

Nghiên cứu phân lập và xác định tính mẫn cảm với kháng sinh của vi khuẩn *Gallibacterium anatis* gây bệnh giảm đẻ trứng ở gà tại tỉnh Phú Thọ

Trương Quang Lâm, Lê Thị Trang, Vũ Thị Ánh, Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Hồng Thu, Trần Văn Nên, Đào Lê Anh
Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam;
Công ty Cổ phần Công nghệ sinh phẩm Thú y VNVA

Tóm tắt

Gallibacterium anatis (*G. anatis*) là mầm bệnh quan trọng trên gia cầm, gây thiệt hại đáng kể cho ngành chăn nuôi và hiện chưa có vaccin phòng bệnh. Nghiên cứu đã phân lập được 28 chủng *G. anatis* từ 69 mẫu bệnh phẩm gà có biểu hiện nghi mắc bệnh tại tỉnh Phú Thọ. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy các chủng này có mức mẫn cảm cao nhất đối với cefotaxime (67,86%), flofenicol–doxy (67,86%) và amoxicillin/clavulanic acid (60,71%). Ngược lại, tỷ lệ kháng rất cao được ghi nhận với trimethoprim/sulfamethoxazole và oxytetracycline (100%), streptomycin (96,43%), amoxicillin (92,86%), doxycycline (89,28%) và enrofloxacin (85,71%). Kết quả này cho thấy nên ưu tiên sử dụng các kháng sinh *G. anatis* còn mẫn cảm và hạn chế sử dụng các kháng sinh có tỷ lệ kháng cao nhằm nâng cao hiệu quả điều trị và hạn chế gia tăng tình trạng kháng thuốc của *G. anatis* trên đàn gà.

Từ khóa: *Gallibacterium anatis*, PCR, MALDI TOF MS, kháng sinh đồ.

Isolation and antimicrobial susceptibility of *Gallibacterium anatis* in poultry in Phu Tho Province Summary

Gallibacterium anatis (*G. anatis*) is an important poultry pathogen that causes significant economic losses, and no vaccine is currently available. In this study, 28 *G. anatis* isolates were obtained from 69 clinical samples collected from chickens showing suspected infection in Phu Tho Province. Antibiotic susceptibility testing revealed that the isolates were most sensitive to **cefotaxime (67,86%)**, flofenicol–doxy (67,86%), and **amoxicillin/clavulanic acid (60,71%)**. In contrast, very high resistance rates were observed for **trimethoprim/sulfamethoxazole and oxytetracycline (100%)**, **streptomycin (96,43%)**, and **amoxicillin (92,86%)**, doxycycline (89,28%) and enrofloxacin (85,71%). These findings suggest that antibiotics to which *G. anatis* remains susceptible should be prioritized, whereas those exhibiting high resistance rates should be used restrictively in order to enhance therapeutic efficacy and mitigate the further development of antimicrobial resistance in *G. anatis* within chicken flocks.

Key words: *G. anatis*, PCR, MALDI-TOF MS, antibiotic susceptibility testing.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn *Gallibacterium anatis* thuộc nhóm vi khuẩn gram âm họ *Pasteurellaceae*, không hình thành bào tử và không di động, và là một mầm bệnh mới nổi trên gia cầm trong vài năm gần đây (Shabbir & cs., 2023). Vi khuẩn gây bệnh chủ yếu ở gà, gà tây, vịt, ngỗng, gà lôi, chim bồ câu, chim công. Bệnh thường xảy ra ở gà với các triệu chứng ho, khó thở, sưng đầu, chảy nước mắt, chảy nước mũi, tiêu chảy phân trắng (Shabbir & cs., 2023). Đặc trưng của bệnh là viêm phúc mạc, viêm phủ fibrin ở gan và tim, viêm khí quản, hoại tử gan và nhiễm trùng huyết. Khi gây nhiễm thực nghiệm với *G. anatis* ở gà đẻ, gà bị tiêu chảy phân trắng từ 7 đến 24 sau gây nhiễm, sản lượng trứng giảm lần lượt là

