

## TỈ LỆ NHIỄM VÀ SỰ ĐỀ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *VIBRIO* SPP. PHÂN LẬP TỪ HUYẾT HEO, NGHÊU VÀ PHÂN BỆNH NHÂN TIÊU CHẢY TẠI TỈNH TRÀ VINH

Nguyễn Thị Đầu<sup>1</sup>, Nguyễn Thùy Linh<sup>1</sup>, Hồ Thị Việt Thu<sup>2</sup> và Hà Thanh Toàn<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Trường Đại học Trà Vinh

<sup>2</sup> Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>3</sup> Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 04/03/2014

Ngày chấp nhận: 28/08/2014

### Title:

Prevalence and antibiotic resistance of vibrio spp. isolated from swine blood sample, clam and patient with diarrhea in Tra Vinh Province

### Từ khóa:

*Vibrio cholerae*; nghêu; tỉ lệ nhiễm; đề kháng kháng sinh; Trà Vinh

### Keywords:

*Vibrio cholerae*, clams, infection rate, antibiotic resistance, Tra Vinh

### ABSTRACT

In this study to determine the prevalence of *Vibrio* spp. on water samples at slaughter, seafood and feces of patients serve for further studies on identification species of *Vibrio* spp. and their antibiotic resistance. Isolation of *Vibrio* spp. was carried out on 300 samples including 160 clam samples, 100 swine blood samples and 40 feces of diarrheal patients collected from Tra Vinh hospital, Tra Vinh province. Results indicated that there were 10% clam samples and 4% swine blood samples contaminated by *Vibrio* spp. whereas no *Vibrio* spp. was isolated from diarrheal feces. The results of Kirby-Bauer antibiotic sensitivity tests showed that all of the isolated *Vibrio* spp. strains were sensitive to norfloxacin (100%), chloramphenicol (70%) but 90% of the isolates is resistant to amoxicillin. Three out of 20 (15%) *Vibrio* spp. isolates were positive for multivalent antisera (O139, Ogawa, Inaba), 10% (2/20) of them was positive for monovalent antisera (Ogawa and Inaba).

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xác định tỉ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên mẫu nước tại cơ sở giết mổ, thức ăn hải sản và phân bệnh nhân làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về việc định danh loài thuộc *Vibrio* spp. và sự đề kháng kháng sinh của chúng. Kết quả đã phân lập vi khuẩn *Vibrio* spp. trên 300 mẫu, bao gồm 160 mẫu nghêu; 100 mẫu huyết heo tại các cơ sở giết mổ và 40 mẫu phân trên bệnh nhân tiêu chảy tại bệnh viện đa khoa tỉnh Trà Vinh, tỉ lệ phân lập *Vibrio* spp. lần lượt trên nghêu là 10%, trên huyết heo có pha nước tại cơ sở giết mổ là 4%, chưa có dấu hiệu dương tính trên bệnh nhân tiêu chảy tại tỉnh Trà Vinh. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy đa số vi khuẩn *Vibrio* spp. nhạy với norfloxacin (100%), với chloramphenicol (70%), và đề kháng hoàn toàn với amoxicillin (90%). Có 15% mẫu dương tính với kháng huyết thanh đa giá (O139, Ogawa, Inaba), tỉ lệ dương tính với kháng huyết thanh đơn giá Ogawa (10%) và với kháng huyết thanh đơn giá Inaba (10%) trên những mẫu bệnh phẩm được phân lập.

## 1 GIỚI THIỆU

Thế giới đã trải qua 7 đại dịch tả, từ năm 1817 đến năm 1923 đã có 6 vụ đại dịch xảy ra, những

đại dịch này đều bắt đầu từ Ấn Độ và đều do *Vibrio cholerae* O1 type sinh học cổ điển gây ra. Đại dịch thứ 7 khác với 6 đại dịch trước, đại dịch

này do *V.cholerae* type sinh học El Tor gây ra và có nguồn gốc từ đảo Celebes của Indonesia năm 1961. Đại dịch này kéo dài nhất và có phạm vi rộng hơn 6 đại dịch trước đó, đến nay còn nhiều nước thông báo những đợt bùng phát dịch tả cũng do nguyên nhân này gây ra (Võ Văn Lượng, 2009).

