

Tình hình lưu hành và tỷ lệ kháng kháng sinh của *Salmonella* spp. phân lập từ phân heo rừng, cây hương và vịt tại tỉnh Đắk Lắk

• Nguyễn Văn Minh Hoàng

• Nguyễn Thành Vinh

• James Ian Campbell

• Stephen Baker

Đơn vị Nghiên cứu Lâm sàng Đại học Oxford, TP. Hồ Chí Minh

• Nguyễn Cảnh Tự

Cơ quan Thú y vùng 5 tỉnh Đắk Lắk

• Phan Thị Phương Trang

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 24 tháng 6 năm 2015, nhận đăng ngày 20 tháng 10 năm 2015)

TÓM TẮT

Để xác định tình hình mang trùng và mức độ kháng thuốc của *Salmonella* spp. trên mẫu phân ở đàn gia súc (heo rừng, cây hương) và gia cầm (vịt) tại 6 huyện ở tỉnh Đắk Lắk, Việt Nam, đề tài đã phân lập vi khuẩn và thử tính kháng thuốc trên các mẫu phân từ 139 trang trại gồm 5 trang trại nuôi cây hương, 14 trang trại nuôi heo rừng và 120 trang trại nuôi vịt. Kết quả cho thấy các trang trại có *Salmonella* spp. Trong tất cả các chủng *Salmonella* được định danh, có 4

nhóm, nhiều nhất là *Salmonella* nhóm B (25 chủng), *Salmonella* nhóm khác (13 chủng), *Salmonella* nhóm D (8 chủng) và *Salmonella* nhóm C (2 chủng). Có đến 50 % số chủng phát hiện kháng với ít nhất 1 loại kháng sinh khảo sát, trong đó có 75 % số chủng có hiện tượng đa kháng. Đặc biệt, có 3 chủng *Salmonella* spp. có mang enzyme tiết ESBL (Extended-spectrum- beta lactamase, β -lactam phổ rộng).

Từ khóa: *Salmonella*, kháng kháng sinh, trang trại, tỉnh Đắk Lắk.

MỞ ĐẦU

Kháng sinh đang được sử dụng rất rộng rãi trong chăn nuôi gia súc cũng như gia cầm với nhiều mục đích như kích thích sự tăng trưởng, phòng bệnh và điều trị bệnh. Việc sử dụng kháng sinh rộng rãi và lâu dài dẫn đến hiện tượng kháng kháng sinh của vi khuẩn. Hiện tượng kháng kháng sinh xảy ra ở vi khuẩn là một hiện tượng tự nhiên. Những vi sinh vật đã kháng được kháng sinh có thể chuyển gen kháng kháng sinh từ thể

hệ này sang thể hệ khác (chuyển gen theo chiều dọc) hoặc chuyển gen kháng kháng sinh từ loài vi sinh vật này sang loài vi sinh vật khác (chuyển gen theo chiều ngang). Đặc tính kháng kháng sinh của các vi sinh vật trong môi trường chăn nuôi có được là do việc sử dụng kháng sinh trong quá trình nuôi dưỡng cũng như điều trị bệnh cho gia súc, gia cầm. Việc trộn kháng sinh vào thức ăn gia súc, gia cầm làm kháng sinh tích tụ lại

trong cơ thể vật nuôi và các sản phẩm chế biến từ vật nuôi. Khi động vật hoặc con người ăn các loại thực phẩm này, lượng kháng sinh đó được chuyển vào cơ thể với liều lượng thấp sẽ tạo cơ hội cho các vi sinh vật gây bệnh kháng lại kháng sinh này, làm giảm hiệu quả điều trị khi bị bệnh, ảnh hưởng tới sức khỏe của vật nuôi và con người. Ngoài ra, dư lượng kháng sinh còn tồn dư trong cơ thể vật nuôi khi ăn thức ăn trộn kháng sinh quá mức quy định sẽ ảnh hưởng đến việc sản xuất và xuất khẩu thực phẩm, gây thiệt hại khá lớn về mặt kinh tế.

