

# PHÂN LẬP, XÁC ĐỊNH ĐẶC ĐIỂM CỦA VI KHUẨN GÂY BỆNH SỐ MŨI TRUYỀN NHIỄM TRÊN GÀ TẠI MỘT SỐ TỈNH PHÍA BẮC VIỆT NAM

Lê Văn Hùng\*, Nguyễn Thị Giang, Trần Danh Sơn

*Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

\*Tác giả liên hệ: [hunglv@vnua.edu.vn](mailto:hunglv@vnua.edu.vn)

Ngày nhận bài: 19.07.2019

Ngày chấp nhận đăng: 22.10.2019

## TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là phân lập, xác định đặc điểm của vi khuẩn *Av. paragallinarum* gây bệnh trên gà và khả năng mẫn cảm của vi khuẩn với kháng sinh. Trong tổng số 13 mẫu phân lập, 10 mẫu được xác định là *Av. paragallinarum* (76,92%) thông qua cách quan sát hình thái khuẩn lạc nghi ngờ, nhuộm Gram và xét nghiệm các phản ứng sinh hóa (phản ứng catalase, oxidase, urease, indole; khả năng lên men một số đường: maltose, lactose, mannitol, sorbitol, khả năng di động). Khả năng phát triển của các chủng phân lập được từ gà không phụ thuộc vào nicotinamide adenine dinucleotide (NAD). Thử nghiệm khả năng mẫn cảm của các chủng vi khuẩn phân lập được với kháng sinh bằng cách nuôi trên môi trường thạch Mueller Hilton và bổ sung các tấm giấy thấm kháng sinh, ủ ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub> trong thời gian từ 24 đến 48 giờ cho thấy 100% các chủng được thử nghiệm mẫn cảm với kháng sinh amoxicillin, ampicillin; 60% vi khuẩn mẫn cảm với kháng sinh neomycin, penicillin; 40% vi khuẩn mẫn cảm với streptomycin; 100% vi khuẩn đề kháng với các loại kháng sinh erythromycin, gentamycin, tetracyclin, kanamycin và enrofloxacin.

Từ khóa: *Av. paragallinarum*, phân lập, kháng kháng sinh.

## Isolation and Identification of *Avibacterium paragallinarum* from Chickens in North of Vietnam

### ABSTRACT

Infectious coryza (IC) is an infectious upper respiratory disease affecting chickens and it is caused by *Haemophilus paragallinarum* (or *Avibacterium paragallinarum*). The symptoms of IC are facial swelling, malodorous nasal discharge and lacrimation. This study aimed to isolate, identify the *Av. paragallinarum* of snot in chickens and to determine the sensitivity and resistance to several antibiotics. Ten isolates out of thirteen suspected isolates (76,92%) were *Av. paragallinarum* by the observation of the morphology of the suspected colony, Gram staining, and biochemical tests (catalase test, oxidase test, urease test, indole test; carbohydrate fermentation such as maltose, lactose, mannitol and sorbitol; motility). The growth of isolates from chickens was not depended on the nicotinamide adenine dinucleotide (NAD). Sensitivity test was done using the ten identified *Av. paragallinarum* isolates that were cultured on Mueller-Hinton agar and added with antibiotic discs, then incubated in 5% CO<sub>2</sub> at 37°C for 24-48h; results showed that they were 100% sensitive to amoxicillin, ampicillin; 60% sensitive to neomycin, penicillin and 40% sensitive to streptomycin; 100% resistant toward erythromycin, gentamycin, tetracyclin, kanamycin and enrofloxacin.

Keywords: *Av. paragallinarum*, isolation, antibiotic resistance.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Số mũi truyền nhiễm trên gà (Infectious coryza - IC) là một bệnh truyền nhiễm đường hô hấp trên của gà do vi khuẩn *Haemophilus paragallinarum* (*H. paragallinarum*) gây nên hay còn được gọi là *Avibacterium paragallinarum*