Riêng Việt Nam đã xảy ra 3 đợt dịch tiêu chảy cấp nguy hiểm: đợt thứ nhất từ ngày 23/10 - 6/12/2007 ở 14 tỉnh, thành phía Bắc với 1.878 ca, trong đó có 295 trường hợp dương tính với vi khuẩn tả; đợt thứ hai từ ngày 24/12/2007 - 5/2/2008 ở Hà Nội với 58 ca, có 32 ca do vi khuẩn tả; đợt thứ ba, từ ngày 6/3 đến 11/4/2008, đã có 1.335 ca, trong đó 136 ca dương tính với vi khuẩn tả, ở 18 tỉnh, thành thuộc cả 3 miền Bắc, Trung, Nam (Võ Văn Lượng, 2009). Năm 2009 - 2010, dịch tả lại xuất hiện tại các tỉnh miền Bắc Việt Nam, một chủng vi khuẩn *V. cholera* O139 được phân lập từ 7 mẫu nước và được đặt tên là *V. cholerae* O139 (Dong Tu Nguyen *et al.*, 2012).

Tỉnh Trà Vinh có vị trí địa lý với nhiều nguy cơ tiềm ẩn bệnh dịch tả vì có bờ biển kéo dài khoảng 65 km và trên địa bàn Trà Vinh có hệ thống sông chính với tổng chiều dài 578 km, trong đó có các sông lớn là sông Hậu, sông Cổ Chiên và sông Măng Thít, vì thế rất dễ cho việc lưu hành vi khuẩn tả từ sông Cổ Chiên, biển Duyên Hải và Cầu Ngang.

Các nghiên cứu trong nước cho thấy triệu chứng chính của bệnh tả trên người là do độc tố của vi khuẩn *V. cholerae* gây ra. Vi khuẩn có mặt ở các môi trường nước biển và nguồn nước bị ô nhiễm, sự thay đổi về tính nhạy cảm kháng sinh của *V. cholerae* O1 ở Việt Nam cũng được ghi nhận trên một số loại kháng sinh (DePaola, A, 1981).

Để ngăn chặn sự lây lan và nguy hiểm của bệnh dịch tả, đặc biệt là ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long nơi có nhiều điều kiện để vi khuẩn lây lan, chúng tôi nghiên cứu “Tỉ lệ nhiễm và sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* spp. trên huyết heo, nghêu và phân bệnh nhân tiêu chảy tại tỉnh Trà Vinh”, với mục tiêu xác định tỉ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên các loại mẫu phân lập; xác định serotype phổ biến lưu hành có thể gây bệnh cho người và tính nhạy cảm kháng sinh của các chủng *Vibrio* spp. phân lập được.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1 Vật liệu

Các loại môi trường bảo quản mẫu và nuôi cấy vi khuẩn *Vibrio* spp. là Cary- Blair (India), APW:

Alkaline peptone water (India), TCBS: Thiosulfate-Citrat-Bilei-Saccharose (Germany), SNA: Saline Nutrient Agar (Germany).

– Môi trường thực hiện kháng sinh đồ: MHA: Muller Hinton Agar, đĩa giấy tẩm kháng sinh amoxillin, tetracycline, norfloxacin, chloramphenicol, azithromycin (Nam Khoa).

– Bộ định danh vi khuẩn Gram âm (Nam Khoa): đĩa giấy oxidase, đĩa giấy ONPG, TSI: Triple sugar iron, ADH: Arginine Dihydrolase, Tryptophan saline....

Bộ thuốc nhuộm Gram (Germany), bộ kháng huyết thanh định type *V. cholerae* (Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh) và nước Peptone có muối NaCl với các nồng độ từ 0-10%.

**Mẫu phân bệnh nhân tiêu chảy:** được thu thập sớm, bảo quản ở môi trường vận chuyển Cary-Blair, và chuyển về phòng thí nghiệm để nuôi cấy, phân lập.

**Mẫu nghêu:** rửa sạch chất bẩn bên ngoài, lấy phần thịt cắt nhuyễn (1g) tăng sinh trong 9 ml môi trường nước pepton kiềm (APW) chứa 2% muối NaCl.

**Mẫu huyết heo:** khoảng 5ml/mẫu được lấy tại các cơ sở giết mổ, mẫu được chuyển về phòng thí nghiệm tăng sinh trong 9 ml môi trường nước pepton kiềm. Tất cả các loại mẫu đều được nuôi cấy tích lũy trong môi trường APW từ 8 -12 giờ.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Phương pháp nuôi cấy

1 ml mẫu được tăng sinh trong 9 ml môi trường Peptone kiềm (APW) chứa 2% NaCl ở 37°C trong 24 giờ nhằm tạo điều kiện cho nhóm vi khuẩn *Vibrio* spp. phát triển và ngăn cản sự phát triển của vi khuẩn cạnh tranh khác.

