



DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.076

## XÁC ĐỊNH GEN KHÁNG KHÁNG SINH NHÓM SULFONAMIDE CỦA *Escherichia coli* SINH BETA-LACTAMASES PHỔ RỘNG PHÂN LẬP TRÊN CÁ

Phan Như Ý<sup>1</sup> và Trần Thị Tuyết Hoa<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Học viên cao học khóa 22, ngành Nuôi trồng thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trần Thị Tuyết Hoa (email: [tthoa@ctu.edu.vn](mailto:tthoa@ctu.edu.vn))

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 18/10/2017

Ngày nhận bài sửa: 26/11/2017

Ngày duyệt đăng: 19/06/2018

### Title:

Sulfonamide resistance genes in extended-spectrum  $\beta$ -lactamases producing *Escherichia coli* isolated from fish

### Từ khóa:

Beta-lactamase phổ rộng, *Escherichia coli*, gen *sul*, kháng kháng sinh, sulfonamide

### Keywords:

Antibiotic resistance, *Escherichia coli*, extended spectrum beta lactamase (ESBL), sulfonamide, *sul* gene

### ABSTRACT

Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs)-producing *Escherichia coli* causes serious diseases in human and terrestrial animals. A number of studies have recorded the presence of ESBL producing *E. coli*, notably with high antibiotic resistance and especially sulfonamide resistance, in fish. Therefore, this study was conducted to determine the presence and distribution the *sul* genes (*sul1*, *sul2*, *sul3*) of ESBL producing *E. coli* in fish from different sites in the Mekong delta. A total of 60 ESBL producing *E. coli* isolates were used in this study. These strains were isolated from wild and cultured fish samples (*Pangasianodon hypophthalmus* and *Oreochromis* sp.) in An Giang, Vinh Long and Dong Thap provinces from 2015 to 2016. Results showed that: (i) the rate of ESBL producing *E. coli* resistance to sulfonamide antibiotic was at 98.3% with MIC >32 $\mu$ g/ml. This study recorded that ESBL producing *E. coli* simultaneously resistant to 8-9 types of antibiotics accounted for 66.7%; (ii) ESBL producing *E. coli* isolated from An Giang, Vinh Long and Dong Thap contained common sulfonamide resistance genes which included *sul2* (35%), *sul3* (10%), *sul1* (5%) and some ESBL producing *E. coli* isolates contained two or three genes: *sul1* and *sul2* (25%), *sul2* and *sul3* (10%), *sul1* and *sul3* (2%), and *sul1*, *sul2* and *sul3* (12%).

### TÓM TẮT

*Escherichia coli* sinh enzyme beta-lactamases phổ rộng (ESBL-*E. coli*) là loài vi khuẩn gây nhiều bệnh nguy hiểm cho người và những loài động vật trên cạn. Một số nghiên cứu đã ghi nhận ESBL-*E. coli* xuất hiện trên cá nuôi và cá tự nhiên, điều đáng quan tâm là tỉ lệ kháng thuốc của chúng rất cao, đặc biệt đối với nhóm sulfonamide. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định sự hiện diện và phân bố nhóm gen *sul* (*sul1*, *sul2*, *sul3*) của vi khuẩn ESBL-*E. coli* trên cá từ nhiều địa bàn khác nhau thuộc vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Nghiên cứu sử dụng 60 chủng vi khuẩn phân lập được từ cá tự nhiên, và mẫu cá nuôi (*Pangasianodon hypophthalmus* và *Oreochromis* sp.) ở các tỉnh An Giang, Vĩnh Long và Đồng Tháp trong năm 2015 và năm 2016. Kết quả ghi nhận: (i) Tỉ lệ vi khuẩn ESBL-*E. coli* kháng kháng sinh nhóm sulfonamide chiếm 98,3% với giá trị MIC >32 $\mu$ g/ml; (ii) ESBL-*E. coli* phân lập từ các mẫu cá thu ở An Giang, Vĩnh Long và Đồng Tháp mang các gen kháng thuốc kháng sinh nhóm sulfonamide phổ biến là *sul2* (35%), *sul3* (10%), *sul1* (5%) và một số chủng nhiễm kép 2, 3 gen là *sul1* và *sul2* (25%), *sul2* và *sul3* (10%), *sul1* và *sul3* (2%), *sul1*, *sul2* và *sul3* (12%).

Trích dẫn: Phan Như Ý và Trần Thị Tuyết Hoa, 2018. Xác định gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamide của *Escherichia coli* sinh beta-lactamases phổ rộng phân lập trên cá. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(4B): 108-114.

