

DOI:10.22144/ctu.jsi.2018.070

BỆNH BẠI HUYẾT TRÊN VỊT DO *Riemerella anatipestifer* GÂY RA TẠI TỈNH BẾN TRE

Lý Thị Liên Khai và Nguyễn Hiền Hậu*

Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Hiền Hậu (email: haucp1985@gmail.com)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/05/2018

Ngày nhận bài sửa: 12/06/2018

Ngày duyệt đăng: 03/08/2018

Title:

Riemerella anatipestifer infection in domestic ducks in Ben Tre province

Từ khóa:

Bệnh bại huyết, Bến Tre, gene 16S rDNA, *Riemerella anatipestifer*, vịt

Keywords:

Ben Tre, duck, gene 16S rDNA, *riemerellosis*, *Riemerella anatipestifer*

ABSTRACT

The aim of the study was to determine the presence of *Riemerella anatipestifer* causing *riemerellosis* in ducks. There were 1,595/58,000 suspected *riemerellosis* ducks with 2.75%, 664/1,595 dead ducks with 41.63% at Mo Cay Nam, Mo Cay Bac and Chau Thanh districts in Ben Tre Province. In 150 suspected *riemerellosis* ducks, samples with typical symptoms were collected from heart, liver and spleen. The result showed that *R. anatipestifer* was isolated from 76/150 samples with 50.67%. The presence rates of *R. anatipestifer* in organ samples were in spleen (24.66%), liver (32.67%) and heart (36.67%). The specific gene 16S rRNA for *R. anatipestifer* causing *riemerellosis* was detected in 50/76 isolated positive samples, accounted for 65.79%. The antimicrobial susceptibility of *R. anatipestifer* was highest (100%) to tetracycline, doxycycline, flofenicol, ceftiofur, cefotaxime followed by ampicillin (67.74%), enrofloxacin (58.06%), and gentamycin (56.45%). However *R. anatipestifer* was resistant to sulfamethoxazole/trimethoprim (82.26%), streptomycin (67.75%), and erythromycin (58.06%). Especially, *R. anatipestifer* was resistant highest (100%) to spectinomycin.

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu là phát hiện vi khuẩn *Riemerella anatipestifer* gây bệnh bại huyết trên vịt. Kết quả khảo sát trên 3 huyện: Mô Cây Nam, Mô Cây Bắc và Châu Thành của tỉnh Bến Tre cho thấy, 1.595/58.000 vịt nghi bị mắc bệnh bại huyết, chiếm tỷ lệ 2,75%; 664/1.595 con vịt chết, chiếm 41,63%. Có 150 con vịt nghi nhiễm *R. anatipestifer* với các triệu chứng đặc trưng đã được thu thập gồm mẫu bệnh phẩm là tim, gan, lách. Theo kết quả phân lập, 76/150 mẫu dương tính, chiếm tỷ lệ 50,67%. Tỷ lệ hiện diện của *R. anatipestifer* trên các mẫu bệnh phẩm là lách (24,66%), gan (32,67%) và tim (36,67%). Gene 16S rDNA đặc hiệu cho *R. anatipestifer* gây bệnh được phát hiện trong 50/76 mẫu phân lập dương tính, chiếm 65,79%. Sự nhạy cảm của vi khuẩn *R. anatipestifer* với kháng sinh cao nhất (100%) với tetracycline, doxycycline, flofenicol, ceftiofur, cefotaxime, tiếp theo là ampicillin (67,74%), enrofloxacin (58,06%) và gentamycin (56,45%). Tuy nhiên, vi khuẩn *R. anatipestifer* đã đề kháng với sulfamethoxazole/trimethoprim (82,26%), streptomycin (67,75%) và erythromycin (58,06%). Đặc biệt, vi khuẩn *R. anatipestifer* đề kháng cao nhất với spectinomycin, tỷ lệ 100%.

Trích dẫn: Lý Thị Liên Khai và Nguyễn Hiền Hậu, 2018. Bệnh bại huyết trên vịt do *Riemerella anatipestifer* gây ra tại tỉnh Bến Tre. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(Số chuyên đề: Nông nghiệp): 90-97.

1 GIỚI THIỆU

Bệnh do *Riemerella anatipestifer* là một bệnh truyền nhiễm trên vịt, ngỗng, gà tây và nhiều loài gia cầm khác. Bệnh được biết đến với nhiều tên gọi khác nhau như: bệnh bại huyết trên vịt, hội chứng *anatipestifer*, bệnh bại huyết do *anatipestifer* hay bệnh viêm thanh mạc truyền nhiễm (Soman et al., 2014). Các dấu hiệu lâm sàng thường biểu hiện là ủ rũ, chảy nước mắt, nước mũi, ho, hắt hơi, vịt tiêu chảy phân màu xanh, đi đứng khó khăn, bơi chèo, queo cổ và run đầu. Một số con không có khả năng theo đàn, rối loạn vận động. Bệnh có thể gây chết vịt con từ 5 – 75% tùy theo điều kiện môi trường. Bệnh xảy ra thể cấp tính hoặc mãn tính với các bệnh tích đặc trưng như: viêm màng ngoài tim, viêm màng bao gan có fibrin, viêm túi khí và viêm màng não (Rubbenstroth et al., 2011). Theo nghiên cứu của Deif et al. (2015) ở Griza, Ai Cập, tỷ lệ bệnh bại huyết trên vịt là 16,7%.

