

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM BỆNH TỤ HUYẾT TRÙNG TRÊN VỊT NUÔI TẠI CÁC TRANG TRẠI THUỘC HUYỆN TAM DƯƠNG, TỈNH VINH PHÚC

Chu Thị Thanh Hương¹, Đinh Thị Diệp Anh², Trương Lan Oanh¹, Trương Hà Thái^{1*}

*Tác giả liên hệ email: ththai@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Kết quả theo dõi bệnh tụ huyết trùng ở vịt trong thời gian từ tháng 9/2019 - 12/2019, ở các hộ chăn nuôi cho thấy tỷ lệ vịt mắc bệnh này chiếm 4,6% - 7,9% và tỷ lệ tử vong chiếm 43,5% - 62,5%. Biểu hiện đầu tiên của bệnh này là hiện tượng vịt trong đàn chết đột ngột; những vịt bệnh có các biểu hiện sốt, tần số hô hấp tăng, bỏ ăn hoặc ăn ít, nằm một chỗ, lơ đãng, đi lại khó khăn, xù lông, đầu rúc sâu vào cánh, uống nước nhiều, tiêu chảy phân trắng xanh có nhớt hoặc dịch nhầy, lông vùng hậu môn ướt, bẩn, bết phân, miệng và mũi chảy dịch lẫn máu. Bệnh tích đại thể bao gồm xuất huyết mỡ vành tim, xoang bao tim tích nước, phổi tụ huyết, gan sưng, hoại tử, lách sưng to, túi khí mờ đục có bã đậu, thận sưng, trực tràng xuất huyết. Kết quả kiểm tra tính mẫn cảm kháng sinh cho thấy 100% các chủng *P. multocida* phân lập được mẫn cảm với enrofloxacin, levofloxacin, norfloxacin và ceftazidime; đề kháng cao với tetracycline (70,6%), doxycycline (58,8%), ampicillin (47,1%), streptomycin (41,2%), amoxicillin/clavulanic acid (35,3%), kháng gentamicin và kanamycin với tỷ lệ lần lượt là 17,6% và 23,5%. Cần có những nghiên cứu sâu hơn để hiểu rõ đặc điểm dịch tễ và đặc tính của các chủng vi khuẩn gây bệnh tụ huyết trùng ở vịt tại Việt Nam.

Từ khóa: Bệnh tụ huyết trùng, *Pasteurella multocida*, bệnh trên vịt, kháng kháng sinh.

Some characteristics of pasteurellosis in the duck flocks raised at the households in Tam Duong district, Vinh Phuc province

Chu Thị Thanh Hương, Đinh Thị Diệp Anh, Trương Lan Oanh, Trương Hà Thái

SUMMARY

This study was carried out from September to December, 2019 in the duck flocks raised at households, the studied result showed that the infection rate of duck ranged from 4.6% to 7.9%, and the mortality rate ranged from 43.5% to 62.5%. The first manifestation of the disease was the ducks suddenly died in the flocks. The clinical signs were fever, increased respiratory rate, depression, anorexia, ruffled feathers, head tucked into the wings, difficulty walking, drink lots of water, diarrhea, dirty of feathers around anus and mucous discharge from the mouth and nostrils. The gross lesions included: amount of peritoneal and pericardial fluids increasing; petechial and ecchymotic hemorrhages were common, such as: hemorrhages in the coronary band of heart, hemorrhages in the air sac membranes adjacent to lungs, the liver was swollen accompanied with multiple, small, necrotic foci, intestinal lumen revealed thickened yellowish necrotic mucous membrane and there were ecchymosis hemorrhages at the ileocecal junction. The results of the antibiotic test showed that, 100% of the *P. multocida* strains were susceptible with enrofloxacin, levofloxacin, norfloxacin and ceftazidime; however, the strains showed the high resistance rates to tetracycline (70.6%), doxycycline (58.8%), ampicillin (47.1%), streptomycin (41.2%), amoxicillin/clavulanic acid (35.3%), resistant rate of the strains with gentamicin and kanamycin was 17.6% and 23.5%, respectively. Therefore, further studies are needed to conduct for better understanding the characteristics of this disease and the pathogenic strains in Viet Nam.

Keywords: Pasteurellosis, *Pasteurella multocida*, duck diseases, antibiotic resistance.