Phân lập trên môi trường chuyên biệt TCBS ở 37°C trong 24 giờ: khuẩn lạc có thể có màu vàng hoặc xanh tùy loài:

– Khuẩn lạc *V. cholerae* lớn, đường kính khoảng 2-3 mm, lóng, có màu vàng, hơi phẳng, tâm đục và xung quanh có quầng trắng đục

– Khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* và *V. vulnificus* lớn, đường kính khoảng 3-4 mm, có màu từ xanh đến xanh dương.

– Khuẩn lạc *V. mimicus* lớn, đường kính 2-3 mm, phẳng và có màu xanh. Còn đối với khuẩn lạc *V. fluvialis* thì phẳng, màu vàng và đường kính từ 2-3 mm (Trần Linh Thuộc, 2009).

Chọn khuẩn lạc điển hình cấy chuyển sang môi trường NA saline (SNA): môi trường không có tính chọn lọc, việc nuôi cấy trên môi trường này chỉ nhằm làm tăng số lượng khuẩn lạc của vi khuẩn. Trên SNA khuẩn lạc *Vibrio* spp. tròn, trơn, láng, bóng, màu trắng sữa.

2.2.2 Xác định *V. cholerae* bằng phản ứng sinh hóa

Các thử nghiệm sinh hoá quan trọng để phát hiện hay phân biệt các loài *Vibrio* được thực hiện theo quy trình ISO/TS 21872-1:2007 (E).

Chọn khuẩn lạc trên môi trường SNA để thử nghiệm oxidase dương tính (+); TSI dương tính

(+); không sinh hơi và không sinh H<sub>2</sub>S; Indole dương tính (+) và di động (+). Thử tính ưa mặn của *Vibrio* spp. ở các nồng độ muối NaCl khác nhau (0%, 2%, 6%, 8% và 10%), *V. cholerae* mọc tốt trên môi trường có muối từ 0 – 2%; *V. parahaemolyticus* mọc tốt trên môi trường có muối từ 2 – 8 %.

2.2.3 Phương pháp định danh bằng phản ứng huyết thanh học

Kháng huyết thanh chẩn đoán vi khuẩn *V. cholerae* bao gồm: Kháng huyết thanh tả đa giá 3 chủng: Inaba, Ogawa và O139; kháng huyết thanh tả đơn giá Inaba; kháng huyết thanh tả đơn giá Ogawa.

**Bảng 1: Tóm tắt thử nghiệm kháng huyết thanh *V. cholerae***

Kháng nguyên	Kháng huyết thanh Inaba	Kháng huyết thanh Ogawa	Dung dịch muối sinh lý	Kết luận
<i>V. cholerae</i>	+	-	-	<b>Chủng Inaba</b>
<i>V. cholerae</i>	-	+	-	Chủng Ogawa
<i>V. cholerae</i>	+	+	-	Chủng đa giá (Inaba + Ogawa + O139)
<i>V. cholerae</i>	-	-	-	Chủng không đặc hiệu

Thử nghiệm ngưng kết huyết thanh được dùng để xác định các dòng *Vibrio* có các biểu hiện kháng nguyên chuyên biệt. Trường hợp *V. cholerae* có thể phân biệt được các dòng *V. cholerae* O1 và *V. cholerae* non O1 (khác O1) (Trần Linh Thuốc, 2009) như sau:

- Thử nghiệm với kháng huyết thanh đa giá: nhỏ một giọt kháng huyết thanh đa giá lên phiến kính sạch và một nước muối sinh lý lên một vị trí khác của phiến kính. Dùng que cấy vô trùng chuyển vi khuẩn lên 2 giọt dung dịch trên, tán đều vi khuẩn vào trong giọt dung dịch trên. Kết luận dương tính khi có hiện tượng ngưng kết.

- Xác định kiểu kháng nguyên O1: dùng kháng huyết thanh đơn giá Inaba và Ogawa. Kháng huyết thanh Inaba (+) khi kháng nguyên chỉ ngưng kết với kháng huyết thanh Inaba và không ngưng kết với các nhóm khác hay dung dịch muối sinh lý. Kháng huyết thanh Ogawa (+) khi kháng nguyên chỉ ngưng kết với kháng huyết thanh Ogawa và không ngưng kết với các nhóm khác hay dung dịch muối sinh lý.

Phản ứng kháng nguyên là (-) khi chúng không ngưng kết với các nhóm kháng huyết thanh nêu trên và không ngưng kết với dung dịch muối sinh lý.

