

SỰ HIỆN DIỆN CỦA VI KHUẨN *ESCHERICHIA COLI* KHÁNG KHÁNG SINH TRÊN CHÓ MẮC BỆNH VIÊM RUỘT DO PARVOVIRUS GÂY RA

Hoàng Minh Đức*, Trần Thị Khánh Hoà,
Phạm Thuỳ Linh, Nguyễn Thị Linh, Hoàng Minh Sơn
Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
*Tác giả liên hệ email: hoangminhduc@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Kháng sinh thường xuyên được sử dụng để chống nhiễm khuẩn kế phát ở chó mắc bệnh parvo. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* phân lập từ chó nhiễm parvovirus. Kết quả phân lập *E. coli* từ 25 mẫu swab trực tràng chó được chẩn đoán mắc bệnh parvo cho thấy có 16 (64%) mẫu dương tính với *E. coli*. Các chủng *E. coli* phân lập được có khả năng kháng cao với ampicillin (68,75%), kế tiếp là cephalexin (50%) và kháng thấp nhất với amikacin (6,25%). Đáng chú ý là có 75% (12/16) số chủng phân lập có khả năng kháng ít nhất một kháng sinh với 7 kiểu hình kháng được xác định. Đặc biệt, 25% (4/16) số chủng phân lập được là các chủng đa kháng. Kết quả kiểm tra kiểu hình và kiểu gen mã hoá ESBL cho thấy 4 chủng *E. coli* có khả năng sinh men ESBL và 3 kiểu hình gen được xác định bao gồm: 1 (25%) chủng mang gen *bla_{TEM}*, 1 (25%) chủng mang gen *bla_{CTX-M-1}*, và 2 (50%) chủng mang đồng thời cả 2 gen *bla_{TEM}* và *bla_{CTX-M-1}*.

Từ khóa: *E. coli*, parvovirus, kháng kháng sinh, chó.

Occurrence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in dogs infected with parvovirus

Hoàng Minh Duc, Tran Thi Khanh Hoa,
Pham Thuy Linh, Nguyen Thi Linh, Hoang Minh Son

SUMMARY

Antibiotics are commonly used against secondary bacterial infections in dogs suffered with parvo disease. The aim of this study was to determine the antibiotic resistance profile of *E. coli* isolated from dogs infected with parvovirus. The studied result showed that among 25 rectal swab samples from dogs diagnosed with parvo, there were 16 (64%) samples found to be positive with *E. coli*. The *E. coli* isolates showed high resistance rate with ampicillin (68.75%), followed by cephalexin (50%), while the lowest resistance rate was observed with amikacin (6.25%). Notably, there were 75% (12/16) of isolates resistant to at least one antibiotic, with 7 resistance patterns. Especially, 25% (4/16) of *E. coli* isolates were determined as multidrug resistant strains. The phenotypic and genotypic characterization of ESBL-producing *E. coli* revealed that 4 strains were capable of producing ESBL and 3 genotypic patterns were recorded, including: 1 (25%) isolate carried the *bla_{TEM}* gene, 1 (25%) isolate harboured the *bla_{CTX-M-1}* gene, and 2 (50%) isolates simultaneously possessed both *bla_{TEM}* and *bla_{CTX-M-1}* genes.

Keywords: *E. coli*, parvovirus, antibiotic resistance, dog.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh viêm dạ dày - ruột cấp tính là một bệnh truyền nhiễm quan trọng ở chó do Canine parvovirus type 2 (CPV-2) gây ra, hay còn gọi là

bệnh parvovirus (parvo). Bệnh được đặc trưng bởi các tình trạng nôn mửa, viêm ruột nặng, tiêu chảy phân lỏng lẫn máu ở chó mọi lứa tuổi, ngoài ra còn gây viêm cơ tim dẫn tới suy tim ở chó con

dưới 3 tháng tuổi (Hayes và cs., 1979). CPV-2 có tỷ lệ mắc cao (100%), tỷ lệ tử vong lên tới 10% ở chó trưởng thành và trên 90% ở chó con (Nandi và Kumar, 2010). Kể từ khi được phát hiện vào năm 1978, nhiều loại vaccin đã được nghiên cứu, phát triển và sử dụng. Tuy nhiên, việc kiểm soát bệnh vẫn thất bại và là mối đe dọa lớn đối với chó con (Pratelli và cs., 2001).