R. anatipestifer là vi khuẩn gram âm, không di động, không bào tử, phát triển tốt trong môi trường thạch chocolate, thạch máu và tryptic soy agar (TSA). Vi khuẩn phát triển tối ưu sau 48-72 giờ khi ủ ở 37°C với 5% CO₂. Các khuẩn lạc trên môi trường thạch máu có đường kính 1 - 2 mm, lồi, tròn, trong suốt, lấp lánh (Ruiz and Sandhu., 2013). Gene 16S rRNA đã được báo cáo là gene xác định vi khuẩn *R. anatipestifer* gây bệnh bại huyết trên vịt (Hsiang et al., 2005).

Chen et al. (2012) đã nghiên cứu trên 220 chủng vi khuẩn *R. anatipestifer* phân lập được trên vịt từ năm 1999 đến năm 2009 tại Đài Loan, cho thấy hơn 50% mẫu phân lập được nhạy cảm với doxycycline (96,8%), amoxicillin-clavulanic acid (93,2%), spectinomycin (88,1%), florfenicol (84,1%), ceftiofur (79,1%), ampicillin (65,3%), erythromycin (61,3%), gentamycin (50,5%) và ofloxacin (50,5%). Gyuris et al. (2017) đã báo cáo trên 185 chủng *R. anatipestifer* phân lập được ở Hungary giữa năm 2000 và năm 2014 từ ngỗng và vịt, phần lớn vi khuẩn nhạy cảm với florfenicol (97,9%), ampicillin (95,1%), penicillin (93%), sulphamethoxazole-trimethoprim (92,4%) và spectinomycin (86,5%).

Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu về bệnh bại huyết trên vịt ở các tỉnh thuộc Đồng bằng Sông Cửu Long, đặc biệt là tỉnh Bến Tre, nơi có đàn vịt phát triển. Do đó, việc xác định bệnh bại huyết trên vịt và các kháng sinh có thể sử dụng hiệu quả là yêu cầu cấp thiết trong phòng và trị bệnh giúp tăng năng suất và lợi nhuận cho nhà chăn nuôi tại tỉnh Bến Tre. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định tỷ lệ bệnh và xác định vi khuẩn gây bệnh bại huyết trên vịt do *R. anatipestifer* gây ra qua sự hiện diện của

gene 16S rRNA và sự nhạy cảm của vi khuẩn đối với các kháng sinh, giúp nhà chăn nuôi chọn kháng sinh đúng, tăng hiệu quả trong phòng và trị bệnh bại huyết trên vịt tại tỉnh Bến Tre.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Từ tháng 08/2017 đến tháng 4/2018, bệnh phẩm là tim, gan và lách gồm 450 mẫu được lấy từ 150 con vịt bệnh bại huyết do *R. anatipestifer* (2-5 con/đàn x 15 đàn/huyện) của 3 huyện là Mô Cày Nam, Mô Cày Bắc và Châu Thành, tỉnh Bến Tre. Vịt bệnh có triệu chứng, bệnh tích đặc trưng như: ủ rũ, chảy nước mắt, nước mũi, ho, hắt hơi, vịt tiêu chảy phân xanh, đi đứng khó khăn, bơi chèo, queo cổ, run đầu, viêm túi khí có fibrin, viêm màng bao tim, viêm màng bao gan có fibrin. Mẫu được lấy từ vịt bệnh bại huyết ở mọi lứa tuổi, giống vịt và nuôi nhốt tại các hộ chăn nuôi (500-2.000 con/đàn).

Các kháng sinh đã sử dụng là 12 loại gồm: ampicillin 10 µg (Am), bactrim (trimethoprim/sulfamethoxazole) 1,25/23,75 µg (Bt), gentamycin 10 µg (Ge), tetracycline 30 µg (Te), kanamycin 30 µg (Kn), streptomycin 10 µg (Sm), erythromycin 10 µg (Er), doxycycline 30 µg (Dx) của Công ty TNHH Dịch Vụ và Thương Mại Nam Khoa sản xuất và flofenicol 30 µg (FFC), spectinomycin 10 µg (Sh), enrofloxacin 5 µg (Enr), ceftiofur 30 µg (EFT), cefotaxime 30 µg (Ct) (Oxoid Thermo scientific Co., Anh). Nguyên liệu dùng cho phản ứng PCR: primer (môi nuôi, môi ngược của gene 16S rRNA) của Integrated DNA Technologies, USA; bộ kit PCR, Go Taq® Green Master Mix, 2X (Promega, USA); thang DNA 100 bp (Gel loading buffer – Invitrogen) (Promega, USA).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp lấy mẫu

Điều tra hồi cứu tại các huyện khảo sát gồm: Mô Cày Nam, Mô Cày Bắc, Châu Thành nhằm xác định thông tin chung về nhà chăn nuôi, tổng đàn, hình thức nuôi, lứa tuổi, giống, thời gian mắc bệnh, số con bệnh, số con chết trong đàn, công tác vệ sinh, chăm sóc nuôi dưỡng, tình hình sử dụng kháng sinh và vaccine trong phòng – trị bệnh.

