

TÁC NHÂN GÂY BỆNH GIẢM ĐỀ *GALLIBACTERIUM ANATIS* TRÊN GIA CẦM: CƠ CHẾ PHÁT SINH, PHÒNG, ĐIỀU TRỊ BỆNH VÀ TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU Ở VIỆT NAM

Nguyễn Thành Luân

Viện Khoa học ứng dụng HUTECH, Trường Đại học Công nghệ Tp. Hồ Chí Minh (HUTECH)

Đối với những trại nuôi gà sinh sản, *Gallibacterium anatis* đặc biệt là biovar *haemolytica* là tác nhân gây bệnh “giảm đẻ” dẫn đến giảm năng suất và chất lượng trứng, giảm số gà con giống, và gây thiệt hại kinh tế cho người chăn nuôi. Tuy nhiên, nhiễm *G. anatis* là một nguyên nhân ít được chẩn đoán hoặc dễ bị bỏ qua do đặc điểm lâm sàng khó phân biệt. Bài viết này nhằm mục đích tổng hợp các thông tin mô tả về các dấu hiệu bệnh lý trên gà do *G. anatis* gây ra; độc lực và con đường lan truyền của loài vi khuẩn gram âm gây bệnh cơ hội này; nhận định về tình hình bệnh do *G. anatis* phát hiện ở Việt Nam; và cách phòng ngừa và kiểm soát bệnh do nhiễm *G. anatis*. Các thông tin sẽ giúp người nuôi hiểu đúng về căn bệnh này và cung cấp cho nhà khoa học những đặc điểm dịch tễ học của bệnh do vi khuẩn *G. anatis* gây ra trong ngành chăn nuôi. Chủ đề này còn cung cấp thông tin cho việc chẩn đoán, phòng và điều trị nhanh, hiệu quả cũng như đúng thời điểm bệnh xảy ra. Cuối cùng, các chiến lược phòng ngừa và kiểm soát khoa học, cũng như phát triển các loại vaccin cần thường xuyên thực hiện để hạn chế thiệt hại do sự bùng phát của mầm bệnh do *G. anatis* trong ngành chăn nuôi gia cầm.

I. Bệnh giảm năng suất trứng do vi khuẩn *G. anatis*

1.1. Tình hình chăn nuôi gia cầm

Đàn gia cầm hiện nay trên toàn thế giới có khoảng 25 tỷ con (FAOSTAT, 2016). Hiện nay, khoảng 1.500 tỷ quả trứng và khoảng 120 triệu tấn thịt gia cầm được sản xuất hàng năm trên toàn cầu. Mặc dù có sự phát triển vượt bậc, nhưng chăn nuôi gia cầm vẫn đang bị cản trở bởi nhiều yếu tố, trong đó dịch bệnh là một trong những nguyên nhân chính gây ra tỷ lệ mắc bệnh và chết cao. Các bệnh không được chẩn đoán gây ra thiệt hại nặng nề mà không được chú ý do sự xuất hiện của các dấu hiệu lâm sàng chung và/hoặc các thay đổi bệnh lý phổ biến đối với các mầm bệnh khác nhau (El-Adawy và cs., 2018). Quan trọng hơn, vi khuẩn gây bệnh trên gia cầm có thể là nguồn truyền bệnh cho người tiêu thụ, ví dụ *Gallibacterium anatis*, được cho là có nguồn gốc từ thực phẩm gia cầm bị nhiễm, đã được phân lập từ một phụ nữ 26 tuổi bị suy giảm miễn dịch, bị nhiễm khuẩn huyết và tiêu chảy (Aubin và cs., 2013). Ở gia cầm, *G. anatis* đã được phân lập từ những con chim khỏe mạnh về mặt lâm sàng như một phần của hệ vi sinh vật bình thường ở đường hô hấp trên (đường mũi và khí quản) và bộ phận sinh dục dưới (âm hộ và âm đạo) cũng như đường tiêu hóa (trực tràng)

(Bojesen và cs., 2003).

1.2. *G. anatis* gây bệnh trên gia cầm

Gallibacterium là một chi thuộc họ Pasteurellaceae. Chúng có năm loài bao gồm *G. anatis* biovar *haemolytica* và *G. anatis* biovar *anatis*, *G. melopsittaci*, *G. trehalosi-fermentans*, *G. salpingitidis* và *G. genomospecies* (Janda, 2011). *G. anatis* được biết đến như một quần thể sống chung trong đường hô hấp và sinh sản của những con gà khỏe mạnh. Nhưng trong những năm gần đây, loài *G. anatis* phân bố trên toàn cầu như một mầm bệnh cơ hội quan trọng trong các hệ thống chăn nuôi gia cầm khác nhau và được báo cáo nhiều trong các trường hợp gây bệnh làm giảm năng suất đẻ do nhiễm trùng đường sinh sản.