¹. Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

². Sinh viên Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chăn nuôi vịt tại Việt Nam rất phát triển, luôn đứng trong top 10 nước có số lượng vịt được chăn nuôi lớn nhất thế giới. Mặc dù vậy, trong thời gian gần đây chăn nuôi vịt cũng gặp nhiều khó khăn không chỉ do giá cả thị trường mà còn do dịch bệnh, một trong những bệnh gây thiệt hại khá lớn cho người chăn nuôi đó là bệnh Tụ huyết trùng vịt. Bệnh phân bố trên toàn thế giới và gây thiệt hại kinh tế lớn cho chăn nuôi gia cầm tại nhiều quốc gia (Aye và cs., 2001, Baksi và cs., 2018). Theo Christensen và cs. (2008), vịt mọi lứa tuổi đều có thể mắc bệnh, phổ biến nhất là vịt ở giai đoạn chuẩn bị xuất chuồng với tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ chết cao do nhiễm trùng huyết, xuất huyết. Đây được coi là một trong những bệnh gây thiệt hại lớn cho ngành chăn nuôi vịt, bởi tỷ lệ lưu hành của vi khuẩn *P. multocida* ở các đàn vịt khoảng 25,9 - 37,0% (Muhairwa và cs., 2000; Mbuthia và cs., 2008), khi bệnh xuất hiện tỷ lệ chết có thể lên đến 50,0%. *P. multocida* là loại cầu trực khuẩn, bắt màu gram âm, không di động, không sinh bào tử, hoạt động như vi khuẩn cộng sinh ở đường hô hấp trên của nhiều loài gia cầm, trong đó có vịt và gây bệnh cho gia cầm khi có những yếu tố stress (Harper và cs., 2006).

Gần đây, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để phân lập và xác định *P. multocida* từ các loài khác nhau nhưng thông tin về bệnh Tụ huyết trùng trên vịt cũng như vi khuẩn *P. multocida* phân lập từ vịt vẫn còn rất ít không chỉ tại Việt Nam mà trên toàn thế giới (Mohan và Kumar, 2008; V.P.V Anh Tuấn, 2021; Xiao và cs., 2021). Xuất phát từ thực tiễn sản xuất, chúng tôi tiến hành tìm hiểu một số đặc điểm của bệnh Tụ huyết trùng trên đàn vịt nuôi tại các trang trại trên địa bàn huyện Tam Dương, tỉnh Vĩnh Phúc với mục đích cung cấp thêm các thông tin hữu ích về bệnh này tại Việt Nam, từ đó có các biện pháp phòng ngừa thích hợp nâng cao hiệu quả chăn nuôi.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu đặc điểm của bệnh tụ huyết

trùng trên các đàn vịt giống Super từ 18 - 32 tuần tuổi nuôi lấy trứng sản xuất con giống tại một số trang trại thuộc huyện Tam Dương, Vĩnh Phúc.

- Kiểm tra khả năng đề kháng kháng sinh của một số chủng *P. multocida* phân lập được từ vịt mắc bệnh.

2.2. Nguyên liệu

Các mẫu bệnh phẩm, các loại môi trường hóa chất nuôi cấy và kiểm tra đặc tính sinh hóa của vi khuẩn; các loại sinh phẩm, hóa chất dùng tách DNA và thực hiện phản ứng PCR, các kháng sinh giấy tẩm kháng sinh... được mô tả cụ thể tại phần phương pháp nghiên cứu.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Điều tra xác định bệnh: Một số trang trại chăn nuôi giống vịt Super để trứng sản xuất con giống tại huyện Tam Dương, Vĩnh Phúc được lựa chọn ngẫu nhiên cho nghiên cứu. Bộ phiếu điều tra dịch tễ được thiết kế để thu thập các thông tin cần thiết như quy mô, mục đích chăn nuôi, lứa tuổi vịt, các loại vacxin, kháng sinh thường sử dụng, các bệnh thường gặp... Trong phiếu điều tra có thêm mô tả về triệu chứng đặc trưng của bệnh Tụ huyết trùng trên vịt, khi phát hiện bệnh chủ trại tiến hành liên lạc để cung cấp thông tin.

Mổ khám kiểm tra triệu chứng, bệnh tích: Tại trang trại, sau khi tiến hành quan sát toàn đàn, những vịt nghi mắc bệnh được tách riêng để quan sát triệu chứng và tiến hành mổ khám xác định bệnh tích đại thể theo hướng dẫn của TCVN 8402:2010 (Cục Thú y, 2010).

Lấy mẫu: mẫu bệnh phẩm là máu tim, phổi, gan được thu thập từ vịt nghi mắc bệnh Tụ huyết trùng tại các trại chăn nuôi, ghi chú các thông tin cần thiết, bảo quản trong thùng đá và vận chuyển về phòng thí nghiệm (TCVN 8400-31:2015).

