

# XÁC ĐỊNH TÍNH KHÁNG KHÁNG SINH VÀ ĐẶC TÍNH SINH HỌC PHÂN TỬ CỦA VI KHUẨN *Escherichia coli* SẢN SINH MEN EXTENDED SPECTRUM $\beta$ -LACTAMASE (ESBL) PHÂN LẬP TỪ VỊT

Hoàng Minh Đức\*, Cam Thị Thu Hà,  
Trần Thị Khánh Hoà, Phạm Thuỳ Linh, Hoàng Minh Sơn

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: hoangminhduc@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 19.03.2024

Ngày chấp nhận đăng: 12.04.2024

## TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định kiểu hình và kiểu gen kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* sản sinh men ESBL phân lập từ vịt. Tổng 50 mẫu dịch ngoáy trực tràng vịt được thu thập tại các chợ trên địa bàn huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội. Tất cả các chủng phân lập được trong nghiên cứu này kháng với streptomycin, ampicillin, tetracycline, ceftazidime và cefotaxime. Bên cạnh đó, chúng cũng có tỷ lệ kháng cao với sulfamethoxazole/trimethoprim (95,65%), gentamicin (91,3%) và chloramphenicol (91,3%). Mức độ kháng thấp của *E. coli* phân lập được ghi nhận đối với kháng sinh cefoxitin (30,43%) và 100% chủng phân lập được miễn cảm với meropenem. Đặc biệt, tất cả các chủng phân lập được xác định là các chủng đa kháng. Kết quả kiểm tra kiểu hình ESBL của các chủng *E. coli* giả định có khả năng sinh ESBL cho thấy 100% (20/20) chủng dương tính. Trong đó, phát hiện 50% (10/20) số chủng *E. coli* sinh ESBL mang gen  $bla_{TEM}$ , 25% (5/20) số chủng mang gen  $bla_{CTX-M-1}$ , 10% (2/20) số chủng có gen  $bla_{CTX-M-9}$ , 15% (3/20) số chủng mang đồng thời 2 gen  $bla_{CTX-M-1}$  và  $bla_{TEM}$ .

Từ khóa: *E. coli*, kháng kháng sinh, ESBL, vịt.

## Antibiotic Resistance Profile and Molecular Characterization of Extended Spectrum $\beta$ -lactamase (ESBL) - Producing *Escherichia coli* Isolated from Ducks

## ABSTRACT

This study aimed to determine the phenotypic and genotypic antibiotic resistance profile of ESBL-producing *E. coli* isolated from ducks. A total of 50 rectal swab samples from ducks were collected at markets in Gia Lam district, Hanoi city. The isolates in this study were all resistant to streptomycin, ampicillin, tetracycline, ceftazidime and cefotaxime. Besides, they also exhibited high resistance rates to sulfamethoxazole/trimethoprim (95.65%), gentamicin (91.3%) and chloramphenicol (91.3%). The lowest resistance rate was recorded with cefoxitin (30.43%) and 100% isolates were susceptible to meropenem. Interestingly, all of these isolates were determined as multidrug resistant strains. The result of phenotypic detection of ESBL indicated that 100% (20/20) presumptive ESBL producing *E. coli* strains were able to produce ESBL. Among them, 50% (10/20) isolates carried  $bla_{TEM}$  gene, 25% (5/20) harboured  $bla_{CTX-M-1}$ , 10% (2/20) harbour  $bla_{CTX-M-9}$ , and 15% (3/20) carried both  $bla_{CTX-M-1}$  and  $bla_{TEM}$  simultaneously.

Keywords: *E. coli*, antibiotic resistance, extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL), ducks.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kháng kháng sinh (AMR) đã được Tổ chức Y tế thế giới (WHO) xếp vào danh sách 10 mối đe dọa hàng đầu ảnh hưởng tới sức khỏe con người

và động vật trên toàn cầu. Tỷ lệ tử vong ở người do kháng kháng sinh dự kiến sẽ tăng lên con số là 10 triệu người mỗi năm vào năm 2050 (Perestrelo & cs., 2023). Tại các nước đang phát triển, nguyên nhân chính có thể là do việc sử

dụng kháng sinh tràn lan, thiếu các biện pháp kiểm soát trong phòng và điều trị bệnh nhiễm trùng ở người cũng như ở động vật dẫn đến tình trạng vi khuẩn kháng kháng sinh có xu hướng gia tăng và trở thành mối nguy tiềm ẩn đối với sức khoẻ cộng đồng (Aarestrup & cs., 2008; Van & cs., 2008) khi vi khuẩn kháng kháng sinh truyền sang người qua việc tiêu thụ thực phẩm hay tiếp xúc trực tiếp với động vật, chất thải chăn nuôi, môi trường bị nhiễm (Na & cs., 2019).

Vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*) chủ yếu sống hội sinh trong đường ruột của động vật máu nóng, do đó được sử dụng như một vi khuẩn chỉ điểm AMR ở vật nuôi (Catry & cs., 2003). Vi khuẩn *E. coli* là một trong những mối quan tâm hàng đầu do khả năng tích trữ và lan truyền các gen kháng kháng sinh (Poirel & cs., 2018). Ở vi khuẩn này, khả năng kháng kháng sinh được hình thành thông qua đột biến, truyền dọc hoặc truyền ngang bằng cách thu nhận các gen kháng kháng sinh thông qua plasmid (Liu & Pop, 2009). Việc sử dụng không theo chỉ định (kéo dài hoặc rút ngắn thời gian điều trị) và không kiểm soát các thuốc kháng sinh nhóm  $\beta$ -lactam để điều trị các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn *E. coli* hay những vi khuẩn khác thuộc họ Enterobacteriaceae dẫn đến gia tăng tần suất lưu hành của gen mã hoá men beta lactam hoạt phổ rộng (ESBL) (AbdelRahman & cs., 2020). *E. coli* sản sinh ESBL có khả năng kháng nhiều loại kháng sinh, đặc biệt là nhóm cephalosporins thế hệ thứ 2, 3, 4 được WHO liệt kê vào danh sách “Kháng sinh cực kỳ quan trọng”, vì nhóm kháng sinh này ưu tiên để điều trị các bệnh do vi khuẩn Gram âm đa kháng gây bệnh trên người (Bradford, 2001; World Health Organization, 2019). Trong những năm gần đây, tình trạng đa kháng của vi khuẩn *E. coli* có xu hướng gia tăng, đặc biệt là các chủng sản sinh men ESBL đã được phát hiện trên người và động vật tại nhiều quốc gia, tạo ra thách thức lớn trong việc điều trị các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn trong cả nhân y và thú y (Le & cs., 2015; Nguyen & cs., 2020; Sheng & cs., 2013).

Vi khuẩn *E. coli* kháng kháng sinh có thể dễ dàng lây sang người và vật nuôi khác thông qua chuỗi thức ăn (Ma & cs., 2012). Thịt và

trứng vịt là nguồn cung cấp chất dinh dưỡng quan trọng như protein, một số vitamin và khoáng chất, do đó đây cũng là những thực phẩm được sử dụng phổ biến ở nước ta. Tuy nhiên, việc tiêu thụ các loại thực phẩm từ vịt mang vi khuẩn *E. coli* kháng kháng sinh có thể mang lại hiểm hoạ đối với sức khoẻ người tiêu dùng (Adzitey, 2012; Adzitey & cs., 2013). Ngoài ra vịt có thể bài thải vi khuẩn kháng kháng sinh ra ngoài môi trường đất, nước từ đó gián tiếp xâm nhiễm vào cơ thể con người. Khả năng kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* sản sinh men ESBL ở lợn, gà và gia súc đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây, tuy nhiên đến nay việc nghiên cứu các chủng *E. coli* mang gen mã hóa ESBL trên vịt vẫn chưa được chú trọng (Ewers & cs., 2012; Le & cs., 2015; Ma & cs., 2012). Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định tỷ lệ nhiễm, tính kháng kháng sinh, kiểu hình và kiểu gen mã hóa ESBL của vi khuẩn *E. coli* phân lập từ vịt; từ đó, cung cấp thêm thông tin, dữ liệu về tình trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* giúp tăng hiệu quả điều trị bệnh trên vật nuôi và đưa ra chiến lược phòng chống kháng kháng sinh trong bối cảnh hiện nay.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

- Mẫu nghiên cứu: 50 mẫu swab trực tràng vịt được thu thập tại 10 chợ trên địa bàn huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội.

- Môi trường phân lập vi khuẩn *E. coli*: Buffered Peptone Water (BPW), MacConkey Agar, Eosin Methylene Blue (EMB), Triple Sugar Iron Agar (TSI), Simmons Citrate Agar, Nutrient Broth (NB), Glucose Phosphate Broth (MR-VP Medium), Mueller Hinton Agar (MHA), thuốc thử Kovac's, Methyl red, hóa chất nhuộm Gram.

- Các loại kháng sinh bột, kháng sinh khoanh giấy và hoá chất cho phản ứng PCR.

- Thời gian nghiên cứu: tháng 8/2021 đến tháng 12/2023.

- Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Xác định tính kháng kháng sinh và đặc tính sinh học phân tử của vi khuẩn *Escherichia coli* sản sinh men extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) phân lập từ vịt

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Thu thập mẫu

Tổng 50 mẫu dịch swab trực tràng vịt được thu thập từ 10 chợ (mỗi chợ 5 mẫu) trên địa bàn huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội. Mẫu gộp sẽ được lấy từ mỗi lồng vịt bằng cách lấy mẫu ngẫu nhiên 5 vịt từ mỗi lồng. Đối với mỗi con vịt, tiến hành đưa tấm bông vào bên trong hậu môn vịt sau đó xoay tròn, tiến lui khoảng 60 giây. Tấm bông được đưa ngay vào ống Falcon chứa dung dịch bảo quản mẫu Buffered Peptone Water (BPW). Mẫu được bảo quản lạnh, vận chuyển ngay về Phòng thí nghiệm Bộ môn Thú y công đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và được xét nghiệm trong 24h.

### 2.2.2. Phân lập vi khuẩn *E. coli* sản sinh men ESBL giả định

Mẫu được ria cấy trực tiếp lên đĩa thạch MacConkey bổ sung 1 mg/l kháng sinh cefotaxime, đem ủ 37°C trong 24 giờ. Khuẩn lạc đặc trưng của *E. coli* trên thạch MacConkey có màu hồng cánh sen, tròn bóng, rìa gọn và có đường kính từ 1-2mm. Sau đó, khuẩn lạc *E. coli* giả định được ria cấy chuyển sang đĩa thạch EMB và đem ủ ở 37°C trong 24 giờ. Dùng que cấy vô trùng lấy khuẩn lạc đặc trưng (có tâm đen, ánh kim xanh, tròn, lõi và rìa gọn) cấy vào ống dung dịch dinh dưỡng NB đem ủ 24 giờ ở 37°C. Canh khuẩn dùng để soi kính, thử các phản ứng sinh hoá. Cuối cùng các chủng *E. coli* sẽ được giữ giống trong ống Cryobank có bổ sung Glycerol 20% ở -86°C.