## 1 GIỚI THIỆU

Thủy sản là một trong những thế mạnh của Việt Nam, trong đó Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) được xem là vùng có diện tích và sản lượng nuôi trồng lớn nhất nước. Nghề nuôi cá ở ĐBSCL rất phát triển kể cả cá da trơn và cá có vây. Để đáp ứng nhu cầu thị trường trong nước và xuất khẩu sang nhiều nước trên thế giới, người nuôi đã không ngừng thâm canh hóa nghề nuôi với mật độ ngày càng cao. Đó là một trong những nguyên nhân làm dịch bệnh xuất hiện thường xuyên, gây thiệt hại lớn đến năng suất và chất lượng sản phẩm mà phần lớn tác nhân gây bệnh trên cá chủ yếu là do vi khuẩn. Hiện nay, kháng sinh vẫn đang là liệu pháp trị bệnh vi khuẩn được người dân sử dụng rộng rãi. Đã có rất nhiều nghiên cứu cho thấy việc sử dụng thuốc kháng sinh trực tiếp để trị bệnh cá sẽ làm gia tăng mức độ kháng thuốc của vi khuẩn có trong hệ tiêu hóa của cá (McPhearson *et al.*, 1991; DePaola *et al.*, 1995). Vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản hiện nay có khả năng kháng kháng sinh cao như *Streptococcus agalactiae* kháng 98,08% với trimethoprim – sulfamethoxazol (Phạm Hồng Quân và *ctv.*, 2013), vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas hydrophila* kháng hoàn toàn với trimethoprim – sulfamethoxazole (Quách Văn Cao Thi và *ctv.*, 2014), Theo Nguyen *et al.* (2014), *E. ictaluri* hoàn toàn có khả năng tiếp hợp và truyền gen kháng thuốc sang vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*) là vi khuẩn gây bệnh trên người. Trong những năm gần đây, nhiều báo cáo đã phân lập được vi khuẩn *E. coli* trong hệ thống nuôi trồng thủy sản. Cụ thể Hoa *et al.* (2008) phân lập được *E. coli* trong môi trường nước nuôi tôm và cá. Vi khuẩn *E. coli* còn được phát hiện ký sinh trong ruột cá (Nguyễn Thị Ngọc Hònet *et al.*, 2016). Đáng quan tâm hơn khi vi khuẩn *E. coli* có thể sản sinh ra enzyme beta-lactamase phổ rộng (Extended spectrum beta-lactamase - ESBL) có khả năng thủy phân vòng beta – lactam và phá vỡ cấu trúc của kháng sinh (Lê Thị Tài, 1997). Bên cạnh đó, vi khuẩn *E. coli* còn mang một số gen đề kháng các nhóm kháng sinh aminoglycosid, tetracyclin, sulfonamide, phenicol và quinolone (Võ Thành Thìn và *ctv.*, 2011). Vi khuẩn này lây truyền sang người do tiếp xúc với động vật và người bị nhiễm bệnh hay sử dụng nguồn nước và các thực phẩm bị nhiễm mầm bệnh (Bùi Quý Huy, 2002). Từ đó thấy được sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* sinh men beta – lactamase phổ rộng (ESBL-*E. coli*) trong cá có thể không gây hại cho cá, nhưng nó có nguy cơ lây nhiễm cho cộng đồng người thông qua chuỗi thức ăn. Đáng lo ngại hơn khi khả năng đề kháng với kháng sinh nhóm sulfonamide của vi khuẩn *E. coli* là rất phổ biến, do sự hiện diện của gen *sul1*,

*sul2* và *sul3*, mã hóa cho enzym dihydropteroate synthase (DHPS) làm ức chế hoạt tính của sulfonamide (Enne *et al.*, 2001). Sự gia tăng khả năng đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ bệnh phẩm, thực phẩm (gia súc, gia cầm) đã được nhiều tác giả nghiên cứu (Maynard *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2004). Tuy nhiên, có rất ít thông tin liên quan đến sự hiện diện và phân bố của các gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamide của vi khuẩn ESBL-*E. coli* phân lập ở thực phẩm cá. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định sự hiện diện và phân bố của nhóm gen kháng kháng sinh sulfonamide (*sul1*, *sul2*, *sul3*) của vi khuẩn *E. coli* sinh beta-lactamase phổ rộng phân lập ở một số loài cá nuôi, cá thu ngoài tự nhiên ở tỉnh An Giang, Vĩnh Long và Đồng Tháp.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu nghiên cứu

Các chủng vi khuẩn dùng trong nghiên cứu này được chọn lọc từ bộ sưu tập vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL của Bộ môn Bệnh học thủy sản, Khoa Thủy sản, bao gồm: 30 chủng phân lập năm 2015 và 30 chủng phân lập năm 2016. Các chủng vi khuẩn này được phân lập từ ruột cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) và cá điêu hồng (*Oreochromis sp.*) giai đoạn nuôi thương phẩm và cá thu ngoài tự nhiên (cá tra, cá ba sa, cá hú) thuộc nhánh sông Tiền và sông Hậu ở các tỉnh Đồng Tháp, An Giang và Vĩnh Long.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### Phục hồi vi khuẩn

Vi khuẩn được phục hồi để làm thí nghiệm bằng cách cấy trên môi trường CHROMagar ECC, sau đó ủ đĩa đã cấy ở 37°C trong 24h. Tính rờng của vi khuẩn sau khi phục hồi được kiểm tra bằng cách quan sát sự đồng nhất về hình dạng, kích thước, màu sắc của khuẩn lạc.

#### Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Các chủng vi khuẩn ESBL-*E. coli* được kiểm tra khả năng kháng kháng sinh nhóm sulfonamide bằng cách xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC (Minimum inhibitory concentration). Trong nghiên cứu này, thanh Etest (BioMérieux) chứa kháng sinh trimethoprim- sulfamethoxazole (SXT) được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

#### Phương pháp phát hiện gen kháng thuốc sulfonamide ở vi khuẩn ESBL- *E. coli*

Thực hiện phản ứng multiplex PCR xác định gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamide theo Kerrn *et al.* (2002) và Heuer and Smalla (2007) với trình tự các đoạn mã được trình bày ở Bảng 1. Thành phần hóa chất thực hiện phản ứng bao gồm:

1X multiplex PCR master mix; 0,5X Q solution; 1X Coral load dye; 0,2μM primer mix và DNA chiết tách. Điều kiện chu kỳ nhiệt thực hiện phản

ứng bao gồm: 94°C trong 5 phút; 30 chu kỳ của 94°C trong 1 phút, 55°C trong 1 phút, 72°C trong 1 phút và giai đoạn kéo dài 94°C trong 7 phút.

**Bảng 1: Trình tự các đoạn mồi phát hiện gen *sul1*, *sul2* và *sul3***

Gen	Tên mồi	Trình tự nucleotide của mồi	Kích thước sản phẩm PCR
<i>Sul1</i>	Sul1-F	5'-CGGCGTGGGCTACCTGAACG-3'	433 bp (Kern <i>et al.</i> , 2002)
	Sul1-R	5'-GCCGATCGCGTGAAGTTCCG-3'	
<i>Sul2</i>	Sul2-F	5'-GCGCTCAAGGCAGATGGCATT-3'	293 bp (Kern <i>et al.</i> , 2002)
	Sul2-R	5'-GCGTTTGATACCGGCACCCGT-3'	
<i>Sul3</i>	Sul3-F	5'-TCAAAGCAAAATGATATGAGC-3'	787 bp (Heuer and Smalla, 2007)
	Sul3-R	5'-TTTCAAGGCATCTGATAAAGAC-3'	

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Tỷ lệ vi khuẩn ESBL-*E. coli* phân lập từ cá kháng kháng sinh nhóm sulfonamide**

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của thuốc kháng sinh SXT (1,25/23,75 μg) lên các dòng vi khuẩn ESBL-*E. coli* được kiểm tra bằng phương pháp sử dụng thanh kháng sinh Etest có tâm kháng sinh với nồng độ từ 0,002 – 32 μg/mL. Kết quả xác định có đến 98,3% các dòng vi khuẩn ESBL-*E. coli* kháng kháng sinh SXT với giá trị MIC > 32μg/mL (Bảng 2).

Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Yuan *et al.* (2009) khi xác định tính nhạy của SXT với ESBL-*E. coli* phân lập được trên gà từ các trang trại nuôi ở tỉnh Hà Nam, Trung Quốc, với tỷ lệ đề kháng lên đến 90,3% và giá trị MIC50/MIC90 > 640 μg/mL.

Khả năng kháng cao kháng sinh nhóm sulfonamide đã được quan sát trong các vi khuẩn Gram âm, đặc biệt là *E. coli* được phân lập từ người và động vật trên toàn thế giới (Moreno *et al.*, 2006) và kể cả trong môi trường nước nuôi tôm cá (Hoa *et al.*, 2008). Ngoài ra, khả năng đề kháng kháng sinh SXT của nhóm vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL nhiều hơn so với các chủng *E. coli* không sinh

ESBL (Arabi *et al.*, 2015). Một nghiên cứu khác trên các chủng vi khuẩn ESBL-*E. coli* nhiễm trên cá ở Trung Quốc cho thấy tỷ lệ đề kháng kháng sinh SXT là 41,7% và giá trị MIC50/MIC90 là 256/512 μg/mL (Jiang *et al.*, 2012). Theo Wegener *et al.* (1999) và Inglis (2000), các chất diệt khuẩn trong đó có kháng sinh có thể được đưa vào môi trường nước qua thức ăn, từ thức ăn thừa có trộn thuốc hoặc từ sản phẩm bài tiết của vật nuôi. Bên cạnh đó, những yếu tố đặc biệt nguy hiểm hình thành tính kháng thuốc là việc sử dụng thuốc ở mức thấp hơn liều dùng để chữa trị và sự kết hợp một cách bất hợp lý các loại thuốc kháng sinh (Wegener *et al.*, 1999; Inglis, 2000; Threlfall *et al.*, 2000). Như vậy, đây là một trong những giả thuyết có thể giải thích vì sao tỷ lệ đề kháng cao với nhóm kháng sinh sulfonamide.