(*Av. paragallinarum*). Bệnh thường gây ra các dấu hiệu lâm sàng như: giảm khả năng tăng trọng, giảm sản lượng trứng từ 10% đến 40% (Blackall & cs., 1997); tăng số lượng gà loại thải, giảm khối lượng cơ thể, tỷ lệ tử vong khoảng 2-10% (Blackall & cs., 2005) nên ảnh hưởng lớn đến nền kinh tế của một số quốc gia (Blackall &

cs., 1997). Bệnh rất quan trọng trong ngành chăn nuôi gà ở các nước phát triển và các nước đang phát triển (Ariyanti & Supar., 2007). Bệnh có thể được tìm thấy trên toàn thế giới, đặc biệt ở các nước nhiệt đới (Wahyuni & cs., 2018). Tuy nhiên, việc điều trị bệnh gặp nhiều khó khăn do nhiều kháng sinh được sử dụng chỉ làm giảm mức độ nghiêm trọng mà không có khả năng điều trị khỏi hoàn toàn. Nếu điều trị lặp đi lặp lại sẽ dẫn đến tình trạng kháng kháng sinh (Tabbu, 2000). Do vậy, việc xác định khả năng miễn cảm của vi khuẩn với kháng sinh là quan trọng, làm cơ sở khoa học để xây dựng các phác đồ điều trị bệnh hiệu quả.

Việt Nam là quốc gia đang phát triển, chăn nuôi chưa tập trung mà chủ yếu theo quy mô hộ gia đình hoặc chăn nuôi nhỏ lẻ, khí hậu nhiệt đới gió mùa nên rất thuận lợi cho bệnh phát triển (Wahyuni & cs., 2018). Các nghiên cứu về bệnh chưa nhiều, bệnh thường đồng nhiễm với một số bệnh khác như *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT), H9N2, *Mycoplasma gallisepticum* gây khó khăn trong công tác chẩn đoán lâm sàng cũng như phòng thí nghiệm. Hơn nữa, vi khuẩn ngày càng kháng với nhiều loại kháng sinh, làm giảm hiệu quả các phác đồ điều trị. Do vậy, nghiên cứu phân lập, xác định đặc điểm của vi khuẩn gây bệnh sưng phù đầu trên đàn gà và xác định khả năng miễn cảm của vi khuẩn với một số kháng sinh, cung cấp cơ sở khoa học xây dựng phác đồ điều trị bệnh hiệu quả tại một số tỉnh phía bắc Việt Nam là cần thiết trong bối cảnh hiện nay.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu được sử dụng trong nghiên cứu này bao gồm: Dịch xoang hốc mắt, dịch tiết khí quản hoặc túi khí.

Môi trường, hóa chất sử dụng trong nghiên cứu gồm có: Blood Agar Base (Merck); Brain Heart Broth (Merck); Mueller-Hilton Agar (MHA, Oxoid™); Catalase (Hydrogen peroxide 3%, Merck); Oxidase (Remel); Kovac's/Indol (Merck); Ure (BD; các loại đường: Maltose (Merck), Lactose (Merck), Mannitol (Merck), Sorbitol (Merck); Nicotinamide adenine

dinucleotide (NAD, Sigma); bộ Kit nhuộm Gram (Merck); huyết thanh thai bò (FBS - Fetal bovine serum, Gibco); Kit chiết tách DNA: QIAamp DNA Mini Kit của Hãng QIAGEN (QIAGEN Inc., USA); GoTaq PCR green (Promega). Các loại kháng sinh: amoxicillin (Ax), ampicillin (Am), chloramphenicol (Cl), trimethoprim (Bt), erythromycin (Er), gentamycin (Ge), tetracycline (Te), kanamycin (Kn), enrofloxacin (En), neomycin (Ne), streptomycin (Sm), penicillin (Pn) do công ty Nam Khoa cung cấp.

Trang thiết bị cần thiết khác trong phòng thí nghiệm sử dụng trong nghiên cứu gồm có: Tủ ấm 37°C, 5% CO<sub>2</sub>; Cabinet vô trùng, máy PCR, máy Vortex, tủ lạnh dương, tủ lạnh âm 86°C; dụng cụ bảo hộ lao động...

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. PCR (Polymerase chain reaction)

DNA được chiết tách từ mẫu bằng cách sử dụng bộ kit chiết tách DNA: QIAamp DNA Mini Kit của Hãng QIAGEN (QIAGEN Inc., USA) theo quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất.

DNA chuẩn được chiết tách từ vaccin vô hoạt phòng bệnh sổ mũi truyền nhiễm (Bayovac Poulshot Coryza) do công ty Bayer cung cấp.

