập được ở hai cơ sở chăn nuôi khá cao. Bên cạnh đó, vi khuẩn *E. coli* phân lập được lại cho kết quả nhạy với Norfloxacin và Enrofloxacin. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với nhận định của Bùi Trung Trực và *ctv.*, (2004) và Lê Thị Hoài (2008) vi khuẩn *E. coli* nhạy cảm mạnh với Norfloxacin và nhạy với Enrofloxacin (70%), và khả năng kháng kháng sinh Streptomycin cao (88,68%) (Đỗ Ngọc Thúy và *ctv.*, 2002). Từ kết quả nghiên cứu trên cho thấy nên sử dụng Norfloxacin và Enrofloxacin trong điều trị hội chứng tiêu chảy ở hai cơ sở chăn nuôi thuộc huyện Long Hồ tỉnh Vĩnh Long vì khả năng miễn cảm của vi khuẩn còn cao với hai loại kháng sinh trên



Hình 1. Vòng vô khuẩn của kháng sinh

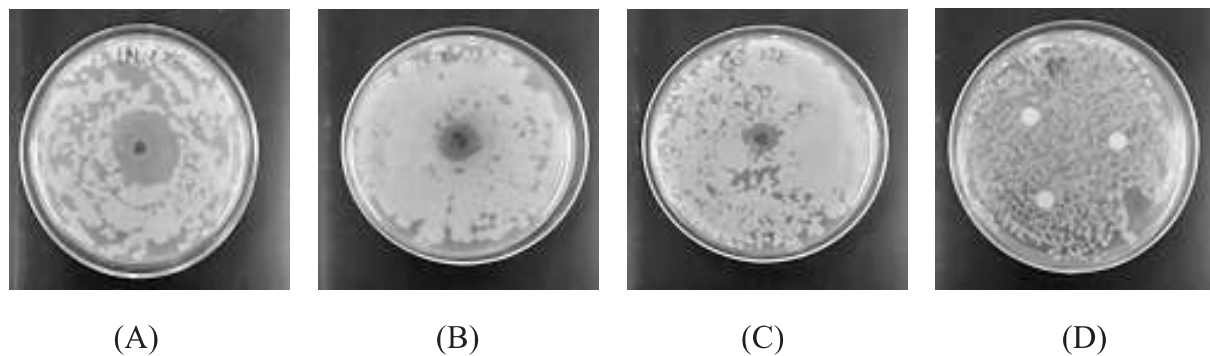
3.4. Khảo sát khả năng kháng khuẩn của cao sen và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Khả năng kháng khuẩn của cao sen được dựa trên khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn thể hiện ở đường kính vòng kháng khuẩn được tạo ra trên đĩa petri được trình bày ở hình 2.

Kết quả mô tả ở hình 2 cho thấy cao sen có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *E.coli* với vòng vô khuẩn cao nhất là cao lá sen non (26mm), kế đến là cao lá bánh tẻ (> 14mm) và cuối cùng là cao gương sen (< 6mm), ở cùng nồng độ cao là > 128 µg/ml. Khả năng kháng khuẩn của cao sen thấp hơn nghiên cứu của

Đài Thị Xuân Trang & cs (2015) thử nghiệm trên cao methanol Hà Thủ Ô cũng cho kết quả kháng cao với vi khuẩn *E.coli* nhưng cho kết

quả kháng ở nồng độ thấp hơn (16 µg/ml) cho vòng vô khuẩn là 25.3 ± 0.6 mm.



Hình 2. Vòng vô khuẩn của cao sen đối với *E.coli*

Ghi chú: (A): NT1, (B): NT2, (C): NT3, (D): ĐC

Hiệu quả kháng khuẩn của từng loại cao sen với dãy nồng độ khác nhau đối với chủng vi khuẩn *Escherichia coli* khi thử nghiệm bằng phương pháp pha loãng, sử dụng khoan giấy vô trùng đường kính 6mm, kết quả được trình bày ở Bảng 13. Kết quả cho thấy hoạt tính kháng khuẩn của các loại cao sen cho đường

kính vòng kháng khuẩn lớn nhất ở nồng độ của cao là 128 µg/ml ở cả 3 nghiệm thức. Kết quả cũng cho thấy vi khuẩn *E.coli* nhạy cảm với cao lá sen non hơn khi so với cao lá bánh tẻ và cao gương sen và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức độ $P < 0.05$.