Do vậy, việc đưa ra những biện pháp nhằm hạn chế sự gia tăng tỷ lệ kháng kháng sinh là rất cấp thiết mà điều này đòi hỏi những người nuôi thủy sản phải có những hiểu biết nhất định cũng như các nhà khoa học cần có những nghiên cứu sâu hơn để xác định bản chất của cơ chế kháng thuốc, từ đó đưa ra những giải pháp khống chế tình trạng kháng thuốc một cách có hiệu quả.

**Bảng 2: Giá trị MIC của thuốc kháng sinh nhóm sulfonamide lên vi khuẩn ESBL-*E. coli***

Kháng sinh	Số chủng vi khuẩn với giá trị MIC (μg/mL)												%
	≤0,5	0,75	1,5	2	3	4	6	8	12	16	24	≥32	
SXT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	59	98,3

SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole (1,25/23,75 μg)

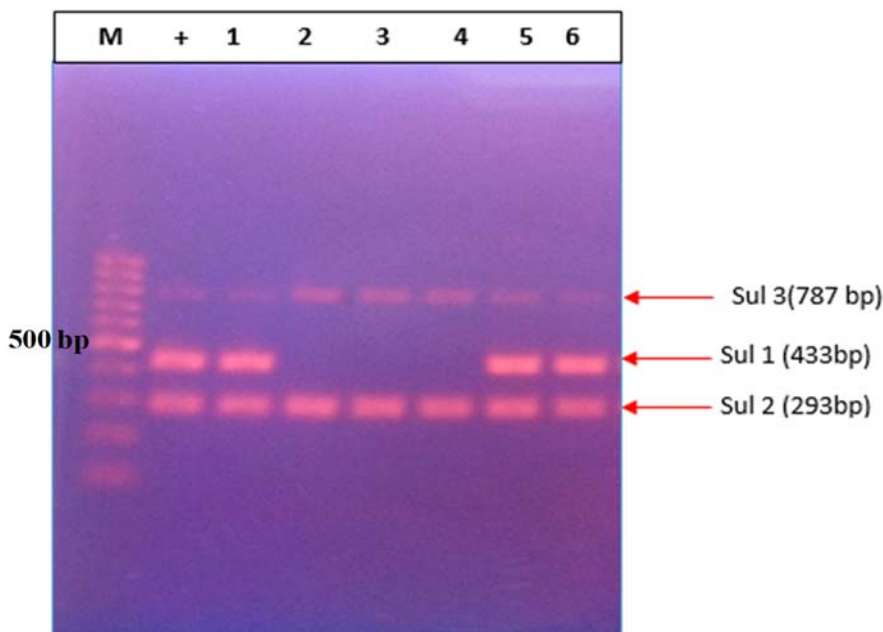
**3.2 Xác định sự hiện diện nhóm gen *sul* của các chủng vi khuẩn ESBL-*E. coli* kháng sulfonamide phân lập trên cá vùng An Giang, Vĩnh Long, Đồng Tháp**

Kết quả phân tích PCR ghi nhận các chủng vi khuẩn ESBL-*E. coli* phân lập trên cá ở 3 tỉnh An Giang, Vĩnh Long, Đồng Tháp chứa 3 gen kháng sulfonamides (Hình 1).

Trong đó, gen *sul1* hiện diện trong 3 chủng chiếm tỷ lệ 5%; gen *sul2* hiện diện trong 21 chủng chiếm tỷ lệ 35% và gen *sul3* hiện diện trong 6 chủng chiếm tỷ lệ 10%. Khả năng kháng cao kháng sinh nhóm sulfonamid cũng đã được quan sát trong các vi khuẩn Gram âm phân lập từ người và nhiều loài động vật trên toàn thế giới (Moreno *et al.*, 2006). Theo các nghiên cứu trước đây, gen *sul1* và *sul2* đều tồn tại ở các chủng vi khuẩn kháng sulfonamide. Trong nghiên cứu này gen *sul2* xuất

hiện phổ biến nhất, kết quả này phù hợp với một số kết quả nghiên cứu ở Việt Nam và trên thế giới (Enne *et al.*, 2002; Blahna *et al.*, 2006; Frank *et al.*, 2007). Ở Đan Mạch, kết quả nghiên cứu cho thấy rằng tỉ lệ *sul2* cao hơn gen *sul1* ở các chủng *E. coli* phân lập từ người (Trobos *et al.*, 2008). Nghiên cứu của Grape *et al.* (2003) ở các chủng *E. coli* phân lập từ người cũng cho thấy trong số 75 chủng *E. coli* kháng sulfonamide, có 11 chủng mang gen *sul1* và 20 chủng mang gen *sul2*, 2 chủng mang gen *sul3* và 25 chủng mang cả 2 gen. Tiếp theo, gen *sul2* đã được ghi nhận với tỉ lệ cao trong *E.*

