

XÁC ĐỊNH TỶ LỆ NHIỄM VÀ MỨC ĐỘ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VÀ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* KHÁNG METHICILLIN (MRSA) PHÂN LẬP TRÊN LỢN

*Vũ Thị Kim Huệ¹, Trương Thị Hương Giang¹, Trương Thị Quý Dương¹,
Trần Thị Nhật¹, Huỳnh Thị Mỹ Lệ², Đặng Thị Thanh Sơn¹*

TÓM TẮT

Kết quả xét nghiệm 80 mẫu (tăm bông ngoáy mũi lợn) từ 24 hộ chăn nuôi trên địa bàn tỉnh Bắc Ninh, cho thấy tỷ lệ lợn bị nhiễm vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) là 13/80 (16,25%), bị nhiễm vi khuẩn MRSA là 5/80 (6,25%). Kết quả kiểm tra khả năng mẫn cảm của vi khuẩn *S. aureus* và MRSA phân lập được với 12 loại kháng sinh (penicillin G, erythromycin, linezolid, clindamycin, norfloxacin, rifampine, tetracyclin, trimethoprim-sulfamethoxazole, fusidic acid, kanamycin, Gentamycin, cefoxitin) cho thấy các chủng *S. aureus* và MRSA mẫn cảm với 3 loại kháng sinh thường dùng trong điều trị các bệnh do vi khuẩn này gây ra trên người, bao gồm: linezolid, rifampine, fusidic acid. Tuy nhiên, tất cả các chủng vi khuẩn *S. aureus* được kiểm tra đã kháng với 4 loại kháng sinh, bao gồm: penicillin G, erythromycin, clindamycin và kanamycin. Tương tự, tất cả các chủng vi khuẩn MRSA được kiểm tra không những kháng với 4 loại kháng sinh nêu trên mà còn kháng với cefoxitin. Ngoài ra, *S. aureus* và MRSA cũng đã kháng với các loại kháng sinh khác (norfloxacin, tetracyclin, trimethoprim-sulfamethoxazole và Gentamycin) với tỷ lệ trên 60%. Kết quả nghiên cứu thu được cho thấy giám sát kháng kháng sinh trong phòng, trị bệnh cho đàn lợn và tập huấn nâng cao kiến thức cho người chăn nuôi về mức độ nguy hiểm của kháng kháng sinh là rất cần thiết, nhằm hạn chế tối đa hiện tượng kháng thuốc của vi khuẩn và tránh lãng phí cho người chăn nuôi do sử dụng kháng sinh không còn khả năng tiêu diệt vi khuẩn. Đây cũng là nội dung quan trọng trong chiến lược quốc gia về phòng chống kháng thuốc do Bộ NN&PTNT ký tháng 7/2017.

Từ khóa: Dịch mũi lợn, lợn, *S. aureus*, MRSA, tỷ lệ nhiễm, kháng kháng sinh.

Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistant *S. aureus* isolated from pigs

*Vu Thi Kim Hue, Truong Thi Huong Giang, Truong Thi Quy Duong,
Tran Thi Nhat, Huynh Thi My Le, Dang Thi Thanh Son*

SUMMARY

A total of 80 nasal swabs collecting from pigs at 24 pig farms in Bac Ninh in 2019 were analyzed in this study. The studied results showed that the prevalence of pigs carrying *S. aureus* was 13/80 (16.25%) while the prevalence of pigs carrying MRSA was 5/80 (6.25%). The isolated *S. aureus* and MRSA strains were tested on antibiotic susceptibility by disk diffusion method with 12 antibiotics including penicillin G, erythromycin, linezolid, clindamycin, norfloxacin, rifampin, tetracyclin, trimethoprim – sulfamethoxazole, fusidic acid, kanamycin, Gentamycin, cefoxitin. As a result all of the tested *S. aureus* and MRSA isolates were susceptible with three antibiotics commonly used for human treatment, including: linezolid, rifampin, fusidic acid. However, all of the *S. aureus* isolates were resistant to 4 antibiotics (penicillin G, erythromycin, clindamycin and kanamycin). Similarly, all tested MRSA isolates were not only resistant to 4 above mentioned

¹. Viện Thú y

². Học viện Nông Nghiệp Việt Nam

antibiotics but also resisted to cefoxitin. In addition, the tested *S. aureus* and MRSA isolates were highly resistant to other antibiotics such as tetracyclin, trimethoprim – sulfamethoxazole, Gentamycin, and norfoxacin with the resistant rate was equal and higher than 60%. The research outcomes of this study indicate that the issues on monitoring/controlling antibiotics in epidemic prevention and treatment for the pig farming, as well as training to improve the knowledge on danger of the antimicrobial resistant bacteria for the farmers are very necessary so as to reduce the loss on investment and to limit environmental pollution in the pig industry. This also is an important content in the National Action Plan on preventing the antibiotic resistance phenomena signed by the Ministry of Agriculture and Rural Development in July, 2017.