G. anatis là một vi khuẩn gram âm, không di động, có vỏ bao bọc, cấu thành một phần của hệ vi sinh vật bình thường ở vùng hô hấp trên và vùng sinh dục dưới của gà khỏe mạnh (Bojesen cs., 2003). Tuy nhiên, *G. anatis* cũng có liên quan đến một loạt các tổn thương và rối loạn đường sinh sản bao gồm viêm vòi trứng và viêm phúc mạc, do đó được coi là một mầm bệnh cơ hội quan trọng có thể dẫn đến giảm sản lượng trứng và tăng tỷ lệ tử vong. Tỷ lệ chết có thể bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố như vệ sinh kém, các biện pháp an toàn sinh học không đầy đủ và bệnh xảy ra đồng thời khi nhiễm các mầm bệnh gia cầm khác như *Escherichia*

coli (Neubauer và cs., 2009). Quan trọng hơn, ngày càng có nhiều mối lo về sự xuất hiện và lây lan của các chủng *G. anatis* đa kháng thuốc (Zhang và cs., 2021), vi khuẩn này được xác định có mức độ nhạy cảm thấp hơn với một loạt các chất kháng khuẩn bao gồm các thuốc sulpha, novobiocin, tylosin, clindamycin, tetracycline và penicillin (Hess và cs., 2020). Các gen kháng tetracycline đã được báo cáo là rất phổ biến trên số lượng lớn hơn các chủng *G. anatis* có nguồn gốc từ Mexico và Đan Mạch. Để ngăn cản tác động xấu của các chủng *G. anatis* kháng thuốc, các biện pháp dự phòng hiệu quả đang được gấp rút nghiên cứu nhằm tìm ra giải pháp thay thế hợp lý cho kháng sinh để ngăn ngừa và kiểm soát nhiễm *G. anatis* trong hệ thống chăn nuôi gia cầm.

Bảng 1. Đặc điểm kiểu hình của hai biến chủng *G. anatis*

Đặc điểm	<i>G. anatis</i> biovar	
	<i>haemolytica</i>	<i>anatis</i>
Hemolysis	+	-
Tạo acid từ:		
(-) D- Arabinose	(+)	-
(+) L- Arabinose	-	-
Mannitol	+	
m-Inositol	D	D
(-) D- Sorbitol	D	D
(-) L- Fucose	(+)	-
Maltose	D	-
Trehalose	D	+
Dextrin	D	-

Ghi chú: +: 90% số chủng thể hiện trong 1-2 ngày, (+): 90% số chủng thể hiện trong 3-14 ngày, -: <10% số chủng thể hiện trong 14 ngày, D: 11- 89% số chủng có thể hiện (Christensen và cs., 2003; Singh và cs., 2016).

II. Các dấu hiệu bệnh lý trên gà do *G. anatis* gây ra

Một loạt các dấu hiệu bệnh lý tổng thể đã được mô tả trong các trường hợp nhiễm *G. anatis* thực nghiệm ở gà đẻ, bao gồm các nang trứng bị vỡ, nang xuất huyết, viêm màng ngoài tim, hoại tử gan đa điểm, thoái hóa trứng, nhiễm trùng phúc mạc, viêm và các chất lắng đọng giống pho mát trong bụng (Paudel và cs., 2014). Mức độ tổn thương tổng thể tùy thuộc vào

chủng *G. anatis* và đã được chứng minh bằng thực nghiệm. Chủng 7990 (biovar 3) thu được từ những con gà Mexico biểu hiện lâm sàng, khi gây nhiễm thực nghiệm cho kết quả gà bị viêm phúc mạc cục bộ hoặc lan rộng, dẫn đến tiết dịch huyết thanh có mũ, các mạch máu mở rộng trong buồng trứng, ống dẫn trứng, phúc mạc và cũng có liên quan đến mũ viêm tắc vòi trứng. Hơn nữa, một số nghiên cứu thử nghiệm đã báo cáo sự thoái hóa và biến dạng buồng trứng cùng với dịch tiết gây viêm vòi trứng lan tỏa ở gà (Paudel và cs., 2013; Pors và cs., 2016). Các tổn thương tổng thể như viêm khí quản, tắc nghẽn phổi, viêm túi khí, viêm màng ngoài tim, tích tụ chất giống pho mai trong lòng khí quản, cổ trướng, và tắc nghẽn gan đã được báo cáo trong các ca nhiễm trùng thực nghiệm (El-Hamid và cs., 2018).