2.2.4 Xác định sự nhạy cảm và đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio cholerae*

*Nguyên lý:* Các chủng vi khuẩn sẽ nhạy cảm với các loại kháng sinh ở mức độ khác nhau và chúng thể hiện sự khác nhau đó bằng đường kính vùng ức chế ở xung quanh khoanh giấy kháng sinh khi có sự tiếp xúc giữa vi khuẩn và kháng sinh.

Chọn 05 loại kháng sinh thích hợp đối với vi khuẩn đường ruột thường được sử dụng để điều trị bệnh tả.

Phương pháp làm kháng sinh đồ

- Môi trường làm kháng sinh đồ: môi trường Mueller Hinton Agar (MHA),

- Điều chế canh khuẩn: sau khi thực hiện định danh bằng phản ứng sinh hóa, vi khuẩn *Vibrio* spp. được cấy lại trên SNA, ủ ấm ở 37°C trong 24 giờ. Dùng que cấy vô trùng chuyển khuẩn lạc trên SNA vào ống nghiệm có chứa 2 ml dung dịch nước muối sinh lý để trong tủ ấm sau 30 phút – 60 phút lấy ra lắc đều và so sánh độ đục trong ống nghiệm bằng độ đục của ống nghiệm chứa dung dịch chuẩn Mac Farland 0,5 (có số lượng vi khuẩn 10<sup>8</sup>/ml).

- (1) Trải huyền dịch vi khuẩn lên mặt thạch;
- (2) Đặt khoanh giấy kháng sinh tiếp xúc phẳng với mặt thạch, sao cho khoảng cách các đĩa kháng sinh từ 20 – 24 mm;
- (3) Lật ngược đáy hộp thạch ủ ở 37°C từ 18 đến 24 giờ.

**Đọc và nhận định kết quả**

Sau khi ủ 18 đến 24 giờ, đọc kết quả các hộp thạch, vùng ức chế sẽ là một vòng tròn xung quanh khoan giấy kháng sinh không có vi khuẩn mọc và thấy được bằng mắt thường. Đo đường kính vùng ức chế, kể cả đường kính khoan giấy kháng sinh và đọc kết quả dựa vào bảng tiêu chuẩn đánh giá sự nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn đường ruột (CLSI, 2010). Có 2 trường hợp xảy ra:

– Nếu xung quanh đĩa kháng sinh không có vòng vô khuẩn (thạch đục đến tận mép đĩa kháng sinh), kết luận vi khuẩn kháng với kháng sinh đó.

– Nếu xung quanh đĩa kháng sinh có một vòng trong suốt, đó là vòng vô khuẩn, (vi khuẩn không mọc được), kết luận vi khuẩn nhạy với kháng sinh đó.

**Xử lý số liệu:** Xử lý kết quả bằng chương trình Excel; Minitab 14.0

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên các loại mẫu phân lập**

Tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên huyết heo được phân lập là 4%. Có nhiều nghiên cứu cho thấy nguồn nước là yếu tố lây lan mầm bệnh, là điều kiện để vi khuẩn tồn tại và phát tán. Nhiều quốc gia trên thế giới cũng có những nghiên cứu liên quan đến nguồn nước gây ô nhiễm, nước đóng vai trò quan trọng và lưu trữ mầm bệnh, hơn 50% người bị nhiễm vi khuẩn *V. cholerae* là do sử dụng nguồn nước bị ô nhiễm (Joao P.S. Cabral, 2010).

**Bảng 2: Tổng hợp tỉ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên các loại mẫu**

Loại mẫu	Số mẫu kiểm tra	Dương tính	
		Số mẫu	Tỉ lệ (%)
Huyết heo	100	04	4,0
Nghêu	160	16	10,0
Phân bệnh nhân	40	0	0
<b>Tổng</b>	<b>300</b>	<b>20</b>	<b>6,7</b>

Tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên nghêu được phân lập ở 2 huyện Cầu Ngang và Duyên Hải là 10%, nghêu là loài nhuyễn thể được nuôi phổ biến ở 2 huyện vùng ven biển. Những nhà khoa học cũng đã xác định nguyên nhân gây ra sự bùng phát dịch, và cảnh báo người dân về sự nguy hiểm liên quan đến việc tiêu thụ cá sống và các loài thủy sản đặc biệt là nhuyễn thể (CDC, 2001-2009). Kết quả này cũng phù hợp với kết quả khảo sát trên nhuyễn thể ở Đồng Nai và Thành phố Hồ Chí Minh, tỉ lệ

dương tính với *V. cholerae* là 10,7% (Nguyễn Thị Xuân Trang *et al.*, 2012)

Trên người: qua 40 mẫu phân tiêu chảy được thu thập tại bệnh viện đa khoa Trà Vinh, không có mẫu dương tính với vi khuẩn tả *Vibrio* spp. tại thời điểm khảo sát.

