

Ô nhiễm của gene kháng thuốc (ARGs) trong bùn bể tự hoại ở Việt Nam

Nguyễn Trà Mi^{1*}, Hồ Tá Giáp¹, Nguyễn Xuân Bình², Nguyễn Hồ Các Dung²

¹Viện Kỹ thuật Công nghệ cao Nguyễn Tất Thành, Đại học Nguyễn Tất Thành

²Khoa Hóa - Thực phẩm - Môi trường, Đại học Nguyễn Tất Thành

*mi.nguyentra@gmail.com

Tóm tắt

Nghiên cứu này nhằm mục tiêu khảo sát sự tồn tại của 12 ARGs kháng lại 9 loại kháng sinh trong bùn bể tự hoại tại 2 thành phố lớn là Hà Nội và thành phố Hồ Chí Minh. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thu thập 26 mẫu bùn phân ở Hà Nội và 24 mẫu ở thành phố Hồ Chí Minh. Sự hiện diện của các ARG đã được kiểm tra theo hai hướng: (1) tách chiết DNA trực tiếp từ các mẫu bùn, sau đó tiến hành PCR khảo sát sự hiện diện của ARGs; (2) phân lập *E. coli* từ mẫu bùn, tách chiết DNA *E. coli* để khảo sát sự hiện diện của ARGs. Kết quả xác định gene kháng thuốc trên *E. coli* tại Hà Nội và Tp.HCM tương ứng là 0 và 44% kháng Streptomycin; 50% và 40% kháng Sulfonamide; 0 và 4% kháng Erythromycin; 0 và 65% kháng Chloramphenicol; 100% và 98% kháng Tetracycline; 50% và 16% kháng Trimethoprim; 100% và 30% kháng β -Lactams; 0 và 0 kháng Gentamycin; không có gene kháng Quinolone.

Nhận 16.01.2018
Được duyệt 16.08.2018
Công bố 20.09.2018

Từ khóa
Gene kháng thuốc,
bùn bể tự hoại

© 2018 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Thực trạng kháng thuốc kháng sinh đang là vấn đề toàn cầu. Sự kháng thuốc kháng sinh trở thành hiểm họa khi các vi sinh vật gây bệnh có thể tồn tại dưới tác động của thuốc kháng sinh[1]. Theo báo cáo của Trung tâm Phòng chống Bệnh tật Châu Âu (ECDC), hằng năm ở Châu Âu có trên 25.000 bệnh nhân chết vì nhiễm phải vi khuẩn đa kháng thuốc. Các vi khuẩn kháng thuốc như MRSA, vi khuẩn tiết ESBL tăng lên rõ rệt hằng năm. Cũng theo ECDC, vi khuẩn tiết ESBL đã tăng 6 lần trong vòng 4 năm từ 2005 đến 2009. Ở Việt Nam, tại các bệnh viện lớn như Bệnh viện Bạch mai, Bệnh viện Chợ Rẫy, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Bệnh viện Trung ương Huế, các vi khuẩn *E.coli*, trực khuẩn mũ xanh, *Klebsiella*, *A.baumannii*, tụ cầu vàng đã có tỉ lệ kháng rất cao với các kháng sinh thường dùng, cụ thể là với *E.coli*. Các kháng sinh hay sử dụng để điều trị là gentamicin và cefotaxim đã bị kháng lần lượt là 51% và 50,3%. Tụ cầu vàng kháng methiciline là 41,7%[2]. Đặc biệt với *A.baumannii*, một căn nguyên nhiễm trùng tại 16 bệnh viện hàng đầu hiện nay thì tỉ lệ kháng kháng sinh đã ở mức báo động đỏ. Cụ thể, hơn 3.000 chủng *A. baumannii* phân lập được tại 7 bệnh viện lớn, đại diện cho 3

