

XÁC ĐỊNH MỘT SỐ GEN ĐỘC LỰC CỦA CÁC CHỦNG VI KHUẨN *SALMONELLA* PHÂN LẬP TỪ GÀ BỊ TIÊU CHẢY TẠI THÁI NGUYÊN VÀ NAM ĐỊNH

Lưu Quỳnh Hương, Trần Thị Thu Hằng,
Lê Thị Hồng Nhung, Đỗ Thị Thu Thủy
Viện Thú y

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, để xác định một số gen độc lực của vi khuẩn *Salmonella*, chúng tôi đã thu thập 60 mẫu phân ở gà có biểu hiện tiêu chảy tại tỉnh Thái Nguyên và Nam Định. Tỷ lệ mẫu phân gà phân lập được *Salmonella* là 30%, trong đó tỷ lệ mẫu phân gà phân lập được vi khuẩn *Salmonella* tại Thái Nguyên là 43,33% và tại Nam Định là 16,67%. Bằng phương pháp PCR, 100% các chủng *Salmonella* phân lập được đều mang gen đặc trưng *16S rRNA*; có 66,67% các chủng mang gen *stn* và 55,56% các chủng được xác định mang gen *1137*. Trong 18 chủng *Salmonella* phân lập được, có 10 chủng *Salmonella* bước đầu kết luận là *S. pullorum*; chiếm tỷ lệ 55,56%.

Từ khóa: Gà, *Salmonella*, *stn*, *ratA*, *1137*.

Prevalence of some *Salmonella* virulence genes from diarrheagenic chickens in Thai Nguyen and Nam Dinh provinces

Lưu Quỳnh Hương, Trần Thị Thu Hằng,
Lê Thị Hồng Nhung, Đỗ Thị Thu Thủy

SUMMARY

In this study, we collected 60 fecal samples of chickens suffering with diarrhea from Thai Nguyen and Nam Dinh provinces. The rate of fecal samples containing *Salmonella* was 30%, of which this rate in Thai Nguyen province was 43.33% and in Nam Dinh province was 16.67%. By PCR method, 100% of the isolated *Salmonella* strains carried the *16S rRNA* genes; 66.67% of the strains carried the *stn* gene and 55.56% of the strains carried the *1137* gene. Out of 18 isolated strains, there were 10 strains preliminarily concluded to be *S. pullorum* strains (55.56%).

Keywords: Chicken, *Salmonella*, *stn*, *ratA*, *1137*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chăn nuôi gà nói riêng và chăn nuôi gia cầm nói chung là nghề sản xuất truyền thống, chiếm vị trí quan trọng thứ hai trong tổng giá trị sản xuất của ngành chăn nuôi nước ta. Trong đó, Thái Nguyên và Nam Định là hai tỉnh chăn nuôi gà lớn và lâu đời của vùng đồng bằng Bắc Bộ.

Ở miền Bắc Việt Nam nói chung và Thái Nguyên, Nam Định nói riêng, khí hậu mùa hè nóng, mùa đông lạnh, do vậy trong quá trình chăn nuôi gia cầm nếu không đảm bảo thức ăn, nguồn nước, vệ sinh chuồng trại cũng như môi trường xung quanh thì nguy cơ mắc các bệnh đường ruột, đường hô hấp và một số bệnh khác cao. Trong đó,

bệnh tiêu chảy là bệnh khá phổ biến trong quá trình nuôi, đặc biệt là bệnh do vi khuẩn *Salmonella* gây ra trên gia cầm nói chung và trên gà nói riêng.

Với hơn 2.600 biến chủng khác nhau, *Salmonella* gây bệnh trên gà có thể chia thành hai loại: (1) các chủng không di động gây ra, gồm *S. pullorum* gây bệnh bạch lỵ trên gà con và *S. gallinarum* gây bệnh thương hàn gà và (2) các chủng *Salmonella* di động, chủ yếu là *S. enteritidis* và *S. typhimurium* gây ra bệnh phó thương hàn (Ferrari et al., 2019).

Bệnh bạch lỵ là bệnh truyền nhiễm cấp tính trên gà con, lan truyền mầm bệnh qua trứng và có triệu chứng điển hình là tiêu chảy phân trắng với tỷ lệ

chết cao. Tỷ lệ bệnh và tỷ lệ chết nhiều nhất trong giai đoạn từ 7 đến 10 ngày tuổi sau khi nở. Bệnh xuất hiện ở tất cả các nhóm tuổi của gà, nhưng thiệt hại nặng nhất ở những gia cầm dưới 4 tuần tuổi.