Escherichia coli (*E. coli*) được biết đến là vi khuẩn cơ hội cư trú trong đường tiêu hóa của động vật máu nóng, gây bệnh khi sức đề kháng của động vật chủ giảm. Đường tiêu hóa là nơi xảy ra tổn thương nặng nề nhất do những tác động liên quan đến nhiễm CPV-2 (Nandi và Kumar, 2010). Những tổn thương trong đường tiêu hóa tạo điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn cơ hội, đặc biệt là *E. coli* có thể xâm nhập và tiết độc tố gây nhiễm trùng lan rộng ở các cơ quan, làm bệnh tình trở nên trầm trọng hơn (Mohr và cs., 2003). Mặc dù, tình trạng bội nhiễm *E. coli* ở chó bị nhiễm CPV-2 thường xuyên xảy ra nhưng tại Việt Nam chưa có công bố nào liên quan đến vấn đề này.

Các phác đồ điều trị phần lớn là điều trị triệu chứng và hộ lý, bao gồm : (i) bù nước, (ii) chống nôn, (iii) kháng khuẩn kể phát, (iv) tăng cường sức đề kháng (Mohr và cs., 2003). Các kháng sinh thường được sử dụng trong điều trị bệnh parvo bao gồm penicillins phổ rộng, cephalosporins phổ rộng và fluoroquinolones (Mylonakis và cs., 2016). Trong khi đó, *E. coli* là sinh vật phổ biến nhất trong hệ tiêu hóa, thường phải chịu áp lực của kháng sinh, do đó có thể phát triển khả năng kháng rất cao (Zhou và cs., 2022). Tình trạng kháng kháng sinh đang là mối đe dọa đối với sức khỏe toàn cầu, đặt ra những thách thức trong điều trị các bệnh do vi khuẩn gây ra (WHO, 2016). Đặc biệt, sự gia tăng vi khuẩn *E. coli* kháng nhóm β -lactam, là nhóm kháng sinh quan trọng nhất được sử dụng rộng rãi cả trong nhân y và thú y (Zhou và cs., 2022). Hiện nay, khả năng kháng của *E. coli* đối với nhóm kháng sinh này thường liên quan tới cơ chế sản xuất men ESBL (Extended spectrum β -lactamase). Trong khi đó, gen mã hóa men ESBL thường nằm trên các plasmid góp phần lây lan các yếu tố kháng kháng sinh (Carattoli, 2013). Đáng

chú ý, vi khuẩn *E. coli* sinh men ESBL phân lập từ chó có khả năng đa kháng đã được phát hiện phổ biến trong các nghiên cứu gần đây (Lê Chí Kiên và cs., 2021). Trên thế giới, sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* đa kháng được ghi nhận thường xuyên tại các quốc gia như Trung Quốc, Hàn Quốc, Argentina (Moon và cs., 2023; Zhou và cs., 2022). Điều này là nguyên nhân dẫn đến việc điều trị các trường hợp nhiễm khuẩn ở động vật đồng hành bằng các liệu pháp kháng sinh ngày càng trở nên kém hiệu quả.

Từ những lý do trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm xác định tỷ lệ nhiễm, tính kháng kháng sinh và gen mã hóa men ESBL của *E. coli* phân lập từ chó nhiễm parvovirus. Đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam cung cấp thông tin về tình trạng kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* trên chó mắc parvo nhằm lựa chọn kháng sinh phù hợp trong điều trị các bệnh nhiễm khuẩn kể phát ở chó.

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

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Phân lập vi khuẩn *E. coli* từ chó mắc bệnh parvo
- Xác định tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập được
- Xác định kiểu hình ESBL của vi khuẩn *E. coli* phân lập được
- Xác định kiểu gen mã hoá ESBL của vi khuẩn *E. coli* phân lập được.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

Tổng cộng 25 mẫu swab trực tràng của những con chó được chẩn đoán bị bệnh parvo được thu thập tại phòng khám Ichi Pet (Đông Anh, Hà Nội).

Môi trường, hóa chất, dụng cụ được sử dụng để chẩn đoán bệnh parvo ở chó, phân lập, xác định tính kháng kháng sinh, kiểu hình và kiểu gen mã hóa men ESBL của vi khuẩn *E. coli*, bao gồm: kit test nhanh parvovirus, thạch MacConkey, thạch Eosin Methylen Blue (EMB), thạch Mueller Hinton (MHA), thạch

Triple Sugar Iron (TSI), thạch Simmons Citrate, Nutrient Broth (NB), Buffered Peptone Water (BPW), thuốc thử Kovac's, Methyl red, NaCl, thuốc nhuộm gram, đĩa tẩm kháng sinh và hóa chất dùng cho phản ứng PCR.

Kháng sinh bột: amikacin, gentamicin, ampicillin, cephalixin, cefotaxime, enrofloxacin, orbifloxacin.