miền Bắc, Trung, Nam trong năm 2012-2013. Kết quả cho thấy vi khuẩn này đã có tỉ lệ kháng cao với hầu hết các kháng sinh thường dùng trong bệnh viện (tỉ lệ kháng trên 70% trong tổng số 15 loại kháng sinh được thử nghiệm). Trong đó, tỉ lệ kháng với nhóm carbapenem với 2 đại diện imipenem và meropenem lần lượt là 76,5% và 81,3%. Nhóm cephalosporin kháng trên 80%, trong đó kháng 83,9% với cefepim, 86,7% với ceftazidim, 88% với cefotaxim, 93,1% với ceftriaxone[3].

Hiện nay, vẫn chưa có nghiên cứu nào làm rõ sự tồn tại của ARGs trong phân bùn và nguy cơ phát tán ARGs ra môi trường. Trong khi đó, việc quản lý bùn bể tự hoại ở Việt Nam vẫn chưa được quan tâm. Theo thống kê, chỉ có 4% lượng phân bùn được thu gom và xử lý. Phần lớn các công ty tư nhân thu gom và đổ trực tiếp ra môi trường. Việc thải bỏ bùn bể tự hoại với hàm lượng dư lượng thuốc và vi sinh vật gây bệnh cao ra môi trường là một trong những con đường thúc đẩy sự hình thành và phát tán của các gene kháng thuốc (ARG)[1]. ARG tồn tại trong môi trường nước, đất. Các sản phẩm nuôi trồng (cá, nông sản) bị ô nhiễm bùn bể tự hoại có nguy cơ phát tán lớn và gây ảnh hưởng lớn đến sức khỏe cộng đồng. Tuy nhiên, kiến thức về sự tồn tại của ARG trong bùn bể tự hoại và nguy cơ phát

tán ARG ra môi trường vẫn còn hạn chế. ARG là nguồn gốc của sự xuất hiện các vi sinh vật kháng thuốc (“super bug”) đang diễn ra mạnh mẽ không chỉ ở Việt Nam mà còn các nơi trên thế giới. Hiện tại, chỉ có một số ít các nghiên cứu về ARG từ thịt, thức ăn, nước thải ao nuôi thủy sản đã được thực hiện ở Việt Nam[4,5]. Nghiên cứu khảo sát sự tồn tại của ARG trong bùn bề tự hoại và môi trường xung quanh sẽ cung cấp thông tin chính xác về mối nguy hại của ARG với nguồn gốc từ bề tự hoại ở Việt Nam, đồng thời tạo tiền đề cho việc đề xuất các giải pháp quản lý ARG và các chất ô nhiễm khác từ bùn bề tự hoại.

2 Giải quyết vấn đề

Bảng 1 Danh sách Primers sử dụng xác định sự tồn tại của gene kháng thuốc

Kháng sinh	Gene kháng	Trình tự Primers		Kích thước
Streptomycin	<i>aadA1</i>	F	TATCCAGCTAAGCGCGAACT	447bp
		R	ATTTGCCGACTACCTTGGTC	
Gentamycin	<i>aac(3)_IV</i>	F	CTTCAGGATGGCAAGTTGGT	286bp
		R	TCATCTCGTTCTCCGCTCAT	
Sulfonamide	<i>Sul1</i>	F	TTCGGCATTCTGAATCTCAC	822bp
		R	ATGATCTAACCCTCGGTCTC	
β-Lactams	<i>bla_{SHV}</i>	F	TCGCCTGTGTATTATCTCCC	768bp
		R	CGCAGATAAATCACCACAATG	
	<i>bla_{CMY}</i>	F	TGGCCAGAACTGACAGGCAAA	462bp
		R	TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	
Erythromycin	<i>ereA</i>	F	GCCGGTGCTCATGAACTTGAG	419bp
		R	CGACTCTATTCGATCAGAGGC	
Chloramphenicol	<i>catA1</i>	F	AGTTGCTCAATGTACCTATAACC	547bp
		R	TTGTAATTCATTAAGCATTCTGCC	
	<i>cmlA</i>	F	CCGCCACGGTGTGTTGTTATC	698bp
		R	CACCTTGCCTGCCATCATTAG	
Tetracycline	<i>Tet(A)</i>	F	GGTTCACTCGAACGACGTCA	577bp
		R	CTGTCCGACAAGTTGCATGA	
	<i>Tet(B)</i>	F	CCTCAGCTTCTCAACGCGTG	634bp
		R	GCACCTTGCTGATGACTCTT	
Trimethoprim	<i>dfpA1</i>	F	GGAGTGCCAAAGGTGAACAGC	367bp
		R	GAGGCGAAGTCTTGGGTAAAAC	
Quinolone	<i>qnrA</i>	F	GGGTATGGATATTATTGATAAAG	670bp
		R	CTAATCCGGCAGCACTATTTA	