Theo kết quả nghiên cứu ứng dụng một số kỹ thuật chẩn đoán nhanh *V. cholerae* gây tiêu chảy cấp tại tỉnh Thái Nguyên năm 2009 trên 270 mẫu bệnh nhân tiêu chảy cấp có triệu chứng lâm sàng nghi mắc bệnh tả cũng chỉ phân lập được 5,93% bệnh nhân dương tính với bệnh tả (Phạm Thế Vũ, 2008), nguyên nhân gây tiêu chảy của những bệnh nhân tiêu chảy này có thể do tác nhân gây bệnh khác như do vi khuẩn *E.coli*, *Salmonella*...

**3.2 Tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên nghêu ở huyện Cầu Ngang và Duyên Hải**

Tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên nghêu của huyện Cầu Ngang và huyện Duyên Hải được thể hiện qua bảng sau:

**Bảng 3: Tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên nghêu tại 2 Huyện**

Huyện	Số mẫu kiểm tra	Dương tính	
		Số mẫu	Tỉ lệ(%)
Duyên Hải	80	05 <sup>a</sup>	6.25
Cầu Ngang	80	11 <sup>b</sup>	13.75
<b>Tổng</b>	<b>160</b>	<b>16</b>	

Ghi chú: a,b khác biệt không có ý nghĩa thống kê

Qua Bảng 3 cho thấy tỉ lệ dương tính với *Vibrio* spp. trên nghêu của huyện Cầu Ngang là 13.75% cao hơn so với tỉ lệ dương tính với *Vibrio* spp. trên nghêu của huyện Duyên Hải là 6,25%, tuy nhiên sự chênh lệch này không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,111$ ).

Đặc tính của vi khuẩn *Vibrio* spp. thích nghi và tồn tại được ở môi trường nước có nồng độ muối thích hợp 2%, 3% và 4%, 6% và 8%, vi khuẩn hiện diện phổ biến ở biển, các cửa sông và các loài hải sản như tôm, cua, sò, nghêu, hào (Võ Văn Lượng, 2009). Người sẽ bị nhiễm *Vibrio* spp. khi ăn sống hoặc chưa nấu chín các loại hải sản trên hoặc uống hay tiếp xúc các loại nước có nhiễm vi khuẩn *Vibrio* spp. Ở Khánh Hòa (Việt Nam), từ năm 1997 đến 1999 có nhiều ca nhiễm *V. cholerae*, và Khánh Hòa cũng là vùng ven biển, thức ăn sử dụng đa số là hải sản. Theo báo cáo thường niên của Trung tâm kiểm soát dịch bệnh thế giới năm 2011 (CDC), thức ăn hải sản cũng được chứng minh về tỉ lệ nhiễm *V.cholerae* ở nhiều nước trên thế



giới: hầu 65%, tôm 52%, cua 29%, nghêu 11% (DePaola,1981).

**3.3 Tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên huyết heo tại một số huyện**

Kết quả (Bảng 4) cho thấy tại cơ sở giết mổ heo sử dụng nguồn nước từ môi trường nước sông thuộc huyện Châu Thành có 20% số mẫu được phân lập nhiễm vi khuẩn *Vibrio* spp. tỉ lệ này cũng khá cao so với tỉ lệ nhiễm đã được phân lập trên nghêu của các huyện (10%). Những kết quả giám sát sự lưu hành của *V. cholerae* O1, O139 thông qua các chỉ thị sinh học tại miền Nam Việt Nam 2012 – 2013 cho thấy tỉ lệ hiện diện *Vibrio* O1, O139 có khả năng tồn tại trong thực phẩm tươi sống và nước sông tại Thành phố Hồ Chí Minh và Bến Tre nhưng không mang độc tố tả, đây là nguy cơ tiềm tàng của sự tái bùng phát bệnh (yhdp, 2013).

