

TÌNH HÌNH NHIỄM VÀ MỨC ĐỘ KHÁNG THUỐC CỦA *SALMONELLA* SPP PHÂN LẬP TỪ VỊT VÀ MÔI TRƯỜNG NUÔI TẠI THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Nguyễn Đức Hiền¹ và Phạm Thị Như Thảo²

TÓM TẮT

Để xác định tình hình nhiễm và mức độ kháng thuốc của *Salmonella* spp. trên vịt nuôi tập trung tại Cần Thơ, một khảo sát được tiến hành trên 389 mẫu ruột, phân nền chuồng, nước ao nuôi và thức ăn vịt thu thập từ 270 trại chăn nuôi vịt quy mô lớn. Kết quả cho thấy tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. chung cho vịt ở vùng khảo sát là 27,0% và từ môi trường nuôi vịt là 9,2%, trong đó serovar Enteritidis chiếm tỷ lệ 5,9% và Typhimurium là 19,1%. Các phân lập *salmonella* đã kháng với phần lớn các loại kháng sinh đang lưu hành, ngoại trừ marbofloxacin, oxytetracycline, fosfomycin, amikacin và hỗn hợp doxycycline+neomycin.

Từ khóa: Vịt, *Salmonella* spp, Tỷ lệ nhiễm, Kháng kháng sinh, Tp Cần Thơ

Infected situation and antibiotic resistance of *Salmonella* spp isolated from large scale duck farms in Can Tho city

Nguyen Duc Hien and Pham Thi Nhu Thao

SUMMARY

In order to evaluate infected situation and antibiotic resistance of *Salmonella* spp isolated from large scale duck farms in Can Tho city, Vietnam, an investigation was carried out on 389 samples from intestine, faeces, feed and duckpond water collected from 270 duck farms in the outskirts of the city. Results indicated that overall infected rate of *Salmonella* spp in duck was 27,0% and in environmental materials was 9,2%, of which infected rate of serovar Enteritidis and Typhimurium was 5.95% and 19,05 % respectively. *Salmonella* isolates in this study were resistant to almost popularly used antibiotics, except marbofloxacin, oxytetracycline, fosfomycin, amikacin and mixture of doxycycline+neomycin.

Key words: Duck, *Salmonella* spp, Prevalence , Antibiotic resistance, Can Tho city

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Salmonella được tìm thấy trong phân, đất, nước, xác vật chết do bệnh và là một vi khuẩn được quan tâm nghiên cứu nhiều trên thế giới vì những tác động của chúng đối với sức khỏe con người và vật nuôi. Trong đó *Salmonella* Enteritidis và *Salmonella* Typhimurium là hai serovar được nghiên cứu khá nhiều vì chúng là nguyên nhân gây bệnh ở một loài vật nuôi trong đó có vịt, gây ngộ độc thực phẩm và cũng gây bệnh cho con người (Arestup et al.,2003). Việt Nam là một nước chăn nuôi nhiều vịt, nhưng mới có một vài công bố về tình hình nhiễm salmonella trên vịt (Nguyễn Thị Ngọc Liên, 1997; Trần Xuân Hạnh,1998; Tran Thi Phan et al, 2005 và Nguyễn Thị Chinh và ctv, 2010). Hơn nữa, chưa có một nghiên cứu chi tiết nào về sự hiện diện của hai serovar này trên đàn vịt nuôi tập trung cũng như môi trường chăn nuôi vịt, nhất là tại khu vực xung quanh thành phố Cần Thơ. Nghiên cứu này nhằm xác định những vấn đề trên và đồng thời khảo sát mức độ kháng thuốc của vi khuẩn này để xác định loại kháng sinh hữu hiệu sử dụng trong điều trị bệnh do salmonella gây ra ở các đàn vịt.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

- 270 mẫu chất chứa ruột, 90 mẫu thức ăn, nước ao, phân nền chuồng thu thập từ những trại vịt nuôi tập trung tại các huyện Cờ Đỏ, Phong Điền và quận Ô Môn nằm ở ngoại ô thành phố Cần Thơ. Chất chứa ruột từ lấy từ mẫu manh tràng, nước ao nuôi lấy khoảng

¹ Chi cục thú y TP.Cần Thơ

² Khoa Nông nghiệp và SHUD, Trường Đại học Cần Thơ

500 ml ngay gần bờ chuồng vịt, 50 gr thức ăn từ máng và khoảng 50 gr phân trên nền chuồng. Tất cả mẫu đều được cho vào chai hoặc túi nilon vô trùng để trong thùng lạnh và chuyển ngay về phòng thí nghiệm.