Kỹ thuật PCR được sử dụng để khuếch đại đoạn gen 16S rDNA của vi khuẩn *Av. paragallinarum*, với cặp mồi F: 5'-TGAGGGT AGTCTTGACGCGAAT-3'; R: 5'-CAAGGTATC GATCGTCTCTACT-3'; sản phẩm PCR có độ dài 500 bp (Chen & cs., 1996). Thành phần của phản ứng PCR gồm: 5,5 µL nuclease-free water, 12,5 µL GoTaq green, 1 µL reverse primer, 1 µL forward primer, 5 µL khuôn mẫu DNA. Chu trình nhiệt được thực hiện gồm 3 bước: tiền biến tính ở nhiệt độ 95°C trong 4 phút; chu kỳ lặp lại 35 lần: Biến tính ở nhiệt độ 94°C trong 30 giây, gắn mồi ở 53°C trong 30 giây, tổng hợp kéo dài ở 72°C trong 60 giây; hoàn thành ở 72°C trong 6 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên gel 1,2% (TBE 1X) với thang DNA chuẩn 100 bp (marker). Sử dụng nguồn điện di ở hiệu điện thế 100 V cường độ 100 mA, thời gian chạy điện di trong 35 phút.

### 2.2.2. Nuôi cấy vi khuẩn

Mẫu bệnh phẩm được lấy, xử lý dựa theo TCVN 8400-18:2014 và nuôi cấy trên môi trường thạch máu, sử dụng 5% máu thỏ hoặc 5% máu cừu; kèm hoặc không kèm đường cấy *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Blackall & cs., 2008); ở điều kiện hiếu khí 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, trong thời gian 24-48 giờ (Markey & cs., 2013). Các khuẩn lạc vệ tinh xung quanh đường cấy *S. aureus* hoặc những khuẩn lạc nhỏ, tròn, trơn, trong suốt được nhuộm bằng phương pháp Gram, thử các phản ứng sinh hóa (Blackall, 1983); đánh giá khả năng phụ thuộc vào yếu tố V (bổ sung 25 µg/mL Nicotinamide adenine dinucleotide - NAD, 1% FBS) (Fernandes & cs., 2000).

### 2.2.3. Kháng sinh đồ

Sử dụng phương pháp khuếch tán trên thạch để kiểm tra mức độ mẫn cảm với kháng sinh của các chủng *Av. paragallinarum*. Các khoanh giấy tẩm kháng sinh được sử dụng amoxicillin (10 µg), ampicillin (10 µg), chloramphenicol (30 µg), trimethoprim (1,25 µg), erythromycin (15 µg), gentamycin (10 µg), tetracycline (30 µg), kanamycin (30), enrofloxacin (50 µg), neomycin (30 µg), streptomycin (10 µg), penicillin (100/3 µg). Kết quả đánh giá khả năng mẫn cảm của vi khuẩn với kháng sinh dựa trên tiêu chuẩn của CLSI (2012) dành cho vi khuẩn khó mọc.

### 2.2.4. Xử lý số liệu

Các tỉ lệ được tính toán trong phần mềm Excel, phần mềm Minitab 16.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

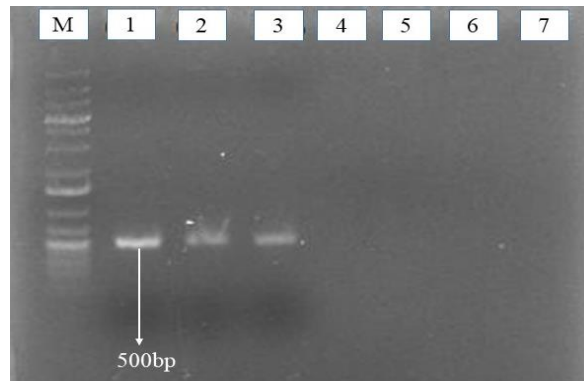
### 3.1. Thông tin và kết quả sàng lọc mẫu bằng kỹ thuật PCR

