

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

NGUYỄN THỊ LAN PHƯƠNG

**THỰC TRẠNG, MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN NHIỆM
E. COLI MANG GEN KHÁNG KHÁNG SINH *MCR-1* Ở
NGƯỜI, VẬT NUÔI VÀ MÔI TRƯỜNG TẠI TRANG
TRẠI XÃ YÊN NAM, TỈNH HÀ NAM**

Ngành: Y tế công cộng

Mã số: 9 72 07 01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y TẾ CÔNG CỘNG

Hà Nội - 2022

**CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU NÀY ĐƯỢC HOÀN THÀNH
TẠI VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG**

Người hướng dẫn khoa học:

1. TS. Trần Huy Hoàng
2. PGS. TS. Nguyễn Thị Thi Thơ

Phản biện 1: PGS. TS. Nguyễn Thanh Hương
Đại học Y tế công cộng

Phản biện 2: PGS. TS. Lê Thị Thanh Xuân
Đại học Y Hà Nội

Phản biện 3: PGS. TS. Đinh Đoàn Long
Trường Đại học Y dược, Đại học Quốc
gia Hà Nội

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án cấp
Viện họp tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.
Vào hồi 9 giờ, ngày 16 tháng 12 năm 2022.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Quốc gia
2. Thư viện Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương

DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Phuong Thi Lan NGUYEN, TRAN Thi Mai Hung, TRAN Hai Anh, PHAM Duy Thai, LUONG Minh Tan, NGUYEN Ha Thanh, NGUYEN Thi Phuong Lien, NGUYEN Thi Thi Tho, HOANG Thi An Ha, Chi NGUYEN, TRAN Nhu Duong, DANG Duc Anh, Masato SUZUKI, LE Viet Thanh, Anne-Laure BAÑULS, Marc CHOISY, H. Rogier VAN DOORN and TRAN Huy Hoang (2022), “Carriage of *Plasmid-Mediated Colistin Resistance-1*-positive *Escherichia coli* in humans, animals and environment on farms in Vietnam”, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 107(1): p. 65-71
2. Nguyễn Thị Lan Phương, Trần Thị Mai Hưng, Lương Minh Tân, Phạm Duy Thái, Khương Thị Tâm, Nguyễn Thị Minh, Phạm Thị Thanh Duyên, Nguyễn Thị Phương Liên, Nguyễn Trần Hiền, Đặng Đức Anh, Nguyễn Thị Thi Thơ, Trần Huy Hoàng (2022), “Kiến thức, thái độ và thực hành liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi tại xã Yên Nam, tỉnh Hà Nam, 2019”, *Tạp chí Y học dự phòng*. Tập 32, số 3 - 2022.
3. Phuong Thi Lan NGUYEN, Thi Hong Hanh NGO, Thi Mai Hung TRAN, Thi Ngoc Bich VU, Viet Thanh LE, Hai Anh TRAN, Duy Thai PHAM, Ha Thanh NGUYEN, Dieu Linh TRAN, Thi Phuong Lien NGUYEN, Thi Thi Tho NGUYEN, Nhu Duong TRAN, Duc Anh DANG, Anne-Laure BAÑULS, Marc CHOISY, H. Rogier VAN DOORN, Masato SUZUKI and Huy Hoang TRAN (2022), “Genomic epidemiological analysis of *mcr-1*-harboring *Escherichia coli* collected from livestock settings in Vietnam”, *Frontiers in Veterinary Science*. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1034610>
4. Nguyễn Thị Lan Phương, Trần Thị Mai Hưng, Lương Minh Tân, Phạm Duy Thái, Khương Thị Tâm, Nguyễn Thị Minh, Phạm Thị Thanh Duyên, Nguyễn Thị Phương Liên, Nguyễn Trần Hiền, Đặng Đức Anh, Nguyễn Thị Thi Thơ, Trần Huy Hoàng (2022), “Mối liên quan giữa kiến thức - thái độ - thực hành với đặc điểm hoạt động chăn nuôi và tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* kháng kháng sinh ở người chăn nuôi tại xã Yên Nam, tỉnh Hà Nam, 2019”, *Tạp chí Y học dự phòng*. Tập 32, số 7 - 2022.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Kháng kháng sinh được coi là vấn đề sức khỏe lớn nhất của loài người trong thế kỷ 21. Sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi góp phần quan trọng vào tình trạng kháng kháng sinh trên người khi vi khuẩn kháng kháng sinh ô nhiễm thực phẩm và môi trường rồi lây sang người [14, 24].

Gen kháng colistin qua trung gian plasmid (*mcr-1*) tạo cho vi khuẩn khả năng đề kháng lại colistin là kháng sinh cuối cùng để điều trị cho các trường hợp nhiễm khuẩn gram âm kháng carbapenem – loại kháng sinh thuộc nhóm lựa chọn cuối cùng trong điều trị nhiễm khuẩn kháng thuốc. Sự xuất hiện của gen *mcr-1* dẫn tới nguy cơ không còn kháng sinh nào có thể điều trị được nhiễm khuẩn gram âm cho người và đây thực sự là cơn ác mộng đối với y tế toàn cầu. Hầu hết các chủng vi khuẩn mang gen *mcr-1* trên người ghi nhận được là *E. coli* [12, 23].

Colistin là kháng sinh được sử dụng rất rộng rãi trong chăn nuôi nhưng sử dụng hạn chế trong lâm sàng nên gen *mcr-1* được cho là có nguồn gốc từ động vật và lây lan sang người. Ở Việt Nam, colistin là một trị liệu phổ biến trong chăn nuôi trong nhiều thập kỷ qua [16] nhưng nghiên cứu về kháng colistin chủ yếu được thực hiện trong bệnh viện hoặc trong chăn nuôi, dữ liệu về kháng kháng sinh trong cộng đồng và về mối liên quan của vi khuẩn kháng kháng sinh giữa người và chăn nuôi còn rất hạn chế.

Nghiên cứu này được thực hiện để góp phần trả lời câu hỏi về tình trạng nhiễm vi khuẩn mang gen *mcr-1* đề kháng colistin ở người chăn nuôi, ở vật nuôi trong cộng đồng ở Việt Nam hiện nay như thế nào và có hay không sự lây lan của vi khuẩn gen *mcr-1* đề

kháng colistin giữa người và vật nuôi trong môi trường chăn nuôi hay không.

