

XÁC ĐỊNH LOÀI, KIỂU GIÁP MÔ VÀ CÁC YẾU TỐ ĐỘC LỰC CỦA VI KHUẨN *Pasteurella multocida* PHÂN LẬP TỪ LỢN

Vũ Khắc Hùng¹, Trịnh Thị Thu Hằng¹,
Trần Xuân Hạnh², Nguyễn Thị Thu Giang¹, Nguyễn Thị Thịnh¹

TÓM TẮT

Áp dụng phản ứng PCR để xác định loài, các gen quy định sinh tổng hợp giáp mô và các yếu tố độc lực của 83 chủng vi khuẩn *Pasteurella multocida* phân lập từ lợn tại Việt Nam. Kết quả cho thấy, bằng cặp mồi đặc hiệu KMT1 tất cả 83 chủng đều cho phản ứng dương tính, chứng tỏ tất cả 83 chủng đều chính xác là *P. multocida*. Trong số đó, 40 (48,6%) chủng thuộc type A, 24 (28,9%) chủng thuộc type D, và 19 (23,81%) chủng thuộc type B. Không có chủng nào thuộc type E hay type F. Sự có mặt của các gene độc lực của vi khuẩn *P. multocida* cũng được khảo sát bằng kỹ thuật PCR, bao gồm kháng nguyên bám dính (*ptfA* - 93,97%, *pftA* - 93,97%, *fimA* - 90,36%), nhóm thu nhận sắt (*exbB* - 100%, *exbD* - 85,22%), hyaluronidase (*pmHAS* - 84,33%), nhóm protein màng ngoài (*ompA* - 56,62%, *ompH* - 68,67%, *oma87* - 100%). Tỷ lệ gene mã hóa độc tố PMT (*toxA*) được tìm thấy ở 16/83 (19%) chủng. Có sự liên quan chặt chẽ giữa một số yếu tố độc lực và serogroup đặc trưng, tất cả các chủng thuộc type A đều mang gen *pmHAS*, trong khi đó đa số các chủng thuộc type D đều mang gen độc tố PMT (*toxA*).

Từ khóa: *Pasteurella multocida*, giáp mô, yếu tố độc lực, PMT, *toxA*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) là nguyên nhân chính gây bệnh viêm phổi và viêm teo mũi ở lợn. Cho đến nay, người ta đã xác định được kháng nguyên của *P. multocida* có 3 loại là: Kháng nguyên vỏ K, kháng nguyên thân O và kháng nguyên ngoại tế bào OMP (outer membrane protein). Dựa vào đặc điểm cấu trúc kháng nguyên vỏ K (sử dụng phản ứng ngưng kết hồng cầu), vi khuẩn *P. multocida* được chia thành 5 nhóm: A, B, D, E và F. Nếu dựa vào đặc điểm của kháng nguyên O (kháng nguyên liên kết LPS - nội độc tố lipopolysaccharide), *P. multocida* được chia thành 16 serotype. Các chủng *P. multocida* gây bệnh thường thuộc type A, B và D [1].

P. multocida có genome là ADN dạng vòng dài khoảng 2,3 Mbp, trong đó có tổng cộng 104 gene liên quan đến sinh tổng hợp các yếu tố độc lực, chiếm khoảng 7% trên tổng vùng gene mã hóa [2]. Một số gen độc lực đã được công bố như *plpB* mã hóa cho lipoprotein B, *plpE* mã hóa cho lipoprotein E [3], *OmpA* mã hóa cho protein màng ngoài A [4], *OmpH*

mã hóa cho protein màng ngoài H [5], *toxA* mã hóa cho *Pasteurella multocida* toxin (PMT) [6]. Để hiểu rõ hơn vai trò gây bệnh của vi khuẩn *P. multocida* trên lợn, đã tiến hành xác định các kiểu giáp mô và các yếu tố độc lực của các chủng phân lập được.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng vi khuẩn: 83 chủng vi khuẩn *P. multocida* được cung cấp bởi các Chi cục Thú y vùng, Trung tâm Chẩn đoán Thú y Trung ương, Công ty Cổ phần Thuốc thú y Trung ương (NAVETCO). Các chủng giống hiện tại được lưu giữ trong glycerol 30% và bảo quản ở -80°C tại Phân viện Thú y miền Trung.