66% và 47% sau tuần đầu tiên và tuần thứ ba sau gây nhiễm; Ở gà trống khi mắc bệnh gây viêm màng tinh, chất lượng tinh dịch giảm (Krishnegowda & cs., 2020). Khả năng gây bệnh của *G. anatis* trầm trọng khi đồng nhiễm với các tác nhân gây bệnh khác như virus viêm phế quản truyền nhiễm (IBV) và vi khuẩn *E. coli*, *Avibacterium paragallinarum* và *Mycoplasma gallisepticum* dẫn đến tăng tỷ lệ mắc bệnh và chết, đặc biệt ở gà mái tỷ lệ chết có thể lên đến 73% trên thực nghiệm. Hơn nữa, *G. anatis* được phát hiện gây bệnh trên người có hệ miễn dịch suy giảm ở Pháp (Aubin & cs., 2013) và Đài Loan (Wang & cs., (2024). Theo Driessche & cs. (2020) cho thấy cần thiết tiến hành nghiên cứu nguy cơ lây truyền vi khuẩn *G. anatis* từ gia cầm và gia súc sang người.

G. anatis hiện được xem là một tác nhân gây bệnh quan trọng trên gia cầm, chưa có vắc-xin phòng bệnh, và kháng sinh vẫn là biện pháp điều trị chủ yếu. Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận tình trạng kháng kháng sinh gia tăng của *G. anatis* đối với các nhóm quinolone, penicillin, macrolide và tetracycline, dù một số kháng sinh như ceftiofur hoặc florfenicol vẫn còn hiệu lực (Jones & cs., 2013; El-Adawy & cs., 2018; Hess & cs., 2020). Tại Việt Nam, nghiên cứu từ khu vực đồng bằng sông Cửu Long cho thấy *G. anatis* mẫn cảm với doxycycline nhưng kháng cao với amoxicillin, co-trimoxazole, thiamphenicol, enrofloxacin và streptomycin (Yen & cs., 2020).

Trong khi chăn nuôi gia cầm tại khu vực phía Bắc chiếm tỷ trọng lớn, nghiên cứu và dữ liệu về sự lưu hành và tính mẫn cảm kháng sinh của *G. anatis* tại đây còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và đánh giá tính mẫn cảm với một số kháng sinh sử dụng phổ biến đối với các chủng *G. anatis* phân lập từ gà nuôi tại Phú Thọ, miền Bắc Việt Nam. Những kết quả thu được góp phần bổ sung dữ liệu cần thiết cho công tác điều trị, kiểm soát và định hướng sử dụng kháng sinh hợp lý, phát triển vắc-xin phòng bệnh trong chăn nuôi gia cầm giúp giảm thiệt hại và nâng cao năng suất cho người chăn nuôi.

II. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Phân lập và giám định, định danh vi khuẩn *G. anatis* gây bệnh
- Xác định khả năng kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *G. anatis* phân lập được.

2.2 Vật liệu nghiên cứu

- Mẫu nghiên cứu: Mẫu bệnh phẩm của 69 gà nghi nhiễm *G. anatis* được thu thập từ các trại chăn nuôi gà tại tỉnh Phú Thọ (tỉnh Vĩnh Phúc cũ).
- Môi trường, hóa chất: Môi trường thạch máu (Himedia, Ấn độ) có bổ sung 5% máu cừu, môi trường thạch MacConkey (Himedia, Ấn độ), huyết thanh ngựa (Capricorn Scientific, Đức), môi trường thạch Brain Heart Infusion (BHI agar), Mueller Hinton Agar (MHA) (Himedia, Ấn độ), thuốc thử các phản ứng sinh hóa, hóa chất nhuộm gram, hóa chất sử dụng cho phản ứng PCR.
- Các đĩa kháng sinh tẩm được tẩm sẵn nồng độ được sử dụng của công ty Nam Khoa, Việt Nam. Các kháng sinh amoxicillin trihydrate, colistin sulfate, florfenicol, doxycycline hyclate của Sigma–Aldrich cũng được chuẩn bị cho nghiên cứu tại Phòng thí nghiệm Trọng điểm công nghệ sinh học Thú y.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Thực hiện từ tháng 01 năm 2023 đến tháng đến tháng 06 năm 2025.
- Địa điểm lấy mẫu: Xã Tam Dương và Tam Đảo, tỉnh Phú Thọ
- Địa điểm xét nghiệm: Phòng thí nghiệm Trọng điểm công nghệ sinh học Thú y, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Thu thập mẫu