Mục tiêu nghiên cứu

1. Mô tả tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1* ở người chăn nuôi, vật nuôi và môi trường trong trang trại tại xã Yên Nam, tỉnh Hà Nam, 2019.
2. Xác định một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1* ở người chăn nuôi trong trang trại tại xã Yên Nam, tỉnh Hà Nam.
3. Phân tích mối liên hệ về kiểu gen của các chủng *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1* giữa người, vật nuôi và môi trường trong trang trại tại xã Yên Nam, tỉnh Hà Nam.

Những điểm mới về khoa học và giá trị thực tiễn của đề tài

Nghiên cứu này là một trong số rất ít nghiên cứu tại Việt Nam áp dụng hướng tiếp cận Một sức khỏe, cung cấp dữ liệu về tình trạng nhiễm vi khuẩn KKS trên các nhóm đối tượng khác nhau trong môi trường chăn nuôi. Kế hoạch hành động toàn cầu về Kháng kháng sinh do Tổ chức Y tế thế giới công bố năm 2015 cũng nhấn mạnh hiệu quả của Tiếp cận Một sức khỏe trong điều phối các cấu phần khác nhau của vấn đề KKS như y tế, thú y, nông nghiệp, tài chính, môi trường.

Nghiên cứu cũng đã mô tả một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm và thực hành sử dụng KS trong chăn nuôi, là cơ sở cho các can thiệp hoặc nghiên cứu đánh giá hiệu quả can thiệp nhằm hạn chế tình trạng KKS trong chăn nuôi nói chung và cho người làm chăn nuôi nói riêng, đáp ứng mục tiêu số 3 và số 4 của Kế hoạch hành động toàn cầu về KKS.

Nghiên cứu đã ứng dụng các kỹ thuật hiện đại nhất hiện nay để nghiên cứu sự lan truyền của gen kháng thuốc thông qua phân tích mối liên hệ về kiểu gen giữa các chủng vi khuẩn mang gen kháng thu được từ các loại mẫu khác nhau. Mối liên hệ về kiểu gen của các chủng thu thập trên ruồi và trên các loại mẫu khác cũng cố thêm vai trò tiềm tàng của ruồi trong lây truyền vi khuẩn kháng kháng sinh trong môi trường chăn nuôi. Đây là những dữ liệu quan trọng, bổ sung cho các kết quả nghiên cứu dịch tễ học truyền thống, tạo nên một “bức tranh” toàn diện về sự lây lan của vi khuẩn kháng sinh giữa người và vật nuôi và thông qua thực phẩm, nước và môi trường, làm cơ sở cho xây dựng phát triển chính sách phòng chống kháng kháng sinh. Dữ liệu về sự lây lan của KKS giữa người và vật nuôi và thông qua thực phẩm, nước và môi trường, làm cơ sở cho xây dựng phát triển chính sách và các quy định là một nội dung quan trọng thuộc mục tiêu số 2 của Kế hoạch hành động toàn cầu về KKS.

CẤU TRÚC CỦA LUẬN ÁN

Luận án gồm 124 trang không kể tài liệu tham khảo và phụ lục, có 28 bảng, 7 hình và 15 sơ đồ/biểu đồ. Mở đầu 2 trang. Tổng quan 38 trang; đối tượng và phương pháp nghiên cứu 20 trang; kết quả nghiên cứu 40 trang; bàn luận 20 trang; kết luận 2 trang và khuyến nghị 1 trang.

Chương 1. TỔNG QUAN

1.1 MỘT SỐ KHÁI NIỆM

Escherichia coli (*E. coli*) là loài vi khuẩn hội sinh trong đường ruột của động vật có vú và cũng là một tác nhân quan trọng trong các nhiễm khuẩn qua thực phẩm và nhiễm khuẩn kháng kháng sinh.

Kháng sinh (KS) là chất được chiết xuất từ vi sinh vật hoặc được tổng hợp hóa học, với liều rất nhỏ có tác dụng ức chế hoặc giết chết vi sinh vật, có thể dùng tại chỗ hoặc toàn thân, ít độc hoặc không độc cho cơ thể.

Kháng kháng sinh (KKS) là hiện tượng vi khuẩn vẫn phát triển trong môi trường có KS. KKS xảy ra nhờ quá trình tiến hoá và chọn lọc tự nhiên, vi khuẩn từ không trở nên có gen đề kháng và kháng lại KS.

1.2 TÌNH HÌNH *E. COLI* MANG GEN *MCR-1* KHÁNG KHÁNG SINH TRÊN THẾ GIỚI VÀ TẠI VIỆT NAM

Gen Plasmid-Mediated Colistin Resistance *mcr-1* được phát hiện đầu tiên vào năm 2015 trên chủng *E. coli* phân lập từ mẫu động vật nuôi lấy thịt và mẫu thịt sống tại Trung Quốc. Cho tới nay thế giới đã ghi nhận nhiều loại trình tự của *E. coli* mang gen kháng *mcr-1* và các biến thể của nó trên toàn bộ 5 Châu lục và trên người, trên động vật và trong môi trường, theo Shaqiu Zhang và các cộng sự. Số liệu từ các nước cho thấy gen này đã hình thành khá lâu trước khi bị phát hiện lần đầu năm 2015.

Theo công bố của Phạm Thanh Duy năm 2016, Việt Nam là nước mà gen *mcr-1* xuất hiện trên người sớm nhất tính đến thời điểm này khi nó được tìm thấy trên 1 chủng thu thập từ năm 2008. Đến nay, nhiều nghiên cứu đã báo cáo gen này trong bệnh

viện, trong cộng đồng và trong chăn nuôi tại nhiều tỉnh thành trên cả nước. Tuy nhiên trong khi dữ liệu về KKS trong bệnh viện và chăn nuôi khá phong phú thì dữ liệu trong cộng đồng và về mối liên quan của vi khuẩn KKS giữa người và chăn nuôi còn rất hạn chế.

