

Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from goats in Can Tho city

Vy L. P. Nguyen¹, Ninh T. K. Truong¹, Linh P. Tran¹, Trung T. Truong², & Thuan K. Nguyen^{1*}

¹Faculty of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Can Tho University, Can Tho City, Vietnam

²Faculty of Animal Science, College of Agriculture, Can Tho University, Can Tho City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: Aug 20, 2023

Revised: Sep 05, 2023

Accepted: Sep 10, 2023

Keywords

Antibiotic resistance genes

Antimicrobial susceptibility

Goats

P. multocida

Prevalence

*Corresponding author

Nguyen Khanh Thuan

Email:

nkthuan@ctu.edu.vn

ABSTRACT

A total of 289 goats' nasal swabs were collected from March to May 2023 to determine the prevalence of *Pasteurella multocida* in goats raised on medium-scale farms in Can Tho city. There were 143 samples representing 49.48% positive for *Pasteurella multocida*. Of 143 positive samples, 64 strains were selected to examine the antimicrobial susceptibility using the disk diffusion method. The results showed that those strains were still sensitive to 6/7 examined antibiotics, especially doxycycline (100%); however, they were highly resistant to ampicillin (53.13%). There were 9 phenotypes of antibiotic resistance (60.94%), with the most common patterns of ampicillin and ampicillin + amoxicillin/clavulanic acid (23.44%). By using PCR assay to detect antibiotic resistance genes, the results revealed that *sulII* gene was the most frequent detection (67.19%). A total of 11 resistance genotypes detected in 54 strains accounted for 84.38%, and the pattern of *aadB* + *sulII* was the most common genotype accounting for 23.44%. Therefore, the prevalence and antimicrobial susceptibility of *P. multocida* in goats should be controlled to protect their health and prevent spreading in husbandry environments.

Cited as: Nguyen, V. L. P., Truong, N. T. K., Tran L. P., Truong, T. T., & Nguyen, T. K. (2024). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from goats in Can Tho city. *The Journal of Agriculture and Development* 23(1), 14-24.

Sự lưu hành và đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Pasteurella multocida* phân lập từ dê nuôi tại thành phố Cần Thơ

Nguyễn Lý Phương Vy¹, Trương Thị Kiều Ninh¹, Trần Phương Linh¹, Trương Thanh Trung² & Nguyễn Khánh Thuận^{1*}

¹Khoa Thú Y, Trường Nông Nghiệp, Đại Học Cần Thơ, Thành Phố Cần Thơ

²Khoa Chăn Nuôi, Trường Nông Nghiệp, Đại Học Cần Thơ, Thành Phố Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 20/08/2023

Ngày chỉnh sửa: 05/09/2023

Ngày chấp nhận: 10/09/2023

Từ khóa

Dê

Gene đề kháng kháng sinh

Nhạy cảm kháng sinh

P. multocida

Sự hiện diện

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Khánh Thuận

Email:

nkthuan@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Tổng số 289 mẫu dịch mũi được thu thập từ tháng 3 đến tháng 5 năm 2023 để xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Pasteurella multocida* trên đàn dê nuôi tại một số trại chăn nuôi quy mô vừa ở Thành phố Cần Thơ. Có 143 mẫu, chiếm 49,48%, dương tính với *P. multocida*. Từ 143 mẫu dương tính, có 64 chủng được chọn để kiểm tra tính nhạy cảm với kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Kết quả cho thấy vi khuẩn còn nhạy cảm với 6/7 loại kháng sinh được khảo sát, đặc biệt là doxycycline (100%); tuy nhiên, các chủng này đã đề kháng cao với ampicillin chiếm 53,13%. Có 9 kiểu hình kháng thuốc được ghi nhận (60,94%), phổ biến nhất là ampicillin và ampicillin + amoxicillin/clavulanic acid chiếm 23,44%. Sử dụng kỹ thuật PCR để phát hiện gene đề kháng kháng sinh, kết quả cho thấy *sulII* được phát hiện nhiều nhất chiếm 67,19%. Tổng số 11 kiểu gene đề kháng được phát hiện ở 54 chủng chiếm 84,38%, và *aadB* + *sulII* là kiểu ghép gene phổ biến nhất chiếm 23,44%. Do đó, sự hiện diện và tính nhạy cảm với kháng sinh của *P. multocida* ở dê cần được kiểm soát nhằm để bảo vệ sức khỏe của dê và ngăn ngừa sự lây lan mầm bệnh trong môi trường chăn nuôi.

