

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu và kết quả trong đề tài là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình của tác giả nào khác.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm với những cam kết của mình cũng như nội dung của luận án.

Người cam đoan

Nguyễn Thị Lan Phương

LỜI CẢM ƠN

Hoàn thành luận án này, trước tiên tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới TS. Trần Huy Hoàng – Phó trưởng khoa Vi khuẩn và PGS. TS. Nguyễn Thị Thi Thơ – Trưởng khoa Kiểm soát bệnh không lây nhiễm, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, là những người thầy, người cô hướng dẫn trực tiếp, đã tận tình giúp đỡ, truyền đạt kiến thức và kinh nghiệm quý báu, tạo điều kiện cũng như động viên tôi trong suốt quá trình học tập, thực hiện và hoàn thành luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn các bạn đồng nghiệp trong nhóm nghiên cứu đã hỗ trợ và sát cánh cùng tôi trong quá trình xây dựng và triển khai nghiên cứu. Xin trân trọng cảm ơn lãnh đạo, các cán bộ Trung tâm Kiểm soát bệnh tật tỉnh Hà Nam, Trạm y tế xã và cán bộ thú y của xã Yên Nam, huyện Duy Tiên đã hỗ trợ tôi trong quá trình thực hiện nghiên cứu, thu thập số liệu cho luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn các Giáo sư, Phó giáo sư, Tiến sỹ trong các hội đồng khoa học chấm đề cương, các chuyên đề và luận án đã đóng góp nhiều ý kiến quý báu để tôi có thêm kiến thức và hoàn thiện luận án đạt chất lượng tốt hơn.

Tôi xin trân trọng cảm ơn các thầy cô Bộ môn Y tế công cộng, Phòng Đào tạo sau đại học của Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, đã luôn quan tâm, giúp đỡ, tạo mọi điều kiện thuận lợi nhất trong suốt quá trình học tập và hoàn thiện luận án.

Nhân dịp này, tôi xin gửi lời cảm ơn đến tập thể Phòng Kế hoạch – Hợp tác quốc tế, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương đã hỗ trợ tôi trong quá trình thực hiện và hoàn thành luận án. Tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến những người đồng nghiệp thân thiết đã bên cạnh, hết lòng động viên và hỗ trợ tôi.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới cha mẹ đã sinh thành, tạo điều kiện cho tôi được học tập và luôn tin tưởng tôi. Tôi xin gửi lời yêu thương tới chồng tôi và hai con gái đã luôn chia sẻ và là nguồn động lực cho tôi trong quá trình học tập và hoàn thành luận án tốt nghiệp.

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT	vi
DANH MỤC CÁC BẢNG	vii
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ	x
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1 - TỔNG QUAN	3
1.1. <i>E. coli</i> kháng kháng sinh	3
1.1.1. <i>Khái niệm về E. coli, kháng sinh và kháng kháng sinh</i>	3
1.1.2. <i>Tình hình E. coli kháng kháng sinh trên thế giới và tại Việt Nam</i>	5
1.1.3. <i>E. coli mang gen kháng kháng sinh mcr-1</i>	14
1.2. Một số yếu tố liên quan của kháng kháng sinh	17
1.2.1. <i>Mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh và kháng kháng sinh</i>	17
1.2.2. <i>Một số yếu tố liên quan đến thực hành sử dụng kháng sinh cho người và cho chăn nuôi</i>	22
1.2.3. <i>Một số yếu tố khác liên quan đến kháng kháng sinh trên người</i>	28
1.2.4. <i>Khung lý thuyết về các yếu tố liên quan đến kháng kháng sinh</i>	29
1.3. Sự lan truyền của vi khuẩn kháng kháng sinh	30
1.3.1. <i>Cơ chế lan truyền của gen kháng kháng sinh</i>	30
1.3.2. <i>Một số phương pháp hiện đại trong nghiên cứu sự lan truyền của vi khuẩn kháng kháng sinh</i>	31
1.3.3. <i>Thực trạng lan truyền của vi khuẩn kháng kháng sinh</i>	33
1.4. Giới thiệu về nghiên cứu	39
Chương 2 - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	41
2.1. Mục tiêu 1 và Mục tiêu 2	41
2.1.1. <i>Đối tượng nghiên cứu</i>	41
2.1.2. <i>Địa điểm nghiên cứu</i>	41

2.1.3.	<i>Thời gian nghiên cứu</i>	41
2.1.4.	<i>Thiết kế nghiên cứu</i>	41
2.1.5.	<i>Cỡ mẫu và chọn mẫu</i>	41
2.1.6.	<i>Phương pháp và công cụ thu thập thông tin</i>	43
2.1.7.	<i>Các biến số và chỉ số nghiên cứu</i>	48
2.1.8.	<i>Tiêu chí đánh giá</i>	50
2.1.9.	<i>Quản lý, phân tích số liệu và không chế sai số</i>	55
2.2.	<i>Mục tiêu 3</i>	56
2.2.1.	<i>Đối tượng nghiên cứu</i>	56
2.2.2.	<i>Địa điểm nghiên cứu</i>	56
2.2.3.	<i>Thời gian nghiên cứu</i>	56
2.2.4.	<i>Thiết kế nghiên cứu</i>	56
2.2.5.	<i>Cỡ mẫu và chọn mẫu</i>	56
2.2.6.	<i>Phương pháp và công cụ thu thập thông tin</i>	57
2.2.7.	<i>Các biến số và chỉ số nghiên cứu</i>	57
2.2.8.	<i>Tiêu chí đánh giá</i>	57
2.2.9.	<i>Quản lý và phân tích số liệu và không chế sai số</i>	58
2.3.	<i>Tổ chức thực hiện</i>	58
2.4.	<i>Đạo đức trong nghiên cứu</i>	60
Chương 3 -	KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	61
3.1.	<i>Đặc điểm của người chăn nuôi và trang trại</i>	61
3.1.1.	<i>Đặc điểm nhân khẩu học, hộ gia đình và trang trại</i>	61
3.1.2.	<i>Kiến thức, thái độ, thực hành liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi của người làm chăn nuôi</i>	65
3.2.	<i>Tình trạng nhiễm E. coli mang gen kháng kháng sinh mcr-1 ở người chăn nuôi, vật nuôi và môi trường</i>	69
3.3.	<i>Một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm E. coli mang gen kháng kháng sinh mcr-1 ở người chăn nuôi</i>	75
3.3.1.	<i>Mối liên quan giữa đặc điểm nhân khẩu học với tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi</i>	75

3.3.2. <i>Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi với tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi</i>	76
3.3.3. <i>Mối liên quan giữa Kiến thức-thái độ-thực hành liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh và tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi</i>	79
3.3.4. <i>Một số yếu tố liên quan đến Thực hành sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi của người chăn nuôi</i>	83
3.4. <i>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</i>	93
Chương 4 - BÀN LUẬN	101
4.1 <i>Đặc điểm của quần thể nghiên cứu</i>	101
4.2 <i>Tình trạng nhiễm E. coli mang gen kháng kháng sinh mcr-1 ở người chăn nuôi, vật nuôi và môi trường</i>	103
4.3 <i>Một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm E. coli mang gen kháng kháng sinh mcr-1 ở người chăn nuôi</i>	108
4.3.1 <i>Mối liên quan giữa đặc điểm nhân khẩu học với tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi</i>	108
4.3.2 <i>Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi với tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi</i>	109
4.3.3 <i>Mối liên quan giữa Kiến thức - Thái độ - Thực hành với tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi</i>	111
4.3.4 <i>Một số yếu tố liên quan đến Thực hành sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi của người chăn nuôi</i>	112
4.4 <i>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</i>	116
4.5 <i>Những đóng góp và hạn chế của nghiên cứu</i>	119
KẾT LUẬN	121
KHUYẾN NGHỊ	123
TÀI LIỆU THAM KHẢO	124
PHỤ LỤC	131

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ĐVVN	Đơn vị vật nuôi
ĐLC	Độ lệch chuẩn
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ESBL	Extended spectrum beta-lactamase (Men ly giải beta-lactam phổ rộng)
GTLN	Giá trị lớn nhất
GTNN	Giá trị nhỏ nhất
KTC	Khoảng tin cậy
<i>mcr-1</i>	Plasmid-Mediated Colistin Resistance
MLST	MultiLocus Sequence Typing (Phương pháp phân loại trình tự đa vị trí)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Phản ứng chuỗi polymerase)
PFGE	Pulsed-Field Gel Electrophoresis (Phương pháp điện di xung trường)
SMART	Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (Chương trình giám sát xu hướng KKS)
ST	Sequence Type (Loại trình tự)
TB	Trung bình

DANH MỤC CÁC BẢNG

Tên bảng	Trang
Bảng 2.1. Loại mẫu, số lượng và cách chọn	42
Bảng 3.1. Đặc điểm nhân khẩu học (N = 139)	61
Bảng 3.2. Đặc điểm hộ gia đình và trang trại (N = 139)	62
Bảng 3.3. Số lượng mẫu thu được và kết quả sàng lọc trên môi trường kháng sinh chọn lọc chứa vancomycin (10 mg/L) và colistin (0,5 mg/L)	69
Bảng 3.4. Tỷ lệ mẫu nhiễm gen <i>mcr-1</i> và nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> (N = 139)	70
Bảng 3.5. Chủng <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i>	71
Bảng 3.6. Tình trạng nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> trên người (N = 139)	73
Bảng 3.7. Mối liên quan giữa đặc điểm nhân khẩu học và tình trạng nhiễm trên người (N = 139)	75
Bảng 3.8. Mối liên quan giữa đặc điểm hoạt động chăn nuôi với tình trạng nhiễm trên người (N = 139)	76
Bảng 3.9. Kết quả phân tích đa biến mối liên quan giữa một số yếu tố nhân khẩu học và hoạt động chăn nuôi tới tình trạng nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> trên người (N = 139)	77
Bảng 3.10. Mối liên quan giữa tình trạng nhiễm trên các loại mẫu khác với tình trạng nhiễm trên ruồi	78
Bảng 3.11. Mối liên quan giữa kiến thức về kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi với tình trạng nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> trên người (N = 139)	79
Bảng 3.12. Mối liên quan giữa thái độ về kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi với tình trạng nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> trên người (N = 139)	80

Bảng 3.13. Mối liên quan giữa thực hành về kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi với tình trạng nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> trên người (N = 139)	81
Bảng 3.14. 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)	82
Bảng 3.15. Một số yếu tố nhân khẩu học liên quan đến việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)	84
Bảng 3.16. Một số yếu tố nhân khẩu học liên quan đến mục đích sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 101)	85
Bảng 3.17. Một số yếu tố nhân khẩu học liên quan đến nguồn hướng dẫn sử dụng KS trong chăn nuôi (N = 101)	86
Bảng 3.18. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi việc có hay không sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)	87
Bảng 3.19. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi đến mục đích sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 101)	88
Bảng 3.20. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi đến nguồn hướng dẫn sử dụng kháng sinh mà người chăn nuôi tuân theo (N = 101)	89
Bảng 3.21. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi việc sử dụng kháng sinh theo kinh nghiệm cá nhân (N = 101)	89
Bảng 3.22. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi đến việc sử dụng kháng sinh theo hướng dẫn của cán bộ thú y (N = 101)	90
Bảng 3.23. Mối liên quan giữa Kiến thức tới Thực hành sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)	91
Bảng 3.24. Mối liên quan giữa Thái độ tới Thực hành sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)	92
Bảng 3.25. Thông tin tóm tắt về các chủng giải trình tự toàn bộ hệ gen (N = 49)	93

Bảng 3.26. Tỷ lệ các loại trình tự (ST) ($N = 49$)	94
Bảng 3.27. Một số loại trình tự (ST) xuất hiện ở nhiều loại mẫu khác nhau	95

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình vẽ, biểu đồ	Trang
Hình 1.1. Các cơ chế KKS phổ biến của các vi khuẩn gram âm	5
Hình 1.2. Sự lưu hành của gen KKS <i>mcr-1</i> trên thế giới	16
Hình 1.3. Khung lý thuyết về các yếu tố liên quan đến KKS	29
Hình 1.4. Ví dụ biểu đồ biểu diễn mối liên hệ giữa các ST khác nhau	33
Hình 1.5. Minh họa sự lan truyền của KKS giữa bệnh viện, cộng đồng và động vật	35
Hình 2.1. Sơ đồ tóm tắt các bước xét nghiệm	44
Hình 2.2. Sơ đồ tóm tắt các bước triển khai nghiên cứu	59
Biểu đồ 3.1. Tỷ lệ các nguồn nước sử dụng trong hộ gia đình theo các mục đích sử dụng (N = 139)	63
Biểu đồ 3.2. Tỷ lệ các loại nhà vệ sinh của hộ gia đình (N = 139)	64
Biểu đồ 3.3. Tỷ lệ các thực hành rửa tay của đối tượng nghiên cứu (N = 139)	64
Biểu đồ 3.4. Đánh giá kiến thức và thái độ về kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)	65
Biểu đồ 3.5. Kiến thức liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)	66
Biểu đồ 3.6. Thái độ liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)	67
Biểu đồ 3.7. Thực hành liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)	68
Biểu đồ 3.8. Tỷ lệ mẫu nhiễm gen <i>mcr-1</i> và nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> (N = 139)	70
Biểu đồ 3.9. Tỷ lệ trang trại nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> (N = 70) không phân biệt loại mẫu	72

Biểu đồ 3.10. Tỷ lệ trang trại nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> theo từng loại mẫu	72
Biểu đồ 3.11. Kết quả MIC của 49 chủng <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> (N = 49)	74
Biểu đồ 3.12. Biểu đồ mối liên hệ ST của các chủng nghiên cứu (N = 49)	96
Biểu đồ 3.13. Cây phân loại kiểu gen của các chủng nghiên cứu (N = 49)	97
Biểu đồ 3.14. Tỷ lệ các loại plasmid của <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> xác định được trong nghiên cứu (N = 49)	98
Biểu đồ 3.15. Cấu trúc đoạn các gen mang gen kháng <i>mcr-1</i>	100

ĐẶT VẤN ĐỀ

Kháng kháng sinh được coi là vấn đề sức khỏe lớn nhất của loài người trong thế kỷ 21. Nhiễm khuẩn kháng kháng sinh được cho là nguyên nhân của 700.000 ca tử vong mỗi năm trên toàn cầu và con số này được dự báo sẽ tăng tới mức 10 triệu ca mỗi năm vào năm 2050 [99]. 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 tồn dư trong thịt động vật hoặc chất thải của động vật nhiễm vào hoa màu hay nguồn nước, rồi từ đó lây sang người qua ăn uống, lao động và các sinh hoạt hàng ngày, ngoài ra tồn dư KS trong thịt động vật về lâu dài cũng làm thay đổi hệ vi sinh vật trên người khi con người sử dụng các sản phẩm từ thịt [42, 105].

Gen kháng colistin qua trung gian plasmid (*mcr-1*) được công bố lần đầu tiên vào cuối năm 2015 từ số liệu giám sát *Escherichia coli* (*E. coli*) kháng thuốc trong thực phẩm tại Trung Quốc. Gen này tạo ra 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. Colistin thường được dùng trong chăn nuôi, trước đây ít được sử dụng trên người do độc tính cao nhưng đến năm 2017 cũng đã được cấp phép để sử dụng trên người do sự xuất hiện và gia tăng của các chủng vi khuẩn đường ruột kháng carbapenem. Đến nay *mcr-1* đã được báo cáo ở trên cả 5 Châu lục [127]. Do colistin là kháng sinh cuối cùng để điều trị cho các trường hợp nhiễm khuẩn gram âm kháng carbapenem nên 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. *E. coli* - 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 - là vi khuẩn đầu tiên được xác định nhiễm gen kháng *mcr-1* và cho tới nay

hầu hết các chủng vi khuẩn mang gen *mcr-1* trên người ghi nhận được là *E. coli* [32, 85, 103].

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. Việc *mcr-1* đã được ghi nhận trên người từ trước khi colistin được đưa vào sử dụng trong lâm sàng vào năm 2017 gợi ý sự lan truyền của gen này từ chăn nuôi sang người và cần được chứng minh thông qua dữ liệu khoa học. Ở Việt Nam, colistin là một trị liệu phổ biến dùng trong chăn nuôi trong nhiều thập kỷ qua [50] nhưng nghiên cứu về kháng colistin cũng như kháng kháng sinh nói chung 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 “*Thực trạng, một số yếu tố liên quan nhiễm 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*” là một trong số rất ít nghiên cứu tại Việt Nam với hướng tiếp cận Một sức khỏe 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. Nghiên cứu có các mục tiêu cụ thể sau:

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.

Chương 1 - TỔNG QUAN

1.1. *E. coli* kháng kháng sinh

1.1.1. *Khái niệm về E. coli, kháng sinh và kháng kháng sinh*

1.1.1.1. *E. coli*:

Escherichia là một thành viên quan trọng trong họ vi khuẩn đường ruột, được phát hiện đầu tiên vào năm 1885. Giống này gồm nhiều loài, trong đó *E. coli* có vai trò quan trọng nhất. *E. coli* được tìm thấy trong ruột của người và động vật. Trong đường tiêu hoá, *E. coli* chiếm khoảng 80% các vi khuẩn hiếu khí và hầu hết là vô hại, thậm chí còn đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì đường tiêu hoá khoẻ mạnh của con người. Tuy nhiên nó cũng là vi khuẩn gây bệnh quan trọng, đứng đầu trong các vi khuẩn gây tiêu chảy, viêm đường tiết niệu, viêm đường mật và nhiễm khuẩn huyết, viêm phổi, viêm màng não [6, 21].

1.1.1.2. *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 [8]. KS không chỉ cứu mạng sống mà còn đóng vai trò then chốt trong các thành tựu của y học. KS giúp ngăn ngừa hoặc chữa trị các nhiễm khuẩn trên người bệnh đang điều trị hoá chất, người mắc bệnh mãn tính như tiểu đường, bệnh thận giai đoạn cuối, bệnh viêm khớp hay người bệnh phải chịu các phẫu thuật phức tạp như ghép tạng, thay khớp hay phẫu thuật tim mạch. KS cũng đã giúp kéo dài tuổi thọ con người khi nó giúp cải thiện kết quả điều trị nhiễm khuẩn. Tuổi thọ của người Mỹ năm 1920 chỉ là 56,4 đến nay đã là gần 80 tuổi. Ở các nước đang phát triển với điều kiện vệ sinh kém, KS đã làm giảm tỷ lệ mắc và chết do các bệnh lây truyền qua thức ăn và các nhiễm khuẩn có liên quan tới đói nghèo [31].

Có nhiều cách phân loại KS: theo tính chất hoá học, theo nguồn gốc, theo phổ tác dụng hay theo cách tác dụng, trong đó phân loại theo tính chất hóa học được coi là cách phân loại khoa học nhất vì nó cho phép lựa chọn KS cùng nhóm thay thế hoặc phối hợp KS hợp lý tránh tác dụng tương kỵ.

KS tác dụng theo nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm:

- Ức chế tổng hợp vách tế bào
- Ức chế chức năng màng bào tương
- Ức chế tổng hợp protein
- Tác động trực tiếp vào acid nhân
- Cạnh tranh đối kháng

1.1.1.3. Kháng kháng sinh

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.

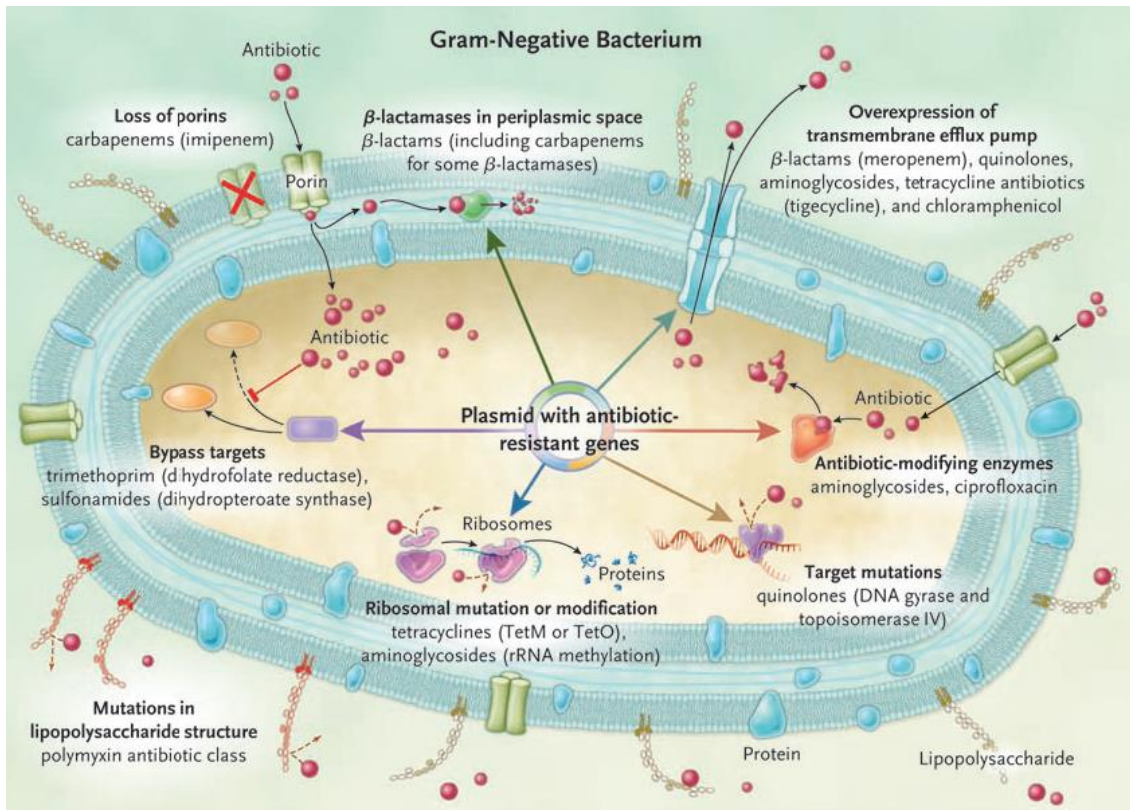
Gen đề kháng tạo ra sự đề kháng bằng cách:

- Làm giảm tính thấm của màng nguyên tương, ngăn cản KS thấm vào tế bào.
- Làm thay đổi đích tác động, làm KS không bám được vào đích và vì vậy không phát huy được tác dụng
- Tạo ra các isoenzym không có ái lực với KS nữa nên bỏ qua (không chịu) tác động của KS
- Tạo ra enzyme làm biến đổi hoặc phá huỷ cấu trúc hoá học của phân tử KS dẫn tới KS mất tác dụng

Một vi khuẩn KKS thường là do phối hợp các cơ chế riêng rẽ kể trên.

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.

Các tác nhân gram âm gây ra quan ngại lớn khi đã kháng lại hầu hết các loại KS hiện có. Hầu hết các trường hợp tử vong là do vi khuẩn gram âm. Nhìn chung, cơ chế KKS của vi khuẩn Gram âm khá đa dạng (Hình 1.1) và thường được phân chia thành 3 nhóm cơ chế chính: làm giảm sự hấp thụ KS vào bên trong tế bào vi khuẩn; thay đổi đích tác động của KS; và sản sinh ra các enzyme để ức chế hoặc biến đổi KS [49].



Hình 1.1. Các cơ chế KKS phổ biến của các vi khuẩn gram âm [102]

1.1.2. Tình hình *E. coli* kháng kháng sinh trên thế giới và tại Việt Nam

1.1.2.1. Trên thế giới

Trong bệnh viện:

Cùng với *K. pneumoniae* và *P. aeruginosa*, *E. coli*, là các tác nhân quan trọng gây bệnh trong bệnh viện khi chiếm tới 70% các tác nhân gram âm gây nhiễm khuẩn bệnh viện tại Mỹ, trong đó *E. coli* là tác nhân hàng đầu gây nhiễm khuẩn tiết niệu và là tác nhân phổ biến thứ hai gây nhiễm khuẩn bệnh viện tại nước này [21]. *E. coli* kháng các loại KS như beta-lactam phổ rộng (ESBL), carbapenem là các loại KS thế hệ mới nhất và được sử dụng trong điều trị nhiễm khuẩn kháng thuốc và *E. coli* đa kháng (kháng với từ 3 loại kháng sinh trở lên) đã được báo cáo ở nhiều nước trên thế giới. Nghiên cứu trên hơn 1,5 triệu chủng *E. coli* thu được từ mẫu nước tiểu của bệnh nhân khám ngoại trú tại Mỹ giai đoạn 2011-2019 cho thấy tỷ lệ kháng trimethoprim-sulfamethoxazole, fluoroquinolones, nitrofurantoin và ESBL lần lượt là 25,4%, 21,1%, 3,8% và

6,4%, tỷ lệ kháng từ 2 loại KS trở lên là 14,4%, từ 3 loại KS trở lên là 3,8%. Nghiên cứu này cũng cho thấy xu hướng gia tăng trung bình tỷ lệ kháng ESBL theo từng năm ở mức 7,7% và đa kháng ở mức 2,7% [71].

Họ vi khuẩn đường ruột sinh ESBL, được hệ thống phân loại của Mỹ xếp vào nhóm nguy cơ nghiêm trọng [11, 54], đã được ghi nhận trên toàn thế giới với hơn 1.000 loài được định loại, trong số đó *E. coli* cùng với *K. pneumonia* có sự gia tăng đáng lo ngại. Số liệu từ chương trình giám sát xu hướng KKS (SMART) khu vực Bắc Mỹ trên các chủng trực khuẩn gram âm phân lập được từ các trường hợp viêm khoang bụng giai đoạn 2005-2010 cho thấy tỷ lệ *E. coli* sinh ESBL đã gia tăng từ 1,7% vào năm 2005 lên tới 7,3% vào năm 2010. Cũng theo số liệu của SMART, tỷ lệ *E. coli* sinh ESBL phân lập được từ các trường hợp viêm khoang bụng ở một số khu vực khác trên thế giới thậm chí còn cao hơn: 38,3% ở Châu Á, 22,9% ở Mỹ La Tinh và 18,5% ở Trung Đông [21]. Theo thống kê năm 2019 của Mỹ, số ca mắc vi khuẩn đường ruột sinh ESBL của nước này là 197.400 ca với 9.100 ca tử vong [54]. Một chương trình giám sát được triển khai tại 53 đơn vị chăm sóc tích cực của Đức trong 8 năm từ 2001 đến 2008 cho thấy sự gia tăng đáng kể tỷ lệ *E. coli* kháng cephalosporin thế hệ 3 khi tỷ lệ này chỉ là 1,2% vào năm 2001 đã tăng lên tới gần 20% vào năm 2008 [24].

Họ vi khuẩn đường ruột kháng carbapenem là nhóm vi khuẩn đã kháng lại hầu hết các loại KS hiện có, bao gồm carbapenem loại được coi là KS cuối cùng trong điều trị nhiễm khuẩn. Tại Mỹ, các nhiễm khuẩn do họ vi khuẩn đường ruột kháng carbapenem được phân loại vào nhóm tác nhân nguy cơ khẩn cấp tức là ở mức cao nhất [11, 54]. Năm 2013, tại Mỹ ước tính rằng trong số 140.000 trường hợp nhiễm khuẩn bệnh viện do họ vi khuẩn đường ruột hàng năm thì hơn 9.000 trường hợp là kháng carbapenem và 600 trường hợp tử vong do tác nhân này, chủ yếu là trên các giống *Klebsiella* và *E. coli* [31]. Đến năm 2019 số lượng này đã tăng lên 13.100 ca mắc và 1.100 ca tử vong [54].

E. coli đa kháng cũng là một mối quan ngại lớn với sức khỏe. Theo số liệu của mạng lưới an toàn y tế quốc gia Mỹ (National Healthcare Safety Network),

E. coli và *K. pneumonia* đa kháng có xu hướng gia tăng ở nước này, từ 7% năm 2000 lên 13% năm 2008 [21]. Theo công bố của Nicolas K. Petty và cộng sự năm 2014, *E. coli* kiểu gen ST131 đa kháng được xác định năm 2008 và đã lây lan trên toàn cầu gây các trường hợp nhiễm khuẩn tiết niệu trong cộng đồng và bệnh viện cũng như nhiễm khuẩn huyết. *E. coli* ST131 là kiểu gen liên quan chính tới sự lây lan của gen CTX-M-15 sinh ESBL. Kiểu gen ST131 cũng có sự liên hệ mật thiết với tình trạng kháng fluoroquinolone, đồng kháng với aminoglycoside and trimethoprim-sulfamethoxazole. Kiểu gen ST131 kháng carbapenem cũng đã được báo cáo, dẫn tới việc càng hạn chế hơn nữa các lựa chọn trong điều trị đối với *E. coli* mang kiểu gen này [104]. Số liệu từ 17 nghiên cứu trên trẻ sơ sinh dưới 1 tháng tuổi nhiễm khuẩn huyết tại Trung Quốc cho thấy *E. coli* kháng carbapenem đồng thời kháng lại nhiều nhóm KS khác chỉ từ colistin và fosfomycin [56].

Trong cộng đồng:

Mặc dù hầu hết vi khuẩn kháng thuốc đều phát sinh từ bệnh viện, các chủng vi khuẩn kháng thuốc đang ngày càng trở lên phổ biến trong cộng đồng. *E. coli* KKS cũng được ghi nhận trong cộng đồng.

Một nghiên cứu tiến hành trên mẫu phân của 50 trẻ khỏe mạnh dưới 2 tuổi vào năm 2000-2001 tại Tây Ban Nha báo cáo tỷ lệ kháng ampicillin là 58,5%, tỷ lệ KKS nhóm aminoglycosids là 40%, kháng chloramphenicol là 12% [57]. Các số liệu cho thấy hệ vi khuẩn đường ruột của trẻ khỏe mạnh cũng là nguồn lây lan vi khuẩn kháng thuốc. Công bố năm 2018 từ số liệu nghiên cứu kéo dài 3 năm tại 7 nước đang phát triển ở Châu Phi và Nam Á trên các chủng *E. coli* thu được từ trẻ dưới 5 tuổi cho thấy tỷ lệ KKS rất cao với tới 65% số chủng kháng từ 3 loại KS trở lên [69].

Nghiên cứu của Đức công bố năm 2004 trên các khách hàng tuổi từ 40-74 đến khám tại các phòng khám trong thời gian 1999-2000 cho thấy tỷ lệ *E. coli* kháng ampicillin, doxycycline, cotrimoxazole và quinolones là 24% [113]. Nghiên cứu năm 2003-2004 tại Ấn Độ và Nam Phi trên đối tượng là phụ nữ khỏe

mạnh trong cộng đồng cho thấy tỷ lệ kháng cao khi hơn 70% số chủng *E. coli* phân lập được từ mẫu nước tiểu đã kháng lại ampicillin và nalidixic acid, hơn 50% kháng lại fluoroquinolones [22]. Nghiên cứu ở Ma-rốc tiến hành từ năm 2004-2009 cho thấy trong số 767 chủng *E. coli* phân lập được từ các người bệnh nhiễm khuẩn tiết niệu trong cộng đồng, có 37 (4,8%) chủng kháng cephalosporin thế hệ 3 và 10 (1,3%) chủng sinh ESBL. Tất cả các chủng *E. coli* đều đa kháng và chỉ còn nhạy cảm với imipenem và cefoxitin [10]. Tại Thụy Điển, nghiên cứu tiến hành trên mẫu phân thu thập từ 586 người trưởng thành khỏe mạnh trong thời gian từ tháng 9 tới tháng 11 năm 2010 đã ghi nhận 5,8% số mẫu sinh ESBL và toàn bộ 34 chủng phân lập được này đều là *E. coli* [16].

Nhìn chung tỷ lệ KKS thường thấp ở các nước phát triển như các nước Châu Âu và cao ở các nước đang phát triển. Tình hình kháng cũng có xu hướng gia tăng theo thời gian [58]. Tuy vậy, cũng như số liệu về KKS trong cộng đồng nói chung, số liệu về *E. coli* KKS trong cộng đồng còn rất hạn chế và thiếu cập nhật

Ở động vật và thực phẩm:

Có nhiều nghiên cứu đã ghi nhận sự hiện diện của *E. coli* KKS trên động vật hoặc các sản phẩm thịt động vật. Nghiên cứu tại Hà Lan công bố năm 2011 cho thấy 76,8% trong số 89 mẫu thịt gà thu thập ngẫu nhiên từ các cửa hàng mang *E. coli* sinh ESBL. Đối với các mẫu thịt khác (bò, lợn, thịt xay hỗn hợp), nhóm nghiên cứu phát hiện 8 chủng phát hiện được đều là *E. coli* [100]. Một nghiên cứu giám sát được tiến hành trong 2 năm 2008-2010 tại Hồng Kông trên các nhiều loài vật như trâu bò, lợn, gà, chó, mèo và vật gặm nhấm hoang dã cho thấy *E. coli* kháng ESBL thu được cao nhất là trên lợn (63,6%), tiếp đó là gà (58,5%), trâu bò (32,9%), chó (14,7%), mèo (13,3%) và vật gặm nhấm (4,2%). Tỷ lệ kháng của năm thứ 2 cao hơn năm thứ 1, đặc biệt sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đối với các mẫu phân gà (46,2% so với 77,2%; $P < 0,001$) [64]. Nghiên cứu tại Trung Quốc được tiến hành năm 2015 tại 1 trang trại gà quy mô lớn đã thu thập được 78 chủng *E. coli*. Xét nghiệm độ nhạy cảm KS với 78 chủng này cho thấy 100%

số chủng kháng cefotaxime, cefquinome và ampicillin, kháng cao với các loại KS khác. Đặc biệt có tới 73,1% số chủng kháng Colistin và 47,4% số chủng kháng meropenem. 28 trong số 37 chủng kháng meropenem cũng đồng thời kháng cả Colistin [84].

Mặc dù việc thêm KS vào thức ăn chăn nuôi với mục đích hỗ trợ tăng trưởng đã bị cấm các nước thuộc liên minh Châu Âu kể từ năm 2006, một số nước vẫn cho phép việc này ví dụ như Mỹ (cho phép đối với penicilins, tetracyclines), Châu Á (cho phép với chlramphenicol, fosfomycin) [115]. Điều này đã biến vật nuôi thành 1 nguồn chứa gen KKS lây lan sang người. Colistin được phê duyệt để dùng cho gà kể từ năm 1998

1.1.2.2. Tại Việt Nam

Trong bệnh viện:

Tương tự tình hình trên thế giới, KKS trong bệnh viện tại Việt Nam cũng đang ở mức độ cao. Số liệu nghiên cứu về KKS trong bệnh viện tại Việt Nam khá phong phú, đa dạng và cho thấy xu hướng gia tăng của *E. coli* KKS, đặc biệt là với những loại KS được dùng trong điều trị nhiễm khuẩn đa kháng như cephalosporin hoặc carbapenem và thậm chí cả colistin.

Nghiên cứu tiến hành năm 2012 tại khoa Hồi sức sơ sinh, Bệnh viện Nhi Trung ương với các chủng vi khuẩn phân lập được từ dịch nội khí quản ở trẻ bệnh đang thở máy cho thấy *E. coli* đã kháng 100% với cephalosporin thế hệ 3, kháng 92% với cephalosporin thế hệ 4, kháng cao với chloramphenicol (78%), quinolon (75%). Đặc biệt, nghiên cứu này báo cáo tỷ lệ *E. coli* kháng với KS nhóm carbapenem rất cao: 75% kháng với imipenem và 44% kháng với meropenem [79].

Nghiên cứu tiến hành tại đơn vị hồi sức cấp cứu của Bệnh viện bệnh nhiệt đới Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 11 năm 2014 đến tháng 1 năm 2016 đã thu được 1.370 chủng *E. coli* và kháng lại hầu hết các loại KS trong nghiên cứu, tỷ lệ KKS nhóm carbapenem tuy còn thấp (giao động từ 0,9% với imipenem tới

2,1% với ertapenem) nhưng đã phát hiện *E. coli* kháng Colistin (tỷ lệ 3,6%) là loại KS lựa chọn cuối cùng cho các chủng đã kháng lại carbapenem [117].

Nghiên cứu tiến hành tại bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp từ 2015-2017 cho thấy trong 12.436 chủng vi khuẩn phân lập được *E. coli* cùng với *A. baumannii*, *Klebsiella spp*, *P. aeruginosa* chiếm tới hơn 1 nửa số tác nhân (54%). Về tính KKS, *E. coli* kháng cephalosporin thế hệ 3 với tỷ lệ khá cao (kháng cefotaxime giao động từ 52,2% đến 64,4%; kháng ceftazidime giao động từ 32,3% đến 53,0%). Tỷ lệ *E. coli* kháng ESBL là 40%, cao gấp đôi so với *Klebsiella spp*. Tuy nhiên tỷ lệ KKS nhóm carbapenem của *E. coli* giao động tùy loại KS nhưng cho thấy xu hướng gia tăng theo thời gian: kháng imipenem giao động từ 0,04% đến 12,9%, kháng meropenem giao động từ 1,1% đến 9,3% [1].

Một khảo sát cắt ngang hồi cứu các chủng vi khuẩn phân lập được từ bệnh nhân điều trị nội trú trong 1 năm 2017-2018 tại Bệnh viện đại học y dược Huế cho thấy *E. coli* chiếm 34,7% số chủng và kháng mạnh với tất cả các loại KS trong nghiên cứu với tỷ lệ giao động từ 80% đến 100% [4].

Nghiên cứu trong vòng 6 tháng năm 2017 tại bệnh viện Nguyễn Đình Chiểu, tỉnh Bến Tre cho thấy 44,39% số chủng *E. coli* và *K. pneumonia* phân lập được có tính sinh ESBL (95 trên 214 chủng), trong đó số chủng *E. coli* sinh ESBL chiếm 56,8%. Các chủng *E. coli* và *Klebsiella pneumonia* sinh ESBL thu được có tỷ lệ kháng cao nhiều loại KS, kháng 100% với các loại như ampicillin, piperacillin, cefuroxime, cefuroxime axetil, cefpodoxime, cefotaxime, ceftazidime, tuy nhiên chúng còn nhạy cảm với các KS nhóm carbapenem như ertapenem, imipenem và meropenem [2].

Nghiên cứu trên các chủng vi khuẩn Enterobacteriaceae gây nhiễm khuẩn huyết phân lập được tại bệnh viện đa khoa tỉnh Thái Bình trong 2 năm 2018 – 2019 cho thấy *E. coli* chiếm tỷ lệ cao nhất với 66% và đã kháng lại nhiều loại kháng sinh như amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin/ sulbactam với tỷ lệ 46,9% và 54,7% và co-trimoxazole 71,4%, nhóm cephalosporin các thế hệ *E. coli* đã đề

kháng lại với tỷ lệ khá cao như với cefazolin 73,1%, ceftriazone 51,6% và cefotaxim 53,7% [65].

Trong cộng đồng:

Tương tự số liệu trên thế giới, số liệu về *E. coli* KKS trong cộng đồng tại Việt Nam cũng rất hạn chế vì có rất ít nghiên cứu cộng đồng được tiến hành hơn nữa số liệu cũng không được cập nhật.

Nghiên cứu tại Thành phố Hồ Chí Minh trong giai đoạn 2005-2006 trên 204 người khỏe mạnh và không có tiền sử tiếp xúc với KS trong vòng 4 tuần trước khi điều tra gồm 27 người trưởng thành, 77 trẻ em 5-14 tuổi và 100 trẻ sơ sinh 1-3 ngày tuổi. Kết quả nuôi cấy trên môi trường chọn lọc chứa KS gentamicin, ceftazidime hoặc nalidixic acid, nhóm nghiên cứu đã thu thập được 340 chủng *E. coli*, chiếm phần lớn các chủng vi khuẩn đường ruột phân lập được trong khi chỉ có 45 chủng *K. pneumonia* và 28 chủng khác [9].

Năm 2007, nghiên cứu cộng đồng được tiến hành tại FilaBavi Hà Nội, trên đối tượng là 847 trẻ từ 6 đến 60 tháng tuổi. Nghiên cứu thu được 818 chủng *E. coli* cho thấy tỷ lệ kháng cao với các loại KS thông dụng như tetracycline (74%), co-trimoxazole (68%), ampicillin (65%), chloramphenicol (40%), và nalidixic acid (27%). Tỷ lệ đa kháng (kháng trên 3 loại KS) là 60% [13]. Đây được coi là nghiên cứu KKS dựa vào cộng đồng đầu tiên tại Việt Nam và cho thấy tỷ lệ *E. coli* kháng và đa kháng rất cao.

Nghiên cứu cắt ngang thực hiện năm 2013 tại Thái Bình trên 204 mẫu phân của người khỏe mạnh cho thấy *E. coli* sinh ESBL trong các mẫu phân người khỏe mạnh chiếm tỷ lệ cao (82,3%). Tỷ lệ chủng *E. coli* kháng lại các KS thông dụng dao động từ 18,5% đến 100%. Như vậy các chủng vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL đã lan rộng ra cộng đồng với tỷ lệ kháng thuốc khá cao. Tuy nhiên, các chủng này còn khá nhạy cảm với một số KS như cefoxitin hay meropenem [72].