Môi trường hóa chất nuôi cấy vi khuẩn: BHI (Brain Heart Infusion) và BHI agar bổ sung 10% máu thỏ nuôi cấy vi khuẩn *P. multocida*.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết tách ADN tổng số của các chủng vi khuẩn *Pasteurella multocida*

Tất cả các chủng được nuôi cấy trong môi trường BHI ở 37°C, trong 18 giờ. Sinh khối vi khuẩn của 5 ml dịch nuôi được sử dụng để tách chiết ADN bằng bộ kit QIAamp ADN Mini (Qiagen) theo quy trình của nhà sản xuất.

¹ Bộ môn Công nghệ sinh học, Phân viện Thú y miền Trung

² Công ty Cổ phần Thuốc thú y Trung ương (NAVETCO)

Email: vukhac68@hotmail.com

2.2.2. Xác định loài và định tuýp chủng *P. multocida*

ADN tổng số của các chủng được sử dụng cho các phản ứng PCR để kiểm tra tên loài với cặp mồi đặc hiệu KMT1F/R và xác định kiểu giáp mô của chủng với các cặp mồi trình bày ở bảng 1.

2.2.3. Khảo sát các gene độc lực của các chủng vi khuẩn *P. multocida*

10 gene liên quan đến độc lực của vi khuẩn *P. multocida* đã được kiểm tra bằng phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu

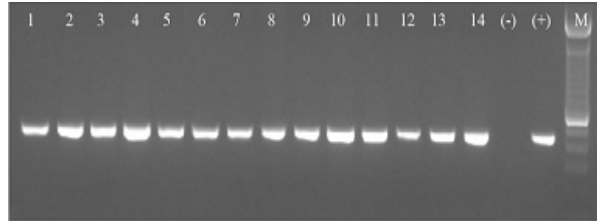
Gen	Chức năng	Trình tự mồi	Kích thước (bp)	Tham khảo
<i>pfhA</i>	Ngưng kết hồng cầu	TTCAGAGGGATCAATCTTCG AACTCCAGT TGGTTTGTGCG	286	[7]
<i>ptfA</i>	Bám dính	TGTGGAATTCAGCATTTTAGTGTGTC TCATGAATTCTTATGCGCAAAATCCTGCTGG	468	[7]
<i>fimA</i>	Bám dính	CCATCGGATCTAAACGACCTA AGTATTAGTTCCTGCGGGTG	866	[7]
<i>exbB</i>	Hấp thu sắt	TTGGCTTGTGATTGAACGC TGCAGGAATGGCGACTAA A	283	[7]
<i>exbD</i>	Hấp thu sắt	CGTTCTGATTACAGCCTCTT AACGAAATCTTGGAAGTGG	247	[7]
<i>pmHAS</i>	Hyaluronidase	TCAATGTTTGCAGATAGTCCGTTAG TGGCGAATGATCGGTGATAGA	430	[7]
<i>ompA</i>	Protectins	CGCATAGCACTCAAGTTTCTCC CATAAACAGATTGACCGAAACG	201	[7]
<i>ompH</i>	Protectins	CGCGTATGAAGGTTTAGGT TTAGATTGTGCGTAGTCAAC	438	[7]
<i>oma87</i>	Protectins	GGCAGCGAGCAACAGATAACG TGTTTCGTCAAATGTCGGGTGA	838	[7]
<i>toxA</i>	Độc tố	CTTAGATGAGCGACAAGG GAATGCCACACCTCTATAG	864	[8]
<i>KMT1</i>	Nhận biết <i>P. multocida</i>	ATCCGCTATTTACCCAGTGG GCTGTAAACGAACTCGCCAC	457	[9]
<i>hyaD-hyaC</i>	Serogroup A cap	GATGCCAAAATCGCAGTCAG TGTTGCCATCATTGTCAGTG	1044	[10]
<i>bcbD</i>	Serogroup B cap	CATTTATCCAAGCTCCACC GCCCGAGAGTTTCAATCC	760	[10]
<i>dcbF</i>	Serogroup D cap	TTACAAAAGAAAGACTAGGAGCCC CATCTACCCACTCAACCATATCAG	657	[10]
<i>ecbJ</i>	Serogroup E cap	TCCGCAGAAAATTATTGACTC GCTTGCTGCTTGATTTTGTGTC	511	[10]
<i>fc bD</i>	Serogroup F cap	AATCGGAGAACGCAGAAATCAG TTCCGCCGTCAATTACTCTG	851	[10]

