

BIẾN ĐỔI MỘT SỐ CHỈ TIÊU HUYẾT HỌC Ở BÊ GÂY BỆNH THÍ NGHIỆM VỚI VI KHUẨN ENTEROTOXIGENIC ESCHERICHIA COLI

**Changes of hematological parameters in dairy calves experimentally diseased
with enterotoxigenic *Escherichia coli***

Phạm Hồng Ngân¹, Trương Quang¹, Maria Fe C. Vizmanos²

¹*Khoa Thú y, Đại học Nông nghiệp Hà Nội*

²*College Veterinary Medicine, University of the Philippines Los Banos*

SUMMARY

A study was conducted on neonatal dairy calves which were diseased with enterotoxigenic *E. coli* from 1 to 3 days of age to determine changes of hematological parameters. Results showed that erythrocyte number, hemoglobin concentration, packed cell volume (PCV) were increased up to $7.39 \times 10^6/\text{mm}^3$, 11.26g% and 39.16%, respectively, after 72 hours of disease - induced. And then, the respective parameters went down to $5.16 \times 10^6/\text{mm}^3$, 8.46 g% and 28.47% after 240 hours. The leukocyte number fell down to $5.73 \times 10^3/\text{mm}^3$ after 72 hour of disease - induced, and then increased up to $7.42 \times 10^3/\text{mm}^3$ after 240 hour. The contents of blood sugar, serum protein, and serum albumin were decreased while serum globulin was increased during the time of experiment.

Key words: Dairy calves, *E.coli*, hematological parameters.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Escherichia coli (*E.coli*), một trong những thành viên của họ vi khuẩn đường ruột, giữ vai trò quan trọng trong quá trình gây tiêu chảy ở gia súc non như lợn con, bê, nghé, dê, cừu con. Trong các nhóm *E.coli* gây bệnh cho gia súc, enterotoxigenic *E.coli* (ETEC) là nguyên nhân chính, đặc biệt với gia súc sơ sinh. Bê non một tuần tuổi mắc cảm nhất với ETEC. Bệnh xảy ra ở hầu khắp các nước trên thế giới. Ngay cả các quốc gia phát triển như Mỹ, Canada, Anh, Úc cũng đang phải đầu tư kỹ thuật và kinh phí vì mục đích phòng và trị bệnh (Morin và cộng sự, 1976). Ở Việt Nam, bệnh tiêu chảy đặc biệt trầm trọng ở gia súc non, phổ biến ở hầu khắp các vùng sinh thái. Đặc biệt ở bê, nghé 70 – 80% tồn thất nằm trong thời kỳ nuôi dưỡng bằng sữa đầu và 80 – 90% trong số đó là do hậu quả của tiêu chảy gây ra.

Biểu hiện lâm sàng chính ở bê bị viêm ruột do *E.coli* (enteric colibacillois) là tình trạng ỉa chảy nhiều lần trong ngày, phân màu vàng hoặc trắng sữa chứa nhiều nước, bỏ ăn, mất nước, yếu cơ, đột quỵ (Myer và Guinee, 1976). Sau khi bám dính vào lớp tế bào biểu mô ruột non, ETEC

sản sinh độc tố đường ruột gây nên tình trạng ỉa chảy, mất nước, rối loạn cân bằng điện giải, rối loạn trao đổi chất. Hậu quả của các quá trình rối loạn trên đây là làm thay đổi các quá trình sinh lý, sinh hóa xảy ra trong cơ thể động vật nuôi. Những thay đổi đó có thể kiểm tra qua các chỉ tiêu phi lâm sàng, đặc biệt là các chỉ tiêu sinh lý hình thái và sinh hóa máu. Kiểm tra các chỉ tiêu huyết học có ý nghĩa quan trọng trong quá trình chẩn đoán cũng như đánh giá trạng thái bệnh lý của gia súc và là cơ sở dữ liệu chẩn đoán phi lâm sàng giúp cho quá trình điều trị bệnh chính xác, hiệu quả.