1. Đặt Vấn Đề

Dê là đối tượng vật nuôi đang phổ biến tại Việt Nam bởi tính thích nghi tốt cho nguồn lợi kinh tế ổn định. Tuy nhiên, dê cũng như một số loài gia súc nhai lại khác thường mắc phải những căn bệnh nguy hiểm làm tổn thất kinh tế cho chủ trong quá trình nuôi dưỡng; trong đó bệnh trên đường hô hấp do *Pasteurella multocida* gây hậu quả khá nghiêm trọng. Theo nghiên cứu của Nguyen và ctv. (2008), trong 254 mẫu bệnh phẩm xét nghiệm bệnh tụ huyết trùng trên dê và cừu thì có 53 mẫu là tồn tại vi khuẩn *P. multocida*, chiếm tỉ lệ 20,87%. Theo nghiên cứu

của Assefa & ctv. (2018) trên mẫu huyết thanh dê nuôi được lấy ngẫu nhiên ở miền Bắc Ethiopia, kết quả đã cho thấy *P. multocida* type A xuất hiện ở 21/124 mẫu chiếm tỷ lệ 16,9%. Các nghiên cứu trên đều cho thấy *P. multocida* có thể hiện diện phổ biến trên động vật khỏe và mắc bệnh. Mellon & ctv. (2001) đã nghiên cứu và cho thấy rằng, phần lớn kháng sinh được sử dụng trong chăn nuôi không những vì mục đích chữa bệnh mà còn được áp dụng để kích thích tăng trưởng và phòng bệnh. Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh thường xuyên và rộng rãi này trong chăn nuôi đã khiến đề kháng thuốc ở vi khuẩn trở nên

phức tạp hơn. Nghiên cứu của Kandimalla & ctv. (2022) khi tiến hành kiểm tra mức độ đề kháng đối với một số loại kháng sinh thường sử dụng đã cho thấy *P. multocida* đề kháng cao với kháng sinh gentamycin chiếm 66,67%. Ngoài ra, việc thường xuyên tiếp xúc với kháng sinh đã khiến quần thể vi khuẩn trên động vật hình thành gene kháng thuốc. Sahay & ctv. (2020) tiến hành kiểm tra sự hiện diện gene đề kháng thuốc của *P. multocida* được phân lập từ dịch mũi và mô phổi cừu cho thấy có 14/28 chủng chiếm 50,00% mang gene *strA* và 12/28 chủng chiếm 42,86% mang gene *sulIII*. Các kết quả trên đã cho thấy nguy cơ gây bệnh và đề kháng kháng sinh cao của *P. multocida*, gây ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị cũng như nguy cơ lây truyền các chủng kháng kháng sinh cho các đối tượng khác trong môi trường chăn nuôi.

Hiện nay, các nghiên cứu về *P. multocida* đã được thực hiện trên các loài động vật, nhưng các báo cáo trên dê vẫn còn rất ít, nhất là ở Đồng bằng sông Cửu Long cũng như tại Việt Nam. Do đó, kết quả nghiên cứu về kháng thuốc và sự hiện diện của các gene đề kháng kháng sinh trên *P. multocida* được phân lập từ dê trong nghiên cứu này có thể cung cấp những thông tin cần thiết cho người chăn nuôi, cơ quan quản lý về tình hình dịch bệnh cũng như tăng cường quản lý và sử dụng kháng sinh hiệu quả trong phòng và điều trị bệnh do *P. multocida* gây ra.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu dịch mũi trên dê: tổng số 289 mẫu dịch mũi được thu thập từ dê ở tất cả độ tuổi, giới tính và tình trạng sức khỏe nuôi ở hai trại chăn nuôi quy mô nhỏ thuộc quận Ô Môn, TP. Cần Thơ từ tháng 3/2023 đến tháng 5/2023.

Môi trường phân lập vi khuẩn dùng trong nghiên cứu: thạch máu (Blood agar, Oxoid, Anh) bổ sung 5% máu cừu đã khử sợi huyết (Nam Khoa, Việt Nam) và kiểm tra sinh hóa định danh

Pasteurella spp. bằng test kit sinh hóa (Nam Khoa, Việt Nam).