Phân lập vi khuẩn: Vi khuẩn *P. multocida* được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm theo TCVN-8400-31:2015. Được mô tả vắn tắt như sau, dùng que

cây vô trùng lấy dịch máu tim hoặc dịch gan nuôi cấy trên môi trường BHI, đồng thời ria cấy trên thạch máu và thạch MacConkey rồi đặt trong tủ ấm 37°C/24h và kiểm tra kết quả (môi trường nước thịt đục, không có cặn ở đáy, lắc có vẩn nhẹ; trên môi trường thạch máu, mọc thành khuẩn lạc dạng S, không mọc trên môi trường MacConkey); tiếp theo chọn những khuẩn lạc nghi ngờ để kiểm tra các đặc tính sinh hóa. Những chủng vi khuẩn bắt màu gram (-), có phản ứng indol (+), catalase (+), oxidase (+), Voges-Proskauer (-), Methyl red (-), phân giải gelatin (-) thì khẳng định là *P. multocida*. Các khuẩn lạc đặc trưng được giữ trong môi trường BHI có bổ sung 50% glycerin và giữ ở nhiệt độ -20°C cho các thí nghiệm tiếp theo.

Khẳng định *P. multocida* bằng phản ứng PCR: DNA tổng số được chiết tách bằng phương pháp sốc nhiệt (boiling). Được mô tả ngắn gọn như sau, đầu tiên, lấy một khuẩn lạc đặc trưng nghi *P. multocida* trên môi trường thạch cho vào ống eppendorf 1,5ml có chứa 500µl nuclease-

free water, vortex để trộn đều hỗn dịch. Tiến hành ly tâm ở tốc độ 3.000 vòng/phút/5 phút sau đó loại bỏ dịch nổi. Tiếp đó, hút 200µl nuclease-free water cho vào ống, vortex để trộn đều rồi đặt ống trong máy ủ nhiệt ở nhiệt độ 100°C/10 phút. Bước tiếp theo, lấy ống eppendorf có chứa hỗn dịch đặt trên đá lạnh trong 5 phút rồi tiến hành ly tâm với tốc độ 12.000 vòng/phút/5 phút. Dùng pipet hút 100µl dịch nổi chuyển sang ống Eppendorf mới, ghi nhãn và bảo quản ở nhiệt độ -30°C cho các thí nghiệm tiếp theo. Phản ứng PCR được thực hiện như sau, thành phần, cặp mồi và điều kiện của phản ứng PCR được thực hiện dựa trên nghiên cứu của (Townsend và cs., 1998). Thành phần phản ứng gồm: 12,5 µl GoTag® Green Master Mix (Promega, Mỹ); 1µl mỗi loại mồi xuôi và mồi ngược (10 µM); 8,5 µl nước tinh khiết và 2 µl ADN khuôn mẫu. Sản phẩm PCR được điện di trên thạch agarose 1,5% có bổ sung thuốc nhuộm RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution (Intron, Hàn Quốc).

Bảng 1. Cặp mồi và điều kiện của phản ứng PCR phát hiện *P. multocida*

Mồi	Trình tự (5' - 3')	Chu trình nhiệt phản ứng PCR	Kích thước (bp)
KMT1SP6	GCTGTAAACGAACTCGCCAC	1 vòng (95°C - 4 phút); 35 vòng (95°C - 60 giây, 55°C - 60 giây, 72°C - 60 giây); 1 vòng (72°C - 9 phút)	460
KMT1T7	ATCCGCTATTTACCCAGTGG		

Kháng sinh đồ: Các chủng vi khuẩn *P. multocida* được kiểm tra tính mẫn cảm với 11 loại kháng sinh (ampicillin, 10µg; amoxicillin clavunalic acid, 20/10µg; ceftazidime, 30µg; doxycycline, 30µg; enrofloxacin, 5µg; gentamicin, 10 µg; kanamicin, 30 µg; levofloxacin, 5 µg, norfloxacin, 10 µg, streptomycin, 10 µg và tetracycline, 30 µg) bằng phương pháp khuếch tán trên thạch Mueller-Hinton Agar (MHA) dựa theo Bauer và cs. (1966). Kết quả xác định mức độ nhạy cảm hay đề kháng của vi khuẩn *P. multocida* đối với kháng sinh dựa theo tiêu chuẩn CLSI (2017).

Xử lý số liệu: Các số liệu thu thập được xử lý

bằng phương pháp thống kê sinh học trên phần mềm Excel 2010.

2.4. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm thuộc Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam từ 8/2019 - 12/2019.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình mắc bệnh tụ huyết trùng tại các trại vịt giống

Kết quả theo dõi tình hình bệnh Tụ huyết trùng trên đàn vịt giống Super được trình bày tại bảng 2.