III. Các yếu tố độc lực và con đường lây lan của *G. anatis*

3.1. Đặc điểm nuôi cấy và sinh hóa

G. anatis có hình thái tế bào đa dạng, không hình thành bào tử. Hầu hết *G. anatis* tạo ra một vùng tan máu β rộng với các khuẩn lạc nhẵn, hơi xám, không trong suốt, bóng trên thạch máu (bảng 1). Những khuẩn lạc này có độ sệt với đường kính từ 1,0–2,0 mm trong vòng 24–48 giờ nuôi cấy ở 37°C trong điều kiện hiếu khí (El-Adawy và cs., 2018). *G. anatis* dương tính với các xét nghiệm catalase, oxidase và phosphatase, có khả năng khử nitrate (Christensen và cs., 2007). Các kiểu huyết thanh *G. anatis* được phân biệt bằng các phản ứng catalase, urease và indole, khả năng gây tán huyết, *o*-nitrophenyl α-D-glucopyranoside (ONPG) và *p*-nitrophenyl α-D-glucopyranoside (PNPG) và tạo acid mà không tạo khí khi lên men các loại đường khác nhau.

3.2. Độc tố và các yếu tố gây bệnh

Các yếu tố độc lực phổ biến của *G. anatis* bao gồm vỏ nang, túi màng ngoài (OMV), fimbriae, metalloproteases, và sự hình thành màng sinh học. Do đó, một vấn đề chính trong việc chống lại *G. anatis* là sự kháng đa thuốc. Việc *G. anatis* có thể tạo ra túi màng ngoài được cho là có liên quan đến sự bám dính, xâm nhập, hình thành màng sinh học hoặc liên kết và loại bỏ các chất kháng sinh (Bager và cs., 2013). *G. anatis* có khả năng giải phóng hemagglutinin trong OMV, chất có khả năng ngưng kết hồng cầu gia cầm. Sự hình thành màng sinh học cũng là nguyên nhân

dẫn đến sự kéo dài của nhiễm trùng và tính mạn tính của bệnh (Persson và Bojesen, 2015). Trong khi đó, protein hemagglutinin (65 kDa) cũng đã được tìm thấy trong màng sinh học, được xác định có thể liên kết fibrinogen và có thể tương tác với màng đáy của mô và do đó có thể đóng một vai trò trong cơ chế bệnh sinh của *G. anatis* (Montes-García và cs., 2016). Một số chủng vi khuẩn *Gallibacterium* có thể ngưng kết hồng cầu của gia cầm hoặc động vật có vú, hoặc cả hai (Zepeda *et al.*, 2009). Bên cạnh đó, các metalloprotease chứa kẽm (MP) giúp vi khuẩn ly giải các liên kết peptide trong protein hoặc các peptide để thành lập cụm tế bào, lấy dinh dưỡng, cũng như bảo vệ chúng khỏi hệ thống miễn dịch của vật chủ và truyền vi khuẩn đến hệ tuần hoàn máu. Các enzyme này cũng hoạt động trên các kháng thể và các yếu tố bổ thể để điều chỉnh thêm chức năng miễn dịch (Miyoshi và Shinoda, 2000). Các MP từ *G. anatis* được báo cáo là làm suy giảm IgG của gia cầm, do đó làm trung gian cho việc né tránh miễn dịch (Chávez và cs., 2017). Độc tố *Gallibacterium* A (GtxA) là một protein được tiết ra gây ra sự tán huyết của *G. anatis biovar hemolytica*, gây tan máu xung quanh khuẩn lạc trên thạch máu, tạo ra vùng tan máu β (Kristensen và cs., 2010; 2011), và là yếu tố độc lực đặc trưng nhất.