Thí nghiệm này được bố trí nhằm kiểm tra sự biến đổi một số chỉ tiêu sinh lý (số lượng hồng bạch cầu, hàm lượng hemoglobin, công thức bạch cầu), sinh hóa máu (protein, các tiểu phân protein, hàm lượng đường huyết, K^+ , Na^+) ở bê gây nhiễm thực nghiệm với vi khuẩn enterotoxigenic *E.coli*.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu dùng trong thí nghiệm này bao gồm động vật thí nghiệm, thiết bị, dụng cụ phân

tích các chỉ tiêu huyết học, hóa chất, môi trường nuôi cấy vi sinh vật. Bê thí nghiệm giống F1, F2, nuôi hướng sữa, giống đực, 1 – 3 ngày tuổi, trọng lượng trung bình 25 kg, chia làm 2 nhóm, mỗi nhóm 3 con. Dụng cụ, hóa chất, môi trường dùng nuôi cấy, kiểm tra các đặc tính sinh vật hóa học của vi khuẩn *E.coli* nguồn gốc từ các hãng sản xuất hóa chất phân tích, môi trường nuôi cấy vi sinh vật như Oxoid. Máy móc, thiết bị đủ độ tin cậy sử dụng phân tích các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa máu. Các chủng vi khuẩn *E.coli* phân lập từ bê tiêu chảy, có đầy đủ các đặc tính sinh vật hóa học điển hình, mang kháng nguyên pili và có khả năng sản sinh độc tố đường ruột enterotoxin.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Số lượng hồng cầu, bạch cầu được đếm theo phương pháp thường quy, sử dụng buồng đếm Newbauer. Tỷ khối hồng cầu (hematocrit) được xác định theo phương pháp của Wintrobe (1929). Định lượng hàm lượng huyết sắc tố hemoglobin (Hb) theo phương pháp Sunderman (1953). Tỷ lệ phần trăm (công thức bạch cầu) được tính toán theo phương pháp của Schalm (1964). Định lượng đường huyết bằng máy đo Glucometter. Kiểm tra độ dự trữ kiềm theo phương pháp Nevodop cải tiến. Hàm lượng Na^+ và K^+ được xác định bằng thiết bị quang phổ hấp phụ nguyên tử. Protein tổng số trong huyết thanh được xác định bằng thiết bị phân tích các chỉ tiêu sinh hóa máu tự động và các tiêu phân protein huyết thanh được phân tích bằng kỹ thuật điện di trên axetate cellulose.

Thí nghiệm bố trí trên hai nhóm bê: Lô I, lô đối chứng, không gây bệnh với vi khuẩn

enterotoxigenic *E.coli*. Lô II, lô thí nghiệm, gây bệnh với vi khuẩn enterotoxigenic *E.coli*. Thí nghiệm được tiến hành tại Bệnh viện thú y, Bộ môn Ký sinh trùng - Kiểm nghiệm thú sản - Vệ sinh thú y, Bộ môn Nội - Chẩn - Dược - Độc chất, Khoa Thú y, cùng với sự hỗ trợ thiết bị kiểm tra một số chỉ tiêu sinh hóa máu của Bệnh viện 19 - 8, Bệnh viện 108, Trung tâm giống bò và sữa Hà Nội. Thời gian tiến hành thí nghiệm năm 2005.

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh vật học, sử dụng chương trình SAS, sử dụng các phép thử χ^2 , phép thử chính xác Fisher kiểm tra mức độ sai khác giữa các chỉ tiêu huyết học của hai nhóm bê.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định một số chỉ tiêu sinh lý máu bê gây bệnh thí nghiệm với vi khuẩn enterotoxigenic *E.coli*

3.1.1. Số lượng hồng cầu, tỷ khối hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố ở bê thí nghiệm

Số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, tỷ khối hồng cầu của gia súc thay đổi tùy theo trạng thái bệnh lý của cơ thể. Kết quả thí nghiệm (Bảng 1) cho thấy số lượng hồng cầu của bê đối chứng (lô I) là 5,76 triệu/ mm^3 , ở bê thí nghiệm (lô II) số lượng hồng cầu thay đổi tùy theo tiến triển của quá trình bệnh. Cụ thể sau 48 giờ gây nhiễm số lượng hồng cầu là 6,43 triệu/ mm^3 , đến 72 giờ và 96 giờ sau gây nhiễm số lượng hồng cầu là 7,39 triệu/ mm^3 và 6,14 triệu/ mm^3 .

Bảng 1. Số lượng hồng cầu, tỷ khối hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố bê gây nhiễm enterotoxigenic *E.coli*

Lô thí nghiệm	Thời gian theo dõi (h)	Chỉ tiêu theo dõi		
		Số lượng hồng cầu ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hàm lượng huyết sắc tố (g%)	Tỷ khối hồng cầu (%)
I		5,76 ^a ± 0,45	9,86 ^a ± 0,55	32,38 ± 0,27
	48	6,43 ^b ± 0,34	10,06 ^b ± 0,23	35,26 ^b ± 0,62
	72	7,39 ^b ± 0,28	11,26 ^b ± 0,72	39,16 ^b ± 0,34
II	96	6,14 ^b ± 0,16	9,56 ^b ± 0,42	34,18 ^a ± 0,54
	168	5,23 ^c ± 0,43	8,57 ^c ± 0,16	29,76 ^c ± 0,35
	240	5,16 ^c ± 0,52	8,46 ^c ± 0,32	28,47 ^c ± 0,67

