

## ẢNH HƯỞNG CỦA KHẨU PHẦN ĂN GIÀU PROTEIN ĐẾN KHẢ NĂNG GÂY BỆNH CỦA BA LOÀI *BRACHYSPIRA* DUNG HUYẾT YẾU Ở LỢN THỊT

Nguyễn Thị Tuyết Lê<sup>1\*</sup>, Anja Rothkamp<sup>2</sup>, Frank Seeliger<sup>2</sup>, Michael Wendt<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Thú y Hannover, CHLB Đức

\*Tác giả liên hệ: tuyetle\_hua@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 18.08.2020

Ngày chấp nhận đăng: 14.09.2020

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của khẩu phần ăn giàu protein đến khả năng gây bệnh của 3 loài *Brachyspira* dung huyết yếu là *B. innocens*, *B. murdochii* và *B. intermedia* ở lợn thịt. Tổng số 67 con lợn thịt có khối lượng bình quân là  $15,6 \pm 3,1$ kg được cho ăn với khẩu phần có chứa 50% khô đậu tương trong 7 ngày. Kết quả của 3 nhóm thí nghiệm (TN) với 3 loài *Brachyspira* dung huyết yếu được so sánh với nhóm đối chứng (ĐC) dương (lây nhiễm với *B. hyodysenteriae*,  $n = 15$ ) và nhóm ĐC âm ( $n = 3$ , không lây nhiễm) ở các chỉ tiêu về lâm sàng, tình trạng phân, biến đổi bệnh lý ở niêm mạc ruột, tăng khối lượng cơ thể và hiệu quả sử dụng thức ăn. Kết quả cho thấy, tất cả 15 con lợn ở nhóm lây nhiễm với *B. hyodysenteriae* đều xuất hiện tiêu chảy xuất huyết sau 1-13 ngày lây nhiễm. Trái lại, 3 nhóm lây nhiễm với các *Brachyspira* dung huyết yếu đều không có biểu hiện triệu chứng lâm sàng cũng như biến đổi bệnh lý đại thể rõ rệt của bệnh hồng lỵ khi so sánh với nhóm ĐC. Mặc dù 3 loài *Brachyspira* dung huyết yếu có thể cư trú và tăng sinh ở niêm mạc ruột già của lợn nhưng không gây bất cứ triệu chứng lâm sàng cũng như không có biến đổi bệnh lý ở niêm mạc ruột điển hình của bệnh hồng lỵ.

Từ khóa: *Brachyspira* (*B.*) *hyodysenteriae*, *B. innocens*, *B. murdochii*, *B. intermedia*, tiêu chảy, bệnh hồng lỵ, lợn thịt.

### The Effects of a Protein Rich Diet on Pathogenicity of Three Weak $\beta$ -haemolytic *Brachyspira* Species in Fattening Pigs

#### ABSTRACT

This study was performed to evaluate the influence of a protein rich diet as a provocative factor on producing the clinical disease after infection with three weak  $\beta$ -haemolytic *Brachyspira* species (*B. innocens*, *B. murdochii* and *B. intermedia*) in fattening pigs. A total of 67 pigs with an average body weight of  $15.6 \pm 3.1$ kg were fed a diet containing 50% extracted soybean meal for seven days. The results of the experimental groups (infection with weakly haemolytic *Brachyspira* species *B. innocens*,  $n = 15$ , *B. murdochii*,  $n = 24$  and *B. intermedia*,  $n = 10$ ) were compared with those of the positive control group (infection with *B. hyodysenteriae*,  $n = 15$ ) and the negative control group ( $n = 3$ ; no inoculation). The results showed that all 15 pigs inoculated with *B. hyodysenteriae* developed mucohaemorrhagic diarrhea after an incubation period of one to 13 days. In contrast, diarrhea could not be detected in the three groups inoculated with weakly haemolytic *Brachyspira* species. These groups also showed no significant difference in the average weight gain and feed conversion ratio with no pathological findings typical for dysentery among themselves. It can be therefore concluded that the examined strains of weakly haemolytic *Brachyspira* species could colonize and proliferate in the mucosa of the large intestine after the experimental infection. Faecal shedding occurred regularly, but no clinical symptoms of swine dysentery could be produced in the experimental pigs.

Keywords: *Brachyspira* (*B.*) *hyodysenteriae*, *B. innocens*, *B. murdochii*, *B. intermedia*, diarrhea, swine dysentery, fattening pigs.

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi *Brachyspira* (trước đây là *Serpulina*, *Treponema*) là xoắn khuẩn đường ruột, có vai trò

quan trọng đối với ngành chăn nuôi. Một số loài của chi này gây tiêu chảy xuất huyết và làm giảm tốc độ sinh trưởng ở lợn từ đó dẫn đến thiệt hại kinh tế lớn cho người chăn nuôi như

*Brachyspira (B.) hyodysenteriae* (Stanton, 1992; Ochiai & cs., 1997). *B. hyodysenteriae* có khả năng gây dung huyết hồng cầu mạnh và là tác nhân gây bệnh hồng lỵ ở mọi lứa tuổi của lợn, đặc biệt ở lợn con sau cai sữa và giai đoạn vỗ béo. Tỷ lệ mắc bệnh ở lợn có thể lên đến 90% và tỷ lệ chết ở lợn không được điều trị có thể đến 50% (Fellström, 1996; Merialdi & cs., 2005). Bên cạnh *B. hyodysenteriae* còn các loài *Brachyspira* khác gây dung huyết yếu hồng cầu như *B. innocens*, *B. pilosicoli*, *B. murdochii* và *B. intermedia*. Trong số đó, *B. pilosicoli* được xác định là nguyên nhân gây tiêu chảy do xoắn khuẩn ở lợn, chim và cả ở người (Girard & cs., 1995; Trott & cs., 1996; Hampson, 2000). Khả năng gây bệnh của *B. intermedia*, *B. murdochii* và *B. innocens* ở lợn vẫn chưa được xác định một cách rõ ràng. Một số tác giả cho rằng 3 loài này không có khả năng gây bệnh đường ruột ở lợn (Stanton & cs., 1997; Verspohl & cs., 2001). Tuy nhiên, nhiều tác giả đã phát hiện 3 loài *Brachyspira* này trong phân lợn bị tiêu chảy mặc dù không thể chỉ ra được mối liên quan trực tiếp nhưng họ cũng cho thấy các bằng chứng về sự xâm nhập của các xoắn khuẩn này vào niêm mạc biểu mô ruột, đi kèm với các dấu hiệu của viêm đại tràng (Jensen, 2005; Jensen & Boye, 2005; Rothkamp & cs., 2005; Wendt & cs., 2006). Các bệnh liên quan đến các 3 loài *Brachyspira* dung huyết yếu này được gọi chung là Viêm đại tràng do xoắn khuẩn ở lợn (Hampson & Trott, 1995; Taylor & Trott, 1997). Việc 3 loài *B. intermedia*, *B. murdochii* và *B. innocens* luôn được phân lập từ các mẫu phân lợn mắc tiêu chảy mà không có bất kỳ vi khuẩn gây bệnh tiêu chảy nào khác được phân lập đã đặt ra câu hỏi về vai trò của ba loài *Brachyspira* dung huyết yếu này trong việc gây tiêu chảy ở lợn; Có hay không mối quan hệ giữa chúng với các yếu tố ngoại cảnh như thức ăn, điều kiện chăm sóc nuôi dưỡng. Một số tác giả đã cho biết, hàm lượng protein cao trong khẩu phần có thể ảnh hưởng tới sự phát triển của bệnh hồng lỵ (Pluske & cs., 2002). Jacobson & cs. (2004) đã báo cáo rằng, tỷ lệ khô đậu tương cao (50%) trong khẩu phần là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới tỷ lệ mắc hồng lỵ cũng như sự phát triển triệu chứng lâm sàng trong thí nghiệm lây nhiễm với *Brachyspira*. Với lý do này, nghiên