2.2 Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

Mẫu bùn bề tự hoại được thu nhận từ hai thành phố Hà Nội và Tp.HCM từ 5/2017 đến 10/2017. Tổng cộng là 24 mẫu bùn bề tự hoại thu nhận được tại Tp.HCM và 4 mẫu bùn bề tự hoại thu nhận được từ Hà Nội. Các mẫu sau khi thu nhận được lưu trữ tại Phòng Thí nghiệm Môi trường, Đại học Nguyễn Tất Thành.

E. coli được phân lập từ mẫu bùn bề tự hoại ngay sau khi

2.1 Phương pháp nghiên cứu

DNA được tách chiết theo hai phương pháp. Đối với mẫu bùn bề tự hoại, DNA được tách chiết bằng Soil DNA Isolation Kit của Norgen Biotek Corp. *E. coli* phân lập từ mẫu bùn bề tự hoại bằng HiCrome™ M-TEC Agar của HiMedia; DNA *E. coli* được tách chiết theo phương pháp phenol/chloroform[6].

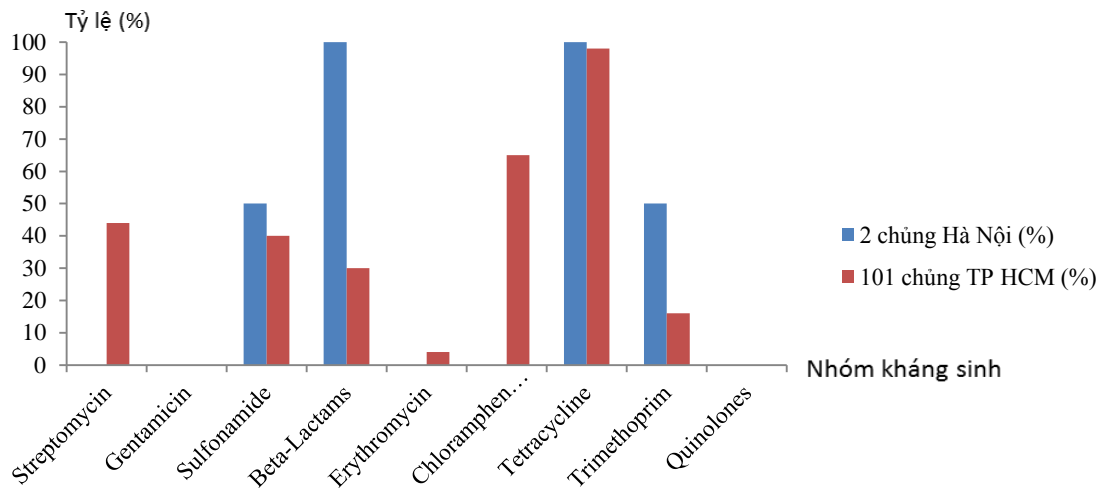
Gene kháng thuốc được xác định bằng phương pháp PCR sử dụng các cặp Primer theo nghiên cứu của Momtaz và cộng sự (2012)[7], được mô tả ở Bảng 1.

thu mẫu. Tổng cộng có 101 chủng *E. coli* Tp.HCM và 2 chủng *E. coli* Hà Nội được phân lập.