*coli* phân lập từ lợn, gia cầm, bò, phân người và bệnh nhân nhiễm trùng đường tiết niệu (Trobos *et al.*, 2009). Ở Việt Nam, nghiên cứu của Võ Thành Thìn và *ctv.* (2011) ghi nhận 84,24% mẫu *E. coli* phân lập từ lợn con bị tiêu chảy ở số tỉnh Nam Trung Bộ và Tây Nguyên có mang gen *sul2*. Tương tự, kết quả khi phân tích gen kháng sinh của 34 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ trâu bò khỏe mạnh tại một số tỉnh Nam Trung Bộ cho thấy tỉ lệ các chủng mang gen *sul2* kháng với nhóm sulfonamide chiếm 67,65% (Bùi Thị Ba và *ctv.*, 2012).



**Hình 1: Kết quả điện di sản phẩm PCR phát hiện gen *sul* của vi khuẩn ESBL-*E. coli***

Giếng M: thang DNA 100bp; giếng +: đối chứng dương; giếng 1,5,6: mẫu vi khuẩn mang đồng thời 3 gen *sul1*; *sul2*; *sul3*; giếng 2,3,4: mẫu vi khuẩn mang đồng thời 2 gen *sul2* và *sul3*

Kết quả nghiên cứu xác định tỉ lệ nhiễm gen *sul* phổ biến lần lượt là *sul2*>*sul3*>*sul1*. Khác với một số nghiên cứu trên thế giới, gen *sul3* được phân lập ở tỉ lệ thấp hơn so với gen *sul1*, *sul2*. Cụ thể, nghiên cứu xác định tỉ lệ nhiễm phổ biến lần lượt là gen *sul1*>*sul2*>*sul3* từ các chủng *E. coli* phân lập từ nguồn bệnh phẩm của một bệnh viện ở Iran (Arabi *et al.*, 2015). Tương tự, kết quả nghiên cứu Wu *et al.* (2010) cho thấy gen *sul3* chiếm tỉ lệ thấp nhất ở nguồn *E. coli* phân lập từ người và động vật ở Đan Mạch với tỉ lệ tương ứng của gen *sul2*, *sul1* và *sul3* lần lượt là 65%, 45% và 12%. Trong số các gen *sul* kháng kháng sinh nhóm sulfonamides, gen *sul3* được mô tả phát hiện gần đây nhất trên lợn ở Thụy Sĩ vào năm 2003 và sau đó cũng được phát hiện trên người và động vật ở nhiều nước khác trên thế giới (Antune *et al.*, 2007). Do vậy, cần

thực hiện thêm nghiên cứu để xác định nguồn gốc của nhóm gen *sul3* trong địa bàn nghiên cứu.

Các gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamide phân bố rộng khắp ở các địa bàn thu mẫu (Bảng 3), trong đó các chủng ESBL-*E. coli* phân lập từ cá thu ngoài tự nhiên (sông) có tỉ lệ nhiễm các gen *sul* cao hơn cá nuôi trong ao và trong bè (Hình 2). Theo Hoa *et al.* (2008), những ao cá nuôi nhận nước thải trực tiếp từ các trang trại nuôi heo sẽ có tỉ lệ mang gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamide cao lên đến 92%. Ngoài ra, vi khuẩn phân lập từ con kênh thành phố cũng có tỉ lệ mang gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamide cao ở mức 72%. Điều này có thể lý giải tại sao cá ngoài tự nhiên lại có tỉ lệ nhiễm gen *sul* cao hơn, có thể cá bị nhiễm gen *sul* từ nguồn chất thải của các trang trại nuôi gia súc, gia cầm hoặc nước thải từ các khu chợ, bệnh viện chưa được xử lý thải trực tiếp ra sông.

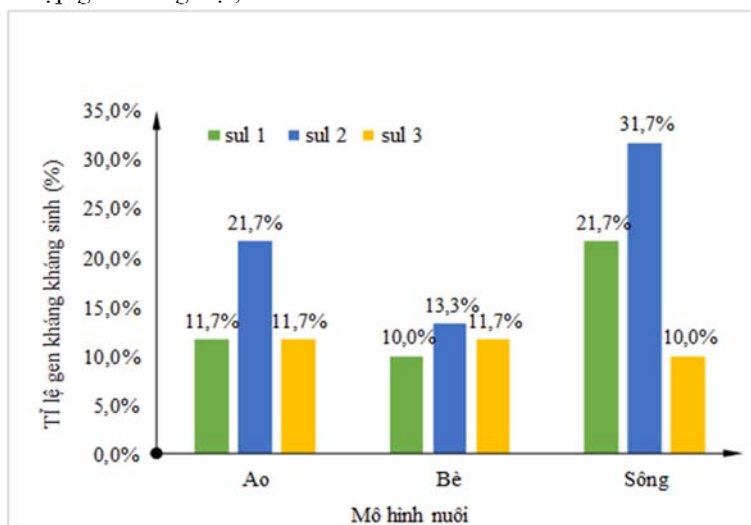


**Bảng 3: Số lượng và sự phân bố các gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamide của vi khuẩn ESBL-*E. coli* phân lập ở tỉnh An Giang, Đồng Tháp và Vĩnh Long**