Đắk Lắk là một trong những địa phương có mô hình chăn nuôi trang trại phát triển mạnh ở vùng Tây Nguyên. Trong quá trình chăn nuôi gia súc và gia cầm, người dân thường sử dụng rất nhiều loại kháng sinh vào các mục đích như chữa bệnh hay phòng bệnh. Trong đó, gia súc, gia cầm mang vi khuẩn *Salmonella* spp. gây bệnh cho động vật cũng như con người là đối tượng được người nuôi đối phó bằng kháng sinh rất nhiều. Việc sử dụng kháng sinh thường mang tính tự phát, không theo chỉ dẫn của chuyên gia hoặc cơ quan chức năng. Điều này dẫn đến sự kháng kháng sinh và điều trị bệnh không hiệu quả.

Với mục đích khảo sát tình hình nhiễm *Salmonella* spp. trong chăn nuôi gia súc và gia cầm, cũng như khảo sát mức độ kháng kháng sinh của chủng phân lập được, đề tài tiến hành phân lập và khảo sát tính kháng thuốc tại 120 trang trại nuôi vịt, 14 trang trại nuôi heo rừng và 5 trang trại nuôi cây hương tại tỉnh Đắk Lắk.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Đối tượng nghiên cứu

Các chủng *Salmonella* phân lập từ mẫu phân tại các trang trại nuôi vịt, heo và cây hương ở tỉnh Đắk Lắk.

Môi trường và hóa chất sử dụng nghiên cứu

Dung dịch pepton water (CM- 0509-Oxoid). Môi trường Modified semi-solid rappaport

vassiliadis agar (CM-1112-Oxoid). Môi trường Rambach agar (HC-131179 – Merck) và môi trường Nutrient agar (CM-0003-Oxoid)

Các môi trường trên được hấp khử trùng ở 121 °C, 15 phút trước khi sử dụng.

Các đĩa kháng sinh (Oxoid, Vương Quốc Anh) là những đĩa giấy vô khuẩn có đường kính 6 mm đã được tẩm dung dịch kháng sinh với nồng độ tương ứng như sau: ampicillin (AMP, 10 µg/mL), amoxicillin cộng với acid clavulanic (AUG, 30 µg/mL), ceftriaxone (CRO, 30 µg/mL), ceftazidime (CAZ, 30 µg/mL), chloramphenicol (CL, 30 µg/mL), ciprofloxacin (CIP, 5 µg/mL), ofloxacin (OFX, 5 µg/mL), gentamicin (CN, 10 µg/mL), nalidixic acid (NA, 30 µg/mL), sulfamethoxazole trimethoprim (SXT, 30 µg/mL), tetracycline (Te, 30 µg/mL), azithromycin (AZM, 15 µg/mL).

Phương pháp nghiên cứu

Quy trình và phương pháp thu mẫu

Sử dụng đồ bảo hộ sạch được khử trùng bằng dung dịch virkon 9,75 %. Sử dụng nước cất vô trùng để làm ướt vớ dấm: đổ đầy 50 % nước cất vô trùng vào hộp 500 mL, nhúng 2 đôi vớ dấm vào cho đến khi vớ dấm thấm ướt. Mặc đồ bảo hộ bên ngoài chuồng nuôi. Mang bịch nylon bao ủng sau khi đã vào chuồng. Mang vớ dấm đã nhúng ướt vào, đi lướt dè lên khu vực có phân xung quanh chuồng. Sau khi hoàn thành lấy mẫu, tháo vớ dấm bỏ vào hộp 500 mL. Ghi nhãn phải bao gồm mã trại và số thứ tự mẫu.

Phương pháp phân lập và xác định Salmonella spp.

Các mẫu vớ dấm được bảo quản lạnh (4-8 °C) và được chuyển đến phòng thí nghiệm không quá 12 giờ sau khi thu thập. Phương pháp nuôi cấy được thực hiện theo phiên bản sửa đổi của ISO 6579: 2002 theo tiêu chuẩn Châu Âu, bao gồm: (i) nuôi cấy tăng sinh trong dung dịch peptone (BPW), ủ ở 37 °C trong 18 giờ; (ii) nuôi cấy trên môi trường bán rắn Rappaport-

Vassiliadis (MSRV), ủ ở 41 °C trong 24 giờ và (iii) cấy lên Rambach agar, ủ ở 37 °C trong 24 giờ. Các khuẩn lạc nghi ngờ *Salmonella* spp. đã được xác nhận bởi thử nghiệm kháng huyết thanh theo bảng chỉ dẫn phân loại White Kauffmann nhằm phân nhóm *Salmonella* spp. có các kiểu kháng huyết thanh khác nhau (nhóm B, nhóm C, nhóm D và nhóm 'khác').