3.3. Các con đường lây truyền

Sự lây lan theo chiều ngang (horizontal transmission) qua đường hô hấp là con đường lây truyền có khả năng xảy ra cao nhất. Một con đường xâm nhiễm khác là qua đường truyền dọc (vertical transmission). Hiện tượng này gần đây đã được chứng minh bằng thực nghiệm ở trứng đã thụ tinh (Wang và cs., 2018) và xảy ra thông qua con đường xuyên qua buồng trứng/vòi trứng hoặc vỏ trứng nhưng không có bằng chứng trực tiếp cho sự lây truyền dọc trong *in vivo* (Persson và Bojesen 2015). Trong các trường hợp tự nhiên, các cơ quan đường sinh sản bị ảnh hưởng chủ yếu do sự nhiễm tăng dần (Bojesen và cs., 2003; Neubauer và cs., 2009). Gần đây, sự xâm nhập và nhân lên của *G. anatis* xuyên qua vỏ trứng đã được ghi nhận bằng thực nghiệm và chứng minh là có khả năng gây bệnh cho phôi cao (Wang và cs., 2018).

IV. Nhận định về tình hình bệnh do *G. anatis* phát hiện ở Việt Nam

Ở Việt Nam, bệnh giảm sản lượng trứng được chẩn đoán trước tiên là có liên quan đến hội chứng giảm đẻ

1976 (EDS 76: Egg Drop Syndrome) trong các trang trại nuôi gà đẻ trứng. EDS 76 có liên quan đến tác nhân adenovirus nhóm III và gây bệnh với các triệu chứng rất giống với bệnh do *G. anatis* gây ra. Virus này gây bệnh truyền nhiễm cho gà mái làm giảm số lượng trứng nhanh chóng, gà không đạt được đỉnh cao về sản lượng trứng, trứng có hình dạng bất thường, vỏ mềm hoặc ít vỏ và mất sắc tố. Sự lây truyền mầm bệnh giữa gà nuôi trong lồng rất chậm, nhưng rất nhanh trong nuôi sàn. Vacxin ngăn ngừa sự lây nhiễm virus gây bệnh giảm đẻ EDS 76 được dùng phổ biến ở các trại nuôi gà đẻ ở Việt Nam, tuy nhiên nếu không phân biệt rõ tác nhân gây bệnh giảm đẻ này sẽ dẫn đến hiệu quả tiêm ngừa và điều trị không cao.

Hiện nay, các nghiên cứu liên quan đến bệnh giảm sản trên gà do vi khuẩn *G. anatis* gây ra rất hạn chế ở Việt Nam, người ta chỉ nghiên cứu về vi khuẩn gram âm có liên quan đến hiệu suất sinh sản của gà. Sự gia tăng vi khuẩn gram âm trong đường ruột có thể gây ra tiêu chảy làm phân ướt và viêm đường ruột. Điều này gây ra tác động bất lợi trên cả tốc độ tăng trưởng và hiệu quả thức ăn ở gà thịt. Đồng thời cũng làm giảm sản lượng trứng và số lượng trứng bán ra ở gà đẻ và gà thịt do tăng số lượng trứng bẩn. Tương tự như bệnh do *G. anatis*, những vấn đề phát sinh do vi khuẩn gram âm ở trại có thể do quản lý yếu kém và sự thông thoáng không tốt, điều này làm gia tăng độ ẩm trong chuồng nuôi và vì thế các vấn đề liên quan đến phân ướt xảy ra nhiều hơn. Nước chứa các thành phần nguyên liệu bị nhiễm và không đảm bảo an toàn sinh học cũng góp phần gây ra vấn đề này.

Theo kết quả nghiên cứu gần đây của Choisy và cs. (2019), mô hình Bayes đã được dùng để suy đoán xác suất của các đợt bệnh do từng loại trong số 24 mầm bệnh gây ra, và các đợt bệnh có khả năng không được điều trị do sử dụng thuốc kháng sinh đối với các mầm bệnh không nhạy cảm trên đàn gà ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) của Việt Nam. Kết quả từ nghiên cứu từ mô hình Bayes cho thấy các bệnh nhiễm do vi khuẩn *G. anatis* (xác suất mỗi đợt 0,073) phổ biến thứ hai chỉ đứng sau *Erysipelothrix rhusiopathiae* (0,079) và cao hơn các loài gây bệnh khác *Mycoplasma gallisovium* (0,068); *Salmonella pullorum* (0,068) và *S. gallinarum* (0,043). Ngoài ra, trong báo cáo của Yen và cs. (2020) định hướng tìm các chất kháng khuẩn (thông thường) kháng lại mầm bệnh ở gà để làm cơ sở cho các hướng dẫn điều trị cũng cho