Keywords: Pig, pig nasal swab, *S. aureus*, MRSA, prevalence, antibiotic-resistance.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chăn nuôi lợn đang là mũi nhọn của ngành chăn nuôi và là một trong những nguồn cung cấp thực phẩm chủ yếu trong nước và tiến tới phục vụ xuất khẩu. Tuy vậy, sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi chưa được giám sát chặt chẽ là nguyên nhân gây nên tình trạng kháng thuốc (Dương Thị Toan và cs, 2015; Phan Quốc Hoàn, 2017). Vi khuẩn kháng thuốc có thể truyền lây từ vật nuôi sang người, do đó việc sử dụng kháng sinh tràn lan trong chăn nuôi có thể gây ra tác động không tốt đến sức khỏe cộng đồng, tạo điều kiện xuất hiện và lan truyền các chủng vi khuẩn đa kháng kháng sinh.

Staphylococcus aureus (Tụ cầu vàng - *S. aureus*) và Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (Tụ cầu vàng kháng methicillin, MRSA) là tụ cầu khuẩn phân bố rộng rãi trong tự nhiên, có nhiều trong các thực phẩm như: thịt, trứng, sữa... *S. aureus* là một trong số các vi khuẩn ký sinh ở trên da và niêm mạc, đặc biệt là lỗ mũi trước. Có khoảng 10 - 40% người khỏe mạnh mang *S. aureus*, chúng được xếp vào nhóm vi khuẩn cơ hội, vì có mặt rộng rãi và thường xuyên trong mô và chờ điều kiện thuận lợi để xâm nhập và lây nhiễm sang người/ động vật khỏe mạnh. *S. aureus* gây ra nhiều bệnh khác nhau: các bệnh trên da, làm loét phỏng da hoặc các nhiễm trùng trong máu, phổi hoặc các mô khác (Rasigade *et al.*, 2014). Ngoài ra, *S. aureus* còn là căn nguyên hàng đầu gây ngộ độc thực phẩm ở Việt Nam do chúng có khả năng sản sinh độc tố đường ruột (Staphylococcal enterotoxin B). Các vụ ngộ độc thực phẩm do *S. aureus* gây ra tại Sơn La năm

2012, Hà Giang năm 2013, Phú Thọ năm 2016, và Hậu Giang năm 2017 làm hàng trăm người phải nhập viện (Nguyễn Thị Giang, 2018).

Một số chủng *S. aureus* đề kháng methicillin (MRSA) có khả năng sản xuất men *pellicillinas* phá hủy vòng beta-lactam, cấu trúc cơ bản của các kháng sinh như penicillin G, ampicillin, và ureidopenicillin làm cho các kháng sinh này mất tác dụng. Các chủng MRSA này có yếu tố di truyền gọi là SCC_{mec} chứa gen *mecA* mã hoá cho sự sản xuất protein liên kết với penicillin (PBP-2a) hoặc là một loại enzyme thiết yếu trên thành tế bào vi khuẩn. PBP-2a tiếp tục xúc tác cho sự tổng hợp của thành tế bào vi khuẩn ngay cả khi nồng độ kháng sinh cao, do đó, ngăn trở tác động của các kháng sinh nhóm β -lactam (Chambers *et al.*, 2001). MRSA được xếp vào nhóm 2 với mức nguy hiểm cao trong danh sách 12 loại vi khuẩn nguy hiểm trên thế giới vì tình trạng kháng thuốc của chúng (WHO, 2017). MRSA đôi khi còn được gọi là “siêu vi khuẩn” là nguyên nhân gây ra một số bệnh nhiễm trùng khó điều trị ở người.

Trên thế giới đã có rất nhiều nghiên cứu về tình trạng kháng thuốc của vi khuẩn này. Các báo cáo gần đây đã ghi nhận sự lây truyền MRSA giữa lợn và người chăn nuôi (Huijsdens *et al.*, 2006). Một nghiên cứu tại Hà Lan cho biết những người chăn nuôi lợn có nguy cơ bị nhiễm khuẩn MRSA cao gấp 760 lần so với những người bình thường (Petinaki và Spiliopoulou, 2012). Tuy nhiên ở Việt Nam, các nghiên cứu tập trung chủ yếu tại các bệnh viện thuộc ngành y tế. Trong chăn nuôi, một số nghiên cứu về tỷ