### 2.2.3. Xác định tính kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được

Khả năng kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập trong nghiên cứu này được xác định bằng phương pháp pha loãng trên thạch và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và Phòng thí nghiệm (CLSI, 2020) và Ủy ban châu Âu về kiểm tra độ nhạy cảm với thuốc (EUCAST, 2017) đối với 14 kháng sinh được sử dụng trong thử nghiệm, bao gồm ampicillin, cefotaxime, ceftazidime, cefoxitin, cefepime, meropenem, streptomycin, gentamicin, azithromycin, tetracycline, ciprofloxacin, nalidixic acid,

chloramphenicol, sulfamethoxazole/trimethoprim (Oxoid, Anh). Quá trình thực hiện được tóm tắt như sau: Lấy ống giống từ tủ -86°C ria cấy trên thạch TSA, ủ ở 37°C trong vòng 18-24h. Ngày hôm sau lựa chọn 3-5 khuẩn lạc đồng nhất với nước muối sinh lý 0,9% để đạt được khoảng  $10^8$  CFU/ml, tương đương với độ đục chuẩn 0,5 McFarland. Tiếp tục pha loãng huyền dịch bằng môi trường lỏng Mueller Hinton để đạt được ngưỡng  $10^6$  CFU/ml. Dịch pha loãng sau đó được pipette mỗi giếng của đĩa 96 giếng có chứa kháng sinh ở các nồng độ pha loãng liên tiếp. Đưa đĩa này vào tủ ấm ủ ở 37°C trong vòng 16-24h. Ngày hôm sau, tiến hành quan sát độ đục của dung dịch trong các giếng, (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) nồng độ ức chế tối thiểu được xác định là nồng độ thấp nhất trong dãy pha loãng có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn.

### 2.2.4. Phát hiện các chủng *E. coli* sản sinh men ESBL

Dựa vào kết quả kiểm tra tính miễn cảm của vi khuẩn với kháng sinh, các chủng *E. coli* kháng một trong hai loại (cefotaxime hoặc ceftazidime) và đồng kháng cefepime được lựa chọn để kiểm tra khả năng sản sinh men ESBL bằng phương pháp đĩa đôi kết hợp (Synergy test) theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và Phòng thí nghiệm (CLSI, 2020).

### 2.2.5. Xác định các gen mã hoá men ESBL của vi khuẩn *E. coli*

Các gen mã hoá men ESBL của các chủng *E. coli* được phát hiện bằng phương pháp PCR khuẩn lạc (colony PCR) theo phương pháp được mô tả bởi Le & cs. (2015).

Trình tự các cặp môi dùng chạy phản ứng PCR phát hiện gen mã hóa men ESBL trong nghiên cứu này được thể hiện ở bảng 1.

Chu trình nhiệt của phản ứng PCR phát hiện các gen mã hoá men ESBL: giai đoạn biến tính ban đầu ở 95°C/5 phút, 25 chu kỳ với giai đoạn biến tính 95°C/30 giây, giai đoạn gắn môi 60°C/90 giây, giai đoạn kéo dài 72°C/90 giây, cuối cùng là giai đoạn hoàn tất kéo dài ở 68°C/10 phút.

**Bảng 1. Thông tin các cặp mồi dùng cho phản ứng PCR phát hiện các gen mã hóa men ESBL**

Gen mục tiêu	Mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Kích thước sản phẩm (bp)
bla <sub>CTX-M-1</sub>	CTXM1-F	GAATTAGAGCGGCAGTCGGG	588
	CTXM1-R	CACAACCCAGGAAGCAGGC	
bla <sub>CTX-M-2</sub>	CTXM2-F	GATGGCGACGCTACCCC	107
	CTXM2-R	CAAGCCGACCTCCCGAAC	
bla <sub>CTX-M-9</sub>	CTXM9-F	GTGCAACGGATGATGTTTCGC	475
	CTXM9-R	GAAACGTCTCATCGCCGATC	
bla <sub>CTX-M-8/25</sub>	CTXM8/25-F	GCGACCCGCGGATAC	186
	CTXM8/25-R	TGCCGGTTTTATCCCCG	
bla <sub>TEM</sub>	TEM-F	GGTCGCCGCATACACTATTCTC	372
	TEM-R	TTTATCCGCCTCCATCCAGTC	
bla <sub>SHV</sub>	SHV-F	CCAGCAGGATCTGGTGGACTAC	231
	SHV-R	CCGGGAAGCGCCTCAT	



**Hình 1. Hình thái khuẩn lạc *E. coli* trên thạch MacConkey bổ sung cefotaxime (A) và thạch EMB (B)**

### 2.2.6. Xử lý số liệu

Số liệu thu thập được tổng hợp và phân tích thường quy bằng phần mềm Microsoft Excel 2021.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tỷ lệ nhiễm của vi khuẩn *E. coli* sinh men ESBL giả định trên vịt tại các chợ thuộc địa bàn huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội

Kết quả phân lập 50 mẫu dịch swab trực tràng vịt cho thấy 46% (23/50) mẫu dương tính với vi khuẩn *E. coli* kháng cefotaxime (*E. coli* sản sinh men ESBL giả định).