thấy rằng vi khuẩn *G. anatis biovar haemolytica* (19 trong 58 mẫu khảo sát) cũng được phân lập từ các mẫu gà khu vực ĐBSCL. Quan trọng hơn, cả hai nghiên cứu trên đều chỉ ra rằng *G. anatis* là tác nhân gây bệnh thường gặp ở vùng sông Mekong và thể hiện sự kháng kháng sinh. Cụ thể, trong 12 loại kháng sinh được khảo sát, doxycycline được đề xuất làm thuốc cho các trường hợp nhiễm *G. anatis* (với 5,3% kiểu giả định không hoang dã). Các kết quả nghiên cứu trên không trực tiếp phân tích kiểu hình, độc lực và kiểu gen cũng như thiệt hại gây ra bởi của *G. anatis* nhưng cũng cung cấp thông tin quan trọng về hiện trạng lây lan và xuất hiện trên nhiều đàn gà nuôi. Đặc biệt, các báo cáo đều thể hiện tình trạng xuất hiện *G. anatis* liên quan tới việc lựa chọn các chất kháng khuẩn cụ thể không phụ thuộc vào việc đàn có dấu hiệu lâm sàng bệnh hoặc không (Choisy và cs., 2019), và kháng nhiều loài kháng sinh khảo sát (Yen và cs., 2020). Do đó, các nghiên cứu về đặc điểm bệnh học của *G. anatis* trên đàn gà ở nhiều vị trí địa lý khác nhau để đánh giá chính xác tình hình ảnh hưởng lên hiệu quả chăn nuôi.

V. Phòng ngừa và kiểm soát bệnh

5.1. Phương pháp phòng bệnh

Một số loại vaccin đăng ký thương mại có sẵn cho ba kiểu huyết thanh phổ biến nhưng vaccin tiềm năng cho tất cả trạng thái nhiễm *G. anatis* chưa được bán phổ biến và vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu. Hiện tại chỉ có hóa trị liệu bằng kháng sinh là phương pháp khả dụng để ngăn chặn bệnh do *G. anatis* gây ra, ví dụ chúng nhạy cảm với các kháng sinh mới như ceftiofur hoặc florfenicol (Chávez và cs., 2017; El-Adawy và cs., 2018). Tuy nhiên, nhiều báo cáo cũng đã chứng minh rằng tình trạng kháng kháng sinh của một số vi sinh vật thuộc họ *Pasteurellaceae* bao gồm cả phân lập *G. anatis* nhanh chóng lan rộng (Bojesen và cs., 2003; Johnson và cs., 2013). Việc điều trị *Gallibacterium* không hiệu quả (Kehrenberg và cs., 2006; Bortolaia và cs., 2010). Các phân lập *Gallibacterium* từ gà được ghi nhận có khả năng kháng novobiocin, tylosin, clindamycin, spectinomycin, tetracycline và penicillin (xem báo cáo tổng hợp của Singh và cs., 2016). Ngược lại, Berge và cs. (2006) báo cáo rằng tình trạng kháng tetracycline ở *G. anatis* phân lập từ cừu và dê hiếm gặp. Bên cạnh đó, các biện pháp vệ sinh tổng thể có thể được thực hiện theo cách tương tự như kiểm soát các bệnh truyền nhiễm khác ở các trại gia cầm.

Ngoài ra, việc chủ động phòng ngừa *G. anatis* bằng các liệu pháp an toàn khác như sử dụng probiotic cũng đã được nghiên cứu. Zhang và cs. (2021) cho thấy những thay đổi ở tế bào *G. anatis* khi được xử lý với probiotic *L. mesenteroides* QZ1178 CFS, kháng sinh cefotaxime và acid hữu cơ (lactic acid). Sự phát triển của *G. anatis* đã bị ức chế đáng kể sau khi tỷ lệ 1:1 của dung dịch lên men được thêm vào các tế bào. Qua đó cho thấy probiotic có thể ức chế vi sinh vật đường ruột gây bệnh cơ hội trên gia cầm thông qua sản xuất acid hữu cơ. Tuy nhiên, các nghiên cứu tiếp theo cần thực hiện nghiên cứu tìm ra các chủng probiotics phù hợp cho phòng ngừa bệnh do *G. anatis*, cũng như kiểm tra khả năng kháng loài vi khuẩn này ở những probiotic đã thương mại hóa.