Gen Sul	Số chủng dương tính với gen sul (tỉ lệ phần trăm)	Khu vực thu mẫu dương tính với gen sul
Sul1	3(5%)	Long Hồ (Vĩnh Long)
Sul2	21(35%)	Trà Ôn, Long Hồ (Vĩnh Long); Châu Phú, Chợ Mới, Long Xuyên, sông Hậu (An Giang); Sa Đéc (Đồng Tháp)
Sul3	6(10%)	Châu Phú (An Giang); Long Hồ, Trà Ôn, sông Tiền (Vĩnh Long)
Sul1 + Sul2	15(25%)	Trà Ôn, Long Hồ, Sông Tiền (Vĩnh Long); Sa Đéc, sông Tiền (Đồng Tháp); Châu Phú, Chợ Mới, Long Xuyên, sông Hậu (An Giang)
Sul1 + Sul3	1(2%)	Chợ Mới (An Giang)
Sul2 + Sul3	6(10%)	Trà Ôn (Vĩnh Long); Thanh Bình, Sa Đéc (Đồng Tháp)
Sul1 + Sul2 + Sul3	7(12%)	Long Hồ, sông Tiền (Vĩnh Long); Thanh Bình, Sa Đéc (Đồng Tháp)

Tất cả các gen sul 1,2,3 kháng sulfonamide phát hiện ở các mẫu cá thu vùng An Giang, Vĩnh Long, Đồng Tháp đều được công bố có tỉ lệ nhiễm cao ở người và nhiều loài động vật khác. Điều này cho thấy việc tái sử dụng nước thải chưa qua xử lý từ các hệ thống tích hợp giữa trồng trọt, chăn nuôi

và nuôi trồng thủy sản hoặc từ bệnh viện chưa qua xử lý và nước thải đô thị có thể có tiềm năng lớn về ô nhiễm vi khuẩn với sự phong phú của các gen kháng thuốc có khả năng gây hại cho sức khỏe con người và hệ sinh thái.



**Hình 2: Tỉ lệ gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamide của vi khuẩn ESBL-*E. coli* theo mô hình nuôi**

Bên cạnh các chủng vi khuẩn nhiễm đơn các gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamide thì trong nghiên cứu còn phát hiện được các chủng vi khuẩn ESBL-*E. coli* nhiễm kép các gen kháng thuốc. Cụ thể, nghiên cứu xác định: 15 chủng mang cả hai gen sul1 và sul2 (chiếm tỉ lệ 25%); 6 chủng nhiễm kép gen sul2 và sul3 (chiếm tỉ lệ 10%); 7 chủng mang cả 3 gen sul1, sul2, sul3 (chiếm tỉ lệ 12%) và 1 chủng mang hai gen sul1 và sul3 (chiếm tỉ lệ 2%).

Hiện tượng nhiễm kép hay đa nhiễm gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamide cũng được ghi nhận

trong nhiều nghiên cứu (Kern *et al.*, 2002; Guerra *et al.*, 2004; Bean *et al.*, 2005; Frank *et al.*, 2007). Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu xác định tỉ lệ nhiễm kép hay nhiễm nhiều gen kháng thuốc kháng sinh sulfonamide trong cùng một chủng vi khuẩn *E. coli* (29/60 chủng chiếm tỉ lệ 48,3%) cao hơn so với một số nghiên cứu khác trên thế giới. Cụ thể, nghiên cứu ở bệnh viện Iran xác định tỉ lệ đa nhiễm gen sul là 50/144 chủng (tỉ lệ nhiễm 34,7%) (Arabi *et al.*, 2015), ở Đan Mạch là 8/26 chủng (tỉ lệ nhiễm 31%) (Wu *et al.*, 2010). Trong các nghiên cứu trước đây trên người và động vật, một tỉ lệ

đăng kể các dòng phân lập mang nhiều hơn hoặc bằng 2 gen *sul* (Antunes *et al.*, 2005; Hammerum *et al.*, 2006; Frank *et al.*, 2007).