Bảng 2. Kết quả điều tra tình hình vịt nghi mắc bệnh tụ huyết trùng tại xã Hoàng Lâu, huyện Tam Dương, tỉnh Vĩnh Phúc

Trại	Lứa tuổi (tuần)	Số vịt theo dõi (con)	Số vịt mắc (con)	Tỷ lệ mắc (%)	Số vịt chết (con)	Tỷ lệ tử vong (%)
Trại A	18-32	523	39	7,5	24	61,5
Trại B	18-32	500	23	4,6	10	43,5
Trại C	16-30	430	34	7,9	18	52,9
Trại D	20-30	620	40	6,5	25	62,5
Tổng hợp	-	2.073	136	6,6	76	55,9

Số liệu trong bảng cho thấy, hầu hết các trại đều chăn nuôi với quy mô nhỏ, dao động từ 400 - 600 con. Theo điều tra của chúng tôi, vì chăn nuôi vịt lấy trứng sản xuất con giống nên công tác chăm sóc, nuôi dưỡng và tiêm phòng được thực hiện khá tốt. Hầu hết các bệnh nguy hiểm trên vịt như dịch tả vịt, viêm gan vịt, Tembusu... đều được các hộ chăn nuôi chủ động tiêm phòng.

Tuy nhiên trong thời gian theo dõi, bệnh tụ huyết trùng vịt vẫn xảy ra lẻ tẻ tại các hộ chăn nuôi dao động trong khoảng 4,6 - 7,9%; tỷ lệ mắc bệnh trung bình khoảng 6,6%. Mặc dù đàn vịt có tỷ lệ mắc bệnh thấp, nhưng theo quan sát của chúng tôi các ca bệnh thường ở thể cấp tính, nhiều khi chỉ thấy vịt sốt, ủ rũ trong một ngày rồi chết mà không kịp can thiệp điều trị, nên tỷ lệ tử vong cao dao động trong khoảng 43,5 - 62,5%; trung bình khoảng 55,9%.

Trong thời gian theo dõi, tỷ lệ vịt mắc bệnh không cao nguyên nhân có thể do các đàn khi có dấu hiệu mắc bệnh đã được phát hiện và can thiệp kịp thời nên bệnh chưa bùng phát. Tuy nhiên, cũng cần chú ý những dấu hiệu bất thường để phát hiện bệnh sớm. Bởi theo nhiều nghiên cứu, bệnh tụ huyết trùng vịt có đặc trưng bệnh phát ra lẻ tẻ, đột ngột với số lượng mắc bệnh ít, nhưng thường ở thể bệnh cấp tính, gây tử vong nhanh và cao. Nếu không phát hiện nguyên nhân kịp thời thì số lượng mắc bệnh tăng lên và kéo dài thời gian chết trong đàn trong nhiều tuần (Eldin và Reda, 2016).

3.2. Một số triệu chứng lâm sàng của vịt nghi mắc bệnh tụ huyết trùng

Kết quả theo dõi triệu chứng của các đàn vịt được thể hiện tại bảng 3.

Bảng 3. Kết quả theo dõi triệu chứng lâm sàng của vịt nghi mắc bệnh tụ huyết trùng (n= 136)

STT	Triệu chứng quan sát được	Số vịt có triệu chứng (con)	Tỷ lệ (%)
1	Ủ rũ, nằm một chỗ	112	82,4
2	Đầu rúc sâu vào cánh	87	64,0
3	Lười vận động, đi lại khó khăn	87	64,0
4	Ăn ít hoặc bỏ ăn,	85	62,5
5	Sốt, uống nhiều nước	85	62,5
6	Tần số hô hấp tăng	78	57,4
7	Tiêu chảy phân xanh vàng, nhớt	77	56,6
8	Lông vùng hậu môn bẩn, bết phân	68	50,0
9	Lông rụng, trụi lông do bị mổ	45	33,1
10	Miệng chảy nhớt	42	30,1
11	Lông dính bết, bẩn màu xám	35	25,7
12	Mũi chảy dịch, lẫn máu	21	15,4

Qua theo dõi thực tế cho thấy, lúc đầu đàn vịt có hiện tượng 1-2 con chết đột ngột. Khi quan sát, vịt chết thường bị nhô trụi lông nhót, dịch thường chảy ra từ miệng, trên nền chuồng có xuất hiện các bãi phân màu xanh trắng, xác thường nằm gần máng uống hoặc góc chuồng. Những vịt bệnh thường đứng tụ thành đám, những con yếu lười vận động, bị các con khỏe đè hoặc nhô lông nếu không kịp thời tách riêng dễ đề chết. Những hiện tượng toàn đàn phù hợp với công bố của các nghiên cứu trước (Harper và cs., 2006; Glisson và cs., 2013).

Triệu chứng cá thể, ban đầu một môi ủ rũ, thích nằm tùm với các con khác hoặc nằm một chỗ (82,4%), những vịt bệnh có biểu hiện bỏ ăn hoặc ăn ít (62,5%) nếu có cho ăn vịt chỉ rúc mỏ vào thức ăn mà không nuốt; vịt bệnh có biểu hiện xù lông, đầu rúc sâu vào cánh (64,0%), biểu hiện lơ đãng, đi lại khó khăn (64%), do sốt cao nên vịt uống nước nhiều (62,5%), vịt bệnh thường xơ xác, bị trụi lông vùng lưng do bị vịt khỏe mổ (33,1%). Vịt bệnh có biểu hiện tiêu chảy, phân thường có màu trắng xanh, có nhót hoặc dịch nhầy (56,6%), lông vùng

hậu môn ướt, bẩn, bết phân (50,0%), hiện tượng miệng và mũi chảy dịch lẫn máu thường chỉ xảy ra ở những vịt phát bệnh đầu tiên (15,4% - 30,1%). Những vịt bệnh nếu không phát hiện và điều trị kịp thời vịt sẽ chết sau 2-3 ngày kể từ khi có triệu chứng đầu tiên.