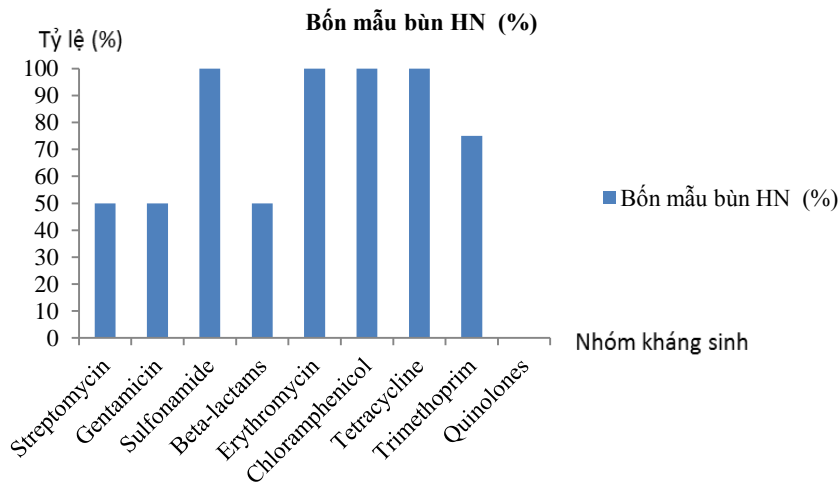
3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả xác định gene kháng thuốc

Kết quả xác định gene kháng thuốc được tổng hợp tại Hình 1 đối với mẫu *E. coli* và Hình 2 đối với mẫu bùn.



Hình 1 Tỷ lệ ARGs trên mẫu E. Coli

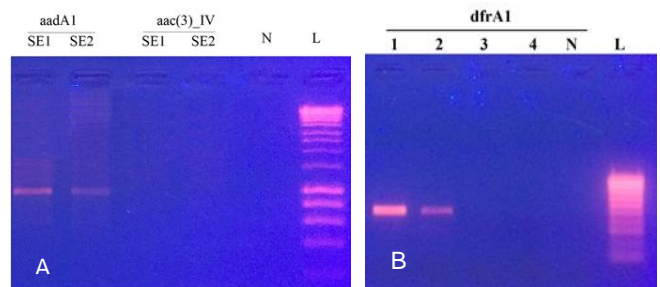


Hình 2 Tỷ lệ ARGs trên mẫu bùn Hà Nội

3.1.1 Gene kháng kháng sinh nhóm Aminoglycoside

a. Gene *aadA1*

Đối với mẫu *E. coli*, hiện diện 0% trên mẫu Hà Nội và 44% trên mẫu Tp.HCM. Đối với mẫu bùn, hiện diện 50% trên mẫu Hà Nội. So sánh với một nghiên cứu điển hình trên 97 chủng *E. coli* phân lập từ mẫu phân động vật của Karczmarczyk (2011) thu được kết quả là 97% *E. coli* hiện diện gene *aadA1*[8]. Trong Nghiên cứu này, tính trên mẫu Hà Nội, sự hiện diện *aadA1* trên mẫu *E. coli* là 0% trong khi trên mẫu bùn là 50%. Chứng tỏ gene kháng thuốc không chỉ hiện diện trên *E. coli* mà còn trên các vi sinh vật khác hoặc ở dạng DNA ngoại bào trong mẫu bùn. Tính trên mẫu *E. coli*, sự hiện diện gene kháng thuốc trên hai thành phố là khác nhau, ở Hà Nội là 0% trong khi ở Tp.HCM là 44%. Điều này chứng tỏ tình trạng gene kháng thuốc trên hai vùng địa lí khác nhau là khác nhau.