Hóa chất ly trích DNA và thực hiện PCR: nước tinh khiết không chứa DNA và RNA (TBR, Việt Nam), kit phản ứng PCR - MyTaq mix 2X (Bioline, Mỹ).

Các đĩa kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: ampicillin (Am, 10 µg), amoxicillin/clavulanic acid (Ac, 20/10 µg), ceftazidime (Cz, 30 µg), gentamycin (Ge, 10 µg), doxycycline (Dx, 30 µg), ciprofloxacin (Ci, 5 µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (Bt, 1,25/23,75 µg) do Công ty Nam Khoa Biotek (TP. Hồ Chí Minh) cung cấp.

Chủng *Pasteurella multocida*: Tất cả các chủng *Pasteurella multocida* được phân lập từ các mẫu dịch mũi thu từ dê tại Phòng thí nghiệm An toàn thực phẩm Thú y, Khoa Thú y, Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu

Mẫu dịch mũi lấy từ dê nuôi ở hai trại chăn nuôi quy mô vừa (dưới 300 con) thuộc quận Ô Môn, TP. Cần Thơ được thực hiện theo quy trình lấy mẫu swab dịch thể trên dê của NAHMS (USDA, 2022). Mẫu dịch mũi được lấy định kỳ mỗi tuần trong thời gian nghiên cứu, và lấy ngẫu nhiên trên đàn ở tất cả lứa tuổi, giới tính, tình trạng sức khỏe. Sau đó, mẫu dịch mũi được bảo quản ở nhiệt độ 4 - 8°C để vận chuyển về phòng thí nghiệm và tiến hành phân lập *P. multocida* trong 24 giờ.

2.2.2. Phương pháp phân lập *Pasteurella multocida*

Quy trình phân lập vi khuẩn *P. multocida* được thực hiện theo Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8400-14:2011. Các chủng vi khuẩn sau khi phân lập sẽ tiến hành ly trích DNA và định danh vi khuẩn *P. multocida* bằng kỹ thuật PCR.

2.2.3. Phương pháp định danh *Pasteurella multocida*

2.2.3.1. Tách chiết DNA

DNA của các chủng *P. multocida* được tách chiết theo phương pháp shock nhiệt của Soumet & ctv. (1994) và trữ ở -20°C để sử dụng cho quá trình PCR.

2.2.3.2. Thực hiện phản ứng PCR

Phản ứng PCR sử dụng bộ kit Mastermix 2X (Bioline, Canada) với tổng thể tích là 25 µL: Mastermix 2X (12,5 µL), mỗi xuôi (0,5 µL), mỗi ngược (0,5 µL), distilled water (9,5 µL) và DNA template (2 µL). Chu trình nhiệt như sau: 94°C - 2 phút; 30 chu kỳ: 94°C - 20 giây, 55°C - 20 giây, 72°C - 45 giây; 72°C - 2 phút. Gene *Pm1231* (5' - 3'): F - AGAAAGCACATGACCAAAGG; R - GCAGCTACTCGCAGAAGGTT (Liu & ctv., 2004) được sử dụng để dùng để định danh vi khuẩn *P. multocida*.

2.2.3.3. Điện di

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% (Bioline, Canada), hiệu điện thế 50V trong 60 phút, sau đó nhuộm với Ethidium bromide trong 20 phút. Đọc kết quả điện di trên gel dưới tia UV để xác định sự hiện diện của gene cần xác định. Mẫu đối chứng dương: DNA của *P. multocida* được xác định dương tính với gene dùng trong nghiên cứu; mẫu đối chứng âm: nước tinh khiết không chứa DNA hay RNA.

2.2.4. Phương pháp xác định độ nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn *P. multocida*

Sau khi đã định danh *P. multocida*, 64 chủng đại diện được chọn để khảo sát mức độ nhạy cảm

đối với kháng sinh. Các chủng đại diện về địa điểm thu mẫu, giới tính và độ tuổi của dê được khảo sát trong các đợt thu mẫu. Nghiên cứu sử dụng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch của Kirby-Bauer (Bauer & ctv., 1966) để kiểm tra sự nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn. Kích thước vòng vô khuẩn được đo và so sánh với tiêu chuẩn của CLSI (2022) để đánh giá mức độ nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn.