Tất cả các chủng được thử nghiệm với 12 loại kháng sinh ở các nồng độ tương ứng như đã mô tả ở trên bằng cách sử dụng phương pháp Kirby- Bauer (đĩa khuếch tán) trên Muller-Hinton Agar (Oxoid, Vương quốc Anh) và đối chiếu theo hướng dẫn CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, Tiêu chuẩn quốc tế về vi sinh lâm sàng và phòng thí nghiệm). Cũng bằng cách sử dụng phương pháp Kirby – Bauer, tiến hành xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) kháng sinh ở *Salmonella* spp. bằng thử nghiệm E-test (AB-Biodisk, Thụy Điển).

Qui trình phát hiện gen mã hóa ESBL (β -lactam phổ rộng) bằng kỹ thuật PCR

Huyền phù 1 khuẩn lạc đơn vào 500 μ L PBS, ủ ở 100 °C trong 5 phút. Ly tâm 8.000 vòng/phút trong 5 phút. Thu dịch nổi làm khuôn cho phản ứng PCR.

Hóa chất dùng trong điện di DNA: Agarose (Biorad), đệm TBE 1X dùng để pha gel agarose và chạy điện di, đệm nạp mẫu (6X), dung dịch nhuộm DNA Nancy-520 (Sigma), thang DNA 100 bp (Invitrogen). Hóa chất dùng cho phản ứng PCR: dung dịch đệm cho phản ứng PCR 10X, dNTP 2 mM, MgCl₂, Taq DNA polymerase (Qiagen). Các cặp mồi dùng trong phản ứng PCR được liệt kê trong Bảng 1. DNA chứng dương của các gen ESBL cần nghiên cứu (được cung cấp bởi Đơn vị Nghiên cứu Lâm sàng Đại học Oxford-OUCRU).

Bảng 1. Trình tự các mồi dùng để khuếch đại gen

Multiplex	Cơ chế kháng	Tên enzyme	Tên mồi	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	TLTK
II	ESBL	TEM (TEM-1 và TEM-2)	TSO-T-F	TGCGGTATTATCCCGTGTTG	296	[5]
			TSO-T-R	TCGTCTGTTTGGTATGGCTTC		
			TSO-S-R	ATCCCGCAGATAAATCACCAC		
II	ESBL	OXA(OXA-1, OXA-4 và OXA-30)	TSO-O-F	GGCACCAGATTCAACTTTCAAG	564	[4]
			TSO-O-R	GACCCCAAGTTTCCTGTAAGTG		

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập và xác định các chủng *Salmonella* spp.

Mẫu phân thu nhận tại các trang trại thuộc các huyện tỉnh Đắk Lắk, được phân tích tại Phòng Vi sinh – Cơ quan Thú y vùng 5. Mẫu được tăng sinh trong môi trường BPW, sau đó được nuôi cấy trên môi trường chọn lọc MSRV

và Rambach. Chọn các khuẩn lạc mang đặc trưng của *Salmonella* spp. trên môi trường MSRV có màu trắng đục và trên môi trường Rambach có màu hồng. Các khuẩn lạc này được nuôi cấy phục hồi trên NA, sau đó được kiểm tra bằng các phản ứng sinh hóa và định danh bằng bộ kit API 20E (Biomérieux, Pháp) và kháng huyết thanh (Hình 1).



Hình 1. Thử nghiệm sinh hóa và đo nồng độ ức chế tối thiểu các chủng *Salmonella* spp. (A) phản ứng sinh hóa và định danh bằng bộ kit API 20E (Biomérieux, Pháp); (B) xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) kháng sinh NA ở *Salmonella* spp. bằng thử nghiệm E-test (AB-Biodisk, Thụy Điển).

Kết quả định danh bằng các thử nghiệm sinh hóa cho thấy, trong 139 mẫu phân có 48 mẫu dương tính với *Salmonella* spp. thuộc 4 nhóm khác nhau (nhóm B, nhóm C, nhóm D và nhóm khác).