Đây là những kết quả nghiên cứu đầu tiên về *E. coli* sản sinh men ESBL trên vịt. Một số nghiên cứu trước đây cho kết quả phát hiện vi khuẩn *E. coli* là 100% (Lê Văn Lê Anh & cs., 2017), kết quả tương đồng cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Lê Thị Thùy Trang & cs. (2017) tại Hậu Giang, nghiên cứu của Cao Thuấn & Lý Thị Liên Khai (2018) tại Vĩnh Long. Một nghiên cứu khác thực hiện bởi Nguyễn Hồng Sang & cs. (2017) báo cáo rằng 99,53% mẫu vịt phát hiện sự có mặt của vi khuẩn *E. coli*. Kết quả nghiên cứu của Đặng Thị Vui & cs. (2016) cho kết quả tỷ lệ phân lập *E. coli* từ mẫu swab của vịt Bầu và vịt Đốm lần lượt là 86,7% và 80%. Theo nghiên cứu của Tạ Phan Anh & cs. (2019), tỷ lệ mẫu vịt nuôi trong

môi trường nước ngọt và nước mặn có sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* lần lượt là 77,8% và 90%. Ngược lại, các nghiên cứu trên thế giới cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên vịt ở mức thấp hơn. Tại Ấn Độ, kết quả nghiên cứu của Banerjee & cs. (2019) chỉ ra rằng 53,96% mẫu vịt khỏe dương tính với vi khuẩn *E. coli*. Nghiên cứu tại trang trại chăn nuôi vịt ở miền Nam Trung Quốc, tiến hành phân lập vi khuẩn *E. coli* từ mẫu dịch swab lỗ huyết cho kết quả 50,02% mẫu có sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* (Ma & cs., 2012). Nghiên cứu của Na & cs. (2019) tại 85 trang trại vịt ở Hàn Quốc phát hiện 50,22% mẫu nhiễm vi khuẩn *E. coli*.

Tỷ lệ phân lập trong nghiên cứu này thấp hơn so với các nghiên cứu trước đây, mặc dù *E. coli* là vi khuẩn thường trực trong đường tiêu hóa của vịt. Nguyên nhân có thể do nghiên cứu của chúng tôi chỉ tập chung phát hiện vi khuẩn *E. coli* có khả năng kháng cefotaxime để sàng lọc các chủng *E. coli* sinh men ESBL giả định. Ngoài ra, sự chênh lệch giữa kết quả nghiên cứu của chúng tôi khi so sánh với các kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước trước đó do sự khác biệt về khu vực địa lý, thời gian nghiên cứu, loại mẫu, phương pháp phân lập.

### 3.2. Tính kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được

Kết quả kiểm tra tính kháng kháng sinh của 23 chủng vi khuẩn *E. coli* sản sinh ESBL được trình bày ở bảng 2. Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy 100% chủng *E. coli* phân lập được kháng với ampicillin, ceftazidime, cefotaxime, streptomycin, tetracycline. Ngoài ra, tỷ lệ kháng cao với sulfamethoxazole/trimethoprim (95,65%), cefepime (86,96%) cũng được quan sát thấy ở các chủng này. Kết quả có sự tương đồng với các báo cáo trước đây, theo nghiên cứu trên vịt của Nguyễn Hồng Sang & cs. (2017) tại tỉnh Đồng Tháp, các chủng *E. coli* kháng cao nhất với streptomycin (90,48%), kế đến là ampicillin (89,52%), sulfamethoxazole/trimethoprim (82,86%). Kết quả khảo sát khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên vịt bệnh tại tỉnh Hậu Giang cho thấy tỷ lệ kháng cao với sulfamethoxazole/

trimethoprim (98%) và streptomycin (95%), ampicillin (79%) và tỷ lệ miễn cảm cao với ceftazidime (96%) (Lê Thị Thùy Trang & cs., 2017). Khả năng kháng của các chủng *E. coli* trên vịt theo nghiên cứu của Lê Văn Lê Anh & cs. (2017) tại thành phố Cần Thơ đối với ampicillin, sulfamethoxazole/trimethoprim, streptomycin cho tỷ lệ lần lượt là 75,16%; 64,71% và 56,21%, ngược lại 98,69% số chủng miễn cảm với ceftazidime. Điều này là hệ quả tất yếu bởi đây đều là những kháng sinh được sử dụng trong chăn nuôi để điều trị bệnh cho gia súc, gia cầm và bổ sung vào thức ăn để phòng bệnh và kích thích sinh trưởng trong một thời gian dài.

Các nghiên cứu khác trên thế giới trước đây cũng cho kết quả kháng cao với ampicillin, ceftazidime, cefotaxime, cefepime, streptomycin, tetracycline, sulfamethoxazole/trimethoprim. Nghiên cứu của Kissinga & cs năm 2018 cho thấy các chủng *E. coli* phân lập được đề kháng cao với ampicillin (81,3%), sulfamethoxazole/trimethoprim (75,8%), tiếp theo là cefotaxime (62,3%) và tetracycline (59,3%). Nghiên cứu của El-Tarabili & cs. (2023) tại Ấn Độ chỉ ra rằng 100% chủng *E. coli* phân lập được kháng với tetracycline và nalidixic acid, kế tiếp là sulfamethoxazole/trimethoprim và ceftazidime (83,3%), cefotaxime (75%) và streptomycin (66,7%) (El-Tarabili & cs., 2023). Một nghiên cứu ở Malaysia cho thấy tỷ lệ cao các chủng *E. coli* phân lập kháng với tetracycline (92,7%), ampicillin (72,7%), streptomycin và sulfamethoxazole/trimethoprim (67,3%) (Adzitey & cs., 2013). Ngược lại, tại Hàn Quốc, Na & cs. (2019) báo cáo rằng khả năng kháng tetracycline, sulfamethoxazole/trimethoprim, ampicillin của *E. coli* phân lập từ vịt chỉ ở mức trung bình với tỷ lệ lần lượt là 59,3%; 51,3% và 47,8%.