Ghi chú: Những giá trị trong cùng cột mang chữ cái khác nhau biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Như vậy ở giai đoạn đầu của quá trình bệnh lý, số lượng hồng cầu tăng và cao hơn ở bê đối chứng không tiêu chảy. Đây là hiện tượng tăng giả. Nguyên nhân có sự tăng giả này là do trong thời gian này bê bị tiêu chảy cấp tính, lượng nước trong máu giảm do tiêu chảy mất nước vì vậy số lượng hồng cầu máu tăng. Sau giai đoạn này số lượng hồng cầu trong máu giảm, cụ thể sau 168 giờ gây nhiễm số lượng hồng cầu là 5,23 triệu/mm³ và tiếp tục giảm đến ngày thứ 10 là 5,16 triệu/mm³. Đây là hiện tượng giảm số lượng hồng cầu bệnh lý do số lượng hồng cầu trong cơ thể giảm. Nguyên nhân là do tác động của vi khuẩn *E.coli* và độc tố của chúng ảnh hưởng tới khả năng tiêu hoá và hấp thu các chất dinh dưỡng và khoáng chất cũng như các yếu tố tạo hồng cầu mới trong cơ thể. Số lượng hồng cầu thay đổi theo giai đoạn bệnh lý ở bê thí nghiệm dẫn tới tỷ khối hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố (hemoglobin) cũng biến thiên theo.

Nghiên cứu các chỉ tiêu sinh lý – huyết học ở trâu viêm ruột ia chảy, Phạm Ngọc Thạch (1998) cho thấy: trong trường hợp trâu bị viêm ruột ia 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 ia chảy. Kết quả nghiên cứu các chỉ tiêu sinh lý, hình thái máu bê đối chứng trong thí nghiệm này phù hợp với thông báo của Đỗ Đức Việt (2006).

3.1.2. Số lượng và công thức bạch cầu ở bê gây bệnh thí nghiệm với enterotoxigenic *E.coli*

Kết quả kiểm tra một số chỉ tiêu hệ bạch cầu trong máu cho thấy ở bê đối chứng số lượng bạch cầu trung bình 6,80 nghìn/mm³ (Bảng 2). Trong trường hợp gây bệnh thí nghiệm, bê bị tiêu chảy bạch cầu tổng số thay đổi theo quá trình bệnh. Sau 48 giờ gây bệnh số lượng bạch cầu là 7,62 nghìn/mm³, từ 72 giờ đến 96 giờ sau khi gây bệnh số lượng bạch cầu giảm xuống 6,03 nghìn/mm³ và 5,73 nghìn/mm³. Sau 168 đến 240 giờ gây bệnh số lượng bạch cầu tăng lên 7,53 và 7,42 nghìn/mm³ máu.

Nguyên nhân của hiện tượng thay đổi số lượng bạch cầu là do endotoxin của vi khuẩn *E.coli* gây ra. Sau khi gây bệnh vi khuẩn tấn công tế bào biểu mô ruột, kích thích sự tập trung của bạch cầu và tiểu cầu vì mục tiêu phòng vệ. Quá trình đấu tranh giữa bạch cầu và vi khuẩn giải phóng nội độc tố từ thành tế bào vi khuẩn. Tương tác giữa endotoxin với tiểu cầu giải phóng photpholipit, histamine, serotonin là những chất có tác dụng hóa ứng động âm với bạch cầu trung tính. Bên cạnh đó do tác động stress của endotoxin, hóc môn miền vỏ thượng thận corticosteroid tăng cường cũng ảnh hưởng đến số lượng bạch cầu. Ở giai đoạn sau endotoxin lại có tác động kích thích huy động nguồn bạch cầu dự trữ từ tủy xương vào máu làm tăng số lượng bạch cầu. Endotoxin là thành phần của màng tế bào vi khuẩn gram âm tác động gây nôn, chán ăn, rối loạn vận động, sốt, giảm hàm lượng glycogen dự trữ, tiêu hao glucoza máu, giảm số lượng bạch cầu nhanh chóng và tiếp theo là tăng số lượng bạch cầu (Schalm, 1975).