Mẫu được thu thập dựa theo phương pháp của Takumi et al. (2016). Mẫu bệnh phẩm gồm: tim, gan, lách có biểu hiện bệnh tích đặc trưng của *riemerellosis* được thu thập từ vịt bệnh bại huyết và cho vào túi vô trùng, bảo quản ở nhiệt độ lạnh. Tại mỗi trại chăn nuôi vịt, mẫu được lấy từ 2-5 con/đàn x 15 đàn/huyện x 3 huyện.

2.2.2 Phương pháp phân lập vi khuẩn *R. anatipestifer*

Tiến hành đông nhất mẫu bệnh phẩm: mẫu bệnh phẩm đem về phòng thí nghiệm được nghiền nhỏ trong điều kiện vô trùng, cho vào ống nghiệm có chứa 3 ml dung dịch đệm (PBS); sau đó đông nhất mẫu bằng máy vortex; cấy chuyển mẫu bệnh phẩm từ PBS lên môi trường thạch máu (BA) ủ ở 37°C trong 24 - 48hr, điều kiện yếm khí 5 % CO₂; xác định vi khuẩn dựa theo hình thái khuẩn lạc theo mô

tả của Ruiz and Sandhu. (2013) và Soman et al. (2014), . Sau đó, những khuẩn lạc điển hình của vi khuẩn *R. anatipestifer* được chọn cấy lên môi trường BA ủ ở điều kiện yếm khí ở 37°C trong 24 – 48 giờ; tiến hành định danh vi khuẩn bằng phản ứng sinh hoá dựa theo Soman et al. (2014). Các mẫu bệnh phẩm dương tính với *R. anatipestifer* được khẳng định chính xác bằng kỹ thuật PCR dựa trên gene 16S rRNA với cặp primer và chu trình nhiệt được thể hiện qua Bảng 1 và 2.

Bảng 1: Trình tự primer xác định gene 16S rRNA dùng trong phản ứng PCR

Môi	Trình tự đoạn môi (5'-3')	Kích thước phân tử (bp)	Tài liệu tham khảo
Môi xuôi	TTACCGACTGATTGCCTTCTAG	546	Soma et al., (2014)
Môi ngược	AGAGGAAGACCGAGGACATC		

Bảng 2: Chu trình nhiệt phản ứng PCR phát hiện gene 16S rRNA của *R. anatipestifer*

Giai đoạn	Nhiệt độ (°C)	Thời gian	Số chu kỳ
Tiền biến tính	95	4 phút	1
Biến tính	95	1 phút	35
Bắt cặp	55	1 phút	35
Kéo dài	72	1 phút	35
Kéo dài cuối cùng	72	7 phút	1

2.2.3 Phương pháp kiểm tra sự đề kháng của vi khuẩn *R. anatipestifer* đối với kháng sinh

Kiểm tra sự đề kháng của vi khuẩn *R. anatipestifer* đối với 12 loại kháng sinh được thực hiện dựa trên phương pháp khuếch tán trên thạch theo mô tả của Bauer et al. (1966). Đọc kết quả đường kính vòng vô khuẩn dựa trên tiêu chuẩn của viện tiêu chuẩn lâm sàng và phòng thí nghiệm (CLSI, 2015).

2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thô được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Exel 2010. Số liệu được xử lý thống kê bằng các phương pháp χ^2 bởi phần mềm Minitab 16.0, ở mức ý nghĩa được xử lý thống kê ở độ tin cậy 95% (p<0,05). Nếu giá trị kỳ vọng ≥ 5 , xử lý số liệu bằng phương pháp χ^2 , Minitab 16.0. Nếu giá trị kỳ vọng ≥ 2 và < 5 , xử lý số liệu bằng phương pháp Chi square Yates test.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bảng 3: Kết quả khảo sát tỷ lệ bệnh nghi do vi khuẩn *R. anatipestifer* trên vịt tại Mô Cày Nam, Mô Cày Bắc và Châu Thành

Huyện	Đàn	Số con khảo sát (con)	Số con bệnh (con)	Tỷ lệ bệnh (%)	Số con chết (con)	Tỷ lệ chết (số con chết/số con bệnh) (%)
Mô Cày Nam	15	20.100	804	4,00	385	47,88
Mô Cày Bắc	16	18.600	401	2,10	96	23,94
Châu Thành	15	19.300	390	2,02	183	46,92
				P = 0,000		P = 0,000
Tổng cộng	46	58.000	1.595	2,75	664	41,63