2.3. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 6 năm 2021 đến tháng 8 năm 2023.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Lấy mẫu

Tổng 25 mẫu swab trực tràng của những con chó được chẩn đoán mắc bệnh parvo được thu thập tại phòng khám Ichi Pet (Đông Anh, Hà Nội). Những con chó có biểu hiện tiêu chảy xuất huyết, phân màu đỏ tươi có mùi tanh, nôn mửa và xác định dương tính với CPV bằng kit test nhanh sẽ được lựa chọn (hình 1). Việc lấy mẫu được thực hiện bởi bác sỹ thú y tại phòng khám thú y. Cụ thể, sử dụng tăm bông vô trùng đưa vào sâu nhất có thể bên trong hậu môn chó, sau đó xoay tròn tiến lui để tăng sự tiếp xúc của chất chứa có trong trực tràng. Không lựa chọn chó dữ, phản kháng quá mạnh, phải đảm bảo thao tác nhẹ nhàng và tăm bông không tiếp xúc với lông, da của chó. Các tăm bông đã lấy mẫu trực tràng được đưa ngay vào ống falcon, phần bông của que tăm phải ngập trong dung dịch BPW, xoáy chặt nắp ống. Mẫu sau khi thu thập được bảo quản lạnh và vận chuyển về phòng thí nghiệm Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam để tiến hành phân lập vi khuẩn *E. coli*. Mẫu được xử lý trong vòng 24h kể từ khi lấy mẫu.

2.4.2. Phân lập vi khuẩn *E. coli*

Dịch mẫu swab trực tràng được ria cấy trên môi trường thạch MacConkey, ủ 37°C trong 24 h. Trên thạch MacConkey, lựa chọn khuẩn lạc có màu hồng cánh sen, tròn bóng, rìa gọn, đường kính từ 1-2mm (hình 2A), sau đó cấy chuyển lên môi trường thạch EMB. Khuẩn lạc *E. coli* trên

EMB tròn lồi, rìa gọn, có tâm đen, ánh kim xanh (hình 2B) được lựa chọn và cấy chuyển sang môi trường dinh dưỡng NB, ủ 37°C trong 24 h. Canh khuẩn được sử dụng để kiểm tra các đặc tính sinh hóa (indol, methyl red, voges proskauer, simmon citrate, TSI) và nhuộm gram. Các chủng *E. coli* được bảo quản trong glycerol 20% ở -86°C.

2.4.3. Xác định tính miễn cảm với kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập

Tính miễn cảm với kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được xác định bằng phương pháp pha loãng trên thạch (agar dilution) nhằm xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các kháng sinh, bao gồm amikacin, gentamicin, cephalixin, cefotaxime, ampicillin, enrofloxacin, orbifloxacin theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và phòng thí nghiệm (CLSI, 2018, 2021). Chủng *E. coli* ATCC 25922 được sử dụng làm chủng đối chứng.

2.4.4. Xác định kiểu hình ESBL của vi khuẩn *E. coli*

Các chủng *E. coli* kháng cefotaxime được coi là các chủng sản sinh men ESBL giả định và được giám định khả năng sinh men ESBL bằng phương pháp đĩa đôi kết hợp (DDST) theo hướng dẫn của CLSI (2021), được thực hiện như sau: Các chủng vi khuẩn *E. coli* đích được tăng sinh trong môi trường NB, ủ 37°C trong 24 h. Pha huyền dịch vi khuẩn đã tăng sinh với NaCl 0,9% để đạt độ đục tương đương 0,5 McFarland (10^8 CFU/mL), sau đó láng đều canh khuẩn lên bề mặt thạch MHA, để yên khoảng 15 phút cho bề mặt thạch khô. Tiến hành đặt 2 cặp đĩa tẩm kháng sinh cefotaxime (30µg) + acid clavulanic (10µg) và cefotaxime (30µg), ceftazidime (30µg) + acid clavulanic (10µg) và ceftazidime (30µg), được đặt cách nhau 20 mm trên bề mặt thạch và ủ ở 37°C trong 16-18 h. Kết quả được xác định dựa trên đường kính vòng vô khuẩn xung quanh đĩa tẩm kháng sinh. Vi khuẩn *E. coli* có khả năng sinh men ESBL khi hiệu số đường kính vòng vô khuẩn của đĩa tẩm kháng sinh có clavulanic acid và đĩa không có clavulanic acid của một trong hai cặp kháng sinh ≥ 5 mm.

2.4.5. Xác định kiểu gen mã hóa ESBL của vi khuẩn *E. coli*

Các chủng *E. coli* mang kiểu hình ESBL được kiểm tra sự có mặt của các gen mã hóa men ESBL bằng phản ứng Multiplex PCR sử dụng các mồi dựa trên kết quả nghiên cứu của Le và cs. (2015)

được thể hiện ở bảng 1. Phản ứng PCR thực hiện trong chu trình nhiệt như sau: giai đoạn biến tính ban đầu ở 95°C/5 phút; 25 chu kỳ (giai đoạn biến tính 95°C/30 giây, giai đoạn gắn mồi 60°C/90 giây, giai đoạn kéo dài 72°C/90 giây); giai đoạn kéo dài cuối cùng ở 68°C/10 phút.