Đáng chú ý, tỷ lệ kháng gentamicin (91,3%) trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn đáng kể so với các báo cáo trước đây. Nghiên cứu của Nguyễn Hồng Sang & cs. (2017), Lê Văn Lê Anh & cs. (2017) đều cho kết quả tỷ lệ kháng của các chủng *E. coli* với gentamicin ở mức thấp đến trung bình là 49,52% và 23,53%. Nghiên cứu của Adzitey & cs. (2013) ghi nhận kết quả tương tự với tỷ lệ kháng gentamicin là 52,7%.

**Bảng 2. Tỷ lệ kháng của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập (n = 23) và phân bố nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các kháng sinh**

Nhóm kháng sinh	Loại kháng sinh	MIC Breakpoint (µg/ml)	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) (µg/mL)											Số chủng kháng	Tỷ lệ kháng (%)		
			≤ 0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64			≥ 128	
Penicillins	Ampicillin	32											1	4	18	23	100
Cephalosporins	Cefoxitin	32						5	9	1	1		5	2		7	30,43
	Ceftazidime	16										7	15	1		23	100
	Cefotaxime	4							1	3	6	10	2	1		23	100
	Cefepime	16		1					1	1	3	13	4			20	86,96
	Cabaprenems	Meropenem	4	23												0	0
Aminoglycosides	Streptomycin	32											2		21	23	100
	Gentamicin	16								2		3	1	10	7	21	91,3
Macrolides	Azithromycin	32			2	6		3					4	3	5	12	52,17
Tetracyclines	Tetracycline	16											1	3	19	23	100
Quinolones	Nalidixic acid	32			1		1	1					9	3	8	20	86,96
	Ciprofloxacin	4	3	1				1		8	5	4		1		18	78,26
Phenicols	Chloramphenicol	32							1	1				4	17	21	91,3
Sulfonamides	Trimethoprim-sulfamethoxazole	4/76			1								1	21		22	95,65

Theo Na & cs. (2019), các chủng *E. coli* có mức độ kháng gentamicin rất thấp dưới 3%. Tuy nhiên, nghiên cứu tại Trung Quốc chỉ ra rằng các chủng *E. coli* có khả năng kháng cao với gentamicin chiếm 90,2% (Ma & cs., 2012), tương đồng với kết quả trong nghiên cứu này. Tỷ lệ kháng gentamicin cao ghi nhận trong nghiên cứu của chúng tôi rất có thể là bằng chứng khoa học cho thấy sự đồng kháng của các chủng *E. coli* với hai kháng sinh cefotaxime và gentamicin. Đây là hai loại kháng sinh thuộc hai nhóm  $\beta$ -lactam và aminoglycosides, thường xuyên được sử dụng kết hợp để tạo ra hiệu quả cộng hợp. Tuy nhiên, cần có thêm nghiên cứu để làm rõ hơn cơ chế đồng kháng quan sát thấy trong nghiên cứu này

Ngược lại, khả năng kháng thấp với cefoxitin (30,43%) và miễn cảm hoàn toàn với meropenem (MIC  $\leq$  0,06) được quan sát thấy ở các chủng *E. coli* phân lập được trong nghiên cứu này. Tương tự, nghiên cứu Ma & cs. (2012) cho kết quả tỷ lệ kháng cefoxitin tương đối thấp chỉ chiếm 20% tổng số chủng *E. coli* phân lập được và tất cả các chủng nhạy cảm với meropenem. Nghiên cứu của Na & cs. (2019) không thấy sự hiện diện của các chủng *E. coli* kháng với cefoxitin. Bởi vì 2 kháng sinh này không được sử dụng thường xuyên trong chăn nuôi thú y.

Kết quả kiểm tra tính kháng kháng sinh trong nghiên cứu này cho thấy các chủng *E. coli* có khả năng kháng hầu hết các loại kháng sinh được thử nghiệm. Đưa ra cảnh báo về tình trạng kháng kháng sinh ở vi khuẩn *E. coli* mở ra “một kỷ nguyên hậu kháng sinh”. Mặc dù một số nghiên cứu đã nhận định việc ngưng sử dụng kháng sinh trong một khoảng thời gian có thể giảm vi khuẩn kháng kháng sinh trên vật nuôi (Dorado-García & cs., 2016). Nhưng thực tế mức độ kháng của nhiều loại kháng sinh tại nước ta tiếp tục tăng cao. Do đó, cần có biện pháp giám sát chặt chẽ sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi thú y.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, tất cả các chủng *E. coli* phân lập được đều kháng từ 7 loại kháng sinh trở lên và tỷ lệ kháng với 11