cứu của chúng tôi nhằm xem xét ảnh hưởng của khẩu phần ăn giàu protein đến khả năng gây bệnh của ba chủng *Brachyspira* dung huyết yếu ở lợn sau cai sữa. Kết quả lây nhiễm thí nghiệm sẽ được đánh giá so sánh với các chủng dung huyết mạnh như *B. hyodysenteriae*.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Động vật thí nghiệm

Tổng số 67 lợn thịt lai LY (Landrace Yorkshire) khỏe mạnh được lựa chọn từ các trang trại (JSR-Hybrid) bang Niedersachsen có khối lượng bình quân  $15,6 \pm 3,1$ kg, được nuôi tại trại thí nghiệm của Viện nghiên cứu Lợn và Gia súc nhai lại loại nhỏ, Trường Đại học Thú y Hannover. Trước thí nghiệm, toàn bộ lợn được kiểm tra lâm sàng, lấy mẫu phân kiểm tra sự có mặt của các vi khuẩn *Brachyspira* spp., *Salmonella* spp., *E. coli* dung huyết và *Lawsonia intracellularis*.

Lợn thí nghiệm được đánh số tai, không phân biệt giới tính và chia ngẫu nhiên vào 5 lô gồm: lô ĐC1 (đối chứng dương, được lây nhiễm với VK *B. hyodysenteriae*) gồm 03 ô mỗi ô 5 con; Lô ĐC2 (đối chứng âm, không lây nhiễm VK) gồm 1 ô 3 con; Lô TN1 (lây nhiễm với *B. innocens*) gồm 03 ô mỗi ô 5 con; Lô TN2 (lây nhiễm với *B. murdochii*) gồm 5 ô, 4 ô 5 con và 1 ô 4 con; Lô TN3 (lây nhiễm với *B. intermedia*) gồm 3 ô trong đó 1 ô 4 con, 2 ô còn lại mỗi ô 3 con. Lợn thí nghiệm ở các lô được nuôi nuôi riêng rẽ, trong chuồng kín, sàn bê tông có hệ thống quạt hút và dàn mát. Thí nghiệm kéo dài trong 30 ngày.

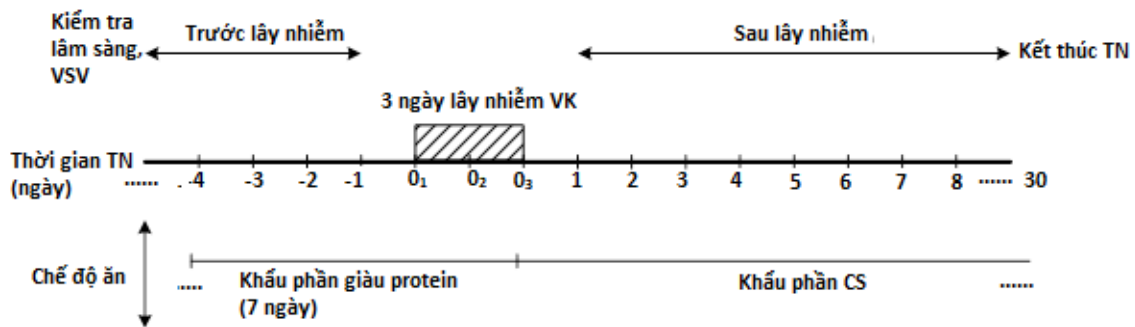
### 2.2. Khẩu phần thí nghiệm

Khẩu phần thí nghiệm được thiết kế bởi Viện Dinh dưỡng, trường Đại học Thú y Hannover. Tất cả lợn thí nghiệm ở các lô đều được cho ăn khẩu phần cơ sở từ 0,04-0,05 kg/kg thể trọng/ngày. Khẩu phần thí nghiệm với 50% khô đậu tương trích ly được cho ăn trong 7 ngày (4 ngày trước khi lây nhiễm và 3 ngày trong quá trình lây nhiễm vi khuẩn), sau đó lợn sẽ được cung cấp trở lại khẩu phần cơ sở cho đến hết thời gian thí nghiệm (Jacobson & cs., 2004).

Ảnh hưởng của khẩu phần ăn giàu protein đến khả năng gây bệnh của ba loài *Brachyspira* dung huyết yếu ở lợn thịt

**Bảng 1. Khẩu phần thí nghiệm**

Nguyên liệu	Khẩu phần cơ sở (%)	Khẩu phần giàu protein (50% KPCS + 50% khô đậu tương)
Cám mạch	79	39,5
Khô đỗ tương trích ly	15	57,5
Khoáng-Premix	3	1,5
Dầu đậu tương	3	1,5



**Hình 1. Sơ đồ thiết kế thí nghiệm lây nhiễm *Brachyspira* và chế độ ăn**

### 2.3. Lây nhiễm vi khuẩn

- Giống vi khuẩn: Các chủng giống *Brachyspira* được cung cấp bởi Viện Vi sinh vật, Trường Đại học Thú y Hannover, CHLB Đức gồm 02 chủng *B. hyodysenteriae* (kí hiệu B204 và 7304/03); 03 chủng *B. innocens* (kí hiệu 3407/04, 7405/05, 1569/05); 02 chủng *B. intermedia* (kí hiệu 1618/03, 543/06) và 04 chủng *B. murdochii* (kí hiệu 5139/04, 7185/05, 3626/05, S11287). Các chủng giống được bảo quản trong glycerin ở  $-70^{\circ}\text{C}$ . Trước thí nghiệm, các chủng giống được hoạt hóa trên môi trường thạch máu Columbia (Oxoid, Wesel) nuôi cấy yếm khí ở  $42^{\circ}\text{C}/3-5$  ngày.

- Phương pháp lây nhiễm: Các khuẩn lạc của *Brachyspira* được nuôi cấy yếm khí trên môi trường Brain-Heart-Infusion (BHI) ở  $42^{\circ}\text{C}/48\text{h}$ . Mật độ tế bào của dịch nuôi cấy phải đạt từ  $10^8-10^9$  cfu/ml (tương đương với 2,0-3,5 đơn vị McFarland). Dịch nuôi cấy đạt yêu cầu được sử dụng để lây nhiễm cho lợn thí nghiệm bằng cách sử dụng ống thông dạ dày (B. Braun Melsungen AG, Melsungen). Mỗi con lợn sẽ được lây nhiễm 50ml dịch nuôi cấy các chủng *Brachyspira* vào các buổi chiều trong 3 ngày liên tục. Trong thời gian 3 ngày lây nhiễm, lợn thí nghiệm chỉ được

ăn 1 lần duy nhất với khẩu phần giàu protein. Thời gian cho ăn sau 4-6h sau khi lây nhiễm.