Bảng 1. Thông tin các cặp mồi được sử dụng trong nghiên cứu

Gen mục tiêu	Mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Kích thước sản phẩm (bp)
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	CTXM1-115F	GAATTAGAGCGGCAGTCGGG	588
	CTXM1-702R	CACAACCCAGGAAGCAGGC	
<i>bla</i> _{CTX-M-2}	CTXM2-39F	GATGGCGACGCTACCCC	107
	CTXM2-145R	CAAGCCGACCTCCCGAAC	
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	CTXM9-16F	GTGCAACGGATGATGTTCGC	475
	CTXM9-490R	GAAACGTCTCATCGCCGATC	
<i>bla</i> _{CTX-M-8/25}	CTXM8g25g-533F	GCGACCCGCGCGATAC	186
	CTXM8g25g-718R	TGCCGGTTTTATCCCCG	
<i>bla</i> _{TEM}	TEM-410F	GGTCGCCGCATACACTATTCTC	372
	TEM-781R	TTTATCCGCCTCCATCCAGTC	
<i>bla</i> _{SHV}	SHV-287F	CCAGCAGGATCTGGTGGACTAC	231
	SHV-517R	CCGGAAGCGCCTCAT	

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập vi khuẩn *E. coli* từ chó mắc bệnh parvo

Tổng 25 mẫu swab trực tràng được thu thập từ những con chó được xác định nhiễm parvovirus có biểu hiện tiêu chảy xuất huyết, phân màu đỏ

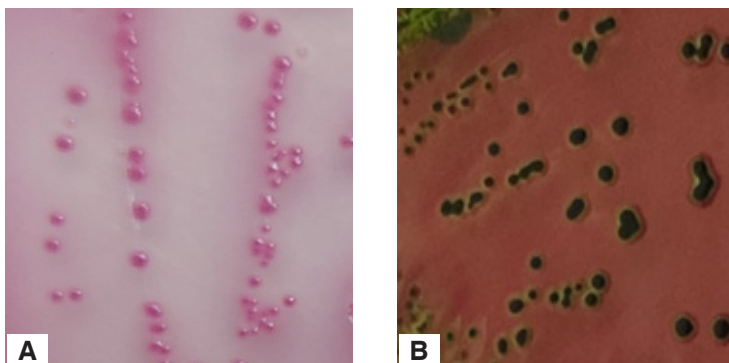
tươi có mùi tanh (hình 1A) và xác định dương tính với CPV bằng kit test nhanh (hình 1B). Kết quả phân lập cho thấy 16 (64%) mẫu dương tính với *E. coli*. Để tránh sự trùng lặp thì chỉ giữ giống 1 chủng *E. coli* từ 1 mẫu swab trực tràng chó. Tổng cộng 16 chủng *E. coli* được phân lập và giữ giống ở trong glycerol 20% trong tủ lạnh -86°C.



Hình 1. Phân chó mắc bệnh parvo có màu đỏ tươi (A), kit test nhanh cho kết quả dương tính với CPV (B)

Sau khi nhiễm parvovirus, hệ vi sinh vật trong đường ruột bị mất cân bằng là nguyên nhân gây tiêu chảy nặng, dẫn đến sức đề kháng giảm đã tạo điều kiện cho vi khuẩn *E. coli* tăng nhanh về số lượng và sản sinh độc tố làm tăng nguy cơ tử vong ở chó (Isogai và cs., 1989; Kaper và cs.,

2004). Các tổn thương ở niêm mạc đường tiêu hóa là điều kiện lý tưởng để vi khuẩn có thể xâm nhập vào tuần hoàn máu, di chuyển và làm tổn thương các cơ quan khác. Nghiên cứu của Isogai và cs. (1989) chỉ ra rằng các chủng *E. coli* phân lập từ máu chó có nguồn gốc từ đường tiêu hóa.



Hình 2. Hình thái khuẩn lạc của *E. coli* trên thạch MacConkey (A) và thạch EMB (B)

Một nghiên cứu xác định các loài vi khuẩn đồng nhiễm với parvovirus ở chó đã chỉ ra rằng *E. coli* là chủng vi khuẩn phổ biến nhất, trong đó 30,43% (7/23) mẫu ruột và 52,13% (12/23) mẫu từ các cơ quan cho thấy sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli*, mặc dù vi khuẩn này thường sống hội sinh trong đường ruột của động vật (Schirò và cs., 2022). Bên cạnh đó, nghiên cứu của Zhou và cs. (2022) báo cáo rằng vi khuẩn *E. coli* được phát hiện trong 63,75% mẫu phết hậu môn chó khỏe, tương đồng với kết quả trong nghiên cứu này.