Những triệu chứng đặc trưng quan sát được phù hợp với nghiên cứu trước đây (Christensen và cs., 2008; Eldin và Reda, 2016), các tác giả cho biết vịt mắc bệnh thường có biểu hiện lơ đãng, mất nhăm nghiền hoặc buồn ngủ, một số con sốt cao, có thể bị co giật, vịt bệnh thích rúc đầu vào cánh. Các dấu hiệu khác như chảy dịch nhầy từ miệng, mũi và mỏ phủ chất bẩn, lông quanh hậu môn dính bết phân. Vịt có biểu hiện bị tiêu chảy, phân lỏng, màu nâu vàng hoặc màu vàng dính máu hoặc dịch nhầy (Mohan và Kumar, 2008; Kamruzzaman và cs., 2016). Như vậy, cán bộ kỹ thuật hoặc người chăn nuôi có thể dựa vào các triệu chứng được mô tả ở trên để phát hiện bệnh kịp thời, sau đó nhanh chóng đưa ra những biện pháp can thiệp, điều trị cho đàn vịt để giảm tỷ lệ mắc và tử vong.



Hình 1. Mỏ có dịch nhót chảy ra



Hình 2. Phân màu xanh trắng

3.3. Bệnh tích đại thể của vịt mắc tụ huyết trùng

Mổ khám 41 vịt chết do bệnh tụ huyết trùng, kết quả được trình bày tại bảng 4.

Bảng trên cho thấy, biểu hiện xuất huyết mỡ vành tim là cao nhất (90,2%), xoang bao tim tích nước (80,5%), lách sưng to (56,1%), phổi tụ huyết

(82,9%), khi mổ khám còn quan sát thấy có những cục máu đông trong phổi; biểu hiện túi khí mờ đục đôi khi có cả bã đậu xuất hiện ở 51,2% các ca mổ khám. Vịt bệnh có biểu hiện gan sưng, có những điểm hoại tử bằng đầu đinh ghim màu trắng hoặc vàng (78,0%), trực tràng xuất huyết (34,1%). Bên cạnh đó, hiện tượng thận sưng không xuất hiện nhiều (48,8%) trên tổng số ca mổ khám.

Bảng 4. Một số bệnh tích đại thể của vịt nghi mắc bệnh tụ huyết trùng (n= 41)

Hệ cơ quan	Các biểu hiện quan sát được	Số ca có bệnh tích (con)	Tỷ lệ (%)
Hệ tuần hoàn	Xoang bao tim tích nước	33	80,5
	Xuất huyết lớp mỡ vành tim	37	90,2
	Lách sưng	23	56,1
Hệ hô hấp	Túi khí mờ đục	21	51,2
	Phổi tụ huyết, có cục máu đông	34	82,9
	Thực quản xung huyết, có dịch nhầy	19	46,3
Hệ tiêu hóa	Trực tràng xuất huyết	14	34,1
	Gan có các điểm hoại tử nhỏ	32	78,0
Hệ bài tiết	Thận sưng	20	48,8

Một số nghiên cứu trước đây (Mohan và Kumar, 2008; Wilkie và cs., 2012; Kamruzzaman và cs., 2016) cũng cho kết quả tương tự, khi mổ khám thấy hiện tượng tăng tích dịch tại xoang bụng, tích dịch xoang bụng và màng ngoài tim tăng sinh, tích dịch xoang bao tim, xuất huyết lớp mỡ vành tim; phổ biến nhất là hiện tượng tụ huyết và xuất huyết ở các cơ quan

nội tạng, đặc biệt là ở các biểu mô và thanh mạc; phổi có biểu hiện tụ huyết rõ, màng phổi tăng sinh, màng túi khí dày, mờ đục, xuất huyết tại màng túi khí nơi dính với phổi; gan sưng to kèm theo nhiều ổ hoại tử nhỏ; lòng ruột có chứa chất tiết màu vàng nhạt niêm mạc có đôi chỗ hoại tử và hiện tượng tụ máu tại ngã ba manh tràng.