Hình 3 Kết quả điện di xác định gene *aadA1* và *aac(3)_IV* (A); gene *dfrA1* (B)

Chú thích: SE1, SE2: mẫu thực nghiệm; N: Đối chứng âm; L: Thang chuẩn; Kích thước *aadA1* là 447bp, *aac(3)_IV* là 286bp và *dfrA1* là 367bp.

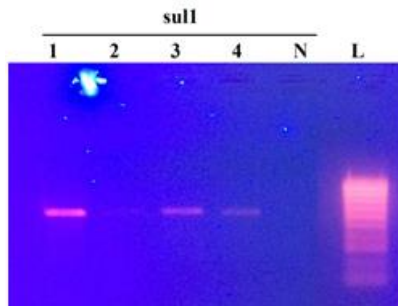
b. Gene *aac(3)_IV*

Gene *aac(3)_{IV}* hiện diện 0% trên các mẫu *E. coli* và 50% trên mẫu bùn Hà Nội. Tỷ lệ hiện diện *aac(3)_{IV}* trong nghiên cứu của Momtaz (2012) là 0%, tác giả này nghiên cứu trên 57 chủng *E. coli* phân lập từ thịt gà[7]. Kết quả nghiên cứu của Van (2008) có 24% chủng *E. coli* kháng Gentamycin. Nghiên cứu của tác giả này phân lập *E. coli* từ 108 mẫu thực phẩm thu mua tại Tp.HCM[4]. Johnson (1994) đã nghiên cứu trên 26 chủng *E. coli* phân lập từ chất thải bệnh viện, kết quả có 27% kháng Gentamycin[9].

c. Gene *dfrA1*

Đối với mẫu *E. coli*, hiện diện 50% trên mẫu Hà Nội và 16% trên mẫu Tp.HCM. Đối với mẫu bùn, hiện diện 75% trên mẫu Hà Nội. Tỷ lệ hiện diện gene kháng Trimethoprim trên mẫu bùn cao hơn mẫu *E. coli*. Rất có thể gene kháng thuốc này tồn tại trên các vi sinh vật khác và tự do trong mẫu bùn. Một nghiên cứu của Brolund (2010) đã phân lập 320 chủng *E. coli* từ bệnh viện, các hộ dân và thu được kết quả là 96% *E. coli* kháng Trimethoprim. Tuy nhiên, trong đó chỉ có 34% *E. coli* hiện diện gene *dfrA1*[10]. Nghiên cứu khác của Grape (2007), phân lập 73 chủng *E. coli* từ bệnh viện thu được tỷ lệ kháng Trimethoprim là 75%, trong đó có 36% hiện diện *dfrA1*[11]. Như vậy, nghiên cứu này sử dụng gene *dfrA1* để đại diện phát hiện gene kháng Trimethoprim, do loại thuốc này có nhiều gene kháng. Vì vậy, tỷ lệ hiện diện gene kháng loại thuốc này trong nghiên cứu sẽ không cao bằng các gene khác.

3.2 Gene kháng kháng sinh họ Sulfonamide



Hình 4 Kết quả điện di xác định gene *sull*.

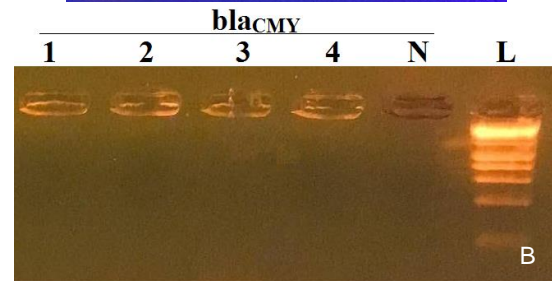
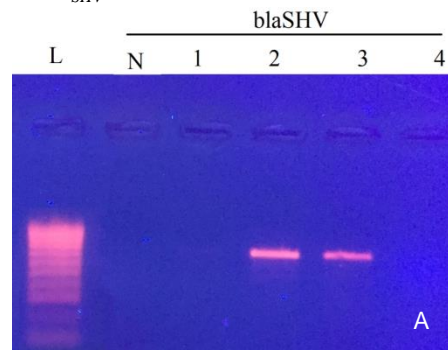
Chú thích: 1, 2, 3, 4: Mẫu thực nghiệm; N: Đối chứng âm; L: Thang chuẩn; Kích thước *sull* là 822bp.