5.2. Phương pháp phát hiện *G. anatis*

Nhiều tác nhân gây bệnh do vi khuẩn, bao gồm các thành viên của họ *Pasteurellaceae*, có thể được chẩn đoán phân loại không chính xác nếu chỉ dựa trên đặc điểm kiểu hình và nuôi cấy (bảng 1). Để hạn chế việc chẩn đoán sai và phát hiện sớm, các công cụ phân tích kiểu gen như PCR thường được phát triển và sử dụng rộng rãi. Một trình tự đặc hiệu 16S đến 23S rRNA và vùng ITS ở *Gallibacterium* đã được thiết kế để phân biệt với các thành viên khác của họ *Pasteurellaceae* trong chẩn đoán dựa trên PCR. Các đoạn mồi Oligonucleotide (bảng 2) khuếch đại gen 16S rRNA dựa trên 99 trình tự (Benson *et al.*, 2004), đại diện cho tất cả các loài thuộc giống *Gallibacterium* và các thành viên của họ *Pasteurellaceae* có liên quan đến gen này thường được sử dụng cho PCR truyền thống. Các loại mồi được chọn với độ đặc hiệu cho *G. anatis* là 1133fgal (5'-TATTCTTTGTTACCARCGG-3') và 23S rRNA 114r (5'-GGTTTCCCCATTCGG-3') (Bojesen và cs., 2007; Lane 1991) với chu kỳ nhiệt PCR được thực hiện như sau: bước biến tính ban đầu trong 4 phút ở 95°C, tiếp theo là 40 chu kỳ biến tính trong 30 giây ở 95°C, ủ trong 1 phút ở 55, kéo dài trong 2 phút ở 72°C và kéo dài cuối cùng trong 10 phút ở 72°C. Ngoài các gen chỉ thị trên, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để xác định *Gallibacterium* bằng cách khuếch đại vùng gen ITS với kết quả thu được ba amplicon cụ thể có kích thước 789, 985 và 1032 bp (Neubauer và cs., 2009; Singh và cs., 2016; Wang và cs., 2018). Ngoài ra, việc phân loại dựa trên trình tự gen của tiểu đơn vị beta của RNA-polymerase gắn kết DNA (*rpoB*) có thể hữu ích (Christensen và cs., 2007).

Bảng 2. Danh sách môi dùng cho phản ứng PCR phát hiện *Gallibacterium anatis*

Gen	Trình tự nucleotide 5' – 3'	Tài liệu tham khảo
16S rRNA -23S RNA	F-TATTCTTTGTTACCARCGG (19) R-GGTTTCCCCATTCCG (15)	Bojesen và cs. (2007)
<i>gtxA</i>	F-TGCGCAAGTGCTAAATGAAG R-GGATAATCGTTGCGCTTTG	Paudel và cs. (2013)
<i>fflA</i>	F-CACCATGGGTGCATTTGCGGATGATCC R-TATTCGTATGCGATAGTATAGTTC	Bager và cs. (2013)
<i>gyrB</i>	F-CGATTGTGTCCGTTAAAGTGC R-TGCAAACGCTCACCAACTG	Wang và cs. (2018)
<i>gtx-N</i> (đầu N)	GalNtxF-TGCGCAAGTGCTAAATGAAG GalNtxR-GGATAATCGTTGCGCTTTG	Paudel và cs. (2013)
<i>fflA</i>	1162F-CACCATGTCCGGTGCATTTGCGGATGATCC 1162R-TATTCGTATGCGATAGTATAGTTC	Bager và cs. (2013)

PCR cũng có thể được thực hiện để phát hiện một số gen độc lực như gen mã hóa *GtxA* (*gtxA*) và gen fimbrial (*fflA*) (Sorour và cs., 2015). Việc khuếch đại đặc hiệu có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các môi nhắm mục tiêu đến các trình tự này. Đối với việc khuếch đại gen *gtx-N* (đầu N) các đoạn môi là GalNtxF và GalNtxR (Paudel và cs., 2013), trong khi đó gen *fflA* được khuếch đại bằng cặp môi 1162F và 1162R (Bager và cs., 2013).

Thử nghiệm định lượng *G. anatis* bằng qPCR cũng được nhiều nhà nghiên cứu phát triển. Ví dụ, Wang và cs. (2018) sử dụng gen chỉ thị *gyrB* phát triển qPCR có tỷ lệ phát hiện là 97% so với PCR thông thường (78%) và nuôi cấy (34%). Một qPCR khác được phát triển bởi Huangfu và cs. (2018) nhắm vào gen mục tiêu *gtxA* cho thấy tỷ lệ phát hiện tốt hơn so với qPCR dựa trên gen *gyrB*. Nhìn chung, qPCR cần nồng độ mẫu DNA thấp hơn và thêm vào đó là tốn ít thời gian hơn và hiệu quả về chi phí so với phương pháp PCR thông thường và xác định kiểu hình truyền thống. Cả hai phương pháp PCR và qPCR được xem là tiêu chuẩn cho các phòng xét nghiệm bệnh thú y, nên có thể thực hiện dễ dàng.