lệ nhiễm và mức độ giảm mẫn cảm kháng sinh của vi khuẩn *S. aureus* trên vật nuôi và các sản phẩm động vật ở Việt Nam đã được thực hiện trước đây, nhưng chưa có một nghiên cứu nào được thực hiện nhằm xác định tỷ lệ nhiễm và mức độ mẫn cảm với kháng sinh của vi khuẩn MRSA trên vật nuôi. Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “*Xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn S. aureus và S. aureus kháng methicillin (MRSA) ở lợn nuôi tại tỉnh Bắc Ninh*” nhằm bước đầu thu thập bằng chứng khoa học về tỷ lệ nhiễm 2 loài vi khuẩn này trên đàn lợn chăn nuôi tại 1 số huyện thuộc tỉnh Bắc Ninh. Đặc biệt, nghiên cứu đưa ra dẫn liệu về mức độ mẫn cảm của các chủng vi khuẩn *S. aureus* và MRSA phân lập được với 12 loại kháng sinh, trong đó 9 kháng sinh thuộc 7 nhóm thuốc kháng sinh đang lưu hành rộng rãi trên thị trường và 3 kháng sinh khác đang được sử dụng trong điều trị các bệnh nhiễm trùng do loại vi khuẩn này gây ra trên người, từ đó cung cấp cơ sở khoa học cho việc xây dựng bộ tiêu chuẩn kiểm soát vi khuẩn kháng thuốc trong chương trình Hành động Quốc gia về kiểm soát kháng kháng sinh hiện nay.

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

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *S. aureus* và *S. aureus* kháng methicillin trong dịch ngoáy lỗ mũi lợn nuôi tại Bắc Ninh.

- Xác định mức độ mẫn cảm kháng sinh của các chủng *S. aureus* và MRSA phân lập được đối với 12 loại kháng sinh (penicillin G, erythromycin, linezolid, clindamycin, norfoxacin, rifampin, tetracyclin, trimethoprim – sulfamethoxazole, fusidic acid, kanamycin, Gentamycin, cefoxitin).

2.2. Vật liệu

- 80 mẫu tằm bông ngoáy mũi của 80 con lợn thuộc 24 hộ chăn nuôi nằm trên 3 huyện Tiên Du, Từ Sơn và Lương Tài thuộc tỉnh Bắc Ninh.

- Dụng cụ, hóa chất, môi trường dùng để nuôi cấy phân lập, giám định vi khuẩn *S. aureus*

và MRSA, xác định tính mẫn cảm kháng sinh.

- Trang thiết bị, máy móc phòng thí nghiệm Bộ môn Vệ sinh Thú y, Viện Thú y

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 1-12/ 2019.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp lấy mẫu: Phương pháp lấy mẫu tằm bông ngoáy mũi lợn theo QCVN 01 - 83: 2011/BNNT.

- Phương pháp phân lập và giám định *S. aureus* theo TCVN 4830-1:2005 (ISO 6888-1:1999).

- Phương pháp phân lập và giám định vi khuẩn MRSA theo quy trình quốc tế về kiểm tra *S. aureus* kháng methicillin: mẫu tằm bông ngoáy mũi lợn được nuôi cấy tăng sinh trong 5ml PBW qua đêm. Sau đó, cấy chuyển một vòng que cấy vô trùng 10µl dung dịch mẫu đã tăng sinh trên môi trường thạch Chromagar MRSA đã được chuẩn bị để ở 35-37°C trong 24h. Kết quả được kiểm tra sau 24h nuôi cấy, 1-5 khuẩn lạc MRSA điển hình có màu hồng hoặc tím hoa cà được chọn ra để tiếp tục làm phản ứng sinh hóa khẳng định như nhuộm Gram, thử catalase, lên men đường mannitol, Staphylococcus dryspot kit và PBP2' latex agglutination test. Các chủng vi khuẩn chuẩn ATCC 25923 và ATCC 43300 được sử dụng làm chủng đối chứng dương cho tất cả các bước của quá trình phân lập vi khuẩn MRSA trên mẫu thí nghiệm.

- Phương pháp xác định tính mẫn cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn *S. aureus*/MRSA phân lập được bằng phương pháp khoanh giấy kháng sinh (Disk diffusion test - Kirby Bauer). Hiện nay tại Việt Nam, danh mục kháng sinh cần phải đưa vào Chương trình Hành động quốc gia về kiểm soát đối với hai vi khuẩn này đang được tiếp tục xây dựng. 12 loại kháng sinh được lựa chọn cho nghiên cứu là những kháng sinh được phổ biến sử dụng và tham khảo danh mục kháng sinh trong chương trình kiểm soát vi khuẩn kháng thuốc của Đan Mạch (DANMAP, 2017).

- Phân tích số liệu bằng phần mềm Microsoft excel 2016.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *S. aureus* trên các mẫu tắm bông ngoáy mũi lợn

Mẫu được xác định là dương tính với *Staphylococcus* spp. khi khuẩn lạc mọc trên thạch đặc hiệu Baird Parker có các đặc điểm điển hình (màu đen nhánh, bóng, lồi, đường kính 1 - 1,5 mm, quanh khuẩn lạc có quầng sáng rộng 2 - 5 mm). Kết quả được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phân lập vi khuẩn *Staphylococcus* spp. trên lợn

Đợt lấy mẫu	Số mẫu kiểm tra	Tỷ lệ mẫu nhiễm <i>Staphylococcus</i> spp.	
		Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)
1	20	3	1
2	20	7	35
3	20	6	30
4	20	11	
Tổng	80	27	33,8