Năm 2015, một nghiên cứu cộng đồng được thực hiện tại tỉnh Hà Nam trên 265 đối tượng là người khỏe mạnh. Kết quả cho thấy 100% chủng vi khuẩn đường ruột sinh ESBL được xác định trên người khỏe mạnh là vi khuẩn *E. coli*. Tỷ lệ

kháng ampicillin và cephalothin là 100%, cefuraxime là 98,7%. Tuy nhiên tỷ lệ kháng với imipenem chỉ có 1,7% [3].

Nghiên cứu được công bố gần đây nhất (2018) thực hiện tại Ba Vì, Hà Nội trên 1 trang trại và 1 cộng đồng năm 2013-2014 trên 1 cỡ mẫu nhỏ là 8 người nông dân làm việc trong 1 trang trại quy mô 5.000 con gà (mẫu được lấy 3 lần mỗi lần cách nhau 6 tháng) và 51 người sống trong cộng đồng. Nghiên cứu này báo cáo tỷ lệ chủng *E. coli* mang gen CTX-M sinh ESBL là 83,3% ở nông dân và 54,9% ở người dân trong cộng đồng. Tuy đây là 1 nghiên cứu ở quy mô nhỏ nhưng cho thấy sự chênh lệch lớn môi trường trang trại và môi trường sống thông thường [48].

Ở động vật và thực phẩm:

Ở Việt Nam có một số nghiên cứu công bố số liệu nhiễm *E. coli* KKS thu được trên động vật và thực phẩm. Các nghiên cứu báo cáo tình hình kháng nghiêm trọng khi một số KS thông dụng bị kháng tới 100%, tỷ lệ đa kháng nhiều loại KS cũng rất cao, đặc biệt cho thấy trang trại là nguồn lây lan quan trọng vi khuẩn KKS ra môi trường.

Nghiên cứu thực hiện năm 2012-2013 tại Tiền Giang trên 208 trang trại nuôi gà quy mô gia đình và quy mô nhỏ đã phân lập được 895 chủng *E. coli*. Xét nghiệm độ nhạy KS cho thấy tỷ lệ kháng rất cao với tetracycline (91,1%) và ampicillin (83,2%), thấp hơn đối với co-trimoxazole (67%) và cloramphenicol (61,2%), không có chủng nào kháng lại meropenem, tỷ lệ sinh ESBL là 0,4%. Tính trên số trang trại, 100% số trang trại có chủng kháng tetracycline, ampicillin, co-trimoxazole và cloramphenicol; 100% số trang trại có chủng đa kháng [96].

Năm 2012 tại Đồng Tháp, 1 nhóm nghiên cứu đã tiến hành khảo sát tỷ lệ *E. coli* KKS trên đối tượng là vật nuôi trong trang trại và động vật hoang dại. Nghiên cứu thu được 434 chủng *E. coli* từ 90 mẫu phân lợn, gà và vịt nuôi trong trang trại và 234 chủng *E. coli* từ 66 mẫu manh tràng chuột bắt được trong trang trại, trong rừng hoặc ngoài ruộng. Kết quả xét nghiệm độ nhạy KS cho thấy các chủng *E. coli* phân lập từ mẫu vật nuôi trong trang trại kháng với trung bình 4

loại KS (3-6 loại) trong khi các chủng thu từ động vật hoang dại chỉ kháng với trung bình 1 loại KS (1-2 loại). Tỷ lệ đa kháng ở động vật hoang dã bắt được trong trang trại cao gấp 8 lần ở động vật bắt ở rừng hay ruộng [97].

Nghiên cứu được tiến hành tại Thái Bình năm 2013-2014 trên 253 mẫu thực phẩm (gà, lợn, tôm và cá) mua từ chợ địa phương cho thấy 68,4% số mẫu chứa *E. coli* sinh ESBL. Tỷ lệ kháng cao nhất là với nhóm betalactam (100% số chủng kháng ampicillin, 99,5% số chủng kháng cefotaxim, tuy nhiên kháng thấp hơn với ceftazidime 22,6% và cefoxitin 5,4%, kháng meropenem chỉ ở mức 0,3%). Tỷ lệ kháng lại tối thiểu 5 nhóm KS của các chủng này lần lượt là 92,1% số chủng trên thịt gà, 69% số chủng trên thịt lợn, 56,5% số chủng trên tôm và 62,5% số chủng trên cá [78].

Nghiên cứu thực hiện năm 2012-2014 tại 4 lò mổ, 1 chợ bán buôn và 8 siêu thị ở thành phố Hồ Chí Minh đã thu được 342 chủng *E. coli* sinh ESBL từ 332 mẫu thực phẩm (82 mẫu thịt gà, 96 mẫu thịt lợn, 72 mẫu bò và 82 mẫu cá/tôm) và 80,7% trong số này kháng lại ít nhất 6 loại KS. Tỷ lệ kháng cao nhất là với ampicillin (100%), tiếp đó là tetracycline (94,4%), cefotaxime (88,6%), cotrimoxazole (83,6%) và streptomycin (83,3%). tỷ lệ kháng thấp nhất là với ceftazidime (24,6%), fosfomycin (33%) và cefoxitin (38,6%). Không có chủng nào kháng lại meropenem [92].

Nghiên cứu được thực hiện tại Ba Vì, Hà Nội trên 1 trang trại và 1 cộng đồng năm 2013-2014 thu được 38 mẫu phân gà trang trại và 36 mẫu phân gà nuôi trong gia đình đã báo cáo tỷ lệ *E. coli* mang gen CTX-M sinh ESBL lần lượt là 71,1% và 13,9% [55], cao hơn hẳn so với nghiên cứu tại Tiền Giang năm 2012-2013 với tỷ lệ chủng *E. coli* sinh ESBL chỉ là 0,4% [96].

Nghiên cứu tại 12 trang trại nuôi lợn và nuôi gà lấy thịt tại khu vực đồng bằng sông Cửu Long năm 2013-2014 thu được 180 chủng *E. coli*. Xét nghiệm độ nhạy cảm KS trên các chủng này cho thấy kháng cao nhất với ampicillin (97,8% với gà và 94,4% với lợn), kháng ciprofloxacin (73,3% và 21,1%), gentamicin

(42,2% và 35,6%), ceftazidime (1,1% và 7,8%). Nghiên cứu này cũng ghi nhận tỷ lệ kháng với colistin ở mức 22,2% và 24,4% [26].

1.1.3. *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1*

Colistin là KS thuộc nhóm polymixin được bắt đầu được đưa vào sử dụng trên lâm sàng vào năm 1959 nhưng do độc tính của nó trên thận và thần kinh nên KS này đã được giảm sử dụng từ những năm 1970 [85]. Tuy nhiên sự gia tăng của các vi khuẩn gram âm toàn kháng (kháng lại toàn bộ các KS hiện có trên lâm sàng) bao gồm cả KS nhóm carbapenem là KS thuộc nhóm lựa chọn cuối cùng trong điều trị nhiễm khuẩn kháng thuốc đã dẫn đến việc colistin được cấp phép để dùng trên người trong các nhiễm khuẩn nặng do họ vi khuẩn đường ruột kháng carbapenem kể từ năm 2017 dù cho nó có nhiều độc tính. Do đó, sự xuất hiện của gen Plasmid-Mediated Colistin Resistance *mcr-1* kháng lại colistin là mối đe dọa lớn đối với y tế công cộng nếu kháng sinh này mất đi hiệu quả thì chúng ta không còn KS nào để chống lại nhiễm khuẩn do vi khuẩn gram âm KKS. Hiện nay colistin chỉ được sử dụng trong bệnh viện và không sử dụng rộng rãi trong cộng đồng, tuy nhiên colistin lại là loại thường dùng trong chăn nuôi không chỉ để chữa bệnh mà còn để phòng bệnh và kích thích tăng trưởng [127], vì vậy nguy cơ lây lan của gen kháng này từ chăn nuôi sang con người là rất lớn. Đặc biệt việc gen này nằm trên plasmid nên dễ dàng truyền ngang giữa các vi khuẩn khác loài nhau dẫn đến nguy cơ truyền gen kháng sang và tạo ra sự đề kháng với colistin ở các loài vi khuẩn mà trước đây gen này chưa từng được ghi nhận.

Gen Plasmid-Mediated Colistin Resistance *mcr-1* mã hóa enzyme phosphoethanolamine transferase dẫn đến việc bổ sung phosphoethanolamine vào lipid A và tạo ra tính kháng lại colistin [85]. Gen *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. Kể từ lần đầu tiên được ghi nhận tại Trung Quốc năm 2015, 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 bao gồm cả thú cảnh, động vật chăn nuôi lấy thịt/trứng/sữa, động

vật hoang dã, thủy hải sản và trong môi trường [127]. Số liệu từ các nước cho thấy gen này đã hình thành khá lâu trước khi bị phát hiện lần đầu năm 2015. Như tại Thụy Sĩ, một nhóm nghiên cứu đã xét nghiệm các mẫu nước sông hồ và mẫu rau mà họ thu thập từ năm 2012, kết quả ghi nhận gen *mcr-1* trên 1/74 chủng vi khuẩn đường ruột sinh ESBL phân lập từ mẫu nước sông và trên 2/60 chủng vi khuẩn đường ruột phân lập từ mẫu rau nhập khẩu từ Thái Lan và Việt Nam [35]. Nhóm nghiên cứu ở Trung Quốc sau đó cũng đã tiến hành xét nghiệm hơn 21.000 chủng vi khuẩn đường ruột thu được trong giai đoạn từ 2007 đến 2015 tại 2 bệnh viện Trung Quốc. Kết quả cho thấy *mcr-1* được phát hiện trong 76/5.332 chủng *E. coli* cao nhất trong số các vi khuẩn còn lại như *K. pneumonia*, *Enterobacter cloacae* và *Enterobacter aerogenes*. Nghiên cứu này cũng ghi nhận xu hướng tăng tỷ lệ chủng *E. coli* mang *mcr-1* theo các năm ở cả 2 bệnh viện này [32]. Hai chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người sau đó cũng được phân lập từ mẫu phân người lành thu thập ở Thái Lan từ những năm 2012 [93]. Số liệu từ chương trình giám sát kháng thuốc trong chăn nuôi của Pháp ghi nhận 23 trong số 1.696 chủng *E. coli* thu thập trong giai đoạn 2007-2014 kháng lại colistin và toàn bộ 23 chủng này đều mang gen *mcr-1* [103].

32 nước báo cáo vi khuẩn mang gen *mcr-1* thu được từ môi trường, động vật hoặc con người



Nguồn: Xavier BB và cộng sự (2016)

Hình 1.2. Sự lưu hành của gen KKS *mcr-1* trên thế giới [34]

Tuy nhiên, Việt Nam mới 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 *Shigella sonnei* phân lập được từ 1 người mắc lỵ năm 2008 [27]. Hệ thống sàng lọc thường quy đối với vi khuẩn Gram âm đa kháng của bệnh viện Bạch Mai đã ghi nhận 18 chủng *E. coli* đa kháng trong giai đoạn tháng 3-12/2014, trong số này có 2 chủng kháng lại colistin và đều mang gen *mcr-1* [116]. Nghiên cứu trong cộng đồng tại Thái Bình năm 2017-2018 trên mẫu phân của 98 người khỏe mạnh cho thấy 69 mẫu (70,4%) kháng colistin, trong đó 64 chủng mang gen *mcr-1* [125]. Nghiên cứu tiến hành trên các đối tượng là người làm chăn nuôi gà và những người không làm chăn nuôi gà tại Tiền Giang năm 2012-2013 cho thấy 20,6% các chủng *E. coli* phân lập được từ người mang gen *mcr-1* [29].

Gen này cũng đã được ghi nhận trên các chủng vi khuẩn đường ruột phân lập từ động vật nuôi lấy thịt trong số chủng *E. coli* thu được từ 6 trang trại lợn và 6 trang trại gà tại khu vực Đồng bằng sông Cửu Long từ năm 2013-2014 thì phát hiện 18,9% số chủng thu từ lợn và 22,2% số chủng thu từ gà có mang gen *mcr-1* [26]. *mcr-1* cũng được ghi nhận trên 59,4% các chủng *E. coli* phân lập được gà ở trang trại tại Tiền Giang năm 2012-2013 [29]. Nghiên cứu thực hiện năm 2014-

2015 trên 24 chủng *E. coli* sinh ESBL thu từ mẫu ngoáy hậu môn động vật tại 2 trang trại gà tại tỉnh Hưng Yên, 1 trang trại lợn và 1 lò mổ lợn tại Hà Nội đã phát hiện gen *mcr-1* trên 9 chủng (chiếm 37,5%) [89]. Nghiên cứu tại Thành phố Hồ Chí Minh năm 2018 cho thấy 41,9% số chủng *E. coli* phân lập từ thịt heo kháng lại colistin và tỷ lệ mang gen *mcr-1* là 35,8%. Ở mẫu phân người bán thịt tỷ lệ tương ứng là 36,1% và 7,8%.

Sự kết hợp của *mcr-1* và các gen kháng carbapenem trên họ vi khuẩn đường ruột được ghi nhận ở 1 số quốc gia càng làm thu hẹp hơn lựa chọn điều trị và đẩy lên nỗi ám ảnh về các nhiễm khuẩn không thể trị được trong tương lai rất gần [20, 33]. Tại Venezuela năm 2015, 93 mẫu được thu thập từ người, chó, lợn, gà và nước thải để sàng lọc gen *mcr-1*. Trong số này đã ghi nhận 2 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* kháng colistin và trong 2 chủng này có 1 chủng đồng thời mang gen *ndm-1* kháng carbapenem [55]. Nghiên cứu tại Trung Quốc cũng được tiến hành năm 2015 tại 1 trang trại gà quy mô lớn đã thu thập được 78 chủng *E. coli*. 28 trong số 37 chủng kháng meropenem cũng đồng thời kháng cả colistin, 21 trong số 28 chủng này mang cả gen *mcr-1* và *ndm* [84].

1.2. Một số yếu tố liên quan của kháng kháng sinh

1.2.1. Môi liên quan giữa sử dụng kháng sinh và kháng kháng sinh

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 để vi khuẩn thích ứng với môi trường. Những chủng vi khuẩn đề kháng sẽ phát triển thành các dòng vi khuẩn đề kháng trong quần thể vi sinh vật [7].

1.2.1.1. Sử dụng kháng sinh trong bệnh viện

KKS bắt đầu được phát hiện tại bệnh viện, nơi KS được sử dụng nhiều nhất [23]. Một số nghiên cứu đã chỉ ra mối tương quan giữa việc sử dụng KS với sự xuất hiện của các chủng vi khuẩn kháng lại loại KS đó. Nghiên cứu tiên cứu trong vòng 5 năm (2005-2009) tại Anh định kỳ hàng tháng thu thập số liệu về sử dụng các loại KS và tỷ lệ chủng vi khuẩn sinh ESBL của 4 bệnh viện. Kết quả

phân tích cho thấy tỷ lệ chủng vi khuẩn sinh ESBL có mối liên hệ thuận với việc sử dụng fluoroquinolones (chủ yếu là ciprofloxacin) trong bệnh viện, cụ thể: việc tăng sử dụng fluoroquinolones thêm 1% sẽ dẫn tới việc tăng tỷ lệ chủng ESBL lên 0,18% ở tháng sau đó. Kể từ 1/2008 fluoroquinolones bị hạn chế sử dụng trong các bệnh viện, số lượng sử dụng giảm từ 113 DDD/1000 giường-ngày còn 17 DDD/1000 giường-ngày và điều này có liên quan tới việc tăng tính nhạy cảm của các tác nhân sinh ESBL đối với ciprofloxacin trong các bệnh viện [37].

Tại Việt Nam, chi phí cho KS chiếm tới hơn một phần ba chi phí điều trị của bệnh viện [25]. Theo báo cáo của một điều tra cắt ngang thực hiện tại 15 bệnh viện trên cả nước năm 2009, lượng KS sử dụng trung bình là 274,7 DDD/100 giường-ngày, cao nhất tại bệnh viện Đa khoa Bình Định 466 DDD/100 giường-ngày và thấp nhất tại Bệnh viện Nhi Trung ương 28 DDD/100 giường-ngày. Số lượng này cao hơn nhiều so với số liệu của Hà Lan cùng thời gian với chỉ có 58,1 DDD mỗi 100 giường-ngày. Điều này lý giải cho tỷ lệ KKS cao tại nước ta so với các nước phát triển.

Nghiên cứu hệ thống từ số liệu của 6 trung tâm ở các nước Châu Âu, Châu Á và Nam Mỹ giai đoạn 1990-2007 cũng cho thấy tiền sử nằm viện (OR 2,9, KTC 95% 1,6-3,6), tiền sử lưu trú dài ngày ở các cơ sở chăm sóc y tế (OR 7,5, KTC 95% 3,5-16,3) và tiền sử đặt ống thông tiểu (OR 4,3, KTC 95% 2,8-6,7) là 3 trong số các yếu tố nguy cơ nhiễm vi khuẩn đường ruột sinh ESBL trên các bệnh nhân ngoại trú [41].

1.2.1.2. Sử dụng kháng sinh trong cộng đồng

Trong cộng đồng, KS cũng được sử dụng một cách không hợp lý và là nguyên nhân chính dẫn tới sự gia tăng KKS ngoài môi trường bệnh viện. Sử dụng KS không hợp lý không chỉ dẫn tới tình trạng kháng ở từng cá thể mà cho cả quần thể [121].

Nghiên cứu tại Thụy Sĩ thực hiện trong 8 năm (2000-2007) tại 1 bệnh viện đại học Y đã phân tích dữ liệu về số chủng *E. coli* kháng 1 số loại KS, số liệu về lượng KS được sử dụng trong cộng đồng ở khu vực đó. Chủng *E. coli* KKS được

coi là chủng cộng đồng nếu được ghi nhận trước 48 tiếng sau khi nhập viện và được coi là chủng bệnh viện nếu thu được từ 48 tiếng sau khi nhập viện. Nhóm nghiên cứu đã báo cáo mối tương quan giữa lượng KS fluoroquinolone sử dụng trong cộng đồng với số chủng *E. coli* cộng đồng kháng ciprofloxacin và cefepime ghi nhận được [121].

Nhóm nghiên cứu Anh đã theo dõi số liệu về sử dụng KS trong cộng đồng và tính nhạy cảm của các tác nhân sinh ESBL với ciprofloxacin trong 5 năm 2005-2009 và cũng báo cáo tác động tích cực của quy định hạn chế sử dụng fluoroquinolones trong cộng đồng tới tỷ lệ KKS. Theo đó, lượng KS fluoroquinolones (chủ yếu là ciprofloxacin) giảm từ 0,65 DDD/1000 dân-ngày còn 0,54 DDD/1000 dân-ngày đã làm tăng tính nhạy cảm của các chủng ESBL với ciprofloxacin từ 16% lên 28% [37].

Nghiên cứu tại Ba Vì, Hà Nội năm 2007 trên 818 trẻ từ 6 tháng tới 5 tuổi đã ghi nhận mối liên quan giữa việc sử dụng KS trong vòng 3 tuần trước đó và tỷ lệ kháng, cụ thể sử dụng sulphonamide và betalactam với tỷ lệ kháng ampicillin, sử dụng co-trimoxazole với tỷ lệ kháng co-trimoxazole [13, 19].

Tự điều trị là một thực hành phổ biến trong cộng đồng tại Việt Nam. Tại Việt Nam, thực hành bán thuốc không cần đơn tại Việt Nam rất phổ biến và hầu như không bị phạt mặc dù Luật Dược năm 2005 đã quy định rõ KS là loại thuốc bắt buộc phải bán theo đơn. Người dân thường lựa chọn tự chữa trị vì rẻ tiền và tốn ít thời gian hơn là đi khám tại các cơ sở y tế. Nghiên cứu tiến hành tại Nam Định năm 2016 cho thấy hơn 1 nửa (55,8%) người chăm sóc trẻ đã từng sử dụng KS không theo đơn cho trẻ trong vòng 6 tháng gần nhất cho các triệu chứng như ho, sốt, viêm họng, chảy nước mũi. Các hiệu thuốc tư nhân là nguồn cung cấp chính KS, chiếm 85,3% [93]. Hiệu thuốc thường là địa chỉ đầu tiên người bệnh tìm đến khi đau ốm với mục tiêu tiết kiệm thời gian và chi phí. Hầu hết các thuốc được bán không có đơn thuốc kèm theo. Người bệnh mô tả triệu chứng bệnh, và người bán thuốc với kiến thức hạn chế về y, dược, sẽ đưa ra các hướng dẫn lựa chọn [60]. Thực hành tự điều trị dẫn đến thực trạng sử dụng KS không phù hợp

trong cộng đồng tuy nhiên việc quản lý sử dụng KS trong cộng đồng khó khăn hơn nhiều so với quản lý trong bệnh viện.

1.2.1.3. Sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi

KS được sử dụng để chữa bệnh cho người, cho động vật, trong các sản phẩm làm sạch, trong thuốc trừ sâu, trong nuôi trồng thủy sản và chăn nuôi. KS trong nông nghiệp được sử dụng nhiều nhất là trong chăn nuôi [107]. Việc sử dụng KS trong chăn nuôi đã giúp tăng cường sức khỏe vật nuôi, nâng cao năng suất, giảm bệnh tật và chết trong đàn, nâng cao giá trị dinh dưỡng, chất lượng và giảm giá thành của sản phẩm. Tuy nhiên 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 [14, 107]. KS được dùng với mục đích kích thích tăng trưởng bằng cách bổ sung vào thức ăn cho vật nuôi với liều thấp hơn liều điều trị nhằm tăng cường chuyển hóa thức ăn của động vật, giảm thời gian nuôi dưỡng cũng như giảm tổng lượng thức ăn [46]. Nghiên cứu cho thấy 93% tổng số KS được sử dụng trong chăn nuôi ở Bỉ với mục đích phòng bệnh và chỉ có 7% KS được dùng cho mục đích chữa bệnh hay kiểm soát nhiễm khuẩn cho đàn. Loại KS thông dụng nhất trong nông nghiệp là penicillin và tetracyclines [81]. Trong số các loại KS được phê duyệt dùng để kích thích tăng trưởng trong thức ăn chăn nuôi tại Hoa Kỳ, một số có thành phần hoá học tương tự hoặc chính là các dược chất dùng trong điều trị bệnh cho người trong khi một số loại hiện không còn được sử dụng cho người [107].

Tương tự như ở người, việc sử dụng KS trong chăn nuôi đã gây ra hiện tượng KKS trên vật nuôi [119]. Việc sử dụng KS trong một thời gian dài (trên 10 ngày) được cho là sẽ chọn lọc và giúp vi khuẩn kháng lại không chỉ loại KS đang dùng mà cả một số loại KS khác [23]. Nghiên cứu thử nghiệm trên gà nuôi trong trang trại đã cho thấy sau 2 tuần ăn thức ăn chứa KS oxytetracycline, 90% số gà mang vi khuẩn kháng kháng hoàn toàn với KS này trong đường ruột, người ta ghi nhận cả hiện tượng đa kháng với một số KS khác như sulfonamides, streptomycin, ampicillin và carbenicilin, trong khi đó gà ở nhóm đối chứng không

ăn thức ăn bổ sung KS cũng phát triển hiện tượng kháng nhưng ở mức độ thấp hơn [107]. Ngược lại, việc hạn chế sử dụng KS trong chăn nuôi sẽ làm giảm tỷ lệ KKS ở vật nuôi. Kinh nghiệm của các nước Châu Âu cho thấy điều này. Ví dụ như tại Đan Mạch, avoparcin (1 loại KS tương tự vancomycin) bị cấm thêm vào thức ăn vào kể từ 1995, trong vòng 5 năm, tỷ lệ khuẩn cầu ruột kháng vancomycin đã giảm từ 72,7% xuống còn 5,8% [107, 119]. Nghiên cứu tại Trung Quốc cũng cho thấy tỷ lệ chủng vi khuẩn mang gen *mcr-1* kháng lại KS colistin suy giảm nhanh chóng và toàn diện sau khi nước này ban hành lệnh cấm sử dụng KS colistin trong thức ăn chăn nuôi [108].

Tại Việt Nam, theo báo cáo tại Hội thảo Nhóm đối tác toàn cầu về KKS tổ chức ở Hà Nội năm 2009, 70% các loại thuốc sử dụng cho động vật là KS. Nhiều loại KS quan trọng sử dụng cho người cũng đang được sử dụng trong chăn nuôi như beta-lactams, aminoglycosides, macrolides, tetracyclines, quinolones, phenicols...[15] Giám sát cả hai lĩnh vực chăn nuôi và nuôi trồng thủy sản cho thấy, tất cả các trang trại chăn nuôi đều sử dụng KS. Các KS được sử dụng là: tylosin (16%), amoxicillin (12%), gentamicin (9%), enrofloxacin (7%), penicillin (6%), lincomycin (6%), tiamulin (6%), colistin (5%), streptomycin (5%), norfloxacin (5%), tetracyclin (4%), ampicillin (4%) và florphenicol (3%) [60]. Việc sử dụng thức ăn chăn nuôi trộn sẵn KS chiếm tỷ lệ rất cao. Trong mỗi chu kỳ chăn nuôi, 72% số trang trại chăn nuôi lợn sử dụng ít nhất 1 loại KS để phòng bệnh hoặc kích thích tăng trưởng [95]

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 [30, 74, 75, 120], trong thức ăn chăn nuôi cũng chứa KS bao gồm các loại KS được phép và đôi khi cả những loại bị cấm bổ sung vào thức ăn chăn nuôi [105]. Tuy nhiên dữ liệu về sử dụng KS trong chăn nuôi còn nhiều hạn chế.

Colistin là một trong các loại KS được sử dụng phổ biến trong chăn nuôi ở Việt Nam. Theo Danh mục thuốc thú y được phép lưu hành tại Việt Nam ban hành kèm theo thông tư 10/2016/TT-BNNPTNT của Bộ Nông nghiệp và Phát

triển nông thôn Việt Nam, có tới 970 loại thuốc sản xuất trong nước và 230 loại thuốc nhập khẩu có hoạt chất chính là colistin. Trong khi các loại KS thế hệ cũ hơn như ciprofloxacin, fluoroquinolones thì đã bị cấm sử dụng [45]. Đối với KS trong thức ăn chăn nuôi, colistin vẫn được phép bổ sung dưới dạng colistin sulphate với hàm lượng quy định vào thức ăn chăn nuôi dành cho gà, lợn và bò nhằm mục đích kích thích tăng trưởng [44].

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. Nghiên cứu tại Tiền Giang năm 2012-2013 thực hiện trên các đối tượng là nông dân của các trang trại gà, người dân không làm chăn nuôi sinh sống tại cùng huyện và người dân không làm chăn nuôi sinh sống tại khu vực thành thị của tỉnh này. Các đối tượng được ghép cặp theo tuổi và giới. Kết quả cho thấy, người nông dân từ các trang trại có mẫu gà nhiễm *E. coli* mang gen kháng colistin *mcr-1* có nguy cơ nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* gấp 5,3 lần (KTC 95%: 2,2-12,7) so với người sống ở khu vực thành thị [29].

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

1.2.2.1. Các yếu tố nhân khẩu học

Trình độ học vấn: Trình độ học vấn tác động tới hành vi tìm kiếm dịch vụ y tế. Theo nghiên cứu tại Ba Vì năm 2007, người chăm sóc có trình độ học vấn cao hơn có xu hướng tự điều trị trong khi những người có học vấn thấp hơn thường tới khám tại các cơ sở y tế công lập trong khi cán bộ y tế của các cơ sở y tế công lập lại có xu hướng kê đơn KS để điều trị viêm đường hô hấp cấp tính nhẹ nhiều hơn so với phòng khám tư hoặc hiệu thuốc (80% so với 73% và 61%) và người chăm sóc trẻ có xu hướng ít sử dụng KS nhất (22%) [18]. Điều này dẫn tới việc người có trình độ học vấn thấp hơn sẽ sử dụng nhiều KS hơn.

Điều kiện sống: Theo nghiên cứu tại Ba Vì năm 2017, không ghi nhận mối liên quan giữa KKS với điều kiện kinh tế xã hội nhưng lại có mối liên hệ giữa yếu tố này với việc sử dụng KS, cụ thể là trẻ sống trong gia đình nghèo hơn

sử dụng nhiều KS hơn [52, 76]. Nghiên cứu tại Nam Định năm 2016 cũng cho thấy có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa thu nhập bình quân hộ gia đình thấp với tình trạng sử dụng KS không theo đơn [93]. Nghiên cứu này cũng báo cáo rằng trẻ sinh sống ở khu vực đồng bằng ít khả năng kháng tetracycline hơn các khu vực khác, trẻ sống ở khu vực miền núi nhiều khả năng mang vi khuẩn kháng erythromycin và co-trimoxazole hơn các khu vực còn lại. Mối liên quan này được lý giải là do tỷ lệ sử dụng KS ở khu vực miền núi cao hơn các vực khác của nghiên cứu [13, 17, 18] và điều này có thể là do tác động của một số yếu tố khác như học vấn hay điều kiện vệ sinh và nước sạch.

1.2.2.2. Kiến thức của người dân

Nghiên cứu được tiến hành tại Hà Nội năm 2007 trên 823 trẻ theo dõi liên tục trong 28 ngày để ghi chép bệnh tật và việc sử dụng thuốc. Kết quả cho thấy chỉ có 13% số người chăm sóc có kiến thức đúng về sử dụng KS trong điều trị viêm đường hô hấp cấp tính. Cụ thể 85% số người chăm sóc cho rằng không cần dùng KS nếu trẻ không sốt, tuy nhiên nếu trẻ có sốt thì 45% số người chăm sóc sẽ dùng KS, đối với những trường hợp trẻ có các triệu chứng của viêm phổi, chỉ 46% người chăm sóc cho rằng KS là cần thiết, 42% số người chăm sóc cho rằng không cần dùng KS để điều trị bất cứ triệu chứng gì của viêm đường hô hấp cấp tính và 37% cho rằng KS cần thiết trong mọi trường hợp [18].

Thiếu kiến thức dẫn tới thực hành sai trong sử dụng thuốc. Nghiên cứu tại Nam Định năm 2016 cho thấy một tỉ lệ cao (55,8%) người chăm sóc chính đã từng sử dụng KS không theo đơn cho trẻ khi trẻ ốm trong vòng 6 tháng gần nhất cho các triệu chứng như ho (31%), sốt (29,3%), viêm họng (20,7%), chảy nước mũi (12,9%). Tình trạng sử dụng KS không theo đơn của người chăm sóc chính liên quan có ý nghĩa thống kê với sự kém hiểu biết về KS [93]. Ngoài ra, KS thường được dùng trong khoảng 3,5 ngày [17, 18], quá ngắn cho so với thời gian điều trị tối thiểu được khuyến cáo là 5 ngày [60].

Mối liên quan giữa kiến thức và thái độ tới các thực hành trong sử dụng KS trong chăn nuôi đã được báo cáo từ nghiên cứu tại Bangladesh và một số

ngiên cứu trước đó [62]. Nhiều báo cáo đã cho thấy các can thiệp nâng cao kiến thức và nhận thức của người chăn nuôi như các khóa đào tạo chăn nuôi, truyền thông giáo dục, tăng cường tiếp cận và hỗ trợ từ cán bộ thú y làm giảm các thực hành sai trong sử dụng KS cho vật nuôi [62, 63, 124].

Trong chăn nuôi, việc lựa chọn KS và liều dùng được quyết định chủ yếu dựa trên kinh nghiệm của chủ hộ (44%), 33% theo hướng dẫn của bác sỹ thú y, 17% theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các chủ hộ chăn nuôi không tuân thủ theo qui chế về việc ngừng sử dụng KS trước khi thu hoạch sản phẩm từ động vật [60] dẫn tới tồn dư KS trên sản phẩm chăn nuôi. Giám sát tình hình sử dụng KS tại 30 trại lợn thịt và 30 trại nuôi gà thịt trên địa bàn tỉnh Hưng Yên và Hà Tây cho thấy 60% mẫu lợn thịt và 70% mẫu gà thịt nhiễm tetracyclins hoặc tylosins. Một số mẫu vượt quá nồng độ cho phép. Giám sát ở 55 trang trại nuôi lợn thịt ở tỉnh Đồng Nai và Bình Dương cho thấy tình trạng nhiễm KS khá phổ biến: 52% nhiễm tylosin, 41% nhiễm tetracycline, 7% nhiễm oxytetracycline và 2% nhiễm chlortetracyclin. Một số mẫu cũng vượt quá ngưỡng giới hạn cho phép [15].

1.2.2.3. Kiến thức và thực hành của bác sỹ trong bệnh viện

Theo quy định, tất cả các bệnh viện phải thành lập Hội đồng Thuốc và Điều trị. Hiện nay, hầu hết các bệnh viện tuyến trung ương đều đã có hội đồng này, tuy nhiên ở một số bệnh viện tuyến cơ sở thì vẫn còn thiếu và yếu. Đối với một số bệnh viện tuyến quận/huyện, thành phần hội đồng thường thiếu dược sỹ hoặc chuyên gia vi sinh và nguồn lực cho hội đồng hoạt động [60]. Việc thiếu Hội đồng thuốc và điều trị cũng như thiếu cập nhật các tài liệu hướng dẫn điều trị đối với các bệnh nhiễm khuẩn, thiếu cơ chế quản lý, hỗ trợ mạnh mẽ trong hướng dẫn thực hành kê đơn KS dẫn tới kiến thức và thực hành kém trong kê đơn thuốc có KS của bác sỹ. Hiệu quả của việc hạn chế sử dụng KS fluoroquinolones đối với việc giảm tỷ lệ chủng kháng ESBL ở 4 bệnh viện trong nghiên cứu của Anh [37] cho thấy tầm quan trọng của việc rà soát các hướng dẫn và tăng cường kiểm soát thực hành kê đơn KS trong các bệnh viện trong chiến lược nhằm giảm tỷ lệ KKS.

Bên cạnh đó, nhận thức hạn chế về KKS của cán bộ y tế cũng góp phần vào việc kê đơn KS không hợp lý. Việc kê đơn 1 loại KS nào đó có thể không thực sự phù hợp với 1 số trường hợp bệnh cụ thể nhưng KS đó vẫn được kê dựa trên thói quen của bác sỹ. Nghiên cứu tại Mỹ năm 2000 ghi nhận mối tương quan giữa lượng KS fluoroquinolones (gồm levofloxacin và ciprofloxacin) sử dụng trong cộng đồng với lượng sử dụng KS này trong bệnh viện. Lý giải cho hiện tượng này các tác giả cho rằng thực hành kê đơn trong bệnh viện đã tác động tới thực hành kê đơn trong cộng đồng, cụ thể là bác sỹ thường kê fluoroquinolones cho các bệnh nhân nội trú có xu hướng thích kê cùng loại KS đó cho bệnh nhân ngoại trú [87]. Tại Việt Nam, trong chương trình đào tạo tại các trường Y, dược, thời lượng giảng dạy về KS, KKS và cách kê đơn chiếm tỉ lệ rất nhỏ dẫn tới kiến thức của bác sỹ còn nhiều hạn chế [60]. Nghiên cứu mô tả cắt ngang được thực hiện trên 208 bác sỹ lâm sàng tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Thái Bình và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Nam Định năm 2017 cho thấy 100% bác sỹ cho rằng kiến thức về KS là quan trọng đối với bác sỹ lâm sàng và vấn đề kháng thuốc là một vấn đề cấp thiết và 82,7% bác sỹ tự tin về việc sử dụng tối ưu hóa KS. Tuy nhiên có tới gần 1 nửa số bác sỹ trả lời sai 3/7 câu hỏi của nghiên cứu, gần 1 nửa số bác sỹ kê KS hơn 1 lần mỗi ngày. Điều này cho thấy các bác sỹ ở hai bệnh viện đã có thái độ đúng với vấn đề sử dụng KS, tuy nhiên kiến thức về sử dụng KS còn chưa toàn diện [94].

Ngoài ra, cũng có tài liệu nhắc tới các tác động của một số lợi ích kinh tế tới thực hành kê đơn của bác sỹ [60].

1.2.2.4. Kiến thức và thực hành của nhà cung cấp dịch vụ y tế trong cộng đồng

Kiến thức, thực hành của nhà cung cấp dịch vụ y tế như cán bộ y tế xã, cộng tác viên y tế, nhân viên y tế ở phòng khám tư, người bán thuốc... tác động trực tiếp tới việc sử dụng KS của người dân trong cộng đồng. Nghiên cứu ở Ba Vì trên 823 trẻ năm 2007 cho thấy việc tìm kiếm dịch vụ y tế tại bất kỳ cơ sở y tế nào: hiệu thuốc, phòng khám công hay tư đều làm tăng khả năng sử dụng KS trong điều trị viêm đường hô hấp cấp nhẹ; và 82% trường hợp sử dụng KS không

cần thiết là theo lời khuyên của người cung cấp dịch vụ y tế [18]. Vì vậy nếu nhà cung cấp có kiến thức, thực hành không tốt trong sử dụng KS sẽ dẫn tới thực hành sai trong cộng đồng.

Do thói quen tự điều trị rất phổ biến tại Việt Nam, hiệu thuốc là nơi cung cấp dịch vụ y tế thường được tìm đến đầu tiên trong cộng đồng, vì vậy kiến thức và thực hành của người bán thuốc có tác động lớn tới việc sử dụng thuốc của người dân. Thực tế tại Việt Nam, các hiệu thuốc được đăng ký dưới tên của 1 dược sỹ nhưng người đứng bán và trực tiếp tư vấn cho người dân lại không phải là người dược sỹ này mà là những người có trình độ chuyên môn thấp hơn. Nhiều hiệu thuốc ở các khu vực nông thôn không có giấy phép. Nghiên cứu tại Hải Dương năm 2012 mô tả thực trạng kiến thức và thực hành của người bán lẻ thuốc tư nhân cho thấy kiến thức và thực hành của người bán lẻ thuốc đều rất hạn chế. Chỉ khoảng 1/3 (39,2%) người bán lẻ thuốc trả lời đúng tất cả 5 thuốc phải kê đơn, 94% bán thuốc trong danh mục kê đơn mà không có đơn, 95% bán thuốc KS mà không có đơn [66].

1.2.2.5. Đặc điểm hoạt động chăn nuôi

Quy mô chăn nuôi là yếu tố liên quan đến thực hành sử dụng KS của người chăn nuôi. Một số nghiên cứu tại Thái Lan đã xác định được tỷ lệ nhiễm khi khuẩn kháng thuốc cao hơn ở các trang trại có quy mô lớn hơn [86, 112]. Nguyên nhân là do thực hành sử dụng khác nhau ở các quy mô chăn nuôi khác nhau khi một số nghiên cứu cho thấy KS được sử dụng nhiều hơn ở các trang trại quy mô lớn hơn [86, 98].

Nghiên cứu ở nhiều nước tại Châu Phi cũng cho thấy loại vật nuôi là yếu tố liên quan đến thực hành liên quan đến KS của người nông dân khi nông dân ở trang trại gia cầm có thực hành tốt hơn so với nông dân ở trang trại chăn nuôi gia súc [51].

1.2.2.6. Các yếu tố của hệ thống y tế và thú y

Chi phí dành cho y tế: Tự chi trả được ước tính chiếm tới 61% tổng chi phí cho y tế của người dân Việt Nam. Một nghiên cứu báo cáo rằng trung bình mỗi

lần ốm người dân Việt Nam đã chi trả khoảng 1 đô la Mỹ nếu tự chữa trị, 1,7 đô la Mỹ nếu đi phòng khám tư và 4,6 đô la Mỹ nếu đi khám ở các cơ sở nhà nước [28]. Như vậy, việc tự mua thuốc về điều trị được cho là kinh tế hơn so với việc đi khám bác sỹ để lấy đơn thuốc [30] do đó càng thúc đẩy thực hành tự điều trị của người dân. Một yếu tố kinh tế khác tác động tới việc sử dụng KS không hợp lý là tâm lý muốn mau khỏi bệnh của người dân, hạn chế tiến triển nặng của bệnh dẫn tới gia tăng chi phí y tế thuốc men, cha mẹ không muốn phải nghỉ việc nhiều ngày để trông con...[18]

Quản lý nhà nước trong lĩnh vực y tế và thú y: Tại Việt Nam, có nhiều cơ quan có chức năng quản lý nhà nước và hướng dẫn chuyên môn trong lĩnh vực sử dụng thuốc trong y tế và thú y. Tại Bộ Y tế là Cục quản lý dược và Cục quản lý khám chữa. Tại Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn là Cục Thú y và Cục Quản lý Chất lượng Nông lâm Thủy sản. Các cơ quan này cũng đã ban hành rất nhiều các văn bản quy phạm pháp luật, các hướng dẫn kỹ thuật trong lĩnh vực mình phụ trách, tuy nhiên việc giám sát thực hiện các văn bản này còn lỏng lẻo, thực tế thực hiện còn nhiều hạn chế. Ví dụ như trong lĩnh vực y tế, có quy chế Kê đơn thuốc trong điều trị ngoại trú quy định rõ danh mục thuốc phải kê đơn, điều kiện đối với người kê đơn thuốc, thời hạn giá trị của đơn thuốc...Tuy nhiên thực tế trong cộng đồng người dân có thể dễ dàng mua thuốc KS mà không có đơn và việc mua theo tư vấn của người bán thuốc là rất phổ biến. Trong lĩnh vực thú y, cũng quy định rõ các loại KS bị cấm sử dụng cho động vật, đặc biệt kể từ khi nước ta tham gia vào Tổ chức thương mại thế giới (WTO). Nếu dư lượng KS bị cấm vượt quá giới hạn quy định, các trang trại bị cấm giết mổ và xuất sản phẩm ra thị trường. Tuy nhiên, quy định này chỉ tập trung vào các trang trại chăn nuôi cho xuất khẩu ra nước ngoài chứ không phải sản phẩm bán ra cho thị trường trong nước, đặc biệt là sản phẩm chăn nuôi nhỏ lẻ và bán ra tại các chợ truyền thống, vì vậy hầu như người nông dân không tuân thủ quy định về thời gian dừng KS trước khi giết mổ.