3.1 Kết quả khảo sát tỷ lệ bệnh nghi do vi khuẩn *R. anatipestifer* trên vịt tại Mô Cày Nam, Mô Cày Bắc à Châu Thành

Khảo sát 58.000 con vịt trên 46 đàn tại 3 huyện của tỉnh Bến Tre cho thấy, tỷ lệ bệnh bại huyết do *R. anatipestifer* là 2,75% (1.595/58.000 con) và tỷ lệ chết là 41,63% (664/1.595 con). Tỷ lệ bệnh cao nhất là 4% ở huyện Mô Cày Nam, tiếp theo là ở huyện Mô Cày Bắc 2,10% và thấp nhất là ở huyện Châu Thành 2,02%. Tỷ lệ chết ở vịt bệnh chiếm cao nhất là 47,88 tại huyện Mô Cày Nam, kế tiếp là tại huyện Châu Thành là 46,92% và thấp nhất là tại huyện Mô cày Bắc 23,94%. Tỷ lệ bệnh và tỷ lệ chết ở 3 huyện khác nhau là khác nhau rất có ý nghĩa thống kê (P = 0,000). Qua khảo sát thực tế, người chăn nuôi ở huyện Mô Cày Nam nhập vịt về nuôi liên tục, không có thời gian vệ sinh sát trùng và thời gian trống chuồng phù hợp. Vì vậy, vịt bị bệnh và chết có tỷ lệ cao hơn so với huyện Mô Cày Bắc và Châu Thành. Vịt nhiễm *R. anatipestifer* tại Bến Tre có tỷ lệ chết khá cao (41,63%). Priya et al. (2008) đã báo cáo vịt chết do *R. anatipestifer* gây ra tại một trang trại ở bang Kerala của Ấn Độ chiếm tỷ lệ 12,5%. Sự khác nhau này do điều kiện chăn nuôi, thức ăn, kỹ thuật chăm sóc nuôi dưỡng và tình hình dịch tễ khác nhau ở mỗi nước. Điều kiện vị trí địa lý tự nhiên của từng nước cũng góp phần tạo ra sự khác biệt và tùy thuộc thời điểm khảo sát bệnh, yếu tố thời tiết có thể gây thay đổi sức đề kháng của vật nuôi.

3.2 Kết quả phân lập vi khuẩn *Riemerella anatipestifer* gây bệnh bại huyết tại tỉnh Bến Tre

Khảo sát 150 con vịt bệnh bại huyết do *R. anatipestifer* gây ra với các triệu chứng điển hình được ghi nhận và trình bày ở bảng 4.

Bảng 4: Tần suất xuất hiện các triệu chứng của bệnh bại huyết do *R. anatipestifer* trên vịt tại 3 huyện của tỉnh Bến Tre (n=150)

Triệu chứng	Tần suất xuất hiện (con)	Tỷ lệ (%)
Triệu chứng thần kinh	101	67,33
Tiêu chảy phân xanh	97	64,67
Viêm khớp	81	54,00
Chảy nước mũi	39	26,00
Chảy nước mắt	40	26,66
Hắt hơi	30	20,00
P = 0,000		

Các triệu chứng của bệnh bại huyết do *R. anatipestifer* trên vịt xuất hiện nhiều nhất là triệu chứng thần kinh 67,33%, tiêu chảy phân xanh 64,67%, viêm khớp 54,00%, bên cạnh còn có các triệu chứng khác như: chảy dịch mũi, chảy dịch mắt, hắt hơi là 26% và sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê (P=0,000). Tần suất xuất hiện các triệu chứng khác nhau có thể là do mỗi cá thể vịt có một sức đề kháng khác nhau, nên biểu hiện những triệu chứng khác nhau tùy vào mức độ bệnh. Các triệu chứng vịt tiêu chảy phân xanh, triệu chứng thần kinh, viêm khớp đi lại khó khăn chiếm tỷ lệ cao sẽ ảnh hưởng rất lớn đến hiệu quả chăn nuôi do giảm ăn, từ đó làm giảm tăng trọng, chi phí chăn nuôi tăng cao. Theo Ruiz and Sandhu. (2013) dấu hiệu lâm sàng của bệnh bại huyết do *R. anatipestifer* thường thấy là chảy nước mắt, nước mũi, vịt tiêu chảy phân xanh, đi đứng khó khăn, quẹo cổ, run đầu. Kết quả khảo sát vịt bệnh bại huyết do *R. anatipestifer* tại Bến Tre cho thấy, vịt bệnh đã có những triệu chứng điển hình của *riemellosis* trên vịt. Le Thi Tuyet Thanh (2017) đã cho thấy các biểu hiện của vịt bệnh bại huyết gồm: tiêu chảy chiếm 58,82%, triệu chứng thần kinh là 76,47%, vịt đi lại khó khăn là 64,47% là những triệu chứng phổ biến của vịt bệnh tại Đồng Nai, Vũng Tàu, tương tự với khảo sát này trên vịt bệnh tại tỉnh Bến Tre.

Kết quả cho thấy vịt ở các lứa tuổi khác nhau đều cảm nhiễm vi khuẩn *R. anatipestifer* với tỷ lệ khác nhau từ 47,82%-52,08%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm *R. anatipestifer* trên vịt có độ tuổi >4 tuần thấp nhất (47,82%), kể đến vịt 3-4 tuần tuổi (50,63%) và cao nhất ở vịt 1-3 tuần tuổi (52,08%); Tuy nhiên, sự khác biệt này là không có ý nghĩa thống kê (P =

0,945). Điều này cho thấy, vịt có thể nhiễm *R. anatipestifer* ở 3 lứa tuổi khảo sát hay không phụ thuộc vào tuổi. Ruiz and Sandhu, (2013) đã báo cáo rằng vịt từ 1 – 8 tuần tuổi đều mắc cảm cao với mầm bệnh. Vì thế, thời gian nuôi vịt từ 1 – 7 tuần tuổi đã xuất bán tại tỉnh Bến Tre có thể là lý do không có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm bệnh giữa các lứa tuổi.

Bảng 5: Kết quả phân lập vi khuẩn *R. anatipestifer* trên vịt theo lứa tuổi tại Mỏ Cây Nam, Mỏ Cây Bắc, Châu Thành

Tuần tuổi	Số mẫu khảo sát (*)	Số mẫu dương	Tỷ lệ (%)
1 – 3	48	25	52,08
3 – 4	79	40	50,63
> 4	23	11	47,82
			P = 0,945
Tổng	150	76	50,67

(*): Mẫu khảo sát theo lứa tuổi được lấy ngẫu nhiên.