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định chủng và kiểu giáp mô bằng phương pháp PCR

83 chủng phân lập đã được kiểm tra bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu loài (KMT1F/R) của vi khuẩn *P. multocida*. Kết quả cho thấy tất cả các chủng được kiểm tra đều cho phản ứng dương tính, chứng tỏ

83 chủng đều là *P. multocida*. Trong số đó, 40 (48,19%) chủng thuộc type A, 24 (28,91%) chủng thuộc type D và 19 (22,9%) chủng thuộc type B (Bảng 2). Không có chủng nào thuộc type E hay type F.

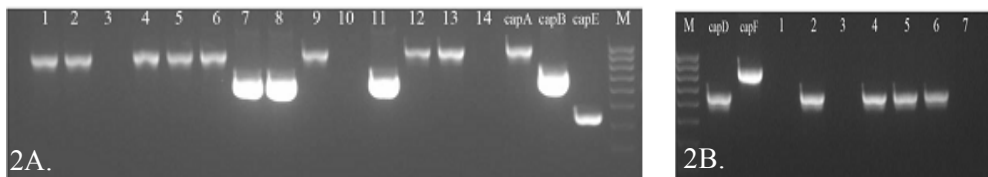


Hình 1. Kết quả (đại diện) điện di sản phẩm phản ứng PCR xác định loài các chủng *P. multocida*

Giếng 1-14: Mẫu, (+): Đối chứng dương, (-): Đối chứng âm, M: Thang chuẩn ADN (100 bp).

Tụ huyết trùng là một bệnh phổ biến xảy ra ở lợn với các dạng capsule type và thể bệnh lý liên quan đường hô hấp. Tuy nhiên, sự phân bố của các kiểu giáp mô và thể bệnh lý có sự thay đổi đáng kể từ vùng này sang vùng khác và theo thời điểm khác nhau trong một khu vực nhất định [7, 8]. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ *P. multocida* type A (48,19%) chiếm tỷ lệ cao hơn so với nhóm type D (28,91%). Kết quả tương tự đã được báo cáo bởi Liu và cộng sự

(2017) ở Trung Quốc (49,3% so với 47,6%) [8], Devi và cộng sự ở Ấn Độ (2018) (66,66% so với 33,33%) [11], Davies và cộng sự (2003) ở Anh và xứ Wales (74% so với 22%) [12]. Ngược lại, ở Đức [13] và Malaysia [14] tỷ lệ lưu hành của các chủng type D cao hơn so với type A. Nhóm type B không có hoặc ít được tìm thấy ở các chủng *Pasteurella multocida* phân lập từ lợn ở Anh và xứ Wales [12], Đức [15], Trung Quốc [7, 8] và kiểu giáp mô này chủ yếu liên quan đến các chủng phân lập từ trâu bò [13]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, đã tìm thấy 23,81% trong số 83 chủng phân lập được thuộc nhóm type B (Bảng 2). Ở Việt Nam, việc nuôi chung nhiều loại động vật khác nhau bao gồm cả gia súc (trâu, bò, lợn v.v), gia cầm và sử dụng đất chăn thả chung có thể dẫn đến sự lây lan bệnh cho tất cả các loài vật chủ. Hơn nữa, trong một nghiên cứu trước đây, Townsend và cộng sự (1998) [9] đã chỉ ra rằng sự xuất hiện của bệnh nhiễm trùng huyết cấp ở lợn là do nhiễm trùng huyết xuất huyết liên quan đến các chủng *P. multocida* type B, giống với kiểu gene gây ra bệnh nhiễm trùng huyết xuất huyết ở trâu bò ở miền Nam Việt Nam.