3.2. Khả năng kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được

Kháng sinh là lựa chọn hàng đầu để điều trị nhiễm trùng do vi khuẩn, đóng vai trò quan trọng trong điều trị và phòng ngừa bệnh kể phát do vi khuẩn ở người và động vật. Tuy nhiên, tình trạng kháng kháng sinh ở động vật đồng hành đã tạo ra thách thức lớn trong việc điều trị nhiễm trùng trong thú y. Trong khi đó, vi khuẩn hội sinh đường ruột *E. coli* được khuyến nghị là chỉ số để theo dõi tình trạng kháng thuốc kháng sinh (EFSA, 2023). Các chủng *E. coli* phân lập được trong nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ kháng cao nhất với ampicillin (68,75%), tiếp theo là cephalixin (50%),

cefotaxime (25%), enrofloxacin (25%) và kháng thấp nhất với amikacin (6,25%) (bảng 2). Trong điều trị các trường hợp chó bị viêm ruột truyền nhiễm do parvovirus thì kháng sinh phổ rộng được sử dụng để chống nhiễm khuẩn kể phát. Các loại kháng sinh thường được sử dụng phổ biến trong điều trị thuộc nhóm penicillins, cephalosporins, aminoglycosides và fluoroquinolones (Mylonakis và cs., 2016). Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh không kiểm soát dẫn đến sự xuất hiện và phát triển vi khuẩn *E. coli* kháng kháng sinh, điều này làm giảm hiệu quả của liệu pháp kháng sinh.

β -lactam là nhóm kháng sinh được sử dụng rộng rãi nhất trong cả nhân y và thú y do tính an toàn và phổ kháng khuẩn rộng. β -lactam được chia thành nhiều phân nhóm khác nhau, bao gồm penicillins, cephalosporins, carbapenems, monobactams. Trong nghiên cứu này, các chủng *E. coli* phân lập được có tỷ lệ kháng từ trung bình đến cao với các kháng sinh thuộc nhóm β -lactam, tương tự kết quả nghiên cứu của Lê Chí Kiên và cs. (2021) chỉ ra rằng vi khuẩn *E. coli* có khả năng kháng cao với nhóm kháng sinh penicillin (61%). Tỷ lệ kháng của vi khuẩn *E. coli* phân lập từ chó mắc parvo với ampicillin (thuộc nhóm penicillins), cephalixin (cephalosporin thế

hệ 1) lần lượt là 63,16% và 84,21% được ghi nhận trong nghiên cứu của Schirò và cs. (2022). Cũng trong nghiên cứu này, các chủng *E. coli* phân lập được còn mang khả năng kháng gentamicin (63,16%) và enrofloxacin (21,05%) thuộc nhóm aminoglycosides và fluoroquinolones. Nghiên cứu của Moon và cs. (2023) tại Hàn Quốc, vi khuẩn *E. coli* được phân lập từ chó khỏe trong giai đoạn năm 2020-2022 thể hiện tính kháng ampicillin (42,4%),

amikacin (0,6%), gentamicin (8,3%), enrofloxacin (16,2%), orbifloxacin (17,4%). Nghiên cứu của Rzewuska và cs. (2015) trên chó và mèo mắc các bệnh nhiễm trùng khác nhau tại Ba Lan báo cáo tỷ lệ kháng cefotaxime và gentamicin của các chủng *E. coli* phân lập được lần lượt là 31,4% và 68,9%. Vì vậy, các chiến lược giám sát vi khuẩn kháng kháng sinh trên động vật đồng hành đã được thực hiện nhằm kiểm soát khả năng truyền lây sang người.

Bảng 2. Tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được (n=16)

Nhóm kháng sinh	Kháng sinh	Số chủng kháng	Tỷ lệ (%)
Aminoglycosides	Amikacin	1	6,25
	Gentamicin	3	18,75
β -lactam	Ampicillin	11	68,75
	Cephalexin	8	50
	Cefotaxime	4	25
Fluoroquinolones	Enrofloxacin	4	25
	Orbifloxacin	3	18,75

Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu cho thấy các chủng *E. coli* có tỷ lệ kháng tương đối thấp với amikacin, gentamicin (aminoglycosides); cefotaxime (cephalosporin thế hệ thứ 3); enrofloxacin, orbifloxacin (fluoroquinolones), tương tự báo cáo của Mazzaferro và cs. (2020). Do đó, các kháng sinh này được khuyến cáo sử dụng trong điều trị để chống nhiễm khuẩn kế phát ở chó nhiễm parvovirus. Tuy nhiên, việc quản lý và sử dụng một cách hợp lý là cực kỳ quan trọng nhằm tránh tình trạng hình thành

và gia tăng các chủng vi khuẩn *E. coli* kháng kháng sinh để duy trì hiệu quả của liệu pháp kháng sinh trong điều trị bệnh parvo cũng như các bệnh lý nhiễm trùng khác. Ngoài ra, nhóm kháng sinh cephalosporin (thế hệ thứ ba và thứ tư) và fluoroquinolones nằm trong danh sách kháng sinh cực kỳ quan trọng bởi nhóm kháng sinh này cung cấp liệu pháp đầu tiên điều trị vi khuẩn gram âm đa kháng thuốc gây bệnh đường ruột trên người (WHO, 2016).