Bảng 2. Số lượng bạch cầu và công thức bạch cầu ở bê gây bệnh thí nghiệm với enterotoxigenic *E.coli*

Chỉ tiêu theo dõi	Lô đối chứng (n=3)	Lô thí nghiệm (n=3)				
		Thời gian kiểm tra sau gây bệnh (h)				
		48	72	96	168	240
Số lượng bạch cầu (x10 ³ /mm ³)	6,80 ^a ± 0,64	7,62 ^b ± 0,0,25	6,03 ^a ± 0,54	5,73 ^c ± 0,26	7,53 ^b ± 0,54	7,42 ^a ± 0,54
Bạch cầu nhân gây (%)	9,20 ^a ± 0,22	8,48 ^a ± 0,42	7,80 ^b ± 0,21	7,60 ^b ± 0,36	11,50 ^c ± 0,30	13,10 ^c ± 0,32
Bạch cầu nhân đốt (%)	20,80 ^a ± 0,14	18,30 ^b ± 0,18	15,40 ^b ± 0,16	15,60 ^b ± 0,47	23,9 ^a ± 0,11	23,30 ^a ± 0,26
Lâm ba cầu (%)	54,91 ^a ± 0,47	60,20 ^b ± 0,34	65,36 ^b ± 0,26	65,65 ^b ± 0,49	48,50 ^a ± 0,15	44,12 ^b ± 0,18
Bạch cầu đơn nhân (%)	11,30 ^a ± 0,51	10,70 ^a ± 0,63	9,40 ^a ± 0,43	9,19 ^a ± 0,47	14,51 ^b ± 0,31	18,42 ^b ± 0,29
Bạch cầu ái toan (%)	3,40 ± 0,01	2,20 ± 0,24	1,90 ± 0,11	1,78 ± 0,08	1,40 ± 0,01	0,90 ± 0,06
Bạch cầu ái kiềm (%)	0,40 ± 0,05	0,12 ± 0,01	0,14 ± 0,05	0,18 ± 0,08	0,19 ± 0,07	0,16 ± 0,02

Ghi chú: Những giá trị trong cùng hàng mang chữ cái khác nhau biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Khi kiểm tra công thức bạch cầu trong máu ngoại vi thông qua tiêu bản không tìm thấy bạch cầu trung tính non (tuỷ cầu, ấu cầu) mà chỉ thấy bạch cầu nhân gậy và nhân đốt. Ở bê tiêu chảy, sau các thời gian gây nhiễm khác nhau bạch cầu trung tính có sự thay đổi. Sau 48 - 196 giờ bạch cầu trung tính giảm, và sau đó tăng trở lại. Bê đối chứng bạch cầu trung tính nhân đốt chiếm tỷ lệ 20,80%, giảm xuống 15,60% ở bê thí nghiệm sau 96 giờ gây bệnh. Ngược lại lâm ba cầu lại tăng dần (60,20% sau 48 giờ, 65,36% sau 72 giờ và 65,65% sau 96 giờ). Sau đó bạch cầu trung tính tăng và lâm ba cầu giảm. Sau khi gây bệnh 168 giờ lâm ba cầu chiếm tỷ lệ 48,50% so với 54,91% ở bê đối chứng. Tỷ lệ lâm ba cầu tiếp tục giảm đến 10 ngày chỉ còn 44,12%. Riêng bạch cầu ái toan và bạch cầu ái kiềm chiếm tỷ lệ rất thấp ở cả hai nhóm bê thí nghiệm.

Tỷ lệ bạch cầu đơn nhân ở bê đối chứng và bê thí nghiệm có sự thay đổi khác nhau tùy theo thời gian mắc bệnh. Tuy nhiên ở bê tiêu chảy kéo dài bạch cầu đơn nhân lớn chiếm tỷ lệ cao hơn. Nhóm bê đối chứng bạch cầu đơn nhân lớn chiếm 11,3%. Nhóm bê thí nghiệm sau 48 giờ gây bệnh tỷ lệ bạch cầu đơn nhân là 10,70% đến 72 giờ là 9,40%. Như vậy sau 48 - 96 giờ gây bệnh, tỷ lệ bạch cầu đơn nhân và bạch cầu trung tính giảm, trái lại tỷ lệ lâm ba cầu tăng. Đến giai đoạn sau tỷ lệ bạch cầu đơn nhân lớn lại tăng, sau 168 giờ gây bệnh chiếm tỷ lệ 14,51% và tiếp tục tăng, đến 10 ngày chiếm tỷ lệ 18,42%. Hiện tượng tăng bạch cầu đơn nhân lớn thường hay gặp trong trường hợp nhiễm trùng mạn tính. Đây là quá trình đáp ứng miễn dịch tế bào nhằm bảo vệ cơ thể chống lại các tác nhân kích thích gây bệnh, trong trường hợp tiêu chảy mạn tính thể hiện rõ nhất do các tác nhân gây bệnh và những sản phẩm của quá trình viêm kích thích cơ thể sản sinh bạch cầu.