Năng lực xét nghiệm: là một yếu tố tác động tới sử dụng KS trong bệnh

viện. Hiện nay, chỉ có các bệnh viện tuyến trung ương hoặc các bệnh viện lớn tuyến tỉnh có khả năng tiến hành nuôi cấy vi khuẩn, định danh và xác định mức độ nhạy cảm KS. Ngay cả với các phòng xét nghiệm hiện có, việc đảm bảo và quản lý chất lượng phòng xét nghiệm cũng còn nhiều hạn chế và chưa được thực hành đầy đủ [60].

Quá tải bệnh viện: cũng là một yếu tố ảnh hưởng tiêu cực tới thực hành kê đơn của bác sỹ cũng như chất lượng kiểm soát nhiễm khuẩn trong bệnh viện. Theo báo cáo Phân tích thực trạng sử dụng KS và KKS tại Việt Nam năm 2010, bệnh nhân đến khám ngoại trú tại các bệnh viện chuyên khoa ngày càng tăng và lý do đến khám đa số là những bệnh thông thường trong khi đó tuyến y tế cơ sở có thể điều trị được. Mỗi ngày một bác sỹ có thể khám từ 50-100 bệnh nhân, dẫn đến việc giảm chất lượng của công tác khám chữa bệnh và kiểm soát nhiễm khuẩn [60].

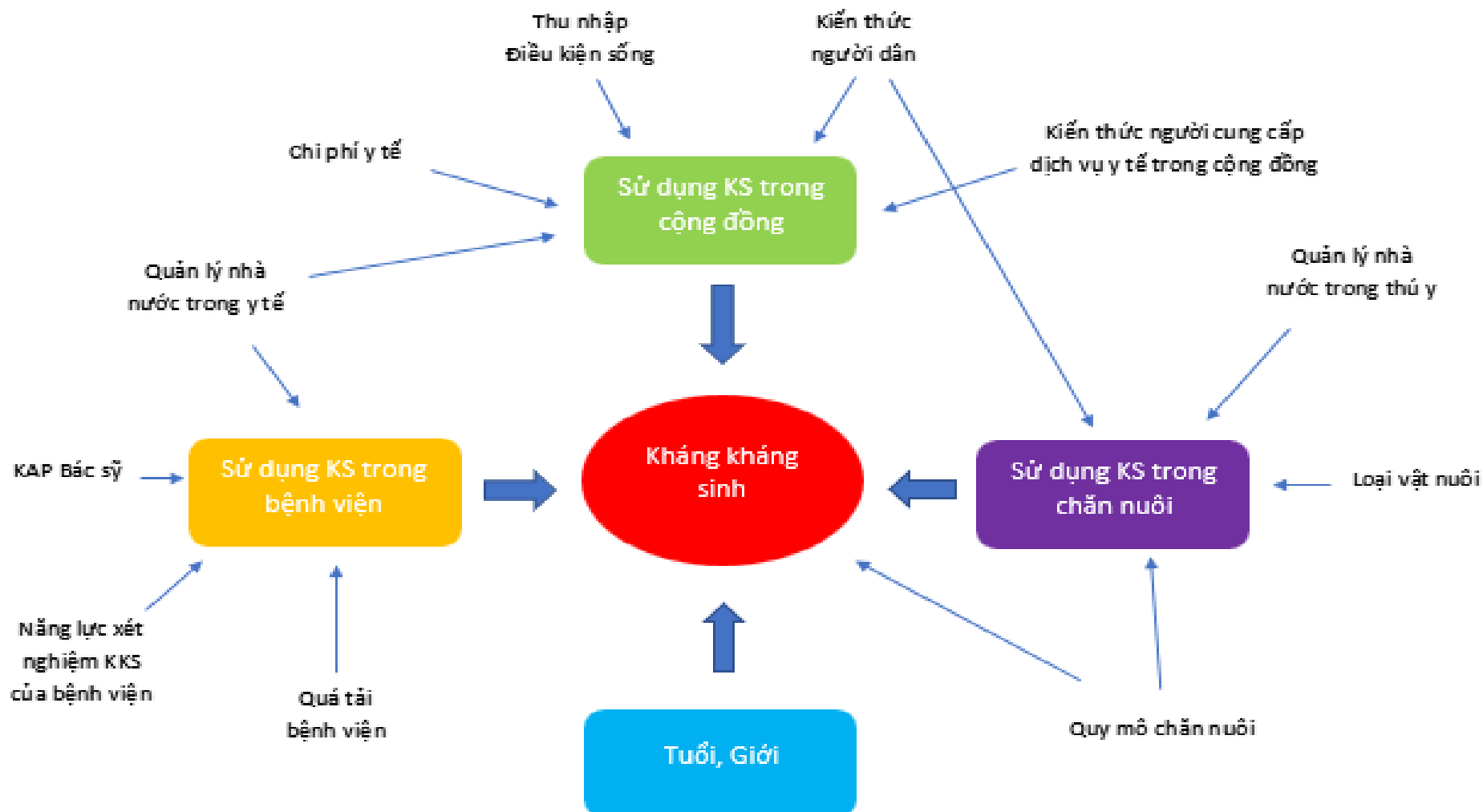
1.2.3. Một số yếu tố khác liên quan đến kháng kháng sinh trên người

Ngoài thực hành sử dụng KS, tuổi và giới tính cũng được cho là có liên quan đến tình trạng nhiễm vi khuẩn KKS trên người

Nghiên cứu tại Ba Vì, Hà Nội năm 2007 trên 818 trẻ từ 6 tháng tới 5 tuổi ghi nhận mối liên quan giữa độ tuổi với KKS. So với nhóm trẻ từ 2 tuổi trở lên, trẻ từ 6 tháng tới dưới 2 tuổi có tỷ lệ KKS cao hơn từ 1,3 đến 1,8 lần tùy loại KS (ampicillin OR = 1,8, KTC 95%: 1,3-2,4; co-tri- moxazole OR = 1,5, KTC 95%: 1,1-2,0 và chloramphenicol OR = 1,3, KTC 95%: 1,0-1,8) [13, 18].

Nghiên cứu hệ thống từ số liệu của 6 trung tâm ở các nước Châu Âu, Châu Á và Nam Mỹ giai đoạn 1990-2007 cũng cho thấy tuổi là một yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm vi khuẩn đường ruột sinh ESBL trên các bệnh nhân ngoại trú đến khám tại các trung tâm này, theo đó độ tuổi trên 65 có nguy cơ cao hơn (OR = 2,4, KTC 95%: 1,9-4,4). Nghiên cứu này cũng cho thấy mối liên quan giữa tình trạng nhiễm với giới tính. Nam giới có nguy cơ nhiễm cao hơn 2,5 lần so với nữ giới (OR = 2,5, KTC 95%: 1,7-3,7) [41].

1.2.4. Khung lý thuyết về các yếu tố liên quan đến kháng kháng sinh



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

1.3. Sự lan truyền của vi khuẩn kháng kháng sinh

1.3.1. Cơ chế lan truyền của gen kháng kháng sinh

Vi khuẩn có thể đáp ứng lại các áp lực chọn lọc và thích nghi với môi trường sống mới là nhờ vào hiện tượng đột biến (biến đổi vật chất di truyền và chức năng gen) và khả năng thu nhận các đặc tính di truyền mới (truyền gen ngang - nhận gen mới từ vi khuẩn khác). Trái ngược với đột biến, truyền gen ngang cho phép vi khuẩn thích nghi với môi trường với tốc độ nhanh hơn nhiều do thu nhận những phân tử ADN lớn từ vi khuẩn khác trong mỗi lần chuyển.

Có 3 cơ chế truyền gen ngang của vi khuẩn bao gồm biến nạp, tải nạp và tiếp hợp), trong đó tiếp hợp là cơ chế phổ biến nhất. Tiếp hợp là quá trình tái tổ hợp di truyền mà trong đó phân tử ADN được truyền từ một tế bào vi khuẩn “cho” sang một tế bào vi khuẩn “nhận” thông qua sự tiếp xúc trực tiếp giữa 2 tế bào này.

Hiện tượng tiếp hợp được mã hóa bởi plasmid hoặc transposon (các đoạn gen nhảy) và thường liên quan đến plasmid tiếp hợp ở vi khuẩn. Nhiều plasmid tiếp hợp và gen nhảy tiếp hợp sở hữu các hệ thống truyền cho phép chúng truyền ADN không chỉ giữa các tế bào cùng loài mà cả khác loài. Sử dụng phương thức tương tự như sao chép DNA, một nuclease sẽ cắt một sợi của plasmid và sợi DNA này sẽ di chuyển sang tế bào vi khuẩn nhận. Sợi còn lại vẫn nằm ở tế bào cho. Tiếp theo, cả tế bào cho và nhận sẽ tổng hợp sợi bổ sung và kết quả là cả 2 tế bào vi khuẩn lúc này đều mang plasmid tiếp hợp. Đây cũng chính là cơ chế các plasmid kháng mã hóa cho nhiều gen KKS được truyền từ một tế bào vi khuẩn cho sang một tế bào vi khuẩn nhận.

Nhờ cơ chế lan truyền này gen KKS có thể lây lan giữa các nguồn, giữa các vật chủ với nhau. Gen kháng từ các chủng trong bệnh viện có thể lây lan từ người bệnh này sang người bệnh khác và lan ra cộng đồng thông qua nhưng người bệnh xuất viện hoặc nhiễm ra môi trường thông qua chất thải bệnh viện không được xử lý đúng cách và ngược lại có thể lây lan từ cộng đồng vào trong bệnh viện thông qua các bệnh nhân nhập viện. Nó cũng có thể lây truyền từ hoạt động

chăn nuôi sang người thông qua chuỗi thức ăn, từ chất thải chăn nuôi và cũng có thể lây lan từ người sang động vật.

1.3.2. Một số phương pháp hiện đại trong nghiên cứu sự lan truyền của vi khuẩn kháng kháng sinh

1.3.2.1. Phương pháp phát hiện sự có mặt của các gen kháng kháng sinh bằng phản ứng chuỗi polymerase (Polymerase Chain Reaction – PCR)

Đa số các nghiên cứu về đề kháng của vi khuẩn đều sử dụng kỹ thuật này để phát hiện các gen KKS của vi khuẩn. Các gen này dù nằm trên nhiễm sắc thể hay plasmid đều có thể được dễ dàng phát hiện nhờ các cặp mồi đặc hiệu cho từng gen.

1.3.2.2. Phương pháp xác định cơ chế kháng kháng sinh qua trung gian plasmid bằng kỹ thuật S1-PFGE và Southern blotting

Plasmid là yếu tố ADN nằm ngoài nhiễm sắc thể, có mặt trong hầu hết các chủng vi khuẩn KKS hiện nay. Phần lớn gen KKS được tìm thấy trên các loại plasmid khác nhau của vi khuẩn nên việc phân tích các plasmid này hết sức quan trọng. Để xác định liệu một gen KKS có nằm trên plasmid hay không, người ta thường sử dụng kỹ thuật S1-PFGE kết hợp với Southern blotting [40, 90].

1.3.2.3. Các phương pháp giải trình tự gen (Sanger, WGS)

Việc giải mã trình tự của các bộ gen khác nhau cho phép chúng ta hiểu rõ hơn về đặc tính và biến đổi bộ gen của vi khuẩn. Trong nghiên cứu vi khuẩn KKS, kỹ thuật sequencing được sử dụng rộng rãi để giải trình tự các gen KKS cũng như phân tích các plasmid mang gen KKS. Đây là một phương pháp chính xác nhất để xác định các đặc tính KKS của vi khuẩn. Việc ứng dụng kỹ thuật giải trình tự hệ gen của vi khuẩn trong nghiên cứu về vi khuẩn KKS phù hợp với xu thế y học chính xác (precision medicine) của y học hiện đại.

Phương pháp giải trình tự gen của Sanger bằng điện di mao quản được coi là chuẩn vàng trong các phương pháp giải trình tự gen hiện nay. Tuy nhiên, gần đây phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới đã ra đời. Các phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới lần đầu ra đời vào năm 2005 đã khắc phục những hạn chế

của phương pháp giải trình tự truyền thống trước đó. Không chỉ có tốc độ lớn mà kỹ thuật mới này còn cho phép thực hiện song song một số lượng lớn trình tự trong vòng vài tuần mà nếu dùng phương pháp Sanger sẽ phải mất đến hàng năm mới có thể hoàn thành.

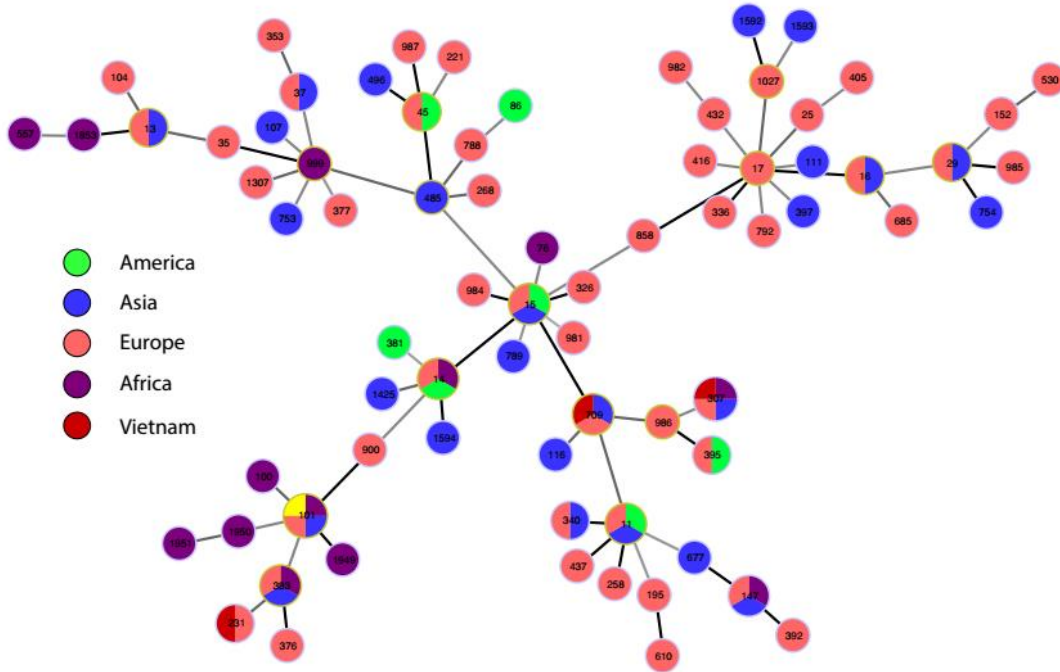
1.3.2.4. Phương pháp điện di xung trường (*Pulsed-Field Gel Electrophoresis - PFGE*)

Phương pháp điện di xung trường sử dụng dòng điện 1 chiều để tách các phân tử ADN có kích thước khác nhau. Phương pháp này có thể phân tách các phân tử ADN có kích thước lên tới 10 Mb và vẫn được coi là chuẩn vàng để đánh giá mối liên hệ về kiểu gen của các chủng kháng thuốc. Kết quả điện di xung trường thường được phân tích bằng phần mềm Bionumeric để lập cây phả hệ thể hiện quan hệ giữa các chủng.

1.3.2.5. Phương pháp phân loại trình tự đa vị trí (*Multiple locus sequence typing - MLST*)

Phương pháp này giúp phân loại các chủng vi khuẩn dựa vào trình tự của một số (thường là 7) gen "giữ nhà" (gen housekeeping) trong hệ gen. MLST xác định các allele khác nhau của các gen giữ nhà bằng kỹ thuật giải trình tự gen. Các chủng khác nhau sẽ có profile khác nhau và do đó có loại trình tự (Sequence type - ST) khác nhau. Hầu hết các loài vi khuẩn đều có khá nhiều allele của mỗi gen giữ nhà. Điều này cho phép tạo ra hàng tỉ tổ hợp 7 gen giữ nhà khác nhau.

Để phân tích các dữ liệu thu được từ MLST, người ta sẽ đối chiếu ST của chủng vi khuẩn nghiên cứu với cơ sở dữ liệu và phân bố của các ST khác trên thế giới. Mối liên hệ giữa các ST sẽ được biểu diễn ở dạng biểu đồ (Hình 1.4). Dựa vào biểu đồ này người ta có thể dễ dàng xác định được mối liên hệ giữa các chủng vi khuẩn theo nhiều biến số khác nhau như năm phân lập, địa điểm phân lập, loại bệnh v.v.



Hình 1.4. Ví dụ biểu đồ biểu diễn mối liên hệ giữa các ST khác nhau

Phương pháp này ngày càng được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực nghiên cứu và là một công cụ hiệu quả trong các nghiên cứu về dịch tễ học phân tử của các chủng vi khuẩn gây bệnh. Nhờ kỹ thuật này mà ta có thể theo dõi sự phân bố và lan truyền của các chủng vi khuẩn, cung cấp nguồn thông tin quý báu để đề xuất các giải pháp can thiệp [101].

1.3.3. *Thực trạng lan truyền của vi khuẩn kháng kháng sinh*

1.3.3.1. *Trong bệnh viện*

Nghiên cứu về KKS trong bệnh viện rất nhiều và phong phú. Các kỹ thuật hiện đại, mới trong nghiên cứu KKS thường được đưa vào áp dụng trên các chủng vi khuẩn thu được từ bệnh viện đầu tiên. Các nghiên cứu cho thấy khả năng lây lan của gen kháng trong nội bộ bệnh viện cũng như giữa các bệnh viện.

Nghiên cứu được thực hiện tại bệnh viện trường đại học của Trung Quốc trên các chủng *K. pneumoniae* sinh carbapenemase năm 2013-2014 cho thấy tất cả các chủng đều mang gen KPC-2. Kết quả phân tích PFGE và MLST cho thấy tất cả các chủng đều thuộc chung 1 nhóm ST11 và có độ tương đồng trên 92%, cho thấy khả năng có sự lây lan của gen này trong bệnh viện [114]. Kết quả này tương đồng với một nghiên cứu khác tiến hành sau đó ở nước này trên 72 chủng

K. pneumoniae sinh carbapenemase mang gen KPC-2 thu thập trong 3 năm 2012-2014. Kết quả MLST cho thấy ST11 là phổ biến nhất trong số các chủng thu thập được (57/72). Áp dụng kỹ thuật PFGE trên 57 chủng này cho thấy có tới 47 chủng có độ tương đồng trên 80%, cho thấy sự lây lan của gen này trong nội bộ bệnh viện cũng như giữa các bệnh viện do ST11 cũng được báo cáo ở các bệnh viện khác [52].

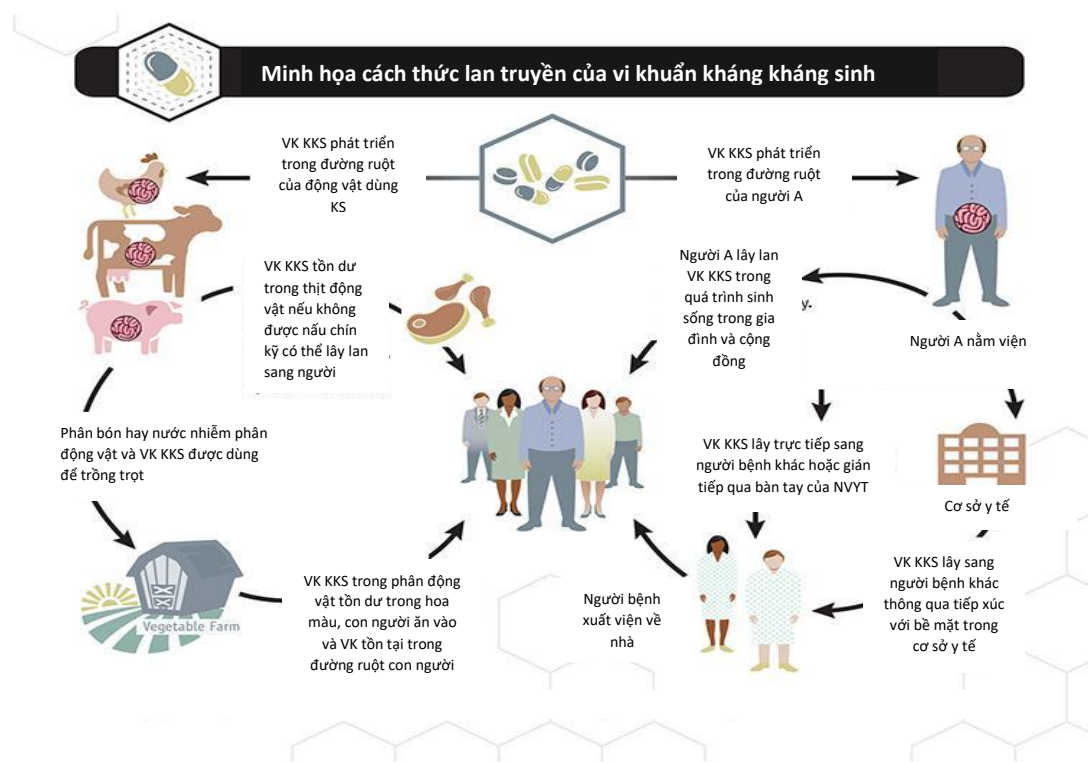
Nghiên cứu tại Bệnh viện 108 năm 2014-2015 trên 264 chủng vi khuẩn kháng carbapenem sử dụng kỹ thuật PCR đã xác định sự có mặt của các gen mã hóa carbapenemase trên 48,1% số chủng. Kỹ thuật S1-PFGE trên một số chủng chọn ngẫu nhiên trong nhóm mang gen KPC và OXA-48 cho thấy các plasmid mang gen KPC và OXA-48 ở các chủng khác nhau đều có kích thước tương đương chứng tỏ sự lây lan của các gen này rất có thể đều bắt nguồn từ một plasmid, trong khi đó các plasmid mang gen NDM-1 có sự đa dạng về kích thước và được phát hiện trên nhiều loài vi khuẩn khác nhau chứng minh khả năng truyền gen ngang đã xảy ra giữa các chủng vi khuẩn trong bệnh viện. Ngoài ra sự tương đồng về kiểu gen giữa các chủng được phân lập tại các khoa khác nhau vào những thời điểm khác nhau cho thấy nguy cơ lây lan chủng KKS giữa các khoa trong cùng 1 bệnh viện [5].

Kiểm soát nhiễm khuẩn bệnh viện là một yếu tố quan trọng trong việc kiểm soát vi khuẩn kháng thuốc lây lan trong bệnh, vì vậy việc giám sát nhiễm khuẩn bệnh viện đã trở thành nhiệm vụ bắt buộc đối với các cơ sở y tế. Thực trạng của công tác chống nhiễm khuẩn đặc biệt gặp nhiều khó khăn ở hầu hết các bệnh viện ở Việt Nam với cơ sở hạ tầng đã trở nên quá cũ và tình trạng quá tải tại các bệnh viện. Công suất sử dụng giường bệnh có thể vượt quá 100%, chưa kể người nhà bệnh nhân cũng cần ở cùng để giúp chăm sóc người bệnh về vệ sinh và ăn uống, dẫn đến tình trạng quá tải càng nghiêm trọng [25, 60]. Ngoài ra thực hành vệ sinh bàn tay đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát nhiễm khuẩn bệnh viện [38, 70]. Tuy nhiên, thực hành vệ sinh bàn tay tại các bệnh viện Việt Nam còn nhiều hạn chế do nhiều yếu tố như thiếu nước, xà phòng hay còn khử khuẩn tay, nhận

thức của nhân viên y tế còn kém, tỷ lệ nhân viên y tế/giường bệnh thấp...[60].

1.3.3.2. Từ bệnh viện ra cộng đồng

Vi khuẩn KKS có thể lây lan từ bệnh viện ra cộng đồng thông qua các bệnh nhân xuất viện và hoặc thông qua chất thải bệnh viện. Việc quản lý chất thải từ bệnh viện cũng là vấn đề đáng chú ý ở Việt Nam. Nghiên cứu công bố năm 2017 từ nghiên cứu được thực hiện tại 02 bệnh viện (1 ở thành thị, 1 ở nông thôn) ở Việt Nam cho thấy 83% số chủng *E. coli* phân lập được từ nước thải bệnh viện trước và sau khi xử lý kháng với ít nhất 1 loại KS, tỷ lệ đa kháng là 32% [83]. Đây là nguồn lây lan vi khuẩn kháng thuốc quan trọng ra cộng đồng.



Hình 1.5. Minh họa sự lan truyền của KKS giữa bệnh viện, cộng đồng và động vật [7]

Một số nghiên cứu đã sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử hiện đại để chứng minh sự lây lan của vi khuẩn kháng thuốc từ bệnh viện ra cộng đồng. Số liệu của mạng lưới giám sát tác nhân kháng khu vực Châu Á (ANSORP) cho thấy khả năng lây lan của *S. aureus* kháng methicillin từ bệnh viện ra cộng đồng tại các nước Hàn Quốc, Đài Loan, Thái Lan, Việt Nam và Srilanka. Số liệu MLST cho thấy các ST như ST239 và ST5 chiếm đa số trong các chủng *S. aureus* kháng methicillin bệnh viện trong tại các nước này cũng được ghi nhận trên một số chủng *S. aureus* kháng methicillin cộng đồng không có yếu tố nguy cơ nào liên quan đến bệnh viện. Nhóm nghiên cứu sau đó sử dụng kỹ thuật PFGE để phân tích một số chủng *S. aureus* kháng methicillin có ST5 và ST239. Kết quả các chủng *S. aureus* kháng methicillin cộng đồng có ST5 tại Hàn Quốc và Đài Loan, có ST239 tại Hàn Quốc, Đài Loan, Thái Lan và Hồng Kông có liên quan về mặt kiểu gen tới các chủng bệnh viện có ST5 và ST239 ở cùng các quốc gia này [111]. Nghiên cứu của Hàn Quốc thực hiện năm 2016 tại 2 bệnh viện trên các chủng *E. coli* phân lập từ bệnh nhân nhiễm khuẩn cộng đồng cũng báo cáo khả năng lây lan của *E. coli* KKS từ bệnh viện ra cộng đồng [76]. Nghiên cứu được thực hiện trên 213 chủng *E. coli* sinh ESBL thu thập trong vòng 48h từ các bệnh nhân nhập viện và được phân loại như sau: Chủng được coi là chủng bệnh viện nếu người bệnh có tiền sử nằm viện hay lọc máu hay hoá trị tĩnh mạch trong vòng 30 ngày trước đó; hoặc nằm viện trên 2 ngày để điều trị tích cực trong vòng 90 ngày trước đó. Các chủng phân lập từ bệnh nhân không có các đặc điểm này được coi là chủng cộng đồng. Kết quả ghi nhận 94 chủng bệnh viện và 119 chủng cộng đồng. ST131 được phát hiện trên 26,9% (32/119) chủng cộng đồng và 27,7% (26/94) chủng bệnh viện. Trong khi đó, 44,1% (94/213) số bệnh nhân được tuyển chọn vào nghiên cứu này có tiền sử liên quan đến bệnh viện. Vì vậy có thể cho rằng có sự lây lan của *E. coli* sinh ESBL từ bệnh viện ra cộng đồng (và ngược lại).

1.3.3.3. Từ cộng đồng vào bệnh viện

KKS trong cộng đồng có thể lây lan vào bệnh viện thông qua các bệnh nhân nhập viện. Nghiên cứu tại 17 bệnh viện tại Mỹ và cộng đồng xung quanh

17 bệnh viện này năm 2000 cho thấy có mối liên hệ giữa lượng KS fluoroquinolones sử dụng trong cộng đồng với tỷ lệ *E. coli* kháng fluoroquinolones trong bệnh viện ở khu vực dân cư đó. Đây là một kết quả quan trọng gợi ý sự lan truyền của *E. coli* KKS từ cộng đồng vào bệnh viện vì một nghiên cứu trước đó đã cho thấy 73% số chủng *E. coli* kháng quinolone phân lập được trong bệnh viện của nghiên cứu đó có nguồn gốc từ cộng đồng [87]. Giả thuyết này cũng được ủng hộ bởi nghiên cứu của Đức tại bệnh viện đại học y trong 2 năm 2005-2007. Nghiên cứu này cũng theo dõi số lượt bệnh nhân nhập viện có nhiễm khuẩn sinh ESBL và số ca nhiễm khuẩn bệnh viện do tác nhân sinh ESBL. Kết quả cho thấy nếu số bệnh nhân nhập viện có nhiễm khuẩn ESBL có thay đổi 1% sẽ dẫn tới thay đổi 0,9% số ca nhiễm khuẩn bệnh viện do tác nhân sinh ESBL [70]. Nghiên cứu tương tự tại Thụy Sĩ năm 2000-2007 cũng củng cố thêm vai trò của việc sử dụng KS trong cộng đồng tới tỷ lệ *E. coli* KKS trong bệnh viện [121].

Nghiên cứu hồi cứu trên 2.162 chủng MRSA giai đoạn 2004-2006 của ANSORP được thực hiện tại 17 bệnh viện tại 7 quốc gia trong khu vực như Hàn Quốc, Đài Loan, Hồng Kông, Thái Lan, Philippin, Việt Nam, Ấn Độ và Srilanka [111]. Các chủng được phân loại là MRSA cộng đồng nếu nhiễm khuẩn xảy ra trong cộng đồng hoặc dưới 48 giờ sau khi nhập viện và không có các tiền sử liên quan đến bệnh viện; là MRSA bệnh viện nếu bệnh nhân từng nằm viện dài ngày, phẫu thuật hoặc can thiệp ngoại khoa trong vòng 12 tháng trước đó. Kết quả phân tích MLST gợi ý khả năng lây lan của MRSA từ cộng đồng vào bệnh viện tại một số nước như Đài Loan, Hồng Kông, Việt Nam, Philippin và Hàn Quốc khi một số chủng có các ST tương đồng giữa bệnh viện và cộng đồng là ST59, ST30 và ST72 trong khi các ST này là các điển hình trên MRSA cộng đồng. Kết quả này phù hợp với kết quả của nghiên cứu thực hiện tại Đài Loan năm 1999-2005 khi cũng ghi nhận các chủng MRSA có ST59 trong các bệnh viện [67].

1.3.3.4. Từ động vật sang người

Mối liên hệ giữa việc sử dụng KS trên động vật và sự lây lan của vi khuẩn kháng thuốc từ động vật sang người đã được Hummel và cộng sự mô tả chi tiết trong báo cáo năm 1986. Theo đó, năm 1982, KS streptotricin được phép bổ sung vào thức ăn cho lợn. KS này không được sử dụng trên người. Chỉ một năm sau đó, hiện tượng kháng streptotricin đã được ghi nhận trên các chủng *E. coli* trong phân lợn được nuôi bằng loại thức ăn chứa KS này. Gen kháng nằm trên 1 transposon Tn1825. Hai năm sau đó, transposon này được phát hiện không chỉ trong phân của nông dân nuôi lợn, các thành viên khác trong gia đình mà cả phân của những người dân trong khu vực và cả trong các chủng *E. coli* phân lập được từ các mẫu nước tiểu của bệnh nhân viêm đường tiết niệu. Vài năm sau, transposon này cũng đã phát hiện trên các loại vi khuẩn gây bệnh như *Salmonella spp.* là loại vi khuẩn lây truyền từ động vật hay *Shigella spp.* là loại vi khuẩn vốn chỉ gây bệnh cho người và không có trên động vật [68]. Các gen kháng các loại KS chỉ dùng trên động vật như apramycin được tìm thấy không chỉ trên động vật mà trong cả hệ vi khuẩn chí đường ruột của con người, trên các tác nhân lây truyền bệnh động vật sang người như *Salmonella* và trên cả các tác nhân chỉ gây bệnh trên người như *Shigella*. Điều này cho thấy đã có sự truyền gen KKS giữa vi khuẩn gây bệnh trên người và trên động vật [119].

Nguy cơ lây lan gen KKS sang người không chỉ xuất phát từ các động vật nuôi lấy thịt mà còn từ cả thú nuôi làm cảnh. Nghiên cứu thực hiện năm 2015 tại 1 bệnh viện của Trung Quốc đã phát hiện sự tương đồng về ST giữa chủng *E. coli* của bệnh nhân làm việc tại cửa hàng thú cưng với 04 chủng thu từ các con chó tại cửa hàng gợi ý khả năng lan truyền của *E. coli* mang gen *mcr-1* giữa người và thú nuôi [128].

1.3.3.5. Từ người sang động vật

Ngược lại, KKS cũng có thể sự lây lan ngược từ người sang động vật. Gần đây, vào năm 2015, một nghiên cứu được tiến hành ở các trang trại chăn nuôi gà tại Trung Quốc đã xác định được sự tương đồng về kiểu gen của các chủng *E. coli* mang gen NDM kháng kháng sinh carbapenem thu được từ các nguồn khác

nhau [33]. Kết quả phân tích MLST cho thấy điểm chung giữa các chủng thu được từ gà, lò mổ, siêu thị và người, đặc biệt là các ST10 và ST156. ST156 được xác định trên 18 chủng gà, chó, ruồi và chim hoang dã ở 1 trang trại và trên các chủng thu từ các trang trại gà khác, lò mổ và các siêu thị. So sánh với dữ liệu thế giới, ghi nhận 7 chủng có chung genotype với các chủng thu từ các nước khác như Úc, Colombia, Na uy, Mỹ và Singapore. Nghiên cứu này cung cấp bằng chứng về vai trò lan truyền KKS của các yếu tố môi trường như chó, ruồi, chim hoang dã. Tuy không cung cấp bằng chứng trực tiếp về nguồn gốc của vi khuẩn kháng thuốc nhưng sự hạn chế trong số liệu về vi khuẩn đường ruột kháng carbapenem trong chăn nuôi và tỷ lệ kháng carbapenem thấp trên động vật gợi ý rằng động vật không phải là nguồn gốc của vi khuẩn *E. coli* kháng carbapenem mà chính con người mới là nguồn lây lan đầu tiên [33].

1.4. Giới thiệu về nghiên cứu

Nghiên cứu này là một phần của nghiên cứu có tên “Phân tích quần thể gen kháng kháng sinh và mối liên quan đến tỷ lệ vi khuẩn mang gen *ndm* và *mcr-1* kháng kháng sinh từ các ổ chức ở cộng đồng tại tỉnh Hà Nam, Việt Nam” do Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) tài trợ và Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương là cơ quan chủ trì nghiên cứu.

Thực địa của nghiên cứu là xã Yên Nam, huyện Duy Tiên, tỉnh Hà Nam. Hà Nam là một tỉnh nằm ở vùng Đồng bằng sông Hồng Việt Nam với 6 đơn vị hành chính gồm 01 thành phố và 05 huyện. Phía Bắc tiếp giáp với Hà Nội, phía Đông giáp với tỉnh Hưng Yên và Thái Bình, phía Nam giáp tỉnh Ninh Bình, Đông Nam giáp tỉnh Nam Định và phía Tây giáp tỉnh Hòa Bình. Tỉnh lỵ là thành phố Phủ Lý, cách thủ đô Hà Nội 60 km. Theo điều tra dân số năm 2017, Hà Nam có 805.225 người, chiếm 5,6% dân số đồng bằng sông Hồng, mật độ dân số 954 người/km². Về cơ cấu dân số, 48,6% là nam giới, tỷ lệ dân số từ 15 tuổi trở lên chiếm hơn 78%. 80% dân số sống ở khu vực nông thôn và 20% sống ở khu vực đô thị. Theo khảo sát mức sống năm 2018, số nhân khẩu bình quân 1 hộ của Hà Nam là 3 người và mức thu nhập bình quân đầu người 1 tháng là 3,6 triệu đồng. Hà Nam được chọn nghiên cứu do có hoạt động sản

xuất nông nghiệp chiếm tỷ trọng lớn (khoảng 40%) cơ cấu kinh tế. Theo số liệu thống kê năm 2017, Hà Nam có 996 trang trại chăn nuôi gia súc, gia cầm trong đó đàn lợn ước gồm hơn 756 nghìn con, gia cầm ước hơn 7.556 nghìn con. Huyện Duy Tiên có 18 xã, thị trấn, với tổng diện tích tự nhiên 12.100,35 ha, là huyện nằm ở phía bắc của tỉnh Hà Nam, là cửa ngõ phía Nam của thủ đô Hà Nội. Xã Yên Nam, huyện Duy Tiên được chọn là địa bàn nghiên cứu do là 1 trong các xã có hoạt động chăn nuôi lớn nhất trên địa bàn tỉnh Hà Nam và chưa tiến hành bất cứ nghiên cứu nào về kháng kháng sinh trước đây. Hoạt động chăn nuôi trên địa bàn xã Yên Nam nằm tập trung ở 1 số khu vực tương đối tách biệt với khu cư dân sinh sống. Trong phạm vi của nghiên cứu này, tất cả các hoạt động chăn nuôi dù có quy mô lớn hay quy mô nhỏ nhưng được thực hiện tập trung tại các khu vực chăn nuôi tách biệt nói trên của xã Yên Nam được coi là các trang trại chăn nuôi.

Chương 2 - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mục tiêu 1 và Mục tiêu 2

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1.1. *Con người và mẫu phân người*: người làm công việc chăn nuôi trong các trang trại.

Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Là nam hoặc nữ độ tuổi từ 18 (tại thời điểm 30/4/2019)
- Hiện tham gia công việc chăn nuôi gia súc, gia cầm trong trang trại.
- Đồng ý tham gia nghiên cứu

Tiêu chuẩn loại trừ:

- Có vấn đề về thần kinh, tâm thần hoặc không đủ minh mẫn để tham gia nghiên cứu.

2.1.1.2. *Phân vật nuôi*: gà, lợn và chó được nuôi trong trang trại

2.1.1.3. *Ngoại cảnh*: ruồi trong trang trại, nước thải chăn nuôi của trang trại

2.1.2. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại các trang trại chăn nuôi gà và lợn trên địa bàn xã Yên Nam, huyện Duy Tiên, tỉnh Hà Nam.

Các phân tích phòng thí nghiệm được tiến hành trong phòng thí nghiệm Kháng kháng sinh của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

2.1.3. Thời gian nghiên cứu

Thu thập mẫu và số liệu tại thực địa vào tháng 6 năm 2019.

Phân tích phòng thí nghiệm và số liệu dịch tễ từ tháng 6 năm 2019 đến tháng 5 năm 2021.

2.1.4. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu cắt ngang có phân tích

2.1.5. Cỡ mẫu và chọn mẫu

2.1.5.1. *Đối với người và phân người*: 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 nêu bên trên. Các bước tiến hành chọn mẫu:

- Lập khung mẫu: lập danh sách người làm công việc chăn nuôi trên địa bàn nghiên cứu tại thời điểm 30/4/2019. Danh sách này được lập theo quy tắc liệt kê người theo từng trang trại cho toàn bộ các trang trại.
- Tại mỗi trang trại, liệt kê toàn bộ người từ 18 tuổi có tham gia làm chăn nuôi trong mỗi trang trại đạt các tiêu chuẩn lựa chọn và không có các tiêu chuẩn loại trừ để mời tham gia vào nghiên cứu.
- Nghiên cứu đã thu tuyển được 139 người từ toàn bộ 70 trang trại trên địa bàn xã Yên Nam. Số mẫu phân người thu được là 139 mẫu.

2.1.5.2. Đối với các đối tượng khác

- Từ mỗi trang trại có người chăn nuôi được thu tuyển vào nghiên cứu, chọn ngẫu nhiên các loại mẫu phân vật nuôi và ngoại cảnh theo số lượng và phương pháp như sau:

Bảng 2.1. Loại mẫu, số lượng và cách chọn

Loại mẫu	Số lượng	Cách chọn
Phân gà	3 mẫu/trang trại	Lấy ngẫu nhiên tại 3 vị trí khác nhau trong chuồng nuôi (cửa, giữa và cuối chuồng)
Phân lợn	4 mẫu/trang trại	Lấy ngẫu nhiên tại 4 vị trí khác nhau trong chuồng nuôi (cửa, giữa và cuối chuồng)
Phân chó	1 mẫu/trang trại	Lấy ngẫu nhiên tại 1 vị trí trong trang trại
Ruồi	2 mẫu/trang trại	Đặt bẫy keo bắt ruồi tại 2 vị trí: 1 bẫy đặt trong ở vị trí trung tâm của chuồng và 1 bẫy đặt ở các khu vực chung của trang trại. Trường hợp trang trại có nhiều hơn 1 chuồng thì đặt bẫy ruồi ở chuồng có số gà/lợn nhiều hơn
Nước thải chăn nuôi	1 mẫu/trang trại	Lấy tại vị trí cống xả thải của trang trại ra hệ thống kênh thải của xã

– Nghiên cứu đã thu được 193 mẫu phân gà, 80 mẫu phân lợn, 51 mẫu phân chó, 109 mẫu ruồi và 67 mẫu nước thải từ 70 trang trại trên địa bàn xã Yên Nam.