Bảng 3. Kiểu hình kháng của các chủng *E. coli* phân lập được

Số kháng sinh	Số kiểu hình kháng	Kiểu hình kháng	Số chủng	Tỷ lệ (%)
0	-	-	4	25
1	2	AMP	4	25
1		CFX	1	6,25
2	1	AMP CFX	3	18,75
5	2	GEN AMP CFX CTX ENR	1	6,25
5		AMP CFX CTX ENR OBX	1	6,25
6	1	GEN AMP CFX CTX ENR OBX	1	6,25
7	1	AMK GEN AMP CFX CTX ENR OBX	1	6,25

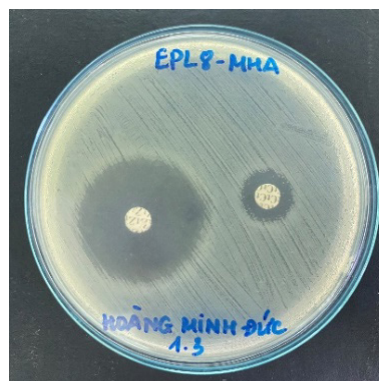
Ghi chú: AMK (amikacin), GEN (gentamicin), AMP (ampicillin), CFX (cephalexin), CTX (cefotaxime), ENR (enrofloxacin), OBX (Orbifloxacin)

Trong những năm gần đây, vi khuẩn *E. coli* trở nên đa kháng với kiểu hình kháng đa dạng dẫn đến làm hạn chế lựa chọn kháng sinh trong điều trị. Đa kháng kháng sinh được định nghĩa là khả năng kháng từ ba nhóm kháng sinh trở lên (Magiorakos và cs., 2012). Kết quả kiểm tra cho thấy 12 chủng *E. coli* phân lập được kháng từ một loại kháng sinh trở lên, 4 chủng thể hiện tính đa kháng và một chủng kháng tất cả kháng sinh dùng trong thử nghiệm. Kiểu hình kháng phổ biến nhất là AMP và AMP-CFX được quan sát thấy ở 4 và 3 chủng *E. coli* phân lập (bảng 3). Kết quả nghiên cứu đã chứng minh sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* đa kháng thuốc ở chó mắc bệnh parvo.

Theo nghiên cứu của Schirò và cs. (2022), vi khuẩn *E. coli* phân lập từ chó nhiễm CPV2 có khả năng đa kháng nhiều nhóm kháng sinh, bao gồm penicillin, cephalosporins, sulfonamides, fluoroquinolones, aminoglycosides, tetracyclines và phenicols. Tại Hàn Quốc, Moon và cs. (2023) tiến hành kiểm tra tính kháng kháng sinh của *E. coli* phân lập được từ chó khỏe phát hiện 85,1% chủng kháng ít nhất một loại kháng sinh, 42,3% chủng cho kết quả đa kháng và kháng từ 5 loại kháng sinh trở lên được tìm thấy ở 29,2% chủng. Vi khuẩn *E. coli* cho thấy khả năng kháng nhiều nhóm kháng khác nhau như aminoglycosides, fluoroquinolones, tetracyclines, sulfonamides. Nguyên nhân có thể do khả năng kháng chéo qua trung gian plasmid là mối nguy làm xuất hiện và gia tăng các kiểu hình kháng (Magiorakos và cs., 2012).

3.3. Xác định kiểu hình và kiểu gen mã hóa men ESBL

Sự xuất hiện vi khuẩn *E. coli* sinh men ESBL trên động vật đồng hành tiềm ẩn nhiều mối nguy đối với sức khỏe cộng đồng, do đó đang được quan tâm nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, 4 chủng *E. coli* kháng cefotaxime được đem kiểm tra khả năng sản sinh men ESBL. Kết quả cho thấy 100% các chủng mang kiểu hình ESBL.