Từ 27 mẫu nhiễm *Staphylococcus* spp., mỗi mẫu lựa chọn 1 - 4 khuẩn lạc điển hình để tiếp tục làm các phản ứng sinh hoá khẳng định vi khuẩn *S. aureus*. Có tất cả 55 khuẩn lạc (chủng) nghi ngờ là *S. aureus* được kiểm tra các đặc tính sinh hóa để xác định chủng *S. aureus*. Chủng vi khuẩn được xác nhận là

S. aureus khi chúng đảm bảo các yếu tố: là tụ cầu khuẩn đứng thành đám hình chùm nho, bắt màu Gram (+), lên men đường mannitol, cho phản ứng catalase, gây dung huyết máu cừu (hemolysis) và đông vón huyết tương thỏ (coagulase) (theo TCVN 4830-1:2005). Kết quả được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 2. Kết quả kiểm tra đặc tính sinh hóa để xác định chủng *S. aureus*

Chỉ tiêu kiểm tra	Số chủng kiểm tra	Số chủng <i>S. aureus</i> được xác định	Tỷ lệ dương tính (%)
Gram	55	55	100
Catalase	55	55	100
Khả năng lên men đường Mannitol	55	20	36,4
Hemolysis	55	16	29,1
Coagulase	55	16	29,1

Kết quả cho thấy: 55/55 (100%) số chủng được kiểm tra là tụ cầu khuẩn, đứng thành đám, hình chùm nho, bắt màu Gram (+), 55/55 (100%) các chủng được kiểm tra có phản ứng catalase dương tính, 20/55 (36,4%) chủng được kiểm tra có lên men đường mannitol, chỉ có 16/55 chủng (29,1%) cho phản ứng hemolysis và coagulase dương tính. Như chúng ta đã biết, *Staphylococcus* spp. được chia làm 2 nhóm

(nhóm sản sinh men coagulase và nhóm còn lại không sản sinh men này). *S. aureus* thuộc nhóm tụ cầu sản sinh men coagulase ngoại bào, cho phản ứng với prothrombin huyết tương (gây ra hiện tượng dung huyết) và coagulase kết dính với thành phần vi khuẩn (gây ra hiện tượng đông vón huyết tương). Kết quả kiểm tra đặc tính sinh học các chủng *Staphylococcus* spp. phân lập được cho phép chúng tôi khẳng định

có 16 chủng vi khuẩn *S. aureus* được phân lập từ 13 mẫu dịch ngoáy mũi lợn. Như vậy, tỷ lệ nhiễm *S. aureus* ở lợn tại 3 huyện thuộc tỉnh Bắc Ninh là 13/80 (16,25%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khá thấp so với kết quả nghiên cứu của tác giả Velasco và cs (2018) khi kiểm tra sự lưu hành *S. aureus* trong mẫu tắm bông ngoáy mũi lợn ở Chile là 28,3% (Velasco *et al.*, 2018). Đồng thời, kết quả này lại thấp hơn nhiều so với kết quả của một nghiên cứu khác tại Mỹ cho thấy 558/739 (76%) mẫu tắm bông ngoáy mũi lợn được kiểm tra cho kết quả dương tính với *S. aureus* (Sun *et al.*, 2015). Ở Việt Nam hiện nay có rất ít nghiên cứu về tình hình nhiễm

S. aureus trên vật nuôi. Trên người, theo nghiên cứu của Vân Nguyễn và cs, tỷ lệ nhiễm *S. aureus* ở người dân sống ở ngoại ô và nông thôn miền Bắc là 29,8% (Van Nguyen *et al.*, 2014).

3.2. Kết quả phân lập vi khuẩn *S. aureus* kháng methicillin (MRSA)

Song song với nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm *S. aureus*, chúng tôi tiến hành phân lập vi khuẩn MRSA trên môi trường Chromagar MRSA. Mẫu được coi là dương tính với MRSA khi kiểm tra thấy các khuẩn lạc điển hình (khuẩn lạc tròn, trơn, lồi, có màu hồng hoặc hồng tím, đường kính 1 - 1,5 mm). Kết quả được trình bày tại bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân lập MRSA trên môi trường Chrom agar MRSA

Đợt lấy mẫu	Số mẫu kiểm tra	Tỷ lệ mẫu dương tính với MRSA	
		Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)
1	20	3	15
2	20	5	2
3	20	5	25
4	20	9	4
Tổng	80	22	27,5

Từ 22 mẫu dương tính trên môi trường thạch Chromagar MRSA, mỗi mẫu lựa chọn 1-5 khuẩn lạc điển hình để tiếp tục làm các phản ứng sinh hoá để khẳng định MRSA. Trong tổng số 58 khuẩn lạc nghi ngờ là MRSA được ghi nhận, chúng tôi đã tiến hành kiểm tra các đặc tính sinh hóa để xác định vi khuẩn MRSA khi chúng đảm bảo các yếu tố: là tụ cầu khuẩn đứng

thành đám hình chùm nho, bắt màu Gram (+), catalase (+), lên men đường mannitol và dương tính với 2 test thử ngưng kết nhanh trên bản nhựa nền đen phát hiện yếu tố gây đông vón (Dry spot staphylect) và phát hiện protein liên kết với Penicillin (PBP2' agglutination test) (Velasco *et al.*, 2018). Kết quả được trình bày tại bảng sau:

Bảng 4. Kết quả kiểm tra các đặc tính sinh hoá để xác định vi khuẩn MRSA

Chỉ tiêu kiểm tra	Số chủng kiểm tra	Số chủng dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)
Gram	58	58	100
Catalase	58	58	100
Lên men đường Mannitol	58	22	37,9
Dry spot staphylect test	58	16	27,6
PBP2' agglutination test	58	8	13,8

Kết quả cho thấy: 58/58 (100%) số chủng được kiểm tra là tụ cầu khuẩn, đứng thành đám, hình chum nhỏ, bắt màu gram (+), 58/58 (100%) các chủng được kiểm tra có phản ứng catalase dương tính. Có 22/58 (37,9%) chủng được kiểm tra lên men đường mannitol, trong đó 16/58 (27,6%) chủng được kiểm tra cho kết quả dương tính khi kiểm tra bằng kit phát hiện yếu tố gây đông vón và 8/58 (13,8%) chủng được kiểm tra cho kết quả dương tính khi kiểm tra bằng kit phát hiện protein liên kết với penicillin. Dry spot staphytest test là kit kiểm tra ngưng kết nhanh cho phép chẩn đoán phân biệt *S. aureus* với các *Staphylococcus* spp. khác nhờ khả năng phát hiện yếu tố đông vón, protein A và một số polysaccharit có trên bề mặt vi khuẩn *S. aureus*. Trong khi đó, PBP2' agglutination test là một kit kiểm tra ngưng kết nhanh khác cho phép chẩn đoán phân biệt vi khuẩn *S. aureus* kháng methicillin bằng cách phát hiện trực tiếp protein liên kết với penicillin trong một khoảng thời gian ngắn. Phương pháp này có độ chính xác cao hơn cả việc phát hiện gen *mecA* - được coi là tiêu chuẩn vàng trong việc xác định kháng methicillin, vì đã loại bỏ khả năng dương tính giả với các chủng có gen *mecA* nhưng không thể tạo ra sản phẩm protein. Kết quả kiểm tra đặc tính sinh hóa cho phép chúng tôi khẳng định có 8 chủng vi khuẩn thuộc 5 mẫu kiểm tra là vi khuẩn MRSA. Như vậy, tỷ lệ nhiễm MRSA ở lợn tại 1 số huyện thuộc tỉnh Bắc Ninh là 5/80 (6,25%). Kết quả này cao hơn một nghiên cứu trên lợn nuôi ở 5 bang của nước Mỹ (Illinois, Iowa, Minnesota, North Carolina và Ohio) cho thấy tỷ lệ nhiễm MRSA trên lợn là 50/1085 (4,6%) (Smith *et al.*, 2013). Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi lại thấp hơn các nghiên cứu khác như ở Nam Phi, tỷ lệ nhiễm MRSA trên lợn thịt là 12% (Van Lochem *et al.*, 2018), ở Nigeria là 9% (Okunlola và Ayandele, 2015). Ở Việt Nam, theo tác giả Van Nguyen và cs. (2014), tỷ lệ nhiễm MRSA ở người dân sống ở ngoại ô và nông thôn miền Bắc là 7,9%. Tuy vậy, chưa có nghiên cứu về tình hình nhiễm MRSA trên các loài vật nuôi khác nhau.

3.3. Kết quả kiểm tra khả năng miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn *S. aureus* và MRSA

Chúng tôi tiến hành kiểm tra mức độ miễn cảm của vi khuẩn *S. aureus* và MRSA với 12 loại kháng sinh. Trong đó, 9 kháng sinh thuộc 7 nhóm thuốc kháng sinh đang lưu hành rộng rãi trên thị trường và 3 kháng sinh khác (linezolid, rifampine và fusidic acid) là các thuốc đang được sử dụng trong điều trị các bệnh nhiễm trùng nguy hiểm do *S. aureus* gây ra trên người (Liu *et al.*, 2011). Kết quả về tính miễn cảm kháng sinh của các chủng *S. aureus* và MRSA phân lập được trên lợn, thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5 cho thấy trong 12 loại kháng sinh kiểm tra, có 4 loại kháng sinh mà vi khuẩn đã kháng bao gồm: penicillin G, erythromycin, clindamycin và kanamycin. Ngoài ra, *S. aureus* cũng đã kháng với các loại kháng sinh khác với tỷ lệ khá cao là tetracyclin (81,25%), cefoxitin (75%), trimethoprim - sulfamethoxazole (68,75%), Gentamycin (62,5%) và norfoxacin (50%). Kết quả nghiên cứu của Phan Nữ Đài Trang (2016) cho thấy tỷ lệ kháng kháng sinh của vi khuẩn *S. aureus* phân lập tại Viện Pasteur TP. HCM với penicillin là 86%; kanamycin 58,1%; clindamycin 65,4%; erythromycin 72%, rifampine 6,8% và fusidic acid 6,9%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy vi khuẩn *S. aureus* đã kháng với các kháng sinh penicillin, kanamycin, clindamycin và erythromycin. Tuy nhiên, các chủng vi khuẩn *S. aureus* phân lập được vẫn còn miễn cảm với các kháng sinh đang sử dụng để điều trị bệnh do *S. aureus* gây ra trên người như linezolid, rifampine và fusidic acid. Tuy nhiên, khả năng kháng kháng sinh của *S. aureus* rất nhanh, chỉ cần sử dụng kháng sinh điều trị thì sau đó sẽ xuất hiện khả năng kháng đối với loại kháng sinh đó (Phan Quốc Hoàn, 2017). Do đó, việc quản lý sử dụng thuốc kháng sinh trong chăn nuôi cần được giám sát chặt chẽ, nếu không, đây sẽ là nguồn nguy cơ làm gia tăng khả năng kháng kháng sinh trong điều trị các bệnh trên người.