1.3 CÁC YẾU TỐ LIÊN QUAN CỦA KHÁNG KHÁNG SINH

1.3.1. Mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh và kháng kháng sinh

Theo Bộ Y tế, việc sử dụng KS trong lâm sàng, trong cộng đồng và trong chăn nuôi một cách rộng rãi và không hợp lý là yếu tố trực tiếp kích thích vi khuẩn, tạo ra các đột biến KKS.

KKS bắt đầu được phát hiện tại bệnh viện, nơi KS được sử dụng nhiều nhất, theo Stuart B Levy năm 2004. Trong cộng đồng, tự điều trị là một thực hành phổ biến đặc biệt ở các nước đang phát triển như Việt Nam, dẫn đến thực trạng sử dụng KS không phù hợp trong cộng đồng.

Trong chăn nuôi, KS không chỉ được dùng để điều trị các nhiễm khuẩn cho vật nuôi mà còn được sử dụng để kích thích tăng trưởng và phòng ngừa bệnh tật bằng cách bổ sung vào thức ăn chăn nuôi. Theo Anthony Bogaard, việc sử dụng KS trong chăn nuôi đã gây ra hiện tượng KKS trên vật nuôi. Nhiều báo cáo cho thấy hiện nay việc sử dụng KS trong chăn nuôi ở nước ta còn chưa được giám sát chặt chẽ và có thể mua được dễ dàng từ các quầy thuốc thú y. Do nguy cơ lây truyền của vi khuẩn kháng thuốc từ vật nuôi sang người, tiếp xúc với hoạt động chăn nuôi là một yếu tố nguy cơ của KKS trên người.

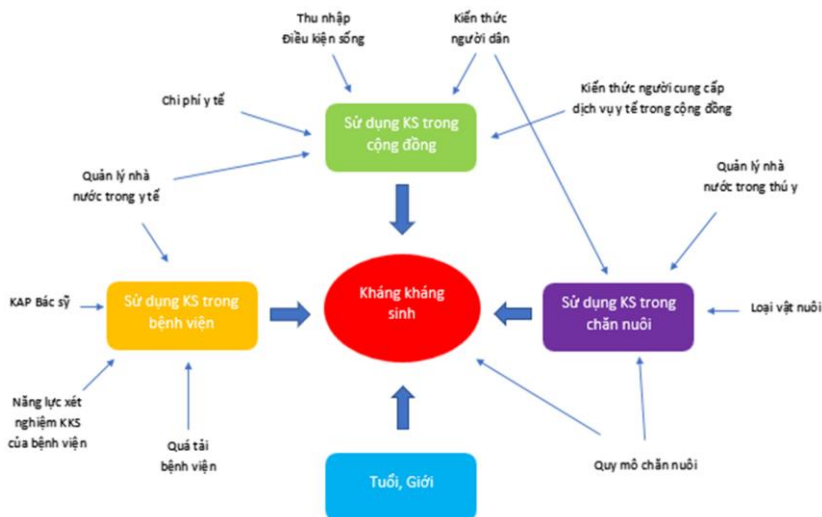
1.3.2. Một số yếu tố liên quan đến thực hành sử dụng kháng sinh cho người và cho chăn nuôi

Có nhiều yếu tố liên quan đến thực hành sử dụng KS cho người và cho chăn nuôi như:

- Các yếu tố nhân khẩu học như trình độ học vấn, điều kiện sống
- Kiến thức của người dân, Kiến thức và thực hành của bác sỹ trong bệnh viện, Kiến thức và thực hành của nhà cung cấp dịch vụ y tế trong cộng đồng như trạm y tế xã, phòng khám tư, nhà thuốc.
- Đặc điểm của hoạt động chăn nuôi như quy mô chăn nuôi, loại vật nuôi.
- Các yếu tố của hệ thống y tế và thú y như chi phí dành cho y tế, quản lý nhà nước trong lĩnh vực y tế và thú y, năng lực xét nghiệm KKS, quá tải bệnh viện.

1.3.3. Một số yếu tố khác liên quan đến kháng kháng sinh trên người

Ngoài thực hành sử dụng KS, một số nghiên cứu đã báo cáo mối liên quan của tuổi và giới tính đến KKS trên người.



Hình 1.3. Khung lý thuyết về các yếu tố liên quan đến KKS

1.4 SỰ LAN TRUYỀN CỦA VI KHUẨN KHÁNG KHÁNG SINH

Gen đề kháng có khả năng truyền dọc qua các thế hệ tế bào vi khuẩn, hoặc truyền ngang từ vi khuẩn này sang vi khuẩn khác thông qua các hình thức vận chuyển di truyền. Trong các cơ chế truyền gen ngang của vi khuẩn, tiếp hợp là cơ chế phổ biến nhất và được mã hóa bởi plasmid hoặc transposon. Nhờ cơ chế lan truyền này gen KKS có thể lây lan giữa các nguồn, giữa các vật chủ với nhau. Các nghiên cứu đã cho thấy có sự lan truyền của gen KKS trong bệnh viện, từ bệnh viện ra cộng đồng và ngược lại hay từ động vật sang người.

Chương 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 MỤC TIÊU 1 VÀ 2

2.1.1 Đối tượng nghiên cứu

Các đối tượng khác nhau trong trang trại như người làm chăn nuôi, phân gà, phân lợn, phân chó, ruồi và nước thải.

2.1.2 Địa điểm nghiên cứu: Xã Yên Nam, huyện Duy Tiên, tỉnh Hà Nam và trong phòng thí nghiệm Kháng kháng sinh của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương

2.1.3 Thời gian nghiên cứu: 6/2019 – 5/2021

2.1.4 Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang

2.1.5 Cơ mẫu và chọn mẫu:

Chọn toàn bộ những người làm công việc chăn nuôi trong các trang trại gà và lợn trên địa bàn nghiên cứu đạt tiêu chuẩn lựa chọn và không có các tiêu chuẩn loại trừ. Thực tế thu tuyển được 70 trang trại với 139 người chăn nuôi. Mỗi người chăn nuôi cung cấp 1 mẫu phân.