2.1.6. Phương pháp và công cụ thu thập thông tin

2.1.6.1. Thu tuyển

Gửi giấy mời tới từng người chăn nuôi theo danh sách đã được lập trước khi tiến hành điều tra 1 – 2 ngày để cung cấp thông tin tóm tắt về nghiên cứu và thông báo thời gian nhóm nghiên cứu sẽ tới thăm trang trại.

Vào ngày điều tra, các điều tra viên tới trang trại, kiểm tra lại các thông tin về họ tên, độ tuổi, giới tính của từng đối tượng trong danh sách, ghi chép các thông tin chính xác vào Sổ sàng lọc và tuyển chọn đối tượng nghiên cứu. Nếu người chăn nuôi không đáp ứng các tiêu chuẩn vào nghiên cứu, dừng việc thu tuyển. Nếu người chăn nuôi đáp ứng các tiêu chuẩn, điều tra viên tiến hành cung cấp thông tin về nghiên cứu và ký thỏa thuận tham gia nghiên cứu.

Sử dụng Phiếu cung cấp thông tin và chấp thuận tham gia nghiên cứu (Phụ lục 1) để thảo luận với người chăn nuôi một số thông tin cơ bản về nghiên cứu như: Mục đích tiến hành nghiên cứu, Ý nghĩa thực tiễn của nghiên cứu, Các quyền lợi và nghĩa vụ của người tham gia nghiên cứu, Bảo mật thông tin, Các công việc chính sẽ thực hiện như lấy các loại mẫu trong trang trại, phỏng vấn. Nếu người chăn nuôi không đồng ý tham gia vào nghiên cứu, dừng việc thu tuyển. Nếu người chăn nuôi đồng ý tham gia vào nghiên cứu, tiến hành cấp mã số và ký thỏa thuận tham gia nghiên cứu.

Cấp mã số nghiên cứu cho người chăn nuôi theo quy định của nghiên cứu và dán nhãn mã số đã cấp cho người chăn nuôi và các loại mẫu sẽ lấy trong trang trại vào: Phiếu cung cấp thông tin và chấp thuận tham gia nghiên cứu, Phiếu hỏi và các lọ đựng mẫu.

2.1.6.2. Lấy mẫu

Để xác định tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* của người, vật nuôi và môi trường trong trang trại, nghiên cứu đã tiến hành thu thập 6 loại mẫu từ các đối tượng khác nhau trong trang trại, bao gồm: mẫu phân của người làm chăn

Bước 1: Sàng lọc các mẫu kháng colistin (Phụ lục 6): Các mẫu thu thập sẽ được sàng lọc trên môi trường có chứa vancomycin (10 mg/L - dùng để ức chế sự phát triển của các vi khuẩn gram dương có trong mẫu) và colistin (0,5 mg/L). Các vi khuẩn phát triển được trên môi trường chọn lọc sẽ được chuyển sang bước tiếp theo. Nồng độ KS colistin được dùng ở mức thấp hơn mức tiêu chuẩn theo hướng dẫn của Ủy ban Châu Âu về xét nghiệm độ nhạy cảm KS (EUCAST) [59] nhằm thu được tối đa các chủng có thể mang gen *mcr-1* dù không thể hiện ra kiểu hình.

Bước 2: Phát hiện gen mcr-1 (Phụ lục 7): Áp dụng kỹ thuật PCR để phát hiện sự có mặt của gen *mcr-1* bằng các cặp mồi đặc hiệu *mcr-1F* (5'-CGGTCAGTCCGTTTGTTC-3') và *mcr-1R* (5'-CTTGGTCGGTCTGTAGGG-3') [85] trên các mẫu có kết quả sàng lọc dương tính.

Bước 3: Nuôi cấy và phân lập các chủng mang gen mcr-1 (Phụ lục 6): Các mẫu có kết quả PCR dương tính được nuôi cấy lại trong môi trường có chứa vancomycin (10 mg/L) và colistin (0,5 mg/L).

Bước 4: Khẳng định lại sự có mặt của gen mcr-1 (Phụ lục 7): Đối với các đĩa thạch có khuẩn lạc mọc, chọn 5 khuẩn lạc có hình dạng, màu sắc, kích thước và bề mặt khác nhau trong mỗi đĩa thạch để tiến hành kỹ thuật PCR phát hiện sự có mặt của gen *mcr-1* (theo quy trình giống quy trình phát hiện gen *mcr-1* mô tả phía trên).

Bước 5. Định danh vi khuẩn (Phụ lục 6): Các chủng có kết quả PCR dương tính được định danh bằng hệ thống máy định danh tự động MALDI Biotyper. Hệ thống định danh MALDI Biotyper được sử dụng để định danh vi khuẩn/vi nấm bằng cách sử dụng kỹ thuật khối phổ để xác định dấu ấn protein đặc trưng của một vi sinh vật. Phổ đại diện cho dấu ấn protein được dùng để định danh chính xác mỗi vi khuẩn cụ thể bằng cách so sánh với thư viện phổ của các chủng vi khuẩn/vi nấm.

Xét nghiệm độ nhạy KS bằng kỹ thuật Nồng độ KS tối thiểu ức chế vi khuẩn (MIC) (Phụ lục 8): Để đánh giá mức độ nhạy cảm với KS, một số chủng *E. coli*

mang gen *mcr-1* được xác định nồng độ tối thiểu ức chế vi khuẩn với các nhóm KS phổ dụng trên lâm sàng như ampicillin (AMP) đại diện nhóm penicillin, cefotaxime (CTX) và ceftazidime (CAZ) đại diện nhóm cephalosporins, gentamicin (GEN) và amikacin (AMK) đại diện nhóm aminoglycosides, meropenem (MEM) đại diện nhóm carbapenem, ciprofloxacin (CIP) đại diện nhóm quinolone và KS colistin (CS) đại diện nhóm polymyxin. Kỹ thuật MIC được thực hiện theo Hướng dẫn năm 2018 của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và phòng xét nghiệm (CLSI) và của Ủy ban Châu Âu về xét nghiệm độ nhạy cảm KS (EUCAST). *Escherichia coli* ATCC 25922 và *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 được dùng làm chủng chứng. Được thực hiện bằng 2 kỹ thuật: Kỹ thuật vi pha loãng trong canh thang (Broth microdilution MIC test) được sử dụng để đánh giá MIC của colistin và kỹ thuật pha loãng trong thạch (agar dilution MIC test) được sử dụng để đánh giá các kháng sinh còn lại. 49 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* được lựa chọn để giải trình tự toàn bộ hệ gen (Mục tiêu 3) đã được tiến hành xét nghiệm MIC.

2.1.6.4. Phỏng vấn người chăn nuôi

Thu thập thông tin về đặc điểm của người chăn nuôi bằng kỹ thuật Phỏng vấn cá nhân trực tiếp sử dụng Bộ câu hỏi dựng sẵn (Phụ lục 9). Bộ câu hỏi được xây dựng dựa trên Khung lý thuyết về các yếu tố liên quan đến KKS (Hình 1.3), tập trung vào nhóm yếu tố nhân khẩu học, nhóm yếu tố kiến thức-thái độ-thực hành và nhóm phơi nhiễm với hoạt động chăn nuôi. Bộ câu hỏi đã được thử nghiệm ngay tại địa điểm nghiên cứu để phát hiện các điểm cần điều chỉnh trước khi đưa vào sử dụng.

Nhóm yếu tố nhân khẩu học gồm 12 câu hỏi nhằm thu thập thông tin về đặc điểm của đối tượng nghiên cứu.

Nhóm yếu tố đặc điểm của hoạt động chăn nuôi gồm 02 câu hỏi để thu thập thông tin về loại hình và quy mô chăn nuôi.

Nhóm biến số về kiến thức – thái độ - thực hành gồm các câu hỏi nhằm thu thập thông tin và đánh giá mức độ kiến thức – thái độ - thực hành của người làm chăn nuôi về KS và KKS trong chăn nuôi, gồm:

- 3 câu kiến thức:
 - Về tác dụng của KS trong chăn nuôi
 - Về người có thể kê đơn KS
 - Về dùng KS trước khi xuất chuồng
- 6 câu về thái độ:
 - Về dùng KS theo đơn của cán bộ thú y
 - Về dùng KS để phòng bệnh cho vật nuôi
 - Về dùng KS để hỗ trợ tăng trưởng cho vật nuôi
 - Về dùng KS trước khi xuất chuồng
 - Về khả năng xảy ra KKS trong chăn nuôi
 - Về ảnh hưởng của KKS ở vật nuôi tới sức khỏe con người
- 3 câu về thực hành:
 - Có hay không sử dụng KS trong chăn nuôi
 - Mục đích sử dụng KS trong chăn nuôi
 - Sử dụng KS theo hướng dẫn của ai

Theo khung lý thuyết về các yếu tố liên quan đến KKS (Hình 1.3) thì sử dụng KS là nguyên nhân trực tiếp dẫn đến KKS và Kiến thức – Thái độ là yếu tố liên quan đến thực hành sử dụng KS. Vì vậy ngoài phân tích mối liên quan của các biến số Kiến thức, Thái độ và Thực hành đến tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người chăn nuôi, chúng tôi cũng tiến hành phân tích mối liên quan của các biến số Kiến thức và Thái độ tới Thực hành sử dụng KS cho vật nuôi của người chăn nuôi.

2.1.7. Các biến số và chỉ số nghiên cứu

2.1.7.1. Các biến số và chỉ số về đặc điểm của đối tượng nghiên cứu (phục vụ mục tiêu 1 và 2)

TT	Tên biến	Loại biến	Phương pháp thu thập
1.	Tuổi	Biến rời rạc	Phỏng vấn
2.	Giới tính	Biến nhị phân	Phỏng vấn
3.	Dân tộc	Biến danh mục	Phỏng vấn
4.	Tôn giáo	Biến danh mục	Phỏng vấn
5.	Tình trạng hôn nhân	Biến danh mục	Phỏng vấn
6.	Trình độ học vấn	Biến thứ hạng	Phỏng vấn
7.	Quy mô hộ gia đình	Biến rời rạc	Phỏng vấn
8.	Thu nhập bình quân đầu người	Biến liên tục	Phỏng vấn
9.	Phân nhóm thu nhập hộ gia đình	Biến nhị phân	Phân loại theo hướng dẫn ở mục Tiêu chí đánh giá
10.	Diện tích nhà ở	Biến rời rạc	Phỏng vấn
11.	Nguồn nước	Biến danh mục	Phỏng vấn Quan sát
12.	Loại nhà vệ sinh	Biến danh mục	Phỏng vấn Quan sát
13.	Thực hành rửa tay bằng xà phòng	Biến thứ hạng	Phỏng vấn

2.1.7.2. Các biến số và chỉ số về đặc điểm của hoạt động chăn nuôi (phục vụ mục tiêu 1 và 2)

TT	Tên biến	Loại biến	Phương pháp thu thập
1.	Diện tích dành cho chăn nuôi	Biến rời rạc	Phỏng vấn
2.	Loại vật nuôi	Biến danh mục	Phỏng vấn

3.	Số lượng từng loại vật nuôi trong trang trại	Biến rời rạc	Phỏng vấn
4.	Tổng số đơn vị vật nuôi	Biến liên tục	Phân loại theo hướng dẫn ở mục Tiêu chí đánh giá
5.	Quy mô trang trại	Biến thứ hạng	Phân loại theo hướng dẫn ở mục Tiêu chí đánh giá
6.	Phân loại trang trại theo loại vật nuôi	Biến danh mục	Phân loại theo hướng dẫn ở mục Tiêu chí đánh giá

2.1.7.3. Các biến số và chỉ số về tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen kháng *mcr-1* (phục vụ mục tiêu 1)

TT	Tên biến	Loại biến	Phương pháp thu thập
1.	Loại mẫu	Biến danh mục	Lấy mẫu theo quy trình
2.	Mẫu kháng colistin	Biến nhị phân	Xét nghiệm
3.	Mẫu mang gen kháng <i>mcr-1</i>	Biến nhị phân	Xét nghiệm
4.	Mẫu nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> (Tình trạng nhiễm trên người là biến phụ thuộc của mục tiêu 2)	Biến nhị phân	Xét nghiệm
5.	Chủng vi khuẩn mang gen <i>mcr-1</i>	Biến nhị phân	Xét nghiệm
6.	Chủng mang gen <i>mcr-1</i> là <i>E. coli</i>	Biến nhị phân	Xét nghiệm
7.	Trang trại nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i>	Biến nhị phân	Xét nghiệm
8.	Độ nhạy KS của các chủng <i>E. coli</i> dương tính với <i>mcr-1</i> với 7 loại KS	Biến liên tục Biến thứ hạng	Xét nghiệm

2.1.7.4. Các biến số về kiến thức, thái độ, thực hành liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi (phục vụ mục tiêu 2)

TT	Tên biến	Loại biến	Phương pháp thu thập
1.	Kiến thức về KS và sử dụng KS trong chăn nuôi: Kết quả trả lời 03 câu hỏi về kiến thức Điểm kiến thức Đánh giá kiến thức	Biến danh mục Biến rời rạc Biến nhị phân	Bộ câu hỏi
2.	Thái độ về KS và sử dụng KS trong chăn nuôi: Kết quả trả lời 6 câu hỏi về thái độ Điểm thái độ Đánh giá thái độ	Biến danh mục Biến rời rạc Biến nhị phân	Bộ câu hỏi
3.	Sử dụng KS trong chăn nuôi (Đây cũng là biến số phụ thuộc của mục tiêu 2)	Biến nhị phân	Bộ câu hỏi
4.	Mục đích sử dụng KS trong chăn nuôi (Đây cũng là biến số phụ thuộc của mục tiêu 2)	Biến danh mục	Bộ câu hỏi
5.	Nguồn hướng dẫn sử dụng KS (Đây cũng là biến số phụ thuộc của mục tiêu 2)	Biến danh mục	Bộ câu hỏi

2.1.8. Tiêu chí đánh giá

Trong quá trình phân tích, nghiên cứu đã xây dựng tiêu chí đánh giá đối với một số biến số như sau:

2.1.8.1. Mẫu nhiễm gen *mcr-1*

Mẫu nhiễm gen *mcr-1* là mẫu có ít nhất 1 trong 5 khuẩn lạc thu được từ xét nghiệm nuôi cấy, phân lập có kết quả PCR xác định sự có mặt của gen *mcr-1* tức là cả 4 bước đầu tiên trong 5 bước xét nghiệm đều có kết quả dương tính

Mẫu không nhiễm gen *mcr-1* là mẫu có 1 trong các tiêu chí sau:

- Có kết quả của bước 1 trong 5 bước xét nghiệm âm tính
- Có kết quả của bước 1 và bước 2 dương tính nhưng bước 3 âm tính
- Có kết quả của bước 1, bước 2 và bước 3 dương tính nhưng bước 4 âm tính

2.1.8.2. Mẫu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1*

Mẫu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* là mẫu nhiễm gen *mcr-1* có kết quả định danh (bước 5) là *E. coli*.

Mẫu không nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* là mẫu có 1 trong các tiêu chí sau:

- Có kết quả của bước 1 trong 5 bước xét nghiệm âm tính
- Có kết quả của bước 1 và bước 2 dương tính nhưng bước 3 âm tính
- Có kết quả của bước 1, bước 2 và bước 3 dương tính nhưng bước 4 âm tính
- Có kết quả của 4 bước đầu tiên dương tính nhưng kết quả định danh (bước 5) là vi khuẩn khác, không phải là *E. coli*

2.1.8.3. Chứng nhiễm gen *mcr-1*

– Chứng nhiễm gen *mcr-1* là khuẩn lạc thu được từ bước xét nghiệm thứ 3 và sau đó kết quả của bước xét nghiệm thứ 4 là dương tính.

– Chứng không nhiễm gen *mcr-1* là khuẩn lạc thu được từ bước xét nghiệm thứ 3 và sau đó kết quả của bước xét nghiệm thứ 4 là âm tính.

2.1.8.4. Chứng *E. coli* mang gen *mcr-1*

– Chứng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* là chứng nhiễm gen *mcr-1* và kết quả định danh (bước 5) là *E. coli*.

- Chủng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* là chủng nhiễm gen *mcr-1* và kết quả định danh (bước 5) là vi khuẩn khác, không phải *E. coli*.

2.1.8.5. *Tình trạng nhiễm E. coli mang gen mcr-1 trên trang trại nghiên cứu*

- Trang trại nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* là trang trại có ít nhất 1 mẫu thuộc bất kỳ loại mẫu nào trong 6 loại mẫu nghiên cứu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1*.

- Trang trại không nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* là trang trại không có bất kỳ mẫu nào nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1*.

2.1.8.6. *Độ nhạy KS bằng kỹ thuật Nồng độ KS tối thiểu ức chế vi khuẩn (MIC)*

Mức độ nhạy cảm của chủng vi khuẩn với từng loại KS được chia thành 3 mức độ: Nhạy, Trung gian/Giảm nhạy cảm, Kháng.

Mỗi loại KS có ngưỡng nồng độ ($\mu\text{g/ml}$) khác nhau cho 3 mức độ nói trên, được quy định cụ thể trong Hướng dẫn năm 2018 của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và phòng xét nghiệm (CLSI) và của Ủy ban Châu Âu về xét nghiệm độ nhạy cảm KS (EUCAST).

2.1.8.7. *Mức thu nhập*: được phân loại theo hướng dẫn của Quyết định số 59/2015/QĐ-TTG quy định về việc ban hành chuẩn nghèo tiếp cận đa chiều áp dụng cho giai đoạn 2016 – 2020 [53], chia thành 2 nhóm:

- Dưới 1 triệu đồng/người tháng (nhóm nghèo và cận nghèo)
- Từ 1 triệu đồng/người/tháng trở lên.

2.1.8.8. *Tổng đơn vị vật nuôi*: Đơn vị vật nuôi được quy đổi từ số lượng gà, lợn nuôi trong trang trại theo hướng dẫn của Nghị định 13/2020/NĐ-CP hướng dẫn chi tiết Luật Chăn nuôi [122]. Tổng đơn vị vật nuôi của mỗi trang trại là tổng của đơn vị vật nuôi của gà và đơn vị vật nuôi của lợn của trang trại đó.

2.1.8.9. *Quy mô trang trại*: được quy đổi từ Tổng số đơn vị vật nuôi cũng theo hướng dẫn của Nghị định 13/2020/NĐ-CP hướng dẫn chi tiết Luật Chăn nuôi [122], cụ thể:

- Quy mô lớn: từ 300 đơn vị vật nuôi trở lên
- Quy mô vừa: từ 30 đến dưới 300 đơn vị vật nuôi

- Quy mô nhỏ: từ 10 đến dưới 30 đơn vị vật nuôi
- Nông hộ: dưới 10 đơn vị vật nuôi

2.1.8.10. Phân loại trang trại theo loại vật nuôi: được phân loại theo 2 loại vật nuôi là gà và lợn (không tính đến các loại vật nuôi khác như vịt, ngan, ngỗng, chim, thỏ...), cụ thể:

- Chỉ nuôi gà: trang trại chỉ chăn nuôi gà mà không chăn nuôi lợn
- Chỉ nuôi lợn: trang trại chỉ chăn nuôi lợn mà không chăn nuôi gà
- Hỗn hợp: trang trại chăn nuôi cả gà và lợn

2.1.8.11. Kiến thức về tác dụng của KS

- Kiến thức đúng nếu lựa chọn phương án “Diệt vi khuẩn” và không lựa chọn bất cứ phương án nào còn lại
- Kiến thức sai nếu chọn phương án “Diệt vi rút” hoặc/và phương án “Khác”

2.1.8.12. Kiến thức về tác dụng của KS trong chăn nuôi

- Kiến thức đúng nếu lựa chọn phương án “Chữa bệnh cho động vật” và không lựa chọn bất cứ phương án nào còn lại
- Kiến thức sai nếu lựa chọn bất kỳ phương án nào trong các phương án “Phòng bệnh cho động vật”, “Hỗ trợ tăng trưởng cho động vật”, hay phương án “Khác”

2.1.8.13. Kiến thức về người có thể kê đơn KS trong chăn nuôi

- Kiến thức đúng nếu lựa chọn phương án “Bác sỹ thú y” và/hoặc “Cán bộ thú y xã” và không lựa chọn bất cứ phương án nào còn lại
- Kiến thức sai nếu lựa chọn bất kỳ đáp án nào trong các phương án “Người bán thuốc thú y”, “Nhân viên hãng thuốc thú y/hãng thức ăn chăn nuôi” hay phương án khác.

2.1.8.14. Kiến thức về việc dừng sử dụng KS cho vật nuôi trước khi xuất chuồng

- Kiến thức đúng nếu lựa chọn phương án “Đúng”
- Kiến thức sai nếu lựa chọn phương án “Sai” hoặc “Không biết/Không trả lời”

2.1.8.15. Các câu hỏi về Thái độ liên quan đến KS và KKS trong chăn nuôi

- Thái độ đúng nếu lựa chọn phương án “Không đồng ý” hoặc “Hoàn toàn không đồng ý”
- Thái độ sai nếu lựa chọn phương án “Hoàn toàn đồng ý”, “Đồng ý” hoặc “Không chắc”

2.1.8.16. Có hay không sử dụng KS trong chăn nuôi

- Thực hành đúng nếu lựa chọn phương án “Không”
- Thực hành sai nếu lựa chọn phương án “Có”

2.1.8.17. Mục đích sử dụng KS trong chăn nuôi

- Thực hành đúng nếu lựa chọn phương án “Chữa bệnh cho động vật” và không lựa chọn bất kỳ phương án nào còn lại
- Thực hành sai nếu lựa chọn phương án “Phòng bệnh cho động vật” hoặc “Hỗ trợ tăng trưởng cho động vật” hoặc bất cứ phương án nào khác

2.1.8.18. Sử dụng KS trong chăn nuôi theo hướng dẫn nào

- Thực hành đúng nếu lựa chọn phương án “Theo hướng dẫn của cán bộ thú y” và không lựa chọn bất cứ phương án nào khác
- Thực hành sai nếu lựa chọn 1 hoặc nhiều trong số các phương án “Tự sử dụng theo kinh nghiệm”, “Theo hướng dẫn của nhân viên hãng thức ăn/hãng thuốc”, “Sử dụng lại đơn thuốc cũ”, bất cứ phương án nào khác hoặc Không biết/Không trả lời.

2.1.8.19. Đánh giá kiến thức về KS và KKS trong chăn nuôi

- Mỗi câu trả lời đúng được cho 1 điểm, tối đa có 3 điểm cho kiến thức
- Kiến thức được đánh giá là “Đạt” nếu người trả lời đạt ≥ 2 điểm kiến thức.

Tiêu chuẩn đánh giá mức độ kiến thức được vận dụng từ thang đo của Bloom có điều chỉnh cho phù hợp với số lượng biến số của nghiên cứu và hướng phân tích của nhóm nghiên cứu.

2.1.8.20. Đánh giá thái độ về KS và KKS trong chăn nuôi

- Mỗi câu trả lời đúng được cho 1 điểm, tối đa có 6 điểm cho thái độ

– Thái độ được đánh giá là “Tốt” nếu người trả lời đạt ≥ 4 điểm thái độ. Tiêu chuẩn đánh giá mức độ thái độ được vận dụng từ thang đo của Bloom có điều chỉnh cho phù hợp với số lượng biến số của nghiên cứu và hướng phân tích của nhóm nghiên cứu.

2.1.8.21. Đánh giá thực hành về KS và KKS

– Nhóm biến số thực hành không đánh giá gộp mà đánh giá đơn lẻ theo từng biến số.

2.1.9. Quản lý, phân tích số liệu và không chế sai số

2.1.9.1. Quản lý và phân tích số liệu

Bộ câu hỏi đã được các giám sát viên của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương kiểm tra ngay khi điều tra và được kiểm tra lại trước khi gửi về Viện.

Số liệu được nhập và quản lý bằng phần mềm Epidata 3.1. Cán bộ tham gia nhập và làm sạch số liệu đã được tập huấn thống nhất cách làm sạch số liệu và cách nhập số liệu.

Toàn bộ phiếu hỏi được làm sạch trước khi nhập số liệu. Trong quá trình làm sạch đã kiểm tra tính đầy đủ và tính logic của thông tin. Nếu có sự thiếu sót đã lập tức liên hệ lại với địa phương để bổ sung thông tin cần thiết. Các số liệu trống được xem xét và nếu thấy cần bổ sung để hoàn thiện dữ liệu thì liên hệ phỏng vấn lại với đối tượng nghiên cứu qua điện thoại.

Xử lý và phân tích bằng phần mềm STATA 16.0. Các phân tích mô tả được tính bằng phương pháp tính tần số. Phân tích đơn biến được thực hiện để mô tả mối liên quan với tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* với các biến độc lập, sử dụng kiểm định χ^2 , loại bỏ giả thuyết Ho với mức độ ý nghĩa 0,05 và phép hồi quy logistic để ước tính OR của các mối liên quan.

Mô hình hồi quy logistic được sử dụng để phân tích đa biến. Các biến lựa chọn vào mô hình logistic là các biến độc lập có mức ý nghĩa $p \leq 0,2$ ở phân tích đơn biến và các biến độc lập quan trọng vì có liên quan về mặt logic đến việc nhiễm vi khuẩn kháng thuốc.

2.1.9.2. *Khống chế sai số*

Sai số có thể phát sinh trong quá trình thu thập số liệu (như sai lệch nhớ lại, sai lệch do người thu thập số liệu) được khống chế bằng cách xây dựng và chuẩn hoá các quy trình thực hiện cụ thể cho từng bước như phỏng vấn, lấy mẫu, xử lý, vận chuyển bảo quản... Điều tra viên được tập huấn kỹ thuật và quy trình trước khi triển khai nghiên cứu.

Sai số trong xét nghiệm (sai số đo lường): mẫu được xét nghiệm tuân thủ theo các quy trình chuẩn của phòng thí nghiệm.

Sai số trong xử lý và phân tích số liệu: Nhằm đảm bảo tính hoàn thiện và tính chính xác của thông tin, số liệu sau khi làm sạch được nhập lần 1 và nhập lại 10% số phiếu để kiểm tra ngẫu nhiên.

2.2. **Mục tiêu 3**

2.2.1. *Đối tượng nghiên cứu*

Đối tượng nghiên cứu của mục tiêu thứ 3 (phân tích mối liên hệ về kiểu gen kháng kháng sinh *mcr-1* trên *E. coli* giữa người, vật nuôi và môi trường trong trang trại tại xã Yên Nam, tỉnh Hà Nam) là các chủng vi khuẩn *E. coli* mang gen kháng *mcr-1* phân lập được từ mục tiêu 1.

2.2.2. *Địa điểm nghiên cứu*

Các phân tích phòng thí nghiệm được tiến hành trong phòng thí nghiệm Kháng kháng sinh của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

2.2.3. *Thời gian nghiên cứu*

Tháng 5/2021 đến 6/2022.

2.2.4. *Thiết kế nghiên cứu*

Nghiên cứu mô tả cắt ngang

2.2.5. *Cỡ 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.

Số lượng chủng được quyết định dựa trên nguồn lực có sẵn và các nguồn lực có khả năng vận động được, cụ thể: 49 chủng để thực hiện kỹ thuật giải trình tự toàn bộ hệ gen của vi khuẩn.

2.2.6. Phương pháp và công cụ thu thập thông tin

Để xác định mối liên quan về kiểu gen của các chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* thu được từ các đối tượng khác nhau trong trang trại, kỹ thuật Giải trình tự toàn bộ hệ gen của vi khuẩn được sử dụng để cung cấp các thông tin về đặc điểm di truyền của các chủng được lựa chọn.

Chuẩn bị thư viện DNA của các chủng được chọn để giải trình tự toàn bộ hệ gen bằng kit Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina) theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất. Các đoạn trình tự có kích thước 300bp được giải trình tự cả 2 chiều bằng Illumina MiSeq (MiSeq Reagent Kit v3; 600 cycles). Các đoạn đọc trình tự thô được “de novo” tập hợp thành các contigs sử dụng SPAdes v3.14.1 với Shovill v1.1.0.

2.2.7. Các biến số và chỉ số nghiên cứu

Các biến số trong phân tích mối liên hệ về kiểu gen của các chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* bao gồm:

- Các loại trình tự (ST) của 49 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* được chọn để giải trình tự.
- Sự tương đồng về kiểu gen của các chủng này
- Số lượng và tỷ lệ các chủng mang gen *mcr-1* nằm trên plasmid
- Số lượng và chủng loại plasmid mang gen *mcr-1*

2.2.8. Tiêu chí đánh giá

Các chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* được coi là có mối liên hệ về mặt di truyền nếu:

- Chủng có cùng 1 loại trình tự (ST)
- Có sự tương đồng về kiểu gen
- Gen *mcr-1* của các chủng nằm trên cùng 1 loại plasmid

2.2.9. Quản lý và phân tích số liệu và khống chế sai số

2.2.9.1. Quản lý và phân tích dữ liệu

Các gen KKS được xác định bằng Abricate và Staramr (soi chiều contigs so sánh với ResFinder) và được chú thích bằng PGAP từ dữ liệu của ResFinder trên Center for Genomic Epidemiology. Dữ liệu từ PlasmidFinder được dùng để tìm kiếm ARGS, và MLST được dùng để xác định kiểu trình tự của 7 gen giữ nhà (house-keeping genes). Cây phân loại kiểu gen theo đa hình đơn nucleotide (SNPs) được xây dựng bằng phần mềm Prokka và Roary và IP-TREE v1.6.11.

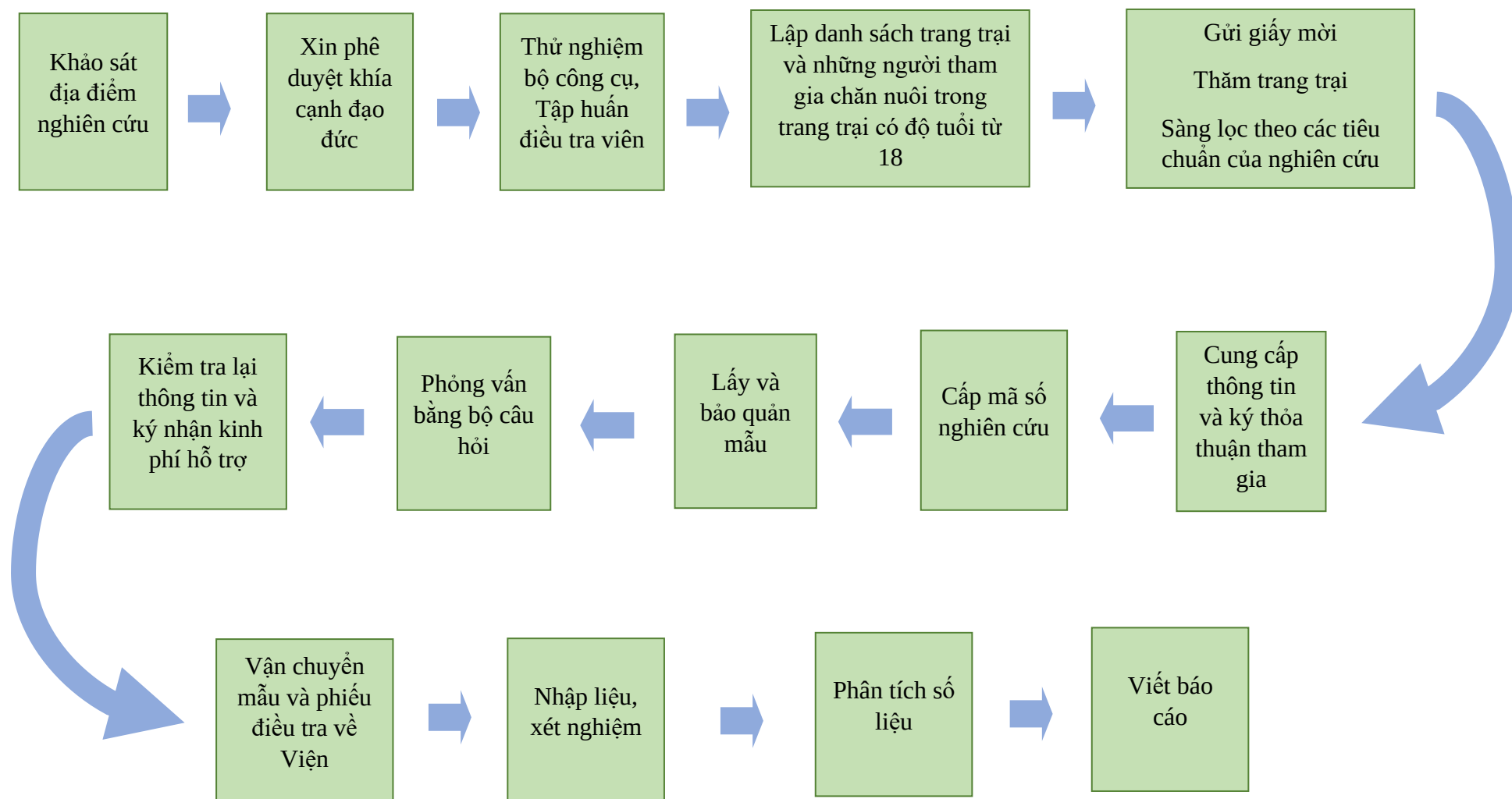
Thông tin về ST, plasmid và các gen kháng của các chủng được nhập, quản lý và tính toán tần suất, tỷ lệ trên Microsoft excel.

2.2.9.2. Khống chế sai số

Chủng được giải trình tự tuân thủ theo các quy trình chuẩn của phòng thí nghiệm và theo hướng dẫn của nhà sản xuất để hạn chế tối đa các sai sót (sai lệch chẩn đoán) có thể xảy ra trong quá trình xét nghiệm.

2.3. Tổ chức thực hiện

Các bước tổ chức thực hiện nghiên cứu được trình bày ở Hình 2.2.



Hình 2.2. Sơ đồ tóm tắt các bước triển khai nghiên cứu

2.4. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương phê duyệt trước khi triển khai (số HĐĐĐ – 06/2019 ngày 02/4/2019). Trong quá trình triển khai, nhóm 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 của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương như:

- Đối tượng tham gia nghiên cứu được cung cấp thông tin về nghiên cứu.
- Đối tượng nghiên cứu tham gia nghiên cứu một cách tự nguyện và có quyền rút lui bất cứ lúc nào. Đối tượng thể hiện sự tự nguyện tham gia nghiên cứu bằng cách ký xác nhận vào bản chấp thuận tham gia nghiên cứu.
- Đối tượng được hỗ trợ chi phí đi lại cho việc tham gia nghiên cứu.
- Nguy cơ đối với sức khỏe của đối tượng tham gia nghiên cứu hầu như không có do mẫu được lấy là phân.
- Nghiên cứu đảm bảo nguyên tắc bảo mật và khuyết danh của đối tượng tham gia nghiên cứu bằng việc sử dụng mã số, bảo mật phiếu thông tin, phiếu hỏi và số liệu
- Đối tượng không bị phán xét về việc sử dụng KS của họ là đúng hay sai, nhưng sẽ được cán bộ của nghiên cứu cung cấp 1 số lời khuyên hoặc khuyến cáo phù hợp nhằm phòng ngừa, hạn chế tác hại của KKS.
- Cán bộ làm nghiên cứu có nguy cơ phơi nhiễm với tác nhân gây bệnh tuy nhiên nguy cơ này được giảm thiểu bằng các trang bị bảo hộ phù hợp
- Mẫu bệnh phẩm được bảo quản, vận chuyển và xét nghiệm theo đúng các quy định về an toàn sinh học.

Chương 3 - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của người chăn nuôi và trang trại

3.1.1. Đặc điểm nhân khẩu học, hộ gia đình và trang trại

Tổng số 139 người chăn nuôi đã được thu tuyển từ 70 trang trại trên địa bàn nghiên cứu. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu được trình bày ở các bảng số liệu sau.

Bảng 3.1. Đặc điểm nhân khẩu học (N = 139)

	Đặc điểm	n	%
Tuổi	18 - 30	13	9,3
	31 - 40	12	8,6
	41 - 50	39	28,1
	51 - 60	40	28,8
	> 60	35	25,2
Giới tính	Nam	78	56,1
	Nữ	61	43,9
Dân tộc	Kinh	137	98,6
	Tày	1	0,7
	Khác	1	0,7
Tình trạng hôn nhân	Độc thân	3	2,2
	Đã kết hôn	132	94,9
	Ly hôn	1	0,7
	Goá	3	2,2
Trình độ học vấn	Cấp 1	14	10,1
	Cấp 2	90	64,7
	Cấp 3	27	19,4
	Trung cấp/học nghề	3	2,2
	Cao đẳng/Đại học	5	3,6
Tôn giáo	Không	69	49,7
	Phật giáo	38	27,3
	Thiên chúa giáo	32	23,0

Phân bố của đối tượng nghiên cứu theo giới tính tương đối cân bằng với 56,1% là nam và 43,9% là nữ. Hầu hết đối tượng nghiên cứu có độ tuổi trên 40 (chiếm 82,1%). Về học vấn, hầu hết đối tượng có trình độ trung học cơ sở (THCS)

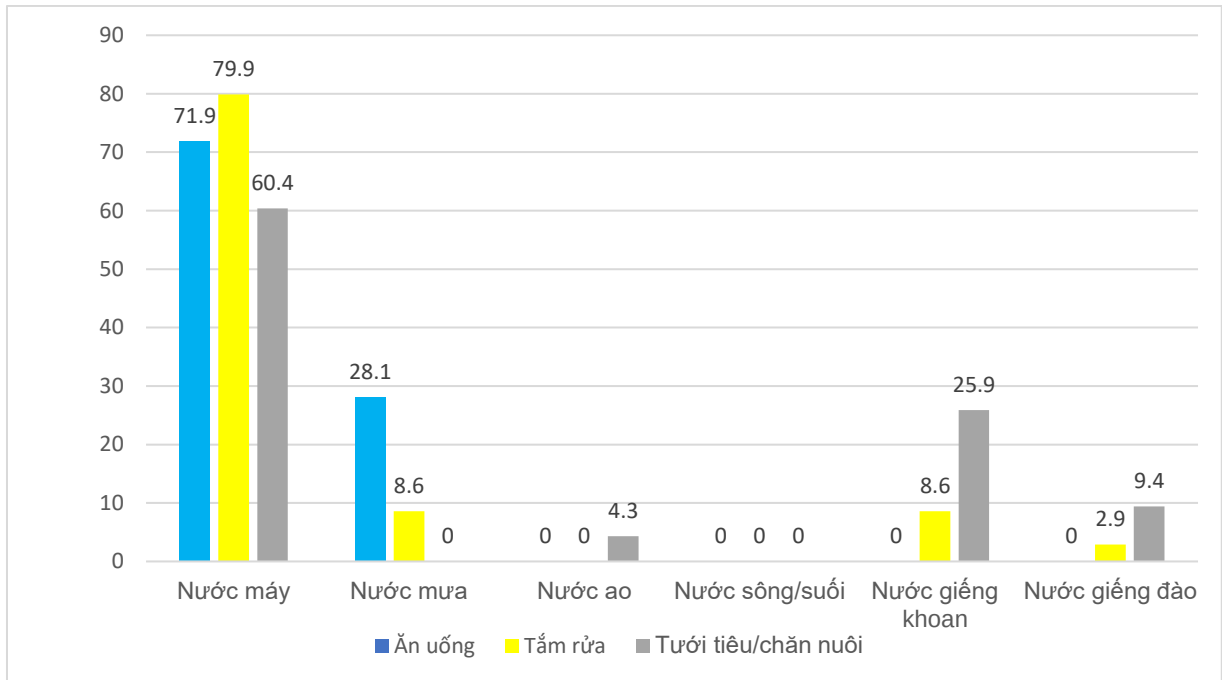
(64,8%), một phần tư số đối tượng có trình độ từ trung học phổ thông (THPT) trở lên (25,2%), 10,1% còn lại có trình độ tiểu học.