### 2.4. Các chỉ tiêu nghiên cứu

#### 2.4.1. Các chỉ tiêu lâm sàng

Các chỉ tiêu lâm sàng được kiểm tra hàng ngày vào buổi sáng và buổi chiều trước khi cho ăn gồm đo thân nhiệt trực tràng, tình trạng chung, trạng thái của phân. Biểu hiện triệu chứng lâm sàng của lợn thí nghiệm được đánh giá theo thang điểm (Bảng 2).

Khối lượng cơ thể của lợn thí nghiệm được cân trước và hàng tuần sau khi lây nhiễm. Hiệu quả sử dụng thức ăn (kg/kg tăng khối lượng) được xác định bằng tổng lượng thức ăn thu nhận được ghi chép theo nhóm /tổng tăng khối lượng cơ thể.

#### 2.4.2. Kiểm tra các chỉ tiêu VSV

- Lấy mẫu: Mẫu phân được lấy tại trực tràng vào mỗi buổi sáng sau khi lây nhiễm để kiểm tra sự bài tiết *Brachyspira*. Mẫu chất chứa đường ruột được lấy ở manh tràng và ruột già tại thời điểm mổ khám trong và sau khi kết thúc thí nghiệm để kiểm tra *Brachyspira* và ở ruột non để kiểm tra các vi khuẩn gây bệnh khác như *E. coli* dung huyết, *Salmonella*, *Lawsonia*.

**Bảng 2. Đánh giá điểm số cho các chỉ tiêu lâm sàng**

Thân nhiệt	Trạng thái phân	Hành vi, tư thế, trạng thái, tình trạng dinh dưỡng	Thu nhận thức ăn
0 ≤39,9°C	Bình thường (phân đặc, rắn chắc, tạo khuôn)	Trạng thái sinh lý bình thường	Giảm sự thèm ăn, nhưng vẫn ăn
1 Sốt (≥40,0°C)	Mềm/đặc, màu vàng - xanh xám hoặc màu xi măng	Mệt mỏi, giảm hoạt động, giảm tương tác trong đàn, tình trạng dinh dưỡng bình thường	Giảm sự thèm ăn, giảm thu nhận thức ăn, tăng tiêu thụ nước
2	Loãng, có màng nhầy hoặc mảnh fibrin, màu xi măng	Gầy, bụng hõm vào, mệt mỏi, bỏ ăn, nằm nhiều, lưng cong	Bỏ ăn, gầy còm
3	Lỏng như nước, có màng nhầy, fibrin và có lẫn máu hoặc sợi tơ huyết, màu phân dao động từ cà phê sữa đến sôcôla		

- Phương pháp phân lập và phân loại *Brachyspira* dựa theo mô tả của Feltrup & cs. (1999) và Rhode & cs. (2002). *Lawsonia* được xác định theo phương pháp mô tả của Wendt & cs. (2000). *E. coli* dung huyết và *Salmonella* được xác định theo qui trình của viện Vi sinh vật, Đại học Thú y Hannover.

### 2.4.3. Xét nghiệm giải phẫu bệnh lý học

Sau 4 tuần, tất cả lợn ở các lô thí nghiệm và đối chứng được tiến hành mổ khám để kiểm tra các biến đổi bệnh lý và mô bệnh học. Các biến đổi ở đường tiêu hóa của lợn thí nghiệm đều được kiểm tra và đánh giá qua thang điểm, sau đó các mẫu bệnh phẩm được làm tiêu bản để kiểm tra các biến đổi vi thể dưới kính hiển vi.

Các biến đổi vi thể ở niêm mạc manh tràng và ruột già được đánh giá qua thang điểm từ 0-2 (0: không có biến đổi, 1: biến đổi dạng điểm ở 1-2 vị trí ở niêm mạc ruột; 2: biến đổi nhiều hơn 3 vị trí) với các tiêu chí: các khe niêm mạc giãn ra hoặc áp xe, u loét ở niêm mạc, xuất huyết ở niêm mạc. Mức độ biến đổi vi thể ở niêm mạc được đánh giá qua thang điểm từ 0-3 với tiêu chí xuất hiện màng giả hoặc lắng đọng fibrin ở

niêm mạc. Hai chỉ tiêu tăng sinh tế bào hình cốc và tăng độ dày của niêm mạc được đánh giá với thang điểm từ 0-1.

### 2.5. Xử lý số liệu

Việc thu thập dữ liệu được thực hiện trong Microsoft Excel phiên bản 2003 dành cho Windows. Các đánh giá thống kê được thực hiện bằng chương trình SAS 9.1 (SAS Institute Inc., 1999) với sự hỗ trợ của Viện Sinh trắc học, Đại học Thú y Hannover.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Kết quả phân lập lại *Brachyspira* sau khi lây nhiễm

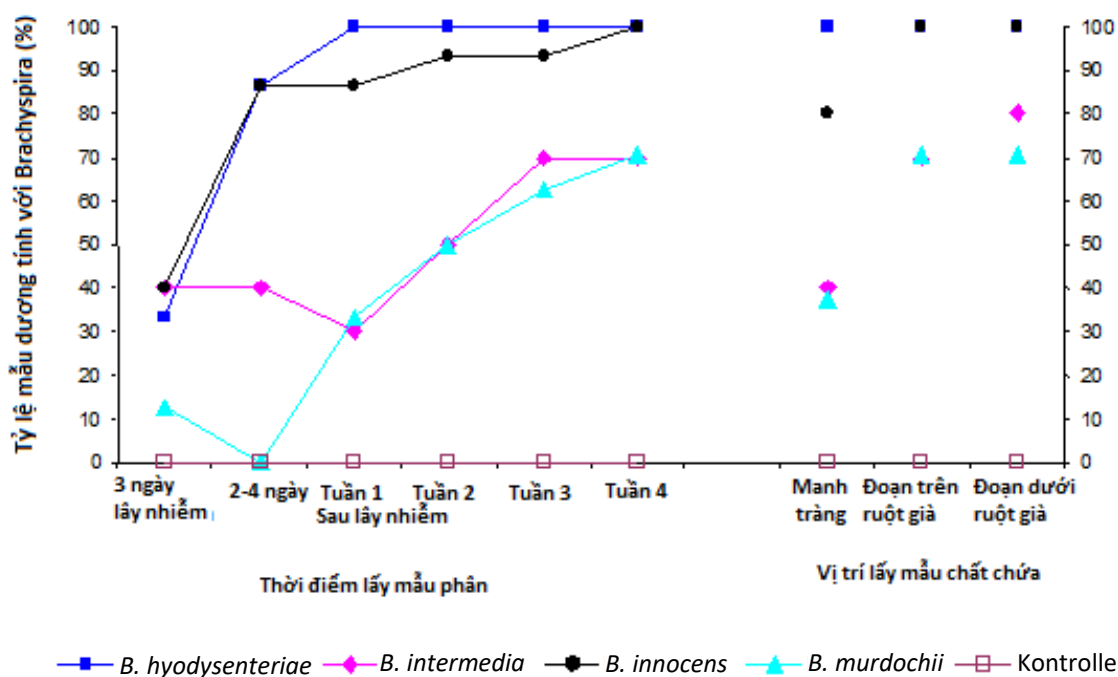
Trước khi và sau khi tiến hành lây nhiễm *Brachyspira*, tất cả lợn thí nghiệm đều được lấy mẫu phân để kiểm tra *Lawsonia* và các vi khuẩn gây bệnh đường ruột như *E. coli* dung huyết, *Salmonella*. Kết quả cho thấy, các mầm bệnh trên đều không được tìm thấy trong mẫu phân và mẫu chất chứa đường ruột ở tất cả lợn thí nghiệm.