Endotoxin là nguyên nhân làm thay đổi tỷ lệ các loại bạch cầu trong máu ngoại vi bê thí nghiệm. Sau khi gây nhiễm vi khuẩn enterotoxigenic *E.coli* nhân lên rất nhanh, bám dính tế bào biểu mô ruột non, sản sinh độc tố đường ruột, thúc đẩy quá trình viêm ruột dẫn đến phản ứng phòng vệ của cơ thể, tập trung các tế bào bạch cầu trung tính về vùng viêm. Bạch cầu trung tính thực hiện chức năng thực bào, tiêu diệt vi khuẩn *E.coli*. Tế bào vi khuẩn gram âm chết giải phóng endotoxin rồi được hấp thu vào máu

theo tuần hoàn ức chế tạm thời tủy xương không huy động bạch cầu trung tính vào máu. Vì vậy bạch cầu trung tính trong máu ngoại vi bê thí nghiệm giảm xuống và có thể duy trì tình trạng này trong vài ngày. Một số dạng bạch cầu khác như bạch cầu đơn nhân, bạch cầu ái toan cũng giảm về số lượng trong máu do tác động của hormone corticosteroid tăng cường trong điều kiện stress. Hệ bạch cầu mới được bổ sung từ tủy xương sau 4 đến 5 ngày kể từ khi có kích thích làm cho bạch cầu trung tính tăng ở giai đoạn sau của quá trình bệnh (Schalm, 1975).

Tăng tỷ lệ bạch cầu trung tính trong trường hợp viêm phổi cấp, giảm lâm ba cầu, bạch cầu đơn nhân lớn. Hiện tượng tăng bạch cầu trung tính, giảm lâm ba cầu và bạch cầu ái toan và ái kiềm thường hay gặp ở bệnh tiêu chảy mạn tính (Vũ Triệu An, 1978).

3.2. Kết quả xác định một số chỉ tiêu sinh hóa máu bê gây bệnh thí nghiệm với vi khuẩn enterotoxigenic *E.coli*

3.2.1. Hàm lượng đường huyết và độ dự trữ kiềm trong máu bê thí nghiệm

Hàm lượng đường huyết ở bê đối chứng là 39,25 mg%. Nhóm bê thí nghiệm, sau khi gây bệnh 48 giờ hàm lượng đường huyết là 28,14 mg (%) và tiếp tục giảm xuống 22,74 mg% sau 168 giờ và 24,04 mg% sau 240 giờ. Nguyên nhân của hiện tượng này là do vi khuẩn gây tổn thương niêm mạc ruột do đó quá trình tiêu hoá glucit và hấp thu glucose kém, rối loạn chức năng sinh tổng hợp glycogen ở gan (Hồ Văn Nam, 1987 – trích dẫn bởi Phạm Ngọc Thạch, 1998). Khi bị viêm ruột, vi khuẩn *E.coli* tăng cường phân giải đường lactoza trong sữa. Mặt khác, khi vi khuẩn bị dung giải do quá trình thực bào giải phóng LPS, hấp thu vào máu; trong máu LPS làm giảm hoạt lực của các enzyme tổng hợp glycogen như glycogensyntaza, fructo - 1,6 - diphosphataza, tăng cường hoạt của enzym phân giải glycogen phosphorylaza. Bên cạnh đó, LPS còn kích thích sử dụng glucoza bởi các tế bào bạch cầu đa nhân trung tính bằng hai con đường: kích hoạt các men phân giải glucoza và tăng cường hoạt động của NADPH oxydaza (Bradley, 1979).

Kiểm tra hàm lượng kiềm dự trữ trong máu bê đối chứng cho kết quả 70,28 mEq/l; trong khi ở bê gây bệnh thí nghiệm chỉ tiêu này giảm

xuống 52,34 mEq/l sau 48 giờ, giữ giá trị thấp trong những ngày tiếp theo: 50,65 mEq/l sau 72 giờ, 53,31 mEq/l sau 240 giờ.

Nguyên nhân gây nên tình trạng giảm hàm lượng kiềm dự trữ là do rối loạn quá trình chuyển hoá các chất, đặc biệt chuyển hóa glucit sản sinh các sản phẩm trao đổi trung gian có tính toán hấp thụ vào máu, kết quả là hàm lượng

kiềm trong máu giảm xuống. Trong thời gian các tế bào thực bào hoạt động, cùng với hoạt động của vi khuẩn nhu cầu phân giải glycogen, glucoza tăng lên, thúc đẩy quá trình đường phân các loại đường 6 các bon tạo ra sản phẩm trao đổi trung gian mang tính toán làm giảm lượng kiềm trong máu (Bradley, 1979).