Kết quả sàng lọc 46 mẫu gà nghi mắc bệnh Coryza ở các lứa tuổi, quy mô chăn nuôi và ở các địa phương khác nhau bằng kỹ thuật PCR cho thấy có 13 mẫu dương tính với cặp mỗi khuếch đại đoạn gen 16S rDNA (Hình 1). Gà ở các lứa tuổi khác nhau đều có nguy cơ mắc bệnh. Theo Yamamoto (1991), gà ở các lứa tuổi đều mắc bệnh, nhưng bệnh thường ít nghiêm trọng ở con non. Thời kỳ ủ bệnh thường ngắn và quá trình bệnh kéo dài hơn ở con trưởng thành, đặc biệt là gà mái đang đẻ trứng. Mặt khác, gà đã hoặc chưa được tiêm phòng đều có nguy cơ mắc bệnh. Theo Poernomo (2000), mặc dù đàn gà đã được tiêm phòng vaccin phòng bệnh (chủng A và C), tuy nhiên quá trình nghiên cứu vẫn phát hiện gà mắc bệnh với chủng đã được tiêm phòng. Trong nghiên cứu này, tác giả cũng chỉ ra rằng khi tiêm vaccin phòng bệnh chủng A và C thì không có khả năng bảo hộ chéo cho chủng B.

**Bảng 1. Thông tin và kết quả sàng lọc 13 mẫu dương tính sử dụng trong nghiên cứu**

Codes	Năm	Vùng	Quy mô	Tuổi (Tuần)	Vaccin	Kết quả PCR
TB-03	2016	Thái Bình	6.000	9	Không	1
HY-01	2016	Hưng Yên	2.000	24	Không	1
TNg-02	2017	Thái Nguyên	5.000	18	Có*	1
TNg-05	2017	Thái Nguyên	5.000	18	Có*	1
VP-01	2018	Vĩnh Phúc	12.000	12	Có*	1
VP-06	2018	Vĩnh Phúc	12.000	12	Có*	1
VP-10	2018	Vĩnh Phúc	12.000	12	Có*	1
BG-01	2019	Bắc Giang	6.000	35	Không	1
BG-02	2019	Bắc Giang	6.000	35	Không	1
BG-04	2019	Bắc Giang	6.000	35	Không	1
HN-02	2019	Hà Nội	10.000	17	Có*	1
HN-04	2019	Hà Nội	10.000	17	Có*	1
HN-07	2019	Hà Nội	10.000	17	Có*	1

Ghi chú: 1 - Kết quả sàng lọc mẫu dương tính với cặp mỗi (Chen & cs., 1996); \*Gà được tiêm phòng vaccin vi khuẩn *Av. paragallinarum* vô hoạt (chủng A và C).



Ghi chú: M-DNA Marker; 1 - Đối chứng dương; 7 - Đối chứng âm; 2, 3, 4, 5, 6 - Mẫu sàng lọc.

**Hình 1. Kết quả sàng lọc mẫu bằng kỹ thuật PCR**

### 3.2. Nuôi cấy và giám định đặc tính sinh hóa của các khuẩn lạc nghi ngờ

#### 3.2.1. Kết quả nuôi cấy

Trên môi trường thạch máu, *Av. paragallinarum* hình thành những khuẩn lạc tròn, trong suốt, nhẵn bóng như những hạt sương (Hình 2). Vi khuẩn có khả năng sinh trưởng và phát triển chậm trên môi trường nuôi cấy, sau 48 giờ nuôi cấy mới có thể phát hiện được khuẩn lạc. *Av. paragallinarum* là vi khuẩn Gram âm bắt màu đỏ. Mặt khác, trong nghiên cứu này đã chỉ ra rằng, sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn *Av. paragallinarum* không phụ thuộc vào yếu tố NAD, có hay không có bổ sung đường cấy *S. aureus*. Theo mô tả của Wahyuni (2018), khuẩn lạc của vi khuẩn trên môi trường thạch máu có dạng tròn, trơn, nhẵn bóng và trong suốt. Vi khuẩn này có tốc độ tăng trưởng tương đối chậm và có thể được phát hiện sau khi được nuôi cấy trong 36-48 giờ (Muhammad & dan Sreedevi, 2015). Kết quả nghiên cứu của Akhter (2014) cho thấy vi khuẩn *Av. paragallinarum* là vi khuẩn Gram âm, bắt màu đỏ và kết quả của nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Priya (2012). Nghiên cứu của Hall (1955) đã chỉ ra rằng vi khuẩn không cần NAD trong quá trình sinh trưởng và phát triển ở điều kiện phòng thí nghiệm và chúng có khả năng phát triển tốt trên một số môi trường cơ bản như thạch khoai tây và môi trường thạch máu (Mushin & cs., 1977).