- Các loại môi trường nuôi cấy và giám định *Salmonella* spp bao gồm: BPW, Rappaport-Vassiliadis agar, BGA, KIA, LDC...
- Bộ kháng huyết thanh *Salmonella* polyvalent O, *Salmonella* monovalent O_{4,5} ; O₉ và O₁₂ và monovalent H_i, H_{1,2} và H_{g,m} (Biorad Laboratories, USA).

2.1 Phương pháp nghiên cứu

- Nuôi cấy, phân lập và giám định *Salmonella* theo TCVN 4829:2005 và TCVN 4829:2005/SĐ1:2008
- Giám định *Salmonella* spp dựa vào các phản ứng sinh hóa và phản ứng ngưng kết với kháng huyết thanh *Salmonella* polyvalent O.
- Xác định serovar *Sal.Typhimurium* và *Sal. Enteritidis* bằng các phản ứng ngưng kết với kháng huyết thanh *Salmonella* monovalent O_{4,5} ; O₉ và O₁₂ và kháng huyết thanh monovalent H_i, H_{1,2} và H_{g,m} (Biorad Laboratories, USA).
- Kháng sinh đồ được thực hiện trên 30 phân lập salmonella với 12 loại kháng sinh sử dụng phổ biến hiện nay theo phương pháp Kirby-Bauer và đánh giá theo tiêu chuẩn của Đại học Y Dược TP.HCM.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1 Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp ở mẫu ruột vịt

Tỷ lệ nhiễm salmonella ở mẫu ruột vịt thu thập từ 270 trại chăn nuôi vịt tại 3 huyện Phụng Hiệp, Cờ Đỏ và Ô Môn, Tp Cần Thơ được trình bày trong bảng 1. Kết quả cho thấy tỷ lệ vịt nuôi nhiễm *Salmonella* spp khá cao, chiếm tới 27,0%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm vi khuẩn này ở những vịt có các triệu chứng sốt, bỏ ăn và tiêu chảy (58,7%) cao hơn hẳn ở vịt có dáng vẻ bề ngoài bình thường (3,8%). Kết quả này chứng tỏ sự hiện diện của *Salmonella* spp ở ruột đóng vai trò quan trọng đối với tình trạng sức khỏe của đàn vịt, có thể bao hàm cả tác nhân gây bệnh nguyên phát lẫn bội nhiễm hoặc kế nhiễm.

Bảng 1: Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp ở vịt

	Số mẫu XN	Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)
Vịt bệnh	114	67	58,7
Vịt bình thường	156	6	3,8
Chung	270	73	27,0

Vai trò của một số serovar *Salmonella* đối với sức khỏe các đàn vịt được xác nhận bởi nhiều nghiên cứu trước đây ở trong và ngoài nước. Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* khảo sát trên các đàn vịt ở tỉnh Hà Tây trước đây là 21% (Nguyễn Thị Ngọc Liên, 1997), ở các tỉnh Bắc Ninh và Bắc Giang là 19,02% (Nguyễn Thị Chinh và ctv, 2010), nhưng ở khu vực lân cận thành phố Hồ Chí Minh lại lên tới 28,3% (Trần Xuân Hạnh, 1998). Số liệu chung của chúng tôi gần giống với kết quả khảo sát của Trần Xuân Hạnh và ctv, nhưng cao hơn nhiều so với số liệu của Nguyễn Thị Ngọc Liên và Nguyễn Thị Chinh và ctv. Có nhiều nguyên nhân dẫn tới sự khác nhau này. Ngoài phương thức chăn nuôi vịt và điều kiện địa lý-khí hậu khác nhau, loại mẫu khảo sát và cách lấy mẫu cũng như quy trình nuôi cấy áp dụng có ảnh hưởng lớn tới kết quả thu được. Tuy vậy, tất cả những tác giả trên đều khẳng định vai trò quan trọng của nhiễm salmonellae đối với tình trạng sức khỏe đàn vịt. Điều này cũng thể hiện rõ trong kết quả khảo sát của chúng tôi cho thấy tỷ lệ hiện diện của salmonella trong các mẫu ruột lấy từ vịt có biểu hiện bệnh lên tới 58,7%, trong khi đó ở mẫu ruột lấy từ vịt có dáng vẻ bình thường chỉ ở mức 3,8%.

3.2 Mức độ ô nhiễm *Salmonella* spp ở môi trường nuôi vịt

Số liệu ở bảng 2 trình bày các kết quả kiểm tra xác định mức độ ô nhiễm salmonella ở môi trường nuôi vịt từ 3 nguồn mẫu khác nhau được thu thập ở 90 trại chăn nuôi vịt tại các huyện Phụng Hiệp, Cờ Đỏ và Ô Môn.