Hình 2. Kết quả (đại diện) phản ứng multiplex PCR xác định kiểu giáp mô của các chủng *P. multocida*

Giếng 1-14 (2A) và 1-8 (2B): mẫu, capA: Đối chứng dương chuẩn type A, capB: Đối chứng dương chuẩn type B, capE: Đối chứng dương chuẩn type E, capD: Đối chứng dương chuẩn type D, capF: Đối chứng dương chuẩn type F, M: Thang chuẩn ADN (100 bp).

3.2. Kết quả khảo sát các gene độc lực

Sự có mặt của các gene độc lực của vi khuẩn *P. multocida* cũng được khảo sát bằng kỹ thuật PCR. Kết quả thể hiện ở bảng 2 cho thấy hơn 90,36% chủng mang gene *fimA*, *pflA* (93,97%) và *ptfA* (93,97%). Trong số các gene liên quan đến hấp thụ sắt, *exbB* được phát hiện ở cả 83 (100%) chủng, nhưng chỉ có 71/83 chủng (85,54%) mang gene *exbD*. Những gene mã hóa các protein màng ngoài bao gồm *ompA*, *ompH* và *oma87* đã được phát hiện lần lượt ở 56,62%, 68,67% và 100% chủng *P. multocida*. Gene *pmHAS* đã được xác định dương tính ở 84,33% chủng. Gene mã hóa độc tố PMT (*tox4*) được tìm thấy ở 16/83 (19,28%) chủng.

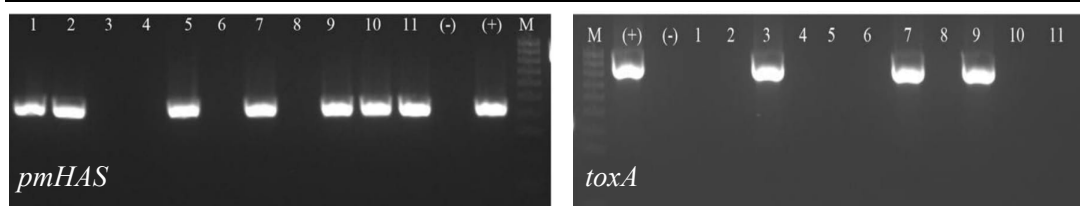
Mặc dù sự phân bố của phần lớn các gene độc lực là tương tự giữa các nhóm giáp mô, vẫn có một số gene thể hiện sự tương quan chặt chẽ với nhóm giáp mô đặc trưng. Đó là trường hợp của gene *pmHAS* phân bố chủ yếu ở các chủng *P. multocida* type A. Trong nghiên cứu này, đã nhận thấy rằng tất cả các chủng phân lập thuộc nhóm type A đều mang gen *pmHAS*, trong khi chỉ có 33,33% nhóm type D và 30% nhóm type B biểu hiện gene này. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây [7, 16], cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa gene *pmHAS* với nhóm type A, mà không phải là nhóm type D. Một nghiên cứu đã chỉ ra rằng gene *tox4*, mã hóa cho độc tố PMT, có mối tương quan chặt chẽ với nhóm type

D. Độc tố này gây ra sự tiêu hủy xương cuống mũi ở heo, đóng vai trò chính trong bệnh lý viêm teo mũi truyền nhiễm ở lợn [12]. Trong nghiên cứu này, đã thấy rằng tất cả các chủng type D đều mang gene

toxA. Tương tự, mối tương quan chặt chẽ giữa gen *toxA* với các chủng *P. multocida* type D phân lập từ lợn đã được báo cáo ở Brazil [16], Trung Quốc [7] và Đức [13].