#### 3.2.2. Kết quả giám định

Kết quả kiểm tra đặc tính sinh hóa của vi khuẩn cho thấy trong tổng số 13 chủng cho khuẩn lạc nghi ngờ thì 10 chủng (TB-03, TNg-02, TNg-05, VP-06, VP-10, BG-01, BG-02, BG-04, HN-02 và HN-04) mang đầy đủ các đặc tính sinh học đặc trưng cho chủng, giống như: phản ứng Indol, catalase, oxidase, urease âm tính; vi khuẩn có khả năng lên men đường lactose, mannitol, maltose, sorbitol và chúng không có khả năng di động. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Blackall và Soriano (2008). Có 3 trong tổng số 10 chủng được xác định là vi khuẩn *Av. paragallinarum* có khả năng lên men đường lactose chậm (TB-03, TNg-05 và HN-02). Báo cáo của Akhter (2013) cho thấy các chủng khác nhau thì khả năng lên men đường lactose khác nhau. Ba chủng (HY-01, VP-01 và HN-07) phân lập được cho thấy sự khác biệt trong khả năng lên men carbohydrate so với các chủng còn lại. Các xét nghiệm sinh hóa khác cũng khẳng định chúng không phải là các chủng vi khuẩn *Av. paragallinarum* cần trong nghiên cứu. Như vậy, trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã phân lập được 10 chủng vi khuẩn gây bệnh sưng phù đầu ở gà.

### 3.3. Khả năng miễn cảm của vi khuẩn với một số loại kháng sinh

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã đánh giá khả năng miễn cảm của các chủng vi khuẩn phân lập được với 12 loại kháng sinh khác nhau (Bảng 3).

**Bảng 2. Kết quả giám định đặc tính sinh hóa của các khuẩn lạc nghi ngờ phân lập được từ gà**

Chủng VK	I	K	L	M	Ma	Mt	O	S	U
Tiêu chuẩn	-	-	+	+	+	-	-	+	-
TB-03*	-	-	+	+	+	-	-	+	-
HY-01	-	+	+	+	+	+	+	+	+
TNg-02	-	-	+	+	+	-	-	+	-
TNg-05*	-	-	+	+	+	-	-	+	-
VP-01	+	+	+	+	+	+	-	+	-
VP-06	-	-	+	+	+	-	-	+	-
VP-10	-	-	+	+	+	-	-	+	-
BG-01	-	-	+	+	+	-	-	+	-
BG-02	-	-	+	+	+	-	-	+	-
BG-04	-	-	+	+	+	-	-	+	-
HN-02*	-	-	+	+	+	-	-	+	-
HN-04	-	-	+	+	+	-	-	+	-
HN-07	-	+	+	+	+	+	-	+	-

Ghi chú: VK = Vi khuẩn, K = Catalase, I = Indole, Ma = Maltose, O = Oxidase, Mt = Motility, L = Lactose, U = Urease, M = Mannitol, S = Sorbitol, \*Chủng có khả năng lên men đường Lactose chậm.

**Bảng 3. Kết quả nghiên cứu khả năng miễn cảm của vi khuẩn với kháng sinh**

Chủng VK	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)											
	Ax	Am	Cl	Bt	Er	Gn	Te	Kn	En	Ne	Sm	Pn
TB-03	24 (S)	27 (S)	0 (R)	0 (R)	10 (R)	10 (R)	0 (R)	10 (R)	18 (I)	19 (S)	16 (S)	20 (I)
TNg-02	19 (S)	26 (S)	10 (R)	26 (S)	9 (R)	0 (R)	9 (R)	0 (R)	22 (I)	22 (S)	9 (R)	16 (R)
TNg-05	20 (S)	25 (S)	16 (I)	10 (R)	0 (R)	10 (R)	10 (R)	0 (R)	17 (I)	23 (S)	8 (R)	10 (R)
VP-06	31 (S)	28 (S)	6 (R)	0 (R)	10 (R)	10 (R)	0 (R)	16 (I)	11 (R)	10 (R)	20 (S)	24 (I)
VP-10	30 (S)	28 (S)	8 (R)	12 (R)	10 (R)	9 (R)	10 (R)	9 (R)	12 (R)	18 (S)	19 (S)	26 (S)
BG-01	28 (S)	23 (S)	12 (R)	0 (R)	10 (R)	11 (R)	10 (R)	0 (R)	18 (I)	9 (R)	0 (R)	30 (S)
BG-02	28 (S)	23 (S)	22 (S)	9 (R)	0 (R)	10 (R)	9 (R)	9 (R)	13 (R)	23 (S)	0 (R)	30 (S)
BG-04	27 (S)	25 (S)	10 (R)	9 (R)	8 (R)	10 (R)	10 (R)	10 (R)	9 (R)	20 (S)	0 (R)	32 (S)
HN-02	32 (S)	30 (S)	5 (R)	0 (R)	10 (R)	0 (R)	0 (R)	14 (I)	19 (I)	11 (R)	20 (S)	28 (S)
HN-04	31 (S)	30 (S)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	11 (R)	0 (R)	0 (R)	11 (R)	10 (R)	9 (R)	30 (S)