loại kháng sinh là cao nhất với 30,43% (7/23) chủng. Các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được trong nghiên cứu này có kiểu hình kháng kháng sinh khá đa dạng với 11 kiểu hình kháng khác nhau. Trong đó, hai kiểu hình kháng phổ biến nhất là “STR-GEN-AMP-TET-CTX-CAZ-FEP-NAL-CIP-CHL-SXT” và “STR-GEN-AMP-AZI-TET-CTX-CAZ-FEP-FOX-NAL-CIP-CHL-SXT” được biểu hiện ở năm chủng (21,74%), tiếp theo là kiểu hình kháng “STR-GEN-AMP-AZI-TET-CTX-CAZ-FEP-NAL-CIP-CHL-SXT” biểu hiện ở bốn chủng (17,39%). Các kiểu hình kháng khác chỉ được ghi nhận ở một hoặc hai chủng kiểm tra. Nghiên cứu của Lê Văn Lê Anh & cs. (2017) cho biết các chủng *E. coli* phân lập được đều kháng từ hai kháng sinh trở lên, trong đó số chủng kháng ba loại kháng sinh là phổ biến nhất chiếm 17,65% với 12 kiểu hình kháng khác nhau. Trong nghiên cứu của Nguyễn Hồng Sang & cs. (2017) chỉ ra rằng 100% chủng *E. coli* phân lập được đều thể hiện tính đa kháng, các chủng phân lập kháng 7 loại kháng sinh chiếm tỷ lệ cao nhất là 19,05% với 5 kiểu hình kháng khác nhau. Tại tỉnh Vĩnh Long, tất cả các chủng *E. coli* phân lập đều có khả năng kháng từ 2 loại kháng sinh trở nên, trong đó phát hiện một chủng kháng 12 loại kháng sinh (0,76%) và kháng cao nhất với 3 loại kháng sinh chiếm tỷ lệ 20,46% với 11 kiểu hình kháng khác nhau (Cao Thuấn & Lý Thị Liên Khai, 2018). Theo nghiên cứu của AbdelRahman & cs. (2020), kết quả 57,8% (22/38) chủng *E. coli* phân lập được là chủng đa kháng. Nghiên cứu của Na & cs. (2019) chỉ ra rằng phần lớn các chủng *E. coli* phân lập (54,0%) đều kháng với ba phân nhóm kháng sinh trở lên và số chủng kháng với 10 loại kháng sinh có tỷ lệ là 4,8%.

Từ kết quả trên có thể thấy các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được đều đa kháng và đã kháng hầu hết các kháng sinh được lựa chọn để điều trị bệnh trên vịt với kiểu hình kháng đa dạng. Điều này dẫn đến khó khăn trong tìm kiếm kháng sinh phù hợp để điều trị khi có bệnh xảy ra và làm việc điều trị không đạt kết quả như mong muốn.

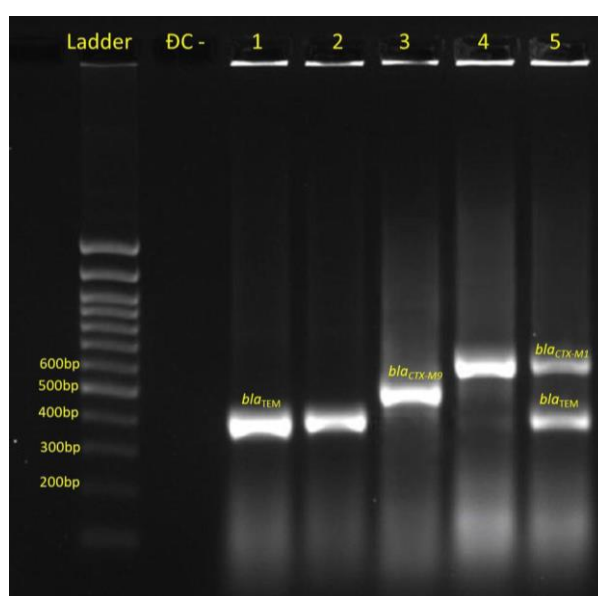
**Bảng 3. Kiểu hình kháng của các chủng *E. coli* phân lập được (n = 23)**

Số kháng sinh	Kiểu hình kháng	Số kiểu hình kháng	Số chủng	Tỷ lệ (%)
7	STR-GEN-AMP-TET-CTX-CAZ-FEP	1	1	4,35
8	STR-AMP-TET-CTX-CAZ-FEP-CHL-SXT	2	1	4,35
	STR-GEN-AMP-TET-CTX-CAZ-NAL-SXT		1	4,35
9	STR-AMP-AZI-TET-CTX-CAZ-FEP-CHL-SXT	1	1	4,35
10	STR-GEN-AMP-TET-CTX-CAZ-NAL-CIP-CHL-SXT	1	1	4,35
11	STR-GEN-AMP-AZI-TET-CTX-CAZ-FEP-NAL-CHL-SXT	3	1	4,35
	STR-GEN-AMP-AZI-TET-CTX-CAZ-NAL-CIP-CHL-SXT		1	4,35
	STR-GEN-AMP-TET-CTX-CAZ-FEP-NAL-CIP-CHL-SXT		5	21,74
12	STR-GEN-AMP-TET-CTX-CAZ-FEP-FOX-NAL-CIP-CHL-SXT	2	2	8,7
	STR-GEN-AMP-AZI-TET-CTX-CAZ-FEP-NAL-CIP-CHL-SXT		4	17,39
13	STR-GEN-AMP-AZI-TET-CTX-CAZ-FEP-FOX-NAL-CIP-CHL-SXT	1	5	21,74
Tổng		11	23	100

Ghi chú: STR: Streptomycin, GEN: Gentamicin, AMP: Ampicillin, AZI: Azithromycin, TET: Tetracycline, CTX: Cefotaxime, CAZ: Ceftazidime, FEP: Cefepime, FOX: Cefoxitin, NAL: Nalidixic Acid, CIP: Ciprofloxacin, CHL: Chloramphenicol, SXT: Sulfamethoxazole/Trimethoprim.