Bảng 2. Kết quả khảo sát các gene độc lực của 83 chủng *P. multocida* ở Việt Nam

Nhóm gene	Genes	Số chủng (%) dương tính với các gene khảo sát (n = 83)
Gene quy định kiểu giáp mô	<i>hyaD-hyaC (capA)</i>	40 (48,19%)
	<i>bcbD (capB)</i>	19 (22,35%)
	<i>dcbF (capD)</i>	24 (28,91%)
	<i>echJ (capE)</i>	0 (0%)
	<i>fcfD (capF)</i>	0 (0%)
Yếu tố bám dính	<i>fimA</i>	75 (90,36%)
	<i>pflA</i>	78 (93,93%)
	<i>ptfA</i>	78 (93,97%)
Các gene liên quan hấp thụ sắt	<i>exbB</i>	83 (100%)
	<i>exbD</i>	71 (85,54%)
Protein màng ngoài	<i>ompA</i>	47 (56,62%)
	<i>ompH</i>	57 (68,67%)
	<i>Oma87</i>	83 (100%)
Hyaluronic acid synthetase	<i>pmHAS</i>	70 (84,33%)
Dermonecrotic toxin	<i>toxA</i>	16 (19,28%)



Hình 3. Kết quả (đại diện) kiểm tra gene mã hóa *pmHAS* và *toxA* bằng phản ứng PCR của các chủng *P. multocida*

M: Thang chuẩn ADN (100bp); (-): Đối chứng âm; (+): Đối chứng dương; 1-11: mẫu.

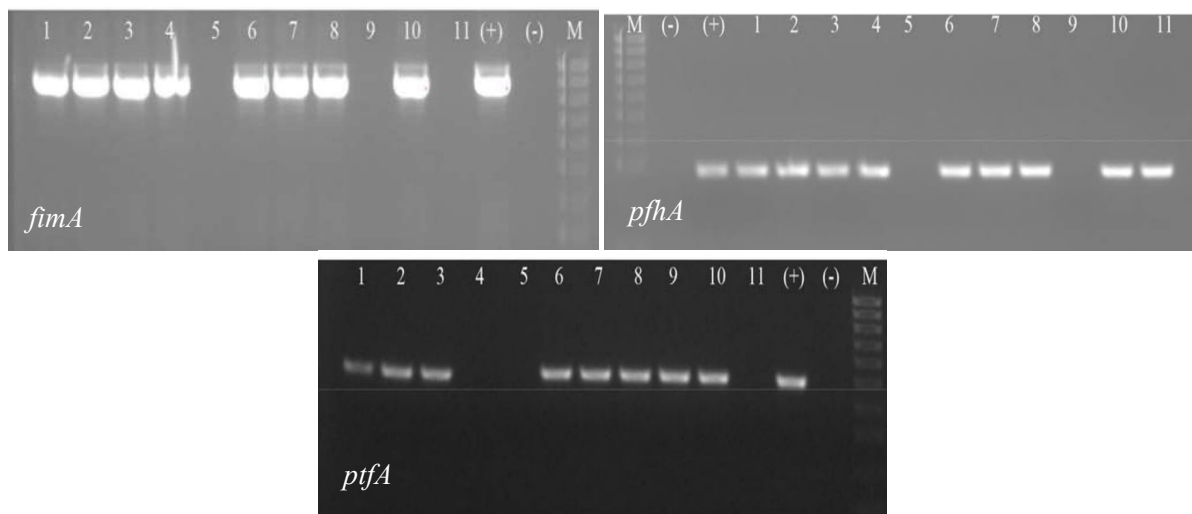
Điều kiện tiên quyết cho sự xâm nhập của tác nhân gây bệnh đó là chúng phải bám được vào tế bào vật chủ, vì thế, các yếu tố bám dính được coi là một trong những yếu tố độc lực tiềm năng của vi khuẩn [17, 18]. Trong nghiên cứu này, một tỷ lệ cao của các gene liên quan đến sự bám dính như *fimA*, *pflA* và *ptfA* đã được phát hiện ở các chủng *P. multocida* phân lập ở Việt Nam, cho thấy rằng có nhiều protein cùng đóng những vai trò nhất định trong quá trình bám dính lên tế bào vật chủ hoặc chúng cần thiết cho những giai đoạn khác nhau của quá trình xâm nhập của vi khuẩn này. Yếu tố ngưng kết hồng cầu dạng sợi được mã hóa bởi gen *pflA* đóng một vai trò quan trọng trong quá trình xâm nhập ban đầu vào đường hô hấp trên và tỉ lệ của gene này thay đổi rất lớn giữa