Ghi chú: S = Sensitive, I = Intermediate, R = Resistant.

Các chủng vi khuẩn *Av. paragallinarum* trong nghiên cứu này miễn cảm cao với kháng sinh amoxicillin và ampicillin (100%) (Hình 3). Theo kết quả nghiên cứu của Wahyuni (2018), 5/5 chủng thử nghiệm đều miễn cảm với 2 loại kháng sinh này. Rajurkar (2010) cho rằng tất cả các chủng phân lập được miễn cảm với

chloramphenicol, enrofloxacin, ampicillin và kanamycin. Trong một nghiên cứu khác, tác giả Poernomo (2000) cho biết 13 trong số 14 chủng được thử nghiệm miễn cảm với kháng sinh ampicillin.

Trong nghiên cứu cũng đã chỉ ra một số chủng vi khuẩn phân lập được miễn cảm với

kháng sinh neomycin, penicillin (60%) và một số chủng mẫn cảm với streptomycin (40%). Theo Fernandez (2000), khi thử nghiệm khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn cho thấy tất cả các chủng đều mẫn cảm với penicillin, ampicillin và erythromycin. Trong khi đó, Poernomo (2000) lại chỉ ra rằng có 10/14 chủng kháng với neomycin, 11/14 chủng kháng với streptomycin. Rajurkar (2010) đã cho biết 100% các chủng phân lập được kháng với streptomycin và tetracycline.

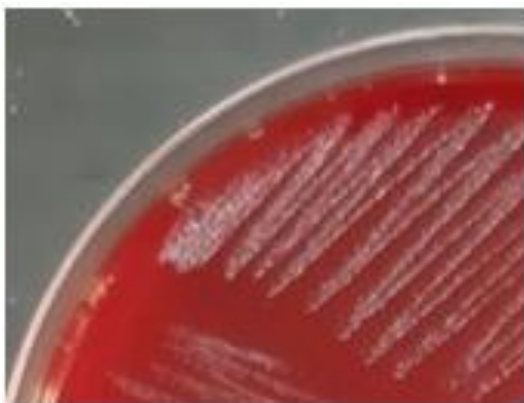
Kết quả của nghiên cứu cũng cho biết 100% các chủng vi khuẩn phân lập được đề kháng với kháng sinh erythromycin, gentamycin, tetracyclin, kanamycin và enrofloxacin. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với Wahyuni (2018) khi cho rằng tỷ lệ (%) vi khuẩn kháng với amikacin, erythromycin, gentamycin và tetracyclin là 100%; đối với kháng sinh kanamycin, 4/5 chủng vi khuẩn đề kháng với thuốc, 1/5 chủng mẫn cảm trung bình với thuốc. Mức độ vi khuẩn kháng thuốc đối với erythromycin tương đương trên 75% so với các nghiên cứu trước đó (Chukiatsiri & cs., 2012; Hsu & cs., 2007); trong khi đó, mức độ vi khuẩn kháng thuốc cao đối với tetracyclin cũng được báo cáo bởi Thenmozi & Malmarrungan (2013) ở mức trên 70%.