**Bảng 3. Thang điểm đánh giá biến đổi đại thể niêm mạc và chất chứa đường ruột**

0 =	Không có biến đổi đại thể ở đường tiêu hóa
1 =	Niêm mạc ruột sung huyết và tăng tiết dịch, chất chứa trong ruột dày và mềm - viêm đại tràng catarrhal thể nhẹ đến trung bình
2 =	Tăng sinh niêm mạc ruột (dày lên) phủ với chất nhầy và fibrin, có các điểm xuất huyết, chất chứa nhão hoặc loãng, viêm tơ huyết (fibrinous colitis)
3 =	Niêm mạc ruột dày lên rõ rệt, được bao phủ bởi chất nhầy hoặc màng giả, có các vết loét hoại tử trên bề mặt. Chất chứa ruột già loãng hoặc lỏng như nước, màu xi măng hoặc màu cafe sữa; viêm đại tràng hoại tử (necrotizing colitis)

**Bảng 4. Kết quả phân lập lại các loài *Brachyspira* lây nhiễm ở lợn thí nghiệm**

Nhóm TN	n	Số mẫu dương tính với <i>Brachyspira</i>		Tỷ lệ (%)
		Mẫu phân	Mẫu chất chứa đường ruột	
ĐC1	15	15	15	100
TN1	15	15	15	100
TN2	24	18	18	75
TN3	10	9	9	90
ĐC2	3	0	0	0



**Hình 2. Tỷ lệ mẫu dương tính với *Brachyspira* sau lây nhiễm ở các thời điểm và vị trí lấy mẫu khác nhau**

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, tỷ lệ phân lập lại xoắn khuẩn *B. hyodysenteriae* và *B. innocens* là 100% ở tất cả các mẫu phân và mẫu chất chứa niêm mạc ruột của tất cả các nhóm lợn thí nghiệm. Trong khi đó, tỷ lệ phân lập lại *B. intermedia* là 90% và *B. murdochii* chỉ đạt 75% (18/24 con lợn thí nghiệm). Nhóm ĐC2 không phát hiện *Brachyspira* và các vi khuẩn khác trong mẫu phân và mẫu chất chứa trong suốt thời gian thí nghiệm.

Hình 2 cho thấy đánh giá tổng quát về tỷ lệ phân lập lại *Brachyspira* tại các thời điểm khác nhau và ở các đoạn ruột khác nhau khi mổ khám. Trong 4 nhóm thí nghiệm, các loài

*Brachyspira* được phát hiện trong mẫu phân lần đầu tiên vào ngày thứ 3 sau khi lây nhiễm. *B. hyodysenteriae* được bài tiết liên tục qua phân 1 tuần sau khi lây nhiễm ở 100% con lợn lây nhiễm cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Trong khi đó, tốc độ bài tiết cao nhất đối với *B. intermedia* ở tuần thứ 3, đối với *B. innocens* và *B. murdochii* ở tuần thứ 4 sau khi lây nhiễm. Bên cạnh đó, có sự khác biệt về tỷ lệ phân lập lại các loài *Brachyspira* lây nhiễm ở manh tràng và ruột già giữa các nhóm TN1, TN2 và TN3. Tỷ lệ mẫu phân lập *Brachyspira* thường cao hơn ở các mẫu chất chứa từ ruột già so với ở manh tràng.

**Bảng 5. Kết quả kiểm tra các chỉ tiêu lâm sàng ở lợn thí nghiệm**

Điểm số lâm sàng trung bình/ngày	ĐC1 (n = 15)	TN1 (n = 15)	TN2 (n = 24)	TN3 (n = 10)	ĐC2 (n = 3)
Trạng thái phân	1,45 <sup>att</sup> ± 0,59	0,19 <sup>b</sup> ± 0,23	0,09 <sup>b</sup> ± 0,08	0,08 <sup>b</sup> ± 0,06	0,03 ± 0,05
Trạng thái sinh lý	0,86 ± 0,32	0,0	0,0	0,0	0,0 ± 0,0
Thức ăn thu nhận	1,12 ± 0,44	0,0	0,0	0,0	0,0 ± 0,0
Sốt	0,24 <sup>att</sup> ± 0,20	0,01 <sup>b</sup> ± 0,02	0,02 <sup>b</sup> ± 0,03	0,01 <sup>b</sup> ± 0,01	0,0 ± 0,0
Tổng điểm	3,67 <sup>att</sup> ± 1,45	0,19 <sup>b</sup> ± 0,25	0,11 <sup>b</sup> ± 0,09	0,09 <sup>b</sup> ± 0,06	0,03 ± 0,05

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một hàng biểu thị sự sai khác thống kê giữa các nhóm TN với P < 0,05 (= \*), P < 0,01 (= †) và p < 0,001 (= ††)

### 3.2. Kết quả kiểm tra các chỉ tiêu lâm sàng

Bảng 5 cho thấy tổng điểm lâm sàng trung bình của nhóm nhiễm *B. hyodysenteriae* cao hơn đáng kể (P < 0,001) so với các nhóm thử nghiệm khác. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tổng điểm lâm sàng giữa 3 nhóm bị nhiễm các loài *Brachyspira* tan máu yếu. Đặc biệt, có thể quan sát thấy sự thay đổi đáng kể về độ đặc của phân (P < 0,001) hoặc nhiệt độ cơ thể tăng lên đáng kể (P < 0,001) ở động vật bị nhiễm *B. hyodysenteriae* so với ba nhóm thử nghiệm còn lại. Ngược lại, không có sự khác biệt đáng kể về điểm số về tính nhất quán của phân và sốt giữa các nhóm *B. innocens*, *B. murdochii* và *B. intermedia*.

Ở nhóm *B. hyodysenteriae*, tiêu chảy xuất hiện sau khi lây nhiễm từ 1-13 ngày. Độ đặc của phân thay đổi từ loãng màu xi măng đến lỏng màu nâu sẫm hoặc màu sô cô la. Máu và dịch nhầy được tìm thấy trong phân với số lượng lớn, một phần ở dạng fibrin, màu xám nhạt, lớp chất nhầy đồng nhất. 3-9 ngày sau khi bắt đầu tiêu chảy ra máu, lợn được đưa đến viện Bệnh lý để mổ khám đánh giá các chỉ tiêu bệnh lý và mô học. Sốt xảy ra ở hầu hết các gia súc bị tiêu chảy trong khoảng 40,0-40,7°C. Những con lợn bị tiêu chảy có biểu hiện sụt cân từ 1-4kg trong suốt thời kỳ tiêu chảy. Từ bảng 5 có thể thấy những thay đổi trong các thông số về trạng thái sinh lý và tiêu thụ thức ăn chỉ được quan sát thấy ở nhóm ĐC1 (lây nhiễm với *B. hyodysenteriae*) với điểm số lâm sàng trung bình lần lượt là 0,86 ± 0,32 và 1,12 ± 0,44. Ở nhóm đối chứng âm (ĐC2), không có triệu chứng

lâm sàng đáng chú ý nào được quan sát thấy trong toàn bộ thời gian nghiên cứu.