Bảng 3.2. Đặc điểm hộ gia đình và trang trại (N = 139)

Đặc điểm		n	%
Quy mô HGD	Từ 3 người trở xuống	61	43,9
	Trên 3 người	78	56,1
Thu nhập bình quân đầu người/tháng	< 1 triệu/người/tháng	31	22,3
	≥ 1 triệu/người/tháng	106	76,3
	Không nhớ/không trả lời	2	1,4
Diện tích nhà ở	< 100m ²	23	16,6
	≥ 100m ²	116	83,4
Diện tích dành cho chăn nuôi	< 1.000 m ²	97	69,8
	≥ 1.000m ²	42	30,2
Số lượng gà nuôi trong trang trại	< 1.000 con	65	46,8
	≥ 1.000 con	74	53,2
Số lượng lợn nuôi trong trang trại	Không nuôi lợn	96	69,1
	1 – 10 con	24	17,3
	11 – 20 con	13	9,3
	21 – 30 con	4	2,9
	31 – 40 con	2	1,4
Tổng ĐVVN	GTNN 0,2	GTLN 37,0	ĐLC 11,8
Quy mô trang trại	Nông hộ	98	70,5
	Nhỏ	24	17,3
	Vừa	17	12,2
Loại trang trại	Chỉ nuôi lợn	8	5,8
	Chỉ nuôi gà	89	64,0
	Hỗn hợp cả gà và lợn	42	30,2

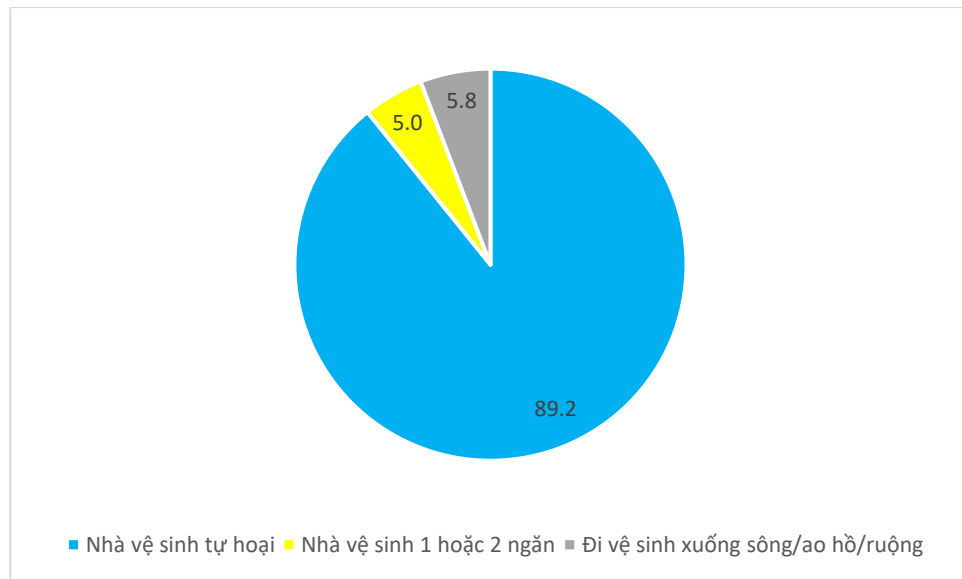
76,3% đối tượng có thu nhập bình quân đầu người của hộ gia đình ở mức trên 1 triệu/tháng và 22,3% ở mức dưới 1 triệu/tháng. Hơn hai phần ba (70,5%) người chăn nuôi làm việc ở trang trại có quy mô nông hộ, 17,3% ở trang trại quy mô nhỏ và 12,2% ở trang trại có quy mô vừa, không có trang trại quy mô lớn ở địa điểm nghiên cứu. 64,0% người chăn nuôi làm việc ở trang trại chỉ nuôi gà,

chỉ có gần 6% làm việc ở trang trại chỉ nuôi lợn và 30,2% làm việc ở trang trại vừa chăn nuôi gà vừa chăn nuôi lợn.



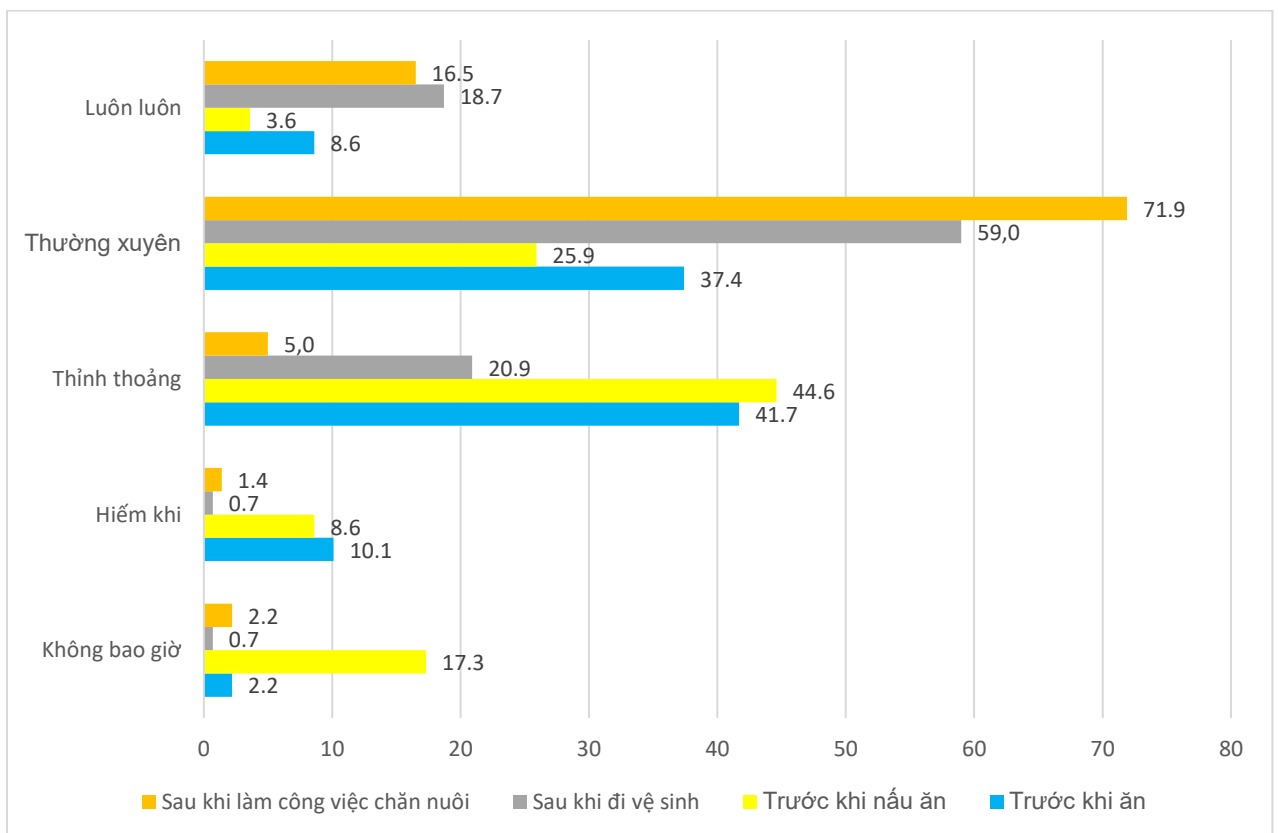
Biểu đồ 3.1. Tỷ lệ các nguồn nước sử dụng trong hộ gia đình theo các mục đích sử dụng (N = 139)

Nước máy là nguồn nước chính dùng cho ăn uống (71,9%) và tắm rửa (79,9%) cũng như tưới tiêu/chăn nuôi (60,4%). Tuy nhiên nước giếng cũng là một nguồn nước quan trọng trong tưới tiêu/chăn nuôi (chiếm 35,3%), đặc biệt một nguồn nước bề mặt dễ bị ô nhiễm là nước ao cũng là một nguồn nước dùng cho hoạt động tưới tiêu/chăn nuôi (4,3%) trong khi nguồn nước này không được dùng trong ăn uống và tắm rửa.



Biểu đồ 3.2. Tỷ lệ các loại nhà vệ sinh của hộ gia đình (N = 139)

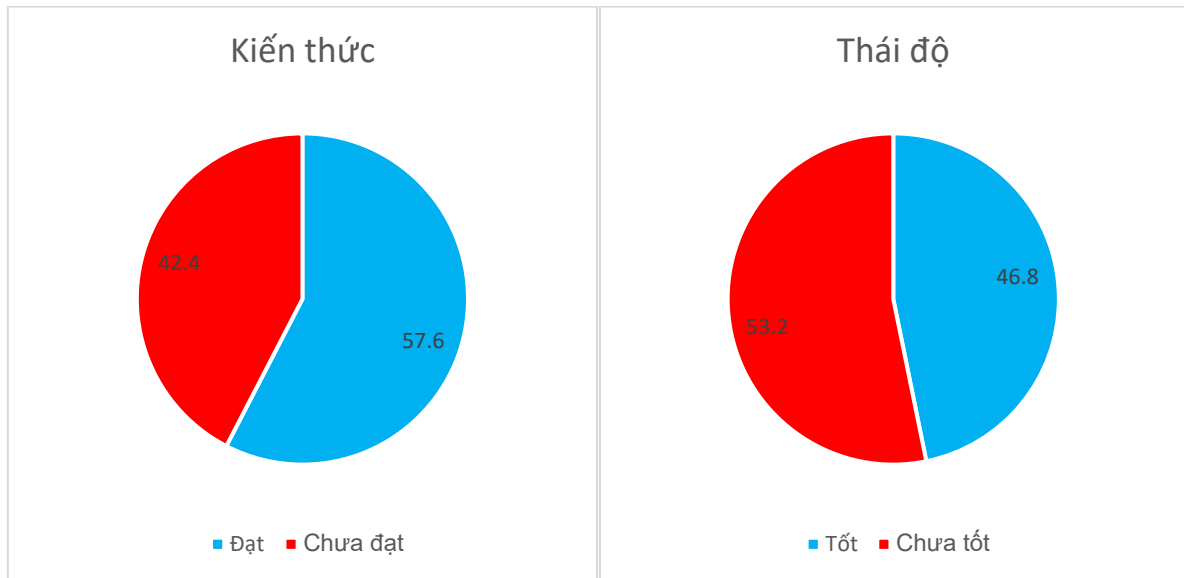
Hồ xí tự hoại chiếm tỷ lệ lớn (89,2%) tuy nhiên các loại hồ xí kém vệ sinh như hồ xí 1 ngăn hoặc 2 ngăn vẫn chiếm 5%, thậm chí có gần 6% vẫn đi vệ sinh ra ruộng hoặc vào các nguồn nước bề mặt như ao, hồ, sông.



Biểu đồ 3.3. Tỷ lệ các thực hành rửa tay của đối tượng nghiên cứu (N = 139)

Thực hành rửa tay tốt (tổng tần suất thường xuyên và luôn luôn) ở các thời điểm sau khi làm công việc chăn nuôi, sau khi đi vệ sinh, trước khi ăn và trước khi nấu ăn lần lượt là 88,4%, 77,7%, 29,5% và 46,0%.

3.1.2. Kiến thức, thái độ, thực hành liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi của người làm chăn nuôi

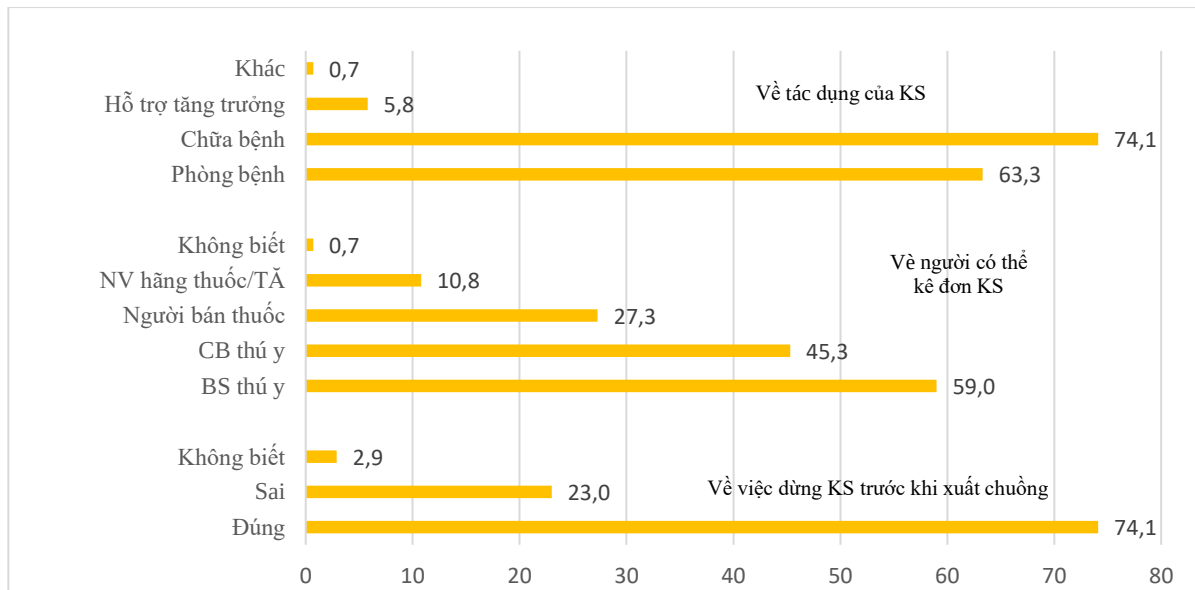


Biểu đồ 3.4. Đánh giá kiến thức và thái độ về kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)

Chú giải: Kiến thức: Đạt nếu ≥ 2 điểm, Chưa đạt nếu < 2 điểm.

Thái độ: Tốt nếu ≥ 4 điểm, Chưa tốt nếu < 4 điểm.

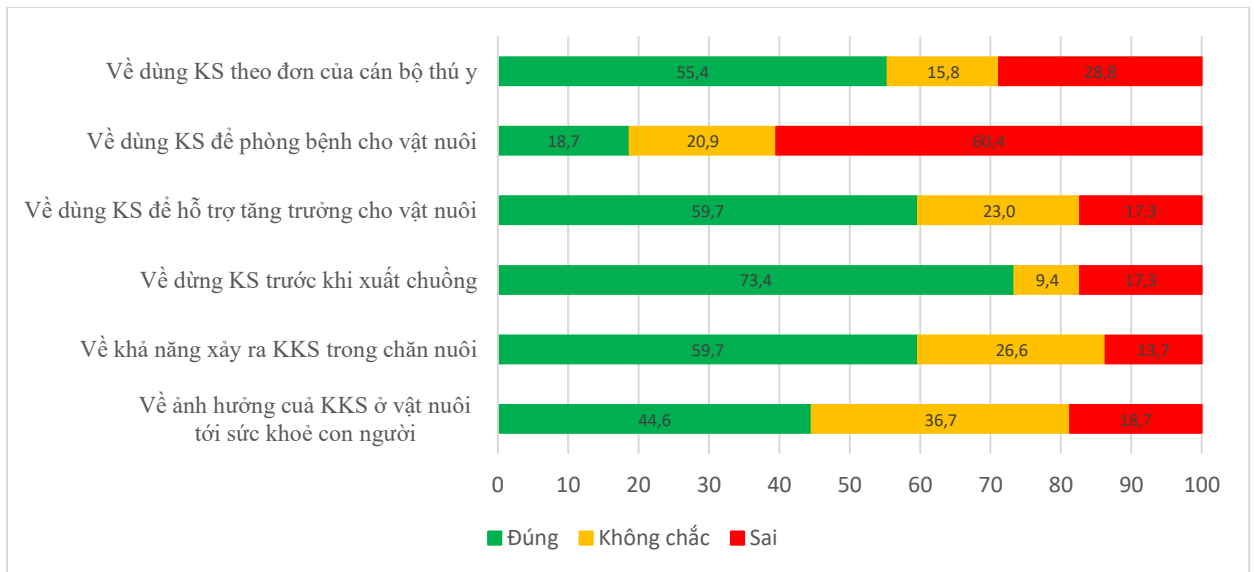
Về kiến thức, chỉ có hơn một nửa (57,6%) số người được hỏi có kiến thức ở mức đạt và 42,4% chưa đạt về kiến thức. Về thái độ, chưa tới một nửa số đối tượng (46,8%) có thái độ tốt liên quan đến KS và KKS trong chăn nuôi.



Biểu đồ 3.5. Kiến thức liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)

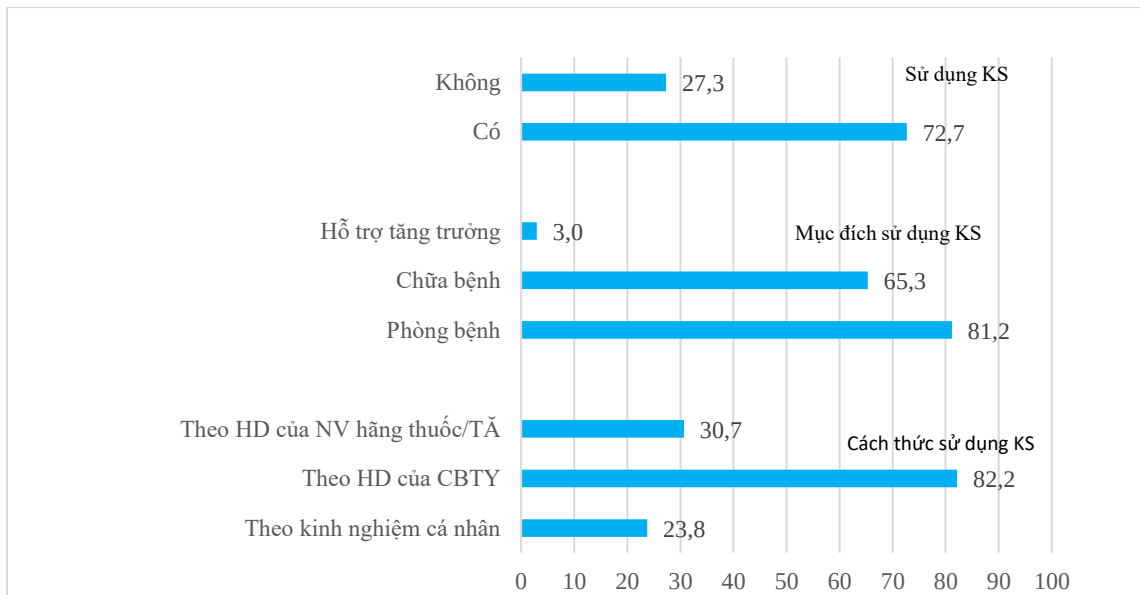
Chú giải: BS: Bác sỹ, CB: Cán bộ, NV: Nhân viên, TA: Thức ăn

Ba phần tư số người được hỏi biết KS là để chữa bệnh cho vật nuôi (74,1%); 63,3% cho rằng KS có tác dụng phòng bệnh cho vật nuôi và 5,8% số đối tượng cho rằng KS có tác dụng hỗ trợ tăng trưởng cho vật nuôi. Khoảng một nửa đối tượng cho biết người có thể kê đơn KS cho vật nuôi là bác sỹ thú y (59,0%) và cán bộ thú y (45,3%), 38,1% cho rằng người bán thuốc hoặc nhân viên hãng thuốc/hãng thức ăn cũng có thể kê đơn KS cho vật nuôi. Có tới gần một phần tư số đối tượng (25,9%) cho rằng dùng KS trước khi xuất chuồng là sai hoặc không biết đúng hay sai.



Biểu đồ 3.6. Thái độ liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)

Có 55,4% đồng tình rằng nhất thiết phải có đơn thuốc của thú y thì mới sử dụng KS cho vật nuôi trong khi 44,6% cho rằng không nhất thiết hoặc không chắc chắn về việc có phải có đơn thuốc của thú y thì mới dùng KS cho vật nuôi. 60,4% số đối tượng đồng tình với việc sử dụng KS để phòng bệnh cho vật nuôi, 18,7% không đồng tình và hơn một phần năm (20,9%) không có thái độ rõ ràng với việc này. 17,3% đồng tình rằng cần sử dụng KS để kích thích/hỗ trợ tăng trưởng cho vật nuôi và 23,0% không chắc chắn về việc có cần sử dụng KS để kích thích/hỗ trợ tăng trưởng cho vật nuôi hay không. Chỉ có hơn một nửa số đối tượng không đồng tình với việc sử dụng KS để kích thích/hỗ trợ tăng trưởng cho vật nuôi (59,7%). Gần ba phần tư (73,4%) đối tượng đồng ý rằng cần thiết phải dùng KS trước khi xuất chuồng nhưng cũng có 26,6% đồng tình rằng không cần thiết phải dùng hoặc không chắc việc dùng KS trước khi xuất chuồng là cần thiết hay không. Hơn một nửa đối tượng (59,7%) đồng ý rằng KKS có xảy ra trong chăn nuôi, 13,7% cho rằng KKS không xảy ra trong chăn nuôi và một phần tư (26,6%) không chắc chắn về việc này. Chưa tới một nửa (44,6%) cho rằng KKS trong chăn nuôi có ảnh hưởng tới sức khỏe con người trong khi 18,7% cho rằng KKS không ảnh hưởng tới sức khỏe con người và 36,7% không có thái độ rõ ràng về điều này.



Biểu đồ 3.7. Thực hành liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)

Chú giải: CBTY: Cán bộ thú y, NV: Nhân viên, TA: Thức ăn, HD: Hướng dẫn

Về thực hành, có gần ba phần tư (72,7%) cho biết có sử dụng KS trong chăn nuôi. 65,3% trong số này sử dụng KS với mục đích chữa bệnh, 3,0% sử dụng KS để kích thích/hỗ trợ tăng trưởng trong khi có tới 81,2% sử dụng KS với mục đích phòng bệnh cho vật nuôi. Số đối tượng nói họ sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y là 82,2%, sử dụng theo hướng dẫn của nhân viên hãng thuốc/hãng thức ăn là 30,7% và gần một phần tư (23,8%) báo cáo rằng họ sử dụng KS theo kinh nghiệm cá nhân.

3.2. Tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1* ở người chăn nuôi, vật nuôi và môi trường

Bảng 3.3. Số lượng mẫu thu được và kết quả sàng lọc trên môi trường kháng sinh chọn lọc chứa vancomycin (10 mg/L) và colistin (0,5 mg/L)

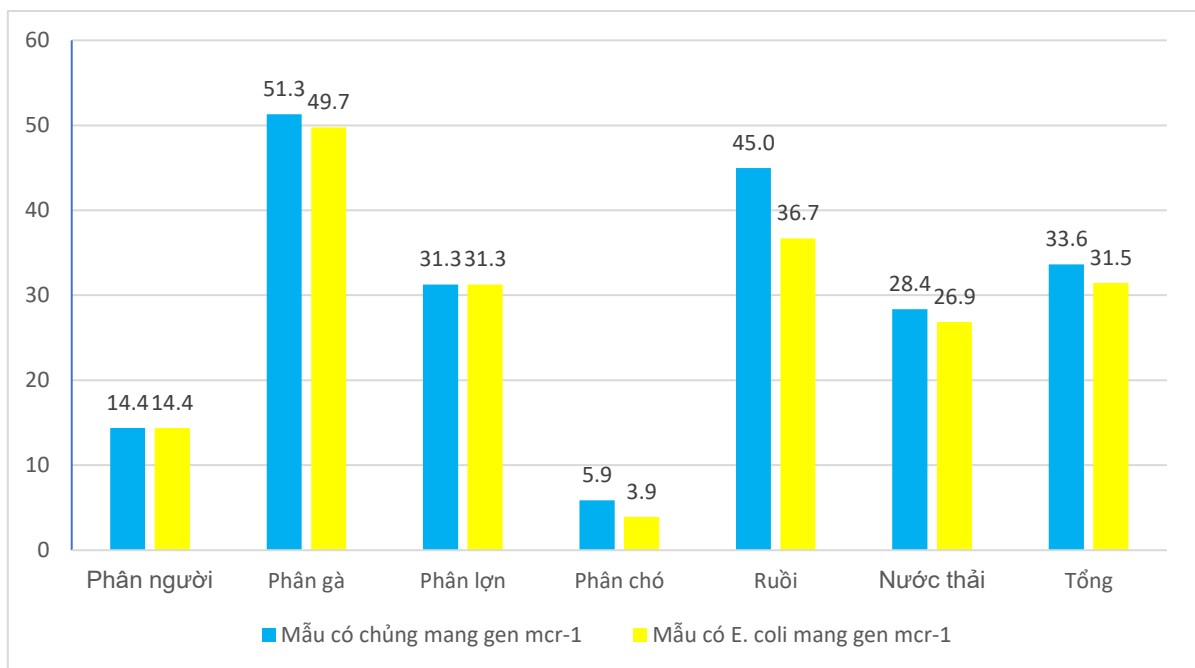
Loại mẫu	Số mẫu thu được	Mẫu mọc trên môi trường KS chọn lọc	
	N	n	% (KTC 95%)
Phân người	139	36	25,9 (19,2 - 33,9)
Phân gà	193	139	72,0 (65,2 - 78,0)
Phân lợn	80	37	46,3 (35,5 - 57,4)
Phân chó	51	26	51,0 (37,1 - 64,7)
Ruồi	109	97	89,0 (81,5 - 93,7)
Nước thải	67	67	100,0 (-)
Tổng	639	402	62,9

Nghiên cứu đã thu thập được 639 mẫu từ 6 loại mẫu khác nhau trong trang trại. Kết quả sàng lọc mẫu kháng colistin cho thấy 62,9% số mẫu mọc trên môi trường KS chứa colistin. Tỷ lệ này cao nhất trên mẫu nước thải (100%), sau đó tới mẫu ruồi (89,0%) và mẫu phân gà (72,0%), thấp nhất là ở mẫu phân người với 25,9%.

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>	<i>n</i>	%
Phân người	139		20	20	14,39
Phân gà	193		99	96	49,74
Phân lợn	80		25	25	31,25
Phân chó	51		3	2	3,92
Ruồi	109		49	40	36,7
Nước thải	67		19	18	26,87
Tổng	639		215	201	31,5

Biểu đồ 3.8. Tỷ lệ mẫu nhiễm gen *mcr-1* và nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1*

(N = 139)

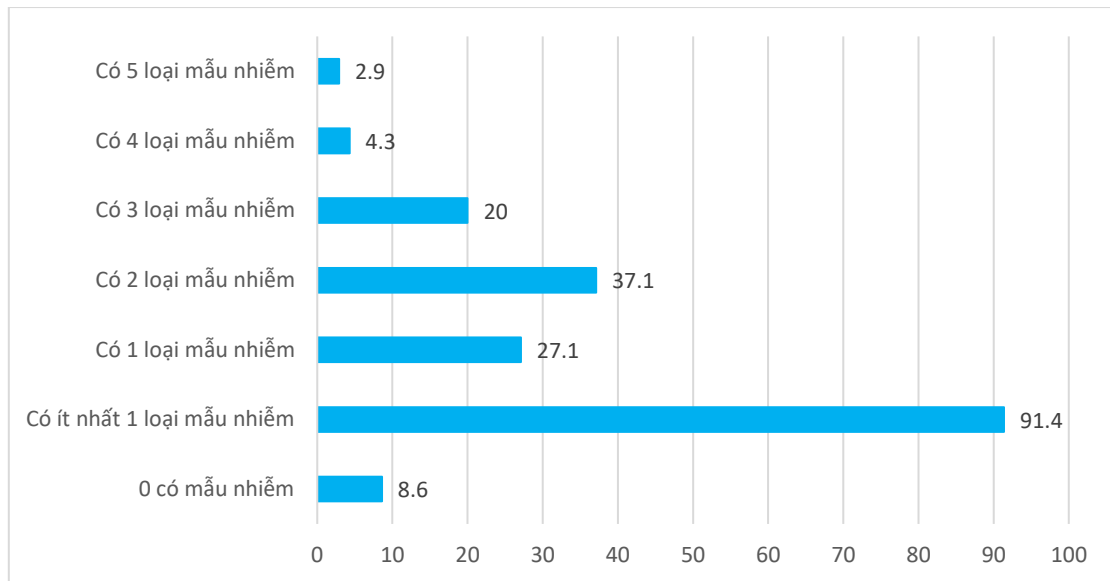
Tổng số mẫu có chủng có kết quả PCR khẳng định sự có mặt của gen *mcr-1* là 215 chiếm 33,6% tổng số mẫu thu được. Tỷ lệ này trên mẫu phân gà là cao nhất (51,3%) sau đó tới mẫu ruồi (45,0%), thấp nhất là ở mẫu phân chó (5,9%).

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*.

Bảng 3.5. Chủng *E. coli* mang gen *mcr-1*

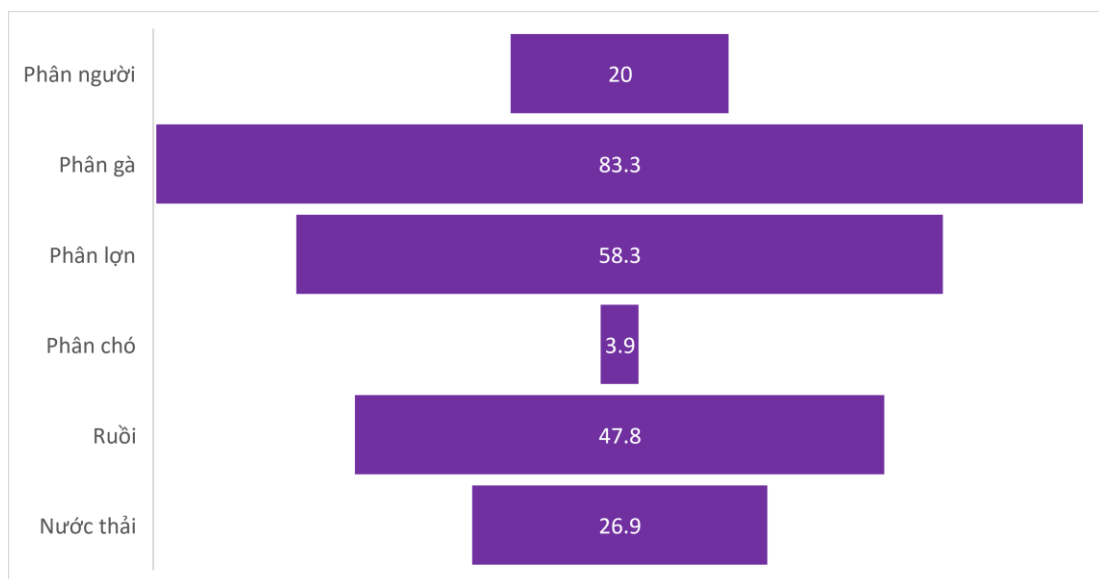
Loại mẫu	Chủng mang gen <i>mcr-1</i> thu thập được	Chủng <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i>	
	N	n	% (KTC 95%)
Phân người	31	31	100,0 (-)
Phân gà	201	179	89,0 (83,9 - 92,7)
Phân lợn	33	32	97,0 (79,7 - 99,6)
Phân chó	4	2	50,0 (2,5 - 97,5)
Ruồi	83	62	74,7 (64,0 - 83,0)
Nước thải	27	24	88,9 (68,9 - 96,6)
Tổng	379	330	87,1

Tổng số chủng vi khuẩn mang gen *mcr-1* thu được là 379 chủng, chiếm đa số là chủng thu được từ mẫu phân gà (201 chủng) và mẫu ruồi (83 chủng), có 31 chủng thu được từ 20 mẫu phân người. *E. coli* chiếm đa số trong số chủng thu thập được với tỷ lệ 87,1%. Đặc biệt ở người, 100% số chủng thu được là *E. coli*.



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*, chưa tới 10% số trang trại không nhiễm tác nhân này. Trong số các trang trại nghiên cứu, gần 70% có từ 2 loại mẫu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trở lên, trong đó đa số là 2 loại mẫu (37,1%) và 3 loại mẫu (20,0%) nhiễm.



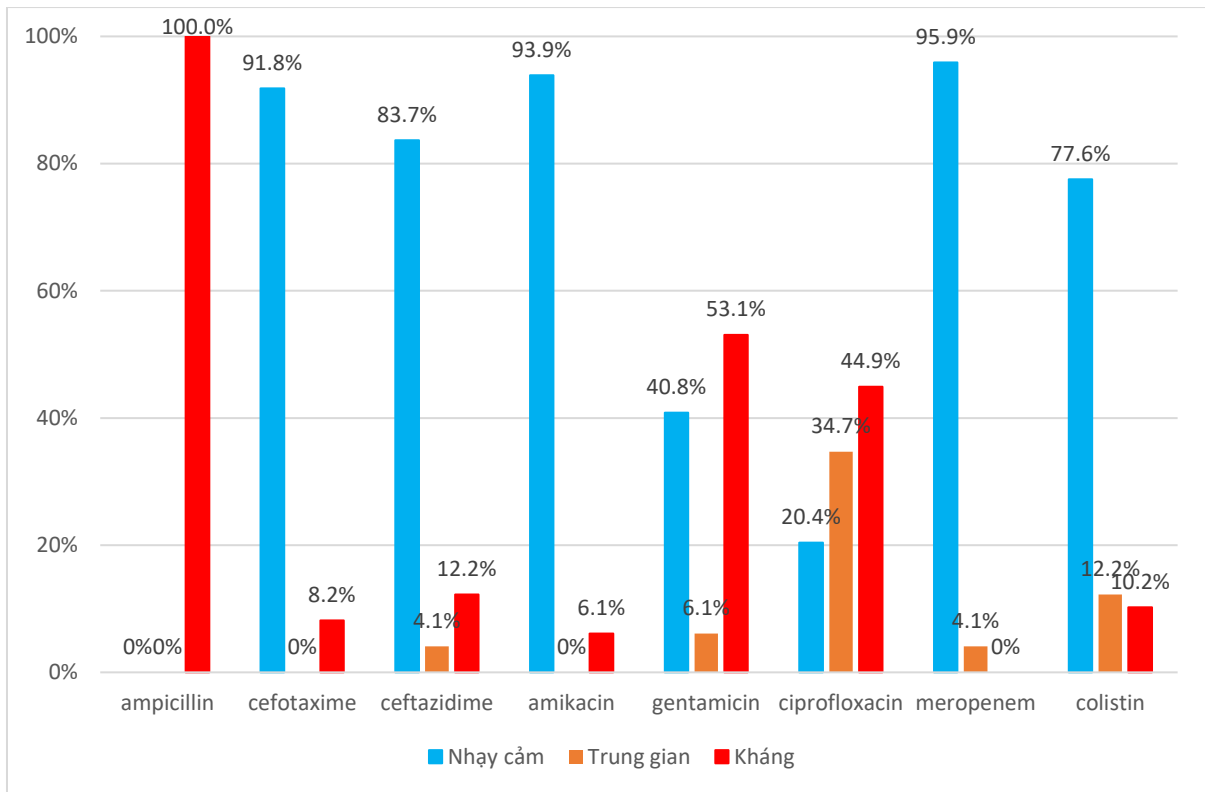
Biểu đồ 3.10. Tỷ lệ trang trại nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* theo từng loại mẫu

Tính theo từng loại mẫu, 20% số trang trại có mẫu phân người nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1*. Tỷ lệ này cao nhất là ở mẫu phân gà với 83,3% trong khi ở mẫu phân lợn thấp hơn gần 1,5 lần (58,3%). Gần 50% trang trại có mẫu ruồi nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1*.

Bảng 3.6. Tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người (N = 139)

Yếu tố	N	n	%	KTC 95%
Giới tính				
Nam	78	11	14,1	7,6 - 24,0
Nữ	61	9	14,8	7,7 - 26,4
Tuổi				
18-30	13	4	30,8	10,2 - 63,5
31-40	12	0	0,0	-
41-50	39	4	10,3	3,7 - 25,2
51-60	40	3	7,5	2,3 - 21,7
> 60	35	9	25,7	13,5 - 43,4
Trình độ học vấn				
Tiểu học	14	1	7,1	0,1 - 44,1
Trung học cơ sở	90	14	15,6	9,3 - 24,8
Từ THPT	35	5	14,3	5,8 - 31,1

Trên người, tỷ lệ nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* tương đối đồng đều ở cả 2 giới (14,1% ở nam và 14,8% ở nữ) nhưng không đồng đều theo nhóm tuổi, theo đó nhóm có tỷ lệ nhiễm cao nhất là nhóm tuổi thấp nhất (18 đến 30 tuổi: 30,8%) và nhóm tuổi cao nhất (trên 60 tuổi: 25,7%). Xét theo trình độ học vấn, nhóm có tỷ lệ nhiễm cao nhất là nhóm có học vấn cao nhất (Cao đẳng/Đại học: 20,0%), nhóm học vấn cấp 2 và cấp 3 có tỷ lệ nhiễm tương đương nhau (15,6% và 14,8%).



Biểu đồ 3.11. Kết quả MIC của 49 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* (N = 49)

Kết quả xác định nồng độ KS tối thiểu ức chế sự phát triển của vi khuẩn đối với 50 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* cho thấy toàn bộ đều kháng lại với KS thế hệ cũ là ampicillin nhưng còn tương đối nhạy cảm với các loại KS như cephalosporin (cefotaxime 91,8%, ceftazidime 83,7%).

Đối với nhóm aminoglycosides, các chủng trong nghiên cứu còn nhạy cảm với amikacin (93,9% chủng nhạy cảm) nhưng 53,1% chủng đã kháng và 6,1% đã giảm nhạy cảm đối với gentamicin.

Đối với nhóm quinolone, chỉ còn 20,4% số chủng còn nhạy cảm, 79,6% chủng đã giảm nhạy cảm (34,7%) hoặc kháng (44,9%) với ciprofoxacin.

Đối với nhóm carbapenem, 95,9% chủng còn nhạy cảm với meropenem nhưng cũng đã 4,1% số chủng giảm nhạy cảm với KS này.

Đối với KS colistin, tỷ lệ kháng là 10,2%, giảm nhạy cảm là 12,2% và còn nhạy cảm là 77,6% số chủng nghiên cứu.

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

3.3.1. Mối liên quan giữa đặc điểm nhân khẩu học với tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi

Bảng 3.7. Mối liên quan giữa đặc điểm nhân khẩu học và tình trạng nhiễm trên người (N = 139)

Đặc điểm	Nhiễm		Không nhiễm		OR (KTC 95%, p)
	n	%	n	%	
Giới tính					
Nam	11	14,1	67	85,9	0,95 (0,4 – 2,5, p = 0,91)
Nữ	9	14,8	52	85,2	1
Nhóm tuổi					
18 - 40	4	16,0	21	84,0	2,3 (0,5 – 11,5, p = 0,29)
41 - 50	4	10,3	35	89,7	1,4 (0,3 - 6,8, p = 0,67)
51 - 60	3	7,5	37	92,5	1
> 60	9	25,7	26	74,3	4,3 (1,1 - 17,3, p = 0,04)

Kết quả đơn biến cho thấy tuổi là yếu tố có mối liên quan đến tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người. Cụ thể nhóm tuổi trên 60 có khả năng nhiễm cao gấp 4,3 lần (OR = 4,3, 95% KTC: 1,1 – 17,3, p = 0,04) so với nhóm 51 – 60 tuổi. Nhóm tuổi 18 – 40 và 41 – 50 cũng có khả năng nhiễm lớn hơn nhóm 51 – 60 tuổi lần lượt là 2,3 và 1,4 lần, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Nhóm 51 – 60 tuổi được lựa chọn làm nhóm so sánh do đây là nhóm có tỷ lệ nhiễm thấp nhất trong quần thể nghiên cứu, nên khi lấy nhóm này làm nhóm so sánh sẽ cho thấy mức độ nguy cơ nhiễm cao hơn của các nhóm tuổi khác so một cách rõ ràng nhất.

3.3.2. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi với tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi

Bảng 3.8. Mối liên quan giữa đặc điểm hoạt động chăn nuôi với tình trạng nhiễm trên người (N = 139)

Đặc điểm	Nhiễm		Không nhiễm		OR (KTC 95%, p)
	n	%	n	%	
Tổng ĐVVN					1,04 (1,00 – 1,08, p = 0,03)
Quy mô trang trại					
Vừa	6	35,3	11	64,7	3,6 (1,1 – 11,3, p = 0,03)
Nhỏ	1	4,2	23	95,8	0,3 (0,04 – 2,3, p = 0,24)
Nông hộ	13	13,3	85	86,7	1
Tình trạng nhiễm <i>E. coli</i> mang gen <i>mcr-1</i> trên ruồi					
Nhiễm	14	21,5	51	78,5	3,1 (1,1 - 8,7, p = 0,03)
Không nhiễm	6	8,1	68	91,9	

Kết quả cho thấy mối liên quan giữa đơn vị vật nuôi trong trang trại tới tình trạng *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người, cụ thể là người làm ở trang trại quy mô vừa có khả năng nhiễm cao gấp 3,6 lần so với người ở nông hộ (OR = 3,6, 95% KTC: 1,1 – 11,3, p = 0,03) và tăng thêm 1 đơn vị vật nuôi có thể làm tăng 4% nguy cơ nhiễm trên người (OR = 1,04, 95% KTC: 1,0 – 1,08, p = 0,03).

Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng xác định được mối liên quan giữa tình trạng nhiễm trên ruồi với tình trạng nhiễm trên người, theo đó người làm ở trang trại có mẫu ruồi nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* có khả năng nhiễm tác nhân này cao gấp 3,1 lần so với nhóm làm việc ở trang trại không có mẫu ruồi nhiễm (OR = 3,1, 95% KTC: 1,1 – 8,7, p = 0,03).

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 ($p \leq 0,05$) 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 của các yếu tố này với tình trạng nhiễm trên người (Bảng 3.9). Chúng tôi không đưa biến số Quy mô trang trại vào mô hình phân tích đa biến dù biến này có kết quả phân tích đơn biến có ý nghĩa ($p \leq 0,05$) do biến số Quy mô trang trại là biến phân loại được tạo ra từ biến số Tổng đơn vị vật nuôi, nghĩa là 2 biến số này đều phản ánh quy mô chăn nuôi của trang trại, vì vậy nếu đưa cả biến số này vào mô hình đa biến có thể sẽ dẫn tới sai lệch của kết quả phân tích.