VI. Kết luận

G. anatis đặc biệt là biovar *haemolytica* được xem như một tác nhân gây giảm sản lượng và chết ở gia cầm nghiêm trọng trên gà thịt và gà đẻ ở một số quốc gia. Tuy nhiên, nhiễm *G. anatis* là một nguyên nhân ít được chẩn đoán hoặc bị bỏ qua. Các phương pháp chẩn đoán và xác định phổ biến như qPCR, PCR truyền thống và giải trình tự có thể được sử

dụng để chẩn đoán nhanh chóng và chính xác cùng với các xét nghiệm nuôi cấy hoặc sinh hóa thông thường. Hiện nay, kháng sinh là phương pháp điều trị chính được sử dụng rộng rãi để điều trị nhiễm *G. anatis* ở gia cầm. Tuy nhiên, vấn đề kháng kháng sinh với các loại kháng sinh thường được sử dụng bao gồm penicillin, macrolide và tetracycline đã gây ra mối quan tâm lớn, mặc dù mầm bệnh này vẫn còn nhạy cảm với các kháng sinh mới như ceftiofur hoặc florfenicol. Tương tác giữa vật chủ và mầm bệnh trong quá trình đồng nhiễm cần được nghiên cứu sâu để làm sáng tỏ khả năng gây bệnh của các sinh vật *G. anatis* khác nhau cũng như để có một giải pháp lâu dài để ngăn chặn bệnh này.

Mặc dù *G. anatis* phân lập từ gia cầm này được ghi nhận trong một số ít các báo cáo gần đây ở khu vực ĐBSCL, chúng chỉ được sử dụng để đánh giá tình trạng kháng kháng sinh và chưa có thông tin khảo sát về độc lực và khả năng gây bệnh. Chúng ta cần hiểu đúng về căn bệnh này, nghiên cứu chi tiết về các yếu tố độc lực và cơ chế sinh bệnh, xác định các phân tử gây bệnh, các gen kháng thuốc, ngăn chặn sự thay đổi kháng nguyên bằng cách xác định các ứng viên vacxin hiệu quả. Việc cung cấp những đặc điểm thông tin dịch tễ học của bệnh do vi khuẩn *G. anatis* gây ra trong ngành chăn nuôi sẽ là cơ sở cho việc chẩn đoán, phòng và điều trị nhanh, hiệu quả cũng như đúng thời điểm bệnh xảy ra. Cuối cùng, các chiến lược phòng ngừa và kiểm soát hiệu quả, cũng như phát triển vacxin cần thường xuyên thực hiện để hạn chế thiệt hại do sự bùng phát của mầm bệnh do *G. anatis* trong ngành chăn nuôi gia cầm.