Mẫu bệnh phẩm gồm khí quản, phổi, tim, gan, lách và buồng trứng (đối với gà đẻ) của 69 gà nghi nhiễm vi khuẩn *G. anatis* được thu thập từ các trại tại xã Tam Dương, Tam Đảo, tỉnh Phú Thọ. Gà đẻ và gà thịt có biểu hiện ủ rũ, bệnh ho, khó thở, sưng đầu, chảy nước mắt, chảy nước mũi, tiêu

chảy phân trắng, trứng đẻ dị hình và vỏ mỏng, giảm sản lượng trứng, tổ chức có viêm phúc mạc, viêm phủ fibrin ở gan và tim, viêm túi khí, viêm khí quản, viêm ruột, nhiễm trùng huyết được cho nghi mắc *G. anatis* (Paudel & cs., 2014b; Elbestawy Ahmed R & cs., 2018). Phương pháp mổ khám gia cầm dựa theo TCVN 8402-2010 bệnh động vật-quy trình mổ khám. Tất cả các mẫu thu thập được tiến hành mã hóa mẫu, bảo quản ở 2-8°C trong thùng bảo ôn, vận chuyển về phòng thí nghiệm để tiến hành phân lập vi khuẩn trong 24h.

2.4.2. Phân lập vi khuẩn *G. anatis*

Phương pháp phân lập vi khuẩn *G. anatis* được thực hiện dựa trên các nghiên cứu được công bố trước đây của Sorescu I. & cs., 2021. Mẫu bệnh phẩm được xử lý để vô trùng bề mặt trước khi lấy vật liệu bên trong cây lên môi trường thạch máu. Các đĩa cấy được ủ ở 37°C trong điều kiện yếm khí 5% CO₂, và sự phát triển của khuẩn lạc được kiểm tra hàng ngày trong vòng 2 ngày. Khuẩn lạc nghi ngờ là vi khuẩn *G. anatis* sẽ được cấy chuyển sang môi trường thạch BHI. Hình thái vi khuẩn *G. anatis* được xác định bằng phương pháp nhuộm Gram và quan sát dưới kính hiển vi quang học (vật kính dầu 100x). Khuẩn lạc nghi ngờ là vi khuẩn *G. anatis* sẽ được kiểm tra đặc tính sinh hóa, khả năng dung huyết β, lên men đường, đặc tính mọc như mô tả trước đây (Narasinakuppe K. & cs., 2020; Sorescu I. & cs., 2021)

2.4.3. Định danh vi khuẩn *G. anatis* bằng phương pháp MALDI TOF MS

Việc xác định vi khuẩn *G. anatis* được tiến hành bằng phương pháp MALDI TOF MS (Bruker Daltonic, Bremen, Đức) sử dụng công nghệ khối phổ protein được mô tả bởi Hess C & cs., 2013; Tzora & cs., 2021. Các chủng định danh được so sánh với các chủng tham chiếu là *G. anatis* GD45 GDD; *G. anatis* DSM 16844T DCM trong ngân hàng dữ liệu. Điểm log ≥2,0 thể hiện xác định mức độ loài (dương tính); log từ 1,7 đến 2,0 thể hiện xác định mức độ chi (giám định lại); dưới 1,7 thể hiện không thể xác định được vi khuẩn.

2.4.4. Giám định vi khuẩn *G. anatis* bằng phản ứng PCR

DNA của vi khuẩn *G. anatis* được tách chiết bằng kit GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, Mỹ), các bước tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Phản ứng PCR dùng để chẩn đoán vi khuẩn *G. anatis* sử dụng cặp mồi đặc hiệu 1133f: 5'- TATTCTTTGTTACCARCGG -3'; 114R: 5'- GGTTCCTCCCATTCGG -3' khuếch đại đoạn gene 16s rRNA của vi khuẩn *G. anatis* theo nghiên cứu của Bojesen & cs., 2007. Sản phẩm PCR được điện di trên thạch 1% (Agarose, Invitrogen) nhuộm với RedSafe (Intron, Hàn Quốc) trong dung dịch TBE1X sử dụng với thang DNA chuẩn 100bp (Thermo Scientific, Mỹ). Sản phẩm PCR có độ dài 1032bp, được chụp ảnh điện di bởi GelDoc, Biorad, Mỹ.