Trong nghiên cứu này, bảy loại kháng sinh được chọn (được đề cập trong vật liệu nghiên cứu) để kiểm tra tính nhạy cảm của vi khuẩn *P. multocida* với kháng sinh.

2.2.5. Phương pháp xác định sự hiện diện gene để kháng kháng sinh của *P. multocida*

Sau khi thử kháng sinh đồ, tất cả 64 chủng vi khuẩn *P. multocida* được xác định sự hiện diện của các gene để kháng kháng sinh trên *P. multocida* bằng phương pháp PCR. Quy trình thực hiện tương tự với quy trình định danh vi khuẩn ở mục 2.2.3. Chu trình nhiệt như sau: 94°C - 5 phút; 35 chu kỳ: 94°C - 1 phút, 58°C (*blaROB*, *aadB*)/55°C (*tetA*, *sulIII*) - 1 phút, 72°C - 1 phút; 72°C - 10 phút. Trình tự của các gene để kháng kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Trình tự primer xác định gene đề kháng kháng sinh trên *P. multocida*

Primer	Trình tự primer (5' - 3')	Size (bp)	Tài liệu tham khảo
<i>bla</i> ROB – F	AATAACCCCTTGCCCCAATTC	685	Klima & ctv. (2014)
<i>bla</i> ROB – R	TCGCTTATCAGGTGTGCTTG		
<i>aad</i> B – F	TTACGCAGCAGGGCAGTCGC	551	Randall & ctv. (2004)
<i>aad</i> B – R	GCGGCACGCAAGACCTCAAC		
<i>tet</i> A – F	GGTTCACTCGAACGACGTCA	577	Saenz & ctv. (2010)
<i>tet</i> A – R	CTGTCCGACAAGTTGCATGA		
<i>sul</i> III – F	CGGCATCGTCAACATAACC	722	
<i>sul</i> III – R	GTGTGCGGATGAAGTCAG		

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và xử lý thống kê bằng phương pháp Chi-square trên phần mềm Minitab 16.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Tỷ lệ hiện diện *Pasteurella multocida* được phân lập từ dịch mũi dê

Thông qua phương pháp phân lập và định danh bằng PCR, có 143/289 mẫu dương tính với *P. multocida*, chiếm tỷ lệ cao 49,48% (Bảng 2). Kết quả phân lập vi khuẩn được trình bày trong Bảng 2 cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự hiện diện của *P. multocida* trên dê giữa các hộ chăn nuôi, giới tính và độ tuổi. Tại các địa điểm khảo sát điều kiện chuồng trại còn thô sơ, thiếu sự ngăn cách rõ ràng giữa các ô chuồng, dê ở các độ tuổi, giới tính được nuôi nhốt chung. Do đó, đây có thể là nguyên nhân

dẫn đến sự truyền lây mầm bệnh giữa các cá thể trong đàn. Marru & ctv. (2013) cũng đã ghi nhận không có sự liên kết nào giữa sự hiện diện của *P. multocida* với giới tính ở động vật khảo sát. Ngoài ra, theo Hailu & ctv. (2017), *P. multocida* có thể thường trú trong hệ hô hấp của những con gia súc khỏe mạnh và những vật nuôi khác trong nhà. Nghiên cứu của Valadan & ctv. (2014) đã cho thấy, trong 1454 mẫu swab và mẫu máu lấy ở dê và cừu ở Iran thì *P. multocida* chỉ hiện diện ở 54 mẫu chiếm tỷ lệ thấp 3,71%. Kết quả trong nghiên cứu này và các báo cáo khác có sự không tương đồng về tỷ lệ hiện diện của *P. multocida* có thể do đặc điểm dịch tễ từng vùng là khác nhau, ngoài ra loại mẫu và tình trạng sức khỏe của vật nuôi cũng khác nhau. Kết quả hiện diện cao của *P. multocida* trên dê trong nghiên cứu này của chúng tôi khảo sát cho thấy nguy cơ lớn trong việc gây bệnh hô hấp cho đàn dê tại đây, vì vậy cần phải có biện pháp kiểm soát chặt chẽ hơn.