Tiến hành kiểm tra khả năng miễn cảm kháng

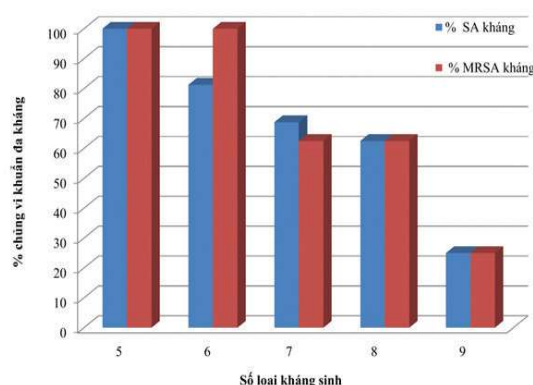
Bảng 5. Kết quả kiểm tra khả năng mẫn cảm kháng sinh của các chủng *S. aureus* và MRSA phân lập được tại Bắc Ninh

Tên kháng sinh	Mức độ mẫn cảm kháng sinh của các chủng <i>S. aureus</i> (n=16)			Mức độ mẫn cảm kháng sinh của các chủng MRSA (n=8)		
	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)
Penicillin G	0	0	16 (100)	0	0	8 (100)
Erythromycin	0	0	16 (100)	0	0	8 (100)
Linezolid	16 (100)	0	0	8 (100)	0	0
Clindamycin	0	0	16 (100)	0	0	8 (100)
Norfloxacin	3 (18,75)	5 (31,25)	8 (50)	3 (37,5)	0	5 (62,5)
Rifampine	16 (100)	0	0	8 (100)	0	0
Tetracyclin	3 (18,75)	0	13 (81,25)	3 (37,5)	0	5 (62,5)
Trimethoprim-sulfamethoxazole	3 (18,75)	2 (12,5)	11 (68,75)	3 (37,5)	0	5 (62,5)
Fusidic acid	16 (100)	0	0	8 (100)	0	0
Kanamycin	0	0	16 (100)	0	0	8 (100)
Gentamycin	3 (18,75)	3 (18,75)	10 (62,5)	3 (37,5)	0	5 (62,5)
Cefoxitin	4 (25)	0	12 (75)	0	0	8 (100)

Ghi chú: S (Susceptible): Rất mẫn cảm; I (Intermediate): Mẫn cảm trung bình; R (Resistant): Kháng

sinh của 8 chủng MRSA phân lập được tại các hộ chăn nuôi trên địa bàn tỉnh Bắc Ninh với 12 loại kháng sinh cho thấy vi khuẩn MRSA mẫn cảm với 3 kháng sinh: Linezolid, rifampine và fusidic acid. Tuy nhiên, MRSA đã kháng hoàn toàn với 5 loại kháng sinh: penicillin G, erythromycin, clindamycin, kanamycin và cefoxitin. Với các kháng sinh còn lại: norfloxacin, tetracyclin, trimethoprim-sulfamethoxazole và Gentamycin thì tỷ lệ kháng cũng khá cao (62,5%). Trong một nghiên cứu khác trên nhân y của Phan Nữ Đài Trang và cs. (2016), tỷ lệ kháng kháng sinh của vi khuẩn MRSA với penicillin là 79,3%; kanamycin 69,7%; clindamycin 77,2%; erythromycin 82,6%; trimethoprim - sulfamethoxazole 70,3%; rifampine 12,4% và fusidic acid 7,6%. Thực tế cho thấy tỷ lệ kháng kháng sinh của MRSA trong chăn nuôi cao hơn trong nhân y (Nguyễn Văn Kính, 2010). Vì vậy, cần kiểm soát chặt chẽ việc sử dụng kháng sinh với sự phối hợp chặt chẽ giữa các cơ quan từ các bằng chứng khoa học và nâng cao nhận thức cho người chăn nuôi trong việc sử dụng thuốc kháng sinh cho vật nuôi nhằm hạn chế thấp nhất mức

độ kháng thuốc của vi khuẩn và sự lây nhiễm vi khuẩn kháng thuốc giữa người và vật nuôi.