### 3.3. Kết quả xác định khả năng tăng khối lượng cơ thể và hiệu quả sử dụng thức ăn

Kết quả ở bảng 6 cho thấy mức tăng khối lượng trung bình hàng ngày ở nhóm ĐC1 nhiễm *B. hyodysenteriae* thấp hơn rõ rệt so với ở các nhóm TN và ĐC2 (P < 0,05). Nhóm này giảm cân trung bình 0,04kg mỗi ngày do lợn bỏ ăn trong giai đoạn tiêu chảy. Sự khác biệt đáng kể (P < 0,05) cũng được quan sát thấy ở nhóm TN1 nhiễm *B. innocens* so với nhóm TN2 (*B. intermedia*), TN3 (*B. murdochii*) và nhóm ĐC2. Lợn thí nghiệm trong nhóm TN1 có mức tăng trọng trung bình thấp 0,20 kg/ngày nhưng mức tiêu thụ thức ăn lại cao (3,88 kg/kg tăng khối lượng). Mức tiêu thụ thức ăn của nhóm TN2 và TN3 đều cao hơn so với nhóm ĐC2 (3,11kg và 2,99kg so với 2,79 kg/kg tăng khối lượng) tuy nhiên, sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê.

### 3.4. Kết quả kiểm tra bệnh tích đại thể

Trong thí nghiệm này, không thể thực hiện so sánh thống kê với nhóm ĐC2 về những thay đổi bệnh lý do số lượng mẫu nhỏ (n = 3).

Biến đổi bệnh lý rõ rệt ở niêm mạc ruột già được quan sát thấy ở nhóm ĐC1 (lây nhiễm với *B. hyodysenteriae*) với điểm trung bình 8,8 ± 1,21). Các biến đổi này tương ứng với những mô tả về đặc điểm bệnh lý của lợn mắc bệnh hồng lỵ (Hình 3, 4). Điểm số của nhóm này có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nhóm TN1, TN2, TN3 và ĐC2 (P < 0,001).

Ảnh hưởng của khẩu phần ăn giàu protein đến khả năng gây bệnh của ba loài *Brachyspira* dung huyết yếu ở lợn thịt

**Bảng 6. Kết quả tăng khối lượng bình quân (kg/con/ngày) và hiệu quả sử dụng thức ăn**

Chỉ tiêu theo dõi	ĐC1 (n = 15)	TN1 (n = 15)	TN (n = 24)	TN3 (n = 10)	ĐC2 (n = 3)
Tăng khối lượng (kg/con/ngày) ( $x \pm s$ )	-0,04 <sup>c</sup> ± 0,08	0,20 <sup>bt</sup> ± 0,07	0,30 <sup>a</sup> ± 0,07	0,33 <sup>a</sup> ± 0,04	0,33 <sup>a</sup> ± 0,05
Min - Max	-0,19- 0,14	0,11- 0,35	0,12- 0,39	0,21- 0,35	0,28- 0,36
HQSDTA (kg/kg tăng khối lượng)	(-) <sup>1</sup>	1:3,88	1:2,99	1:3,11	1:2,79

Ghi chú: + Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự sai khác thống kê giữa các nhóm TN với  $P < 0,05$  (= \*),  $P < 0,01$  (= †); +<sup>1</sup> Lợn thí nghiệm bỏ ăn trong thời gian tiêu chảy; HQSDTA: Hiệu quả sử dụng thức ăn.

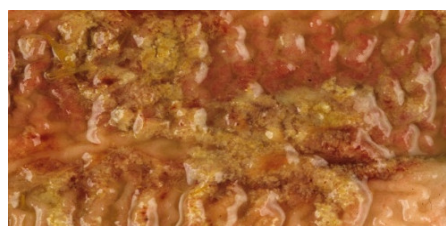
**Bảng 7. Kết quả kiểm tra bệnh tích đại thể ở niêm mạc ruột của lợn thí nghiệm**

Nhóm TN	n	Tổng điểm biến đổi bệnh lý ở niêm mạc ruột		
		$x \pm s$	Median	Min - Max
ĐC 1 ( <i>B. hyodysenteriae</i> )	15	8,8 <sup>ctt</sup> ± 1,2	9,0	6,0-10,0
TN 1 ( <i>B. innocens</i> )	15	1,6 <sup>bt</sup> ± 1,2	2,0	0,0-3,0
TN2 ( <i>B. murdochii</i> )	24	1,3 <sup>bt</sup> ± 1,1	2,0	0,0-3,0
TN3 ( <i>B. intermedia</i> )	10	0,6 <sup>a</sup> ± 1,3	0,0	0,0-3,0
ĐC2	3	0,0 ± 0,0	0,0	0,0-0,0

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự sai khác thống kê giữa các nhóm thí nghiệm với \* =  $P < 0,05$ , ††  $P < 0,001$ .



**Hình 3. Niêm mạc ruột của lợn lô ĐC1 sau 13 ngày tiêu chảy**  
(viêm ruột hoại tử, niêm mạc bao phủ lớp màng giả màu vàng (tương ứng với thang điểm 3))



**Hình 4. Biến đổi đại thể ở niêm mạc ruột già của lợn lô ĐC1 sau 4 ngày tiêu chảy**  
(niêm mạc dày, sung huyết, có fibrin (thang điểm 2))

Ở hai nhóm nhiễm *B. innocens* và *B. murdochii*, các biến đổi bệnh tích đại thể khá nhỏ và không có sự sai khác thống kê (điểm:  $1,58 \pm 1,08$  so với  $1,6 \pm 1,24$ ). Tuy nhiên, sự khác biệt đối với nhóm *B. intermedia* vẫn có ý nghĩa ( $P < 0,05$ ). Niêm mạc ruột của lợn ở nhóm ĐC2 bình thường trong quá trình mổ khám.

### 3.5. Kết quả kiểm tra bệnh tích vi thể

Trong nhóm ĐC1, niêm mạc ruột già của lợn lây nhiễm với *B. hyodysenteriae* có biểu hiện viêm hoại tử với bề mặt niêm mạc phủ lớp màng

giả, fibrin và các vết loét hoại tử. Sự thâm nhập của đại thực bào, bạch cầu trung tính và tế bào lympho cũng được quan sát thấy (Hình 6). Tổng điểm bệnh tích vi thể cao hơn rõ rệt ở cả tám thông số kiểm tra (Bảng 8) và ở cả bốn đoạn ruột (Hình 5) khi so sánh với nhóm ĐC2 và các nhóm thí nghiệm với các *Brachyspira* dung huyết yếu ( $P < 0,05$  đến  $P < 0,001$ ).