**Hình 3. Phổi tụ huyết, chứa cục máu đông****Hình 4. Xuất huyết lớp mỡ vành tim****Hình 5. Xoang bao tim tích nước****Hình 6. Túi khí mờ đục****Hình 7. Gan sưng, hoại tử****Hình 8. Thận sưng, buồng trứng tụ máu****Hình 9. Ruột xuất huyết****Hình 10. Xuất huyết trực tràng**

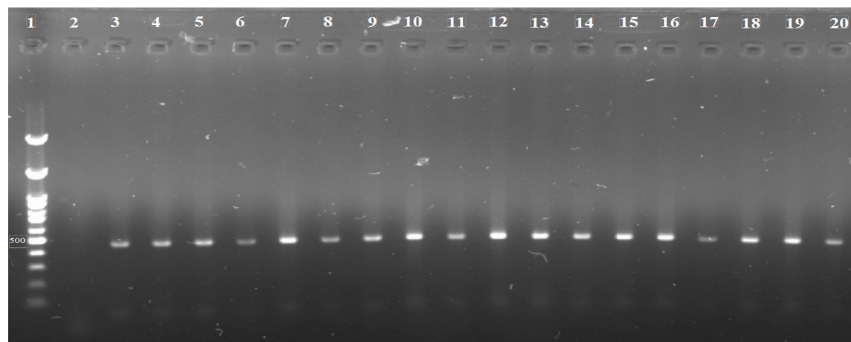
3.4. Kết quả kiểm tra khẳng định *P. multocida*

Trong 23 mẫu gửi về phòng thí nghiệm, bằng

phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học chúng tôi đã phân lập được 17 chủng vi khuẩn mang đặc tính

của *P. multocida*. Tuy nhiên, để khẳng định chắc chắn là *P. multocida* các chủng vi khuẩn này được

khẳng định lại bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu.



Hình 11. Kết quả PCR xác định vi khuẩn *P. multocida*

Giếng 1: thang chuẩn 100 bp; giếng 2: đối chứng âm, giếng 3-19: mẫu; giếng 20: đối chứng dương

Hình ảnh điện di (hình 11) cho thấy, sản phẩm PCR với kích thước 460 bp chỉ xuất hiện một vạch đặc hiệu, không có vạch phụ, trong khi đó mẫu đối chứng âm không xuất hiện vạch. Kết quả này phù hợp với công bố của Townsend và cs. (1998), bằng phản ứng PCR và sử dụng

cặp mồi trên tác giả đã xác định thành công *P. multocida* với độ đặc hiệu và độ nhạy cao.

3.5. Kết quả kiểm tra tính miễn cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập được

Kết quả kiểm tra tính miễn cảm kháng sinh của các chủng này được thể hiện tại bảng 5.

Bảng 5. Kết quả kiểm tra mức độ miễn cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Pasteurella multocida* phân lập được (n = 17)

TT	Loại kháng sinh	Nhạy cảm n (%)	Trung bình n (%)	Kháng n (%)
1	Ampicillin (10µg)	7 (41,2)	2 (11,8)	8 (47,1)
2	Amox/clav.acid*(20/10µg)	11 (70,6)	0 (0,0)	6 (35,3)
3	Ceftazidime (30µg)	17 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
4	Streptomycin (10 µg)	11 (64,7)	0 (0,0)	7 (41,2)
5	Kanamycin (30 µg)	13 (76,5)	0 (0,0)	4 (23,5)
6	Gentamicin (10 µg)	12 (70,6)	2 (11,8)	3 (17,6)
7	Enrofloxacin (5 µg)	17 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
8	Levofloxacin (5 µg)	17 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
9	Norfloxacin (10 µg)	17 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
10	Doxycycline (30 µg)	6 (35,3)	1 (5,9)	10 (58,8)
11	Tetracycline (30 µg)	3 (17,6)	2 (11,8)	12 (70,6)

Qua bảng 5, 100% các chủng *P. multocida* phân lập được miễn cảm với các loại kháng sinh thế hệ mới thuộc nhóm quinolones (enrofloxacin, levofloxacin và norfloxacin) và ceftazidime thuộc nhóm cephalosporin. Các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được có sự đề kháng cao với

các kháng sinh tetracycline (70,6%), doxycycline (58,8%), ampicillin (47,1%), streptomycin (41,2%) amoxicillin/clavulanic acid (35,3%); hai loại kháng sinh thông dụng gentamicin và kanamycin bị kháng với tỷ lệ lần lượt là 17,6% và 23,5%.