Bảng 3. Hàm lượng đường huyết, Na⁺, K⁺ và hàm lượng kiềm dự trữ trong máu bê thí nghiệm

Chỉ tiêu kiểm tra	Lô đối chứng (n=3)	Lô thí nghiệm (n=3)				
		Thời gian kiểm tra sau khi gây bệnh (h)				
		48	72	96	168	240
Hàm lượng đường huyết mg(%)	39,25 ± 1,06	28,14 ± 0,96	23,58 ± 1,16	21,14 ± 2,05	22,74 ± 1,53	24,04 ± 0,78
Hàm lượng Na ⁺ (mEq/l)	139,65 ± 0,32	119,42 ± 2,16	108,96 ± 3,84	110,54 ± 2,45	106,68 ± 1,67	114,47 ± 1,25
Hàm lượng K ⁺ (mEq/l)	3,98 ± 0,45	3,63 ± 0,19	3,72 ± 0,24	3,56 ± 0,36	3,47 ± 0,75	3,526 ± 0,16
Hàm lượng kiềm dự trữ trong máu (mEq/l)	70,28 ± 1,06	52,34 ± 1,54	50,65 ± 2,05	54,27 ± 1,58	52,28 ± 1,18	53,31 ± 2,16

Định lượng hàm lượng Na⁺ trong huyết thanh bê đối chứng cho kết quả 139,65 mEq/l. Kết quả nghiên cứu chỉ tiêu này ở nhóm bê thí nghiệm đã chỉ ra rằng: sau 48 giờ gây bệnh, lượng Na⁺ trong huyết tương giảm xuống còn 119,42 mEq/l, sau 96 giờ 110,54 mEq/l và giữ giá trị thấp trong suốt thời kỳ thí nghiệm (Bảng 3). Sự sai khác về hàm lượng Na⁺ trong huyết tương giữa nhóm bê đối chứng và nhóm bê thí nghiệm là có ý nghĩa thống kê (P<0,01). Giảm hàm lượng Na⁺ trong huyết tương là tình trạng phổ biến trong các trường hợp gia súc bị ỉa chảy mà nguyên nhân chính là do Na⁺ bị đào thải theo phân ra ngoài do rối loạn quá trình trao đổi khoáng và nước gây ra. Cơ chế gây nên hiện tượng này là do độc tố đường ruột ST (heat stable enterotoxin) của vi khuẩn *E.coli* kích hoạt hệ thống men guanylat cyclaza trên màng tế bào làm tăng lượng cGMP (guanosin monophosphate cycle). Đến lượt mình, cGMP hoạt hóa men 86-kDa proteinkinaza có mặt trên tế bào biểu mô ruột dẫn đến hiện tượng photphoryl hóa enositol tạo ra diacyl glycerol và enositol 1, 4, 5, triphosphat đồng thời hoạt hóa men C – kinaza. Ba sản phẩm trên dẫn tới tăng hàm lượng Ca⁺² nội bào, chính nồng độ can xi nội bào cao cản trở hấp thu Na⁺, Cl⁻, HCO₃⁻ bởi nhóm tế bào vil và

kích thích bài xuất Cl⁻ từ nhóm tế bào cripts vào xoang ruột (Acress, 1985).

Khác với sự thay đổi hàm lượng Na⁺, hàm lượng K⁺ trong huyết thanh bê thí nghiệm gây bệnh với *E.coli* và bê đối chứng không có sự sai khác rõ rệt. Ở nhóm bê gây bệnh hàm lượng K⁺ huyết thanh dao động trong phạm vi 3,47 – 3,63 mEq, giảm không đáng kể so với hàm lượng K⁺ ở bê đối chứng không gây bệnh 3,98 mEq/l (P>0,05).

3.2.2. Hàm lượng protein tổng số và các tiểu phần protein của bê thí nghiệm

Kết quả phân tích protein tổng số trên máy phân tích tự động cho thấy ở bê đối chứng không tiêu chảy hàm lượng protein huyết thanh là 7,27 g%. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu Đỗ Đức Việt (2006) khi nghiên cứu các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa, hình thái máu bò sữa HF nhập nội nuôi thích nghi tại Thanh Hóa và Tuyên Quang. Tác giả cho biết hàm lượng protein tổng số của bê HF sơ sinh nuôi tại Thọ Xuân Thanh Hóa là 73,73 g/l, tương đương 7,38 g%. Theo tác giả Đỗ Đức Việt (2006) kết quả trên đây là phù hợp với thông báo của Lê Khắc Thiện, Nguyễn Văn Kiệm (1982) khi nghiên cứu trên bò HF các thể hệ nuôi thích nghi tại Mộc Châu.