**Bảng 4: Tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên huyết heo tại một số huyện**

Huyện	Số mẫu kiểm tra	Dương tính	
		Số mẫu	Tỉ lệ
Duyên Hải	20	0	0
Cầu Ngang	20	0	0
Châu Thành	20	04	20
Càng Long	20	0	0
T.Phố Trà Vinh	20	0	0

**3.4 Kết quả xác định type huyết thanh phổ biến gây bệnh tại Trà Vinh**

Chúng tôi tiến hành ngưng kết kháng huyết thanh đa giá và đơn giá để xác định nhóm huyết thanh có khả năng gây bệnh trên người.

**Bảng 5: Tỷ lệ nhiễm *Vibrio cholerae* theo type huyết thanh**

Type huyết thanh	Số mẫu dương tính (n = 20)	
	Dương tính	Tỉ lệ (%)
<i>Inaba</i> + <i>Ogawa</i> + <i>O139</i>	3	15
<i>Inaba</i> (đơn giá)	2	10
<i>Ogawa</i> (đơn giá)	2	10

**Bảng 6: Tỷ lệ nhạy cảm và đề kháng kháng sinh đối với *Vibrio cholerae***

Kháng sinh	Ký hiệu	Số mẫu kiểm tra	Nhạy cảm		Trung gian		Kháng	
			Số mẫu	(%)	Số mẫu	(%)	Số mẫu	(%)
Amoxicillin	Ax	20	0	0	2	10	18	90
Tetracycline	Te	20	13	65	1	5	6	30
Norfloxacin	Nr	20	20	100	0	0	0	0
Chloramphenicol	Cl	20	14	70	2	10	4	20
Azithromycin	Az	20	10	50	5	25	5	25

Kết quả cho thấy có 15% mẫu dương tính với kháng huyết thanh đa giá (O139, Ogawa, Inaba), 10% mẫu dương tính với kháng huyết thanh đơn giá Ogawa và 10% mẫu dương tính với kháng huyết thanh đơn giá Inaba. Những chủng không ngưng kết với kháng huyết thanh O1 và O139 sẽ được xác định trong các nghiên cứu tiếp theo.

Theo Garg P *et al.* (2003) *V. cholerae* nằm trong nhóm các vi sinh vật thuộc hệ sinh thái là môi trường nước, các chủng thuộc O1 và O139 được phân lập ít so với các chủng non – O1 và non – O139 là những nhóm kháng huyết thanh không ngưng kết (NAG: nonagglutinable), tuy nhiên có một vài chủng của *V. cholerae* không ngưng kết với kháng huyết thanh O1 nhưng vẫn gây bệnh và có triệu chứng tiêu chảy (Nicholas A *et al.*, 2000).

Ở Indonesia, hơn 20% các bệnh nhiễm trùng tiêu chảy là do nhiễm *Vibrio* spp. Theo Lesmana M *et al* (2002), nhóm vi khuẩn *Vibrio* spp. có thể phát triển trong môi trường thạch muối mật-sucrose thiosulfate citrate (TCBS) đều có khuẩn lạc màu vàng và không ngưng kết với kháng huyết thanh *V. cholerae* O1 (NAG: nonagglutinating).

Ở Việt Nam, từ năm 1979 đến 1981 các ca bệnh tả chủ yếu là do biotype El Tor, serotype Ogawa; từ năm 1982 đến 1990 các ca bệnh tả đều nhiễm serotype Inaba; những năm sau 1990 các ca bệnh đều do serotype Ogawa (Joao P.S. Cabral, 2010). Tháng 10 năm 2007, các trường hợp tiêu chảy cấp gây ra bởi biến đổi gen vi khuẩn *Vibrio cholerae* O1, Ogawa biotype El Tor và cổ điển (Nguyen *et al.*, 2002).

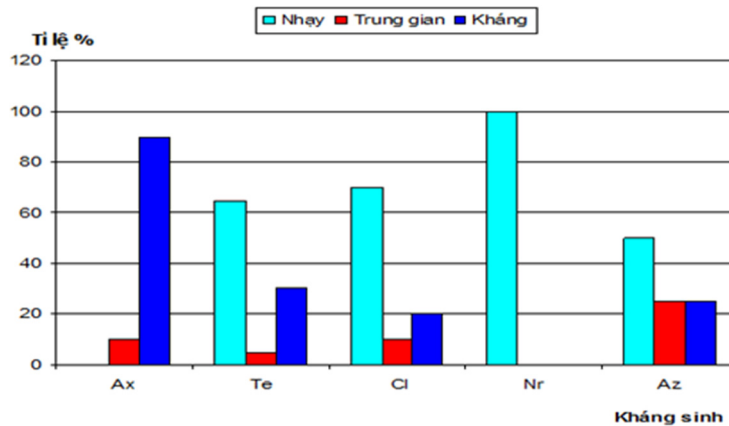
**3.5 Tính nhạy cảm và đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio cholerae***

Chúng tôi tiến hành trên 05 loại kháng sinh thường sử dụng để điều trị bệnh tả nhằm đánh giá tính nhạy cảm và đề kháng kháng sinh của 20 chủng *vibrio* spp. có 03 chủng ngưng kết với kháng huyết thanh tả đa giá và 04 chủng ngưng kết với kháng huyết thanh tả đơn giá Inaba và Ogawa, có 13 chủng không ngưng kết với kháng huyết thanh nhóm O1 và O139.