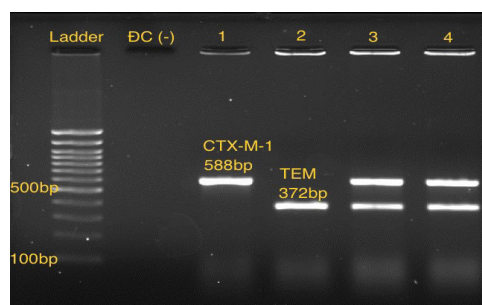


Hình 3. Kết quả kiểm tra kiểu hình ESBL của chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được

Các chủng này được xác định kiểu gen mã hóa men ESBL thường được phát hiện ở động vật, bao gồm bla_{SHV} , bla_{TEM} , $bla_{CTX-M-1}$, $bla_{CTX-M-2}$, $bla_{CTX-M-8/25}$ và $bla_{CTX-M-9}$. Kết quả nghiên cứu ghi nhận 1 (25%) chủng mang gen bla_{TEM} , 1 (25%) chủng mang gen và $bla_{CTX-M-1}$, 2 (50%) chủng mang đồng thời cả 2 gen bla_{TEM} và $bla_{CTX-M-1}$ và không quan sát thấy sự hiện diện của gen bla_{SHV} , $bla_{CTX-M-2}$, $bla_{CTX-M-8/25}$ và $bla_{CTX-M-9}$ (bảng 4).

Bảng 4. Kết quả xác định gen mã hóa men ESBL của các chủng *E. coli* phân lập được (n=4)

Kiểu gen	Số chủng mang gen	Tỷ lệ (%)
bla_{TEM}	1	25
$bla_{CTX-M-1}$	1	25
$bla_{TEM} + bla_{CTX-M-1}$	2	50



Hình 4. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại gen mã hóa ESBL

Ghi chú: Giếng 1: Thang chuẩn DNA 100bp (Ladder), giếng 2: Đối chứng âm (ĐC-), giếng 3-6: Chủng *E. coli* sinh men ESBL phân lập được (1-4)

Nghiên cứu của Lê Chí Kiên và cs. (2021) báo cáo rằng các chủng *E. coli* sinh men ESBL phân lập từ mẫu phết hậu môn chó mang đồng thời gen $bla_{TEM} + bla_{CTX-M-1}$ chiếm ưu thế nhất với tỷ lệ là 30% (13/44), trong khi đó các gen $bla_{CTX-M-1}$, bla_{TEM} chỉ được phát hiện ở 9% (4/44) và 2% (1/44) chủng, ngoài ra không phát hiện chủng mang gen bla_{SHV} , $bla_{CTX-M-2}$, $bla_{CTX-M-8}$; tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Tại Trung Quốc, nghiên cứu của Zhou và cs. (2022) đã phát hiện vi khuẩn *E. coli* mang các loại gen mã hóa men ESBL có sự khác biệt từ năm 2012-2021, trong đó gen bla_{CTX-M} chiếm ưu thế trong giai đoạn năm 2012-2015, nhưng $bla_{TEM} + bla_{CTX-M}$ phổ biến nhất trong năm 2021, tuy nhiên bla_{TEM} không được phát hiện trong quá trình nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng các chủng *E. coli* trên chó thường mang gen bla_{TEM} và bla_{CTX-M} . Sự khác biệt về kết quả giữa các nghiên cứu là do khu vực địa lý, thời gian nghiên cứu, mẫu nghiên cứu và phương pháp nghiên cứu khác nhau.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ phân lập *E. coli* từ chó mắc bệnh parvo là 64%. Các chủng *E. coli* có tỷ lệ kháng cao nhất với các kháng sinh ampicillin (68,75%) và cephalexin (50%), tiếp theo là cefotaxime, enrofloxacin (đồng tỷ lệ là 25%) và kháng thấp nhất với amikacin (6,25%). Tính đa kháng được ghi nhận thấy ở 25% số chủng phân lập với 7 kiểu hình kháng được xác định. Trong 4 chủng *E. coli* mang kiểu hình ESBL có 1 (25%) chủng mang gen bla_{TEM} , 1 (25%) chủng mang gen và $bla_{CTX-M-1}$, 2 (50%) chủng mang đồng thời cả 2 gen bla_{TEM} và $bla_{CTX-M-1}$. Nghiên cứu đã đánh giá tình trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập từ chó nhiễm parvovirus. Tuy nhiên, cần tiến hành nghiên cứu thêm để xác định các yếu tố độc lực của các chủng vi khuẩn *E. coli* này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Carattoli, A., 2013. Plasmids and the spread of resistance. In *International Journal of Medical Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.001>
2. CLSI, 2018. *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals*. 4th ed. CLSI supplement VET08.
3. CLSI, 2021. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31st ed. CLSI supplement M100. Informational Supplement M100-S31. In *Journal of Services Marketing*.
4. EFSA, 2023. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2020/2021. *EFSA Journal*, 21(3). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7867>
5. Hayes, M. A., Russel, R. G., Mueller, R. W., & Lewis, R. J., 1979. Myocarditis in young dogs associated with a parvovirus-like agent. In *Canadian Veterinary Journal* (Vol. 20, Issue 5).
6. Isogai, E., Isogai, H., Onuma, M., Mizukoshi, N., Hayashi, M., & Namioka, S., 1989. *Escherichia coli* associated endotoxemia in dogs with parvovirus infection. *Nippon Juigaku Zasshi. The Japanese Journal of Veterinary Science*, 51(3). <https://doi.org/10.1292/jvms1939.51.597>
7. Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T., 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 2, Issue 2, pp. 123–140). <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
8. Lê Chí Kiên, Võ Quốc Cường, Trần Thanh Xuân, Đặng Mạnh Hùng, Nguyễn Ngọc Mỹ Huyền, Phan Thị Phương Trang, James Ian Campbell & Nguyễn Văn Minh Hoàng, 2021. Khảo sát tỷ lệ mang gen mã hóa enzym ESBL và Amp-C- β -lactamase của vi khuẩn *Escherichia coli* được phân lập tại các trại chó ở Đắk Lắk. *Tạp chí Phát Triển Khoa Học và Công Nghệ - Khoa Học Tự Nhiên*, 5(2), 1198–1207. <https://doi.org/10.32508/stdjns.v5i2.996>
9. Le, Q. P., Ueda, S., Nguyen, T. N. H., Dao, T. V. K., Van Hoang, T. A., Tran, T. T. N., Hirai, I., Nakayama, T., Kawahara, R., & Do, T. H., 2015. Characteristics of extended-spectrum

- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in retail meats and shrimp at a local market in Vietnam. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(8), 719–725.
10. Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L., 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
 11. Mazzaferro, E. M., 2020. Update on Canine Parvoviral Enteritis. In *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* (Vol. 50, Issue 6). <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2020.07.008>
 12. Mohr, A. J., Leisewitz, A. L., Jacobson, L. S., Steiner, J. M., Ruaux, C. G., & Williams, D. A., 2003. Effect of Early Enteral Nutrition on Intestinal Permeability, Intestinal Protein Loss, and Outcome in Dogs with Severe Parvoviral Enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(6). <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02516.x>
 13. Moon, B.-Y., Ali, M. S., Kwon, D.-H., Heo, Y.-E., Hwang, Y.-J., Kim, J.-I., Lee, Y. J., Yoon, S.-S., Moon, D.-C., & Lim, S.-K., 2023. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Healthy Dogs and Cats in South Korea, 2020–2022. *Antibiotics*, 13(1), 27.
 14. Mylonakis, M., Kalli, I., & Rallis, T., 2016. Canine parvoviral enteritis: an update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention. *Veterinary Medicine: Research and Reports, Volume 7*. <https://doi.org/10.2147/vmrr.s80971>
 15. Nandi, S., & Kumar, M., 2010. Canine Parvovirus: Current Perspective. *Indian Journal of Virology*, 21(1), 31–44. <https://doi.org/10.1007/s13337-010-0007-y>
 16. Pratelli, A., Cavalli, A., Martella, V., Tempesta, M., Decaro, N., Carmichael, L. E., & Buonavoglia, C., 2001. Canine parvovirus (CPV) vaccination: Comparison of neutralizing antibody responses in pups after inoculation with CPV2 or CPV2b modified live virus vaccine. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8(3). <https://doi.org/10.1128/CDLI.8.3.612-615.2001>
 17. Rzewuska, M., Czopowicz, M., Kizerwetter-wida, M., Chrobak, D., Błaszczyk, B., & Binek, M., 2015. Multidrug resistance in *Escherichia coli* strains isolated from infections in dogs and cats in Poland (2007–2013). *Scientific World Journal*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/408205>
 18. Schirò, G., Gambino, D., Mira, F., Vitale, M., Guercio, A., Purpari, G., Antoci, F., Licitra, F., Chiaramonte, G., Giglia, M. La, Randazzo, V., & Vicari, D., 2022. Antimicrobial Resistance (AMR) of Bacteria Isolated from Dogs with Canine Parvovirus (CPV) Infection: The Need for a Rational Use of Antibiotics in Companion Animal Health. *Antibiotics*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020142>
 19. WHO, FAO & OIE, 2016. Antimicrobial Resistance: A Manual for Developing National Action Plans. In *Jama* (Issue February). <https://doi.org/10.1001/jama.2016.11764>
 20. Zhou, Y., Ji, X., Liang, B., Jiang, B., Li, Y., Yuan, T., Zhu, L., Liu, J., Guo, X., & Sun, Y., 2022. Antimicrobial Resistance and Prevalence of Extended Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* from Dogs and Cats in Northeastern China from 2012 to 2021. *Antibiotics*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111506>

Ngày nhận: 15-2-2024

Ngày phản biện: 28-3-2024

Ngày đăng: 1-6-2024