Ở các nhóm TN được lây nhiễm *Brachyspira* dung huyết yếu (*B. innocens*, *B. murdochii* và *B. intermedia*) và nhóm ĐC2, các biến đổi vi thể rất nhỏ: Một số lợn thí nghiệm trong các nhóm

này có biểu hiện viêm ruột lympho thể nhẹ, với giãn và áp xe rãnh Lieberkuhn, xung huyết ở lớp đệm niêm mạc. Các điểm loét nhỏ và sự tăng số lượng tế bào viêm được quan sát thấy ở 3 con lợn thí nghiệm thuộc nhóm TN1 *B. innocens* và 5 con thuộc nhóm TN2 nhiễm *B. murdochii*. Trong một số trường hợp cũng quan sát thấy các điểm lắng đọng fibrin nhỏ. Các biến đổi chủ yếu ở van hồi tràng hoặc ruột già (Hình 7, 8). Số lượng tế bào hình cốc (goblet cell) tăng nhẹ cũng được tìm thấy ở 2 trong số những con lợn được lây nhiễm *B. murdochii*.

#### 4. THẢO LUẬN

Có rất nhiều yếu tố góp ảnh hưởng đến triệu chứng lâm sàng của bệnh hồng lỵ do xoắn khuẩn *Brachyspira* gây nên như thức ăn, các yếu tố stress (mật độ nuôi cao, khí hậu chuồng nuôi không phù hợp...), vệ sinh chuồng trại kém (Jacobson & cs., 2004). Trong đó, Siba & cs. (1996) đã phát hiện ra rằng, chế độ ăn giàu chất xơ dẫn đến tỷ lệ mắc hồng lỵ cao nhất. Theo các tác giả, do hàm lượng polysaccharid phi tinh bột (NSP), oligosaccharid và các chất kháng tinh bột cao trong khẩu phần đã kích thích quá trình lên men ở ruột già do đó tạo điều kiện cho sự xâm nhập của *B. hyodysenteriae*. Pluske & cs. (1998) và Durmic & cs. (1998) cũng cho rằng, tốc độ lên men của khẩu phần giàu xơ cao ở ruột già kích thích hệ vi khuẩn hiệp đồng với *B. hyodysenteriae* (các *Fusobacterium spp*) hoạt động do đó tăng tỷ lệ mắc hồng lỵ. Ngoài ra,

hàm lượng protein cao trong khẩu phần có thể ảnh hưởng tới sự phát triển của bệnh hồng lỵ (Pluske & cs., 2002). Jacobson & cs. (2004) đã chứng minh rằng, tỷ lệ khô đậu tương cao (50%) trong khẩu phần là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới tỷ lệ mắc hồng lỵ cũng như sự phát triển triệu chứng lâm sàng trong thí nghiệm lây nhiễm với *Brachyspira*. Nguyên nhân là do hàm lượng NSP trong khô đậu tương cao dẫn đến tăng quá trình lên men ở ruột già, kích thích hệ VK ở ruột già phát triển, tạo điều kiện thuận lợi cho *Brachyspira*. Như vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng sử dụng khẩu phần có chứa 50% khô đậu tương cho lợn thí nghiệm ăn liên tục trong 7 ngày với 4 ngày trước khi lây nhiễm và trong 3 ngày lây nhiễm VK. Tất cả lợn thí nghiệm cũng bị bỏ đói trong quá trình lây nhiễm (chỉ được ăn 1 lần duy nhất sau mỗi lần lây nhiễm) để tăng yếu tố stress giúp cho vi khuẩn lây nhiễm có thể dễ dàng xâm nhập và nhân lên trong đường ruột. Kết quả của mô hình lây nhiễm này đã có hiệu quả tốt đối với nhóm đối chứng dương ĐC1 khi tỷ lệ phân lập lại mầm bệnh của nhóm này đạt 100%. Chỉ sau 3 ngày lây nhiễm, một số con lợn thí nghiệm của nhóm này đã xuất hiện các triệu chứng lâm sàng điển hình của bệnh hồng lỵ như sốt cao, tiêu chảy ra máu... Các bệnh tích đại thể và vi thể của nhóm ĐC1 cũng điển hình cho bệnh hồng lỵ. Việc sử dụng khẩu phần có hàm lượng protein cao cũng giúp rút ngắn thời gian ủ bệnh. Lợn ở lô ĐC1 đã xuất hiện tiêu chảy rất sớm, chỉ sau 3 ngày sau khi lây nhiễm.

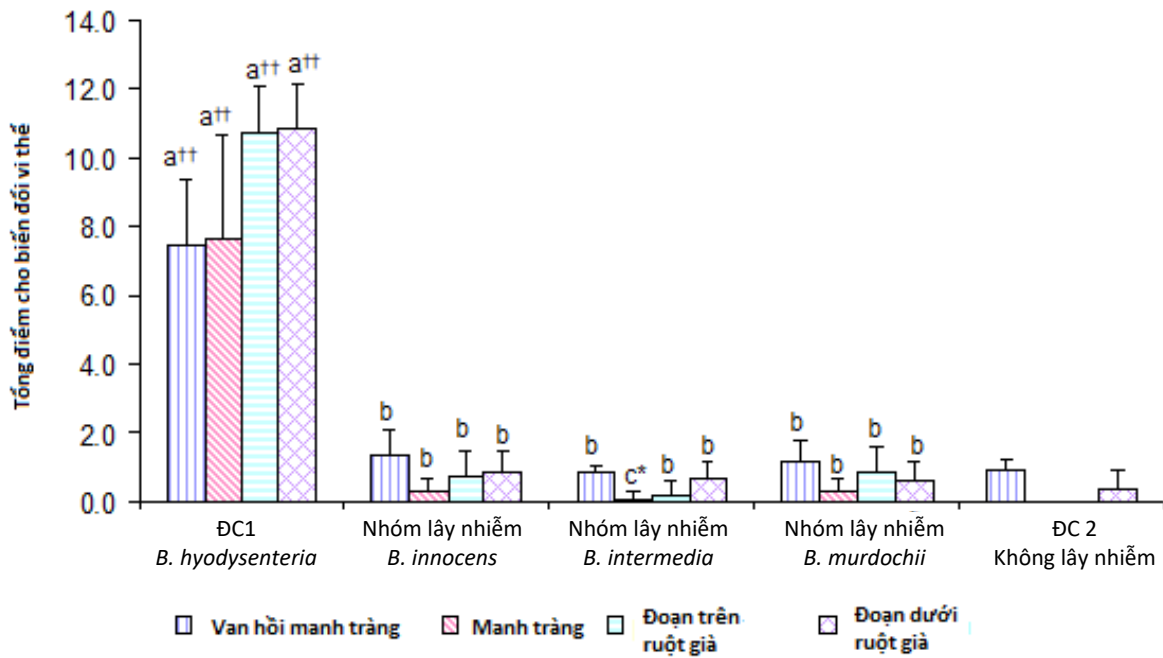
**Bảng 8. Kết quả đánh giá biến đổi bệnh tích vi thể của lợn thí nghiệm**