Bảng 4. Khả năng kháng khuẩn của cao sen ở các nồng độ khác nhau

Nồng độ cao sen (µg/ml)	Đường kính vòng vô khuẩn $d \pm SE$ (mm)			
	NT1	NT2	NT3	ĐC
0	$0.0^e \pm 0.33$	$0.0^e \pm 0.18$	$0.0^e \pm 0.81$	-
8	$8.8^d \pm 0.33$	$6.4^d \pm 0.18$	$4.1^d \pm 0.81$	-
16	$13.0^c \pm 0.33$	$11.6^c \pm 0.18$	$4.4^{cd} \pm 0.81$	-
32	$13.3^{bc} \pm 0.33$	$13.2^b \pm 0.18$	$4.5^c \pm 0.81$	-
64	$14.7^b \pm 0.33$	$14.3^a \pm 0.18$	$5.2^b \pm 0.81$	-
128	$25.5^{a*} \pm 0.33$	$14.6^a \pm 0.18$	$7.0^a \pm 0.81$	-

Ghi chú: Kết quả $\pm$ với độ lệch chuẩn của từng giá trị. Các mẫu tự theo sau các giá trị trong cùng một cột khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. (*) là sự khác

biệt giữa các nghiệm thức có ý nghĩa ở mức 5%. (-) là không kháng khuẩn.

Khả năng kháng khuẩn của cao sen được xác định dựa trên giá trị MIC (nồng độ ức chế

tối thiểu). MIC được xác định ở đĩa có nồng độ cao thấp nhất có thể ức chế được sự phát triển của vi khuẩn, có nghĩa là nồng độ cao chiết thấp nhất có xuất hiện vòng vô khuẩn có mức độ tác động mạnh, nên nồng độ ức chế tối thiểu càng thấp thì khả năng kháng khuẩn càng cao.

Kết quả trình bày ở bảng 13 cho thấy, vòng vô khuẩn của các NT1, NT2, NT3 lần lượt là 25.5 ± 0.33 mm, 14.6 ± 0.18 mm, 7.0 ± 0.81 mm với cùng nồng độ là 128 $\mu\text{g/ml}$. Từ kết quả đó cho thấy giá trị MIC của NT1 (cao

lá sen non) trên chủng vi khuẩn *E.coli* là 128 $\mu\text{g/ml}$. Hoạt tính kháng khuẩn của cao lá sen non khi so sánh với các cao chiết khác trên vi khuẩn *E.coli* thông qua giá trị MIC ($\mu\text{g/ml}$). Kết quả này thấp hơn khi so sánh với nghiên cứu của Đái Thị Xuân Trang & cs (2015) trên cao Hà Thủ Ô (16 $\mu\text{g/ml}$), cao hơn nghiên cứu của Mai Thị Trà Giang (2014) trên cao vỏ quả lựu (53.33 mg/ml), dịch chiết cao cây Trinh nữ (4 mg/ml) và cao thân cây Chiêu liệu nghệ (625 $\mu\text{g/ml}$).

Bảng 5. Nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu (MIC) của cao và kháng sinh amoxicillin

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
	<i>E.coli</i>
Cao lá sen non	128
Amoxicillin	64

Khả năng kháng chủng vi khuẩn *E.coli* của amoxicillin (64 $\mu\text{g/ml}$) cao hơn khi so sánh với lá sen non (128 $\mu\text{g/ml}$). Tuy cao lá sen non có nồng độ ức chế tối thiểu cao hơn khi so sánh với amoxicillin, nhưng việc nghiên cứu sử dụng cao lá sen trong điều trị tiêu chảy trên heo con có thể giúp giảm việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi.

4. Kết luận

Tỷ lệ tiêu chảy của heo con theo mẹ tại hai trại là 57,35%. Tỷ lệ chết của heo con bị tiêu chảy là 7,57%. Các mẫu phân heo con tiêu chảy tại hai cơ sở chăn nuôi heo đều dương tính với *E. coli* (100%) và có mật số vi khuẩn trung bình là $140,95 \times 10^6$ CFU/gram.

Cao sen (cao lá sen non) có khả năng

kháng vi khuẩn *E.coli* với MIC = 128 $\mu\text{g/ml}$. Hoạt tính kháng khuẩn của cao lá sen non thấp hơn (MIC = 128 $\mu\text{g/ml}$) khi so sánh với kháng sinh amoxicillin (64 $\mu\text{g/ml}$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC and Turck M, 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 36:493-496.
2. Bauer AW, Perry DM and Kirby WMM, 1959. Single disk antibiotic sensitivity testing of Staphylococci. A.M.A. Arch. Intern. Med. 104:208 - 216.
3. Bùi Trung Trực, Nguyễn Việt Nga, Thái Quốc Hiếu, Lê Thanh Hiếu, Nguyễn Ngọc Tuấn, Trần Thị Dân. 2004. Phân lập và định