Tỷ lệ các nhóm thuộc chủng *Salmonella* spp. phân lập được

Trong 48 chủng *Salmonella* spp. phân lập

được, các chủng *Salmonella* thuộc nhóm B xuất hiện nhiều nhất (25/48 chủng) và xuất hiện trong hầu hết các trang trại, chiếm tỷ lệ 52,08 %, cao hơn so với *Salmonella* nhóm khác (13/48 chủng) chiếm 27,08 %, kể đến là *Salmonella* nhóm D (8/48 chủng) chiếm 16,67 %. Loài *Salmonella* nhóm C hiện diện ít nhất, chỉ 2/48 chủng phân lập được (Bảng 2).

Bảng 2. Tần số xuất hiện các chủng *Salmonella* spp.

<i>Salmonella</i> spp.		Số chủng phát hiện			Tổng mẫu phát hiện	Tỷ lệ %
		Vịt	Heo rừng	Cây hương		
Nhóm	<i>Salmonella</i> nhóm B	21	02	02	25	52,08
	<i>Salmonella</i> nhóm C	01	01	00	02	4,17
	<i>Salmonella</i> nhóm D	05	01	02	08	16,67
	<i>Salmonella</i> nhóm khác	13	00	00	13	27,08
Số chủng phát hiện/số trang trại kiểm tra		40/120	04/14	04/05	48/139	100

Khảo sát tình hình kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* spp.

Tình hình kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* spp.

Thực hiện thí nghiệm kiểm tra khả năng đề kháng kháng sinh của 48 chủng *Salmonella* spp. đã được phân lập với 12 loại kháng sinh khác

nhau, kết quả cho thấy có đến 24 chủng kháng với ít nhất một loại kháng sinh trong 12 loại kháng sinh khảo sát, chiếm tỷ lệ khá cao lên đến 50 %. Đặc biệt trong số đó có 2 chủng kháng 11 loại kháng sinh (Bảng 3).

Trong tất cả 48 chủng *Salmonella* spp. kháng kháng sinh, có 21 chủng kháng tetracycline, chiếm tỷ lệ cao nhất 43,75 %; 13 chủng kháng ampicillin chiếm 27,08 %. Tỷ lệ các chủng kháng với ofloxacin, ceftriaxone và ceftazidime tương đối thấp, lần lượt là; 6,25 %, 6,25 % và 4,16 %.

Đây có thể là những kháng sinh chưa được người dân sử dụng phổ biến tại khu vực khảo sát, chưa được các nhà phân phối thuốc chăn nuôi giới thiệu rộng rãi. Nhờ vậy mà các kháng sinh này còn khả năng tác dụng trong điều trị các trường hợp nhiễm khuẩn *Salmonella* spp.

Bảng 3. Kết quả khảo sát tỷ lệ kháng kháng sinh của 48 chủng *Salmonella* spp.

Chủng Kháng sinh	Sal. nhóm B	Sal. nhóm C	Sal. nhóm D	Sal. nhóm khác	Tổng	
					Số chủng	Tỷ lệ %
Ampicilin	6	1	4	2	13	27,08
Augmentin	2	1	0	1	4	8,33
Azithromycin	4	0	0	2	6	12,50
Ceftriaxone	3	0	0	0	3	6,25
Ceftazidime	3	0	0	0	3	6,25
Chloramphenicol	8	0	0	2	10	20,83
Ciprofloxacin	6	1	0	1	8	16,66
Gentamicin	4	0	0	1	5	10,41
Nalidixic-acid	5	1	4	1	11	22,91
Ofloxacin	2	0	0	0	2	4,16
Bactrim	6	0	0	1	7	14,58
Tetracycline	12	2	4	3	21	43,75

So sánh với một số nghiên cứu trước đây cho thấy kết quả đề kháng kháng sinh cao hơn với nghiên cứu này. Mức độ kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập ở các điểm giết mổ gia cầm qui mô nhỏ tại các huyện ngoại thành Hà Nội, cho thấy hầu hết các chủng *Salmonella* spp. kháng với ít nhất một loại kháng sinh khảo sát và có tần số khác nhau: streptomycin (84,44 %), tetracycline (82,22 %), ciprofloxacin (35,56 %), norfloxacin (35,56 %), nalidixic acid (62,22 %), trimethoprim (80,00 %), ceftazidime (33,33 %), gentamicin (33,33 %) và nitrofurantoin (33,33 %) [3].