Bảng 6: Kết quả phân lập vi khuẩn *R. anatipestifer* trên vịt tại 3 huyện thuộc tỉnh Bến Tre theo nguồn nước sử dụng

Nguồn nước	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương	Tỷ lệ (%)
Nước máy	72	32	44,44
Nước giếng	26	11	42,31
Nước sông đã xử lý	52	33	63,46
			P= 0,07
Tổng	150	76	50,67

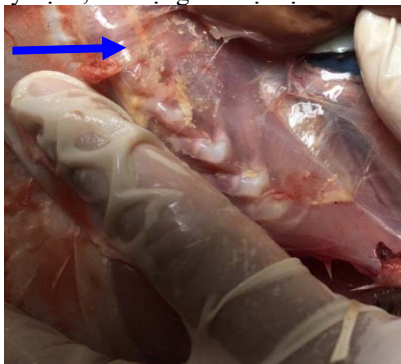
Cả ba nguồn nước sử dụng trong chăn nuôi vịt tại 3 huyện của tỉnh Bến Tre là nước máy, nước giếng và nước sông đã xử lý đều có tỷ lệ vịt bệnh do vi khuẩn *R. anatipestifer* cao. Trong đó, nước sông đã xử lý có tỷ lệ dương tính với *R. anatipestifer* cao nhất là 63,46%, kể đến nước máy chiếm 44,44% và nước giếng là 42,31%; tuy nhiên, sự khác biệt này là không có ý nghĩa thống kê (P=0,07). Nước sông đã có xử lý về cơ bản cũng tương tự như nước máy, nên tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *R. anatipestifer* ở các nguồn nước này không khác nhau, hay tỷ lệ bệnh cao ở cả 3 nguồn nước có thể vịt nhiễm bệnh từ các nguồn khác, từ môi trường vấy nhiễm vào nước. Hess *et al.* (2013) đã cho rằng mầm bệnh có trong chất tiết của dịch mũi là nguồn đã làm vấy nhiễm vi khuẩn vào thức ăn, nước uống và lây lan bệnh qua đường tiêu hoá. Tỷ lệ bệnh bại huyết trên vịt tại Bến Tre cao ở cả 3 nguồn nước sử dụng có thể giải thích là do nguồn thức ăn, nước uống vấy nhiễm từ con vịt bệnh tại trại, mầm bệnh có thể lây lan từ các trại vịt bệnh này sang trại khác qua các nguồn thức ăn, nước uống nhiễm, sau đó lan truyền qua chất thải của trại đã thải vào các kênh rạch, theo nguồn nước đến các trại khác.

Bảng 7: Tần suất xuất hiện các bệnh tích của bệnh bại huyết do *R. anatispestifer* trên vịt tại 3 huyện Mỏ Cày Nam, Mỏ Cày Bắc, Châu Thành thuộc tỉnh Bến Tre (n=150)

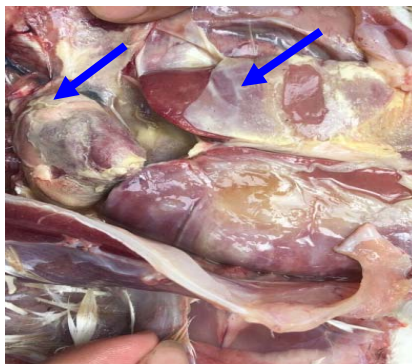
Bệnh tích	Tần suất xuất hiện (con)	Tỷ lệ (%)	Tần suất xuất hiện qua xét nghiệm (con)	Tỷ lệ (%)
Viêm túi khí có fibrin	136	90,67	49	32,67
Viêm màng bao tim có fibrin	107	71,33	47	31,33
Viêm màng bao gan có fibrin	105	70,00	43	28,67
Lách xuất huyết hình đá hoa cương	82	54,67	40	26,67
		P = 0,003		P = 0,670

Những con vịt bệnh do *R. anatispestifer* gây ra tại Bến Tre khi mổ khám (n=150) đều có biểu hiện bệnh tích đặc trưng như: viêm túi khí có fibrin (Hình 1) với tần suất xuất hiện cao nhất là 90,67%, viêm màng bao tim có fibrin là 71,33%, viêm màng bao gan có fibrin là 70% (Hình 2) và thấp nhất là lách xuất huyết hình đá hoa cương chiếm 54,67% (Hình 3). Sự khác biệt về tần suất xuất hiện của các bệnh tích trên vịt bệnh bại huyết là rất có ý nghĩa thống kê (P=0,003). Nguyên nhân có thể là do thời gian tiến triển của bệnh do *R. anatispestifer* xâm nhập vào các cơ quan tổ chức khác nhau sẽ gây ra các bệnh tích khác nhau. Do đó, tùy vào mức độ sản sinh các yếu tố gây bệnh, thể trạng của vịt bệnh mà các bệnh

tích cũng như trạng thái bệnh ở các mức độ khác nhau. Craig *et al.* (2005) đã nêu rằng bệnh tích viêm màng bao tim và màng bao gan có fibrin là bệnh tích đặc trưng của *riemerellosis* trên vịt tại Mỹ. Dougherty *et al.* (1955) đã nhận định là bệnh do *R. anatispestifer* có các bệnh tích đặc trưng như: túi khí viêm, bao tim dày và trắng đục, trên màng bao gan có phủ một lớp trắng đục, viêm khớp mãn tính, lách sưng lớn đậm nhạt màu. Le Thi Tuyen Thanh (2017) nghiên cứu trên vịt bệnh bại huyết tại Đồng Nai đã cho thấy tỷ lệ viêm màng bao tim và màng bao gan là 76,47% cũng gần tương đương với kết quả nghiên cứu này.