các chủng *P. multocida*. Gene này đã được ghi nhận là một gene chỉ thị dịch tễ quan trọng để phát hiện bệnh ở gia súc, lợn và cừu [13]. Điều đáng ngạc nhiên là đã tìm thấy một tỷ lệ rất cao của gen *pflA* (83,33%) ở bất kì các nhóm giáp mô nào của *P. multocida*. Những phát hiện tương tự cũng đã được báo cáo bởi các nghiên cứu trước đây của Furian và cs. (2016) tại Brazil [16]; Sarangi và cs. (2015) tại Ấn Độ [18].

Khả năng thu nhận sắt của các tác nhân gây bệnh là một đặc tính quan trọng trong quá trình xâm nhiễm [19]. Tỷ lệ dương tính cao của 2 gene *exbB* và *exbD* mã hóa cho protein tham gia vào quá trình hấp thụ sắt đã được báo cáo ở các chủng *P. multocida* phân lập từ lợn ở Trung Quốc [7] và Brazil [16]. Các

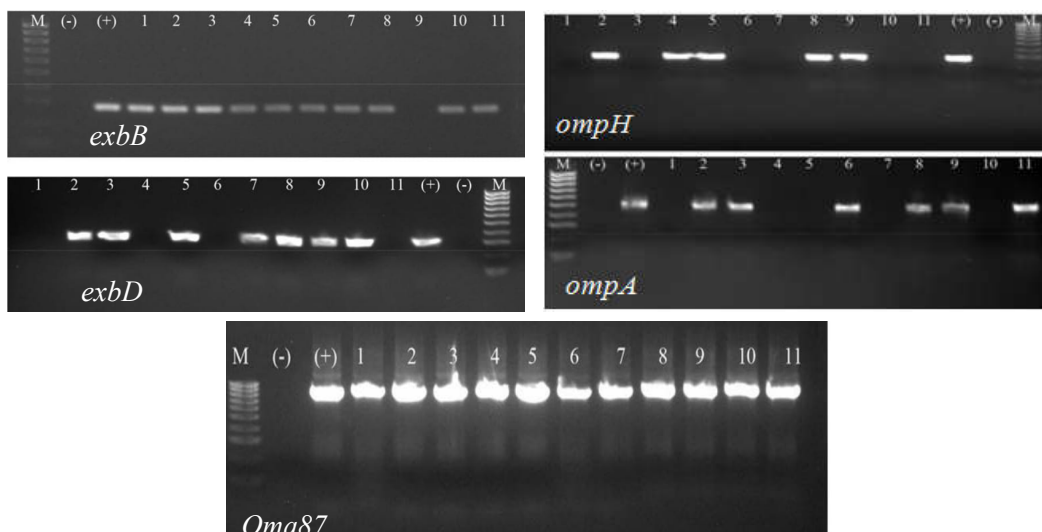
kết quả tương tự đối với gen *exbB* và *exbD* cũng đã thu được trong nghiên cứu này. Đã tìm thấy gen *exbB* trong 100% các chủng và gen *exbD* ở 85,54% chủng thu thập được. Tương tự một nghiên cứu trước đây [13], các gene *ompA*, *ompH* và *oma87*, mã hóa các protein màng ngoài *P. multocida* đã được phát hiện với tỷ lệ cao lần lượt là 56,62%, 68,67% và 100% tổng số chủng *P. multocida* trong nghiên cứu này. Những phát hiện này cho thấy các protein màng ngoài có vai trò quan trọng đối với sự tương tác giữa