Tương tự như nghiên cứu nêu trên, các nhà nghiên cứu Nhật Bản và Việt Nam thực hiện nghiên cứu về sự lan tràn các chủng *Salmonella* kháng kháng sinh ở thịt heo và thịt gia cầm bán lẻ

ở miền Bắc Việt Nam cũng cho thấy tỉ lệ kháng kháng sinh khá cao mà cụ thể là kháng tetracycline (54,5 %), streptomycin (41,5 %), chloramphenicol (35,6 %), và ampicillin (33,1 %) [6]. Cùng với nghiên cứu này, một nghiên cứu tương tự của N.Đ. Hiền và cs (2012) khảo sát tình hình nhiễm và mức độ kháng thuốc ở *Salmonella* spp. phân lập từ vịt và môi trường nuôi vịt tại Cần Thơ cũng cho thấy các chủng *Salmonella* đã kháng với phần lớn các loại kháng sinh đang lưu hành hiện nay [1].

Bên cạnh đó, nghiên cứu của Hùng và cs (04/2015) phân lập *Salmonella* từ những bệnh nhân tiêu chảy cấp cũng cho thấy tỉ lệ kháng kháng sinh rất cao: 100 % với ampicillin; 88,89 % với chloramphenicol và 66,67 % với bactrim [2].

Một phát hiện đáng chú ý trong nghiên cứu này là 16,66 % số chủng phân lập được kháng với ciprofloxacin. Đây là thuốc kháng sinh bán tổng hợp, có phổ kháng khuẩn rộng, thuộc thể hệ thứ hai trong nhóm fluoroquinolon có khả năng ức chế DNA gyrase làm ngăn sự sao chép nhiễm sắc thể của vi khuẩn. Ciprofloxacin có tác dụng tốt với các vi khuẩn kháng lại kháng sinh thuộc các nhóm khác (aminoglycoside, cephalosporin, tetracycline, penicillin) và được coi là một trong những thuốc có tác dụng mạnh nhất trong nhóm fluoroquinolon.

Đặc biệt hơn nữa, trong nghiên cứu này cũng phát hiện 3 chủng *Salmonella* có tiết enzyme ESBL (β -lactam phổ rộng) kháng ceftriaxone cũng như ceftazidime. Đây là những thuốc kháng sinh thuộc họ cephalosporin thế hệ III. Kháng sinh này ức chế tổng hợp vách tế bào vi khuẩn và là kháng sinh đáp ứng tốt nhất trong điều trị vì tính chọn lọc của thuốc. Chính nhờ vậy mà cho đến hiện nay, β -lactam là nhóm kháng sinh được phát triển và đưa vào sử dụng nhiều nhất. Nhưng nếu sử dụng những kháng sinh này không đúng cách, sẽ gây nguy cơ xuất hiện vi khuẩn kháng lại những kháng sinh này. Phát hiện này giúp các cơ quan chức năng tăng cường quản lý việc phòng

trị bằng kháng sinh trong chăn nuôi ở Đắk Lắk nói riêng và khu vực Tây Nguyên nói chung.

Sự xuất hiện Salmonella đa kháng kháng sinh trong chăn nuôi.

Kết quả nghiên cứu cho thấy có 50 % số chủng *Salmonella* spp. phân lập được kháng với 1 loại kháng sinh; 42 % kháng với 2 loại kháng sinh. Đặc biệt, có 16/48 chủng vi khuẩn phân lập có hiện tượng đa kháng kháng sinh (kháng từ 3 loại kháng sinh trở lên), chiếm tỷ lệ 33 % tổng số chủng kháng.

Đối với *Salmonella* nhóm B xuất hiện 11 chủng đa kháng trong 25 chủng được phát hiện. Trong đó, có 3 chủng kháng 4 loại kháng sinh, 1 chủng kháng 8 loại kháng sinh và đặc biệt có 2 chủng kháng 11 loại kháng sinh.