Trong nghiên cứu này, các chủng vi khuẩn *P. multocida* mẫn cảm cao đối với các loại kháng sinh thuộc nhóm cephalosporin và quilonons phù hợp với nghiên cứu trước tại Việt Nam (Vũ Khắc Hùng và cs., 2020; V.P.V Anh Tuấn, 2021), Ấn Độ (Sarangi và Panda, 2011) và Ai Cập (Eldin và Reda, 2016), các chủng vi khuẩn dù phân lập trên gia súc hay gia cầm bệnh đều mẫn cảm với các loại kháng sinh trên. Tỷ lệ các chủng vi khuẩn *P. multocida* đề kháng doxycycline và tetracyclin cao hơn so các với nghiên cứu trước (Vũ Khắc Hùng và cs., 2020; V.P.V Anh Tuấn, 2021), các giả cho biết hai loại kháng sinh này bị kháng với tỷ lệ lần lượt là 44,26% và 59,0%. Nguyên nhân có thể do nguồn gốc vật chủ, vị trí địa lý, tiền sử phơi nhiễm kháng sinh và khả năng tiếp nhận gen kháng kháng sinh (Kehrenberg và cs., 2001). Ngoài ra, các tác giả trên (Vũ Khắc Hùng và cs., 2020; V.P.V Anh Tuấn, 2021) cũng cho biết kanamycin và gentamicin bị kháng ở mức thấp, dao động trong khoảng 14,5-27,9%, các nghiên cứu tại Ai Cập (Eldin và Reda, 2016), Bangladesh (Kamruzzaman và cs., 2016), Malaysia (Mohammad và cs., 2021) cũng công bố kết quả tương tự.

Cho đến nay, kháng sinh vẫn là công cụ hiệu quả nhất để điều trị bệnh tụ huyết trùng do vi khuẩn *P. multocida* gây ra. Tuy nhiên việc sử dụng kháng sinh sai mục đích, không đúng liệu trình đã giúp cho vi khuẩn này phát triển khả năng đề kháng kháng sinh gây khó khăn cho công tác phòng chống bệnh (Sarangi và Panda, 2011, Kamruzzaman và cs., 2016, Stella và cs., 2018). Nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng, các chủng *P. multocida* phân lập được có xu hướng đề kháng với hầu hết các loại kháng sinh thông thường. Nguyên nhân, có thể do đây là các loại kháng sinh đã được sử dụng từ rất lâu trong điều trị các bệnh nhiễm khuẩn trên gia cầm, thêm vào đó là cách sử dụng thuốc, đặc biệt sử dụng kháng sinh sai mục đích, liều lượng và liệu trình đã làm tăng mức độ kháng kháng sinh của loại vi khuẩn này (Đậu Ngọc Hào, 2016; Stella và cs., 2018). Tuy nhiên, trong nghiên cứu này các chủng vi khuẩn mới được phân lập ở phạm vi hẹp, thời gian nghiên cứu ngắn, số lượng không nhiều nên có thể chưa phản ánh hết tình trạng kháng kháng

sinh của *P. multocida*. Chính vì thế, cần có những nghiên cứu sâu rộng hơn về bệnh Tụ huyết trùng trên đàn thủy cầm tại miền Bắc Việt Nam để làm rõ các đặc điểm dịch tễ và vai trò, đặc tính của các chủng vi khuẩn gây bệnh nhằm đưa ra các biện pháp phòng chống bệnh hiệu quả.

IV. KẾT LUẬN

Bệnh tụ huyết trùng vẫn xảy ra lẻ tẻ tại các hộ chăn nuôi dao động trong khoảng 4,6 - 7,9%; tỷ lệ tử vong trung bình khoảng 43,5 - 62,5%. Những vịt bệnh thường chết đột đột hoặc bỏ ăn đi lại khó khăn, tiêu chảy phân trắng xanh có nhớt hoặc dịch nhày, miệng và mũi chảy dịch lẫn máu. Kết quả mô khám cho thấy hiện xuất huyết mỡ vành tim, xoang bao tim tích nước, phổi tụ huyết, gan sưng, hoại tử lâm tẩm, thận sưng, xuất huyết ruột non và trực tràng. Các chủng *P. multocida* phân lập được mẫn cảm với enrofloxacin, levofloxacin, norfloxacin và ceftazidime; đề kháng cao với tetracycline, doxycycline; các loại kháng sinh còn lại như ampicillin, streptomycin, amoxicillin/clavulanic acid bị kháng dao động từ 35,3 - 47,1%. Kết quả của nghiên cứu này có thể ứng dụng trong công tác chẩn đoán và điều trị dự phòng bệnh Tụ huyết trùng cho vịt nhất là vào giai đoạn chuyển mùa, chuyển chuồng... để nâng cao hiệu quả sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aye P.P, Angrick T.Y, Morishita, Harr B.S., 2001. Prevalence and characteristics. of *Pasteurella multocida* in commercial turkeys. *Avian Diseases*, 45(1),182-190.
2. Baksi S, Rao N, Khan M, Chauhan P, Chauhan A., 2018. Efficacy of inactivated Fowl cholera vaccine in chickens. *PSM Veterinary Research*, 3(2), 32-35.
3. Bauer A.W, Kirby W.M, Sherris J.C & Turck M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4), 493-496.
4. CLSI, 2017. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