Từ mỗi trang trại, chọn ngẫu nhiên 3 mẫu phân gà, 4 mẫu phân lợn, 1 mẫu phân chó, 2 mẫu ruồi và 1 mẫu nước thải. Thực tế thu thập được 193 mẫu phân gà, 80 mẫu phân lợn, 51 mẫu phân chó, 109 mẫu ruồi và 67 mẫu nước thải.

2.1.6 Phương pháp và công cụ thu thập thông tin: Phỏng vấn người chăn nuôi bằng bộ câu hỏi dựng sẵn, lấy các loại mẫu và xét nghiệm phát hiện các chủng *E. coli* mang gen *mcr-1*.

2.1.7 Biến số và chỉ số: Đặc điểm của đối tượng, đặc điểm hoạt động chăn nuôi, tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên các loại mẫu, kiến thức - thái độ - thực hành liên quan đến KS và KKS trong chăn nuôi.

2.1.8 Quản lý, phân tích số liệu: Số liệu được nhập và quản lý bằng phần mềm Epidata 3.1. Xử lý và phân tích bằng phần mềm STATA 16.0. Sử dụng các phương pháp thống kê y sinh học với mức ý nghĩa 0,05.

4.2. MỤC TIÊU 3

2.2.1 Đối tượng nghiên cứu: 49 chủng vi khuẩn *E. coli* mang gen kháng *mcr-1* phân lập được từ mục tiêu 1.

2.2.2 Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm Kháng kháng sinh của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

2.2.3 Thời gian nghiên cứu: 5/2021 – 6/2022

2.2.4 Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang

2.2.5 Cơ mẫu và chọn mẫu: Lựa chọn có chủ đích các chủng thu được từ trong cùng một trang trại hoặc các trang trại gần nhau với giả thuyết rằng các chủng thu từ các vị trí gần nhau sẽ có sự liên quan về kiểu gen.

2.2.6 Phương pháp và công cụ thu thập thông tin: Giải trình tự toàn bộ hệ gen của vi khuẩn bằng kit Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina).

2.2.7 Biến số và chỉ số: loại trình tự (ST) của vi khuẩn, loại plasmid mang gen *mcr-1*.

2.2.8 Quản lý, phân tích số liệu: Các phần mềm tin sinh học.

4.3. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học phê duyệt trước khi triển khai. Nghiên cứu đã tuân thủ đầy đủ các nội dung liên quan đến khía cạnh đạo đức của đề cương nghiên cứu đã được phê duyệt như tính tự nguyện, tính bảo mật và khuyết danh.

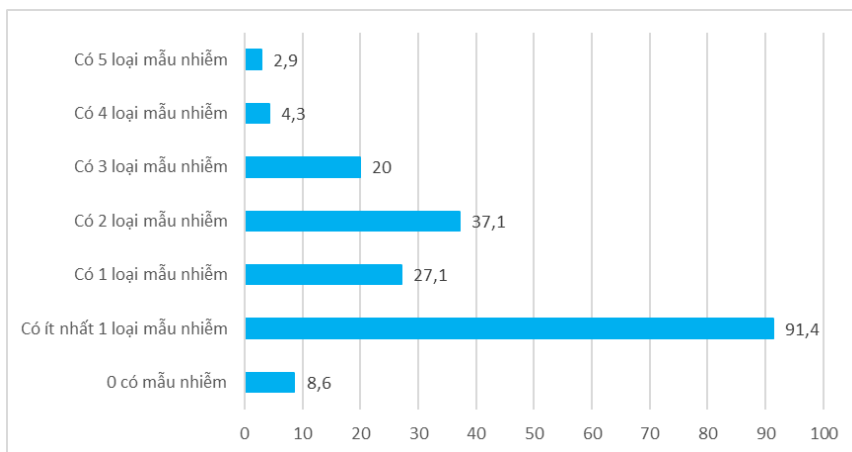
Chương 3. KẾT QUẢ

3.1 TÌNH TRẠNG NHIỄM *E. COLI* MANG GEN KHÁNG KHÁNG SINH *MCR-1*

Bảng 3.4. Tỷ lệ mẫu nhiễm gen *mcr-1* và nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* (N = 139)

Loại mẫu	Số mẫu thu được	Mẫu có chủng mang gen <i>mcr-1</i>		Mẫu có <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> thu thập được	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Phân người	139	20	14,4	20	14,39
Phân gà	193	99	51,3	96	49,74
Phân lợn	80	25	31,3	25	31,25
Phân chó	51	3	5,9	2	3,92
Ruồi	109	49	45,0	40	36,7
Nước thải	67	19	28,4	18	26,87
Tổng	639	215	33,6	201	31,5

Tổng số mẫu có chủng có kết quả PCR khẳng định sự có mặt của gen *mcr-1* là 215 chiếm 33,6% tổng số mẫu thu được. Tỷ lệ này trên mẫu phân gà là cao nhất (51,3%) sau đó tới mẫu ruồi (45,0%), thấp nhất là ở mẫu phân chó (5,9%). Ở người, 14,4% số mẫu thu được có mang gen *mcr-1*. Kết quả định danh vi khuẩn cho thấy *E. coli* chiếm đa số trong các chủng thu được. Trong số 639 mẫu thu được có một phần ba (31,5%) mẫu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1*. Xét theo từng loại mẫu thì thứ hạng tỷ lệ giống như tỷ lệ mẫu mang gen *mcr-1* với tỷ lệ cao nhất ở phân gà và thấp nhất ở phân chó. Ở người, 100% số mẫu mang gen *mcr-1* đều là *E. coli*. Nghiên cứu thu được 330 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1*.



Biểu đồ 3.9. Tỷ lệ trang trại nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* (N = 70) không phân biệt loại mẫu

Ở quy mô trang trại, có tới 91,4% số trang trại có ít nhất 1 loại mẫu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1*, gần 70% có từ 2 loại mẫu nhiễm trở lên.