#### 4 KẾT LUẬN

Hầu hết các chủng ESBL-*E. coli* (59/60 chủng) cho kết quả kháng với kháng sinh nhóm sulfonamide. Nồng độ ức chế tối thiểu của các chủng vi khuẩn ESBL-*E. coli* có giá trị >32µg/mL; đồng thời, có sự hiện diện của gen *sul* trong các chủng vi khuẩn ESBL-*E. coli* ở các mẫu cá nuôi và cá tự nhiên với tỉ lệ cao ở các tỉnh An Giang, Vĩnh Long và Đồng Tháp; phổ biến là gen *sul2*, tiếp theo là *sul3*, và gen *sul1* và một số chủng nhiễm kép 2 và 3 gen (*sul1* và *sul2*; *sul1* và *sul3*; *sul2* và *sul3*; *sul1*, *sul2* và *sul3*).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Antunes, P., Machado, J., Sousa, J.C., Peixe, L., 2005. Dissemination of sulfonamide resistance genes (*sul1*, *sul2*, and *sul3*) in Portuguese *Salmonella enterica* strains and relation with integrons. *Antimicrob Agents Chemother.* 49 (2):836-839.

Arabi, H., Pakzad, I., Nasrollahi, A., Hosainzadegan, H., Jalilian, F.A., Taherikalani, M., Samadi, N., Sefidan, A.M., 2015. Sulfonamide Resistance Genes (*sul*) M in Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) and Non-ESBL Producing *Escherichia coli* Isolated From Iranian Hospitals. *Jundishapur Journal of Microbiology.* 8(7):e19961

Bean, D.C., Livermore, D.M., Papa, I., Hall, L.M., 2005. Resistance among *Escherichia coli* to sulphonamides and other antimicrobials now little used in man. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 56(5):962-964.

Blahna, M.T., Zalewski, C.A., Reuer, J., Kahlmeter, G., Foxman, B., Marrs, C.F., 2006. The role of horizontal gene transfer of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among uropathogenic *Escherichia coli* in Europe and Canada. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 57(4):666-672.

Bùi Quý Huy, 2002. Sổ tay phòng chống các bệnh từ động vật lây sang người. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Hà Nội. 244 trang.

Bùi Thị Ba, Đào Hoài Thu, Võ Thành Thìn, Đặng Văn Tuấn, Đỗ Văn Tấn, Vũ Khắc Hùng, 2012. Xác định một số gen kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* O157: H7 phân lập từ trâu bò khỏe mạnh tại một số tỉnh Nam Trung Bộ. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật thú y.* 19(6): 52-60.

DePaola, A., Peeler, J.T., Rodrick, G.E., 1995. Effect of oxytetracycline-medicated feed on antibiotic resistance of gram-negative bacteria in

catfish ponds. *Applied Environmental Microbiology.* 61(6): 2335–2340.

Enne, V.I., King, A., Livermore, D.M., Hall, L.M., 2002. Sulfonamide resistance in *Haemophilus influenzae* mediated by acquisition of *sul2* or a short insertion in chromosomal folP. *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* 46(6): 1934-1939.

Enne, V.I., Livermore, D.M., Stephens, P., Hall, L.M., 2001. Persistence of sulphonamide resistance in *Escherichia coli* in the UK despite national prescribing restriction. *The Lancet.* 357(9265): 1325–1328.

Frank, T., Gautier, V., Talarmin, A., Bercion, R., Arlet, G., 2007. Characterization of sulfonamide resistance genes and class 1 integron gene cassettes in *Enterobacteriaceae*, Central African Republic (CAR). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 59(4):742–745.

Grape, M., Sundström, L., Göran, K., 2003. Sulphonamide resistance gene *sul3* found in *Escherichia coli* isolates from human sources. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 52(6):1022–1024.

Guerra, B., Junker, E., Helmuth, R., 2004. Incidence of the recently described sulfonamide resistance gene *sul3* among German *Salmonella enterica* strains isolated from livestock and food. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 48(7):2712–2715.

Hammerum, A.M., Sandvang, D., Andersen, S.R., Seyfarth, A.M., Porsbo, L.J, Møller, N.F, Heuer, O.E., 2006. Detection of *sul1*, *sul2* and *sul3* in sulphonamide resistant *Escherichia coli* isolates obtained from healthy humans, pork and pigs in Denmark. *International Journal of Food Microbiology.* 106(2):235-237.

Heuer, H., Smalla, K., 2007. Manure and sulfadiazine synergistically increased bacterial antibiotic resistance in soil over at least two months. *Environmental Microbiology.* 9(3): 657–666.

Hoa, P.T.P., Nonaka, L., Viet, P.H., Suzuki, S., 2008. Detection of the *sul1*, *sul2*, and *sul3* genes in sulfonamide-resistant bacteria from wastewater and shrimp ponds of north Vietnam. *Science of the total environment.* 405(1-3):377-384.

Inglis, V. 2000. Antibacterial chemotherapy in Aquaculture: Review of practice, associated risks and need for action. In: *Use of Chemicals in Aquaculture in Asia. Proceedings of the Meeting on the Use of Chemicals in Aquaculture in Asia, Tigbauan, Iloilo, Philippines, 20–22 May 1996,* pp. 7–22

Jiang, X.H., Tang, D., Liu, Y.H., Zhang, X.H., Zeng, Z.L., Xu L., Hawkey, P.M., 2012. Prevalence and characteristic of β-lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* isolated from farmed fish in China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 67(10): 2350-2353.