Bệnh thương hàn gà là bệnh truyền nhiễm cấp tính hoặc mạn tính, chủ yếu gây bệnh trên gà mái mà nguyên nhân gây bệnh là *S. gallinarum*. Vi khuẩn này thường có một số kháng nguyên chung với *S. pullorum* nên hai vi khuẩn này thường có hiện tượng ngưng kết chéo. Sự lây lan mầm bệnh quan trọng nhất là qua các trứng bị nhiễm. Ngoài ra, sự lây lan *S. gallinarum* cũng xuất hiện giữa các đàn gia cầm hậu bị hay gia cầm trưởng thành với tỷ lệ chết cao.

Những năm gần đây, phương pháp PCR càng ngày càng được áp dụng rộng rãi trong việc xác định các gen đặc hiệu tiến tới xác định các mầm bệnh khác nhau. Một số nghiên cứu trên thế giới đã ứng dụng phương pháp này vào việc xác định các gen độc lực đặc trưng như gen *stn*, *ratA* và *l137* để phân biệt các chủng *S. gallinarum* và *S. pullorum* gây bệnh tiêu chảy trên gà thay cho các phương pháp thông thường là xác định kiểu huyết thanh và bằng hệ thống các phản ứng sinh hóa (Xiong và cs., 2018).

Mặc dù có nhiều lợi thế để phát triển nhưng ngành chăn nuôi gia cầm của Việt Nam nói chung cũng như tại hai tỉnh Nam Định và Thái Nguyên nói riêng chưa phát huy hết tiềm năng và còn bộc lộ nhiều hạn chế. Trong đó, công tác kiểm soát dịch bệnh chưa thật sự hiệu quả đã khiến ngành chăn nuôi gia cầm chịu nhiều tổn thất nặng nề, gây thiệt hại cho người chăn nuôi. Việc đảm bảo an toàn dịch bệnh trong chăn nuôi, đem đến những sản phẩm chăn nuôi sạch, an toàn cho người tiêu dùng là mục tiêu hướng đến của ngành chăn nuôi Việt Nam.

Từ những cơ sở trên, chúng tôi đã tiến hành thu thập các mẫu phân của gà có biểu hiện tiêu chảy ở hai tỉnh Thái Nguyên và Nam Định để phân lập vi khuẩn *Salmonella* và xác định một số gen độc lực của các chủng vi khuẩn phân lập được.

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

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Mẫu

60 mẫu phân gà có biểu hiện tiêu chảy thu thập

từ một số trang trại chăn nuôi gà tại hai tỉnh Thái Nguyên và Nam Định. Mỗi tỉnh thu thập 30 mẫu.

2.1.2. Môi trường hóa chất

- Môi trường nuôi cấy vi khuẩn *Salmonella*: Nutrient agar, Buffered pepton water, RambaQuick *Salmonella*, ChromAgar *Salmonella* Plus, TSI agar, Urea Indole medium, Kovacs reagent, Brain Heart Infusion (Merck, Đức).

- Bộ kit Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher, Mỹ), Ethanol absolute (Merck, Mỹ), 2X PCR Master mix (Thermo Fisher, Mỹ), DNA gel loading dye (Thermo Fisher, Mỹ), Agarose (bio World, Mỹ), GeneRuler 100 bp DNA ladder (Thermo Fisher, Mỹ), Redsafe (Intron, Hàn Quốc), TBE buffer 10X (bio World, Mỹ), UltraPure™ DNase/RNase-Free Distilled Water (Thermo Fisher, Mỹ), các cặp mồi (Sigma-Aldrich, Singapore).

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Phân lập và phát hiện vi khuẩn *Salmonella* từ mẫu phân gà bị tiêu chảy thu thập từ một số trang trại tại hai tỉnh Thái Nguyên và Nam Định

- Xác định gen độc lực *stn*, *ratA*, *l137* của các chủng *Salmonella* phân lập được.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Lấy mẫu và bảo quản mẫu

Lấy mẫu phân gà có biểu hiện tiêu chảy ở 5 vị trí khác nhau trong chuồng (4 vị trí ở 4 góc chuồng, 1 vị trí giữa chuồng) gộp lại thành 1 mẫu. Bảo quản mát khoảng 6°C, vận chuyển về phòng thí nghiệm phân tích mẫu trong ngày.

2.3.2. Phân lập và phát hiện vi khuẩn *Salmonella*

Theo ISO 6579-1:2017.