Chỉ tiêu theo dõi	ĐC1 (n = 15)	TN1 (n = 15)	TN2 (n = 24)	TN3 (n = 10)	ĐC2 (n = 3)
Tăng sinh niêm mạc ruột	3,21 ± 0,81	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Giãn khe niêm mạc	5,28 <sup>att</sup> ± 1,43	0,43 <sup>b</sup> ± 0,49	0,39 <sup>b</sup> ± 0,49	0,18 <sup>b</sup> ± 0,19	0,13 ± 0,23
Áp xe khe niêm mạc	1,73 <sup>c</sup> ± 0,75	1,15 <sup>b*</sup> ± 0,44	0,92 <sup>b*</sup> ± 0,41	0,63 <sup>a</sup> ± 0,19	0,93 ± 0,23
Loét hoại tử	5,68 <sup>btt</sup> ± 1,21	0,04 <sup>a</sup> ± 0,08	0,09 <sup>a</sup> ± 0,14	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tăng số lượng TB cốc	3,09 <sup>btt</sup> ± 0,63	0,0 ± 0,0	0,03 <sup>a</sup> ± 0,07	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Màng giả/fibrin	9,2 <sup>btt</sup> ± 2,07	0,01 ± 0,05	0,09 <sup>a</sup> ± 0,18	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TB viêm ở lớp đệm	5,36 <sup>btt</sup> ± 1,24	0,32 <sup>a</sup> ± 0,43	0,38 <sup>a</sup> ± 0,52	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Sung huyết	3,11 <sup>btt</sup> ± 1,19	1,32 <sup>a</sup> ± 0,85	0,95 <sup>a</sup> ± 0,83	0,88 <sup>a</sup> ± 0,67	0,20 ± 0,35

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự sai khác thống kê giữa các nhóm TN với \*P < 0,05, \*\* P < 0,001

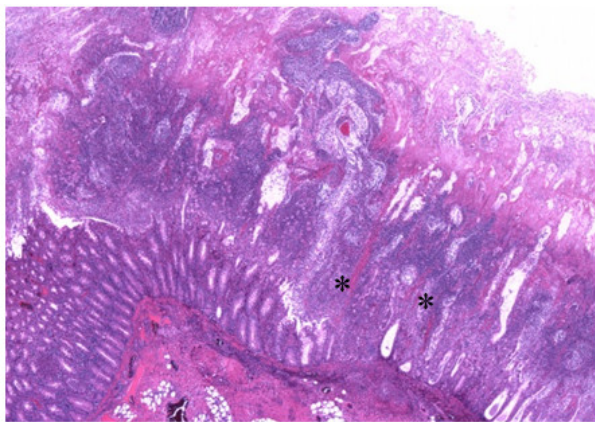


Ảnh hưởng của khẩu phần ăn giàu protein đến khả năng gây bệnh của ba loài *Brachyspira* dung huyết yếu ở lợn thịt

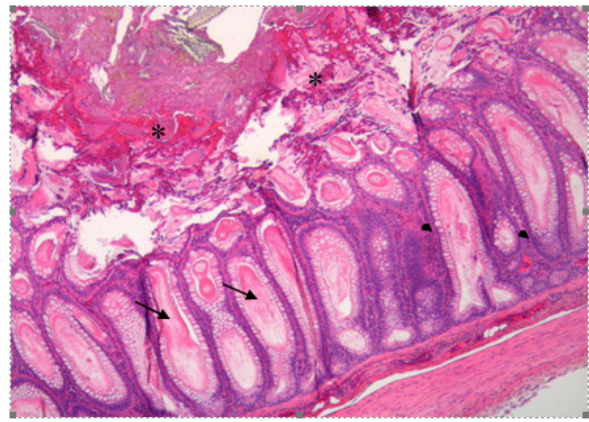


Ghi chú: Điểm mô học cho một vị trí ruột = tổng trung bình của tất cả các điểm cho 8 thông số, điểm tổng số tối đa = 15) (các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt thống kê, \*  $P < 0,05$ , ++  $P < 0,0001$ ).

Hình 5. Điểm đánh giá biến đổi bệnh tích vi thể cho 4 vị trí khác nhau của ruột già



A. Đoạn trên ruột già sau 3 ngày tiêu chảy: viêm loét sâu với sự xâm nhập TB viêm (\*)



B. Ruột già của lợn sau 13 ngày tiêu chảy: lớp niêm mạc ruột bị phá hủy, phủ fibrin (\*); Giãn khe, áp xe với dịch nhầy (mũi tên); Xâm nhiễm TB viêm ở lớp đệm

Hình 6. Biến đổi bệnh tích vi thể ở ruột già của lợn nhóm ĐC1

Đối với các nhóm lây nhiễm với VK *Brachyspira* dung huyết yếu, mô hình sử dụng khẩu phần ăn giàu protein đã có kết quả giúp các chủng VK *Brachyspira* này có thể dễ dàng xâm nhập vào niêm mạc ruột già sau lây nhiễm và được thải ra ngoài theo phân với tỷ lệ cao, dao động từ 75-100% nhưng không gây ra bệnh tiêu

chảy trên lâm sàng. Ở một số trường hợp riêng lẻ (3 con lợn lây nhiễm với *B. innocens*, 8 con lây nhiễm với *B. murdochii*) các dấu hiệu viêm đại tràng với một số vết loét niêm mạc nhỏ, tích tụ fibrin và tăng sản tế bào cốt ở những vị trí biệt lập đã được quan sát thấy. Tuy nhiên, phần lớn lợn của các lô TN này cũng chỉ có những thay đổi

nhỏ ở ruột về mặt mô học, tương tự như nhóm đối chứng âm ĐC2. Từ các kết quả trên, có thể thấy các yếu tố như stress, thức ăn có liên quan đến sự phát triển bệnh hồng lỵ ở lợn do *B. hyodysenteriae* gây ra nhưng không có ảnh hưởng rõ nét đối với quá trình phát triển bệnh lâm sàng ở các nhóm TN với các *Brachyspira* dung huyết yếu như *B. innocens*, *B. murdochii* và *B. intermedia*. Hay nói cách khác, khả năng gây bệnh của các loài *Brachyspira* dung huyết yếu này vẫn chưa thể kết luận được dựa trên các kết quả thu được ở trên.

## 5. KẾT LUẬN

Sử dụng khẩu phần ăn có 50% khô đậu tương trong thí nghiệm lây nhiễm các loại *Brachyspira* dung huyết yếu ở lợn sau cai sữa đã có ảnh hưởng đến khả năng xâm nhập và tăng sinh số lượng tế bào ở niêm mạc ruột của lợn nhưng không ảnh hưởng đến quá trình phát triển triệu chứng lâm sàng của bệnh hồng lỵ. Các biến đổi bệnh lý đại thể và vi thể chỉ được quan sát thấy ở một số trường hợp riêng lẻ, không đại diện và điển hình cho bệnh hồng lỵ khi so sánh với nhóm ĐC dương được lây nhiễm với *B. hyodysenteriae*.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Durmic Z., Pethick D.W., Pluske J.R. & Hampson D.J. (1998). Changes in bacterial populations in the

colon of pigs fed different sources of dietary fibre, and the development of swine dysentery after experimental infection. *J. Appl. Microbiol.* 85: 574-582.

Fellström C., Pettersson B., Jonhansson K.E., Lundeheim N. & Gunnarsson A. (1996). Prevalence of *Serpulina* species in relation to diarrhea and feed medication in pig rearing herds. *Am. J. Vet. Res.* 57: 807-811.