Nghiên cứu bước đầu cho thấy 100% các chủng *Vibrio* spp. nhạy cảm với norfloxacin, 70% với chloramphenicol, 65% với tetracycline, 50% với azithromycin; đề kháng với amoxicillin là 90%, với tetracycline là 30%, với azithromycin là 25%, kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Xuân Trang *et al.* 2012. Năm 1995 vi khuẩn *V. cholerae* nhạy với tetracycline và chloramphenicol, nhưng đến năm 2000 vi khuẩn *V. cholerae* lại đề kháng với tetracycline và chloramphenicol (Vijayalakshmi *et*

*al.*, 1997), với amoxicillin (Bani *et al.*, 2007). Ở miền Bắc Việt Nam từ năm 2007 đến 2010, tất cả chủng *V.cholerae* phân lập được đều nhạy với chloramphenicol (100%), đề kháng với tetracycline là 29% (Huru Dat Tran *et al.*, 2012).

Những nghiên cứu của Devarati Dutta *et al* (2013) cũng cho thấy hầu hết những chủng không ngưng kết (NAG) đều đề kháng với nalidixic acid (57.6%), ampicillin (55.5%), và nhạy cảm với gentamicin (96%), tetracycline (80%), và chloramphenicol (80.4%).



Biểu đồ 1: Sự nhạy cảm và đề kháng kháng sinh của các chủng *Vibrio* spp.

#### 4 KẾT LUẬN

Kết quả kiểm tra tỉ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên 300 mẫu (mẫu ngẫu nhiên, huyết heo, phân bệnh nhân) ở Trà Vinh cho thấy tần số xuất hiện *Vibrio* spp. trên ngẫu nhiên là 10%, mẫu huyết heo là 4%, trên bệnh nhân tiêu chảy chưa phân lập được *Vibrio* spp. Vi khuẩn phân lập nhạy với norfloxacin (100%), với chloramphenicol (70%), tetracycline (65%), azithromycin (50%); đề kháng với amoxicillin (90%), với tetracycline (30%), với azithromycin (25%). Có 15% mẫu dương tính với kháng huyết thanh đa giá (O139, Ogawa, Inaba), 10% mẫu dương tính với kháng huyết thanh đơn giá Ogawa và kháng huyết thanh đơn giá Inaba.

Cần phải có những nghiên cứu tiếp theo để có những kết quả cụ thể về các loài của *Vibrio* spp. và tính đề kháng kháng sinh của chúng.

#### LỜI CẢM ƠN

Chân thành cảm ơn Ban Giám hiệu, Ban lãnh đạo Khoa Nông nghiệp-Thủy sản Trường Đại học Trà Vinh cùng các đồng nghiệp trong bộ môn Chăn Nuôi Thú y đã tạo điều kiện về vật chất, tinh thần trong suốt quá trình tôi tham gia đề tài.

Chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo Chi cục Thú y tỉnh Trà Vinh đã tạo điều kiện cho chúng tôi tham gia lấy mẫu tại các cơ sở giết mổ trong địa bàn Tỉnh.

Chân thành cảm ơn các anh chị em Bộ môn Vi sinh Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ; anh chị em Bộ môn Vi sinh, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ; anh chị Khoa xét nghiệm bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ đã tạo điều kiện, giúp đỡ tôi hoàn thành nghiên cứu đề tài này.

Cảm ơn các em sinh viên Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ, các em sinh viên lớp DA09BTY Khoa Nông nghiệp – Thủy sản Trường Đại học Trà Vinh đã hỗ trợ tôi trong thời gian qua.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thị Xuân Trang, Nguyễn Ngọc Tuấn (2012). “Tần số xuất hiện *Vibrio cholerae* trên tôm và nhuyễn thể, xác định Serogroup O1, O139 và Biotype của *V. cholerae* bằng kỹ thuật Multiplex – PCR”. *Khoa học kỹ thuật Thú y* 19(3):51-55.