Lời cảm ơn: Quỹ nghiên cứu Khoa học và công nghệ, Trường đại học Công nghệ, TP. HCM (HUTECH) đã tài trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aubin GG *et al.*, 2013. *Gallibacterium anatis* bacteremia in a human. *J Clin Microbiol.* 51(11):3897 – 3899.
- Bager RJ, Persson G *et al.*, 2013. Outer membrane vesicles reflect environmental cues in *Gallibacterium anatis*. *Vet Microbiol.* 167(3-4):565 – 572.
- Benson DA *et al.*, 2004. GenBank: update. *Nucleic Acids Res.* 32:23 – 26.
- Berge AC *et al.*, 2006. Antimicrobial susceptibility patterns of respiratory tract pathogens from sheep and goats. *J Am Vet Med Assoc* 229: 1279-1281.
- Bojesen AM *et al.*, 2003. Prevalence and transmission of hemolytic *Gallibacterium* species in chicken production systems with different biosecurity levels. *Avian Pathol.* 32(5):503 – 510.
- Bortolaia V *et al.*, 2010. *Escherichia coli* producing CTX-M-1, -2, and -9 group beta-lactamases in organic chicken egg production. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 3527-3528.
- Chávez, RF., Reyna Fabiola *et al.*, 2017. Antimicrobial resistance of *Gallibacterium anatis* isolates from breeding and laying commercial hens in Sonora, Mexico. *Rev Mex Cienc Pecu.* 8(3):305 – 312.
- Choisy M, Van Cuong N *et al.*, 2019. Assessing antimicrobial misuse in small-scale chicken farms in Vietnam from an observational study. *BMC Vet Res.* 20;15(1):206.
- Christensen H, *et al.*, 2007. Proposed minimal standards for the description of genera, species and subspecies of the *Pasteurellaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 57(1):166 – 178
- El-Adawy H, Bocklich H *et al.*, 2018. Identification, differentiation and antibiotic susceptibility of *Gallibacterium* isolates from diseased poultry. *Ir Vet J.* 71(1):5.
- El-Hamid A, Hatem S *et al.*, 2018. Effect of mixed experimental infection with *Gallibacterium anatis* and mycoplasma gallisepticum on performance of broiler chickens. *AJVS.* 57(1):87 – 97.
- FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of United Nations), 2016.
- Hess C *et al.*, 2020. Antimicrobial resistance profiling of *G. anatis* from layers reveals high number of multiresistant strains and substantial variability even between isolates from the same organ. *Microbial Drug Resist* 26:169–177
- Huangfu H *et al.*, 2018. Detection of *Gallibacterium anatis* by TaqMan fluorescent quantitative PCR. *Avian Pathol.* 47(3):245 – 252.
- Janda W.M., 2011. Update on family *Pasteurellaceae* and the status of genus *Pasteurella* and genus *Actinobacillus*. *Clinical Microbiology Newsletter*, 33, pp. 135-144
- Johnson TJ. *et al.*, 2013. Genome analysis and phylogenetic relatedness of *Gallibacterium anatis* strains from poultry. *PLoS One.* 8(1):e54844.
- Kehrenberg C *et al.*, 2006. Antimicrobial resistance in members of the family *Pasteurellaceae*. *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin* ASM Press, Washington, DC 167-186.
- Kristensen BM, Frees D, Bojesen AM, 2010. GtxA from *Gallibacterium anatis*, a cytolytic RTX-toxin with a novel domain organisation. *Vet Res.* 41(3):25.
- Miyoshi SI, Shinoda S., 2000. Microbial metalloproteases and pathogenesis. *Microbes Infect.* 2(1):91 – 98.
- Montes-García JF. *et al.*, 2016. Identification of a hemagglutinin from *G. anatis*. *Curr Microbiol.* 72:450–56.
- Neubauer C, De Souza-Pilz M. *et al.*, 2009. Tissue distribution of haemolytic *Gallibacterium anatis* isolates in laying birds with reproductive disorders. *Avian Pathol* 38:1–7
- Paudel S. *et al.*, 2013. Assessing pathogenicity of *G. anatis* in a natural infection model: the respiratory and reproductive tracts of chickens are targets for bacterial colonization. *Avian Pathol.* 42(6):527 – 535.
- Paudel S. *et al.*, 2014. Pathogenesis of *Gallibacterium anatis* in a natural infection model fulfils Koch's postulates. *Avian Pathol.* 43(5):443 – 449.
- Persson G, Bojesen AM., 2015. Bacterial determinants of importance in the virulence of *Gallibacterium anatis* in poultry. *Vet Res.* 46(1):57 – 67.
- Pors SE, Skjærning RB, Flachs EM, Bojesen AM., 2016. Recombinant proteins from *Gallibacterium anatis* induces partial protection against heterologous challenge in egg-laying hens. *Vet Res.* 47(1):36 – 43.
- Singh SV, Singh BR *et al.*, 2016. *Gallibacterium anatis*: An emerging pathogen of poultry birds and domiciled birds. *J Veterinar Sci Techno* 7: 324.
- Wang C *et al.*, 2018. Transmission and pathogenicity of *Gallibacterium anatis* and *Escherichia coli* in embryonated eggs. *Vet Microbiol.* 217:76 – 81.
- Yen NTP. *et al.*, 2020. Characterizing antimicrobial resistance in chicken pathogens: a step towards improved antimicrobial stewardship in poultry production in Vietnam. *Antibiotics* (Basel). 10;9(8):499.
- Zepeda A, *et al.*, 2009. Hemagglutinating activity of *Gallibacterium* strains. *Avian Dis.* 53(1):115 – 118.
- Zhang H., HuangFu H. *et al.*, 2021. Antibacterial activity of lactic acid producing *Leuconostoc mesenteroides* QZ1178 Against Pathogenic *Gallibacterium anatis*. *Front. Vet. Sci.* 8:630294 ./.