Bảng 2. Tỷ lệ hiện diện *P. multocida* được phân lập trên dê nuôi (n = 289)

	Yếu tố khảo sát	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	P
Trại	1	202	94	46,43	0,127
	2	87	49	56,32	
Giới tính	Đực	82	40	48,78	0,881
	Cái	207	103	49,76	
Độ tuổi	< 6 tháng	78	38	48,72	0,135
	≥ 6 tháng	109	47	43,12	
	≥ 1 năm	102	58	56,86	

3.2. Nhạy cảm với kháng sinh của *P. multocida* phân lập trên dê

Kết quả Bảng 3 cho thấy vi khuẩn còn nhạy cảm cao với 6/7 loại kháng sinh; trong đó, 64/64 chủng chiếm 100% còn nhạy cảm với kháng sinh doxycycline. Tuy nhiên, ampicillin đã bị đề kháng cao (53,13%). Đây là kháng sinh được sử dụng phổ biến trong điều trị bệnh cho vật nuôi trước đây, nhưng điều tra thực tế tại các cơ sở nuôi dê được khảo sát thì không dùng kháng sinh này hiện nay. Sự đề kháng đối với kháng sinh của vi khuẩn là do vi khuẩn tiếp xúc với kháng sinh quá nhiều gây biến đổi và hình thành các gene kháng thuốc (Bennett, 2009). Điều này cho thấy, các chủng *P. multocida* tại hai trại này có thể đã có khả năng đề kháng tự nhiên với ampicillin do

các tác động trong quá trình sử dụng thuốc trước đây tại khu vực khảo sát. Mặt khác, gentamycin là loại kháng sinh được sử dụng chủ yếu để điều trị bệnh cho dê ở các cơ sở chăn nuôi này; tuy nhiên kết quả lại cho thấy *P. multocida* đề kháng rất thấp đối với kháng sinh này (3,13%). Nguyên nhân của sự nhạy cảm hay đề kháng với các kháng sinh của *P. multocida* tại các trại khảo sát cần có sự nghiên cứu chuyên sâu hơn để xác định chính xác các biểu hiện này. Nghiên cứu của Sarangi & ctv. (2015) đã cho thấy kết quả tương đồng là *P. multocida* trên dê và cừu vẫn còn nhạy cảm với hầu hết các loại kháng sinh, riêng kháng sinh ampicillin đã có 38,6% chủng đề kháng. Vì vậy, trong quá trình chăn nuôi dê tại các trại khảo sát cũng cần có sự kiểm soát việc sử dụng kháng sinh để hạn chế sự hình thành các chủng đề kháng.

Bảng 3. Kết quả đề kháng kháng sinh của *P. multocida* phân lập trên dê (n = 64)

Nhóm kháng sinh	Kháng sinh	Ký hiệu	Nhạy cảm		Đề kháng	
			Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Beta-lactam	Ampicillin	Am	30	46,88	34	53,13
	Amoxicillin-clavulanic acid	Ac	46	71,88	18	28,13
	Ceftazidime	Cz	63	98,44	1	1,56
Aminoglycoside	Gentamycin	Ge	62	96,88	2	3,13
Tetracycline	Doxycycline	Dx	64	100,00	0	0,00
Quinolone	Ciprofloxacin	Ci	63	98,44	1	1,56
Sulfonamide	Bactrim ¹	Bt	58	90,63	6	9,38

¹Bactrim: Trimethoprim/sulfamethoxazole.

Tổng cộng có 9 kiểu hình đề kháng được ghi nhận ở 39/64 (60,94%) chủng *P. multocida* được khảo sát (Bảng 4). Các chủng *P. multocida* này có thể đề kháng từ một đến bốn loại kháng sinh cùng lúc. Hai kiểu hình đề kháng xuất hiện nhiều nhất trên các chủng vi khuẩn được khảo sát là Am và Am + Ac, với tỷ lệ hiện diện là 23,44%. Sự đa kháng kháng sinh sẽ gây khó khăn trong việc lựa chọn sử dụng kháng sinh phù hợp trong phòng, điều trị bệnh cho đàn vật nuôi. Báo cáo về tình trạng đa kháng thuốc cũng được tìm thấy

ở 7/11 chủng *P. multocida* phân lập ở các loài động vật khác nhau, trong đó có dê đã được ghi nhận tại Thổ Nhĩ Kỳ (Guller & ctv., 2013). Kháng đa thuốc có thể xảy ra trên vi khuẩn nếu phải tiếp xúc với một loại kháng sinh liên tục, hoặc do sự tiếp nhận các yếu tố di truyền kháng thuốc thông qua plasmid, hoặc transposon (Tenover, 2006). Do đó, sử dụng kháng sinh đúng mục đích sẽ giúp hạn chế tình trạng kháng đa thuốc xảy ra.