3.2 MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN ĐẾN TÌNH TRẠNG NHIỄM Ở NGƯỜI CHĂN NUÔI

3.2.1. Đặc điểm nhân khẩu học và hoạt động chăn nuôi

Bảng 3.9. Kết quả phân tích đa biến mỗi liên quan giữa một số yếu tố nhân khẩu học và hoạt động chăn nuôi tới tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người (N = 139)

Đặc điểm	Nhiễm		Không nhiễm		aOR (KTC 95%, p)
	n	%	n	%	
Nhóm tuổi					
18 - 40	4	16,0	21	84,0	2,2 (0,4 - 11,8, p = 0,36)
41 - 50	4	10,3	35	89,7	1,2 (0,2 - 6,3, p = 0,81)
51 - 60	3	7,5	37	92,5	1

> 60	9	25,7	26	74,3	5,1 (1,2 – 22,5, p = 0,03)
Tổng ĐVVN					1,05 (1,01 – 1,09, p = 0,01)
Tình trạng nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> trên ruồi					
Nhiễm	14	21,5	51	78,5	3,4 (1,1 – 10,0, p = 0,03)
Không nhiễm	6	8,1	68	91,9	

Các yếu tố nhân khẩu học (nhóm tuổi) và đặc điểm của hoạt động chăn nuôi (Tổng đơn vị vật nuôi, tình trạng nhiễm trên ruồi) có kết quả phân tích đơn biến có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$) được đưa vào mô hình phân tích đa biến để xác định mối liên quan với tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người. Kết quả vẫn khẳng định mối liên quan có ý nghĩa thống kê của các yếu tố này với tình trạng nhiễm trên người.

Bảng 3.10. Mối liên quan giữa tình trạng nhiễm trên các loại mẫu khác với tình trạng nhiễm trên ruồi

Tình trạng nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> trên các loại mẫu khác		Tình trạng nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> trên ruồi				OR (KTC 95%, p)
		Nhiễm		Không nhiễm		
		n	%	n	%	
Phân gà	Nhiễm	28	53,8	24	46,2	5,3 (1,03 - 26,7, p = 0,05)
	Không nhiễm	2	18,2	9	81,8	
Phân lợn	Nhiễm	9	69,2	4	30,8	9,0 (1,3 - 63,0, p = 0,03)
	Không nhiễm	2	20,0	8	80,0	
Phân chó	Nhiễm	1	50,0	1	50,0	1,1 (0,1 - 19,3, p = 0,93)
	Không nhiễm	22	46,8	25	53,2	
Nước	Nhiễm	9	52,9	8	47,1	1,4 (0,5 - 4,2, p = 0,56)

thải	Không nhiễm	21	44,7	26	55,3
------	----------------	----	------	----	------

Nghiên cứu không xác định được mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng nhiễm trên các đối tượng nghiên cứu khác (gồm gà, lợn, chó, nước thải) với tình trạng nhiễm trên người. Tuy nhiên nghiên cứu đã xác định được mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng nhiễm trên ruồi với tình trạng nhiễm trên gà (OR = 5,3) và trên lợn (OR = 9).

3.2.2. Kiến thức - Thái độ - Thực hành

Từ kết quả phân tích đơn biến, nghiên cứu đã xây dựng 3 mô hình phân tích đa biến khác nhau gồm các biến số kiến thức và thái độ có kết quả phân tích đơn biến $p \leq 0,2$ và các biến số thực hành vì có liên quan về mặt logic đến việc nhiễm vi khuẩn kháng thuốc là các biến số thực hành. Để tránh ảnh hưởng lẫn nhau dẫn tới sai lệch kết quả, mỗi mô hình đa biến chỉ bao gồm 1 biến số thực hành.

Bảng 3.14 (Trích). Kết quả phân tích đa biến mối liên quan giữa một số yếu tố kiến thức, thái độ, thực hành với tình trạng nhiễm (N = 139)

Yếu tố	Mô hình 1: aOR (KTC 95%), p	Mô hình 2: aOR (KTC 95%), p	Mô hình 3: aOR (KTC 95%), p
Thái độ về khả năng xảy ra KKS trong chăn nuôi			
Thái độ đúng	0,17 (0,05 - 0,61), 0,007	0,18 (0,05-0,66), 0,01	0,16 (0,04 - 0,59), 0,006
Thái độ sai/Không chắc chắn			

Kết quả phân tích đa biến từ cả 3 mô hình cho thấy mối liên quan của biến Kiến thức về dùng KS trước khi xuất chuồng khi phân tích đơn biến không còn nữa. Tuy nhiên mối liên quan của

biến Thái độ về khả năng xảy ra KKS trong chăn nuôi thì vẫn còn: người có thái độ đúng về vấn đề này có khả năng nhiễm thấp hơn 82% cho tới 84% so với người có thái độ chưa đúng (OR giao động từ 0,16 tới 0,18).

3.2.3. Một số yếu tố liên quan đến thực hành sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi

a. Thu nhập:

- Nhóm có thu nhập bình quân đầu người dưới 1 triệu đồng/tháng có khả năng sử dụng KS trong chăn nuôi cao gấp 3,19 lần so với nhóm thu nhập từ trên 1 triệu đồng/tháng (OR = 3,19, 95% KTC = 1,03 – 9,83, p = 0,044) (Bảng 3.15).

- Nhóm có thu nhập bình quân đầu người dưới 1 triệu đồng/tháng có khả năng sử dụng KS trong chăn nuôi theo hướng dẫn của cán bộ thú y cao gấp 2,65 lần so với nhóm thu nhập từ trên 1 triệu đồng/tháng (OR = 2,65, KTC 95%: 1,03 – 6,84, p = 0,04) (Bảng 3.17).

b. Đặc điểm hoạt động chăn nuôi

- Nhóm ở trang trại chỉ nuôi gà có khả năng sử dụng KS cao gấp gần 32 lần so với nhóm ở trang trại chỉ nuôi lợn (OR = 31,9, 95% KTC: 3,7 – 278,0, p = 0,002) trong khi nhóm ở trang trại nuôi cả gà và lợn có khả năng sử dụng KS chỉ gấp 12,6 lần (OR = 12,6, 95% KTC: 1,4 – 112,4, p = 0,02) (Bảng 3.18).

- Nhóm ở trang trại nhỏ và vừa có khả năng sử dụng KS gấp 11,3 lần so với nhóm nông hộ (OR = 11,3, 95% KTC: 2,6 – 49,7, p = 0,001) (Bảng 3.18).