**Bảng 4. Kết quả xác định kiểu gen mã hoá ESBL của các chủng *E. coli* phân lập được (n = 20)**

Kiểu gen	Số chủng mang gen	Tỷ lệ (%)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	10	50
<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	5	25
<i>bla</i> <sub>CTX-M-9</sub>	2	10
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub>	3	15



Ghi chú: Ladder: Thang chuẩn DNA 100bp, (ĐC -): Đối chứng âm, (1-5): Chủng *E. coli* sinh ESBL phân lập, (1-2): *bla*<sub>TEM</sub>, (3): *bla*<sub>CTX-M-9</sub>, (4): *bla*<sub>CTX-M-1</sub>, (5): *bla*<sub>CTX-M-1</sub> và *bla*<sub>TEM</sub>

**Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại gen mã hóa ESBL**



### 3.3. Kết quả xác định kiểu hình và kiểu gen mã hóa men ESBL

Các chủng vi khuẩn có khả năng sản sinh men ESBL được định nghĩa là các chủng có kiểu hình kháng cephalosporin thế hệ 3 (cefotaxime, ceftazidime) và thế hệ 4 (cefepime) (Cantón & cs., 2012). Vì vậy trong nghiên cứu này, 20 chủng *E. coli* kháng cefotaxime/ceftazidime và cefepime được kiểm tra khả năng sản sinh men ESBL. Kết quả cho thấy 100% các chủng mang kiểu hình ESBL.

Các chủng có kiểu hình ESBL (sản sinh men ESBL) được kiểm tra kiểu gen ESBL bằng kỹ thuật PCR. Kết quả cho thấy 50% số chủng *E. coli* sinh ESBL trong nghiên cứu này mang gen  $bla_{TEM}$ , 25% chủng dương tính với gen  $bla_{CTX-M-1}$ , 10% chủng có gen  $bla_{CTX-M-9}$ , 15% chủng mang đồng thời hai gen  $bla_{CTX-M-1}$  và  $bla_{TEM}$  và không phát hiện chủng mang gen  $bla_{SHV}$  (Bảng 4).

Kết quả kiểm tra kiểu hình trong nghiên cứu này khá tương đồng với nghiên cứu AbdelRahman & cs. (2020), cho biết có 52,6% số chủng phân lập mang gen  $bla_{TEM}$  và 39,5% chủng mang gen  $bla_{CTX-M}$ . Tại Ấn Độ, theo kết quả nghiên cứu của Banerjee & cs. (2019), trong số các chủng *E. coli* sản sinh men ESBL có 17,43% chủng mang gen  $bla_{TEM}$ , 13,76% chủng sở hữu gen  $bla_{CTX-M}$  và 5,05% chủng mang gen  $bla_{SHV}$ . Tỷ lệ mang gen  $bla_{CTX-M}$  trong nghiên cứu này có phần thấp hơn so với nghiên cứu của Ma & cs. (2012) khi tiến hành phát hiện kiểu gen mã hóa men ESBL đã cho thấy gen  $bla_{CTX-M}$  là gen phổ biến nhất với 87,8%, sau đó là gen  $bla_{TEM}$  (56,7%) và chỉ có 4,1% số chủng mang gen  $bla_{SHV}$ . Các chủng *E. coli* sinh ESBL trong nghiên cứu của El-Tarabili & cs. (2023) phổ biến mang gen  $bla_{CTX-M}$  và  $bla_{TEM}$  với tỷ lệ 83,8%, số chủng mang gen  $bla_{SHV}$  có tỷ lệ 41,6%. Nghiên cứu của Tansawai & cs. (2019) tại Thái Lan trên các chủng *E. coli* sản sinh ESBL  $bla_{CTX-M-1}$  được tìm thấy ở 62,9% số chủng và  $bla_{CTX-M-9}$  hiện diện ở 32,7% số chủng phân lập. Các gen mã hóa tính kháng thuốc thường được tìm thấy trong các plasmid và do đó có thể truyền theo chiều ngang, thậm chí giữa các loài vi khuẩn khác nhau.

## 4. KẾT LUẬN

Tổng 20 chủng *E. coli* sản sinh men ESBL được phân lập từ vịt. Các chủng này kháng với hầu hết các kháng sinh được sử dụng phổ biến và thường xuyên trên vật nuôi, đặc biệt là nhóm  $\beta$ -lactam. Mặc dù vậy, các chủng *E. coli* này vẫn còn nhạy cảm với cefoxitin và meropenem. Tất cả các chủng phân lập được là các chủng đa kháng và mang gen mã hóa men ESBL với kiểu hình  $bla_{TEM}$ ,  $bla_{CTX-M-1}$ ,  $bla_{CTX-M-9}$ ,  $bla_{TEM}$  +  $bla_{CTX-M-1}$ . Việc nghiên cứu về khả năng kháng của các chủng vi khuẩn phân lập từ vịt cần được chú trọng. Bối cảnh sinh sống trong môi trường ao, hồ, sông, ngòi, nguy cơ lây nhiễm ra nguồn nước và hơn nữa có thể truyền lây sang người thông qua chuỗi thức ăn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aarestrup F., Wegener H. & Collignon P. (2008). Resistance in bacteria of the food chain: Epidemiology and control strategies. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 6: 733-750.
- AbdelRahman M.A.A., Roshdy H., Samir A.H. & Hamed E.A. (2020). Antibiotic resistance and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in *Escherichia coli* isolates from imported 1-day-old chicks, ducklings, and turkey poults. *Veterinary World*. 13(6): 1037-1044.
- Adzitey F. (2012). Production potentials and the physicochemical composition of selected duck strains: a mini review. *Online Journal of Animal and Feed Research*, 2(1): 89-94.
- Adzitey F., Ali G.R.R., Huda N. & Ting S.L. (2013). Antibiotic resistance and plasmid profile of *Escherichia coli* isolated from ducks in Penang, Malaysia. *International Food Research Journal*. 20(3): 1473-1478.
- Banerjee A., Bardhan R., Chowdhury M., Joardar S.N., Isore D.P., Batabyal K., Dey S., Sar T.K., Bandyopadhyay S., Dutta T.K. & Samanta I. (2019). Characterization of beta-lactamase and biofilm producing Enterobacteriaceae isolated from organized and backyard farm ducks. *Letters in Applied Microbiology*. 69(2): 110-115.
- Bradford P.A. (2001). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. In *Clinical Microbiology Reviews*. 14(4): 933-951.
- Cantón R., González-Alba J.M. & Galán J.C. (2012). CTX-M enzymes: Origin and diffusion. In *Frontiers in Microbiology*. 3: 110.