- Kern, M.B., Klemmensen, T., Møller, N.F., Espersen, F., 2002. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of *sul* genes conferring sulphonamide resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 50(4):513-516.
- Lê Thị Tài, 1997. Ô nhiễm thực phẩm và sức khỏe con người và gia súc, những thành tựu mới về nghiên cứu phòng chống bệnh ở vật nuôi. *Viện thú y Quốc gia*. 2: 65-66
- Maynard, C., Fairbrother, J.M., Bekal, S., Sanschagrín, F., Levesque, R.C., Brousseau, R., Masson, L., Larivière, S., Harel, J., 2003. Antimicrobial resistance genes in enterotoxigenic *Escherichia coli* O149:K91 isolates obtained over a 23-year period from pigs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 47(10): 3214–3221.
- McPhearson, R.M., DePaola, A., Zywno, S.R., Motes, M.L., Guarino, A.M., 1991. Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds. *Aquaculture*. 99(3-4): 203– 211.
- Moreno, E., Prats, G., Sabate, M., Perez, T., Johnson, J.R., Andreu, A., 2006. Quinolone, fluoroquinolone and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in relation to virulence determinants and phylogenetic background among uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 57(2): 204-211.
- Nguyen, H.N.K., Van, T.T.H., Nguyen, H.T., Smooker, P.M., Shimeta, J., Coloe, P.J., 2014. Molecular characterization of antibiotic resistance in *Pseudomonas* and *Aeromonas* isolates from catfish of the Mekong Delta, Vietnam. *Veterinary Microbiology*. 171(3-4): 397-405.
- Nguyen Thi Ngoc Hon, Tran Thi Tuyet Hoa, Nguyen Quoc Thinh, Hinenoya, A., Nakayama, T., Harada, K., Asayama, M., Warisaya, M., Hirata, K., Nguyen Thanh Phuong, Yamamoto, Y., 2016. Spread of antibiotic and antimicrobial susceptibility of ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from Wild and Cultured Fish in the Mekong Delta, Vietnam. *Fish Pathology*. 51 (Special issue): S75-S82
- Phạm Hồng Quân, Hồ Thu Thủy, Nguyễn Hữu Vũ, Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Lê Văn Khoa, 2013. Một số đặc tính sinh học của vi khuẩn *Streptococcus* spp. gây bệnh xuất huyết ở cá rô phi nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 11(4): 506-513.
- Quách Văn Cao Thi, Từ Thanh Dung, Đặng Phạm Hòa Hiệp, 2014. Hiện trạng kháng thuốc kháng sinh trên hai loài vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas hydrophila* gây bệnh trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Chuyên đề thủy sản* (2): 7-14.
- Threlfall, E.J., Ward, L.R., Frost, J.A., Willshaw, G.A., 2000. The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 62(1-2): 1–5.
- Trobos M, Christensen, H., Sunde, M., Nordentoft, S., Agero, Y., Simonsen, G.S., 2009. Characterization of sulphonamide-resistant *Escherichia coli* using comparison of *sul2* gene sequences and multilocus sequence typing. *Microbiology*. 155(3):831-836.
- Trobos, M., Jakobsen, L., Olsen, K.E., Møller, N.F., Hammerum, A.M., Pedersen, K., Agero, Y., Porsbo, L.J., Olsen, J.E., 2008. Prevalence of sulphonamide resistance and class 1 integron genes in *Escherichia coli* isolates obtained from broilers, broiler meat, healthy humans and urinary infections in Denmark. *International Journal of Food Microbiology*. 32(4): 367-369.
- Võ Thành Thìn, Lưu Thị Minh Nguyệt, Lê Đình Hải, Nguyễn Ngọc Nhiên và Vũ Khắc Hùng, 2011. Phân tích một số gen kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con mắc bệnh tiêu chảy. *Khoa học kỹ thuật thú y*. 18(3):24-30.
- Wegener, H.C., Aarestrup, F.M., Gerner-Smidt, P., Bager, F., 1999. Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man. *Acta Veterinaria Scandinavia*. 92: 51–57.
- Wu, S., Dalsgaard, A., Hammerum, A.M., Porsbo, L.J., Jensen, L.B., 2010. Prevalence and characterization of plasmids carrying sulfonamide resistance genes among *Escherichia coli* from pigs, pig carcasses and human. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 52(1):47.
- Yang, H., Chen, S., White, D.G., Zhao, S., McDermott, P., Walker, R., Meng, J., 2004. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. *Journal of Clinical Microbiology*. 42(8): 3483–3489.
- Yuan, L., Liu, J.H., Hu, G.Z., Pan, Y.S., Liu, Z.M., Mo, J., Wei, Y.J., 2009. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from chickens in Henan Province, China. *Journal of Medical Microbiology*. 58: 1449-1453.