5. Christensen JP, Bojesen AM, Bisgaard M., 2008. Fowl cholera. In *Poultry diseases* (Pattison, McMullin, Bradbury, Alexander, eds): Elsevier, Philadelphia, USA, pp: 149-154.
6. Tiêu chuẩn Việt Nam, 2015. TCVN 8400-31:2015 về bệnh động vật, phần 31: Bệnh tụ huyết trùng gia cầm.
7. Đậu Ngọc Hào, 2016. Sử dụng kháng sinh trong thức ăn chăn nuôi và sức khỏe cộng đồng. *KHKT Thú y*, 23(3), 94-100.
8. Eldin W.F.S and Reda L.M., 2016. Epidemiological prevalence of *Pasteurella multocida* in ducks. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 64 (Supplement 2), S251-255.
9. Glisson J, Hofacre C, Christensen JP., 2013. Pasteurellosis and other respiratory bacterial infections. In: Swayne DE, Glisson J.R, McDougald L.R, Nolan L.K, Suarez D, Nair V (eds). *Diseases of poultry*. 13th ed. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA and Oxford, UK, Pp 807-823.
10. Harper M, Boyce JD, Adler B., 2006. *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur. *FEMS Microbiology Letters*, 265(1), 1-10.
11. Kamruzzaman M, Islam M, Hossain M.M, Hassan M.K, Kabir M.H.B, Sabrin M.S and Khan M.S.R., 2016. Isolation, characterization and antibiogram study of *Pasteurella multocida* isolated from ducks of Kishoreganj district, Bangladesh. *International Journal of Animal Resources*, 1(1), 69-76.
12. Kehrenberg C, Schulze-Tanzil G, Martel JL, Chaslus-Dancla E, Schwarz S., 2001. Antimicrobial resistance in *pasteurella* and *mannheimia*: epidemiology and genetic basis. *Vet Res*, 32(3-4), 323-39.
13. Mbuthia P. G, Njagi L. W, Nyaga P.N, Bebor L.C, Minga U, Kamundia J, Olsen J.E., 2008. *Pasteurella multocida* in scavenging family chickens and ducks: carrier status, age susceptibility and transmission between species. *Avian Pathol*, 37, 51-57.
14. Mohan K and Kumar P.P.G., 2008. Pasteurellosis in a Duck. *Veterinary World*, 1(12):367.
15. Mohammad A.S, Zakariab Z, Abua J, Faiza N.M., 2021. Molecular characterisation and antibiotic sensitivity profile of *Pasteurella multocida* isolated from poultry farms in Malaysia. *Austral J Vet Sci*, 53, 121-126.
16. Muhairwa A.P., Christensen J.P., Bisgaard M., 2000. Investigations on the carrier rate of *Pasteurella multocida* in healthy commercial poultry flocks and flocks affected by fowl cholera. *Avian Pathol*. 29, 133-142.
17. Stella P, Beloeil PA, Guerra B, Hugas M, Liebana E., 2018. The role of the European food safety authority (EFSA) in the fight against antimicrobial resistance (AMR). *Food Prot. Trends*, 38(1): 72-80.
18. Sarangi L.N and Panda H.K., 2011. Antibiotic sensitivity of Avian isolates of *Pasteurella multocida*. *Indian Vet. J*, 88 (6), 85-86.
19. Townsend K.M., Frost A.J., Lee C.W., Papadimitriou J.M., Dawkins H.J., 1998. Development of PCR assays for species- and type-specific identification of *Pasteurella multocida* isolates. *J Clin Microbiol*, 36(4):1096-100.
20. Võ Phong Vũ Anh Tuấn, 2021. Phân lập và thử kháng sinh đồ *Pasteurella multocida* từ vịt bệnh hoặc nghi mắc bệnh Tụ huyết trùng. *KHKT Chăn nuôi*, 265, 83-88.
21. Vũ Khắc Hùng, Trịnh Thị Thu Hằng, Trần Xuân Hạnh, Nguyễn Thị Thịnh., 2020. Xác định khả năng kháng kháng sinh (kiểu hình, kiểu gen) của các chủng *Pasteurella multocida* phân lập từ lợn. *KHKT Thú y*, 27(6), 33-39.
22. Wilkie I.W, Harper M, Boyce J.D, Adler B., 2012. *Pasteurella multocida*: diseases and pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol*, 361, 1-22.
23. Xiao J, Li Y, Hu Z, Zhang Y, Chang YF, Zhou Q, Yan Z, Zhang X, Chen L, Li W, Xie Z, Xie Q., 2021. Characterization of *Pasteurella multocida* isolated from ducks in China from 2017 to 2019. *Microb Pathog*, 160, 105196

Ngày nhận: 28-7-2023

Ngày phản biện: 31-7-2023

Ngày đăng: 1-1-2024