- Catry B., Laevens H., Devriese L.A., Opsomer G. & De Kruif A. (2003). Antimicrobial resistance in livestock. In *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 26(2): 81-93.
- CLSI (2020). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition. In *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*.
- Cao Thuần & Lý Thị Liên Khai (2018). Phân lập và khảo sát sự đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Escherichia coli* trên vịt tại tỉnh Vĩnh Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 54(6): 63.
- Dorado-García A., Mevius D.J., Jacobs J.J.H., Van Geijlswijk I.M., Mouton J.W. Wagenaar J.A. & Heederik D.J. (2016). Quantitative assessment of antimicrobial resistance in livestock during the course of a nationwide antimicrobial use reduction in the Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 71(12): 3607-3619.
- Đặng Thị Vui & Nguyễn Bá Tiếp (2016). Phân lập và xác định một số đặc điểm sinh học của *Escherichia coli* trên vịt bầu và vịt đom tại trung tâm nghiên cứu vịt Đại Xuyên. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 14(12): 1894-1902.
- El-Tarabili R.M., Hanafy A.S.T. & El Feky T.M. (2023). Virulence, Resistance Profile, Antimicrobial Resistance Genes of ESBLs, XDR *Escherichia coli* Isolated from Ducks. *Journal of Advanced Veterinary Research*. 13(3): 425-430.
- EUCAST (2017). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1.
- 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., Vien Q.M. & Yamamoto Y. (2015). Characteristics of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Retail Meats and Shrimp at a Local Market in Vietnam. *Foodborne Pathogens and Disease*. 12(8): 719-725.
- Lê Văn Lê Anh & Lý Thị Liên Khai (2017). Sự lưu hành và sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* trên vịt tại thành phố cần thơ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 50(B): 51-58.
- Lê Thị Thùy Trang, Hồ Thị Việt Thu & Lý Thị Liên Khai (2017). Khảo sát sự lưu hành và sự đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Escherichia coli* gây bệnh trên vịt. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 50: 44-50.
- Liu B. & Pop M. (2009). ARDB - Antibiotic resistance genes database. *Nucleic Acids Research*, 37(Database issue): D443-7.
- Ma J., Liu J.H., Lv L., Zong Z., Sun Y., Zheng H., Chen Z.L. & Zeng Z.L. (2012). Characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes found among *Escherichia coli* isolates from duck and environmental samples obtained on a duck farm. *Applied and Environmental Microbiology*. 78(10): 3668-3673.
- Na S.H., Moon D.C., Choi M.J., Oh S.J., Jung D.Y., Sung E.J., Kang H.Y., Hyun B.H. & Lim S.K. (2019). Antimicrobial Resistance and Molecular Characterization of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Ducks in South Korea. *Foodborne Pathogens and Disease*. 16(12): 799-806.
- Nguyễn Hồng Sang, Hồ Thị Việt Thu & Lý Thị Liên Khai (2017). Khảo sát tỷ lệ nhiễm và sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* trên vịt tại tỉnh Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 50(B): 59-66.
- Nguyen N.L.H., Phan T.T.P. & Quyen N.K.T. (2020). Antimicrobial resistance profile of extended-spectrum Beta-Lactamase producing *Escherichia coli* at Ho Chi Minh City. *Science and Technology Development Journal - Natural Sciences*. 4(4).
- Perestrelo S., Amaro A., Brouwer M.S.M., Clemente L., Ribeiro Duarte A.S., Kaesbohrer A., Karpíšková R., Lopez-Chavarrias V., Morris D., Prendergast D., Pista A., Silveira L., Skarżyńska M., Slowey R., Veldman K.T., Zajac M., Burgess C. & Alvarez J. (2023). Building an International One Health Strain Level Database to Characterise Epidemiology of AMR Threats: ESBL-AmpC Producing *E. coli* as An Example-Challenges and Perspectives. *Antibiotics*. 12(3): 552.
- Poirel L., Madec J.-Y., Lupo A., Schink A.-K., Kieffer N., Nordmann P. & Schwarz S. (2018). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*. 6(4): 4-6.
- Sheng W.H., Badal R.E. & Hsueh P.R. (2013). Distribution of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, AmpC  $\beta$ -lactamases, and carbapenemases among Enterobacteriaceae isolates causing intra-abdominal infections in the Asia-pacific region: Results of the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 57(7): 2981-2988.
- Tansawai U., Walsh T.R. & Niumsup P.R. (2019). Extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* among backyard poultry farms, farmers, and environments in Thailand. *Poultry Science*. 98(6): 2622-2631.
- Tạ Phan Anh, Nguyễn Văn Duy, Vương Lan Anh, Trần Thị Đức Tâm & Nguyễn Bá Tiếp (2019). Ảnh hưởng của nồng độ muối cao và phương thức nuôi đến tỷ lệ phân lập, số lượng và tính miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* trên giống vịt biển 15 Đại Xuyên. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*. XXVI(3): 31-37.
- Van T.T.H., Chin J., Chapman T., Tran L.T., & Coloe P.J. (2008). Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: An analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *International Journal of Food Microbiology*. 124(3): 217-223.
- World Health Organization (2019). Critically Important Antimicrobials for Human Medicine - 6<sup>th</sup> Revision 2018. In World Health Organization