- type kháng nguyên vi khuẩn *E. coli* trong phân heo nái, heo con tại Tỉnh Tiền Giang. Khoa học kỹ thuật thú y.
4. Cây thủy sinh - thủy canh. 2017. Cây hoa sen. <http://chohoaonline.com/p/cay-hoa-sen>
 5. CLSI. 2015. Clinical & Laboratory Standard Institute. <http://www.vishinhoc.net/clsi-2015/>
 6. Cổng thông tin điện tử Vĩnh Long. <http://vinhlong.gov.vn/Default.aspx?tabid=1255>
 7. Chăn nuôi Việt Nam, thông tin chuyên ngành chăn nuôi. 2016. <http://channuoivietnam.com/tinh-hinh-san-xuat-chan-nuoi-thang-62016/>
 8. Đái Thị Xuân Trang, Lâm Hồng Bảo Ngọc, Võ Thị Tú Anh. 2015. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của cao methanol cây Hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juventas* MERR.). Phần A: Khoa Khoa học Tự nhiên, Công nghệ và Môi trường. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 40 (2015): 1-6
 9. Đào Trọng Đạt, Phan Thanh Phượng, Lê Ngọc Mỹ và Huỳnh Văn Khánh. 1999. Bệnh ở lợn nái và lợn con. NXB Nông Nghiệp, Hà Nội.
 10. Đỗ Ngọc Thúy, Cù Hữu Phú, Nguyễn Ngọc Nhiên, Nguyễn Xuân Huyền, Âu Xuân Tuấn, Văn Thị Hường, Đào Thị Hào, Vũ Ngọc Quý. 2002. Kết quả điều tra tình hình tiêu chảy của lợn con theo mẹ tại một số trại lợn miền Bắc Việt Nam, xác định tỷ lệ kháng kháng sinh và các yếu tố gây bệnh của các chủng *E. coli* phân lập được báo cáo khoa học CNTY (2002 - 2003).
 11. Hồ Công Trực. 2016. Khảo sát các phương pháp trích ly lá sen (*Nelumbo nucifera*) trồng tại huyện Long Hồ, tỉnh Vĩnh Long. Đề tài nghiên cứu khoa học cấp khoa, chuyên ngành công nghệ thực phẩm, khoa Khoa học Nông nghiệp, Trường Đại học Cửu Long.
 12. Hồ Soái, Đinh Thị Bích Lân. 2005. Xác định nguyên nhân chủ yếu gây bệnh tiêu chảy ở lợn con tại xí nghiệp lợn giống Triệu Hải - Quảng Trị và thử nghiệm phác đồ điều trị. Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y.
 13. Hồ Văn Nam, Nguyễn Thị Đào Nguyên, Trương Quang, Phùng Quốc Chường, Chu Đức Thắng, Phạm Ngọc Thạch. 1997. Bệnh viêm ruột ỉa chảy ở lợn. Tạp chí khoa học kỹ thuật Thú y.
 14. Hudzicki J, 2014. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology MicrobeLibrary.
 15. Lê Thị Hoài. 2008. Xác định vai trò gây bệnh của vi khuẩn *E. coli*, *C. perfringens* trong hội chứng tiêu chảy ở lợn từ sơ sinh đến 60 ngày tuổi tại Hưng Yên và thử nghiệm phác đồ điều trị. Luận văn thạc sĩ khoa học Nông nghiệp, Đại học Thái Nguyên.
 16. Lý Thị Liên Khai. 2009. Phân lập và định danh các chủng vi khuẩn *Escherichia coli* K88, K99, 978P gây bệnh tiêu chảy trên heo con theo mẹ tại huyện Mỏ Cày Nam tỉnh Bến Tre.
 17. Mai Thị Trà Giang. 2015. Khảo sát về mặt thực vật học và thử hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các dịch chiết từ cây trinh nữ (*Mimosa Pudica* L.) và quả lựu (*Punica granatum* L.). Luận văn Thạc sĩ sinh học. Trường Đại học Sư phạm TP. Hồ Chí Minh.

18. Nguyễn Thị Kim Lan, Nguyễn Thị Minh, Lê Thị Ngân. 2006. Một số đặt điểm dịch tễ hội chứng tiêu chảy ở lợn tại Thái Nguyên. Tập chí Khoa học kỹ thuật Thú y. tập XIII.
19. Tiêu chảy nhiễm khuẩn do vi khuẩn đường ruột. 2009. Viện sốt rét ký sinh trùng - côn trùng Quy Nhơn. <http://www.impe-qn.org.vn/impe-qn/vn/portal/InfoDetail.jsp?area=58&cat=1101&ID=2761>
20. Tổng cục thống kê, cục thống kê tỉnh Vĩnh Long. 2016. <http://thongkevinhlong.gov.vn/ChiTietTin.aspx?id=88>
21. Trịnh Văn Thịnh. 1985. Bệnh lợn con ở Việt Nam. NXB Khoa học kỹ thuật, Hà Nội.
22. Văn Quốc Hoàng. 2012. Cây sen <https://www.thaythuoccuaban.com/vithuoc/sen.htm>
23. Vĩnh Long online. http://www.baovinhlong.com.vn/kinh-te/nong-nghiep/201412/mot-nam-chan-nuoi-nhieu-khoi-sac-2564920/#.WQicUMKg_IU

Ngày nhận bài: 5/4/2018

Ngày gửi phản biện: 15/4/2018