Bảng 3.9. Kết quả phân tích đa biến mối 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%, <i>p</i>)
	n	%	n	%	
Nhóm tuổi					
18 - 40	4	16,0	21	84,0	2,2 (0,4 – 11,8, <i>p</i> = 0,36)
41 - 50	4	10,3	35	89,7	1,2 (0,2 - 6,3, <i>p</i> = 0,81)
51 - 60	3	7,5	37	92,5	1
> 60	9	25,7	26	74,3	5,1 (1,2 – 22,5, <i>p</i> = 0,03)
Tổng ĐVVN					1,05 (1,01 – 1,09, <i>p</i> = 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, <i>p</i> = 0,03)
Không nhiễm	6	8,1	68	91,9	

Nghiên cứu không xác định được mối liên quan giữa tình trạng nhiễm trên các đối tượng nghiên cứu khác (gồm gà, lợn, chó, nước thải) với tình trạng nhiễm trên ruồi. Tuy nhiên nghiên cứu đã xác định được mối liên quan giữa tình trạng nhiễm trên ruồi với tình trạng nhiễm trên gà và trên lợn. Cụ thể, mẫu ruồi thu ở trang trại có mẫu phân gà nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* có khả năng nhiễm tác nhân này cao gấp 5,3 lần so với mẫu ruồi thu ở trang trại không có mẫu phân gà nhiễm (OR = 5,3, 95% KTC: 1,03 – 26,7, p = 0,05); khả năng này đối với ruồi thu ở trang trại có mẫu phân lợn nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* là cao gấp 9,0 lần (OR = 9,0, 95% KTC: 1,3 – 63,0, p = 0,03) (Bảng 3.10). Các yếu tố như tình trạng nhiễm trên chó và nước thải không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với tình trạng nhiễm trên ruồi.

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 thải	Nhiễm	9	52,9	8	47,1	1,4 (0,5 - 4,2, p = 0,56)
	Không nhiễm	21	44,7	26	55,3	

3.3.3. Mối liên quan giữa Kiến thức-thái độ-thực hành liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh và tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi

Bảng 3.11. Mối liên quan giữa kiến thức về kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi với tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người (N = 139)

Yếu tố	Nhiễm trên người				OR (KTC 95%), p
	Nhiễm	%	Không nhiễm	%	
Kiến thức về tác dụng của KS trong chăn nuôi					
Đúng	6	14,3	36	85,7	1,0 (0,3 - 2,8), 0,98
Sai	14	14,4	83	85,6	
Kiến thức về người có thể kê đơn KS trong chăn nuôi					
Đúng	15	17,4	71	82,6	2,0 (0,7 - 5,9), 0,20
Sai	5	9,4	48	90,6	
Kiến thức về dừng KS trước khi xuất chuồng					
Đúng	10	9,7	93	90,3	0,3 (0,1-0,7), 0,01
Sai/Không biết	10	27,8	26	72,2	

Kết quả phân tích cho thấy người biết rằng dừng KS trước khi xuất chuồng là đúng có khả năng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* thấp hơn 70% so với người có kiến thức sai (OR = 0,3, 95% KTC: 0,1 – 0,7, p = 0,01). Các biến số kiến thức còn lại không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê đến tình trạng nhiễm trên người.

Bảng 3.12. Mối liên quan giữa thái độ về kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi với tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người (N = 139)

Yếu tố	Nhiễm trên người				OR (KTC 95%), p
	Nhiễm	%	Không nhiễm	%	
Thái độ về dùng KS theo đơn của cán bộ thú y					
Thái độ đúng	9	11,7	68	88,3	0,6 (0,2 - 1,6), 0,32
Thái độ sai/Không chắc chắn	11	17,7	51	82,3	
Thái độ về dùng KS để phòng bệnh cho vật nuôi					
Thái độ đúng	5	19,2	21	80,8	1,6 (0,5 - 4,7), 0,44
Thái độ sai/Không chắc chắn	15	13,3	98	86,7	
Thái độ về dùng KS để hỗ trợ tăng trưởng cho vật nuôi					
Thái độ đúng	14	16,9	69	83,1	1,7 (0,6 - 4,7), 0,31
Thái độ sai/Không chắc chắn	6	10,7	50	89,3	
Thái độ về dùng KS trước khi xuất chuồng					
Thái độ đúng	12	11,8	90	88,2	0,5 (0,2 - 1,3), 0,15
Thái độ sai/Không chắc chắn	8	21,6	29	78,4	
Thái độ về khả năng xảy ra KKS trong chăn nuôi					
Thái độ đúng	5	6,0	78	94,0	0,2 (0,1-0,5), 0,002
Thái độ sai/Không chắc chắn	15	26,8	41	73,2	
Thái độ về ảnh hưởng của KKS ở vật nuôi tới sức khỏe con người					
Thái độ đúng	5	8,1	57	91,9	0,4 (0,1 - 1,1), 0,06
Thái độ sai/Không chắc chắn	15	19,5	62	80,5	

Về thái độ, người cho rằng KKS có xảy ra trong chăn nuôi có khả năng nhiễm thấp hơn 80% so với những người có thái độ chưa đúng về vấn đề này (OR = 0,2, 95% KTC: 0,1 - 0,5, $p = 0,002$). Các yếu tố thái độ còn lại không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với tình trạng nhiễm trên người.

Bảng 3.13. Mối liên quan giữa thực hành về kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi với tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người (N = 139)

Yếu tố	Nhiễm trên người				OR (KTC 95%), p
	Nhiễm	%	Không nhiễm	%	
Sử dụng KS trong chăn nuôi					
Không dùng KS	6	15,8	32	84,2	1,2 (0,4-3,3), 0,77
Có dùng KS	14	13,9	87	86,1	
Sử dụng KS với mục đích chữa bệnh					
Không dùng KS	6	15,8	32	84,2	1,4 (0,5 - 4,2); 0,54
Có	4	25,0	12	75,0	2,5 (0,7 - 9,3); 0,17
Không	10	11,8	75	88,2	1
Sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y					
Không dùng KS	6	15,8	32	84,2	0,8 (0,2 - 2,4), 0,65
Có	5	9,1	50	90,9	0,4 (0,1 -1,3), 0,14
Không	9	19,6	37	80,4	1

Chúng tôi không xác định được mối liên quan có ý nghĩa thống kê của bất kỳ biến số thực hành nào với tình trạng nhiễm trên người.

Khi phân tích mối liên quan giữa các yếu tố kiến thức, thái độ và thực hành tới tình trạng nhiễm trên người, nghiên cứu đã xây dựng 3 mô hình phân tích đa biến khác nhau gồm các biến số 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, như vậy 3 mô hình chỉ

khác nhau ở 3 biến thực hành sử dụng KS trong chăn nuôi. Kết quả 3 mô hình trình bày ở Bảng 3.14.

Bảng 3.14. 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
Kiến thức về người có thể kê đơn KS trong chăn nuôi			
Đúng	1,42 (0,42 - 4,79), 0,57	1,41 (0,42 - 4,75), 0,58	1,92 (0,54 - 6,88), 0,31
Sai			
Kiến thức về dùng KS trước khi xuất chuồng			
Đúng	0,28 (0,08 - 1,02), 0,05	0,31 (0,08 - 1,12, 0,07)	0,29 (0,07 - 1,02), 0,06
Sai/Không biết			
Thái độ về dùng KS trước khi xuất chuồng			
Thái độ đúng	1,49 (0,38 - 5,83), 0,56	1,43 (0,36 - 5,68), 0,60	1,67 (0,44 - 6,39), 0,45
Thái độ sai/Không chắc chắn			
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			
Thái độ về ảnh hưởng của KKS ở vật nuôi tới sức khỏe con người			
Thái độ đúng	0,67 (0,17 - 2,57), 0,56	0,65 (0,17 - 2,49), 0,54	0,58 (0,15 - 2,23), 0,43
Thái độ sai/Không chắc chắn			
Sử dụng KS trong chăn nuôi			
Không dùng KS	0,47 (0,14 - 1,62), 0,23		
Có dùng KS			

Yếu tố	Mô hình 1: aOR (KTC 95%), p	Mô hình 2: aOR (KTC 95%), p	Mô hình 3: aOR (KTC 95%), p
Sử dụng KS với mục đích chữa bệnh			
Không dùng KS		2,31 (0,64 - 8,33), 0,19	
Có		1,48 (0,34 - 6,41), 0,59	
Không		1	
Sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y			
Không dùng KS			1,23 (0,33 - 4,63), 0,76
Có			0,28 (0,07 - 1,06), 0,06
Không			1

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 ý nghĩa thống kê nữa. Tuy nhiên mối liên quan của biến Thái độ về khả năng xảy ra KKS trong chăn nuôi thì vẫn còn ý nghĩa thống kê. Cụ thể 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).

3.3.4. Một số yếu tố liên quan đến Thực hành sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi của người chăn nuôi

3.3.4.1. Một số yếu tố nhân khẩu học

Bảng 3.15. Một số yếu tố nhân khẩu học liên quan đến việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)

Đặc điểm	Sử dụng KS trong chăn nuôi				
	Có	%	Không	%	OR (KTC 95%); p
Giới tính					
Nam	58	74,4	20	25,6	1,21 (0,57 - 2,57); 0,61
Nữ	43	70,5	18	29,5	
Nhóm tuổi					
18 - 40	17	68,0	8	32,0	0,81 (0,27 – 2,40); 0,7
41 - 50	31	79,5	8	20,5	1,47 (0,52 – 4,17); 0,47
51 - 60	29	72,5	11	27,5	1
> 60	24	68,6	11	31,4	0,83 (0,31 – 2,24); 0,71
Thu nhập					
< 1 triệu	27	87,1	4	12,9	3,19 (1,03 – 9,83); 0,04
>= 1 triệu	72	68,5	34	31,5	
Trình độ học vấn					
Tiểu học	12	85,7	2	14,3	1,43 (0,62 - 3,32); 0,4
THCS	66	73,3	24	26,7	3,13 (0,6 - 16,32); 0,18
Từ THPT	23	65,7	12	34,3	1

Thu nhập còn có mối liên quan có ý nghĩa thống kê tới thực hành của đối tượng khi 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). Các yếu tố như giới tính, nhóm tuổi hay trình độ học vấn không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê đến việc sử dụng hay không sử dụng KS trong chăn nuôi ở nghiên cứu này.

Bảng 3.16. Một số yếu tố nhân khẩu học liên quan đến mục đích sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 101)

Đặc điểm		Mục đích sử dụng KS				
	Đúng*	%	Sai	%	OR (KTC 95%); p	
Giới tính						
Nam	7	12,1	51	87,9	0,52 (0,18 – 1,53); 0,23	
Nữ	9	20,9	34	79,1		
Nhóm tuổi						
18 - 40	4	23,5	13	76,5	1,48 (0,34 – 6,47); 0,61	
41 - 50	7	22,6	24	77,4	1,40 (0,39 – 5,03); 0,61	
51 - 60	5	17,2	24	82,8	1	
>60	0	-	24	100,0	-	
Thu nhập						
< 1 triệu	3	11,1	24	88,9	0,69 (0,18 – 2,70); 0,6	
>= 1 triệu	11	17,6	61	82,4		
Trình độ học vấn						
Tiểu học	2	16,7	10	83,3	1,33 (0,19 - 9,31); 0,77	
THCS	11	16,7	55	83,3	1,33 (0,34 - 5,28); 0,68	
Từ THPT	3	13,0	20	97,0	1	

* Đúng: Chỉ sử dụng KS với mục đích chữa bệnh cho vật nuôi, không sử dụng KS cho bất cứ mục đích nào khác như phòng bệnh hay hỗ trợ tăng trưởng

Nghiên cứu không tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa bất kỳ yếu tố nhân khẩu học nào với mục đích sử dụng KS của người chăn nuôi.

Bảng 3.17. Một số yếu tố nhân khẩu học liên quan đến nguồn hướng dẫn sử dụng KS trong chăn nuôi (N = 101)

Đặc điểm	Nguồn hướng dẫn sử dụng KS				
	Đúng*	%	Sai	%	OR (KTC 95%); p
Giới tính					
Nam	33	56,9	25	43,1	1,26 (0,57 - 2,78); 0,57
Nữ	22	51,2	21	48,8	
Nhóm tuổi					
18 - 40	9	52,9	8	47,1	0,91 (0,28 – 3,04); 0,88
41 - 50	19	61,3	12	38,7	1,29 (0,46 – 3,60); 0,63
51 - 60	16	55,2	13	44,8	1
> 60	11	45,8	13	54,2	0,69 (0,23 – 2,04); 0,50
Thu nhập					
< 1 triệu	19	70,4	8	29,6	2,65 (1,03 – 6,84); 0,04
>= 1 triệu	34	48,7	38	51,3	
Trình độ học vấn					
Tiểu học	7	58,3	5	41,7	1,08 (0,26 – 4,42); 0,92
THCS	35	53,0	31	47,0	0,87 (0,33 – 2,26); 0,77
Từ THPT	13	56,5	10	43,5	1

* Đúng: chỉ sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y, không theo hướng dẫn của bất cứ nguồn nào khác như nhân viên hãng thuốc/hãng thức ăn hay kinh nghiệm cá nhân

Tuy nhiên, nghiên cứu tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa thu nhập với nguồn hướng dẫn sử dụng KS trong chăn nuôi của các đối tượng, theo đó 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). Nghiên cứu không tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa các yếu tố nhân khẩu học còn lại tới thực hành này (Bảng 3.17).

3.3.4.2. Đặc điểm hoạt động chăn nuôi

Bảng 3.18. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi việc có hay không sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)

Đặc điểm	Sử dụng KS trong chăn nuôi				
	Có	%	Không	%	OR (KTC 95%); p
Loại hình trang trại					
Chỉ nuôi gà	73	82,0	16	18,0	31,9 (3,7 - 278,0); 0,002
Nuôi cả gà và lợn	27	64,3	15	35,7	12,6 (1,4 - 112,4); 0,02
Chỉ nuôi lợn	1	12,5	7	87,5	1
Quy mô trang trại					
Nhỏ và vừa	39	95,1	2	4,9	11,3 (2,6 - 49,7); 0,001
Nông hộ	62	63,3	36	36,7	
	TB	GTNN-	TB	GTNN-	OR (KTC 95%); p
	(ĐLC)	GTLN	(ĐLC)	GTLN	
Tổng ĐVVN	11,87 (12,41)	0,3 - 37,04	3,44 (7,32)	0,22 - 33,33	1,13 (1,05 - 1,22); 0,002

– 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).

– 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).

– Tăng thêm 1 đơn vị vật nuôi có thể làm tăng 13% khả năng sử dụng KS trong chăn nuôi (OR = 1,13, 95% KTC: 1,05 - 1,22, p = 0,002).

Bảng 3.19. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi đến mục đích sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 101)

Đặc điểm	Mục đích sử dụng KS				
	Đúng*	%	Sai	%	OR (KTC 95%); p
Loại hình trang trại					
Chỉ nuôi lợn	0	-	1	100,0	-
Chỉ nuôi gà	9	12,3	64	87,7	0,4 (0,1 - 1,2); 0,11
Nuôi cả gà và lợn	7	25,9	20	74,1	1
Quy mô trang trại					
Nhỏ và vừa	3	7,7	36	92,3	0,3 (0,1 - 1,2); 0,09
Nông hộ	13	21,0	49	79,0	
	TB	GTNN-	TB	GTNN-	OR (KTC 95%); p
	(ĐLC)	GTLN	(ĐLC)	GTLN	
Tổng ĐVVN	8,58	0,33 -	12,49	0,3 -	0,97 (0,92 - 1,02); 0,26
	(12,07)	37,04	(12,45)	37,04)	

* Đúng: Chỉ sử dụng KS với mục đích chữa bệnh cho vật nuôi, không sử dụng KS cho bất cứ mục đích nào khác như phòng bệnh hay hỗ trợ tăng trưởng

Nghiên cứu không tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa các đặc điểm hoạt động chăn nuôi đến mục đích sử dụng kháng sinh của người chăn nuôi (Bảng 3.19) cũng như nguồn hướng dẫn sử dụng KS mà họ tuân theo (Bảng 3.20)

Bảng 3.20. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi đến nguồn hướng dẫn sử dụng kháng sinh mà người chăn nuôi tuân theo (N = 101)

Đặc điểm	Nguồn hướng dẫn sử dụng KS				
	Đúng*	%	Sai	%	OR (KTC 95%); p
Loại hình trang trại					
Chỉ nuôi lợn	1	100,0	0	-	-
Chỉ nuôi gà	40	54,8	33	45,2	1,1 (0,5 - 2,7); 0,79
Nuôi cả gà và lợn	14	51,9	13	48,1	1
Quy mô trang trại					
Nông hộ	36	58,1	26	41,9	1
Nhỏ và vừa	19	48,7	20	51,3	0,7 (0,3 - 1,5); 0,36
	TB	GTNN-	TB	GTNN-	OR (KTC 95%); p
	(ĐLC)	GTLN	(ĐLC)	GTLN	
Tổng ĐVVN	10,42	0,3 –	13,6	0,37 –	0,98 (0,95 – 1,01); 0,2
	(11,78)	37,04	(13,04)	37,04	

* Đúng: chỉ sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y, không theo hướng dẫn của bất cứ nguồn nào khác như kinh nghiệm cá nhân hay nhân viên hãng thuốc/hãng thức ăn

Tuy nhiên nghiên cứu xác định được mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa quy mô chăn nuôi đến việc sử dụng KS theo kinh nghiệm cá nhân của người chăn nuôi – 1 thực hành không tốt (Bảng 3.21).

Bảng 3.21. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi việc sử dụng kháng sinh theo kinh nghiệm cá nhân (N = 101)

Đặc điểm	Sử dụng KS theo kinh nghiệm cá nhân (N = 101)				
	Có	%	Không	%	OR (KTC 95%); p
Quy mô trang trại					
Nhỏ và vừa	14	35,9	25	64,1	2,9 (1,1 - 7,5); 0,03
Nông hộ	10	16,1	52	83,9	
	TB	GTNN-	TB	GTNN-	OR (KTC 95%); p
	(ĐLC)	GTLN	(ĐLC)	GTLN	
Tổng ĐVVN	19,75	0,56 -	9,42	0,3 -	1,06 (1,03 - 1,10); 0,001
	(1,77)	37,04	(10,53)	37,04	

- 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).
- Tăng thêm 1 đơn vị vật nuôi có thể làm tăng 6% khả năng sử dụng KS theo kinh nghiệm cá nhân (OR = 1,06, 95% KTC: 1,03 – 1,10, p = 0,001).

Bảng 3.22. Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi đến việc sử dụng kháng sinh theo hướng dẫn của cán bộ thú y (N = 101)

Đặc điểm	Sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y				
	Có	%	Không	%	OR (KTC 95%); p
Quy mô trang trại					
Nhỏ và vừa	30	76,9	9	23,1	0,6 (0,2 - 1,6); 0,28
Nông hộ	53	85,5	9	14,5	
	TB	GTNN-	TB	GTNN-	OR (KTC 95%); p
	(ĐLC)	GTLN	(ĐLC)	GTLN	
Tổng ĐVVN	10,19 (11,19)	0,3 - 37,04	19,6 (15,0)	0,37 - 37,04	0,95 (0,91 - 0,98); 0,006

Nghiên cứu cũng xác định được mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa quy mô chăn nuôi đến thực hành sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y – 1 thực hành tốt, cụ thể tăng thêm 1 đơn vị vật nuôi có thể làm giảm 5% khả năng sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y (OR = 0,95, 95% KTC: 0,91 – 0,98, p = 0,006). Tuy nhiên nhóm quy mô chăn nuôi không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với thực hành này.

3.3.4.3. *Yếu tố Kiến thức và Thái độ*

Bảng 3.23. Mối liên quan giữa Kiến thức tới Thực hành sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)

Đặc điểm	Sử dụng KS trong chăn nuôi				
	Có	%	Không	%	OR (KTC 95%); p
Kiến thức					
Chưa đạt	43	72,9	16	27,1	1,02 (0,48 – 2,17); 0,96
Đạt	58	72,5	22	27,5	
	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	OR (KTC 95%); p
Điểm kiến thức	1,67 (0,76)	0 - 3	1,63 (0,67)	0 - 3	1,08 (0,65 - 1,8); 0,77
Đặc điểm	Mục đích sử dụng KS (N = 101)				
	Đúng*	%	Sai	%	OR (KTC 95%); p
Kiến thức					
Đạt	12	20,7	46	79,3	2,54 (0,76 - 8,52); 0,13
Chưa đạt	4	9,3	39	90,7	
	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	OR (KTC 95%); p
Điểm kiến thức	1,94 (1,0)	0 - 3	1,62 (0,71)	0 - 3	1,74 (0,84 - 3,58); 0,13
Đặc điểm	Nguồn hướng dẫn sử dụng KS (N = 101)				
	Đúng**	%	Sai	%	OR (KTC 95%); p
Kiến thức					
Đạt	36	62,1	22	37,9	2,07 (0,93 - 4,61); 0,08
Chưa đạt	19	44,2	24	55,8	
	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	OR (95%KTC); p
Điểm kiến thức	1,84 (0,71)	1 - 3	1,48 (0,78)	0 - 3	1,92 (1,1 - 3,35); 0,02

Chú giải: Kiến thức: Đạt nếu ≥ 2 điểm, Chưa đạt nếu < 2 điểm. Thái độ: Tốt nếu ≥ 4 điểm, Chưa tốt nếu < 4 điểm.

* Đúng: Chỉ sử dụng KS với mục đích chữa bệnh cho vật nuôi, không sử dụng KS cho bất cứ mục đích nào khác như phòng bệnh hay hỗ trợ tăng trưởng

** Đúng: chỉ sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y, không theo hướng dẫn của bất cứ nguồn nào khác như kinh nghiệm cá nhân hay nhân viên hãng thuốc/hãng thức ăn

Kết quả cho thấy tăng 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). Nghiên cứu không tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa kiến thức với việc có hay không sử dụng KS hay mục đích sử dụng KS trong chăn nuôi.

Bảng 3.24. Mối liên quan giữa Thái độ tới Thực hành sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi (N = 139)

Đặc điểm	Sử dụng KS trong chăn nuôi				
	Có	%	Không	%	OR (KTC 95%); p
Thái độ					
Chưa tốt	62	83,8	12	16,2	3,44 (1,56 – 7,61); 0,002
Tốt	39	60,0	26	40,0	
	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	OR (KTC 95%); p
Điểm thái độ	2,92 (1,46)	0 - 5	3,63 (1,42)	0 - 6	0,69 (0,51 - 0,93); 0,01
Đặc điểm	Mục đích sử dụng KS (N = 101)				
	Đúng*	%	Sai	%	OR (KTC 95%); p
Thái độ					
Tốt	7	17,9	32	82,1	1,29 (0,44 - 3,8); 0,65
Chưa tốt	9	14,5	53	85,5	
	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	OR (KTC 95%); p
Điểm thái độ	2,81 (1,68)	0 - 5	2,94 (1,43)	0 - 5	0,94 (0,66 - 1,35); 0,75
Đặc điểm	Nguồn hướng dẫn sử dụng KS (N = 101)				
	Đúng**	%	Sai	%	OR (KTC 95%); p
Thái độ					
Tốt	20	51,3	19	48,7	0,81 (0,36 - 1,81); 0,61
Chưa tốt	35	56,5	27	43,5	
	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	TB, ĐLC	GTNN - GTLN	OR (95%KTC); p
Điểm thái độ	2,91 (1,47)	0 - 5	2,93 (1,47)	0 - 5	0,99 (0,75 - 1,29); 0,93

Chú giải: Kiến thức: Đạt nếu ≥ 2 điểm, Chưa đạt nếu < 2 điểm. Thái độ: Tốt nếu ≥ 4 điểm, Chưa tốt nếu < 4 điểm.

** Đúng: Chỉ sử dụng KS với mục đích chữa bệnh cho vật nuôi, không sử dụng KS cho bất cứ mục đích nào khác như phòng bệnh hay hỗ trợ tăng trưởng*

*** Đúng: chỉ sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y, không theo hướng dẫn của bất cứ nguồn nào khác như kinh nghiệm cá nhân hay nhân viên hãng thuốc/hãng thức ăn*

Về thái độ, kết quả cho thấy 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, $p = 0,002$) và tăng 01 điểm thái độ có thể làm giảm 31% khả năng sử dụng KS trong chăn nuôi (OR = 0,69, KTC 95%: 0,51 – 0,93, $p = 0,01$). Yếu tố thái độ không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với 2 thực hành còn lại.

3.4. 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

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 từ các trang trại nhằm nghiên cứu đặc điểm kiểu gen và mối liên hệ của các chủng.

Bảng 3.25. Thông tin tóm tắt về các chủng giải trình tự toàn bộ hệ gen
(N = 49)

	n	%	Số lượng ST xác định được	Số chủng mang gen <i>mcr-1</i> nằm trên plasmid
Thu từ loại mẫu				
Phân người	17	34,7	15	15
Phân gà	14	28,6	13	13
Phân lợn	4	8,2	4	2
Phân chó	1	2,0	1	1
Ruồi	11	22,4	11	9
Nước thải	2	4,1	2	2

Thu từ trang trại quy mô				
Nông hộ	36	73,5	29	30
Nhỏ	5	10,2	8	4
Vừa	8	16,3	5	8
Thu từ trang trại				
Chỉ nuôi gà	23	46,9	18	19
Chỉ nuôi lợn	4	8,2	4	3
Nuôi cả gà và lợn	22	44,9	18	20

Thông tin chi tiết về 49 chủng này (gồm loại trình tự ST, vị trí của gen *mcr-1*, loại plasmid mang gen *mcr-1*, nguồn gốc của chủng như loại mẫu, loại trang trại) được trình bày ở Phụ lục 10.

Bảng 3.26. Tỷ lệ các loại trình tự (ST) (N = 49)

ST	n	%
189	2	4,1
4015	2	4,1
10	3	6,1
2705	3	6,1
48	4	8,2
155	4	8,2
206	4	8,2
27 ST còn lại	27	55,1

Có sự đa dạng về loại trình tự (ST) trong số các chủng này với 34 loại ST khác nhau được xác định. Có 7 loại ST được ghi nhận ở nhiều hơn 1 chủng là ST189, ST4015 (2 chủng), ST10, ST2705 (3 chủng), ST48, ST155, ST206 (4 chủng), còn lại 27 ST chỉ được ghi nhận trên 1 chủng. Nghiên cứu cũng xác định được 3 ST mới chưa từng ghi nhận trên thế giới, 2 chủng từ mẫu phân gà và 1 chủng từ mẫu ruồi. Dữ liệu gen của 3 chủng này đã được nộp lên cơ sở dữ liệu các chủng vi khuẩn đường ruột thuộc Trường Y Warwick, Vương quốc Anh (địa

chỉ website <https://enterobase.warwick.ac.uk/>) và được hệ thống cấp các mã số ST từ 12945 đến 12947.

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, cụ thể:

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

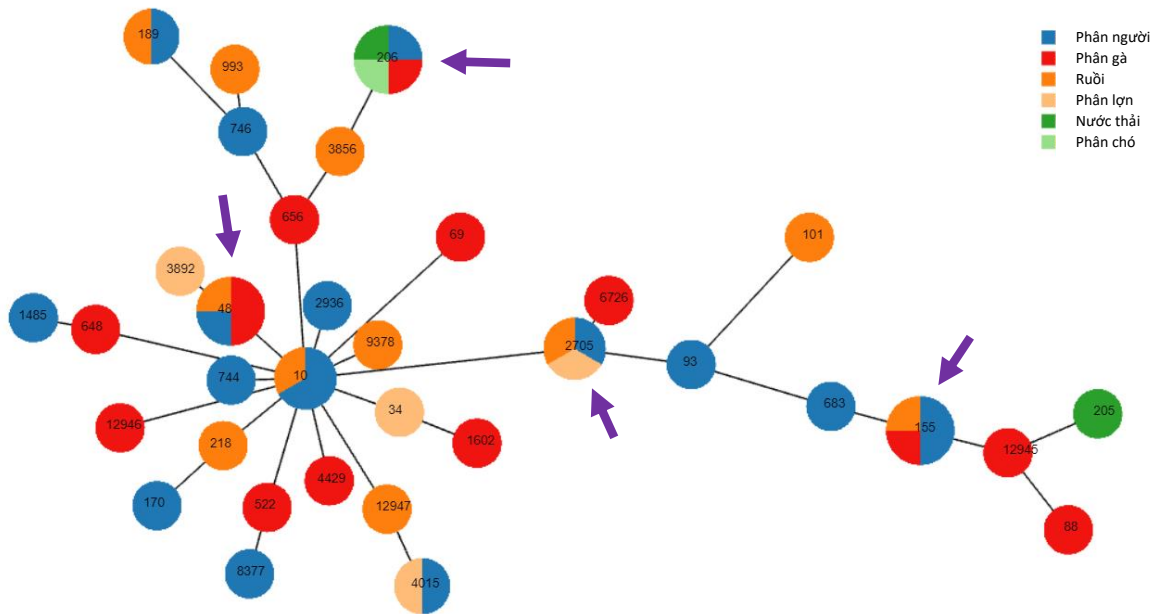
ST	Phân người	Phân gà	Phân lợn	Phân chó	Ruồi	Nước thải
ST10	2				1	
ST48	1	2			1	
ST155	2	1			1	
ST189	1				1	
ST206	1	1		1		1
ST2705	1		1		1	
ST4015	1		1			

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

ST48 và ST155 xuất hiện đồng thời trên mẫu phân người và mẫu phân gà. ST2705 và ST4015 xuất hiện đồng thời trên mẫu phân người và mẫu phân lợn. ST206 xuất hiện trên 4 loại mẫu khác nhau là phân người, phân gà, phân chó và ruồi.

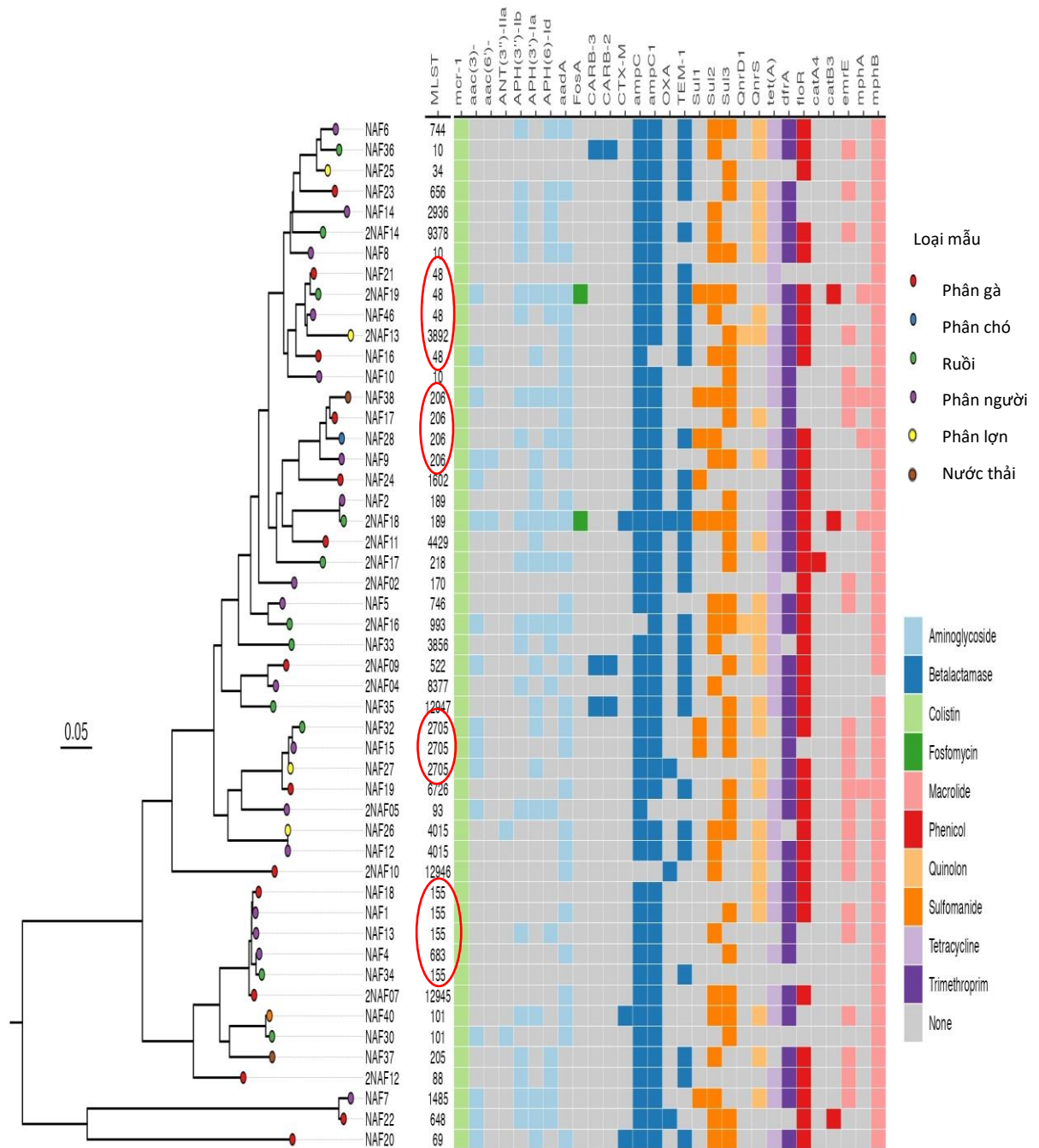
Đặc biệt, có 5 ST xuất hiện đồng thời trên mẫu phân người và mẫu ruồi là ST10, ST48, ST155, ST189, và ST2705. Trong số đó ST48, ST155 và ST2705 xuất hiện ở trên cả các mẫu phân vật nuôi là gà hay lợn, cho thấy có mối liên hệ về kiểu gen giữa các chủng thu thập từ các nguồn khác nhau là người, gà/lợn và ruồi.

Mối liên hệ về ST của 49 chủng được trình bày ở Biểu đồ 3.12.



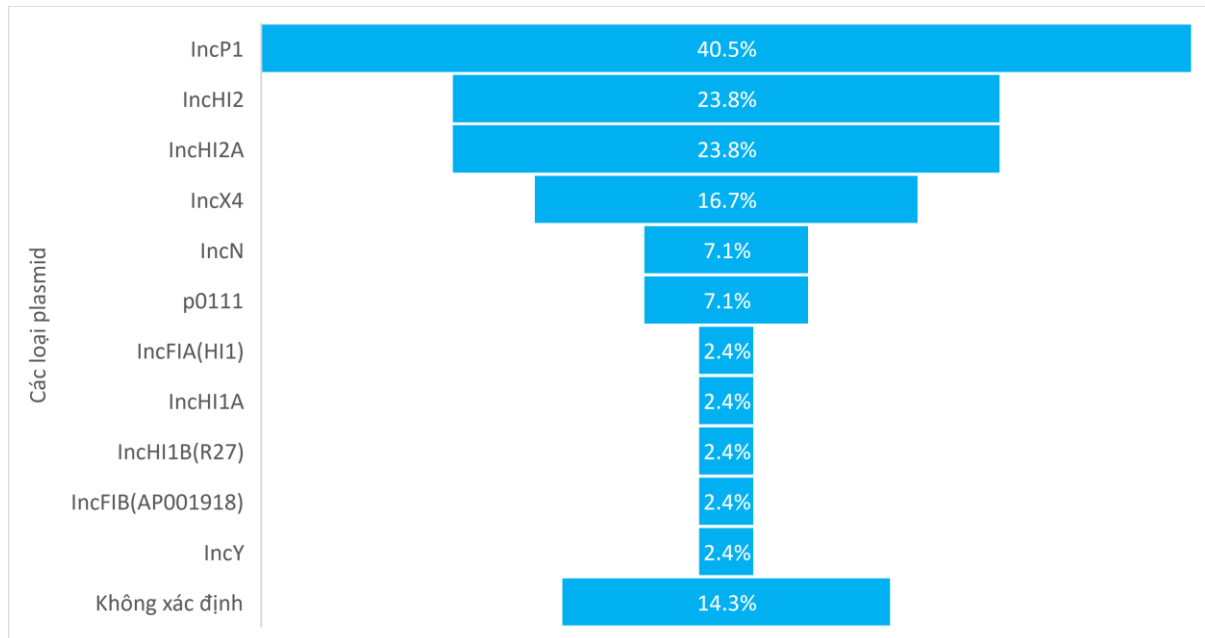
Biểu đồ 3.12. Biểu đồ mối liên hệ ST của các chủng nghiên cứu (N = 49)

Cây phân loại kiểu gen của 49 chủng này (Biểu đồ 3.13) cho thấy chúng được chia thành 2 nhánh chính gồm 1 nhánh lớn (46 chủng với 31 ST) và 1 nhánh nhỏ (3 chủng với 3 ST). Kết quả từ cây phân loại kiểu gen cũng cho thấy sự gần gũi về mặt di truyền giữa các chủng thu được từ các nguồn khác nhau như ST2705 phân lập được từ phân người, phân lợn và ruồi; ST155 từ phân người, phân gà và ruồi; ST206 từ phân người, phân chó và nước thải; ST48 từ phân người, phân gà và ruồi. Các chủng đều mang nhiều loại gen kháng lại các loại KS khác nhau như nhóm aminoglycosides, β -lactams, fluoroquinolones, tetracyclin...



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. Tổng số 11 loại plasmid của *E. coli* mang gen *mcr-1* đã được xác định với chủng loại và tỷ lệ được trình bày ở Biểu đồ 3.14.



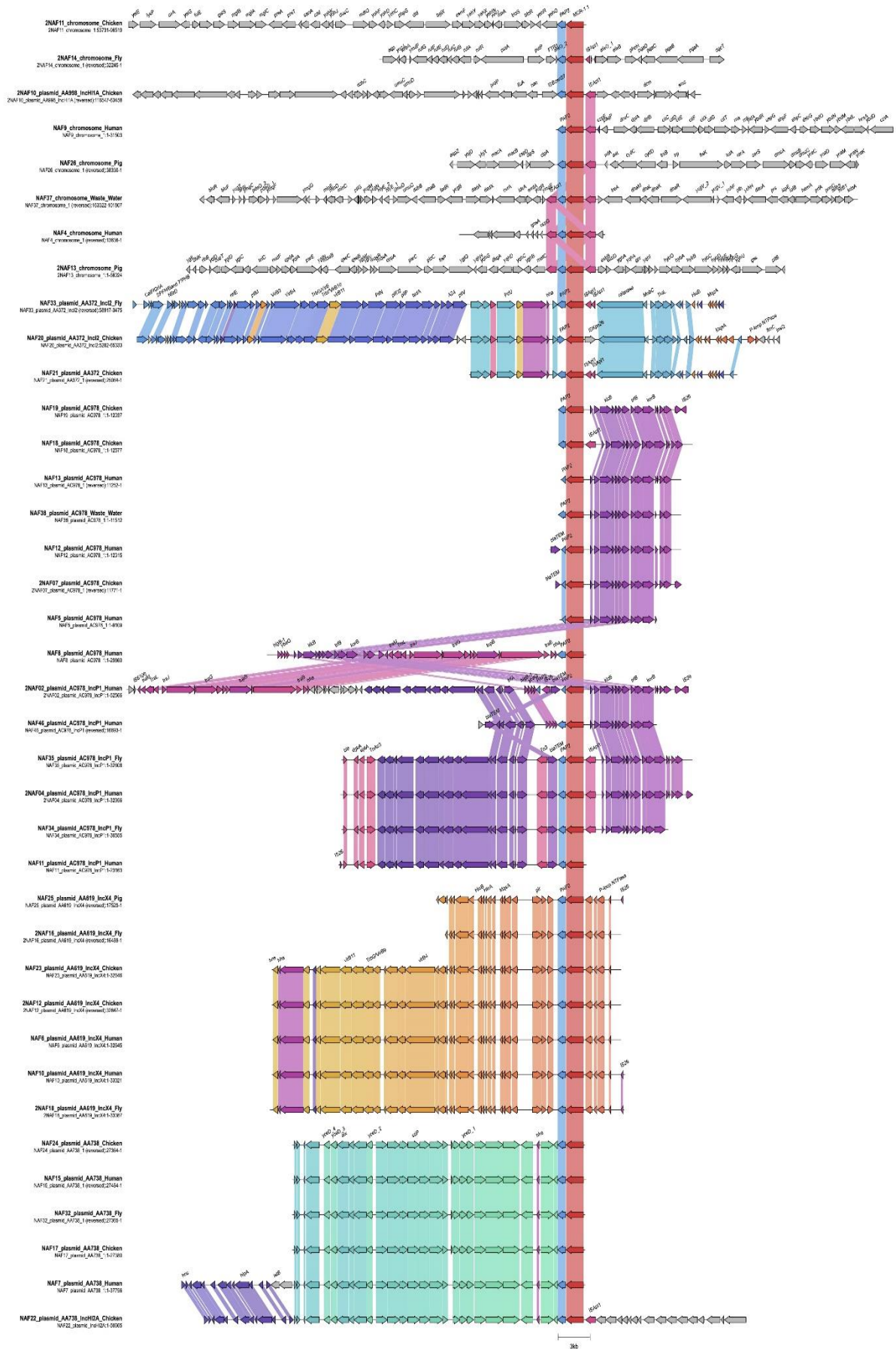
Biểu đồ 3.14. Tỷ lệ các loại plasmid của *E. coli* mang gen *mcr-1* xác định được trong nghiên cứu (N = 49)

Có một số loại plasmid chiếm ưu thế là IncP1, IncHI2 và IncHI2A; một số loại ít phổ biến hơn là IncX4, IncN và p0111; các loại plasmid còn lại chỉ được ghi nhận trên 1 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1*. Đặc biệt có 10 chủng ghi nhận gen *mcr-1* nằm trên nhiều plasmid khác nhau. Bộ đôi plasmid IncHI2 và IncHI2A được ghi nhận trên 9 chủng, bộ ba plasmid IncHI2, IncHI2A, IncN ghi nhận trên 3 chủng, bộ tứ plasmid IncHI2, IncHI2A, IncN, và p0111 được ghi nhận trên 2 chủng.