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp ở môi trường nuôi vịt

Loại mẫu	H.Phong Điền			H.Cờ Đỏ			Q.Ô Môn			Tỷ lệ nhiễm trung bình (%)
	Số mẫu	Số mẫu (+)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Số mẫu	Số mẫu (+)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Số mẫu	Số mẫu (+)	Tỷ lệ nhiễm (%)	
Nước ao nuôi	10	1	10,0	13	1	7,7	16	2	12,5	10,3
Thức ăn	10	1	10,0	12	0	0	15	1	6,7	5,4
Phân nền chuồng	12	1	8,3	14	2	14,3	17	2	11,8	11,6
Tổng	32	3	9,4	39	3	8,1	48	5	10,4	9,2
Chất chứa ruột	90	23	25,5	90	21	23,3	90	29	33,2	27,0

Số liệu ở bảng 2 cho thấy mức độ ô nhiễm salmonella ở môi trường nuôi vịt tại Cần Thơ khá cao (9,2%). Trong đó, tỷ lệ phát hiện salmonella trong mẫu thức ăn (5,4%) thấp hơn trong nước ao nuôi (10,3%) và phân nền chuồng nuôi vịt (11,6%). Các mẫu thức ăn và nước ao nuôi lấy tại huyện Cờ Đỏ có khuynh hướng nhiễm thấp hơn (0 và 7,7%), ngược lại trong phân nền chuồng lại cao hơn (14,3%) hai huyện khác. Nhìn chung, mức độ ô nhiễm salmonella ở môi trường nuôi vịt tại 3 huyện khảo sát không khác nhau nhiều, nhưng ở huyện Cờ Đỏ, một địa phương có truyền thống chăn nuôi vịt với quy mô lớn, do thực hiện tốt các biện pháp gom phân và vệ sinh nền chuồng nên có mức độ nhiễm ở nước ao nuôi và thức ăn thấp hơn.

Các nghiên cứu trước đây ở nước ta khảo sát tỷ lệ nhiễm salmonella chủ yếu ở phủ tạng vịt bệnh và trứng vịt (Trần Xuân Hạnh và ctv, 1999; Nguyễn Thị Chinh và ctv, 2010), có rất ít các số liệu về sự hiện diện của salmonellae trong môi trường chăn nuôi vịt. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã cung cấp những thông tin hữu ích về mức độ vấy nhiễm trong môi trường chăn nuôi và mối tương quan giữa mức độ nhiễm salmonella ở vịt và mức độ ô nhiễm môi trường. Kết quả nghiên cứu này nhắc nhở người chăn nuôi vịt cần quan tâm hơn nữa việc thực hiện các biện pháp vệ sinh thú y trong chăn nuôi vịt để giảm thiểu sự hiện diện salmonellae trong môi trường.

3.3 Kết quả xác định sự hiện diện hai serovar *Salmonella* Enteritidis và Typhimurium

Từ 84 phân lập salmonella thu được trong hai khảo sát trên, *Salmonella* Enteritidis và Typhimurium đã được xác định bằng phản ứng ngưng kết với kháng huyết thanh monovalent O và H đặc hiệu cho hai serovar này. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* theo loài

Loại mẫu	Số mẫu salmonella	<i>Salmonella</i> Enteritidis	Tỷ lệ (%)	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Tỷ lệ (%)
Nước ao nuôi	4	0	0	1	25
Thức ăn	2	0	0	1	50
Phân nền chuồng	5	1	20	2	40
Ruột vịt bệnh	67	4	5,9	10	14,9
Ruột vịt khỏe	6	0	0	1	16,6
Tổng	84	5	5,9	15	17,8

Số liệu ở bảng 3 cho thấy tỷ lệ phát hiện *Sal.* Typhimurium (17,8%) từ các trại vịt nuôi tập trung ở Cần Thơ cao hơn *Sal.* Enteritidis (5,8%) tới 3 lần. Sự hiện diện serovar

Typhimurium cũng phổ biến hơn, có mặt trong tất cả các loại mẫu khảo sát, trong khi *Sal* Enteritidis chỉ được phát hiện ở mẫu ruột lấy từ vịt đang có biểu hiện bệnh và phân trên nền chuồng nuôi.