Felltrup C., Verspohl J. & Amsberg G. (1999). Zur Diagnostik von Schweinedysenterie und Spirochätendiarrhoe. 1. Mitteilung: Kulturell-biochemische Differenzierung intestinaler Serpulinen in der Routinediagnostik. *Dtsch. tierärztl. Wochenschr.* 106: 189-228.

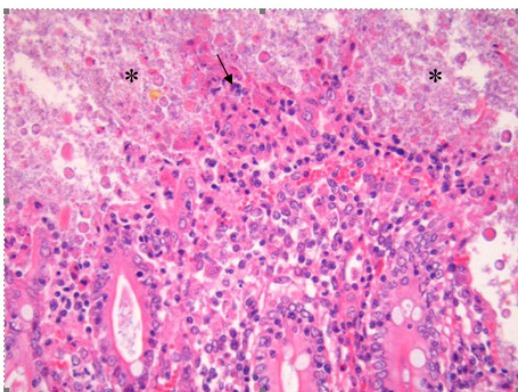
Girard C., Lemarchand T. & Hinggins R. (1995). Porcine colonic spirochetosis: a retrospective study of eleven cases. *Can. Vet. J.* 36: 291-294.

Hampson D.J. (2000). The *Serpulina* story. In: 16<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congr., Melbourne, Australia, Proc. S. pp. 1-5.

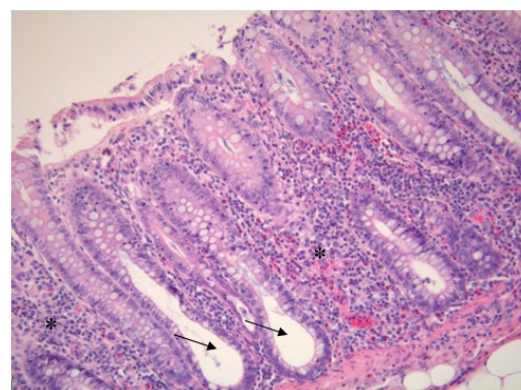
Hampson D.J. & Trott D.J. (1995). Intestinal spirochaetal infections of pigs: An overview with an Australian perspective In: *Manipulating Pig Production V*, Australasian Pig Science Association, Werribee, Victoria, Proc., S. pp. 139-169.

Jacobson M., Fellström C., Lindberg R., Wallgren P. & Jensen-waeren M. (2004). Experimental swine dysentery: comparison between infection models. *J. Med. Microbiol.* 53: 273-280.

Jensen T.K. (2005). Application of fluorescent in situ hybridisation for the diagnosis of *Brachyspira* spp. In: 3rd Int.Conf. Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans, Parma, Italy, Proc., S. 20-21.



Hình 7. Biến đổi vi thể niêm mạc ruột của lợn nhóm TN2: Niêm mạc loét và lắng đọng fibrin (mũi tên); Xâm nhiễm TB lympho, đại thực bào và plasma ở lớp đệm (\*)



Hình 8. Biến đổi vi thể niêm mạc ruột của lợn nhóm TN1: giãn khe niêm mạc ruột (mũi tên); Xâm nhiễm TB lympho và bạch cầu ái toan (\*)

- Jensen T.K. & Boye M. (2005). Application of immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization for the detection of the porcine large intestinal agents *Lawsonia intracellularis*, Porcine Circo Virus type 2, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli*, *Brachyspira innocens*, *Brachyspira murdochii* and *Brachyspira intermedia*. In: 3<sup>rd</sup> Int. Conf. Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans, Parma, Italy, Proc., S. pp. 64-65.
- Merialdi G., Bonilauri P., Dottori M. & Martelli P. (2005). *Brachyspira* infections and enteric disorders in pig: epidemiological update in Italy. In: 3<sup>rd</sup> Int. Conf. Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans, Parma, Italy, Proc., S. pp. 34-35.
- Ochiai S., Adachi Y. & Mori K. (1997). Unification of the genera *Serpulina* and *Brachyspira*, and proposals of *Brachyspira hyodysenteriae* comb. nov., *Brachyspira innocens* comb. nov. and *Brachyspira pilosicoli* comb. nov. Microbiol. Immunol. 41: 445-452.
- Pluske J.R., Pethick D.W., Hopwood D.E. & Hampson D.J. (2002). Nutritional influences on some majorenteric bacterial diseases of pigs. Nutr. Res. Rev. 15: 333-371
- Pluske J.R., Durmic Z., Pethick D.W., Mullan B.P. & Hampson D.J. (1998). Confirmation of the role of rapidly fermentable carbohydrates in the expression of swine dysentery in pigs after experimental infection. J. Nutr. 128: 1737-1744.
- Rohde J., Rothkamp A. & Gerlach G.F. (2002). Differentiation of porcine *Brachyspira* species by a novel nox-PCR-based restriction fragment length polymorphism. J. Clin. Microbiol. 40: 2598-2600.
- Rothkamp A., Rohde J. & Verspohl J. (2005). *Brachyspira* spp. isolates from pig herds in N. Germany in 2002-2004. In: 3<sup>rd</sup> Int. Conf. Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans, Parma, Italy, Proc. S. pp. 28-29.
- Siba P.M., Pethick D.W. & Hampson D.J. (1996). Pigs experimentally infected with *Serpulina* hyodysenteriae can be protected from developing swine dysentery by feeding them a highly digestible diet. Epidemiol. Infect. 116: 207-216
- Stanton T.B. (1992). Proposal to change the genus designation *Serpula* to *Serpulina* gen. nov. containing the species *Serpulina hyodysenteriae* comb. nov. and *Serpulina innocens* comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 42: 189-190.
- Stanton T.B., Fournie-Amazouz E., Postic D., Trott D.J., Grimont P.A., Baranton G., Hampson D.J. & Saint G. (1997). Recognition of two new species of intestinal spirochetes: *Serpulina intermedia* sp. nov. and *Serpulina murdochii* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 47: 1007-1012
- Taylor D.J. & Trott u. D.J. (1997). Porcine intestinal spirochaetosis and spirochaetal colitis. In: D.J. HAMPSON u. T.B. STANTON (Hrsg.): Intestinal spirochaetes in domestic animals and humans. CAB International, Wallingford, England. S. pp. 211-241.
- Trott D.J., Stanton T.B., Jensen N.S., Duhamel G.E., Johnson J.L. & Hampson D.J. (1996). *Serpulina pilosicoli* sp. nov., the agent of porcine intestinal spirochetosis. Int. J. Syst. Bacteriol. 46: 206-215
- Verspohl J., Feltrup C., Thiede S. & Amtsberg G. (2001). Zur Diagnostik von Schweinedysenterie und Spirochaetendiarrhoe. 3. Mitteilung: Ergebnisse kulturell-biochemischer Differenzierung intestinaler Brachyspiren in der Routinediagnostik der Jahre 1997 bis 1999. Dtsch. tierärztl Wochenschr. 108: 41-80
- Wendt M., Bonitz A. & Mcorist S. (2000). Prevalence of *Lawsonia intracellularis* infection in german breeding herds. In: 16<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congr., Melbourne, Australia 2000, Proc., S. p. 27.
- Wendt M., Johann R.S. & Verspohl J. (2006). Epidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von *Lawsonia intracellularis*-Infektionen in Schweinebeständen. Tierärztl. Prax. 34: 230-239.