Nhiều loại plasmid được đồng thời ghi nhận ở nhiều loại mẫu khác nhau như plasmid IncP1 được ghi nhận trên mẫu phân người, phân gà, phân lợn và ruồi; plasmid IncX4 được ghi nhận trên tất cả các loại mẫu gồm phân người, phân gà, phân lợn và ruồi; cặp plasmid IncHI2-IncHI2A được ghi nhận trên 5 loại mẫu, chỉ không ghi nhận trên mẫu phân chó.

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 thu từ mẫu phân người, phân lợn và ruồi; plasmid IncP1 được ghi nhận trên các chủng có ST155 thu từ mẫu phân người, phân gà và ruồi; plasmid IncP1 được ghi nhận trên các chủng có ST10 thu từ mẫu phân người và ruồi; plasmid IncP1 được ghi nhận trên các chủng có ST48 thu từ mẫu phân người và phân gà.

Phân tích cấu trúc đoạn gen mang gen kháng *mcr-1* trên 49 chủng này (Biểu đồ 3.15) cho thấy có 15 loại cấu trúc đoạn gen khác nhau (trên cả chromosome và plasmids) có mang đoạn chèn *ISApI1* trong đó có 3 đoạn gen mang đầy đủ trình tự của transposon *Tn6330* gồm *ISApI1-pap2-mcr-1-ISApI1* – 3 đoạn gen này đều nằm trên chromosome, 5 đoạn gen không mang đầy đủ trình tự của transposon *Tn6330* nhưng mang đầy đủ cấu trúc của đoạn chèn *ISApI1* sau và 2 đoạn gen mang một phần cấu trúc của đoạn chèn *ISApI1* sau – 7 đoạn gen này đều nằm trên plasmid. 3 trong số 5 mang đoạn gen chứa đầy đủ cấu trúc của đoạn chèn *ISApI1* sau là plasmid IncP1.



Biểu đồ 3.15. Cấu trúc đoạn các gen mang gen kháng *mcr-1*

Chương 4 - BÀN LUẬN

4.1 Đặc điểm của quần thể nghiên cứu

Quy mô chăn nuôi của quần thể nghiên cứu chủ yếu là quy mô nông hộ (chiếm 70,5%), còn lại là quy mô nhỏ và quy mô vừa. Đặc điểm này phù hợp với đặc thù của chăn nuôi trang trại quy mô nhỏ và chăn nuôi nông hộ nước ta [91].

Tuy nước máy là nguồn nước chính được sử dụng cho các hoạt động chăn nuôi (60,4%) nhưng một số nguồn nước dễ bị ô nhiễm như nước giếng, nước ao cũng vẫn được sử dụng (chiếm 39,6%), tiềm tàng nguy cơ lây truyền vi khuẩn kháng thuốc trong môi trường chăn nuôi như từ chất thải của gà, lợn gây ô nhiễm nước ao, nước giếng được dùng tưới tiêu sẽ gây nhiễm trên rau quả, thực phẩm khác.

Đặc biệt kết quả nghiên cứu cho thấy vẫn có hiện tượng đi vệ sinh ra ruộng hoặc ao hồ (6%) tạo ra nguy cơ lây nhiễm vi khuẩn kháng thuốc từ người ra nguồn nước từ đó lây nhiễm vào vật nuôi. Nguồn nước và thực hành đi vệ sinh là điểm cần can thiệp để hạn chế nguy cơ lây nhiễm vi khuẩn kháng thuốc từ người sang chăn nuôi và ngược lại.

Thực hành rửa tay được thực hiện tương đối tốt đối với thời điểm sau khi làm công việc chăn nuôi (tổng tần suất thường xuyên và luôn luôn 88,4%) hay sau khi đi vệ sinh (77,7%), nhưng lại kém hơn ở thời điểm trước khi ăn (29,5%) hay trước khi nấu ăn (46,0%). Vẫn có tỷ lệ nhất định các thực hành không tốt (thỉnh thoảng, hiếm khi, không bao giờ) tại các thời điểm nghiên cứu, tiềm tàng nguy cơ lây nhiễm vi khuẩn kháng thuốc qua bàn tay người.

Phần lớn đối tượng nghiên cứu (74,1%) biết tác dụng của KS là chữa bệnh cho vật nuôi, tuy nhiên tỷ lệ cho rằng KS có tác dụng phòng bệnh cũng ở mức cao (63,3%). Tương ứng với con số này thì có 60,4% số đối tượng đồng tình với việc sử dụng KS để phòng bệnh cho vật nuôi. Tỷ lệ này cao hơn tỷ lệ 38% đối tượng đồng ý rằng cần dùng KS để phòng bệnh trên người và vật nuôi của nghiên cứu tại 6 tỉnh của Phạm Đức Phúc và cộng sự [105]. Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tỷ lệ lớn sử dụng KS trong chăn nuôi (72,7%), cao hơn nhiều so với kết

quả của nghiên cứu của Trần Thị Mai Hưng và cộng sự [118] trên những người đến khám bệnh tại trạm y tế 6 xã, theo đó 37,6% những người đến khám làm chăn nuôi có sử dụng KS cho vật nuôi. Trong số đối tượng nghiên cứu có sử dụng KS trong chăn nuôi của chúng tôi thì có tới 81,2% sử dụng KS với mục đích phòng bệnh, chiếm tỷ lệ cao nhất trong các lý do sử dụng KS. Kết quả này tương đối sát với tỷ lệ 87,6% trong nghiên cứu tại cao Tanzania [77] nhưng cao hơn nhiều tỷ lệ 29,7% ở nghiên cứu của Trần Thị Mai Hưng [118], và ngược lại với kết quả nghiên cứu tại 6 tỉnh của Phạm Đức Phúc khi lý do hàng đầu của sử dụng KS trong chăn nuôi là chữa bệnh (69%) sau đó mới tới lý do phòng bệnh (20%) [105] và nghiên cứu tại Ethiopia với tỷ lệ sử dụng KS với mục đích phòng bệnh giao động trong khoảng 8,2 đến 11,3% tùy loại vật nuôi [61]. 5,8% đối tượng cho rằng KS có tác dụng hỗ trợ tăng trưởng và gấp ba con số này (17,3%) đồng ý rằng cần sử dụng KS để kích thích hoặc hỗ trợ tăng trưởng cho vật nuôi. Tuy nhiên thực hành dùng KS để hỗ trợ tăng trưởng ít phổ biến ở cả nghiên cứu của chúng tôi và nghiên cứu ở 6 tỉnh (3% và 1%) [105]. Tỷ lệ lớn sử dụng KS với mục đích phòng bệnh là một điểm đáng lưu ý cho các chính sách và can thiệp nhằm giúp tăng sử dụng KS hợp lý và giảm KKS trong chăn nuôi.

Có 59,0% và 45,3% đối tượng của nghiên cứu cho biết người có thể kê đơn KS cho vật nuôi là bác sỹ thú y và cán bộ thú y, tuy nhiên chỉ có 55,4% đồng ý rằng nhất thiết phải có đơn thuốc của những bác sỹ thú y hoặc cán bộ thú y thì mới được dùng KS và có tới 28,8% cho rằng đơn thuốc là không cần thiết. Tỷ lệ đối tượng có thái độ đúng về vấn đề này thấp hơn nhiều so với nghiên cứu tại 6 tỉnh (với 92% đồng ý rằng cần phải có đơn thuốc hay hướng dẫn của bác sỹ/cán bộ thú y khi dùng KS trong chăn nuôi). Tuy nhiên trên thực hành, tỷ lệ đối tượng báo cáo rằng sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y lên tới 82,2%, cao hơn tỷ lệ 67% trong nghiên cứu tại Bangladesh [62] cao gấp đôi so với kết quả của nghiên cứu tại 6 tỉnh Việt Nam với tỷ lệ 41%. Tuy nhiên do câu hỏi đối với thực hành này là câu hỏi nhiều lựa chọn để phản ánh thực tế thực hành của người chăn nuôi có thể không đồng nhất trong tất cả các trường hợp nên thực tế những người

thuộc nhóm 82,2% có thực hành tốt là sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y vẫn có những lúc có thực hành không tốt là dùng KS theo kinh nghiệm cá nhân và/hoặc theo hướng dẫn của người bán thuốc hay người bán thức ăn. Tỷ lệ sử dụng KS theo kinh nghiệm cá nhân cũng thấp hơn so với kết quả nghiên cứu tại 6 tỉnh của Phạm Đức Phúc và nghiên cứu của Ethiopia (23,8% so với 35% và 74%) nhưng cao hơn kết quả của Bangladesh (8% đến 10% tùy nhóm chăn nuôi). Tỷ lệ sử dụng theo hướng dẫn của người bán thuốc/thức ăn lại cao hơn (30,7% so với tỷ lệ 14,0% đến 25,7% tùy nhóm chăn nuôi trong nghiên cứu của Phạm Đức Phúc, 9,4% trong nghiên cứu tại Ethiopia và 2% đến 20% tùy nhóm chăn nuôi trong nghiên cứu tại Bangladesh) [61, 62, 105].

Đa số đối tượng trong nghiên cứu (74,1%) biết rằng dùng KKS trước khi xuất chuồng là đúng, nhưng tỷ lệ này vẫn thấp hơn kết quả của nghiên cứu của Phạm Đức Phúc với tỷ lệ lên tới 95%. Tương ứng thì tỷ lệ đối tượng có thái độ đúng đối với việc dùng KS trước khi xuất chuồng là 73,4%, cũng thấp hơn tỷ lệ 97% của nghiên cứu của Phạm Đức Phúc [105]. Tuy kết quả của nghiên cứu thấp hơn nghiên cứu tại 6 tỉnh nhưng vẫn rất khả quan so với kết quả có tới > 70% đối tượng trong nghiên cứu tại Ethiopia không nhận thức được rằng sau khi dùng KS thì cần dùng lấy sữa hoặc lấy thịt [61]. Tuy nhiên sự khác biệt này có thể do thực hành khác nhau đối với các loại vật nuôi khác nhau.

4.2 Tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1* ở người chăn nuôi, vật nuôi và môi trường

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 bao gồm không chỉ trên người chăn nuôi và vật nuôi mà còn trên cả một số vật trung gian nguy cơ như ruồi và chó.

Ngược lại với kết quả nghiên cứu tại Trung Quốc của Yang Wang và cộng sự khi gen kháng *ndm* kháng lại carbapenem là gen chủ đạo được xác định trong các trang trại chăn nuôi gà [85], nghiên cứu của chúng tôi cho thấy gen kháng

mcr-1 là gen lưu hành chính với 33,6% mẫu thu thập được mang gen này. Colistin là loại KS thường dùng trong chăn nuôi và chỉ được sử dụng một cách hạn chế trên người [127], trong khi carbapenem là loại KS được sử dụng nhiều trong lâm sàng. Vì vậy kết quả ghi nhận sự lưu hành của gen *mcr-1* phổ biến hơn nhiều so với gen *ndm-* của chúng tôi phù hợp với thực tế sử dụng các loại KS này trong lĩnh vực y tế và thú y.

Trong số 379 chủng mang gen *mcr-1* mà chúng tôi thu thập được thì 87,1% tương đương 330 chủng có kết quả định danh là *E. coli* cho thấy *E. coli* chiếm chủ đạo trong số các loài mang gen *mcr-1* trong quần thể nghiên cứu. Đặc biệt 100% số chủng mang gen *mcr-1* thu được từ mẫu phân người là *E. coli*. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với dữ liệu thế giới về vi khuẩn mang gen *mcr-1* khi hầu hết các chủng vi khuẩn mang gen *mcr-1* trên người ghi nhận được là *E. coli* [32, 103]. Đặc biệt khi *E. coli* là vi khuẩn hội sinh có trong đường ruột của các loài động vật có vú và nó cũng là tác nhân quan trọng trong các bệnh nhiễm khuẩn thì việc nó *E. coli* chiếm chủ đạo trong tất cả các chủng vi khuẩn thu được từ các nguồn khác nhau bao gồm con người, động vật hay chất thải là hoàn toàn hợp lý. Tuy nhiên việc này cũng là cảnh báo nguy hiểm cho y tế công cộng do sự lây lan dễ dàng của gen kháng thuốc thông qua vi khuẩn này.

So với các nghiên cứu đã được thực hiện ở nước ta, 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. Kết quả nghiên cứu với 14,4% người chăn nuôi nhiễm gen *mcr-1* trong nghiên cứu này thấp hơn tỷ lệ 20,6% được ghi nhận trong nghiên cứu tại Tiền Giang năm 2012 – 2013 [29] và tỷ lệ 88% trong nghiên cứu cũng tại Hà Nam năm 2014 – 2015 [43]. Số lượng chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* thu được cũng thấp hơn với 31 chủng từ 139 mẫu phân của người chăn nuôi, so với 64 chủng từ 98 mẫu phân người trong nghiên cứu ở Thái Bình [125]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, số lượng người làm chăn nuôi phân bố tương đối đồng đều ở hai giới (56,1% là nam và 43,9% là nữ) và tỷ lệ nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* ở hai giới cũng không có sự khác biệt (14,1% ở nam và 14,8% ở nữ).

Tuy nhiên, tỷ lệ nhiễm gen *mcr-1* trên mẫu phân gà trong nghiên cứu của chúng tôi (51,3%) 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%) [26] nhưng khá tương đồng với kết quả trong nghiên cứu tại Tiền Giang với 59,4% [29]. Một nghiên cứu tại Bangladesh công bố năm 2019 báo cáo tỷ lệ kháng colistin cao (73,5%) trong số các chủng *E. coli* thu được từ mẫu ngoáy hậu môn gà nuôi lấy thịt, tuy nhiên nghiên cứu này không báo cáo tỷ lệ các gen kháng colistin [36].

Ở lợn, tỷ lệ mẫu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* (31,3%) trong nghiên cứu của chúng tôi tương đối lớn so với tỷ lệ xác định được ở các tỉnh miền Nam. Theo đó chúng tôi thu được 33 chủng mang gen *mcr-1* thì 97% trong số đó là *E. coli*, trong khi nghiên cứu ở khu vực đồng bằng sông Cửu Long năm 2013 – 2014 chỉ ghi nhận gen *mcr-1* trong số 18,9% số chủng *E. coli* thu từ lợn [26].

Nghiên cứu của chúng tôi 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. Chúng tôi xác định được 3 trong số 51 mẫu phân chó thu được có nhiễm gen kháng *mcr-1* (chiếm 5,9%), thu được 4 chủng mang gen *mcr-1* thì trong đó 2 chủng là *E. coli*. Ở ruồi, tỷ lệ nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* rất cao với 49 trong số 109 mẫu thu thập được (chiếm 45%). Trong số 83 chủng mang gen *mcr-1* xác định được thì 74,7% (62 chủng) là *E. coli*.

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. Phân gà vẫn là loại mẫu có tỷ lệ nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* cao nhất với 83,3%. Tiếp theo là mẫu phân lợn với 58,3%. Ruồi là đối tượng có tỷ lệ nhiễm cao thứ 3 với gần một nửa (47,8%) số trang trại nghiên cứu có mẫu ruồi nhiễm. Tỷ lệ nhiễm cao trên các đối tượng khác nhau trong trang trại cho thấy chúng ta cần có những can thiệp tức thời để kéo giảm tình trạng KKS trong chăn nuôi.

Trong hầu hết các chỉ số mô tả tình trạng nhiễm bao gồm: mẫu mọc trên môi trường KS chọn lọc, mẫu nhiễm gen *mcr-1*, mẫu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* theo từng loại mẫu hoặc theo quy mô trang trại, số lượng chủng mang gen *mcr-1* thu thập được, chủng mang gen *mcr-1* là *E. coli* thì phân gà, phân lợn và ruồi đều có tỷ lệ nhiễm cao trong khi phân chó và nước thải ở mức thấp hơn. Điều này phù hợp với mức độ phơi nhiễm của từng nhóm đối tượng với KS khi gà và lợn là những đối tượng tiêu thụ trực tiếp KS dùng trong chăn nuôi còn ruồi là đối tượng có sự tiếp xúc trực tiếp với vật nuôi. Tỷ lệ nhiễm ở phân chó thấp hơn có thể được giải thích do chó không thực sự là đối tượng tiếp xúc trực tiếp mà chỉ là tiếp xúc gần với gà, lợn, đặc biệt khi trong quần thể nghiên cứu của chúng tôi gà, lợn chủ yếu được nuôi nhốt chứ không nuôi thả. Tuy nhiên chúng tôi cũng nhận thấy rằng tỷ lệ mọc trên môi trường có KS chọn lọc (colistin 0,5 mg/L) của mẫu phân chó và nước thải không thấp (51,0% và 100%) nhưng tỷ lệ mẫu mang gen *mcr-1* lại không cao (5,9% và 28,4%), cho thấy cơ chế kháng chủ đạo ở các loại mẫu này không phải là cơ chế liên quan đến gen kháng *mcr-1*. Tương tự ở các loại mẫu khác, vẫn có một tỷ lệ nhất định các mẫu mọc trên môi trường KS chọn lọc chứa colistin 0,5 mg/L nhưng không ghi nhận sự có mặt của gen kháng *mcr-1*. Đây là điểm cần các nghiên cứu tiếp theo để xác định cơ chế nào ngoài gen *mcr-1* tạo ra tính kháng với colistin ở các đối tượng trong trang trại.

Tuy kết quả sàng lọc gen kháng bằng kỹ thuật PCR cho thấy 33,6% số mẫu thu được mang gen *mcr-1* nhưng kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) cho thấy chỉ 22,4% (11 chủng) thể hiện tính kháng (10,2%) hoặc giảm nhạy cảm (12,2%) đối với colistin, còn lại 77,6% (38 chủng) vẫn nhạy cảm với colistin. Một nghiên cứu gần đây xác định rằng việc vi khuẩn *E. coli* thu nhận gen kháng *mcr-1* giống như việc nó uống “1 ly rượu độc” nếu gen *mcr-1* biểu hiện ở mức độ cao có thể ảnh hưởng tiêu cực tới sự phát triển bình thường của *E. coli* [126]. Điều này giải thích cho việc vì sao 77,6% số chủng mang gen *mcr-1* mà không thể hiện tính kháng hay giảm nhạy cảm trong khi việc mang gen *mcr-1* trên plasmid là đã đủ để vi khuẩn kháng lại colistin mà không cần thêm sự tham gia

của bất cứ cơ chế kháng nào khác [127]. Kết quả xác định nồng độ KS tối thiểu ức chế sự phát triển của vi khuẩn trên 49 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* cũng cho thấy tình trạng kháng của các chủng này với một số KS quan trọng trong lâm sàng. Tỷ lệ kháng đối với ampicilline là 100% kháng là phù hợp do ampicilline thuộc nhóm KS penicillin là loại KS đầu tiên đã được sử dụng trên người từ những năm 1940 và cũng là loại KS thông dụng nhất trong chăn nuôi. Nghiên cứu của Bangladesh công bố năm 2020 cũng cho thấy 100% số chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* xác định được trong nghiên cứu kháng với KS này [39]. Đối với KS nhóm cephalosporin, các chủng nghiên cứu còn tương đối nhạy cảm với tỷ lệ kháng chỉ khoảng 8% tới 12% (cefotaxime và ceftazidime), kết quả này tương đối thấp nếu so với tỷ lệ *E. coli* kháng cephalosporin thế hệ 3 giám sát được tại 53 đơn vị chăm sóc tích cực của Đức từ năm 2008 đã là 20%, tương tự, số liệu của Hệ thống giám sát KKS Châu Âu (EARSS) triển khai tại 31 nước Châu Âu cho thấy *E. coli* kháng lại cephalosporin thế hệ 3 đã ở mức 8,2% từ năm 2009 [12, 24]. Tuy nhiên điều này là phù hợp do nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên người lành trong cộng đồng còn các số liệu giám sát nói trên được thực hiện trong bệnh viện là môi trường sử dụng KS ở mức độ cao. Tuy vậy, nếu so với nghiên cứu cũng được tiến hành trên mẫu liên quan đến chăn nuôi tại Bangladesh thì kết quả nghiên cứu của chúng tôi vẫn rất thấp khi tỷ lệ kháng với 2 loại KS này lên tới 100% và 57% [39]. Đối với 2 KS nhóm aminoglycosides, tỷ lệ kháng đối với 2 loại KS thuộc nhóm này trái ngược nhau: 59,2% số chủng đã kháng hoặc giảm nhạy cảm đối với gentamicin nhưng 93,9% chủng còn nhạy cảm với amikacin. Đây có thể là thông tin tham khảo dành cho bác sỹ lâm sàng trong lựa chọn KS trong điều trị. Tỷ lệ kháng với gentamicin trong nghiên cứu của chúng tôi (53,1%) thấp hơn so với nghiên cứu tại Bangladesh (71%) [39]. Các chủng của nghiên cứu có tỷ lệ kháng với ciprofloxacin là 44,9%, phù hợp với kết quả nghiên cứu tại Hàn Quốc công bố năm 2019 với tỷ lệ kháng với KS này là 47,8% trong số các chủng *E. coli* đưa vào nghiên cứu [73] nhưng lại thấp hơn nhiều so với tỷ lệ kháng 85% công bố từ nghiên cứu tại Bangladesh [39]. Tuy nhiên điểm

đáng lưu ý là có tới 34,7% số chủng trong nghiên cứu của chúng tôi đã thể hiện tính giảm nhạy cảm đối với KS này. Tỷ lệ chủng nhạy cảm với meropenem thuộc nhóm carbapenem rất cao (95,9%), không có chủng nào kháng lại KS này là một tín hiệu đáng mừng vì cho thấy tình trạng kháng trong cộng đồng đối với KS này còn ở mức thấp và như vậy KS này vẫn còn hiệu quả trong điều trị các nhiễm khuẩn kháng thuốc trên người dân trong cộng đồng. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Bangladesh khi không có chủng nào trong số các chủng thu được kháng lại KS này [39]. Vi khuẩn đồng kháng với colistin và carbapenem là mối lo ngại đang ngày một gia tăng [127] nhưng rất may mắn là trong nghiên cứu này chúng tôi không ghi nhận được chủng vi khuẩn nào kháng đồng thời cả 2 loại KS thuộc nhóm lựa chọn cuối cùng trong lâm sàng.

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

4.3.1 *Mối liên quan giữa đặc điểm nhân khẩu học với tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi*

Tuổi là yếu tố liên quan đến tình trạng KKS trên người đã được báo cáo trong một số nghiên cứu trước đây. Như số liệu từ một khảo sát ở nhiều quốc gia trong giai đoạn 1999 – 2007 cho thấy bệnh nhân khám ngoại trú trên 65 tuổi có nguy cơ nhiễm vi khuẩn đường ruột sinh ESBL cao gấp 2,4 lần [41]. Hoặc theo nghiên cứu tại Ba Vì, Hà Nội năm 2007 trên 818 trẻ từ 6 tháng tới 5 tuổi ghi nhận mối liên quan giữa độ tuổi với KKS. So với nhóm trẻ từ 2 tuổi trở lên, trẻ từ 6 tháng tới dưới 2 tuổi có tỷ lệ KKS cao hơn từ 1,3 đến 1,8 lần tùy loại KS [13, 18]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng ghi nhận mối liên quan của yếu tố tuổi, theo đó những người trên 60 tuổi có nguy cơ nhiễm cao hơn nhóm 51 đến 60 tuổi 5,1 lần.

Giới cũng là yếu tố được một số nghiên cứu cho rằng có liên quan đến tình trạng KKS [18, 41]. Nghiên cứu đa quốc gia giai đoạn 1999 – 2007 nói trên cũng báo cáo rằng nam giới có nguy cơ nhiễm cao hơn 2,5 lần so với nữ giới [41]. Một

số nhiễm khuẩn đặc thù liên quan đến giới như nhiễm khuẩn tiết niệu thì nữ cũng có nguy cơ nhiễm vi khuẩn kháng thuốc trên đường tiết niệu cao hơn nam giới [80]. Tuy nhiên nghiên cứu của chúng tôi không ghi nhận mối liên quan giữa yếu tố này với tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* ở người chăn nuôi. Điều này cũng thể được giải thích do đường lây truyền của *E. coli* chủ yếu là đường tiêu hóa nên không có sự khác biệt giữa 2 giới, đồng thời tỷ lệ giới tính của các đối tượng trong nghiên cứu này cũng tương đối cân bằng nhau.

4.3.2 Mối liên quan giữa hoạt động chăn nuôi với tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi

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. Theo đó tăng thêm 1 đơn vị vật nuôi có thể làm gia tăng 4% khả năng nhiễm ở người chăn nuôi và người làm ở trang trại có quy mô vừa có khả năng nhiễm cao gấp 3,6 lần so với người chăn nuôi ở quy mô nông hộ. Kết quả phân tích đa biến đã khẳng định mối liên quan của đơn vị vật nuôi với nguy cơ nhiễm (aOR = 1,05). Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu tại Thái Lan khi xác định được tỷ lệ nhiễm vi khuẩn kháng thuốc cao hơn ở các trang trại có quy mô lớn hơn [86, 112]. Nghiên cứu tại Ecuador báo cáo sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) giữa tình trạng KKS ở gà nuôi với mục đích thương mại (gà thịt hoặc gà đẻ trứng) với gà nhà đối với các loại KS trong nghiên cứu ví dụ như tetracycline (78% so với 34%), gentamicin (16% so với 1%) hay amoxicillin/clavulanate (18% so với 2%) [47]. Chúng tôi cho rằng nguyên nhân là do thực hành sử dụng KS khác nhau ở các quy mô chăn nuôi khác nhau nên dẫn đến tình trạng KKS khác nhau trên các đối tượng có liên quan đến hoạt động chăn nuôi. Nghiên cứu ở Thái Lan cũng cho thấy so với các trang trại quy mô nhỏ thì trang trại quy mô trung bình sử dụng nhiều loại KS hơn cũng như với số lượng lớn hơn [112]. Nghiên cứu tại Ghana cũng cho kết quả tương tự khi 100% trang trại chăn nuôi thương mại sử dụng KS trong khi chỉ tỷ lệ này ở nhóm nông hộ chỉ là 1 phần 4 [98]. 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 [88].

Một nghiên cứu tại miền Nam nước ta đã xác định được mối liên quan giữa tình trạng nhiễm trên người và trên gà, theo đó nhóm nông dân ở các trang trại có gà nhiễm vi khuẩn mang gen *mcr-1* nhiễm gen này cao gấp 5,3 lần so với nhóm dân sống ở thành thị không phơi nhiễm với hoạt động chăn nuôi [29]. Vì vậy một trong các mục tiêu của nghiên cứu của chúng tôi là cũng xác định được mối liên quan giữa tình trạng nhiễm vi khuẩn KKS trên người với tình trạng nhiễm trên vật nuôi như gà và lợn. Tuy nhiên chúng tôi chưa thành công với mục tiêu này khi chưa xác định được bất cứ mối liên quan nào và chúng tôi cho rằng nếu cỡ mẫu nghiên cứu lớn hơn thì sẽ khắc phục được vấn đề này.

Tuy chúng tôi không xác định được mối liên quan trực tiếp nhưng chúng tôi lại xác định được mối liên quan bắc cầu giữa tình trạng nhiễm trên các loại vật nuôi tiêu thụ KS là gà và lợn với tình trạng nhiễm trên người. Cụ thể là mối liên quan giữa người – ruồi, ruồi – gà và ruồi – lợn. Chó và ruồi trong trang trại đã từng được một nghiên cứu của Trung Quốc báo cáo là ổ chứa tiềm tàng của vi khuẩn KKS. Nghiên cứu đó đã xác định được sự xuất hiện của *E. coli* mang gen *ndm* trên nhiều loại mẫu khác nhau thu từ trang trại bao gồm chó và ruồi và cho rằng đây là những vật trung gian lây truyền gen KKS trong trang trại cũng như lây lan cho các loài vật di cư như chim tới môi trường bên ngoài trang trại [33]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi không ghi nhận được mối liên quan giữa tình trạng nhiễm ở chó với tình trạng nhiễm ở người nhưng đã xác định được mối liên quan giữa tình trạng nhiễm ở ruồi với tình trạng nhiễm ở người (aOR = 3,4). Bên cạnh đó chúng tôi cũng xác định được mối liên quan giữa tình trạng nhiễm trên ruồi với tình trạng nhiễm ở gà (OR = 5,3) và ở lợn (OR = 9). Những kết quả của chúng tôi gợi ý rằng ruồi có vai trò nào đó trong sự lây lan của vi khuẩn kháng thuốc giữa người và gà hay lợn và thực tế giả thuyết này đã được củng cố hơn nữa bằng dữ liệu phân tích đặc điểm di truyền của một số chủng *E. coli* mang gen

mcr-1 thu được từ nghiên cứu mà chúng tôi đã trình bày ở phần kết quả và sẽ bàn luận thêm ở phần sau.

4.3.3 Mối liên quan giữa Kiến thức - Thái độ - Thực hành với tình trạng nhiễm trên người chăn nuôi

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. Kế hoạch này nêu rằng cần hành động để nâng cao nhận thức và thay đổi hành vi thông qua các chương trình truyền thông cho các đối tượng khác nhau trong y tế, thú y và nông nghiệp [123].

Tuy nhiên quá trình chuyển đổi từ kiến thức, tới thái độ và tới thực hành (thay đổi hành vi) là một quá trình phức tạp và lâu dài, đòi hỏi chiến lược phù hợp cũng như sự đầu tư bền bỉ. Có nhiều học thuyết khác nhau về thay đổi hành vi tuy nhiên đều nhận định quá trình thay đổi hành vi trải qua nhiều giai đoạn khác nhau trong đó những giai đoạn khó khăn nhất và mang tính quyết định nhất không phải là các giai đoạn kiến thức và thái độ (gồm Nhận ra hành vi của mình là không tốt, Quan tâm đến hành vi mới và Đặt ra mục tiêu phải thay đổi) mà là các giai đoạn hành động và duy trì (gồm Làm thử và tự đánh giá, Quyết định thực hiện hay từ bỏ hành vi mới và Duy trì hành vi mới). Chỉ khi nào hành vi mới được duy trì thì quá trình thay đổi hành vi mới thành công. Ngoài ra hành vi còn được thúc đẩy bởi các động cơ. Điều này lý giải cho sự khác biệt giữa kiến thức, thái độ và thực hành của người chăn nuôi về vấn đề KS và KKS mà chúng tôi ghi nhận được trong nghiên cứu này, ví dụ như 57,6% có kiến thức đạt nhưng chỉ có 46,8% có thái độ tốt liên quan đến KS và KKS trong chăn nuôi, chỉ có 63,3% nghĩ rằng KS có tác dụng phòng bệnh cho vật nuôi nhưng 81,3% có thái độ chưa tốt về việc này và 81,2% báo cáo rằng có sử dụng KS để phòng bệnh cho vật nuôi.

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận mối liên quan giữa kiến thức và thái độ liên quan đến KS và KKS trong chăn nuôi tới tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* ở người chăn nuôi khi người có kiến thức tốt hơn có khả năng nhiễm thấp hơn 70%, người có thái độ tốt có khả năng nhiễm thấp hơn tới 80%. Kết quả phân tích đa biến theo cả 3 mô hình loại bỏ mối liên quan của kiến thức tới tình trạng nhiễm nhưng đều 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 từ 82 tới 84% so với những người không cho rằng KKS có thể xảy ra trong chăn nuôi. Chúng tôi không xác định được mối liên quan của các thực hành trong sử dụng KS trong chăn nuôi như có hay không sử dụng KS, sử dụng KS với mục đích chữa bệnh hay không, hay sử dụng KS theo tư vấn của cán bộ thú y hay không tới tình trạng nhiễm trên người.

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.

4.3.4 Một số yếu tố liên quan đến Thực hành sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi của người chăn nuôi

Sử dụng KS rộng rãi và không hợp lý là yếu tố trực tiếp dẫn đến KS. Các nghiên cứu đã cho thấy Nhận thức là yếu tố liên quan đến Thực hành sử dụng KS và nhiều báo cáo đã cho thấy các can thiệp nâng cao kiến thức và nhận thức của người chăn nuôi như các khóa đào tạo chăn nuôi, truyền thông giáo dục, tăng cường tiếp cận và hỗ trợ từ cán bộ thú y làm giảm các thực hành sai trong sử dụng KS cho vật nuôi [62, 63, 124]. Vì vậy, ngoài phân tích mối liên quan của nhóm yếu tố này đến tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người chăn

nuôi, chúng tôi cũng tìm hiểu một số yếu tố liên quan đến Thực hành sử dụng KS trong chăn nuôi của người chăn nuôi.

Về nhóm yếu tố Nhân khẩu học: Nghiên cứu tại Tanzania cho thấy tuổi là yếu tố ảnh hưởng đến điểm KAP khi tuổi tăng làm tăng điểm KAP của đối tượng [110]. Tuy nhiên trong phạm vi nghiên cứu này chúng tôi không xác định được mối liên quan giữa tuổi với thực hành sử dụng KS.

Trong nghiên cứu này, phân bố đối tượng theo giới tính tương đối cân bằng (56,1% nam và 43,9% nữ) so với nghiên cứu của Phạm Đức Phúc và cộng sự được thực hiện tại 6 tỉnh tại 2 miền Bắc và Nam năm 2017 – 2018 với 71% đối tượng nghiên cứu là nam giới. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi không ghi nhận mối liên quan giữa giới tính với thực hành trong khi nghiên cứu tại 6 tỉnh ghi nhận mối liên quan giữa giới tính nam với thực hành tốt liên quan đến KS trong chăn nuôi ($OR = 1,71$, $KTC\ 95\% = 1,09 - 2,74$ [105]).

Cả nghiên cứu của chúng tôi và nghiên cứu của Phạm Đức Phúc và Trần Thị Mai Hưng đều không ghi nhận (hoặc không báo cáo) mối liên quan giữa học vấn với thực hành liên quan đến KS và KKS trong chăn nuôi [105, 118], trong khi nghiên cứu tại Trung Quốc cho thấy người nông dân có học vấn từ trung học cơ sở trở lên thì ít sử dụng KS sai hơn so với nhóm chỉ học tới tiểu học [124].

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nhóm có thu nhập cao hơn (≥ 1 triệu đồng/tháng) có xu hướng ít sử dụng KS hơn nhóm thu nhập thấp hơn (dưới 1 triệu đồng/tháng) là 69%. Tuy vậy nhóm này lại có xu hướng chỉ sử dụng KS theo hướng dẫn của bác sỹ thú y thấp hơn tới 62% so với nhóm thu nhập dưới 1 triệu đồng/tháng. Nghiên cứu tại Trung Quốc lại cho thấy người có thu nhập cao hơn thì ít sử dụng KS sai hơn so với nhóm có thu nhập thấp [124]. Chúng tôi cho rằng 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 với thiết kế phù hợp hơn để nghiên cứu thêm về vai trò của yếu tố này.

Về kiến thức và thái độ: Mối liên quan giữa 2 yếu tố kiến thức và thái độ tới các thực hành trong sử dụng KS đã được báo cáo từ nghiên cứu tại Bangladesh

và một số nghiên cứu trước đó [62]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng xác định được mối liên quan giữa kiến thức và thái độ tới một số thực hành trong sử dụng KS. Cụ thể, những người có kiến thức tốt có khả năng chỉ sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y thay vì theo các hướng dẫn khác như theo kinh nghiệm cá nhân hoặc theo tư vấn của nhân viên hãng thuốc hay hãng thức ăn chăn nuôi cao hơn. Tương tự, những người có thái độ tốt có khả năng sử dụng KS thấp hơn. Đây đều là những mối liên quan thuận khi những người có kiến thức hoặc thái độ tốt hơn thì có các thực hành tốt hơn. Tuy nghiên cứu này chưa tìm thấy mối liên quan giữa yếu tố kiến thức và thái độ tới mục đích sử dụng KS trong chăn nuôi nhưng chúng tôi cho rằng mối liên quan này có thể được xác định với quần thể nghiên cứu lớn hơn. Đây là những gợi ý quan trọng về vai trò của kiến thức và thái độ tới các thực hành liên quan đến việc sử dụng KS trong chăn nuôi để từ đó có các can thiệp phù hợp nhằm gia tăng các thực hành tốt từ đó góp phần hạn chế tình trạng KKS trong chăn nuôi. Nhiều báo cáo đã cho thấy các can thiệp nâng cao kiến thức và nhận thức của người chăn nuôi như các khóa đào tạo chăn nuôi, truyền thông giáo dục, tăng cường tiếp cận và hỗ trợ từ cán bộ thú y làm giảm các thực hành sai trong sử dụng KS cho vật nuôi [62, 63, 124].

Về mối liên quan của đặc điểm hoạt động chăn nuôi: Nghiên cứu của chúng tôi đã ghi nhận mối liên quan giữa đặc điểm của hoạt động chăn nuôi tới thực hành liên quan đến KS và KKS của người chăn nuôi, khi quy mô chăn nuôi càng tăng thì khả năng họ sử dụng KS trong chăn nuôi càng lớn (tăng 1 đơn vị vật nuôi trong trang trại có thể làm tăng 13% khả năng sử dụng KS cho chăn nuôi). Nghiên cứu ở Thái Lan hay Ghana cũng cho thấy so với các trang trại quy mô nhỏ hay nông hộ thì trang trại quy mô trung bình hay trang trại chăn nuôi thương mại sử dụng KS nhiều hơn, sử dụng nhiều loại KS hơn cũng như với số lượng lớn hơn [98, 112]. 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 [88]. Một số nghiên cứu khác cũng báo cáo mối liên quan giữa quy mô chăn nuôi với lượng KS sử dụng, tuy nhiên kết quả

không đồng nhất giữa các nghiên cứu khi có nghiên cứu báo cáo mối liên quan dương, có nghiên cứu báo cáo mối liên quan âm và cũng có nghiên cứu không ghi nhận mối liên quan giữa 2 yếu tố này [81].

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy 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 là theo hướng dẫn của cán bộ thú y (tăng thêm 1 đơn vị vật nuôi có thể làm tăng 6% khả năng sử dụng KS theo kinh nghiệm cá nhân và làm giảm 5% khả năng sử dụng KS theo hướng dẫn của cán bộ thú y). Nghiên cứu trên 88 người làm chăn nuôi ở Trung Quốc cũng ghi nhận mối liên quan giữa quy mô chăn nuôi với thực hành sử dụng KS tương tự kết quả của chúng tôi khi người chăn nuôi quy mô vừa có khả năng sử dụng KS không đúng cách hơn so với người chăn nuôi quy mô nhỏ [124]. Tuy nhiên, nghiên cứu tại Thái Lan lại cho kết quả ngược lại khi nông dân ở trang trại nhỏ thường tự quyết định việc sử dụng KS trong khi nông dân ở trang trại quy mô vừa luôn hỏi ý kiến cán bộ thú y về việc sử dụng KS cho vật nuôi [112].

Ngoài ra, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy loại vật nuôi có ảnh hưởng tới thực hành sử dụng KS trong chăn nuôi. Chúng tôi cho rằng 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 12,6 lần so với trang trại chỉ nuôi lợn, còn trang trại chỉ nuôi gà thì sử dụng KS trong chăn nuôi gấp tới 32 lần trang trại chỉ nuôi lợn. Kết quả này phù hợp với khảo sát thực hiện tại 5 nước Châu Phi báo cáo rằng nông dân ở trang trại gia cầm có kiến thức, thái độ và thực hành liên quan đến KS tốt hơn so với nông dân ở trang trại chăn nuôi gia súc [51]. Gà cũng là một trong các loại thịt được tiêu thụ nhiều nhất trên thế giới, vì vậy các can thiệp hướng tới sử dụng KS hợp lý trong chăn nuôi gà nên được ưu tiên.

Như vậy, 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.

4.4 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

Nghiên cứu ghi nhận sự đa dạng về số lượng các ST trong số 49 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* được giải trình tự toàn bộ hệ gen với 34 loại ST khác nhau. Điều này cho thấy sự phân bố rộng rãi của *E. coli* mang gen *mcr-1* và sự lây lan của gen kháng chủ yếu là thông qua plasmid (truyền ngang giữa các vi khuẩn *E. coli* khác ST). Điều này cũng phù hợp với kết quả 42 trong số 49 chủng mang gen này trên plasmid thay vì chromosome.