Ở nhóm bê thí nghiệm bị viêm ruột tiêu chảy protein tổng số thay đổi tùy theo các giai đoạn của bệnh. Sau 48 giờ gây nhiễm hàm lượng protein tổng số tăng lên 7,93 g%, 8,45 g% và 8,52 g% sau 48, 72 và 96 giờ gây bệnh, đây là sự tăng giả so với nhóm bê đối chứng. Nguyên nhân là do trong giai đoạn này bê bị tiêu chảy cấp tính, máu bị cô đặc do mất nước làm cho protein tổng số tăng lên, giống như trong trường hợp tăng giả của hồng cầu, mặc dù lượng protein trong huyết thanh giảm. Đến giai đoạn sau của quá trình bệnh do tiêu chảy mạn tính làm cho protein tổng số giảm, đây là hiện tượng giảm protein tổng số bệnh lý. Sau 168 giờ gây nhiễm lượng protein tổng số giảm xuống 6,97 g%, giảm thấp hơn so

với giai đoạn tiêu chảy cấp tính. Giai đoạn sau sau của quá trình bệnh protein tổng số giảm càng rõ và đến ngày thứ 10 sau gây nhiễm còn 5,97g%.

Nguyên nhân của sự giảm protein tổng số bệnh lý là do vi khuẩn *E.coli* tác động làm biến đổi cấu trúc niêm mạc ruột, ảnh hưởng đến hấp thu dinh dưỡng acid amin, ảnh hưởng đến các nguyên liệu tạo máu làm con vật suy dinh dưỡng và thiếu máu dẫn tới protein tổng số giảm. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nhận xét của Schalm (1975); theo tác giả trong các trường hợp bệnh lý lâm sàng khi bị viêm ruột mạn tính do vi sinh vật, ký sinh trùng làm giảm protein huyết thanh.

Bảng 4. Hàm lượng protein tổng số và các tiểu phần protein ở bê thí nghiệm

Chỉ tiêu kiểm tra	Lô đối chứng (n=3)	Lô thí nghiệm (n=3)				
		Thời gian kiểm tra sau khi gây bệnh (h)				
		48	72	96	168	240
Protein tổng số g %	7,27 ^a ± 0,26	7,93 ^a ± 0,12	8,45 ^b ± 0,36	8,52 ^b ± 0,24	6,97 ^c ± 0,19	6,10 ^c ± 0,24
Albumin (%)	37,30 ^a ± 0,37	32,59 ^b ± 0,84	32,72 ^b ± 0,41	31,51 ^b ± 0,26	27,10 ^c ± 0,26	25,56 ^c ± 0,26
α – globulin (%)	29,78 ^a ± 0,54	28,37 ^a ± 0,58	28,68 ^b ± 0,32	27,64 ^b ± 0,12	26,44 ^c ± 0,12	25,35 ^c ± 0,12
β – globulin (%)	14,64 ^a ± 0,12	18,76 ^b ± 0,38	18,49 ^b ± 0,21	19,27 ^b ± 0,12	21,27 ^b ± 0,12	22,77 ^b ± 0,12
γ – globulin (%)	18,28 ^a ± 0,29	20,28 ^b ± 0,66	20,11 ^b ± 0,83	20,14 ^b ± 0,24	25,19 ^b ± 0,62	26,32 ^b ± 0,24
Tỷ số A/G	0,60	0,49	0,49	0,46	0,38	0,35

Ghi chú: Những giá trị trong cùng hàng mang chữ cái khác nhau biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Kết quả xác định các tiểu phần protein trong huyết thanh bê đối chứng cho thấy albumin chiếm tỷ lệ cao nhất 37,30%, các tiểu phần globulin chiếm tỷ lệ như sau: α – globulin 29,78%, β – globulin 14,64% và γ – globulin chiếm tỷ lệ 18,28%. Nghiên cứu các chỉ tiêu này trên bê sơ sinh, giống HF, nhập nội nuôi tại Thọ Xuân, Thanh Hóa, Đỗ Đức Việt (2006) cho biết tiểu phần albumin chiếm tỷ lệ cao nhất 39%, trong các tiểu phần globulin thì α và γ – globulin chiếm tỷ lệ cao hơn.