Bảng 4. Tỷ lệ kiểu hình đề kháng kháng sinh của *P. multocida* phân lập trên dê (n = 64)

Số kháng sinh kháng	Kiểu hình đề kháng	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
1	Am	15	23,44
	Ac	2	3,13
	Bt	2	3,13
2	Am + Ac	15	23,44
	Am + Bt	1	1,56
	Am + Cz	1	1,56
	Ge + Bt	1	1,56
3	Am + Ac + Bt	1	1,56
4	Am + Ge + Ci + Bt	1	1,56
<i>(P < 0,001)</i>			
Tổng		39	60,94

3.3. Kết quả hiện diện của gene đề kháng kháng sinh trên *P. multocida* phân lập từ dê

Bảng 5 trình bày kết quả hiện diện của gene đề kháng kháng sinh trên 64 chủng *P. multocida*. Gene *sulIII* là gene hiện diện phổ biến nhất (67,19%) và *tetA* là gene có sự hiện diện thấp nhất (10,94%). Khi nghiên cứu về sự xuất hiện của các gene kháng kháng sinh ở vi khuẩn đã ghi nhận vi khuẩn có hai kiểu biến đổi để thích nghi và tồn tại bao gồm đột biến ở những vật chất di truyền trong tế bào vi khuẩn và tiếp nhận gene từ những chủng vi khuẩn khác cùng chung hệ sinh thái (Munita & ctv., 2016). Điều đó giải thích cho sự không tương đồng về kết quả kháng sinh đồ và kết quả khảo sát tỷ lệ hiện diện các gene kháng kháng sinh. Gene *sulIII* có tỷ lệ hiện diện cao nhất mặc dù tỷ lệ đề kháng với kháng sinh nhóm sulfonamide thấp (9,38%). Ngoài việc tiếp hợp gene kháng thuốc từ cá thể khác, việc ít tiếp xúc với kháng sinh nhóm sulfonamide cũng là nguyên nhân khiến sự biểu hiện kiểu hình kháng

thuốc của các chủng *P. multocida* còn thấp. Gene *blaROB* quy định tính kháng của vi khuẩn đối với nhóm beta-lactam, chỉ hiện diện ở 14/64 chủng (21,88%) nhưng *P. multocida* lại được ghi nhận là đã đề kháng khá cao với ampicillin. Theo Levy & Marshall (2004), nhiều gene khác nhau có thể quy định cùng một loại cơ chế kháng thuốc ở vi khuẩn. Vì vậy, sự đề kháng ampicillin ở *P. multocida* có thể bị chi phối bởi không chỉ một gene *blaROB* mà còn bởi những gene kháng nhóm beta-lactam khác. Ngoài ra, gene *tetA* được ghi nhận hiện diện khá ít trên *P. multocida* phân lập từ động vật. Nghiên cứu của Babetsa & ctv. (2012) về mức phổ biến của các gene kháng nhóm tetracycline đã cho thấy có 18/100 chủng *P. multocida* phân lập từ động vật đề kháng với tetracycline, tuy nhiên không tìm thấy gene *tetA*. Vì vậy, việc khảo sát sự hiện diện của các gene đề kháng kháng sinh trên vi khuẩn *P. multocida* nhằm cung cấp thông tin dịch tễ và quản lý sự lưu hành của gene mã hóa sự đề kháng thuốc.