2.4.5. Xác định mức độ mẫn cảm với một số kháng sinh của vi khuẩn *G. anatis* gây bệnh phân lập được

Sử dụng phương pháp khuếch tán trên thạch để thử nghiệm khả năng mẫn cảm của vi khuẩn *G. anatis* với 14 loại kháng sinh phổ thông theo nghiên cứu của một số công bố trước đây (Elbestawy A. R. & cs., 2018; Hess & cs., 2020). Các loại kháng sinh sử dụng là: amoxicillin (Ax-10μg), amoxicillin/clavulanic acid (Ac-20/10μg), cefotaxime (Ct-30μg), tiamulin (30μg), ceftiofur (Cf-30μg), colistin (Co-10μg), doxycyclin (Dx-30μg), enrofloxacin (Enr-5μg), gentamycin (Ge-10μg), oxytetracycline (30μg), streptomycin (Sm-10μg), trimethoprim/sulfamethoxazole (Bt-1,25/23,75μg) (Nam Khoa, Việt Nam); Các kháng sinh amox – colistin (10/10μg), flofenicol – doxy (Flo/Doxy-20/10μg) được chuẩn bị tại Phòng thí nghiệm Trọng điểm công nghệ sinh học Thú y. Kết quả được xác định dựa trên các hướng dẫn dành cho chủng chuẩn *Pasteurella multocida* của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và Phòng thí nghiệm (CLSI, 2015) và EUCAST (2025).

2.4.6. Phương pháp xử lý số liệu

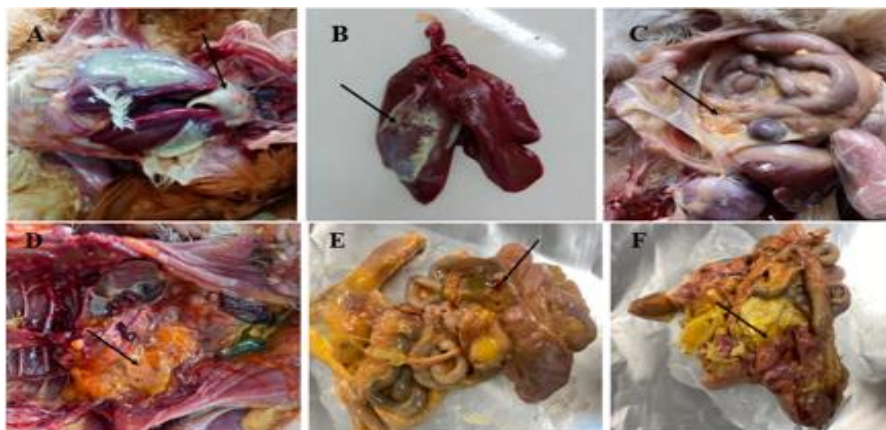
Số liệu được ghi chép và lưu trữ, tính toán trong phần mềm Excel 2016.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn *G. anatis*

Trong quá trình mổ khám, quan sát bệnh tích đại thể ở gà nghi mắc *G. anatis* thấy các bệnh tích điển hình như: viêm phúc mạc, viêm phủ fibrin ở gan và tim, viêm túi khí, viêm khí quản, vỡ nang trứng, nang trứng xuất huyết ở gà đẻ (hình 3.1). Các triệu chứng lâm sàng và bệnh tích đại thể tương đồng với những mô tả trước đây của các tác giả (Paudel & cs., 2014; El-Adawy & cs., 2018; Elbestawy A. R & cs., 2018).

Kết quả phân lập vi khuẩn *G.anatis* từ các mẫu bệnh phẩm của 69 gà nghi mắc bệnh được trình bày ở bảng 3.1.



Hình 3.1. Một số hình ảnh bệnh tích đại thể của gà nhiễm vi khuẩn *G. anatis*. Viêm màng phủ fibrin tim, gan (A, B); Viêm phúc mạc (C); Viêm buồng trứng, vỡ nang, nang trứng xuất huyết (D, E, F)

Bảng 3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn *G. anatis* từ gà nghi mắc bệnh tại Phú Thọ

Stt	Địa phương	Số lượng gà	Số mẫu phân lập dương tính	Tỷ lệ (%)
1	Xã Tam Đảo	35	18	26,08
2	Xã Tam Dương	34	10	14,49
Tổng		69	28	40,57

Kết quả tại bảng 3.1 cho thấy có 28 chủng *G. anatis* được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm chiếm tỷ lệ 40,57%, trong đó 18/35 gà dương tính thu thập tại xã Tam Đảo (26,08%) và 10/34 gà dương tính thu thập tại xã Tam Dương (14,49%). Các mẫu dương tính này sẽ được giám định và định danh để khẳng định chắc chắn là vi khuẩn *G. anatis* ở các bước tiếp theo.