2.3.3. Tách chiết DNA

DNA tổng số của vi khuẩn được chiết tách bằng kit theo hướng dẫn của nhà sản xuất GenJET Genomic DNA Purification kit (Thermo Scientific).

2.3.4. Khẳng định lại gen đặc trưng 16S rRNA

- Trình tự các cặp mồi (bảng 1)

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu

Tên mồi	Trình tự nucleotide (5'-3')	Kích thước sản phẩm	Tài liệu tham khảo
S16S	F TGGTGTGGTTAATAACCGCA	574 bp	Lin và Tsen (1996)
	R CACAAATCCATCTCTGGA		

- Thành phần phản ứng PCR: Sử dụng phản ứng PCR đơn mồi (singleplex PCR). Tổng lượng phản ứng là 25µl/phản ứng, bao gồm: 12,5 µl Master mix; 1 µl mồi xuôi; 1 µl mồi ngược; 1 µl DNA mẫu và lượng nước vừa đủ (nồng độ mồi 10 pmol/µl).

- Chu trình nhiệt: Biến tính ban đầu 94°C trong

1 phút, tiếp đó là 35 chu kỳ (biến tính 94°C trong 60 giây; gắn mồi 57,4°C trong 60 giây; tổng hợp 72°C trong 60 giây) và cuối cùng là giai đoạn kéo dài ở 72°C trong 3 phút.

2.3.5. Xác định các gen độc lực bằng phản ứng PCR

- Trình tự các cặp mồi (bảng 2)

Bảng 2. Trình tự các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên mồi		Trình tự nucleotide (5'-3')	Kích thước sản phẩm (bp)	Tài liệu tham khảo
1	stn	F	TATTTTGCACCACAGCCAGC	131	Xiong và cs. (2018)
		R	CGACCGCGTTATCATCACTG		
2	ratA	F	CACTGGAGACTCTGAGGACA	571	
		R	GGGCAGGGAGTCTTGAGATT		
3	l137	F	ATTGCTCTCGTCCTGGGTAC	290	
		R	TACCGATACGCCCAACTACC		

- Thành phần phản ứng PCR: Sử dụng phản ứng PCR đa mồi (multiplex PCR). Tổng lượng phản ứng là 25µl/phản ứng, bao gồm: 12,5 µl Master mix; 5 µl hỗn hợp mồi; 2 µl mẫu và lượng nước vừa đủ (nồng độ mồi 10 pmol/µl).

- Chu trình nhiệt: Biến tính ban đầu 94°C trong 5 phút, tiếp đó là 30 chu kỳ (biến tính 94°C trong 45 giây; gắn mồi 52°C trong 45 giây; tổng hợp 72°C trong 40 giây) và cuối cùng là giai đoạn kéo dài ở 72°C trong 10 phút.

2.3.6. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập và phát hiện vi khuẩn *Salmonella* từ các mẫu phân gà có biểu hiện tiêu chảy thu thập từ một số trang trại tại Thái Nguyên và Nam Định

Từ 60 mẫu phân gà có biểu hiện tiêu chảy, chúng tôi đã tiến hành phân lập vi khuẩn *Salmonella* theo tiêu chuẩn ISO 6579-1:2017. Kết quả được trình bày tại bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella*

Địa điểm	Số mẫu	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Thái Nguyên	30	13	43,33
Nam Định	30	5	16,67
Tổng	60	18	30

Kết quả ở bảng 3 cho thấy ở một số trại gà tại Nam Định và Thái Nguyên, tỷ lệ phân lập *Salmonella* là 30%. Trong đó, Thái Nguyên có 13/30 mẫu dương tính với *Salmonella* (chiếm tỷ lệ 43,33%) cao hơn so với ở Nam