Như vậy, các chủng vi khuẩn khác nhau thì mức độ kháng thuốc là khác nhau và vi khuẩn có xu hướng ngày càng kháng với nhiều loại kháng sinh. Điều này có thể do bệnh thường đồng nhiễm với một số vi khuẩn gây bệnh đường hô

hấp khác như ORT (Morales-Erasto & cs., 2015), *Mycoplasma gallisepticum* (Sarika & cs., 2019), H9N2 (Kishida & cs., 2004). Mặt khác, vi khuẩn *Av. paragallinarum* khó phân lập, thời gian phân lập kéo dài nên người chăn nuôi thường điều trị dựa vào kinh nghiệm hoặc quá trình tư vấn của các công ty thuốc mà không gửi mẫu đến phòng thí nghiệm để xét nghiệm, làm cơ sở khoa học xây dựng phác đồ điều trị. Bên cạnh đó, do lợi nhuận mang lại cao trong quá trình kinh doanh thuốc thú y nên một số tổ chức, cá nhân đã tự mua nguyên liệu để pha chế và bán ra thị trường, làm cho các cơ quan quản lý Nhà nước khó kiểm soát cả về số lượng và chất lượng. Ngoài ra, một bộ phận người chăn nuôi không đủ sức kiên trì theo dõi, thực hiện đúng, đủ liệu trình kháng sinh nên tỏ ra nóng vội, thường xuyên thay đổi kháng sinh trong thời gian ngắn dẫn đến tình trạng vi khuẩn ngày càng kháng với nhiều loại kháng sinh và phạm vi ngày càng lan rộng.

#### 4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Vi khuẩn *Av. paragallinarum* phát triển tốt trên môi trường thạch máu, có hoặc không có bổ sung đường cấy *S. aureus*, không phụ thuộc vào yếu tố NAD. Vi khuẩn mang các đặc điểm đặc trưng cho loài, chủng, giống như: là vi khuẩn Gram âm; phản ứng indol, catalase, ure, oxidase âm tính; có khả năng lên men đường carbohydrate, không có khả năng di động.