- Nhóm ở trang trại nhỏ và vừa có khả năng sử dụng KS theo kinh nghiệm cá nhân gấp 2,9 lần so với nhóm nông hộ (OR = 2,9, 95% KTC: 1,1 – 7,5, p = 0,03) (Bảng 3.21).

c. Kiến thức và Thái độ

- Tầng 01 điểm kiến thức có thể làm tăng khả năng sử dụng KS theo đúng nguồn hướng dẫn lên 92% (OR = 1,92, KTC 95%: 1,10 – 3,35, p = 0,02) (Bảng 3.23).

- Nhóm có thái độ chưa tốt có khả năng sử dụng KS trong chăn nuôi cao gấp 3,44 lần so với nhóm có thái độ tốt (OR = 3,44, KTC 95%: 1,56 – 7,61, p = 0,002) (Bảng 3.24)

3.3 MỐI LIÊN HỆ VỀ KIỂU GEN CỦA CÁC CHỦNG *E. COLI* MANG GEN KHÁNG KHÁNG SINH *MCR-1*

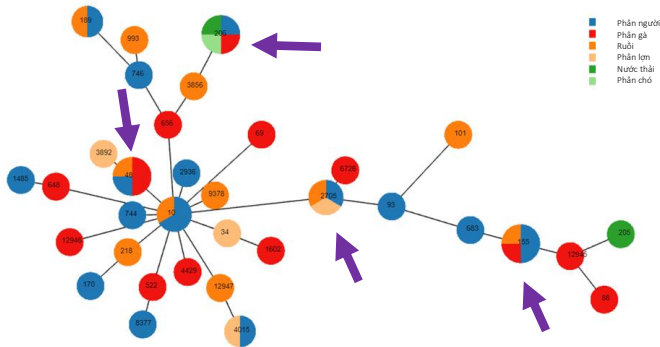
Nghiên cứu thực hiện giải trình tự toàn bộ hệ gen của 49 trong số 330 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* thu được nhằm nghiên cứu đặc điểm kiểu gen và mối liên hệ của các chủng. Kết quả có 34 loại ST khác nhau được xác định. Có 7 loại ST được ghi nhận ở nhiều hơn 1 chủng là ST189, ST4015, ST10, ST2705, ST48, ST155, ST206. Ghi nhận một số ST xuất hiện ở nhiều loại mẫu khác nhau, cho thấy giữa chúng có mối liên hệ về mặt di truyền.

Bảng 3.27. Một số loại trình tự (ST) xuất hiện ở nhiều loại mẫu khác nhau

ST	Phân người	Phân gà	Phân lợn	Phân chó	Ruồi	Nước thải
ST10	2				1	
ST48	1	2			1	
ST155	2	1			1	
ST189	1				1	
ST206	1	1		1		1
ST2705	1		1		1	
ST4015	1		1			

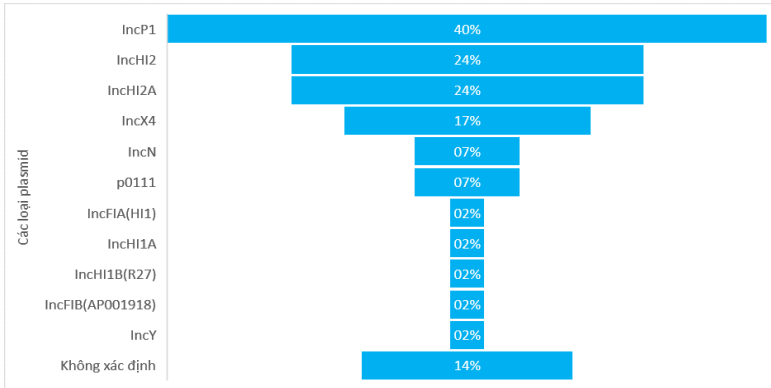
Chú giải: Số lượng ở các cột loại mẫu thể hiện số lượng chủng

Có 5 ST xuất hiện đồng thời trên mẫu phân người và mẫu ruồi, trong số đó ST48, ST155 và ST2705 xuất hiện ở trên cả các mẫu phân vật nuôi là gà hay lợn, cho thấy có mối liên hệ về kiểu gen giữa các chủng thu thập từ các nguồn khác nhau là người, gà/lợn và ruồi (Biểu đồ 3.12). Cây phân loại kiểu gen của 49 chủng cũng cho thấy sự gần gũi về mặt di truyền giữa các chủng thu được từ các nguồn khác nhau như ST2705, ST155, ST206, ST48 từ phân người, phân gà và ruồi.



Biểu đồ 3.12. Biểu đồ mối liên hệ ST của các chủng nghiên cứu (N = 49)

Trong số 49 chủng, chỉ có 7 chủng là gen *mcr-1* nằm trên nhiễm sắc thể (chromosome) còn 42 chủng gen nằm trên plasmid – một thành phần của tế bào vi khuẩn, có khả năng vận chuyển ADN từ tế bào này sang tế bào khác thông qua hiện tượng truyền gen ngang. Có một số loại plasmid chiếm ưu thế là IncP1, IncHI2 và IncHI2A. Nhiều loại plasmid được đồng thời ghi nhận ở nhiều loại mẫu khác nhau như plasmid IncP1, IncX4, cặp plasmid IncHI2-IncHI2A.



Biểu đồ 3.14. Tỷ lệ các loại plasmid của *E. coli* mang gen *mcr-1* xác định được trong nghiên cứu (N = 49)

Gen *mcr-1* cũng được ghi nhận nằm trên cùng 1 loại plasmid trong các chủng *E. coli* có cùng ST thu được từ các loại mẫu khác nhau như: plasmid IncHI2 và IncHI2A được ghi nhận trên các chủng có ST2705, plasmid IncP1 được ghi nhận trên các chủng có ST155, ST10 và ST48. Phân tích cấu trúc đoạn gen mang gen kháng *mcr-1* có 3 chủng mang đoạn gen chứa trình tự đầy đủ của transposon *Tn6330* giúp cho gen này có khả năng nhảy vào bất kỳ chromosome hay plasmid nào khác.