3.2. Kết quả giám định vi khuẩn *G. anatis* bằng đặc tính sinh hóa

Kết quả giám định đặc tính sinh hóa của 28 chủng nghi ngờ vi khuẩn *G. anatis* trên một số môi trường đặc hiệu trình bày ở bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả một số đặc tính sinh hóa của các chủng *G. anatis* phân lập được

STT	Chỉ tiêu xét nghiệm	Số chủng kiểm tra	Kết quả tham chiếu	Số chủng dương tính	Tỷ lệ %
1	Bắt màu Gram âm	28	+	28	100
2	Dung huyết	28	+/-	25	89,28
3	Urease	28	-	28	100
4	Oxidase	28	+	28	100
5	Catalase	28	+	28	100
6	Indole	28	-	28	100

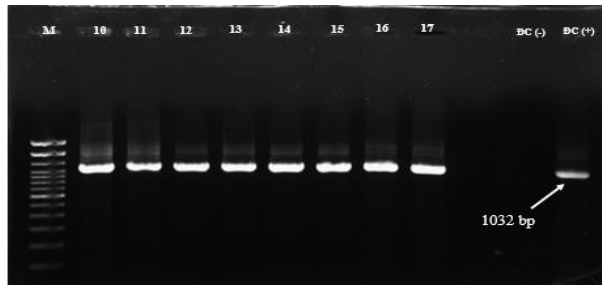
7	MacConkey	28	+	28	100
8	Glucose	28	+/-	25	89,28
9	Lactose	28	+/-	20	71,42
10	Sucrose	28	+	28	100

Ghi chú: +) Dương tính; -) Âm tính

Từ kết quả ở bảng 3.2 cho thấy: 100% số chủng *G. anatis* bắt màu gram âm có phản ứng dương tính oxidase và catalase, và âm tính với phản ứng sinh indole, urease. Trong đó có 25/28 chủng có khả năng gây dung huyết β trên thạch máu thuộc nhóm *G. anatis* biovar haemolytica chiếm tỷ lệ 89,28% và 2/28 chủng không có khả năng gây dung huyết trên thạch máu thuộc nhóm *G. anatis* biovar anatis chiếm tỷ lệ 10,72%. Như vậy, các chủng *G. anatis* xuất hiện hai nhóm *G. anatis* biovar như mô tả của một số nghiên cứu trước đây (El-Adawy & cs., 2018). Đồng thời, chúng tôi tiến hành nghiên cứu về khả năng lên men đường của vi khuẩn cho thấy 25/28 chủng có khả năng lên men đường glucose và 20/28 chủng có khả năng lên men đường lactose chiếm tỷ lệ lần lượt là 89,28% và 71,42%, và 100% số chủng đều có khả năng lên men đường sucrose. Như vậy, kết quả kiểm tra các đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn *G. anatis* phân lập trong nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu của nhiều tác giả trên thế giới (Algammal & cs., 2022).

3.3. Kết quả định danh và giám định vi khuẩn *G. anatis* bằng phương pháp PCR và MALDI TOF MS

28 chủng *G. anatis* được giám định bằng phương pháp PCR, kết quả cho thấy mẫu đối chứng dương có band đặc hiệu độ dài 1032bp, kích thước sản phẩm như thiết kế, và mẫu đối chứng âm không lên vạch, chứng tỏ phản ứng PCR đặc hiệu, có độ tin cậy cao trong quá trình phân tích và đánh giá kết quả. Cả 28 chủng vi khuẩn kiểm tra đều dương tính với *G. anatis* với sản phẩm PCR có độ dài 1032 bp (hình 3.2).



Hình 3.2. Kết quả giám định vi khuẩn *G. anatis* bằng phản ứng PCR.

(Giếng M: thang chuẩn DNA 100bp (Marker); các giếng từ 10-17: sản phẩm PCR của các chủng phân lập *G. anatis*; giếng DC+: mẫu đối chứng dương; giếng DC-: mẫu đối chứng âm).

Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu cũng so sánh mối tương quan, độ chính xác giữa phương pháp MALDI TOF MS và PCR để định danh và giám định nhanh kết quả phân lập *G. anatis*. Tất cả 28 chủng vi khuẩn *G. anatis* phân lập được định danh bởi phương pháp MALDI TOF MS sử dụng phần mềm Maldi Biotyper 4.1, kết quả trình bày tại bảng 3.3.