Bảng 5. Hiện diện gene đề kháng kháng sinh trên *P. multocida* phân lập trên dê (n = 64)

Nhóm kháng sinh	Gene	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	P
Beta-lactam	<i>blaROB</i>	14	21,88	< 0,001
Aminoglycoside	<i>aadB</i>	26	40,63	
Tetracycline	<i>tetA</i>	7	10,94	
Sulfonamide	<i>sulIII</i>	43	67,19	

Bảng 6. Tỷ lệ hiện diện kiểu gene đề kháng kháng sinh trên *P. multocida* phân lập trên dê (n = 64)

Số gene đề kháng	Kiểu gene	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
1	<i>blaROB</i>	2	3,13
	<i>aadB</i>	7	10,94
	<i>sulIII</i>	13	20,31
	<i>tetA</i>	1	1,56
2	<i>blaROB + aadB</i>	1	1,56
	<i>blaROB + sulIII</i>	7	10,94
	<i>aadB + sulIII</i>	15	23,44
	<i>tetA + sulIII</i>	3	4,69
3	<i>blaROB + aadB + sulIII</i>	2	3,13
	<i>blaROB + tetA + sulIII</i>	2	3,13
	<i>aadB + tetA + sulIII</i>	1	1,56
Tổng		54	84,38

Mười một kiểu gene kháng kháng sinh đã ghi nhận được ở 54/64 (84,38%) chủng *P. multocida* (Bảng 6); trong đó kiểu ghép gene *aadB + sulIII* xuất hiện nhiều nhất, chiếm tỷ lệ 23,44%. Sự truyền gene ngang của vi khuẩn là nguyên nhân chính khiến vi khuẩn có khả năng mang nhiều hơn một gene đề kháng. Hầu như các gene đề kháng kháng sinh đều nằm trên các plasmid; sự kết hợp giữa những phân vùng giúp các vật chất di truyền di chuyển từ tế bào vi khuẩn này sang tế bào vi khuẩn khác (Ilangoan & ctv., 2015). Sự tồn tại của các gene kháng thuốc trên vi khuẩn bị ảnh hưởng bởi sự tương thích hoặc không tương thích về cơ chế sao chép của plasmid. Hai gene có sự tương đồng về cơ chế sao chép không thể tồn tại trong cùng một tế bào (Carattoli & ctv., 2005). Thông qua cơ chế này, mức độ đa dạng về kiểu gene đa kháng thuốc trên vi khuẩn trở nên biến đổi. Những nghiên cứu về kiểu gene đa kháng kháng sinh ở *P. multocida* trên dê khá ít,

tuy nhiên, ở một số nghiên cứu khác như của Alhamami & ctv. (2021) về gene đề kháng thuốc của *P. multocida* trên bò tại Úc cho thấy các kiểu hình ghép gene đề kháng đồng thời nhóm tetracycline và macrolide rất phổ biến. Sự xuất hiện của các kiểu ghép gene đề kháng kháng sinh chính là tiền đề cho sự biểu hiện những kiểu hình đa kháng kháng sinh trên vi khuẩn. Do đó, việc kiểm soát các chủng *P. multocida* mang gene đề kháng kháng sinh cần được kiểm soát để nhằm hạn chế sự phát tán ra môi trường chăn nuôi.

4. Kết Luận

Vi khuẩn *P. multocida* hiện diện cao trên dê tại các trại chăn nuôi khảo sát ở TP. Cần Thơ, chiếm tỷ lệ 49,48%, điều này cho thấy nguy cơ gây bệnh cao cho đàn dê tại đây. Mặt khác, vi khuẩn *P. multocida* trên dê đã có biểu hiện đề kháng cao đối với kháng sinh ampicillin và nhiều kiểu hình đa kháng được ghi nhận. Ngoài ra, các

chủng *P. multocida* có thể mang nhiều gene để kháng kháng sinh, trong đó gene *sulIII* và kiểu ghép gene *aadB* + *sulIII* là phổ biến nhất. Nghiên cứu đã cho thấy sự cần thiết trong việc quản lý sự hiện diện của các chủng *P. multocida* để kháng kháng sinh trên đàn dê nhằm bảo vệ sức khỏe đàn vật nuôi và hạn chế tình trạng đề kháng kháng sinh trong chăn nuôi.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu này được thực hiện và có sự đồng thuận công bố của tất cả tác giả.