Chương 4. BÀN LUẬN

4.1. TÌNH TRẠNG NHIỄM *E. COLI* MANG GEN KHÁNG KHÁNG SINH *MCR-1*

Đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam cung cấp số liệu một cách toàn diện về tình hình *E. coli* mang gen *mcr-1* KKS colistin trong môi trường chăn nuôi.

Tỷ lệ nhiễm gen *mcr-1* và *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người trong nghiên cứu của chúng tôi tương đối thấp hơn so với tỷ lệ 20,6% được ghi nhận trong nghiên cứu tại Tiền Giang năm 2012 – 2013 và tỷ lệ 88% trong nghiên cứu cũng tại Hà Nam năm 2014 – 2015. Tuy nhiên, tỷ lệ nhiễm gen *mcr-1* trên mẫu phân gà lại cao gấp đôi so với tỷ lệ ghi nhận được trong nghiên cứu tại khu vực đồng bằng sông Cửu Long năm 2013 – 2014 (22,2%) nhưng khá tương đồng với kết quả trong nghiên cứu tại Tiền Giang với 59,4%. Ở lợn, tỷ lệ mẫu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* tương đối cao so với tỷ lệ xác định được ở các tỉnh khu vực đồng bằng sông Cửu Long năm 2013 – 2014 khi thu được 33 chủng mang gen *mcr-1* thì 97% trong số đó là *E. coli*. Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam cung cấp dữ liệu về tình trạng KKS ở chó và ruồi – những đối tượng có khả năng trở thành vật lan truyền vi khuẩn kháng thuốc trong môi trường chăn nuôi.

Ở quy mô trang trại, có tới 91,4% số trang trại có mẫu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1*, đây là một tỷ lệ đáng báo động. Số trang trại có từ 2 loại mẫu nhiễm trở lên lên tới 64,3% cho thấy có khả năng *E. coli* mang gen *mcr-1* lây lan từ đối tượng này sang đối tượng khác.

4.2. MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN ĐẾN TÌNH TRẠNG NHIỄM Ở NGƯỜI CHĂN NUÔI

4.2.1. Đặc điểm nhân khẩu học và hoạt động chăn nuôi

Nghiên cứu ghi nhận mối liên quan của yếu tố tuổi là yếu tố đã được báo cáo trong một số nghiên cứu trước đây trên thế giới cũng như tại Việt Nam.

Kết quả phân tích đơn biến cho thấy có mối liên quan giữa tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* ở người chăn nuôi với quy mô trang trại. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu tại Thái Lan công bố năm 2017 và 2020 và Ecuador năm 2016 khi xác định được tỷ lệ nhiễm vi khuẩn kháng thuốc cao hơn ở các trang trại có quy mô lớn hơn. Nguyên nhân có thể do thực hành sử dụng KS khác nhau ở các quy mô chăn nuôi khác nhau nên dẫn đến tình trạng KKS khác nhau.

Chúng tôi không xác định được mối liên quan trực tiếp giữa tình trạng nhiễm trên người với trên trên các loại vật nuôi tiêu thụ KS là gà và lợn. Tuy nhiên chúng tôi xác định được mối liên quan bắc cầu giữa tình trạng nhiễm trên các loại vật này với tình trạng nhiễm trên người qua trung gian là ruồi. Những kết quả này gợi ý rằng ruồi có vai trò nào đó trong sự lây lan của vi khuẩn kháng thuốc giữa người và gà hay lợn.

4.2.2. Kiến thức - Thái độ - Thực hành

Nhận thức có vai trò quan trọng trong phòng chống KKS, vì vậy mà Tổ chức y tế thế giới đã đưa nâng cao nhận thức và hiểu biết về KKS thông qua truyền thông, giáo dục và đào tạo là mục tiêu đầu tiên trong 5 mục tiêu của Kế hoạch hành động toàn cầu về Kháng kháng sinh. Kết quả phân tích đa biến theo cả 3 mô hình khẳng định mối liên quan của thái độ tốt với việc giảm

nguy cơ nhiễm, cụ thể là những người cho rằng KKS có xảy ra trong chăn nuôi có khả năng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* thấp hơn so với những người không cho rằng KKS có thể xảy ra trong chăn nuôi.

Hầu hết các nghiên cứu KAP trong lĩnh vực KKS đều nghiên cứu thực trạng Kiến thức - Thái độ - Thực hành về KS và KKS và mối liên quan giữa Kiến thức và Thái độ tới Thực hành, chúng tôi chưa biết tới nghiên cứu nào khác đánh giá mối liên quan trực tiếp giữa Kiến thức, Thái độ, tới tình trạng nhiễm vi khuẩn KKS ở người. Chúng tôi cho rằng đây là nghiên cứu đầu tiên xác định được mối liên quan giữa Kiến thức và Thái độ với tình trạng nhiễm.

4.2.3. Một số yếu tố liên quan đến thực hành sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi

a. Thu nhập: Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nhóm có thu nhập cao hơn có xu hướng ít sử dụng KS hơn nhóm thu nhập thấp hơn nhưng nhóm này lại có xu hướng sử dụng KS theo hướng dẫn của bác sỹ thú y thấp hơn, ngược lại với kết quả nghiên cứu tại Trung Quốc của Jingyi Xu. Thu nhập có mối liên quan chưa rõ ràng tới thực hành sử dụng KS trong chăn nuôi và có thể cần có những nghiên cứu thêm về vai trò của yếu tố này.

b. Đặc điểm hoạt động chăn nuôi:

Các kết quả cho thấy đặc điểm hoạt động chăn nuôi có mối liên quan đến việc có hay không sử dụng KS trong chăn nuôi và cách thức người chăn nuôi sử dụng KS, nhưng không có mối liên quan đến mục đích sử dụng KS. Theo Ulf Magnusson, áp lực phải duy trì sức khỏe của đàn để tạo ra sản lượng cao hơn

được cho là nguyên nhân của việc sử dụng nhiều KS hơn ở các trang trại chăn nuôi thương mại.

Quy mô chăn nuôi có khả năng làm tăng thực hành không tốt và làm giảm thực hành tốt trong sử dụng KS cho vật nuôi khi người chăn nuôi trong trang trại lớn hơn có xu hướng sử dụng KS theo kinh nghiệm cá nhân cao hơn theo hướng dẫn của cán bộ thú y, điều phù hợp với kết quả của Trung Quốc nhưng ngược lại với kết quả ở Thái Lan.