**Hình 2. Hình thái khuẩn lạc *Av. paragallinarum* trên môi trường thạch máu**



**Hình 3. Tính mẫn cảm của vi khuẩn *Av. paragallinarum* với kháng sinh**

Vi khuẩn mẫn cảm cao với hai loại kháng sinh amoxicillin và ampicillin (100%), có thể sử dụng các loại kháng sinh này trong quá trình xây dựng phác đồ điều trị. Vi khuẩn đề kháng cao với 5 loại kháng sinh gồm: erythromycin, gentamycin, tetracyclin, kanamycin và enrofloxacin.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Tiêu chuẩn Quốc gia, TCVN 8400-18 (2014). Bệnh động vật - Quy trình chẩn đoán - Phần 18: Bệnh phù đầu gà (Coryza).
- Akhter S., Ali M., Das P.M. & Hossain M.M. (2013). Isolation and identification of *Avibacterium paragallinarum*, the causal agent of infectious coryza (IC) from layer chickens in Bangladesh. *J. Bangladesh Agric. Univ.* 11: 87-96.
- Akhter S., Saha S., Khan K.A., Amin M.M. & Haque M.E. (2014). Isolation and identification of *Avibacterium paragallinarum* from layer chickens in Gazipur, Bangladesh. *Microbes Health.* 3: 9-11.
- Ariyanti T. & Supar (2007). Pengendalian coryza infeksius pada ayam. *Wartazoa.* 17: 185-191.
- Blackall P.J. (1983). An evaluation of methods for the detection of carbohydrate fermentation patterns in avian *Haemophilus* species. *Journal of Microbiological Methods.* 1: 275-281.
- Blackall P.J., Christensen H., Beckenham T., Blackall L.L. & Bisgaard M. (2005). Reclassification of *Pasteurella gallinarum*, *Haemophilus paragallinarum*, *Pasteurella avium* and *Pasteurella volantium* as *Avibacterium gallinarum* gen. nov., *Avibacterium paragallinarum* comb. nov., *Avibacterium avium* comb. nov. and *Avibacterium volantium* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 353-362.
- Blackall P.J. & Soriano, E.V. (2008). Infectious coryza and related bacterial. *In: Disease of Poultry.* 12<sup>th</sup> ed. Blackwell Publishing, Oxford. pp. 789-803.
- Chen X., Miflin J.K., Zhang P. & Blackall P.J. (1996). Development and application of DNA probes and PCR tests for *Haemophilus paragallinarum*. *Avian diseases.* 40(2): 398-407.
- Chukiatsiri K., Sasipreeyajan J., Blackall P.J., Yuwatanichsampan S. & Chansiripornchai N. (2012). Serovar identification, antimicrobial sensitivity and virulence of *Avibacterium paragallinarum* isolated from chickens in Thailand. *Avian Dis.* 56: 359-364.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2012). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard, 3<sup>rd</sup> Ed. M31-A3. CLSI, Wayne, PA.
- Fernandez R.P., Garcia-Delgado G.A., Ochoa P. & Soriano V.E. (2000). Characterization of *Haemophilus paragallinarum* isolates from Mexico. *Avian Pathology.* 29(5): 473-476.
- Hall W.J., Heddleston K.L., Legenhausen D.H. & Hughes R.W. (1955). Studies on pasteurellosis. I. A new species of *Pasteurella* encountered in chronic fowl cholera. *Am J Vet Res.* 16: 598-604
- Hsu Y.M., Shieh H.K., Chen W.H., Sun T.Y. & Shiang J.H. (2007). Antimicrobial susceptibility, plasmid profiles and haemocin activities of *Avibacterium paragallinarum* strains. *J. Vet. Microbiol.* 124: 209-218.
- Kishida N., Sakoda Y., Eto M., Sunaga Y. & Kida H. (2004). Co-infection of *Staphylococcus aureus* or *Haemophilus paragallinarum* exacerbates H9N2 influenza A virus infection in chickens. *Archives of virology.* 149(11): 2095-2104.
- Markey B.K., Leonard F.C. & Archambault M. (2013). *Clinical Veterinary Microbiology.* Mosby Elseiver, Edinburgh. pp. 307-314.
- Morales-Erasto V., Falconi-Agapito F., Luna-Galaz G.A., Saravia L.E., Montalvan-Avalos A., Soriano-Vargas E.E. & Fernandez-Diaz M. (2015). Coinfection of *Avibacterium paragallinarum* and *Ornithobacterium rhinotracheale* in chickens from Peru. *Avian diseases.* 60(1): 75-78.
- Muhammad T.N. & Sreedevi B. (2015). Detection of *Avibacterium paragallinarum* by polymerase chain reaction from outbreaks of infectious coryza of poultry in Andhra Pradesh. *Veterinary world.* 8(1): 103.
- MushinR., Bock R. & Abrams M. (1977). Studies on *Pasteurella gallinarum*. *Avian Pathol.* 6: 415-423.
- Poernomo S., Sutarma M.R. & Blackall P.J. (2000). Characterization of isolates of *Haemophilus paragallinarum* from Indonesia. *Aust Vet J.* 78: 759-762.
- Priya P.M., Krishna S.V., Dineskumar V. & Mini M. (2012). Isolation and characterization of *Avibacterium paragallinarum* from ornamental birds in Thrissur, Kerala. *Int. J. Life Sci.* 1: 87-88.
- Rajurkar G., Roy A. & Yadav M.M. (2010). Antimicrobial sensitivity pattern of *Haemophilus paragallinarum* isolated from suspected cases of infectious coryza in poultry. *Vet. World.* 3(4): 177-181.
- Sarika N., Devigasri C., Surya Sankar & Mini M. (2019). A report of natural concurrent infection with *Avibacterium paragallinarum* and *Mycoplasma gallisepticum* in chicken. *The Pharma Innovation Journal.* 8(1): 16-18.

- Tabbu C.R. (2000). Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Kanisius, Yogyakarta. 1: 14-20.
- Thenmozi V. & Malmarungan S. (2013). Isolation and Identification and Antibioqram Pattern of *Avibacterium paragallinarum* from Japanese Quails. Tamil Nadu J. Vet. Anim. Sci. 9: 253-258.
- Wahyuni A.E., Tabbu T.H., Artanto C.R., Setiawan S.D.C.B. & Rajaguguk S.I. (2018). Isolation, identification, and serotyping of *Avibacterium paragallinarum* from quails in Indonesia with typical infectious coryza disease symptoms. Veterinary world. 11(4): 519.
- Yamamoto R. (1991). Infectious coryza. In: B.W. Calnek H.J., Barnes C.W., Beard W.M., Reid & H.W. Yoder. Diseases of Poultry, 9<sup>th</sup> Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 186-195.