Trong số 34 ST, có ST đã được ghi nhận ở trên người và động vật ở các châu lục khác nhau cho thấy sự tương đồng về mặt di truyền giữa các chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* ở nước ta với thế giới như ST10 là ST phổ biến được xác định ở nhiều nước Châu Âu và ở Trung Quốc trên người, lợn, trâu bò, chó và ruồi [127]. Trong nghiên cứu của chúng tôi ST10 là chủng thu từ mẫu phân người (2 chủng) và mẫu ruồi (1 chủng), chúng tôi không xác định được ST10 trong mẫu phân gà, lợn, chó hay nước thải của trang trại. Tuy nhiên cũng có những ST dường như ít phổ biến hơn trên thế giới nhưng lại được ghi nhận trên nhiều loại mẫu khác nhau trong nghiên cứu của chúng tôi, cho thấy khác biệt về mặt di truyền của các chủng KKS ở Việt Nam. Như ST48 mới được xác định ở Đan Mạch (mẫu thịt gà), Trung quốc (mẫu phân người và động vật) và chưa từng được xác định trên mẫu ruồi [127] nhưng nghiên cứu của chúng tôi đã xác định được ST này ở cả phân người (1 chủng), phân gà (2 chủng) và ruồi (1 chủng). Hoặc ST155 cũng mới được ghi nhận ở Trung Quốc trên mẫu phân người và vật nuôi như trâu bò, lợn, gà và chó [82, 109] nhưng ST này cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của chúng tôi với 4 chủng từ mẫu phân người (2), phân gà (1) và ruồi (1). ST189 đã từng được báo cáo ở Trung Quốc nhưng chỉ trên mẫu phân người [109], trong khi ST này được xác định trên cả mẫu phân người và mẫu ruồi trong nghiên cứu của chúng tôi (mỗi loại 1 chủng). Tương tự, ST2705 cũng mới được báo cáo ở Trung Quốc [109] và cũng được xác định trong nghiên cứu của chúng tôi trên mẫu phân người, phân lợn và ruồi (mỗi loại 1 chủng). ST131 là ST

được ghi nhận ở nhiều quốc gia ở cả Châu Âu, Châu Mỹ và ở Trung Quốc và trên nhiều loại mẫu khác nhau [82] nhưng nghiên cứu của chúng tôi không ghi nhận ST này. Tuy nhiên không loại trừ việc ST này có thể nằm trong số 281 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* chưa được giải trình tự gen còn lại của chúng tôi.

Sự xuất hiện của nhiều ST đã từng được ghi nhận trên thế giới trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sự lây lan mạnh mẽ của gen kháng *mcr-1* trên *E. coli* trên toàn thế giới. Sự tương đồng trong nhiều ST ghi nhận ở Trung Quốc và ở nghiên cứu này như ST 10, ST48, ST155, ST189, ST2705 gợi ý khả năng *E. coli* mang gen *mcr-1* ở nước ta có thể có nguồn gốc từ Trung Quốc. Nghiên cứu của chúng tôi cũng ghi nhận 3 ST hoàn toàn mới chưa từng được ghi nhận trước đây, 2 trong số 3 ST này đều có mối liên hệ gần với ST10 cho thấy việc hình thành 2 ST này (1 thu từ mẫu phân gà và 1 thu từ mẫu phân ruồi) nhiều khả năng là kết quả của việc trao đổi vật liệu di truyền giữa các chủng vi khuẩn trong phân người, phân động vật, hay môi trường trong trang trại.

Các phân tích thống kê chưa giúp chúng tôi tìm thấy được mối liên quan trực tiếp giữa tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* trên người với tình trạng nhiễm trên gà và trên lợn. Nhưng dữ liệu gen cho thấy cùng 1 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 khi các phân tích thống kê cho thấy mối liên quan giữa tình trạng nhiễm vi khuẩn KKS trên ruồi với tình trạng nhiễm trên người, gà và lợn. 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 củng cố thêm giả thuyết về vai trò trung gian lây truyền vi khuẩn KKS giữa gà và lợn với người của ruồi.

Số liệu của nghiên cứu này cũng có tới 86% (42/49 chủng) số chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* nằm trên plasmid, cho thấy cơ chế lây truyền qua plasmid (tiếp hợp) là cơ chế chính lây truyền gen *mcr-1* giữa các chủng *E. coli* trong quần thể nghiên cứu này. Tỷ lệ chủng mang gen *mcr-1* trên plasmid tương đối tương đồng với tỷ lệ 92% trong nghiên cứu ở Trung Quốc. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Trung Quốc các plasmid chiếm ưu thế là IncX4, IncI2 và IncHI2 (chiếm 76%) [108] thì nghiên cứu của chúng tôi IncX4 chỉ chiếm 17% và không ghi nhận loại plasmid IncI2. IncHI2 chiếm tỷ lệ 14% và cùng với IncHI2A (14%) và IncP1 (40%) chiếm ưu thế trong các loại plasmid ghi nhận được. Điều này cho thấy có sự khác biệt trong các loại plasmid tham gia vào sự lây truyền của gen *mcr-1* giữa Việt Nam và nước láng giềng Trung Quốc trong đó IncP1 và cặp IncHI2-IncHI2A là những loại plasmid đóng vai trò chủ đạo. Việc 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 [106].

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. Vì vậy các can thiệp tăng cường vệ sinh chăn nuôi, hạn chế sự phát triển của ruồi là cần thiết nhằm hạn chế nguy cơ lây lan rất lớn của vi khuẩn kháng ra cộng đồng thông qua vật chủ trung gian có tính di động cao này. Đặc biệt hơn nữa là khi gen kháng *mcr-1* nằm trên transposon *Tn6330* có cấu trúc đầy đủ (gồm *ISAp11-pap2-mcr-1-ISAp11*) thì nó có khả năng nhảy vào bất kỳ chromosome hay plasmid nào khác, như vậy 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.

Sự đa dạng, tương đồng và đặc thù của *E. coli* mang gen *mcr-1* cũng như dữ liệu về mối liên quan về mặt di truyền giữa chủng trong môi trường chăn nuôi

mà nghiên cứu của chúng tôi xác định được cho thấy sự cần thiết phải xây dựng chương trình giám sát *E. coli* kháng colistin tại Việt Nam để xây dựng các chiến lược can thiệp phù hợp.

4.5 Những đóng góp và hạn chế của nghiên cứu

Nghiên cứu này là một trong số rất ít nghiên cứu tại Việt Nam áp dụng hướng tiếp cận Một sức khỏe tìm hiểu về tình trạng và sự lan truyền của vi khuẩn kháng thuốc trong môi trường chăn nuôi khi tiến hành đánh giá tình hình nhiễm khuẩn KKS ở trên 6 nhóm đối tượng khác nhau trong đó có con người và vật nuôi, môi trường. 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 [123].

Đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam cung cấp dữ liệu về tình trạng nhiễm vi khuẩn KKS trên các nhóm đối tượng khác nhau trong hoạt động chăn nuôi. Dữ liệu về tình trạng kháng trên người chăn nuôi, vật nuôi và môi trường là rất quan trọng, phù hợp với mục tiêu số 2 trong Kế hoạch hành động toàn cầu về KKS của Tổ chức Y tế thế giới trong đó nhấn mạnh các khoảng trống trong hiểu biết về KKS trong đó có tỷ lệ nhiễm các tác nhân vi khuẩn KKS tại các vùng địa lý khác nhau và những khoảng trống này cần được lấp đầy để cung cấp các thông tin kịp thời cho kế hoạch hành động của mỗi quốc gia hay khu vực.

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.

Tuy nhiên nghiên cứu cũng có những hạn chế nhất định. Đây là nghiên cứu mô tả cắt ngang nên bước đầu mới xác định được một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm vi khuẩn kháng thuốc. Do hạn chế về nguồn lực, nghiên cứu chỉ được thực hiện trên quy mô 1 xã, cỡ mẫu khá nhỏ nên tính đại diện còn hạn chế. Bên cạnh đó, dữ liệu về thực hành được thu thập thông qua phiếu hỏi dựa trên báo cáo của người chăn nuôi có thể không phản ánh hoàn toàn chính xác thực tế thực hành của đối tượng. Tuy vậy, hạn chế này được giảm thiểu bằng cách yêu cầu điều tra viên tạo ra không khí thân mật, cởi mở cho cuộc phỏng vấn và không được có bất cứ hành động hay lời nói nào thể hiện thái độ phán xét đối với các câu trả lời của đối tượng nghiên cứu, điều tra viên cũng không phải là cán bộ y tế hay cán bộ thú y tại xã nghiên cứu. Điều tra viên cũng nhấn mạnh tính bảo mật và khuyết danh của nghiên cứu. Những biện pháp này giúp cho đối tượng nghiên cứu có tâm lý thoải mái nhất và không chịu bất cứ áp lực nào khi trả lời phỏng vấn, hạn chế việc cung cấp các thông tin thiếu chính xác về thực hành của họ.

KẾT LUẬN

1. Tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1* ở người chăn nuôi, vật nuôi và môi trường tại trang trại xã Yên Nam, tỉnh Hà Nam, 2019:

- 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.
- Tỷ lệ nhiễm trên quy mô trang trại ở mức đáng báo động với 91,4% trang trại có ít nhất 1 loại mẫu nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1*.
- Kết quả xác định nồng độ KS tối thiểu ức chế sự phát triển của vi khuẩn đối với 49 chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* cho tỷ lệ kháng với colistin là 10,2%, giảm nhạy cảm là 12,2% và còn nhạy cảm là 77,6%.

2. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen kháng kháng sinh *mcr-1* ở người chăn nuôi tại trang trại xã Yên Nam, tỉnh Hà Nam:

- Các yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* ở người gồm:
 - + Nhóm tuổi: trên 60 có khả năng nhiễm cao nhất so với các nhóm tuổi còn lại
 - + Đặc điểm hoạt động chăn nuôi: người làm ở trang trại quy mô lớn hơn có khả năng nhiễm cao hơn, người làm ở trang trại có mẫu ruồi nhiễm có khả năng nhiễm tác nhân này cao hơn
 - + Kiến thức, thái độ: người biết rằng dùng KS trước khi xuất chuồng là đúng và người cho rằng KKS có xảy ra trong chăn nuôi có khả năng nhiễm thấp hơn
- 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: người có kiến thức, thái độ tốt hơn có khả năng thực hành sử dụng KS tốt hơn

+ Quy mô chăn nuôi: người làm ở trang trại quy mô lớn hơn có khả năng thực hành sử dụng KS kém hơn

+ Chăn nuôi gà có thể làm tăng khả năng sử dụng KS

3. Mối liên hệ về kiểu gen kháng kháng sinh *mcr-1* trên *E. coli* giữa người, vật nuôi và môi trường trong trang trại tại xã Yên Nam, tỉnh Hà Nam

- Kết quả giải trình tự toàn bộ hệ gen cho thấy có mối liên hệ về kiểu gen giữa các chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* thu được từ các đối tượng khác nhau trong trang trại khi xác định được một số ST của *E. coli* như ST10, ST48, ST155, ST189, ST206, ST2705; và nhiều loại plasmid mang gen *mcr-1* như IncP1, IncHI2, IncHI2A xuất hiện ở trên nhiều 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

Sự có mặt của gen *mcr-1* KKS trên tất cả các đối tượng trong môi trường chăn nuôi và dữ liệu mối liên hệ về kiểu gen giữa các chủng vi khuẩn mang gen này cho thấy sự cần thiết phải có các can thiệp phù hợp nhằm làm giảm tình trạng này. Chúng tôi khuyến nghị các giải pháp 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, ở quy mô lớn hơn, ở các bối cảnh khác nhau và ở nhiều vùng địa lý khác nhau.
 - + Tăng cường ứng dụng các kỹ thuật tiên tiến trong nghiên cứu đặc điểm sinh học phân tử của các chủng vi khuẩn kháng thuốc thu thập được từ các nghiên cứu hoặc các chương trình giám sát kháng thuốc.
 - + Nghiên cứu 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, tăng cường tiếp cận với thú y cơ sở.
- Đối với các cơ quan quản lý thú y:
 - + Cung cấp kiến thức, nâng cao thái độ và gia tăng các thực hành tốt trong chăn nuôi cũng như sử dụng KS trong chăn nuôi của người nông dân thông qua các khóa đào tạo hay tăng cường tiếp cận và hỗ trợ của cán bộ thú y cơ sở với người làm chăn nuôi.
- 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.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Ngô Thị Hằng Hà Thị Bích Ngọc, Trần Đức, Hoàng Quốc Cường, Lại Thị Quỳnh (2019), "Tình hình kháng kháng sinh của vi khuẩn gram âm thường gặp phân lập từ bệnh nhân điều trị tại bệnh viện hữu nghị Việt Tiệp, Hải Phòng", *Tạp chí y học dự phòng*. 29(11), tr. 131.
2. Lê Thanh Điền và các cộng sự. (2017), "Tình hình đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* và *Klebsiella pneumoniae* tại Bệnh viện Nguyễn Đình Chiểu Bến Tre", *Tạp chí y học dự phòng*. 27(11), tr. 180.
3. Trần Đắc Tiến và các cộng sự. (2018), "Tình trạng vi khuẩn đường ruột ở người khỏe mạnh kháng kháng sinh nhóm Betalactam phổ rộng tại xã Thanh Hà, huyện Thanh Liên, tỉnh Hà Nam, 2015", *Tạp chí y học dự phòng*. 28(11), tr. 11.
4. Trần Doãn Hiếu Trần Đình Bình, Nguyễn Viết Tứ, Lê Văn An, Trần Thị Như Hoa, Ngô Viết Quỳnh Trâm (2019), "Tình trạng kháng kháng sinh của một số loài vi khuẩn gây bệnh thường gặp tại bệnh viện trường đại học y dược Huế từ 07/2017-6/2018", *Tạp chí y học dự phòng*. 29(11), tr. 354.
5. Trần Diệu Linh và các cộng sự. (2018), "Vi khuẩn Gram âm mang gen mã hoá enzyme carbapenemase phân lập tại bệnh viện Trung ương Quân đội 108 trong giai đoạn từ 2014 đến 2015", *Tạp chí y học dự phòng*. 28(1), tr. 45.
6. Bộ y tế (2015), Hướng dẫn sử dụng kháng sinh, chủ biên, Nhà xuất bản y học.
7. Bộ Y tế (2017), *Vi sinh vật y học*, Nhà xuất bản y học, Hà Nội.
8. Lê Thu Hồng (2015), *Kháng sinh và vi khuẩn*, Bệnh viện 103, truy cập ngày-2018, tại trang web <http://www.benhvien103.vn/vietnamese/bai-giang-chuyen-nganh/vi-sinh-vat/khang-sinh-va-vi-khuan/1170/>.
9. Stephen Baker và các cộng sự. (2009), "High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in commensal members of the Enterobacteriaceae in Ho Chi Minh City, Vietnam", *Journal of medical microbiology*. 58(12), tr. 1585-1592.
10. Abouddihaj Barguigua và các cộng sự. (2011), "Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from the community in Morocco", *Journal of medical microbiology*. 60(9), tr. 1344-1352.
11. Centres for Disease Control and Prevention (2013), *Antibiotic resistance threats in the United States, 2013*, Centres for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services.
12. Marlieke EA De Kraker và các cộng sự. (2011), "Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe", *PLoS medicine*. 8(10), tr. e1001104.
13. Dyar Oliver James và các cộng sự. (2012), "High prevalence of antibiotic resistance in commensal *Escherichia coli* among children in rural Vietnam", *BMC infectious diseases*. 12(1), tr. 92.
14. Stanley Falkow và Donald Kennedy (2001), Antibiotics, animals, and people--again!, chủ biên, American Association for the Advancement of Science.
15. GARP (2009), *Report of antibiotic use in animals in Viet Nam*.
16. Nadine Geser và các cộng sự. (2011), "Molecular identification of blaESBL genes from Enterobacteriaceae isolated from healthy human carriers in Switzerland", *Antimicrobial agents and chemotherapy*, tr. AAC. 05539-11.
17. Nguyen Q Hoa và các cộng sự. (2010), "Decreased *Streptococcus pneumoniae* susceptibility to oral antibiotics among children in rural Vietnam: a community study", *BMC Infectious Diseases*. 10(1), tr. 85.
18. Nguyen Quỳnh Hoa và các cộng sự. (2011), "Unnecessary antibiotic use for mild acute respiratory infections during 28-day follow-up of 823 children under five in rural Vietnam", *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 105(11), tr. 628-636.

19. Nguyen Quynh Hoa và các cộng sự. (2009), "Antibiotics and paediatric acute respiratory infections in rural Vietnam: health-care providers' knowledge, practical competence and reported practice", *Tropical Medicine & International Health*. 14(5), tr. 546-555.
20. Li-Yang Hsu và các cộng sự. (2017), "Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and Enterobacteriaceae in South and Southeast Asia", *Clinical microbiology reviews*. 30(1), tr. 1-22.
21. Keith S Kaye và Jason M Pogue (2015), "Infections Caused by Resistant Gram-Negative Bacteria: Epidemiology and Management", *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 35(10), tr. 949-962.
22. Ramanan Laxminarayan và David L Heymann (2012), "Challenges of drug resistance in the developing world", *BMJ (Clinical research ed)*. 344, tr. e1567.
23. Stuart B Levy và Bonnie Marshall (2004), "Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses", *Nature medicine*. 10, tr. S122-S129.
24. Elisabeth Meyer và các cộng sự. (2010), "Dramatic increase of third-generation cephalosporin-resistant *E. coli* in German intensive care units: secular trends in antibiotic drug use and bacterial resistance, 2001 to 2008", *Critical care*. 14(3), tr. R113.
25. Ministry of Health of Vietnam (2010), *First report on antibiotic use and resistance in Vietnam hospitals in 2008-2009*, Hanoi, Vietnam.
26. Nhung T Nguyen và các cộng sự. (2016), "Use of colistin and other critical antimicrobials on pig and chicken farms in southern Vietnam and its association with resistance in commensal *Escherichia coli* bacteria", *Applied and environmental microbiology*. 82(13), tr. 3727-3735.
27. Duy Pham Thanh và các cộng sự. (2016), "Inducible colistin resistance via a disrupted plasmid-borne mcr-1 gene in a 2008 Vietnamese *Shigella sonnei* isolate", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 71(8), tr. 2314-2317.
28. Nguyen Thi Bich Thuan và các cộng sự. (2008), "Choice of healthcare provider following reform in Vietnam", *BMC Health Services Research*. 8(1), tr. 162.
29. Nguyen Vinh Trung và các cộng sự. (2017), "Zoonotic Transmission of mcr-1 Colistin Resistance Gene from Small-Scale Poultry Farms, Vietnam", *Emerging Infectious Diseases*. 23(3), tr. 529.
30. Van Nguyen Kinh và các cộng sự. (2013), "Antibiotic use and resistance in emerging economies: a situation analysis for Viet Nam", *BMC public health*. 13(1), tr. 1158.
31. C Lee Ventola (2015), "The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats", *Pharmacy and Therapeutics*. 40(4), tr. 277.
32. Yang Wang và các cộng sự. (2017), "Prevalence, risk factors, outcomes, and molecular epidemiology of mcr-1-positive Enterobacteriaceae in patients and healthy adults from China: an epidemiological and clinical study", *The Lancet Infectious Diseases*. 17(4), tr. 390-399.
33. Yang Wang và các cộng sự. (2017), "Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production", *Nature Microbiology*. 2, tr. 16260.
34. Basil Britto Xavier và các cộng sự. (2016), "Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, mcr-2, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016", *EuroSurveillance Monthly*. 21(27), tr. 30280.
35. Katrin Zurfluh và các cộng sự. (2015), "Extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from vegetables imported from the Dominican Republic, India, Thailand, and Vietnam", *Applied and environmental microbiology*. 81(9), tr. 3115-3120.
36. Muha Al Azad và các cộng sự. (2019), "Susceptibility and multidrug resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from cloacal swabs of live broiler chickens in Bangladesh", *Pathogens*. 8(3), tr. 118.
37. Mamoon A Aldeyab và các cộng sự. (2012), "The impact of antibiotic use on the incidence and resistance pattern of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in primary and secondary healthcare settings", *British journal of clinical pharmacology*. 74(1), tr. 171-179.

38. Mamoon A Aldeyab và các cộng sự. (2008), "Modelling the impact of antibiotic use and infection control practices on the incidence of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a time-series analysis", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 62(3), tr. 593-600.
39. Mohammed Badrul Amin và các cộng sự. (2020), "Occurrence and genetic characteristics of mcr-1-positive colistin-resistant *E. coli* from poultry environments in Bangladesh", *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 22, tr. 546-552.
40. Bret M Barton, Gordon P Harding và Anthony J Zuccarelli (1995), "A general method for detecting and sizing large plasmids", *Analytical biochemistry*. 226(2), tr. 235-240.
41. Ronen Ben-Ami và các cộng sự. (2009), "A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in nonhospitalized patients", *Clinical Infectious Diseases*. 49(5), tr. 682-690.
42. Takele Beyene (2016), "Veterinary drug residues in food-animal products: its risk factors and potential effects on public health", *J Vet Sci Technol*. 7(1), tr. 1-7.
43. Vu Thi Ngoc Bich và các cộng sự. (2019), "An exploration of the gut and environmental resistome in a community in northern Vietnam in relation to antibiotic use", *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 8(1), tr. 1-10.
44. Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn (2016), Thông tư 06/2016/TT-BNNPTNT ban hành Danh Mục, hàm lượng kháng sinh được phép sử dụng trong thức ăn chăn nuôi gia súc, gia cầm với Mục đích kích thích sinh trưởng tại Việt Nam., chủ biên.
45. Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn (2016), Thông tư 10/2016/TT-BNNPTNT ban hành Danh mục thuốc thú y được phép lưu hành, cấm sử dụng ở Việt Nam, công bố mã HS đối với thuốc thú y nhập khẩu được phép lưu hành tại Việt Nam, chủ biên.
46. Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn (2017), Kế hoạch hành động quốc gia về quản lý sử dụng kháng sinh và phòng chống kháng kháng sinh trong sản xuất chăn nuôi và nuôi trồng thủy sản giai đoạn 2017-2020, chủ biên.
47. Nikolay P Braykov và các cộng sự. (2016), "Antibiotic resistance in animal and environmental samples associated with small-scale poultry farming in northwestern Ecuador", *Msphere*. 1(1), tr. e00021-15.
48. Thi Kim Ngan Bui và các cộng sự. (2018), "Potential transmission opportunity of CTX-M-producing *Escherichia coli* on a large-scale chicken farm in Vietnam", *Journal of global antimicrobial resistance*. 13, tr. 1-6.
49. Yasemin Cag và các cộng sự. (2016), "Resistance mechanisms", *Annals of translational medicine*. 4(17).
50. Juan J Carrique-Mas và các cộng sự. (2015), "Antimicrobial usage in chicken production in the Mekong Delta of Vietnam", *Zoonoses and public health*. 62, tr. 70-78.
51. Mark A Caudell và các cộng sự. (2020), "Towards a bottom-up understanding of antimicrobial use and resistance on the farm: A knowledge, attitudes, and practices survey across livestock systems in five African countries", *PloS one*. 15(1), tr. e0220274.
52. Li Cheng và các cộng sự. (2016), "Clonal dissemination of KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 clone with high prevalence of *oqxAB* and *rmtB* in a tertiary hospital in China: results from a 3-year period", *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 15(1), tr. 1.
53. Chính phủ Việt Nam (2015), "Quyết định 59/2015/QĐ-TTG quy định về việc ban hành chuẩn nghèo tiếp cận đa chiều áp dụng cho giai đoạn 2016 – 2020. ".
54. Centres for Disease Control và Prevention (2019), *Antibiotic resistance threats in the United States, 2019*, Centres for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services.
55. Jose F Delgado-Blas và các cộng sự. (2016), "Coexistence of mcr-1 and blaNDM-1 in *Escherichia coli* from Venezuela", *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 60(10), tr. 6356-6358.

56. Yijun Ding và các cộng sự. (2019), "Systematic review of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae causing neonatal sepsis in China", *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 18(1), tr. 1-8.
57. Elena Domínguez và các cộng sự. (2002), "Mechanisms of antibiotic resistance in Escherichia coli isolates obtained from healthy children in Spain", *Microbial Drug Resistance*. 8(4), tr. 321-327.
58. A Erb và các cộng sự. (2007), "Prevalence of antibiotic resistance in Escherichia coli: overview of geographical, temporal, and methodological variations", *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 26(2), tr. 83-90.
59. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (2017), "Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters". Version 7.1.
60. GARP (2010), "Báo cáo Phân tích thực trạng: sử dụng kháng sinh và kháng kháng sinh ở Việt Nam".
61. Biruk Alemu Gemeda và các cộng sự. (2020), "Antimicrobial use in extensive smallholder livestock farming systems in Ethiopia: knowledge, attitudes, and practices of livestock keepers", *Frontiers in Veterinary Science*, tr. 55.
62. Mohammad Mahmudul Hassan và các cộng sự. (2021), "Knowledge, attitude, and practices on antimicrobial use and antimicrobial resistance among commercial poultry farmers in Bangladesh", *Antibiotics*. 10(7), tr. 784.
63. Laura Elizabeth Higham và các cộng sự. (2018), "A survey of dairy cow farmers in the United Kingdom: knowledge, attitudes and practices surrounding antimicrobial use and resistance", *Veterinary Record*. 183(24), tr. 746-746.
64. Pak-Leung Ho và các cộng sự. (2011), "Extensive dissemination of CTX-M-producing Escherichia coli with multidrug resistance to 'critically important' antibiotics among food animals in Hong Kong, 2008–10", *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 66(4), tr. 765-768.
65. Hoàng Quỳnh Hương và Nguyễn Thanh Hằng (2021), "Nghiên cứu tình trạng kháng kháng sinh của một số chủng vi khuẩn Enterobacteriaceae gây nhiễm khuẩn huyết phân lập được tại bệnh viện đa khoa tỉnh Thái Bình năm 2018 - 2019", *Tạp chí y học Việt Nam*. Tập 498 số 2.
66. Hoàng Thu Thủy và các cộng sự. (2015), "Kiến thức và thực hành của người bán lẻ thuốc tư nhân ở khu vực nông thôn năm 2012", *Tạp chí y học dự phòng*. XXV(8 (168)), tr. 515.
67. YH Huang và các cộng sự. (2007), "Clonal spread of SCCmec type IV methicillin-resistant Staphylococcus aureus between community and hospital", *Clinical microbiology and infection*. 13(7), tr. 717-724.
68. Ruth Hummel, H Tschäpe và W Witte (1986), "Spread of plasmid-mediated nourseothricin resistance due to antibiotic use in animal husbandry", *Journal of basic microbiology*. 26(8), tr. 461-466.
69. Danielle J Ingle và các cộng sự. (2018), "Dynamics of antimicrobial resistance in intestinal Escherichia coli from children in community settings in South Asia and sub-Saharan Africa", *Nature microbiology*. 3(9), tr. 1063-1073.
70. Klaus Kaier và các cộng sự. (2009), "The impact of antimicrobial drug consumption and alcohol-based hand rub use on the emergence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing strains: a time-series analysis", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 63(3), tr. 609-614.
71. Keith S Kaye và các cộng sự. (2021), "Antimicrobial resistance trends in urine Escherichia coli isolates from adult and adolescent females in the United States from 2011 to 2019: rising ESBL strains and impact on patient management", *Clinical Infectious Diseases*. 73(11), tr. 1992-1999.
72. Khổng Thị Diệp và các cộng sự. (2017), "Một số đặc điểm kháng kháng sinh của vi khuẩn Escherichia coli sinh men betalactamase phổ rộng từ người khỏe mạnh Thái Bình, 2013", *Tạp chí y học dự phòng*. 27(9), tr. 26.

73. Bongyoung Kim và các cộng sự. (2020), "Molecular epidemiology of ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections in Korea", *Infection & chemotherapy*. 52(2), tr. 194.
74. Dang Pham Kim và các cộng sự. (2013), "Preliminary evaluation of antimicrobial residue levels in marketed pork and chicken meat in the Red River Delta Region of Vietnam", *Food and Public Health*. 3(6), tr. 267-276.
75. Dang Pham Kim và các cộng sự. (2013), "First survey on the use of antibiotics in pig and poultry production in the Red River Delta region of Vietnam", *Food Public Health*. 3(5), tr. 247-256.
76. Young Ah Kim và các cộng sự. (2017), "Community-onset extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* sequence type 131 at two Korean community hospitals: the spread of multidrug-resistant *E. coli* to the community via healthcare facilities", *International Journal of Infectious Diseases*. 54, tr. 39-42.
77. Zuhura I Kimera và các cộng sự. (2020), "Assessment of drivers of antimicrobial use and resistance in poultry and domestic pig farming in the Msimbazi river basin in Tanzania", *Antibiotics*. 9(12), tr. 838.
78. Ha Viet Le và các cộng sự. (2015), "Widespread dissemination of extended-spectrum β -lactamase-producing, multidrug-resistant *Escherichia coli* in livestock and fishery products in Vietnam", *International Journal of Food Contamination*. 2(1), tr. 17.
79. Lê Kiến Ngải và các cộng sự. (2013), "Đặc điểm kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập được từ dịch hút nội khí quản ở bệnh nhân thở máy tại khoa hồi sức sơ sinh Bệnh viện Nhi Trung ương, tháng 1-6/2012", *Tạp chí y học dự phòng*. XXIII(7 (143)), tr. 33.
80. Dong Sup Lee và các cộng sự. (2016), "Role of age and sex in determining antibiotic resistance in febrile urinary tract infections", *International Journal of Infectious Diseases*. 51, tr. 89-96.
81. Angkana Lekagul, Viroj Tangcharoensathien và Shunmay Yeung (2019), "Patterns of antibiotic use in global pig production: a systematic review", *Veterinary and animal science*. 7, tr. 100058.
82. Fulei Li và các cộng sự. (2022), "Molecular Epidemiology and Colistin-Resistant Mechanism of mcr-Positive and mcr-Negative *Escherichia coli* Isolated From Animal in Sichuan Province, China", *Frontiers in microbiology*. 13, tr. 818548-818548.
83. La Thi Quynh Lien và các cộng sự. (2017), "Antibiotic resistance and antibiotic resistance genes in *Escherichia coli* isolates from hospital wastewater in Vietnam", *International journal of environmental research and public health*. 14(7), tr. 699.
84. Bao-Tao Liu và các cộng sự. (2017), "High incidence of *Escherichia coli* strains coharboring mcr-1 and blaNDM from chickens", *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 61(3), tr. e02347-16.
85. Yi-Yun Liu và các cộng sự. (2016), "Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study", *The Lancet infectious diseases*. 16(2), tr. 161-168.
86. Kamonwan Lunha và các cộng sự. (2020), "Antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* from humans and pigs at farms at different levels of intensification", *Antibiotics*. 9(10), tr. 662.
87. Conan MacDougall và các cộng sự. (2005), "Hospital and community fluoroquinolone use and resistance in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in 17 US hospitals", *Clinical infectious diseases*. 41(4), tr. 435-440.
88. Ulf Magnusson và các cộng sự. (2019), *Prudent and efficient use of antimicrobials in pigs and poultry*, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
89. Surbhi Malhotra-Kumar và các cộng sự. (2016), "Colistin-resistant *Escherichia coli* harbouring mcr-1 isolated from food animals in Hanoi, Vietnam", *The Lancet infectious diseases*. 16(3), tr. 286-287.

90. Dearbhaile Morris và các cộng sự. (2011), "Comparison of S1 nuclease pulsed field gel electrophoresis and alkaline lysis for isolation of plasmid DNA: Category: Scientific free paper", *Journal of Infection*. 63(6), tr. e36-e37.
91. Chính phủ Việt Nam (2020), Quyết định phê duyệt chiến lược phát triển chăn nuôi giai đoạn 2021 - 2030, tầm nhìn 2045, chủ biên.
92. Do Phuc Nguyen và các cộng sự. (2016), "Dissemination of extended-spectrum β -lactamase- and AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* within the food distribution system of Ho Chi Minh City, Vietnam", *BioMed research international*. 2016.
93. Nguyễn Thanh Hải và các cộng sự. (2016), "Thực trạng sử dụng kháng sinh không theo đơn cho trẻ dưới 5 tuổi và một số yếu tố liên quan ở huyện Xuân Trường, Nam Định năm 2016", *Tạp chí y học dự phòng*. XXVI(14 (187)), tr. 76.
94. Nguyễn Trọng Khoa và các cộng sự. (2017), "Kiến thức, thái độ về sử dụng kháng sinh của các bác sĩ lâm sàng tại Bệnh viện đa khoa tỉnh Thái Bình và Bệnh viện đa khoa tỉnh Nam Định năm 2017", *tạp chí y học dự phòng*. 27(9), tr. 98.
95. Nguyễn Văn Cường và các cộng sự (2016), "Sử dụng KS trong các loại thức ăn có thuốc trong chăn nuôi lợn Việt Nam", *Sức khỏe*. 13, tr. 1-9.
96. Vinh Trung Nguyen và các cộng sự. (2015), "Prevalence and risk factors for carriage of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* on household and small-scale chicken farms in the Mekong Delta of Vietnam", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 70(7), tr. 2144-2152.
97. NT Nhung và các cộng sự. (2015), "High levels of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* isolates from livestock farms and synanthropic rats and shrews in the Mekong Delta of Vietnam", *Appl. Environ. Microbiol*. 81(3), tr. 812-820.
98. M Nkansa và các cộng sự. (2020), "Antibiotic Use Among Poultry Farmers in the Dormaa Municipality, Ghana. Report for Fleming Fund Fellowship Programme".
99. Jim O'Neill (2016), "Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations".
100. Ilse Overdevest và các cộng sự. (2011), "Extended-spectrum β -lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, The Netherlands", *Emerging infectious diseases*. 17(7), tr. 1216.
101. Ana Belén Ibarz Pavón và Martin CJ Maiden (2009), "Multilocus sequence typing", *Molecular Epidemiology of Microorganisms*, Springer, tr. 129-140.
102. Anton Y Peleg và David C Hooper (2010), "Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria", *New England Journal of Medicine*. 362(19), tr. 1804-1813.
103. Agnès Perrin-Guyomard và các cộng sự. (2016), "Prevalence of mcr-1 in commensal *Escherichia coli* from French livestock, 2007 to 2014".
104. Nicola K Petty và các cộng sự. (2014), "Global dissemination of a multidrug resistant *Escherichia coli* clone", *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 111(15), tr. 5694-5699.
105. Phuc Pham-Duc và các cộng sự. (2019), "Knowledge, attitudes and practices of livestock and aquaculture producers regarding antimicrobial use and resistance in Vietnam", *PLoS One*. 14(9), tr. e0223115.
106. Magdalena Popowska và Agata Krawczyk-Balska (2013), "Broad-host-range IncP-1 plasmids and their resistance potential", *Frontiers in microbiology*. 4, tr. 44.
107. Katherine M Shea (2003), "Antibiotic resistance: What is the impact of agricultural uses of antibiotics on children's health?", *Pediatrics*. 112(Supplement 1), tr. 253-258.
108. Cong Shen và các cộng sự. (2020), "Dynamics of mcr-1 prevalence and mcr-1-positive *Escherichia coli* after the cessation of colistin use as a feed additive for animals in China: a prospective cross-sectional and whole genome sequencing-based molecular epidemiological study", *The Lancet Microbe*. 1(1), tr. e34-e43.
109. Yingbo Shen và các cộng sự. (2018), "Anthropogenic and environmental factors associated with high incidence of mcr-1 carriage in humans across China", *Nature microbiology*. 3(9), tr. 1054-1062.

110. Calvin Sindato và các cộng sự. (2020), "Knowledge, attitudes and practices regarding antimicrobial use and resistance among communities of Ilala, Kilosa and Kibaha districts of Tanzania", *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 9(1), tr. 1-17.
111. Jae-Hoon Song và các cộng sự. (2011), "Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between the community and the hospitals in Asian countries: an ANSORP study", *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 66(5), tr. 1061-1069.
112. G Ström và các cộng sự. (2017), "Antimicrobial use and antimicrobial susceptibility in *Escherichia coli* on small-and medium-scale pig farms in north-eastern Thailand", *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 6(1), tr. 1-9.
113. Til Stürmer và các cộng sự. (2004), "Prevalence and determinants of antibiotic resistance in faecal *Escherichia coli* among unselected patients attending general practitioners in Southwest Germany", *Pharmacoepidemiology and drug safety*. 13(5), tr. 303-308.
114. Kangde Sun và các cộng sự. (2015), "Clonal dissemination of multilocus sequence type 11 *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase–Producing *K. pneumoniae* in a Chinese teaching hospital", *Apmis*. 123(2), tr. 123-127.
115. Ama Szmolka và Béla Nagy (2013), "Multidrug resistant commensal *Escherichia coli* in animals and its impact for public health", *Frontiers in microbiology*. 4, tr. 258.
116. Tatsuya Tada và các cộng sự. (2017), "Emergence of colistin-resistant *Escherichia coli* clinical isolates harboring *mcr-1* in Vietnam", *International Journal of Infectious Diseases*. 63, tr. 72-73.
117. Duong Bich Thuy và các cộng sự. (2017), "A one-year prospective study of colonization with antimicrobial-resistant organisms on admission to a Vietnamese intensive care unit", *PloS one*. 12(9).
118. Trần Thị Mai Hưng và các cộng sự. (2020), "Kiến thức, thực hành về sử dụng kháng sinh của bệnh nhân tại trạm y tế xã của một số vùng miền Việt Nam", *Tạp chí y học dự phòng*. 30(10).
119. Anthony E van den Bogaard và Ellen E Stobberingh (2000), "Epidemiology of resistance to antibiotics: links between animals and humans", *International journal of antimicrobial agents*. 14(4), tr. 327-335.
120. Thi Thu Hao Van và các cộng sự. (2008), "Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes", *International journal of food microbiology*. 124(3), tr. 217-223.
121. Nathalie Vernaz và các cộng sự. (2011), "Modelling the impact of antibiotic use on antibiotic-resistant *Escherichia coli* using population-based data from a large hospital and its surrounding community", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 66(4), tr. 928-935.
122. Vietnamese Government (2020), "Decree 13/2020/NĐ-CP Detail Guideline of Livestock Law".
123. World Health Organization (2016), Global action plan on antimicrobial resistance, chủ biên.
124. Jingyi Xu và các cộng sự. (2020), "Antibiotic use in chicken farms in northwestern China", *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 9(1), tr. 1-9.
125. Yoshimasa Yamamoto và các cộng sự. (2019), "Wide dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* with the mobile resistance gene *mcr* in healthy residents in Vietnam", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 74(2), tr. 523-524.
126. Qiue Yang và các cộng sự. (2017), "Balancing *mcr-1* expression and bacterial survival is a delicate equilibrium between essential cellular defence mechanisms", *Nature communications*. 8(1), tr. 1-12.
127. Shaiqi Zhang và các cộng sự. (2021), "Updates on the global dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli*: An emerging threat to public health", *Science of the Total Environment*. 799, tr. 149280.
128. Xue-Fei Zhang và các cộng sự. (2016), "Possible transmission of *mcr-1*–harboring *Escherichia coli* between companion animals and human", *Emerging infectious diseases*. 22(9), tr. 1679.

PHỤ LỤC

- 1 Bản thông tin dành cho đối tượng nghiên cứu và chấp thuận
tham gia nghiên cứu
- 2 Quy trình lấy mẫu phân người
- 3 Quy trình lấy mẫu phân động vật
- 4 Quy trình lấy mẫu ruồi
- 5 Quy trình lấy mẫu nước thải
- 6 Quy trình nuôi cấy, phân lập, định danh vi khuẩn
- 7 Quy trình phát hiện gen KKS bằng kỹ thuật PCR
- 8 Quy trình xác định nồng độ kháng sinh tối thiểu ức chế vi
khuẩn (MIC)
- 9 Bộ câu hỏi điều tra
- 10 Tóm tắt thông tin và kết quả về 49 chủng thực hiện giải trình
tự toàn bộ hệ gen
- 11 Giấy xác nhận của chủ nhiệm Đề tài cho phép sử dụng số liệu
cho luận án

**PHỤ LỤC 1. BẢN THÔNG TIN DÀNH CHO ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN
CỨU VÀ CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU**

PHỤ LỤC 2. QUY TRÌNH LẤY MẪU PHÂN NGƯỜI

PHỤ LỤC 3. QUY TRÌNH LẤY MẪU PHÂN ĐỘNG VẬT

PHỤ LỤC 4. QUY TRÌNH LẤY MẪU RUỒI

PHỤ LỤC 5. QUY TRÌNH LẤY MẪU NƯỚC THẢI

**PHỤ LỤC 6. QUY TRÌNH NUÔI CẤY, PHÂN LẬP, ĐỊNH DANH VI
KHUẨN**

PHỤ LỤC 7. QUY TRÌNH PHÁT HIỆN GEN KKS BẰNG KỸ THUẬT PCR

PHỤ LỤC 8. QUY TRÌNH XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ KHÁNG SINH TỐI THIỂU ỨNG CHẾ VI KHUẨN (MIC)

PHỤ LỤC 9. BỘ CÂU HỎI ĐIỀU TRA

**PHỤ LỤC 10. TÓM TẮT THÔNG TIN VÀ KẾT QUẢ VỀ 49 CHỨNG
THỰC HIỆN GIẢI TRÌNH TỰ TOÀN BỘ HỆ GEN**

**PHỤ LỤC 11. GIẤY XÁC NHẬN CỦA CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI CHO
PHÉP SỬ DỤNG SỐ LIỆU CHO LUẬN ÁN**