Gà là vật nuôi làm gia tăng khả năng sử dụng KS trong chăn nuôi khi các trang trại lợn có nuôi cả gà có xu hướng sử dụng KS gấp nhiều lần trang trại chỉ nuôi lợn hoặc hỗn hợp gà-lợn. Kết quả này phù hợp với khảo sát thực hiện tại 5 nước Châu Phi của Mark A Caudell báo cáo năm 2020.

c. Kiến thức và Thái độ: Mối liên quan giữa kiến thức và thái độ với thực hành sử dụng KS đã được báo cáo ở một số nghiên cứu trước đây. Kết quả nghiên cứu này cho thấy có mối liên quan thuận khi những người có kiến thức hoặc thái độ tốt hơn thì có các thực hành tốt hơn. Tuy nhiên chúng tôi chưa tìm thấy mối liên quan giữa yếu tố kiến thức và thái độ tới mục đích sử dụng KS trong chăn nuôi.

4.3. MỐI LIÊN HỆ VỀ KIỂU GEN CỦA CÁC CHỦNG *E. COLI* MANG GEN KHÁNG KHÁNG SINH *MCR-1*

Nhưng dữ liệu gen ghi nhận cùng 1 loại trình tự (ST) trên mẫu phân người và phân gà, phân lợn cũng như sự gần gũi về kiểu gen giữa các chủng thu được từ các nguồn này đã cho thấy các chủng từ người, gà và lợn có thể có chung nguồn gốc tức là có thể có sự lây lan của *E. coli* mang gen *mcr-1* giữa người - gà - lợn. Ở phần trước chúng tôi đã trình bày giả thuyết về vai trò của

ruồi trong việc lây lan các chủng vi khuẩn kháng thuốc từ các kết quả phân tích thống kê. Kết quả giải trình tự toàn bộ hệ gen cho thấy có nhiều ST được ghi nhận đồng thời trên mẫu ruồi và các loại mẫu khác nhau như phân người, phân lợn, phân gà cũng như sự tương đồng trong kiểu gen của các chủng thu được từ ruồi với các loại mẫu khác cũng có thêm giả thuyết về vai trò trung gian lây truyền vi khuẩn KKS giữa gà và lợn với người của ruồi.

Việc gen *mcr-1* được ghi nhận nằm trên cùng 1 loại plasmid trong các chủng *E. coli* có cùng ST thu được từ các loại mẫu khác nhau như cho thấy bằng chứng rõ hơn về mối liên hệ di truyền giữa các chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* kháng colistin ở các đối tượng khác nhau trong môi trường chăn nuôi mà trong đó ruồi là vật trung gian lây truyền. Plasmid IncP1 chiếm chủ đạo là một mối quan ngại lớn do plasmid này có khả năng mã hóa tính đa kháng, mang nhiều gen thích nghi, gen KKS và gen độc lực khác nhau để xâm nhập và ổn định trong vật chủ (tế bào vi khuẩn) mới, theo Magdalena Popowska. Việc ghi nhận cấu trúc đầy đủ của transposon *Tn6330* cũng là cảnh báo cho việc gen *mcr-1* có thể được truyền ngang sang các loài vi khuẩn khác không phải là *E. coli* trong trang trại cũng như trong cộng đồng.

KẾT LUẬN

1. Tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1*:

Tỷ lệ nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên 6 mẫu nghiên cứu giao động từ 3,9 đến 49,7% trong đó trên người là 14,4%. Tỷ lệ trên người tương đối thấp nhưng trên gà ở mức trung bình và trên lợn ở mức cao so với các nghiên cứu trước. Tỷ lệ nhiễm trên ruồi, chó lần đầu tiên được báo cáo ở Việt Nam.

2. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1* ở người chăn nuôi:

Các yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* ở người gồm: nhóm tuổi, quy mô chăn nuôi, tình trạng nhiễm trên ruồi, kiến thức và thái độ.

Không tìm thấy mối liên quan giữa tình trạng nhiễm với các yếu tố thực hành nhưng nghiên cứu xác định được một số yếu tố liên quan đến thực hành sử dụng KS gồm: kiến thức, thái độ, quy mô chăn nuôi và loại vật nuôi (gà).

3. Mối liên hệ về kiểu gen của các chủng *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1*

Có mối liên hệ về kiểu gen giữa các chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* khi gen *mcr-1* được ghi nhận nằm trên cùng 1 loại plasmid (IncP1, IncHI2, IncHI2A) trong các chủng *E. coli* có cùng ST (T10, ST48, ST155, ST189, ST206, ST2705) thu được từ các loại mẫu khác nhau.

Mối liên hệ về kiểu gen của các chủng thu thập trên ruồi và trên các loại mẫu khác củng cố thêm vai trò tiềm tàng của ruồi trong lây truyền vi khuẩn KKS trong môi trường chăn nuôi.

KHUYẾN NGHỊ

Từ các kết quả nghiên cứu, chúng tôi đưa ra các khuyến nghị sau:

- Đối với các cơ quan quản lý và các nhà nghiên cứu trong lĩnh vực y tế và thú y:
 - + Xây dựng chương trình giám sát *E. coli* kháng colistin tại Việt Nam, trên cả người và vật nuôi cũng như môi trường.
 - + Tăng cường nghiên cứu về tình hình KKS và các yếu tố liên quan trong cộng đồng cũng như ứng dụng các kỹ thuật tiên tiến trong nghiên cứu kháng thuốc
 - + Triển khai và đánh giá hiệu quả của một số biện pháp can thiệp như vệ sinh môi trường hạn chế sự sinh sôi của ruồi, nâng cao kiến thức – thái độ – thực hành trong sử dụng KS trong chăn nuôi, tăng cường tiếp cận với thú y cơ sở.
- Đối với người chăn nuôi:
 - + Tăng cường các biện pháp đảm bảo vệ sinh trong chăn nuôi để hạn chế sự phát triển của ruồi.
 - + Chủ động nâng cao kiến thức, thái độ và các thực hành tốt trong sử dụng KS trong chăn nuôi.