Lời Cảm Ơn

Đề tài này được tài trợ bởi Đại học Cần Thơ, Mã số: TSV2023-144.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Alhamami, T., Chowdhury, P. R., Gomes, N., Carr, M., Veltman, T., Khazandi, M., Mollinger, J., Deutscher, A. T., Turni, C., Mahdi, L., Venter, H., Abraham, S., Djordjevic, S. P., & Trott, D. J. (2022). First emergence of resistance to macrolides and tetracycline identified in *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolates from beef feedlots in Australia. *Microorganisms* 9(6), 1322. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061322>.
- Assefa, G. A., & Kelkay, M. Z. (2018). Goat pasteurellosis: serological analysis of circulating *Pasteurella* serotypes in Tanqua Aberegelle and Kola Tembien Districts, Northern Ethiopia. *BMC Research Notes* 11, 485. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3606-0>.
- Babetsa, M., Sandalakis, V., Vougidou, C., Zdragas, A., Sivropoulou, A., Psaroulaki, A., & Ekateriniadou, L. V. (2012). Tetracycline resistance genes in *Pasteurella multocida* isolates from bovine, ovine, caprine and swine pneumonic lungs originated from different Greek prefectures. *African Journal of Microbiology Research* 6(17), 3917-3923. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.208>.
- Bennett, P. M. (2009). Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology* 153(1), 347-357. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707607>.
- Carattoli, A., Bertini, A., Villa, L., Fallo, V., Hopkins, K. L., & Threlfall, E. J. (2005). Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *Journal of Microbiological Methods* 63(3), 219-228. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2005.03.018>.
- Guiler, L., Gunduz, K., & Sarisahin, A. S. (2013). Capsular typing and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from different hosts. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* 19(5), 843-849. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2013.8936>.
- Hailu, S. M., Kitila, D. B., Gameda, A. E., & Tarekegn, M. (2017). *Pasteurella* organism: Its isolation and identification from pneumonic lungs of goats in Ethiopia. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* 4(2), 147-154. <https://doi.org/10.5455/javar.2017.d202>.
- Ilangovan, A., Connery, S., & Waksman, G. (2015). Structural biology of the Gram-negative bacterial conjugation systems. *Trends in Microbiology* 23(5), 301-310. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.02.012>.
- Kandimalla, K., Awati, B., Putty, K., Ram, V. K. S., Yella, N. R., Patil, N. A., Bhojar, R., Choudapur, M. K., Karate A., Lubavat, G., Akkaldevi, J., & Ganji, V. (2022). Evaluation of biofilm formation capacity of *Pasteurella multocida* and its relationship with antibiotic resistance. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology* 18(5), 68-74. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001000001>.
- Levy, S. B., & Marshall, B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine* 10, 122-129. <https://doi.org/10.1038/nm1145>.
- Marru, H. D., Anijajo, T. T., & Hassen, A. A. (2013). A study on Ovine pneumonic pasteurellosis: Isolation and identification of *Pasteurellae* and their antibiogram susceptibility pattern in

- Haramaya District, Eastern Hararghe, Ethiopia. *BMC Veterinary Research* 9, 239. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-239>.
- Mellon, M., Benbrook, C., & Benbrook, K. L. (2001). *Hogging it: Estimates of antimicrobial abuse in livestock*. Massachusetts, USA: Union of Concerned Scientists.
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology Spectrum* 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>.
- Nguyen, D. T., Le, L., Dao, D. H., Dang, V. T., Truong, C. T., & Le D. H. (2008). Study on the role of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* causing Pasteurellosis in sheep and goats in Ninh Thuan, Khanh Hoa, Dak Lak provinces. *Vietnam Journal of Agriculture and Rural Development* 5, 46-51.
- Sahay, S., Natesan, K., Prajapati, A., Kalleshmurthy, T., Shome, B. R., Rahman, H., & Shome, R. (2020). Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from ovine respiratory infection: A study from Karnataka, Southern India. *Veterinary World* 13(9), 1947-1954. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1947-1954>.
- Sarang, L. N., Thomas, P., Gupta, S. K., Priyadarshini A., Kumar S., Nagaleekar V. K., A. Kumar, & Singh V. P. (2015). Virulence gene profiling and antibiotic resistance pattern of Indian isolates of *Pasteurella multocida* of small ruminant origin. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 38, 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2014.11.003>.
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Medicine* 119(6), 3-10. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.219>.
- Valadan, M., Jabbari, A., Niroumand, M., Tahamtan, Y., & Bani Hashemi, S. (2014). Isolation and identification of *Pasteurella multocida* from sheep & goat in Iran. *Archives of Razi Institute* 69(1), 47-55. <https://doi.org/10.7508/ari.2014.01.007>.