Hình 1. Sự đa kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *S. aureus* và MRSA phân lập được trên lợn tại Bắc Ninh

Hình 1 cho thấy tỷ lệ vi khuẩn *S. aureus* và MRSA kháng với ít nhất 5 loại kháng sinh được kiểm tra là 100%, với ít nhất 6 loại kháng sinh là 81,25% và 100%. Đặc biệt, 25% các chủng vi khuẩn *S. aureus* và MRSA phân lập được kháng với 9 trên tổng số 12 loại kháng sinh được kiểm

tra. Có nhiều nguyên nhân có thể dẫn đến hiện tượng kháng kháng sinh của vi khuẩn. Thực tế, trong phòng và điều trị bệnh cho vật nuôi, các chủ hộ chăn nuôi thường làm theo kinh nghiệm của mình, liệu trình sử dụng trong chăn nuôi không đúng hoặc không đầy đủ so với hướng dẫn của nhà sản xuất. Mặt khác, do một phần người chăn nuôi có tâm lý không tin tưởng hàm lượng thành phần hoạt chất trong sản phẩm thuốc thú y nên đã tự ý dùng tăng liều so với khuyến cáo. Tại một số địa phương, chủ hộ còn lạm dụng kháng sinh vào phòng bệnh cho vật nuôi, bổ sung vào thức ăn chăn nuôi cho mục đích kích thích tăng trưởng. Sự bổ sung kháng sinh thường xuyên, không đúng liều lượng, liệu trình vào thức ăn, nước uống là một nguyên nhân gây ra hiện tượng vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Vi khuẩn *S. aureus* được phát hiện ở 13/80 mẫu thu thập được, chiếm tỷ lệ 16,25%. Trong khi đó, vi khuẩn MRSA được phát hiện ở 5/80 mẫu được kiểm tra, chiếm tỷ lệ 6,25%.

Các chủng vi khuẩn *S. aureus* phân lập được đã kháng hoàn toàn với 4 loại kháng sinh, bao gồm: penicillin G, erythromycin, clindamycin và kanamycin. Ngoài ra, *S. aureus* cũng đã kháng với các loại kháng sinh khác với tỷ lệ khá cao là tetracyclin (81,25%), cefoxitin (75%), trimethoprim - sulfamethoxazole (68,75%), Gentamycin (62,5%) và norfloxacin (50%). Trong khi đó, các chủng vi khuẩn này còn mẫn cảm hoàn toàn (100%) với 3 loại kháng sinh, bao gồm linezolid, rifampine, fusidic acid.

Vi khuẩn MRSA phân lập được mẫn cảm hoàn toàn (100%) với kháng sinh: linezolid, rifampine và fusidic acid. MRSA đã kháng hoàn toàn với 5 loại kháng sinh: penicillin, erythromycin, clindamycin, kanamycin và cefoxitin. Với các kháng sinh còn lại thì tỷ lệ kháng cũng khá cao: norfloxacin, tetracyclin, trimethoprim-sulfamethoxazole, và Gentamycin đã kháng với tỷ lệ 62,5%.

4.2. Kiến nghị

Cần nâng cao nhận thức thông qua các hội thảo chuyên đề và tập huấn để người chăn nuôi hiểu rõ hơn về những nguy cơ ảnh hưởng tới sức khỏe của người và vật nuôi do vi khuẩn kháng thuốc. Khi điều trị bệnh ở vật nuôi phải tuân thủ theo hướng dẫn của BSTY, không điều trị theo kinh nghiệm hoặc tự sử dụng kháng sinh không đúng liều lượng và liệu trình.

Cần giám sát chặt chẽ hơn nữa việc mua, bán sử dụng thuốc kháng sinh trong điều trị bệnh cho vật nuôi và bổ sung vào thức ăn chăn nuôi, không sử dụng kháng sinh cấm, không rõ nguồn gốc, sử dụng đúng, đủ liệu trình thuốc tránh lãng phí, gây ô nhiễm môi trường chăn nuôi.

Cần tuân thủ việc xác định độ mẫn cảm kháng sinh của mầm bệnh để chọn đúng kháng sinh nhằm đảm bảo hiệu quả điều trị.