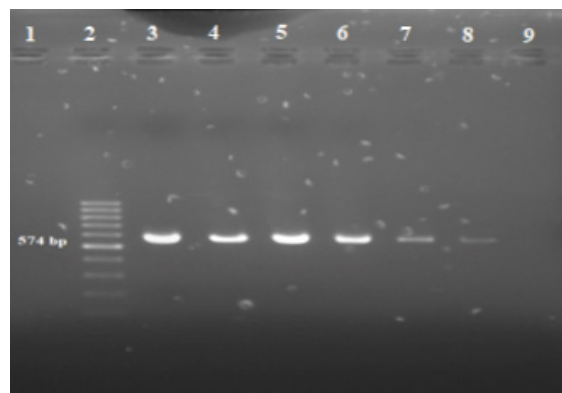
Định là 5/30 mẫu dương tính (chiếm tỷ lệ 16,67%). Kết quả của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của Ngogang và cs. (2021) có tỷ lệ phân lập vi khuẩn *Salmonella* là 15,5% trên mẫu chất độn chuồng ở Cameroon. Theo Ugwu và Nwankwo (2021), tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trên phân gà tại các trại gia cầm ở Isiagu, bang Ebonyi, Nigeria là khá cao chiếm 70%. Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Umeh và Unwuru được công bố vào năm 2014 có tỷ lệ phân lập được *Salmonella* spp. từ các mẫu phân gà ở Owerri metropolis State Imo, Nigeria là 52,5% (Umeh và Enwuru, 2014). Một nghiên cứu khác của Madaki Esther Chat và cs. năm 2019, đã phân lập được 33,33% *Salmonella* spp. từ thức ăn và phân gia cầm tại các trang trại ở Bang Kaduna, Nigeria (Chat và cs., 2019). Một nghiên cứu của Ramya và cs. tại Ấn Độ cho biết tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trên phân gà là khá cao 88% (22/25 mẫu) (Ramya và cs., 2012).

Để khẳng định chắc chắn các chủng *Salmonella* trên, chúng tôi tiến hành PCR xác định gen *16S rRNA* đặc trưng cho loài.

Bảng 4. Kết quả PCR xác định gen đặc trưng loài *16S rRNA*

Địa điểm	Số chủng phân lập	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
Thái Nguyên	13	13	100
Nam Định	5	5	100
Tổng	18	18	100

Kết quả ở bảng 4 cũng cho thấy 100% các chủng phân lập được đều có mang gen *16S rRNA* đặc trưng cho loài. Qua đây, có thể khẳng định các chủng phân lập được đều là các chủng *Salmonella*.



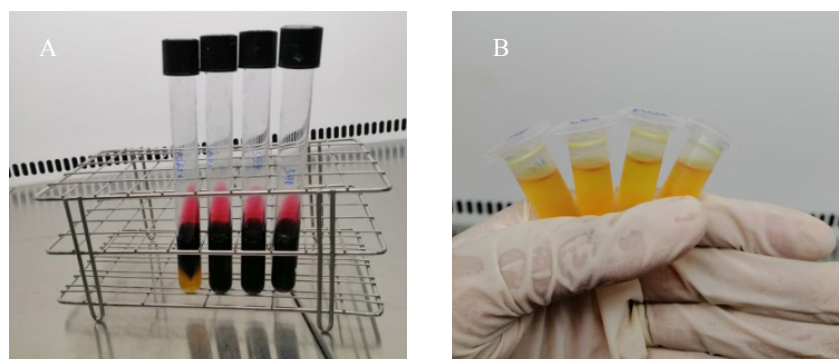
Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR với cặp mồi *16S rRNA*

Ghi chú: Giếng 2: Marker; giếng 3: đối chứng dương, giếng 4-8: Các chủng *Salmonella* phân lập được, giếng 9: đối chứng âm

Chúng tôi đã tiến hành kiểm tra một số đặc tính sinh hóa đặc trưng của 18 chủng *Salmonella* phân lập được. Kết quả được trình bày tại bảng 5 và hình 2. Số liệu bảng 5 cho thấy: 100% các chủng *Salmonella* lên men đường glucose và không sử dụng đường lactose và sucrose. 100% các chủng này đều sinh H_2S ; âm tính với urea và indole. 88,9% các chủng sinh hơi trong quá trình lên men đường. Như vậy, đặc tính sinh học của các chủng *Salmonella* phân lập được đều mang các đặc điểm chung của giống *Salmonella*, phù hợp với những đặc điểm về các đặc tính sinh học như những tài liệu trong và ngoài nước đã mô tả (TCVN 10780-1:2017; FDA, 2007).