Hình 1: Viêm túi khí có fibrin



Hình 2: Viêm màng bao gan và màng bao tim



Hình 3: Lách xuất huyết hình đá hoa cương

Kết quả khi thực hiện phản ứng PCR dựa gene 16S rRNA để xác định vi khuẩn *R. anatispestifer* cho tỷ lệ thấp hơn so với tỷ lệ ghi nhận khi mổ khám, tần

suất xuất hiện cao nhất bệnh tích viêm túi khí có fibrin 32,67%, viêm màng bao tim có fibrin là 31,33%, viêm màng bao gan có fibrin là 28,67% và thấp nhất lách xuất huyết hình đá hoa cương chiếm

26,67%. Kardos *et al.* (2007) chứng minh phản ứng PCR dựa vào gene 16S rRNA có khả năng xác định chính xác vi khuẩn *R. anatispestifer*, giúp phân biệt giữa *R. anatispestifer* và *P. multocida*. Soman *et al.* (2014) cũng chứng minh bệnh bại huyết do *R. anatispestifer* gây ra trên vịt cần phải được khẳng định chính xác bằng phản ứng PCR.

Bảng 8: Tỷ lệ phân lập vi khuẩn *R. anatispestifer* trên các mẫu bệnh phẩm

Bệnh phẩm	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương	Tỷ lệ (%)
Tim	150	55	36,67
Gan	150	49	32,67
Lách	150	37	24,66
			P = 0,074

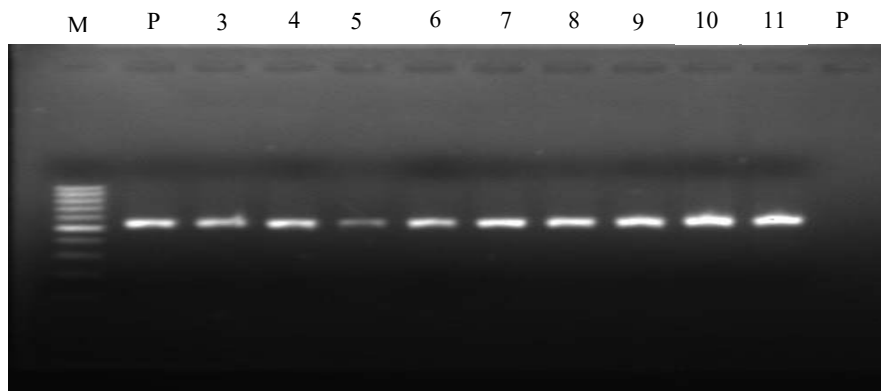
Vi khuẩn *R. anatispestifer* đã phân lập được trên tim chiếm tỷ lệ cao nhất là 36,67%, tiếp đến là gan 32,67% và thấp nhất là lách chiếm 24,66%. Tuy nhiên, sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *R. anatispestifer* ở các loại bệnh phẩm là khác nhau không có ý nghĩa thống kê (P = 0.074). Khi gây nhiễm cho vịt bằng 4 phương pháp khác nhau là tiêm truyền tĩnh mạch, tiêm dưới da, đường uống và đường hô hấp, tỷ lệ nhiễm trên các cơ quan nội tạng lần lượt là gan 27%, tim 25% và lách 15% (Sarver *et al.*, 2005). Theo Soman *et al.* (2014), bệnh do *R. anatispestifer* gây ra trên vịt là bệnh nhiễm trùng huyết trên vịt hoặc bại huyết trên vịt. Vi khuẩn sau khi xâm nhập đã đi vào máu đến các cơ quan nội tạng gây ra các bệnh tích đặc trưng. Điều này đã giải thích cho tỷ lệ phân lập *R. anatispestifer* trên các mẫu bệnh phẩm khác nhau như: tim, gan, lách của vịt bệnh tại tỉnh Bến Tre là tương đương nhau.

Bảng 9: Kết quả định danh xác định *R. anatispestifer* gây bệnh bại huyết trên vịt tỉnh Bến tre dựa vào gene 16S rRNA

Huyện	Số mẫu khảo sát	Số mẫu phân tích	Số mẫu dương	Tỷ lệ (%)
Mỏ Cà Nam		52	27	70,37
Mỏ Cà Bắc		50	25	64,00
Châu Thành		48	24	62,50
				P = 0,818
Tổng cộng	150	76	50	65,79