Bảng 3.3. Kết quả giám định, định danh các chủng vi khuẩn *G. anatis* bằng phương pháp MALDI TOF MS

STT	Chủng thực địa	PCR	MALDI TOF (log)	STT	Chủng thực địa	PCR	MALDI TOF (log)
1	VNUA-GA01	+	2,18	15	VNUA-GA34	+	2.200
2	VNUA-GA03	+	2,28	16	VNUA-GA35	+	2.120

3	VNUA-GA05	+	2,26	17	VNUA-GA41	+	2.080
4	VNUA-GA10	+	2,23	18	VNUA-GA43	+	2,24
5	VNUA-GA12	+	2,25	19	VNUA-GA44	+	2,26
6	VNUA-GA15	+	2,21	20	VNUA-GA46	+	2,21
7	VNUA-GA20	+	2,22	21	VNUA-GA56	+	2,15
8	VNUA-GA21	+	2,34	22	VNUA-GA58	+	2.210
9	VNUA-GA23	+	2,27	23	VNUA-GA60	+	2.230
10	VNUA-GA24	+	2,24	24	VNUA-GA64	+	2.020
11	VNUA-GA27	+	2,26	25	VNUA-GA65	+	2.070
12	VNUA-GA30	+	2,25	26	VNUA-GA66	+	2,11
13	VNUA-GA31	+	2,06	27	VNUA-GA67	+	2,22
14	VNUA-GA32	+	2.310	28	VNUA-GA70	+	2,17

Qua bảng 3.3 cho thấy cả 28 chủng vi khuẩn được định danh là *G. anatis* với các điểm log dao động từ 2,060 – 2,340, phản ánh độ chính xác ở mức độ loài cao nhất, và cho kết quả tương đồng 100% với phương pháp PCR. Ứng dụng phương pháp MALDI-TOF MS trong giám định và định danh vi khuẩn *G. anatis* đã được chứng minh cho kết quả tin cậy cao và ưu điểm về thời gian chẩn đoán nhanh đối với các ca bệnh ở gà đẻ, gà mái giống và gà tây (Alispahic & cs., 2012). Tại Việt Nam, nghiên cứu của Nguyễn Thị Phương Yên & cs. (2020) cũng đã sử dụng thành công phương pháp MALDI TOF MS để phân lập và định danh nhanh 19 chủng vi khuẩn *G.anatis biovar haemolytica* từ mẫu bệnh phẩm gà ốm tại tỉnh Đồng Tháp (Yen & cs., 2020). Thực tế cho thấy, phương pháp MALDI TOF MS cho kết quả định danh chính xác cao, thời gian nhanh, giá thành rẻ hơn so với phương pháp PCR truyền thống. Do đó, sử dụng phương pháp phân lập vi khuẩn truyền thống kết hợp với định danh, giám định nhanh bằng MALDI TOF MS là một hướng đi mới trong chẩn đoán vi khuẩn *G. anatis*.

3.4 Kết quả xác định tính miễn cảm với kháng sinh của vi khuẩn *G. anatis* phân lập được trên gà tại một số huyện thuộc tỉnh Vĩnh phúc

Tổng số 28 chủng phân lập *G. anatis* được sử dụng đánh giá mức độ miễn cảm với một số loại kháng sinh thông dụng phổ biến trong chăn nuôi gia cầm hiện nay bằng kỹ thuật khuếch tán trên thạch. Kết quả được trình bày trong bảng 3.4.

Bảng 3.4. Kết quả tính miễn cảm với một số kháng sinh của vi khuẩn *G. anatis*

TT	Kháng sinh	Số chủng kiểm tra	Kháng		Trung gian		Miễn cảm	
			Số kháng	Tỷ lệ (%)	Số miễn cảm	Tỷ lệ (%)	Số miễn cảm	Tỷ lệ (%)
1	Amox – Colistin (10/10µg)	28	21	75,00	7	25,00	0	0
2	Amoxicillin (10µg)	28	26	92,86	2	7,14	0	0
3	Amoxicillin/clavulanic acid (20/10µg)	28	5	17,85	6	21,42	17	60,71
4	Cefotaxime (30µg)	28	6	21,42	3	10,71	19	67,86
5	Ceftiofur (30 µg)	28	11	39,29	3	10,71	14	53,57
6	Colistin (10µg)	28	24	85,71	3	10,71	1	3,57
7	Doxycyclin (30µg)	28	25	89,28	3	10,71	0	0
8	Enrofloxacin (5µg)	28	24	85,71	2	7,14	2	7,14
9	Flo – Doxy (20/10µg)	28	0	0.00	9	32.14	19	67,86