tế bào vật chủ và tác nhân gây bệnh. Nghiên cứu của Hatfaludi và cộng sự (2010) [17] đã chỉ ra rằng các protein màng ngoài hoạt động như các kênh chọn lọc để ngăn chặn các phân tử độc hại xâm nhập vào tế bào, điều này rất quan trọng đối với sự sống của vi khuẩn trong các điều kiện sống khác nhau. Đồng thời, các protein này cũng đóng những vai trò khác đối với vi khuẩn, bao gồm hấp thụ chất dinh dưỡng, vận chuyển và đào thải các phân tử, và tương tác với tế bào vật chủ.



Hình 4. Kết quả (đại diện) kiểm tra gene mã hóa các yếu tố bám dính (*fimA*, *pfhA*, *ptfA*) bằng phản ứng PCR của các chủng *P. multocida*

M: Thang chuẩn ADN (100bp); (-): Đối chứng âm; (+): Đối chứng dương; 1-11: Mẫu.



Hình 5. Kết quả (đại diện) kiểm tra các gene liên quan đến hấp thụ sắt (*exbB*, *exbD*) và gene mã hóa protein màng ngoài (*ompH*, *ompA*, *oma87*) bằng phản ứng PCR của các chủng *P. multocida*

M: Thang chuẩn ADN (100bp); (-): Đối chứng âm; (+): Đối chứng dương; 1-11: Mẫu.