Những nghiên cứu trước đây cho thấy sự hiện diện của *Sal*. Typhimurium trên vịt khá phổ biến (Tsai & Hsiang, 2005; Tran Thi Phan et al, 2005). Kết quả nghiên cứu gần đây nhất về salmonellae ở vịt (Nguyễn Thị Chinh và ctv, 2010) cũng cho kết quả tương tự, đó là sự hiện diện của *Sal*. Typhimurium (22,8%) ở vịt bệnh và trứng vịt tại hai tỉnh Bắc Ninh và Bắc Giang cao gấp gần 3 lần *Sal*. Enteritidis (8,5%), chủng tổ serovar này nhiễm phổ biến trên vịt.

Hai serovar Enteritidis và Typhimurium được cho là căn nguyên gây bệnh phó thương hàn trên vịt (duck paratyphoid) và có thể là nguyên nhân gây ngộ độc thực phẩm ở người tiêu thụ trứng và thịt vịt mắc bệnh, do vậy cần có biện pháp giám sát chặt chẽ sự hiện diện của chúng tại các trại chăn nuôi vịt tập trung.

3.4 Mức độ mẫn cảm của Salmonella với các loại kháng sinh thường sử dụng

Kết quả kiểm tra mức độ mẫn cảm của 30 phân lập *Salmonella*, trong đó có 10 phân lập thuộc serovar Typhimurium và 5 phân lập Enteritidis, đối với 12 loại kháng sinh sử dụng phổ biến trong khu vực được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Mức độ mẫn cảm của các phân lập Salmonella đối với một số kháng sinh

Tên kháng sinh (KS)	Nồng độ KS	Số mẫu kiểm tra	Mức độ mẫn cảm của salmonellae					
			Cao		Trung bình		Kháng	
			Số mẫu	Tỉ lệ (%)	Số mẫu	Tỉ lệ (%)	Số mẫu	Tỉ lệ (%)
1. Tilmicosin	15 µg	30	0	0	0	0	30	100
2. Enrofloxacin	5 µg	30	1	3,3	4	13,3	25	83,3
3. Flumequine	30 µg	30	1	3,3	7	23,3	22	73,3
4. Doxycycline	30 µg	30	0	0	12	40	18	60
5. Neomycine	30IU	30	0	0	13	43,3	17	56,7
6. Flophenicol	130 µg	30	0	0	16	53,3	14	46,7
7. Gentamycine	10 µg	30	8	26,7	8	26,7	14	46,7
8. Ceftofur	30 µg	30	3	10	16	53,3	12	40
9. Marbofloxacin	5 µg	30	26	86,7	2	6,7	2	6,7
10. Oxytetracycline	30 µg	30	12	40	16	53,3	2	6,7
11. Fosfomycine	50 µg	30	26	86,7	4	13,3	0	0
12. Amikacine	30 µg	30	30	100	0	0	0	0

Kết quả cho thấy các phân lập salmonella đã kháng với phần lớn các kháng sinh thông dụng tại Cần Thơ, nhất là tilmicosin, enrofloxacin và flumequine. Các kháng sinh có hiệu lực trong điều trị bệnh do *Salmonella* gây ra ở vịt chỉ còn 4 loại kháng sinh là marbofloxacin, oxytetracycline, fosfomycine và amikacine. Kết quả khảo sát của chúng tôi cũng tương đồng với những nhận xét của tác giả trước đây (Trần Xuân Hạnh và ctv, 1999 và Nguyễn Thị Chinh và ctv, 2010) về mức độ đề kháng cao của các phân lập salmonellae đối với một số loại kháng sinh thông dụng.

Để chọn công thức phối hợp kháng sinh hữu hiệu trong điều trị bệnh do *Salmonella* trên vịt từ những kháng sinh có biểu hiện bị vi khuẩn kháng thuốc, một khảo sát về mức độ mẫn cảm và tính đa kháng của các phân lập salmonella đối với một số hỗn hợp kháng sinh được tiến hành và kết quả được trình bày trong bảng 5.

Bảng 5. Mức độ đa kháng của các phân lập salmonella đối với một số hỗn hợp kháng sinh

Số loại kháng sinh	Hỗn hợp kháng sinh	Salmonella spp	
		Số mẫu kháng /30 mẫu	Tỉ lệ (%)
2	Til+Enr	11	36,7
2	Enr+Flu	7	23,3
2	Dox+Neo	1	3,3
3	Dox+Enr+Til	3	10
3	Dox+Neo+Til	3	10
4	Dox+Neo+Til+Flo	2	6,7
4	Dox+ Neo+Til+Gen	3	10
5	Dox+ Neo+Til+Gen+Flo	2	6,7
5	Dox+ Neo+Til+Flo+Cef	1	3,3
6	Dox+Neo+Til+Flo+Cef+Sam*	1	3,3