10	Gentamycin (10µg)	28	17	60,71	6	21,42	5	17,85
11	Oxytetracycline (30µg)	28	28	100	0	0	0	0
12	Streptomycin (10µg)	28	27	96,43	1	3,57	0	0
13	Tiamulin (30µg)	28	17	60,71	11	39,29	0	0
14	Trimethoprim/Sulfamethoxazole (Bt) (1.25/23.75µg)	28	28	100	0	0	0	0

Kết quả trong bảng 3.4 cho thấy 28 chủng *G. anatis* mẫn cảm cao với kháng sinh cefotaxime (67,86%); tiếp đến là kháng sinh florfenicol – doxy (67,86%), amoxicillin/clavulanic acid (60,71%), và ceftiofur (53,57%). Trong nghiên cứu này các chủng vi khuẩn *G. anatis* có tỷ lệ mẫn cảm với kháng sinh cefotaxime, ceftiofur, florfenicol cao hơn so với công bố trước đây tại Ai Cập (Elbestawy Ahmed R & cs., 2018; Shabbir M. Z. & cs., 2023). Ngược lại, các chủng *G. anatis* có tỷ lệ mẫn cảm thấp hơn với ceftiofur (28,57%) so với các nghiên cứu trên thế giới với độ mẫn cảm đạt 90-100% (Malik & cs., 2005; Jones & cs., 2013; El-Adawy & cs., 2018).

Đáng chú ý, các chủng *G. anatis* phân lập tại tỉnh Phú Thọ có tỷ lệ kháng cao với một số kháng sinh phổ biến trong chăn nuôi như trimethoprim/sulfamethoxazole (100%), oxytetracycline (100%), streptomycin (96,43%), amoxicillin (92,86%), doxycycline (89,28%), enrofloxacin (85,71%), colistin (85,71%), amox – colistin (75,00%), và tỷ lệ kháng cao hơn rõ rệt so với một số công bố trước đây trên thế giới, và gây ra sự khó khăn trong việc lựa chọn kháng sinh hiệu quả trong điều trị bệnh. Nghiên cứu này cho kết quả tương đồng với công bố tại Đồng Tháp (2017-2019) và một số quốc gia trên thế giới, các chủng *G. anatis* khả năng kháng cao với các kháng sinh trimethoprim/sulfamethoxazole (83-100%), streptomycin (98,0%), amoxicillin (84,0%), enrofloxacin (93-100%) (Yen & cs., 2020; Shabbir & cs., 2023; Jones & cs., 2013; Malik & cs., 2005). Tuy nhiên, trong khi các chủng *G. anatis* phân lập được ở tỉnh Phú Thọ kháng cao với colistin, oxytetracycline và doxycycline, trong khi đó các chủng phân lập tại Đồng Tháp cho thấy nhạy cảm cao các kháng sinh này (Yen & cs., 2020). Nghiên cứu của Shabbir M. Z. & cs., 2023 tại Mỹ cho thấy vi khuẩn *G. anatis* nhạy cảm cao với amoxicillin và enrofloxacin, và hoàn toàn trái ngược với kết quả trong nghiên cứu này. Ngoài ra, trong nghiên cứu này cũng chỉ ra kết quả tương đồng về khả năng kháng thuốc với kháng sinh enrofloxacin, và họ các kháng sinh thuộc họ tetracycline với các công bố trước đây trên thế giới với tỷ lệ từ 76-100% (Elbestawy A. R & cs., 2018; El-Adawy & cs., 2018; Shabbir & cs., 2023). Sự khác biệt này có thể liên quan đến vùng địa lý, quốc gia, điều kiện chăn nuôi, thức ăn, kỹ thuật chăm sóc, nuôi dưỡng và các chủng vi khuẩn *G. anatis* lưu hành tại thực địa, và đặc biệt cách sử dụng kháng sinh trong đàn gà giữa miền Bắc và miền Nam, Việt Nam. Do đó, việc gửi mẫu phân lập và xét nghiệm kháng sinh đồ định kỳ tại từng mô hình chăn nuôi tại từng địa phương là cần thiết và quan trọng để xây dựng phác đồ phòng trị bệnh hiệu quả.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã phân lập và giám định được 28 chủng *G. anatis* từ 69 gà nghi mắc bệnh tại tỉnh Phú Thọ. Các chủng phân lập cho thấy sự khác biệt rõ rệt về mức độ mẫn cảm kháng sinh: cefotaxime, florfenicol–doxycycline và amoxicillin/clavulanic acid có tỷ lệ mẫn cảm cao nhất, trong khi trimethoprim/sulfamethoxazole, oxytetracycline và streptomycin thể hiện tỷ lệ kháng rất cao. Những dữ liệu này góp phần bổ sung thông tin về đặc điểm kháng kháng sinh của *G. anatis* tại khu vực miền Bắc, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học giúp định hướng lựa chọn kháng sinh hiệu quả trong điều trị thực tế.

NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH TÍNH Mẫn CẢM VỚI KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *GALLIBACTERIUM ANATIS* GÂY BỆNH GIẢM ĐỂ TRỨNG Ở GÀ TẠI TỈNH PHÚ THỌ

Trương Quang Lâm¹, Lê Thị Trang³, Vũ Thị Ánh³, Nguyễn Thị Thu Hương¹, Nguyễn Anh Tuấn³, Nguyễn Thị Lan¹, Nguyễn Hồng Thu¹, Trần Văn Nền², Đào Lê Anh^{1*}
*Tác giả liên hệ email: daoleanh@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Gallibacterium anatis (*G. anatis*) là mầm bệnh quan trọng trên gia cầm, gây thiệt hại đáng kể cho ngành chăn nuôi và hiện chưa có vaccin phòng bệnh. Nghiên cứu này đã phân lập được 28 chủng *G. anatis* từ 69 mẫu bệnh phẩm gà có biểu hiện nghi mắc bệnh tại tỉnh Phú Thọ. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy các chủng này có mức mẫn cảm cao nhất đối với cefotaxime (67,86%), flofenicol-doxy (67,86%) và amoxicillin/clavulanic acid (60,71%). Ngược lại, tỷ lệ kháng rất cao được ghi nhận với trimethoprim/sulfamethoxazole và oxytetracycline (100%), streptomycin (96,43%), amoxicillin (92,86%), doxycycline (89,28%) và enrofloxacin (85,71%). Kết quả nghiên cứu này cho thấy nên ưu tiên sử dụng các kháng sinh mà *G. anatis* còn mẫn cảm và hạn chế sử dụng các kháng sinh mà *G. anatis* hiện có tỷ lệ kháng cao, nhằm nâng cao hiệu quả điều trị và hạn chế gia tăng tình trạng kháng thuốc của *G. anatis* trên đàn gà.

Từ khóa: *Gallibacterium anatis*, PCR, MALDI TOF MS, kháng sinh đồ.

Research on isolating and determining the antibiotic susceptibility of *Gallibacterium anatis*, a bacterium causing egg drop disease in chickens in Phu Tho province

Trương Quang Lâm, Lê Thị Trang, Vũ Thị Ánh, Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Hồng Thu, Trần Văn Nền, Đào Lê Anh

SUMMARY

Gallibacterium anatis (*G. anatis*) is an important poultry pathogen that causes significant economic losses, and no vaccine is currently available for preventing this pathogen. In this study, 28 *G. anatis* isolates were obtained from 69 clinical samples collected from chickens showing suspected infection in Phu Tho province. Antibiotic susceptibility testing revealed that the isolates were sensitive to cefotaxime (67.86%), flofenicol–doxy (67.86%), and amoxicillin/clavulanic acid (60.71%). In contrast, very high resistance rates of bacteria were observed for trimethoprim/sulfamethoxazole and oxytetracycline (100%), streptomycin (96.43%), and amoxicillin (92.86%), doxycycline (89.28%) and enrofloxacin (85.71%). These findings suggest that priority should be given to antibiotics that *G. anatis* is still susceptible to and the use of antibiotics to which *G. anatis* currently has a high resistance rate should be limited in order to enhance therapeutic efficacy and mitigate the further development of antimicrobial resistance in *G. anatis* within chicken flocks.

Keywords: *G. anatis*, PCR, MALDI-TOF MS, antibiotic susceptibility testing.