Đối với mẫu *E. coli*, hiện diện 50% trên mẫu Hà Nội và 40% trên mẫu Tp.HCM. Đối với mẫu bùn, hiện diện 100% trên mẫu Hà Nội. So sánh kết quả với nghiên cứu của Karczmarczyk (2011) thực hiện trên 97 chủng *E. coli* phân lập từ mẫu phân bùn động vật[8]. Nghiên cứu này thu được kết quả là 99% hiện diện gene kháng Sulfonamide. Nghiên cứu khác của Karczmarczyk (2011) nghiên cứu trên 100 chủng *E. coli* phân lập từ môi trường chăn nuôi gia súc thu được 98% kháng Sulfonamide[12]. Sulfonamide là loại kháng sinh được đưa vào sử dụng từ năm 1930, đến năm 1940 đã phát hiện đề kháng kháng sinh này[13]. Do đó, sự kháng kháng sinh có thể

cao hơn các loại kháng sinh khác.

3.3 Gene kháng kháng sinh nhóm β -Lactams

3.3.1 Gene *Bla_{SHV}*



Hình 5 Kết quả điện di xác định gene *Bla_{SHV}* (A) và *Bla_{CMY}* (B)

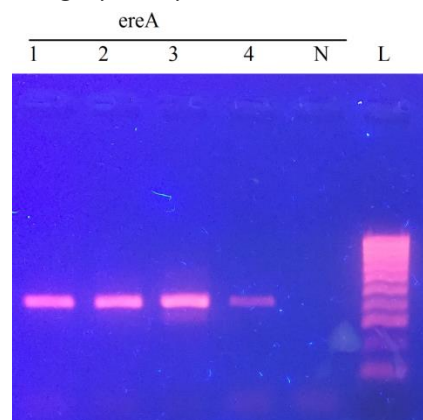
Chú thích: 1, 2, 3, 4: Mẫu thực nghiệm; N: Đối chứng âm; L: Thang chuẩn; Kích thước *bla_{SHV}* là 768bp, *bla_{CMY}* là 462bp.

Đối với mẫu *E. coli*, hiện diện 50% trên mẫu Hà Nội và 30% trên mẫu Tp.HCM. Đối với mẫu bùn, hiện diện 50% trên mẫu Hà Nội

3.3.2. Gene *Bla_{CMY}*

Đối với mẫu *E. coli*, hiện diện 100% trên mẫu Hà Nội và 0% trên mẫu Tp.HCM. Tỷ lệ hiện diện *bla_{SHV}* và *bla_{CMY}* trong nghiên cứu của Momtaz (2012) là 0%, tác giả này nghiên cứu trên 57 chủng *E. coli* phân lập từ thịt gà[7]. Nghiên cứu của Pehlivanla (2015) trên 82 chủng *E. coli* phân lập từ gà có 99% chủng kháng với β -Lactams. Trong đó hiện diện của *bla_{SHV}* là 1%, *bla_{CMY}* là 6%[14].