4. KẾT LUẬN

Vi khuẩn *P. multocida* thường xuyên phân lập được và đóng vai trò quan trọng trong các bệnh đường hô hấp ở lợn. Ngoài độc tố PMT, các yếu tố độc lực khác cũng đang được xác định. Tuy nhiên, cần có những nghiên cứu tiếp theo để làm sáng tỏ cơ chế gây bệnh của từng yếu tố độc lực từ đó xác định rõ vai trò của chúng đối với khả năng miễn dịch phòng bệnh tụ huyết trùng. Có sự liên quan chặt chẽ giữa một số yếu tố độc lực và serogroup đặc trưng, tất cả các chủng thuộc type A đều mang gen *pmHAS*, trong khi đó đa số các chủng thuộc type D đều mang gen mã hóa độc tố PMT (*tox4*).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Deangelis PL, Gunay NS, Toida T et al. (2002). Identification of the capsular polysaccharides of Type D and F *Pasteurella multocida* as unmodified heparin and chondroitin, respectively. *Carbohydrate research*, 337: 1547-1552.
- May BJ, Zhang Q, Li LL et al. (2001). Complete genomic sequence of *Pasteurella multocida*. Pm70 In Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 2001; 3460-3465.
- Rimler RB (2001). Purification of a cross-protective antigen from *Pasteurella multocida* grown in vitro and in vivo. *Avian Disease*, 45: 572-580.
- Confer AW, Ayalew S (2013). The OmpA family of proteins: roles in bacterial pathogenesis and immunity. *Vet. Microbiol.*, 163 (3-4): 207-222.
- Dabo SM, Taylor JD, Confer AW (2007). *Pasteurella multocida* and bovine respiratory diseases. *Animal Health Res. Rev.*, 8 (2): 129-150.
- Frandsen PL, Foged NT, Petersen SK, Bording A (1991). Characterization of toxin from different strains of *Pasteurella multocida* serotype A and D. *Journal of veterinary medicine*, 38 (5): 345-352.
- Tang X, Zhao Z, Hu J et al. (2009). Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China. *J. Clin. Microbiol.*, 47 (4): 951-958.
- Liu H, Zhao Z, Xi X et al. (2017). Occurrence of *Pasteurella multocida* among pigs with respiratory disease in China between 2011 and 2015. *Ir. Vet. J.*, 70: 2.
- Townsend K, Frost A, Lee C et al. (1998). Development of PCR Assays for Species- and Type-Specific Identification of *Pasteurella multocida* Isolates. *J Clin Microbiol*, 36 (4): 1096-1100.
- Townsend K, Boyce J, Chung J et al. (2001). Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *J. Clin. Microbiol.*, 39 (3): 924-929.
- Devi L, Bora D, Das S et al. (2018). Virulence gene profiling of porcine *Pasteurella multocida* isolates of Assam. *Vet. World*, 11 (3): 348-354.
- Davies R, MacCorquodale R, Baillie S, Caffrey B (2003). Characterization and comparison of *Pasteurella multocida* strains associated with porcine pneumonia and atrophic rhinitis. *J. Med. Microbiol.*, 52: 59-67.
- Ewers C, Lübke-Becker A, Bethe A et al. (2006). Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Vet. Microbiol.*, 114 (3-4): 304-317.
- Chandrasekaran S, Yeap P (1982). *Pasteurella multocida* in pigs: the serotypes and the assessment of their virulence in mice. *Br. Vet. J.*, 138 (4): 332-336.
- Bethe A, Wieler L, Selbitz H, Ewers C (2009). Genetic diversity of porcine *Pasteurella multocida* strains from the respiratory tract of healthy and diseased swine. *Vet. Microbiol.*, 139 (1-2): 97-105.
- Furian T, Borges K, Laviniki V et al. (2016). Virulence genes and antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* isolated from poultry and swine. *Braz J Microbiol*, 47 (1): 210-216.
- Hatfaludi T, Al-Hasani K, Boyce J, Adler B (2010). Outer membrane proteins of *Pasteurella multocida*. *Vet Microbiol*, 144: 1-17.
- Sarangi L, Thomas P, Gupta S et al. (2015). Virulence gene profiling and antibiotic resistance pattern of Indian isolates of *Pasteurella multocida* of small ruminant origin. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 38: 33-39.
- Ratledge C, Dover LG (2000) Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 54: 881-941.

DETERMINATION OF GENUS, CAPSULE TYPE AND VIRULENCE GENES OF *Pasteurella multocida* STRAINS ISOLATED FROM SWINES

Vu Khắc Hưng, Trinh Thi Thu Hang,

Tran Xuan Hanh, Nguyen Thi Thu Giang, Nguyen Thi Thinh

Summary

We applied PCR for confirmation of genus and determination of capsule type, virulence genes of 83 pathogenic *Pasteurella multocida* strains isolated from diseased pigs. By using specific primers, KMT1, 83/83 (100%) strains were confirmed as *Pasteurella multocida*. Type A, B and D were respectively detected from 40/83 strains (48.6%), 24/83 strains (28.9%), and 19/83 strain (22.9%). Type E and F were not found. The presence of 10 genes for virulence factors was tested. The result of PCR showed the presence of virulence genes: adhesins group (*ptfA* - 93.97%, *pflA* - 93.97%, *fimA* - 90.36%), iron acquisition (*exbB* - 100%, *exbD* - 85.22%), hyaluronidase (*pmHAS* - 84.33%), protectins (*ompA* - 56.62%, *ompH* - 68.67%, *oma87* - 100%). The dermonecrotic toxin encoding gene (*toxA*) showed low prevalence (19%). There is significant association between some virulence factors and specific capsular types of *P. multocida*. While all of strains belonging to type A were positive with *pmHAS* gene, almost all of strains of type D carried *toxA* gene.

Keywords: *Pasteurella multocida*, capsule type, virulence genes, PMT, *toxA*.

Người phản biện: PGS.TS. Tô Long Thành

Ngày nhận bài: 24/8/2020

Ngày thông qua phản biện: 25/9/2020

Ngày duyệt đăng: 02/10/2020