Đối với *Salmonella* nhóm C, trong nghiên cứu này chỉ phân lập được 2 chủng, nhưng đều có kết quả kháng 3 loại kháng sinh.

Trong nghiên cứu này cũng phát hiện 4 chủng *Salmonella* nhóm D kháng với 3 loại kháng sinh. Ngoài ra, *Salmonella* nhóm khác có 1 chủng kháng 4 loại kháng sinh và 1 chủng kháng 7 loại kháng sinh (Bảng 4).

Bảng 4. Sự đa kháng kháng sinh của *Salmonella* spp.

Số chủng kháng nhiều loại kháng sinh		Sal. nhóm B	Sal. nhóm C	Sal. nhóm D	Sal. nhóm khác	Tổng
Số loại kháng sinh	2 loại	3	-	-	1	4
	3 loại	-	2	4	-	6
	4 loại	3	-	-	1	4
	5 loại	2	-	-	-	2
	6 loại	-	-	-	-	0
	7 loại	-	-	-	1	1
	8 loại	1	-	-	-	1
	9 loại	-	-	-	-	0
	10 loại	-	-	-	-	0
	11 loại	2	-	-	-	2
	12 loại	-	-	-	-	0
Tổng chủng kháng		11	2	4	3	20

Như vậy, *Salmonella* spp. mà đặc biệt là *Salmonella* nhóm B và nhóm D có nguy cơ xuất hiện chủng siêu kháng kháng sinh từ những biểu hiện của các chủng đa kháng. Do đó, với tình trạng sử dụng kháng sinh không được kiểm soát tốt, sự xuất hiện của vi khuẩn đa kháng và đa kháng hoàn toàn các kháng sinh đang sử dụng hiện nay là hoàn toàn có thể xảy ra.

Kết quả về tính đa kháng kháng sinh của nghiên cứu này còn thấp hơn so với những nghiên cứu trước đây. Ở Việt Nam, năm 2007 đã khảo sát tính kháng kháng sinh của 91 chủng *Salmonella* spp. phân lập từ 180 mẫu thịt heo, gà, bò tươi sống. Kết quả cho thấy 50,5 % chủng kháng với ít nhất một loại kháng sinh và trong số những chủng đa kháng thì kháng ít nhất 3 loại

kháng sinh thường dùng trong điều trị nhiễm trùng do vi khuẩn gây ra [7].

Kết quả nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) ở Salmonella spp.

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng biên độ nhạy cảm kháng sinh ở *Salmonella* rất rộng và khá cao (Bảng 5). Cụ thể như đối với ampicillin có MIC₉₀ là 512 µg/mL và có biên độ là từ 0,75 µg/mL đến 512 µg/mL.

Trong khi đó 2 loại kháng sinh được ngành thú y và y tế quan tâm nhất là ciprofloxacin và ceftriaxone đều đạt ngưỡng kháng cao MIC₉₀ là 64 µg/mL và 512 µg/mL tương ứng.

Bên cạnh đó, một số kháng sinh cần được quan tâm và theo dõi như azithromycin, chloramphenicol, gentamicin,...

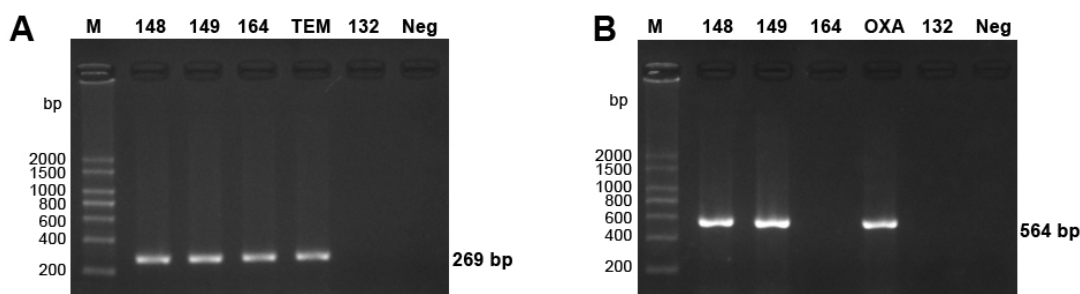
Bảng 5. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) ở *Salmonella* spp.