2. Phạm Thế Vũ (2008): “Nghiên cứu ứng dụng một số kỹ thuật chẩn đoán nhanh *Vibrio cholerae* gây dịch tiêu chảy cấp tại tỉnh Thái Nguyên năm 2008”. *Luận văn thạc sĩ Sinh học*: 29 – 31.
3. Trần Linh Thuộc (2009). Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm. NXB Giáo dục.
4. Bani, S., Mastromarino, P. N., Ceccarelli, D., Le Van, A., Salvia, A. M., Ngo Viet, Q. T., Hai, D. H., Bacciu, D., Cappuccinelli, P. & Colombo, M. M. (2007). Molecular characterization of ICEVchVie0 and its disappearance in *Vibrio cholerae* O1 strains isolated in 2003 in Vietnam. *FEMS Microbiol Lett* 266(1):42-8.
5. DePaola, A. (1981). *Vibrio cholerae* in marine foods and environmental waters: a literature review. *J. Food Sci*, 66-70.
6. Dong Tu Nguyen, Tuan Cuong Ngo, Huy Hoang Tran, Thanh Huong Le, Hoai Thu Nguyen, (2012), Characterization of *Vibrio cholerae* O139 of an Aquatic Isolate in Northern Vietnam. *Open Microbiol J*, 6: 14 – 21.
7. Devarati Dutta, Goutam Chowdhury, Gururaja P. Pazhani, Sucharita Guin, Sanjucta Dutta, et al (2013). *Vibrio cholerae* Non-O1, Non-O139 Serogroups and Cholera-like Diarrhea, Kolkata, India. [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid), Vol. 19, No. 3, March 2013.
8. Garg P, Nandy RK, Chaudhry P, Chaudhry NR, De K, Ramamurthy T, et al (2003). Emergence of *V. cholerae* O1 biotype El Tor serotype Inaba from prevailing O1 Ogawa serotype strains in India. *J Clin Microbiol*; 4249-53.
9. Huru Dat Tran, Munirul Alam, Nguyen Vu Trung, Nguyen Van Kinh, Hong Ha Nguyen, Van Ca Pham, Mohammad Ansaruzzaman, Shah Manzur Rashed, Nurul A. Bhuiyan, Tuyet Trinh Dao, Hubert P. Endtz, and Heiman F. L. Wertheim (2012). Multi-drug resistant *Vibrio cholerae* O1 variant El Tor isolated in northern Vietnam between 2007 and 2010. *Journal of Medical Microbiology*, 61: 431–437.
10. Joao P.S. Cabral (2010). Water Microbiology. Bacterial Pathogens and Water. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 7: 3657-3703.
11. Joao P.S. Cabral (2010). International Journal of Environmental Research and Public Health, 1660-4601.
12. Lesmana M, Subekti DS, Tjaniadi P, Simanjuntak CH, Punjabi NH, Campbell JR, et al (2002). Spectrum of *Vibrio* species associated with acute diarrhea in North Jakarta, Indonesia. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 43:91–7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893\(02\)00373-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893(02)00373-5).
13. Nguyen BM, Higa N, Kakinohana S, Iwanaga M (2002). Characterization of *Vibrio cholerae* O1 isolated in Vietnam. *Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene*: 103 – 107.
14. N.Vijayalakshmi, R. S.rao and S.Badrinath (1997). Minimum inhibitory concentration (MIC) of some antibiotics against *Vibrio cholerae* O139 isolates from Pondicherry. *Epidemiology and Infection*. 119(1)25.
15. Nicholas A.Daniels, MD, MPH, Alireza Shafaie, MD (2000). A Review of Pathogenic *Vibrio* Infections for Clinicians. [*Infect Med* 17(10):665-685].
16. Tamang MD, Sharma N, Makaju RK, Sarma AN, Koju R, Nepali N, Mishra SK (2005). An outbreak of El Tor cholera in Kavre district, Nepal. Vol. 3, No. 2, 138-142.
17. Clinical and Laboratory Standards Intitute (CLSI, 2010). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. <http://vietsciences.free.fr/timhieu/khoahoc/ykhoa/dichta.htm>, Võ Văn Lượng, 3/8/2009.
18. Yhdp\_origin\_167\_10\_2013.pdf. Giám sát sự lưu hành của *V. cholerae* O1, O139 thông qua các chỉ thị sinh học tại miền Nam Việt Nam 2012 – 2013. Iso/TS 21872-1:2007 (E).
19. Summary of human *Vibrio* isolates reported to CDC, (2001-2009).