Có 50/76 mẫu phân lập là dương tính với gene 16S rRNA, chiếm tỷ lệ 65,79% (Hình 4). Trong đó, huyện Mỏ Cà Nam có tỷ lệ hiện diện gene 16S rRNA là cao nhất, chiếm 70,37%, kế đến huyện Mỏ Cà Bắc với tỷ lệ 64% và thấp nhất là huyện Châu Thành là 62,50%. Tuy nhiên, sự khác biệt này là không có ý nghĩa thống kê (p = 0.818). Kết quả này tương tự với báo cáo của May *et al.* (2017), sự bùng

phát dịch bệnh bại huyết ở các trang trại vịt tại miền nam Đài Loan, gene 16S rRNA đã phát hiện được trên 19/27 mẫu, chiếm tỷ lệ 70,37%. Hsiang *et al.* (2005) đã khẳng định là 16S rRNA là gene để xác định vi khuẩn *R. anatispestifer*, dùng chẩn đoán phân biệt, xác định bệnh bại huyết. Điều này khẳng định bệnh bại huyết trên vịt tại tỉnh Bến Tre là do *R. anatispestifer* gây ra, với những triệu chứng và bệnh tích đặc trưng của bệnh



Hình 4: Sản phẩm PCR gene 16S rRNA của vi khuẩn *R. anatispestifer* sau quá trình điện di

(Giếng 1 Marker (1000 bp); Giếng 2: đối chứng dương; Giếng 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11: dương tính; Giếng 12: đối chứng âm)

3.3 Kết quả kiểm tra sự nhạy cảm của *Riemerella anatipestifer* phân lập được đối với các loại kháng sinh

Tiến hành kiểm tra tính nhạy cảm của 62 chủng vi khuẩn *R. anatipestifer* phân lập được với 12 loại kháng sinh, kết quả được thể hiện qua Bảng 10.

Vi khuẩn *R. anatipestifer* phân lập được trên vịt bệnh ại tỉnh Bến Tre nhạy cảm với 11/12 loại kháng sinh, chiếm tỷ lệ từ 17,74% - 100%. Vi khuẩn nhạy cảm cao nhất với tetracycline, doxycycline, flofenicol, ceftiofur, cefotaxime (100%). *R. anatipestifer* nhạy cảm vừa với ampicillin (67,74%), nhạy cảm trung bình với enrofloxacin là 58,06% và gentamycin là 56,45%. Tuy nhiên, vi khuẩn *R. anatipestifer* đã đề kháng 7/10 loại kháng sinh kiểm tra trong đó, đã kháng cao với spectinomycin, chiếm 100%, tiếp đến sufamethoxazole/trimethoprim là 82,26%, streptomycin là 67,75%, erythromycin

là 58,06%. Qua khảo sát thực tế tại Bến Tre, các loại kháng sinh như: doxycycline, flofenicol, ceftiofur, cefotaxime là những kháng sinh còn mới ít được sử dụng tại tỉnh Bến Tre nên vi khuẩn vẫn nhạy cảm cao. Các kháng sinh như: spectinomycin, sufamethoxazole/trimethoprim streptomycin, erythromycin là các loại thuốc thường xuyên được sử dụng để điều trị bệnh do *R. anatipestifer* gây ra trên vịt cũng như các bệnh nhiễm khuẩn khác tại các trại vịt tỉnh Bến Tre vì vậy, đã tạo nên sự kháng thuốc và điều này đã gây khó khăn cho công tác điều trị. Le Thi Tuyet Thanh *et al.* (2017) đã chỉ ra rằng vi khuẩn *R. anatipestifer* nhạy cảm cao với ampicillin (80%), amoxicillin và trimethoprim (70%), nhạy cảm vừa với tetracycline và doxycycline (60%). Vi khuẩn đề kháng cao với kháng sinh gentamycin (95%), sufamethoxazole/trimethoprim (95%) và streptomycin (90%).

Bảng 10: Kết quả kiểm tra sự nhạy cảm của *R. anatipestifer* phân lập được đối với các loại kháng sinh (n=62)

STT	Kháng sinh	Hàm lượng (µg)	Ký hiệu	Sự nhạy và kháng của vi khuẩn <i>R. Anatipestifer</i>			
				Nhạy (*)		Kháng (*)	
				Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
1	Ampicillin	10	Am	42	67,74	20	32,26
2	Gentamycin	10	Ge	35	56,45	27	43,55
3	Streptomycin	10	Sm	20	32,25	42	67,75
4	Tetracycline	30	Te	62	100,00	0	0,00
5	Doxycycline	30	Dx	62	100,00	0	0,00
6	Erythromycin	10	Er	26	41,94	36	58,06
7	Sulphamethoxazole/Trimethoprim	23.75/1.25	Bt	11	17,74	51	82,26
8	Spectinomycin	10	Sh	0	0,00	62	100,00
9	Enrofloxacin	5	Enr	36	58,06	26	41,93
10	Flofenicol	30	FFC	62	100,00	0	0,00
11	Ceftiofur	30	EFT	62	100,00	0	0,00
12	Cefotaxime	30	Ct	62	100,00	0	0,00

* Tiêu chuẩn xếp loại độ mẫn cảm của *Riemerella anatipestifer* theo tiêu chuẩn CLSI (2015)