Cần tiến hành các nghiên cứu trên phạm vi rộng hơn về xác định tỷ lệ nhiễm, tỷ lệ kháng kháng sinh của vi khuẩn *S. aureus* và MRSA trên người chăn nuôi và các đối tượng vật nuôi khác nhau và nghiên cứu sâu hơn về sinh học phân tử để có thêm bằng chứng khoa học về nguy cơ lan truyền gen kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn *S. aureus* và MRSA giữa người và vật nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Thị Toan và Nguyễn Văn Lưu, 2015. Tình hình sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi lợn thịt, gà thịt ở một số trại chăn nuôi trên địa bàn tỉnh Bắc Giang. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam* (5): 717.
2. Nguyễn Thị Giang, 2018. *Áp dụng một số phương pháp mới để đánh giá định lượng nguy cơ ngộ độc thực phẩm do Staphylococcus aureus tại các bếp ăn tập thể của một số trường tiểu học ở Hà Nội*. Luận án Tiến sĩ. Chuyên ngành: Vi sinh vật học.
3. Nguyễn Văn Kính, 2010. Phân tích thực trạng: Sử dụng kháng sinh và kháng kháng sinh ở Việt Nam. *Báo cáo khoa học*. GARP-Việt Nam. 33-36.
4. Phan Nữ Đài Trang, Vũ Lê Ngọc Lan, Ưông Nguyễn Đức Ninh và Cao Hữu Nghĩa, 2016.

- Khảo sát tỷ lệ kháng kháng sinh và gen quy định độc tố exfoliative toxins của các chủng *Staphylococcus aureus* phân lập tại Viện Pasteur TP. HCM. *Tạp chí Phát triển khoa học và công nghệ* 19 (3T): 15-23.
5. Phan Quốc Hoàn, 2017. Vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh: Thực trạng đáng báo động. Bộ Y tế. Phòng chống kháng thuốc. <http://amr.moh.gov.vn/vi-khuan-khang-thuoc-khang-sinh-thuc-trang-dang-bao-dong/>.
 6. TCVN 4830-1:2005 (ISO 6888-1:1999). Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi-Phương pháp định lượng *Staphylococci* có phản ứng dương tính coagulase (*Staphylococcus aureus* và các loài khác) trên đĩa thạch - Phần 1: Kỹ thuật sử dụng môi trường thạch Baird-Parker.
 7. Chambers H.F., 2001. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Mechanisms of resistance and implications for treatment. *Postgrad Med* 109(2 Suppl): 43-50.
 8. DANMAP, 2017. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. <https://www.food.dtu.dk/english/-/media/Institutter/Foedevareinstituttet/Publikationer/Pub-2018/Rapport-DANMAP-2017.aspx?la=da&hash=DBFA2705FD13F1430A7B31B7FAB709E4D239C778>.
 9. Huijsdens, X.W., Dijke, Van, B.J., Spalburg, E., Santen-Verheuve, V.M.G., Heck, M.E., Pluister, G.N., Voss, A., Wannet, W., Albert J de, N., 2006. Community-acquired MRSA and pig-farming. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 5, 26.
 10. Liu, C., Bayer, A., Cosgrove, S. E., Daum, R. S., Fridkin, S. K., Gorwitz, R. J., ... Chambers, H. F., 2011. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children: Executive summary. *Clinical Infectious Diseases*, 52(3), 285–292.
 11. Okunlola, I.A. & Ayandele, A., 2015, Prevalence and antimicrobial susceptibility of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among pigs in selected farms in Ilora, South Western Nigeria, *European Journal of Experimental Biology* 5, 50–56.
 12. Petinaki, E., Spiliopoulou, I., 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among companion and food-chain animals: Impact of human contacts. *Clin. Microbiol. Infect.* 18, 626–634.
 13. Rasigade JP, Vandenesch F. *Staphylococcus aureus*: a pathogen with still unresolved issues. *Infect. Genet. Evol.* 2014 Jan; 21:510-4
 14. Smith, T.C., Gebreyes, W.A., Abley, M.J., Harper, A.L., Forshey, B.M., Male, M.J., Martin, H.W., Molla, B.Z., Sreevatsan, S., Thakur, S., Thiruvengadam, M., Davies, P.R., 2013. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and farm workers on conventional and antibiotic-free swine farms in the USA. *PLoS One* 8, 1–5.
 15. Sun, J., Yang, M., Sreevatsan, S., Davies, P.R., 2015. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* in growing pigs in the USA. *PLoS One* 10, 1–14.
 16. Van Lochem, S., Thompson, P.N., Annandale, C.H., 2018. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among large commercial pig herds in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 85, 1–4.
 17. Van Nguyen, K., Zhang, T., Vu, B.N.T., Dao, T.T., Tran, T.K., Nguyen, D.N.T., Tran, H.K.T., Nguyen, C.K.T., Fox, A., Horby, P., Wertheim, H., 2014. *Staphylococcus aureus* nasopharyngeal carriage in rural and urban northern Vietnam. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 108, 783–790.
 18. Velasco, V., Vergara, J.L., Bonilla, A.M., Muñoz, J., Mallea, A., Vallejos, D., Quezada-Aguiluz, M., Campos, J., Rojas-García, P., 2018. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* strains in the pork chain supply in Chile. *Foodborne Pathog. Dis.* 15, 262–268.
 19. WHO. Global action plan on antimicrobial resistance. Who 2017:1–28.
- Ngày nhận 22-11-2019
 Ngày phản biện 17-12-2019
 Ngày đăng 1-3-2020