Kháng sinh	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Biên độ
Ampicillin	1,5	512	0,75- 512
Augmentin	1,5	8	1-12
Azithromycin	6	8	4-256
Ceftriaxone	0,125	0,19	0,064-512
Ceftazidime	0,125	0,19	0,064-512
Chloramphenicol	3	256	1.5-512
Ciproxacin	0,023	0,38	0,016-64
Gentamicin	1,5	2	0,75-256
Nalidixic-acid	6	512	4-512
Ofloxacin	0,125	1	0,064-64
Bactrim	0,094	64	0,064- 64
Tetracylin	3	64	1-512

Kết quả PCR phát hiện ESBL (β-lactamase phổ rộng) ở Salmonella

Với sản phẩm PCR có kích thước 269 bp (Hình 2A, giếng 148, 149 và 164) cả 3 chủng *Salmonella* khảo sát phân lập ở tỉnh Đắk Lắk đều có mang gen mã hóa ESBL tiết enzyme TEM cho sản phẩm PCR tương tự với mẫu đối chứng dương TEM (Hình 2A, giếng TEM) và sản phẩm

PCR có kích thước 564 bp (Hình 2B, giếng 148 và 149) từ chủng *Salmonella* 148 và 149 có mang gen mã hóa ESBL tiết enzyme OXA với sản phẩm PCR tương tự với mẫu đối chứng dương OXA (Hình 2B, giếng OXA). Cả 3 chủng mang gen mã hóa ESBL ở các trang trại chăn nuôi đều là *Salmonella* thuộc nhóm B.



Hình 2. Phát hiện gen mã hóa ESBL ở *Salmonella* spp. bằng kỹ thuật PCR. (A) phát hiện gen mã hóa TEM; (B) phát hiện gen mã hóa OXA. (M) Thang DNA 100 bp; (148, 149) chủng *Salmonella* spp. phân lập từ vịt ở tỉnh Đắk Lắk; (164) chủng *Salmonella* spp. phân lập từ heo rừng ở tỉnh Đắk Lắk; (TEM) chủng dương mang gen mã hóa TEM (269bp); (OXA) chủng dương mang gen mã hóa OXA (564bp). (132) *Salmonella* spp. phân lập từ vịt ở tỉnh Đắk Lắk nhạy với các kháng sinh thuộc nhóm β -lactam làm đối chứng âm cho TEM và OXA; (Neg) chứng âm (nước cất).

Như vậy, kết quả khảo sát các chủng *Salmonella* spp. mang gen mã hóa ESBL tiết enzyme OXA và TEM bằng kỹ thuật PCR cho thấy cả 3 chủng *Salmonella* thuộc nhóm B kháng ceftriaxone, augmentine và ceftazidime đều có mang gen mã hóa ESBL, còn các chủng khác vẫn còn nhạy cảm với ceftriaxone và ceftazidime và không phát hiện có mang gen mã hóa ESBL.

Đây là những chủng *Salmonella* spp. mang gen mã hóa ESBL trên plasmide đầu tiên phát hiện ở tỉnh Đắk Lắk. Những chủng *Salmonella* spp. này kháng được kháng sinh cephalosporin thế hệ III và rất có nguy cơ chuyển gen kháng kháng sinh từ thế hệ này sang thế hệ khác (chuyển gen theo chiều dọc) hoặc chuyển gen kháng kháng sinh từ loài vi sinh vật này sang loài vi sinh vật khác trong nhóm vi khuẩn đường ruột (chuyển gen theo chiều ngang). Cần có các biện pháp hạn chế sử dụng kháng sinh kịp thời trong chăn nuôi, đặc biệt là hạn chế sử dụng các loại kháng sinh mà các chủng vi khuẩn khảo sát còn nhạy cảm ở khu vực tỉnh Đắk Lắk.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã phân lập được 48 chủng *Salmonella* spp. thuộc 4 nhóm khác nhau từ 139 trang trại. Đã phát hiện 50 % *Salmonella* spp. phân lập được kháng với ít nhất 1 loại kháng sinh trong 12 loại kháng sinh khảo sát. Trong số 48 chủng *Salmonella* spp. phân lập có 4 chủng mang gen tiết ESBL trên plasmide. Nghiên cứu này cũng cho thấy *Salmonella* spp. trong phân gia súc, gia cầm ở khu vực tỉnh Đắk Lắk còn nhạy cảm với ofloxacin, ceftriaxone, ceftazidime, cipro-floxacin và augmentine. Kết quả này nhằm cung cấp cơ sở dữ liệu cho các cấp quản lý về y tế và chăn nuôi có những biện pháp quản lý hướng dẫn cho người dân sử dụng để tránh được hiện tượng đa kháng kháng sinh. Vì vậy, các cơ quan quản lý cần thông tin rộng rãi tình hình kháng kháng sinh trong chăn nuôi tại tỉnh Đắk Lắk nói riêng và khu vực Tây Nguyên nói chung, giúp các cơ quan chức năng, trung tâm khuyến nông khuyến cáo người dân cách sử dụng kháng sinh phù hợp trong phòng và trị bệnh cho vật nuôi.