Biến động các tiểu phần protein rõ nhất ở giai đoạn cuối của quá trình bệnh, thể hiện tính chất phổ biến trong thí nghiệm này là giảm tỷ lệ albumin và tăng tỷ lệ γ – globulin. Ở bê gây bệnh, sau 48 giờ tiểu phần albumin giảm xuống 32,59% và tiếp tục giảm còn 27,10% sau 168 giờ

và 25,56% sau 240 giờ; so với bê đối chứng sự sai khác trên là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Cùng với sự giảm của albumin, α – globulin cũng có xu hướng giảm. Sau 96 giờ gây bệnh hàm lượng α – globulin là 27,64% so với 29,78% ở bê đối chứng và tiếp tục giảm xuống 25,35% sau 240 giờ. Ngược lại với sự thay đổi của tiểu phần albumin và α – globulin, các tiểu phần β, γ lại tăng lên. Chỉ tiêu γ – globulin thay đổi khá rõ rệt ($P < 0,05$); sau 240 giờ gây bệnh chỉ tiêu này tăng lên 26,32% so với đối chứng 18,28%. Tiểu phần γ – globulin là tổ hợp kháng thể, tham gia thành phần của các kháng thể tự nhiên và protein miễn dịch, giữ vai trò quan trọng trong quá trình phòng vệ của cơ thể. Tuy nhiên chỉ tiêu này ở bò sữa HF đang nuôi thích nghi ở Việt Nam có phạm vi dao động khá rộng từ 14% đến 24% (Đỗ Đức Việt, 2006).

Từ sự giảm albumin và γ globulin dẫn tới tỷ số A/G giảm so với bê đối chứng không tiêu chảy, điều này cho ta thấy rõ ở bê tiêu chảy do E.coli vì rối loạn tiêu hóa, hấp thu dẫn đến suy dinh dưỡng và rối loạn tổng hợp protein, làm cho protein tổng số giảm cũng như sự thay đổi các tiểu phân protein như đã trình bày ở bảng 4.

4. KẾT LUẬN

Chỉ tiêu sinh lý máu của bê lai nuôi hướng sữa giống F1, F2, 1 – 3 ngày tuổi bị tiêu chảy do vi khuẩn enterotoxigenic *E.coli* gây ra đã có những biến đổi rõ rệt.

Số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, tỷ khối hồng cầu tăng lên ở giai đoạn đầu, giảm xuống ở giai đoạn sau của quá trình bệnh lý. Sau khi gây bệnh 72 giờ, số lượng hồng cầu tăng lên 7,39 triệu/mm³ máu, hàm lượng huyết sắc tố 11,26 g%, tỷ khối hồng cầu 39,16%; sau 240 giờ, số lượng hồng cầu giảm xuống 5,16 triệu/mm³, hàm lượng huyết sắc tố 8,46 g%, tỷ khối hồng cầu 28,47%.

Số lượng bạch cầu giảm xuống 5,73 nghìn/mm³ sau 96 giờ và tăng lên 7,42 nghìn/mm³ sau 240 giờ. Tỷ lệ bạch cầu đa nhân trung tính giảm trong những ngày đầu và tăng ở giai đoạn cuối. Tỷ lệ lâm ba cầu giảm, tăng tỷ lệ bạch cầu đơn nhân cuối thời kỳ bệnh.

Hàm lượng đường huyết, kiềm dự trữ, hàm lượng Na⁺ và protein trong huyết thanh bê thí nghiệm giảm trong suốt quá trình bệnh. Tiểu phân albumin, α – globulin giảm, trong khi đó các tiểu phân γ - globulin tăng so với bê đối chứng.

5. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Acres, S. D. (1985). *Enterotoxigenic Escherichia coli in newborn calves: A review*. J. Dairy. Sci., 68: 229-256.

Bradley, S. G. (1979). *Cellular and molecular mechanism of action of bacterial endotoxin*. Ann. Rev. Microbiol., 33: 69 – 74.

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.

Morin, M., S. Lariviere and R. Lallier (1976). *Pathological and microbiological observations on spontaneous case of acuta neonatal calf diarrhea*. Can. J. Comp. Med., 40: 130-134.

Myers, L. L., and P. A. N. Guinee (1976). *Occurrence and characteristics of enterotoxigenic Escherichia coli isolated from calves with diarrhea*. Infect. Immun., 11: 493-496.

Schalm, O. W. (1964). *A simple and rapid method for staining blood films with new methylene blue*. J. Amer. Vet. Med. Ass., 145: 1184-1190.

Schalm, O. W., N. C. Jain, E. J. Carroll (1975). *The leukocytes: structure, kinetics, function, and clinical interpretation*. Veterinary Hematology. Lea & Febiger, Philadelphia, Printed in the United States of American, p: 471-538.

Sunderman, F. W. (1953). *Symposium on clinical hemoglobinometry*. Amer. J. Clin. Path., 23:519-524.

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 sỹ nông nghiệp, tr: 61 – 65.

Wintrobe, M. M. (1929). *The volume and hemoglobin content of the red blood corpuscle*. Amer. J. Med. Sci., 177: 513-519.