4 KẾT LUẬN

Bệnh bại huyết trên vịt do *R. anatipestifer* gây ra tại tỉnh Bến Tre có tỷ lệ bệnh thấp (2,75%), đã gây chết vịt ở tỷ lệ cao (41,63%). Vịt bệnh bại huyết do vi khuẩn *R. anatipestifer* gây ra có hiện diện gene 16S rRNA với các triệu chứng và bệnh tích đặc trưng như: triệu chứng thần kinh, tiêu chảy phân xanh, viêm khớp, chảy nước mắt và mũi, viêm màng bao tim, viêm màng bao gan có fibrin và viêm túi khí có xuất tiết fibrin. Bệnh xảy ra ở mọi lứa tuổi, vi khuẩn hiện diện trên các bệnh phẩm là tim, gan, lách. Vi khuẩn *R. anatipestifer* nhạy cảm cao với các loại kháng sinh mới như doxycycline, flofenicol,

ceftiofur và cefotaxime, đồng thời đã kháng với spectinomycin, sufamethoxazole/trimethoprim streptomycin, erythromycin. Đây là báo cáo đầu tiên về bệnh bại huyết trên vịt do *R. anatipestifer* gây ra tại tỉnh Bến Tre.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Baur, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turch, M. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. American Journal of Clinical Pathology, 45(4) 493 – 496.
 Chen, Y.P., Lee, S.H., Pan, M.J., Chen, C.L., Shien, Chang, T.C., Tsai, H.J. 2012. Antimicrobial

- Susceptibility of *Riemerella anatipestifer* Isolates from Ducks and Geese and the Mutations of Gyrase Associated with Quinolone Resistance. Taiwan VetJ 38(1): 7-18.
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. Third edition. CLSI document VET01S. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Sarver, C.F., Morishita, T.Y. and Bedros. 2005. The Effect of Route of Inoculation and Challenge Dosage on *Riemerella anatipestifer* Infection in Pekin Ducks (*Anas platyrhynchos*) Author(s): Nersessian Source: Avian Diseases, Vol. 49, No. 1: 104 - 107
- Dougherty 3rd, E., Saunders, L.Z. and Parsons, Jr, E. H. 1955. The pathology of infectious serositis of ducks. . The American Journal of Pathology, 31(3), 475 .
- Gyuris, E., Wehmann, E., Czeibert, K. and Magyar, T. 2017. Antimicrobial Susceptibility of *Riemerella anatipestifer* Strains Isolated from geese and ducks in Hungary. Acta Veterinaria Hungarica. 65(2): 153–165 (2017) DOI: 10.1556/004.2017.016
- Kardos, G., Nagy, J., Antal, M., Bistya/ k.A., Tenk. M. and Kiss. I. 2007. Development of a novel PCR assay specific for *Riemerella Anatipestifer*. Letters in Applied Microbiology ISSN 0266-8254
- Deif, H.N., Samir, A., Mohamed, Kh.F. and Jakee, J.E. 2015. Identification of Duck Septicemia in Egypt. Global Veterinaria 15(4): 397-400, 2015 ISSN 1992-6197.
- Hess. C., Enichlmayr. H., Jandreski-Cvetkovic. D., Liebhart. D., Bilic. I. and Hess. M. 2013. *Riemerella anatipestifer* outbreaks in commercial goose flocks and identification of isolates by MALDI-TOF mass spectrometry. Avian Pathology, 42:2, pp 151-156, DOI:10.1080/03079457.2013.775401.
- Hsiang-Jung Tsai, Yu-Tsung LIU, Chun-Shein Tseng and Ming-Jeng Pan. 2005. Genetic variation of the ompA and 16S rRNA genes of *Riemerella anatipestifer* Avian Pathology (February 2005) 34(1), 55_/64. DOI: 10.1080/03079450400025471.
- Ruiz, J.A ang Sandhu, T.S. 2013. *Riemerella anatipestifer* Infection. Trong: David E. Swayne Disease of poultry 13th, 2013.. Wiley-Blackwell, Ames, IA,UK, pp. 823 - 828.
- Le Thi Tuyet Thanh, 2017. The Presenece of pathogen in ducks submitted at Veterinary Hospital of Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine. Graduate project report. Nong Lam University; Ho Chi Minh City.
- Soman. M., Nair, S.R., Mini, Mani, B.K. and Joseph, S. 2014. Isolation and polymerase chain reaction-based identification of *Riemerella anatipestifer* from ducks in Kerala, India. Veterinary World, EISSN: 2231-0916
- Phonvisay, M., Liou, J.J., Cheng, L.T., Chen, P.C., Wu, H.C., Liu, C.H., Lee, J.W. and Chu, C.Y. 2017. Survey of a *Riemerella anatipestifer* outbreak in Southern Taiwan ducks farm. Taiwan Veterinary Journal, Vol. 43, No. 2 (2017) 1–6.
- Priya, P.M., Pillai, D.S., Balusamy, C., Rameshkumar, P. and Senthamilselvan, P. 2008. Studies on Outbreak of “New Duck Disease” in Kerala, India. International Journal of Poultry Scienc.e 7(2): 189-190.
- Rubbenstroth, D., Hotzel, D., Knobloch, J., Teske, L., Rautenschlein, S. and Ryll, M. 2011. Isolation and characterization of atypical *Riemerella columbina* strains from pigeons and their differentiation from *Riemerella anatipestifer*. Vet Microbiol. 147:103–112.
- Takumi, C., Haru, U., Shintaro, F., Ken, T., Yoshihisa, S., Kaori, H. And Yu, Y. 2016. *Riemerella anatipestifer* infection in domestic ducks in Japan, 2014. J. Vet. Med. Sci. 78(10): 1635–1638, 2016.