Prevalence and antibiotic resistance pattern of *Salmonella* spp. isolated from farms at Dak Lak province

- **Nguyen Van Minh Hoang**
- **Nguyen Thanh Vinh**
- **James Ian Campbell**
- **Stephen Baker**
Oxford University Clinical Research Unit in Viet Nam (OUCRU)
- **Nguyen Canh Tu**
Regional Animal Health Organize V (RAHO V)
- **Phan Thi Phuong Trang**
University of Science, VNU-CMC

ABSTRACT

This study is to survey the prevalence and antibiotic resistance pattern of Salmonella spp. isolated from the farms at Dak Lak province, Viet Nam. 139 farms including 5 civet farms, 14 pig farms and 120 duck farms were sampled and analyzed. The results showed that many samples collected from 120 duck farms, 14 pig farms and 5 civet farms were positive positive for Salmonella spp. Four serogroups of

Salmonella species were demonstrated, Salmonella group B (25 strains), Salmonella group non-typable (13 strains), Salmonella group D (8 strains) and Salmonella group C (2 strains). There were 50 % of Salmonella strains resisting to at least one antibiotic, 75 % of the strains expressing multiple antibiotic resistance. In particular, 3 strains Salmonella secreted to ESBL (Extended-spectrum- beta lactamase).

Keywords: antibiotic resistance, prevalence, *Salmonella*, farm, DakLak province.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. N.Đ. Hiền, Tình hình nhiễm và mức độ kháng thuốc của *Salmonella* spp. phân lập từ vịt và môi trường nuôi vịt tại TP. Cần Thơ, *Tạp chí khoa học*, 22c, 1-7 (2012).
- [2]. H.V. Hùng và cs, Nghiên cứu căn nguyên gây tiêu chảy cấp và tính kháng kháng sinh của vi khuẩn ở bệnh nhân người lớn, *Tạp chí Y học Quân sự*, số tháng 4 (2015).
- [3]. N.V. Không, P.T. Ngọc, Đ.X. Tùng, Lapar Ma Lucila, F. Unger, N.V. Hùng, P.Đ. Phúc, P.T. Nga, G. Jeffrey và các cộng sự, Ô nhiễm *Salmonella* spp. ở các điểm giết mổ gia cầm qui mô nhỏ tại các huyện ngoại thành Hà Nội, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 2 (2012).
- [4]. C. Dallenne, et al., Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae, *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65, 3, 490-495 (2010).
- [5]. N.T.K. Nhu, et al., The sudden dominance of blaCTX-M harbouring plasmids in *Shigella* spp, circulating in Southern Vietnam, *PloS. Negl. Trop. Dis.*, 4, 6, e702 (2010).

- [6]. T.H. Thai, R. Yamaguchi, Molecular characterization of antibiotic-resistant *Salmonella* isolates from retail meat from markets in Northern Vietnam, *Journal of Food Protection*, 75, 9, 1709-14 (2012).
- [7]. V.T.T. Hao, G. Moutafis, T. Istivan, T.L. Thuoc, P.J. Coloe, Detection of *Salmonella* spp. in retail raw food samples from Vietnam and characterization of their antibiotic resistance, *Applied And Environmental Microbiology*, 6885–6890 (2007).