*Sam: Ampicilline+Sulbactam

Số liệu tập hợp ở bảng 5 cho một kết quả rất đáng quan tâm trong việc phối hợp kháng sinh để điều trị phó thương hàn cho vịt. Trong các hỗn hợp 2 kháng sinh được thử nghiệm chỉ có hỗn hợp doxycycline+neomycine là có hiệu lực đối với các phân lập salmonellae thử nghiệm và có thể ứng dụng trong điều trị (3,3% phân lập kháng thuốc). Sử dụng hỗn hợp này làm nền và phối hợp thêm các kháng sinh khác lần lượt với 3, 4, 5 và 6 kháng sinh chúng tôi nhận thấy việc phối hợp thêm các kháng sinh khác không làm tăng hiệu quả điều trị vì tỉ lệ của số mẫu vi khuẩn *Salmonella* kháng thuốc không giảm.

Kết quả khảo sát về mức độ kháng thuốc của các phân lập salmonellae ở trên cánh báo các thú y viên và những chủ trại chăn nuôi vịt cần thận trọng trong việc chọn lựa kháng sinh để điều trị phó thương hàn cho vịt. Đồng thời có thể khuyến cáo là trong điều kiện hiện tại việc điều trị nhiễm khuẩn *Salmonella* trên vịt ở Cần Thơ chỉ nên sử dụng các kháng sinh sau: marbofloxacin, oxytetracycline, fosfomycin và amikacin hay hỗn hợp doxycycline+neomycine.

IV. KẾT LUẬN

- Tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp chung ở mẫu ruột vịt là 27,0%, trong đó ở mẫu từ vịt bệnh là 58,7% và từ vịt có dáng vẻ bình thường chỉ 3,8%. Như vậy có thể cho rằng salmonellae có vai trò quan trọng đối với tình trạng sức khỏe của các đàn vịt nuôi tập trung với quy mô lớn.
- Sự hiện diện serovar Typhimurium phổ biến hơn Enteritidis ở các đàn vịt và môi trường nuôi vịt tại Cần Thơ.
- Các phân lập *Salmonella* từ vịt và môi trường nuôi vịt tại Cần Thơ đề kháng với rất nhiều loại kháng sinh khảo sát, ngoại trừ marbofloxacin, oxytetracycline, fosfomycin, amikacin và hỗn hợp doxycycline+neomycine.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Arestrup, F.M., M.Lertworapreecha, M.C.Evans, A.Bangtrakulnoth, T.Chalermchaikit, H.C.Wegener (2003). Antimicrobial susceptibility and occurrence of resistance gene among *Salmonella enterica* serovar Weltevreden from different countries. *J.Antimicro.Chemotherapy* 52, pp.715-718.
2. Trần Xuân Hạnh (1998). Kết quả bước đầu nghiên cứu tình hình nhiễm *Salmonella* trên vịt ở thành phố Hồ Chí Minh và một số tỉnh phụ cận. *Tc.Khoa học kỹ thuật thú y, tập VI, số 1, tr.61-67.*
3. Nguyễn Thị Chinh, Nguyễn Quang Tính và Trần Thị Hạnh (2010), Nghiên cứu một số đặc tính của *S.Typhimurium* và *S.Enteritidis* trên đàn vịt tại Bắc Ninh, Bắc Giang. *Tc.KHKT Thú Y, tập XVII, số 4, tr.28-33*

4. Nguyễn Thị Ngọc Liên (1997), Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ học bệnh phó thương hàn vịt ở Hà Tây và phòng trị, Luận văn thạc sỹ KHNN, Đại học Nông nghiệp Hà Nội.
5. Tran Thi Phan, Ly Thi Lien Khai, Natsue Ogasawara, Nguyen Thu Tam, Masato Akiba, And Hideki Hayashidani (2005), “Prevalence of *Salmonella* in pig, chickens and ducks in Mekong Delta, Vietnam”, *Journal of Food Protection*, Vol.65 (5) .
6. Thomason .M.B, Cherry B.W and David J.D (1977). *Salmonellae* in health foods, *Applied and Environmental Microbiology*, Nov-1977, pp 602-603
7. Tsai H.J and P.H Hsaing. (2005). The prevalence and antimicrobial susceptibilities of *Salmonella* and *Campylobacter* in ducks in Taiwan. Graduate Institute of Veterinary Medicine, National Taiwan University. Taipei, Taiwan.
8. Phạm Hùng Vân (2002). Cẩm nang các kỹ thuật vi sinh lâm sàng. Đại học Y Dược TP.HCM.