Bảng 5. Kết quả kiểm tra sinh hóa các chủng *Salmonella* phân lập được (n=18)

Đặc tính sinh hóa	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
Glucose	18	100
Lactose	0	0
Sucrose	0	0
Sinh hơi	16	88,9
H_2S	18	100
Urea	0	0
Indole	0	0



Hình 2. Một số hình ảnh kết quả thử sinh hóa của các chủng *Salmonella*

Ghi chú: (A): Các chủng *Salmonella* trên môi trường TSI: phần thạch nghiêng có màu đỏ do vi khuẩn không lên men lactose/surcose, phần thạch đứng có màu vàng và đen do vi khuẩn lên men glucose và sinh H_2S ; (B): Các chủng *Salmonella* trên môi trường Urea Indole: vì khuẩn không phân giải urea nên môi trường có màu vàng, không chuyển sang màu đỏ; vì khuẩn âm tính với indole nên sau khi nhỏ thuốc thử Kovacs xuất hiện vòng màu nâu vàng trên lớp bề mặt

3.2. Kết quả PCR xác định một số gen độc lực của các chủng *Salmonella* phân lập được

Chúng tôi cũng tiến hành kiểm tra các gen độc lực *stn*, *ratA* và *I137*. Trong đó, gen *Salmonella enterotoxin (stn)* là một gen phổ biến trong các chủng *S. enteritica*; gen *I137* dựa trên phân tích tin sinh được xác định là chỉ có ở các chủng *S. pullorum* và *S. gallinarum*. Gen *ratA* của các

chủng *S. pullorum* có kích thước 4.776 bp và chỉ bao phủ 85% chiều dài của gen *ratA* ở các chủng *S. gallinarum* và các serovar khác do các biến thể ở trong vùng chênh lệch (ROD) của gen *ratA* không được tìm thấy ở bất kỳ chủng *S. pullorum* nào (Xiong và cs., 2018). Do vậy, chúng tôi đã sử dụng 3 gen này để xác định và phân biệt các chủng *S. pullorum* và *S. gallinarum*. Kết quả được thể hiện trong bảng 6 và hình 3.

Bảng 6. Kết quả xác định một số gen độc lực của các chủng *Salmonella* phân lập được

Địa điểm	Số chủng phân lập	<i>stn</i>		<i>ratA</i>		<i>I137</i>	
		(+)	%	(+)	%	(+)	%
Thái Nguyên	13	8	61,5	0	0	9	69,2
Nam Định	5	4	80	0	0	2	40
Tổng	18	12	66,67	0	0	10	55,56

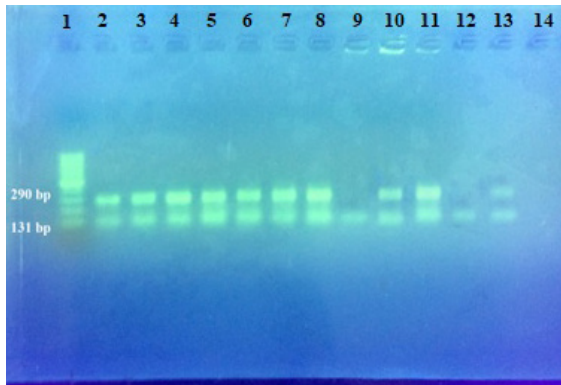
Ghi chú: (+): Số chủng dương tính, %: Tỷ lệ %

Kết quả ở bảng 6 cho thấy có 66,67% chủng mang gen *stn*; 55,56% chủng mang gen *I137* và không có chủng nào mang gen *ratA*.

Theo Xiong và cs. (2018), gen *stn*, *ratA* và *I137* là 3 gen được sử dụng để chẩn đoán phân biệt nhanh chóng các chủng *S. gallinarum* và *S. pullorum*. Nếu chủng phân lập mang cả 3 gen này thì chúng được xác định là các chủng *S. gallinarum*. Nếu chủng phân lập chỉ mang hai gen *stn* và *I137* thì chúng được

xác định là các chủng *S. pullorum*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xác định được 10/18 chủng *Salmonella* mang cả hai gen *stn* và *I137*, chiếm tỷ lệ 55,56%; sơ bộ đưa ra kết luận 10 chủng này có thể là các chủng *S. pullorum*. Kết quả này cũng tương tự với một số kết quả nghiên cứu đã được công bố trước đây. Năm 2007, Nguyễn Văn Chiến khi phân lập và xác định serotype *Salmonella* trên gà cho thấy *S. gallinarum pullorum* là serotype chiếm tỷ lệ cao nhất (39,82%) (Nguyễn Văn Chiến, 2007).

Cũng theo Nguyễn Quang Tuyên và cs. (2015), serotype *S. pullorum* từ các chủng *Salmonella* phân lập được chiếm tỷ lệ cao hơn so với các serotype khác, tương ứng là 30,8%; đã cho thấy *S. pullorum* là một trong những serotype gây bệnh chủ yếu ở gia cầm trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên.



Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm PCR với các cặp mồi *stn*, *ratA* và *I137*

Ghi chú: Giếng 1: Marker, giếng 2-13: Các chủng *Salmonella* phân lập được, giếng 14: đối chứng âm

IV. KẾT LUẬN

Từ các hộ chăn nuôi gà được phỏng vấn tại hai tỉnh Thái Nguyên và Nam Định, chúng tôi đã thu thập được 60 mẫu phân gà có biểu hiện tiêu chảy. 30% các mẫu phát hiện được vi khuẩn *Salmonella*. Trong đó, tỷ lệ phân lập *Salmonella* ở Thái Nguyên là 13/30 mẫu dương tính (chiếm 43,33%) cao hơn ở Nam Định (5/30 mẫu dương tính; chiếm 16,67%). 100% các chủng *Salmonella* phân lập được đều mang gen đặc trưng *16S rRNA*.

66,67% các chủng *Salmonella* được xác định mang gen *stn* và 55,56% các chủng mang gen *I137*. Trong 18 chủng phân lập được, có 10 chủng được xác định mang cả hai gen *stn* và *I137*; chiếm tỷ lệ 55,56% và dựa trên các tài liệu nghiên cứu ngoài nước, 10 chủng *Salmonella* này có thể bước đầu kết luận là các chủng *S. pullorum*.

Lời cảm ơn: Tác giả xin chân thành cảm ơn các cán bộ thuộc Chi cục Chăn nuôi, Thú y và Thủy sản Thái Nguyên và Chi cục Chăn nuôi và Thú y Nam Định đã giúp đỡ để chúng tôi lấy mẫu xét nghiệm trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chat, M.E., Dadah, A.J., Uba, A., 2019. Isolation of Enteric bacteria from various sources in selected poultry farms in Kaduna State. *Bioprocess Engineering* 3, 1.
2. Ferrari, R. G., Rosario, D., Cunha-Neto, A., Mano, S. B., Figueiredo, E., & Conte-Junior, C. A. 2019. Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. *Applied and environmental microbiology*, 85(14).
3. FDA, 2007. *Bacteriological Analytical Manual (BAM)* Chapter 5: *Salmonella*. 2007; Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam-chapter-5-salmonella>
4. Lin, C., Tsen, H., 1996. Use of two 16S DNA targeted oligonucleotides as PCR primers for the specific detection of *Salmonella* in foods. *Journal of applied bacteriology* 80, 659-666.
5. Ngogang, M.P., Ernest, T., Kariuki, J., Mouliom Mouiche, M.M., Ngogang, J., Wade, A., van der Sande, M.A.B., 2021. Microbial contamination of chicken litter manure and antimicrobial resistance threat in an urban area setting in Cameroon. *Antibiotics* 10, 20.
6. Nguyễn Quang Tuyên, Nguyễn Mạnh Cường, Nguyễn Văn Lâm, Nguyễn Thị Liên, Trần Đức Hạnh, Lê Minh Toàn, 2015. Kết quả phân lập và xác định một số đặc tính sinh học của vi khuẩn *Salmonella* gây bệnh thương hàn ở gà nuôi tại tỉnh Thái Nguyên. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y* XXII, 34-40.
7. Nguyễn Văn Chiến, 2007. *Điều tra, phân lập, xác định tỷ lệ nhiễm Salmonella trên gà công nghiệp ở một số địa điểm tại tỉnh Bắc Ninh và biện pháp phòng trị*. Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên,
8. Ramya, P., Madhavarao, T., Rao, L.V., 2012. Study on the incidence of *Salmonella enteritidis* in poultry and meat samples by cultural and PCR methods. *Vet World* 5, 541-545.
9. Ugwu, C.C., Nwankwo, D.O., 2021. Isolation and identification of *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. from different poultry feeds, droppings and drinking water used in poultry farms in Ishiagu, Ebonyi state. *International Journal of Innovative Research and Advanced Studies (IJIRAS)* Volume 8 Issue 4, 102-107
10. Umeh, S.I., Enwuru, C.P., 2014. Antimicrobial resistance profile of *Salmonella* isolates from livestock. *Open Journal of Medical Microbiology* 4, 242.
11. Xiong, D., Song, L., Pan, Z., Jiao, X., 2018. Identification and discrimination of *Salmonella enterica* serovar gallinarum biovars pullorum and gallinarum based on a one-step multiplex PCR assay. *Frontiers in microbiology* 9, 1718.

Ngày nhận 6-4-2022

Ngày phản biện 12-5-2022

Ngày đăng 1-7-2022