3.4. Gene kháng erythromycin



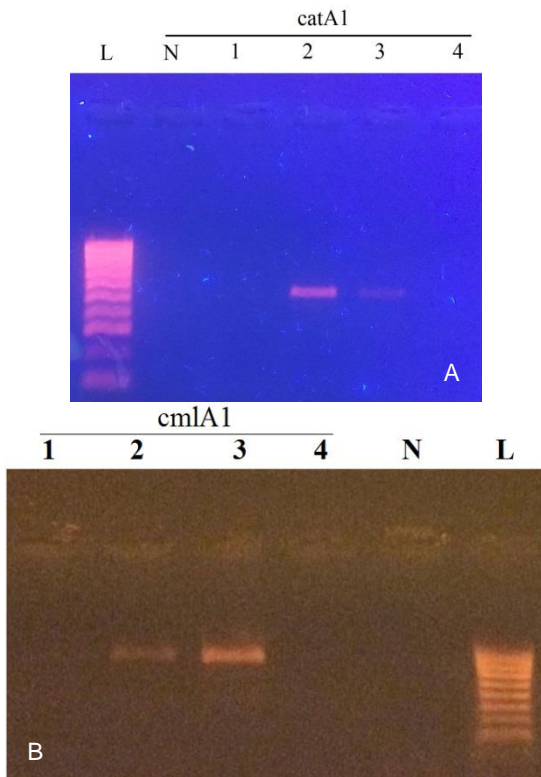
Hình 6 Kết quả điện di xác định gene *ereA*

Chú thích: 1, 2, 3, 4: Mẫu thực nghiệm; N: Đối chứng âm; L: Thang chuẩn; Kích thước *ereA* là 419bp.

Đối với mẫu *E. coli*, hiện diện 0% trên mẫu Hà Nội và 4% trên mẫu Tp.HCM. Đối với mẫu bùn, hiện diện 100% trên mẫu Hà Nội. Cùng mẫu Hà Nội, trên mẫu *E. coli* không hiện diện, tuy nhiên trên mẫu bùn hiện diện gene này 100%. Do đó, một lần nữa chúng tôi muốn xác định sự ô nhiễm gene kháng thuốc cần phải tiến hành trực tiếp trên mẫu bùn. Để đánh giá mức độ ô nhiễm vi khuẩn kháng thuốc, Kibret (2011) đã thu mẫu từ các nơi công cộng, phòng khám và bệnh viện để phân lập *E. coli* dùng cho nghiên cứu. Kết quả là 89% *E. coli* kháng Erythromycin[15].

3.5. Gene kháng Chloramphenicol

3.5.1 Gene *catA1*



Hình 7 Kết quả điện di xác định gene *catA1*(A) và *cmlA1*(B)

Chú thích: 1, 2, 3, 4: Mẫu thực nghiệm; N: Đối chứng âm; L: Thang chuẩn; Kích thước *catA1* là 547bp, *cmlA1* là 698bp

Đối với mẫu *E. coli*, hiện diện 0% trên mẫu Hà Nội và 17% trên mẫu Tp.HCM. Đối với mẫu bùn, hiện diện 50% trên mẫu Hà Nội.

3.5.2 Gene *cmlA*

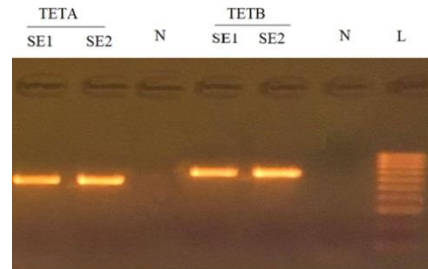
Đối với mẫu *E. coli*, hiện diện 0% trên mẫu Hà Nội và 60% trên mẫu Tp.HCM. Đối với mẫu bùn, hiện diện 100% trên mẫu Hà Nội. Gene kháng Chloramphenicol phát hiện tỉ lệ là 65% trên mẫu *E. coli* Tp.HCM, 0% trên mẫu *E. coli* Hà Nội và 100% trên mẫu bùn Hà Nội. Kết quả nghiên cứu này cao hơn nghiên cứu của Van (2008), nghiên cứu này có 43% chủng *E. coli* kháng Chloramphenicol. Nghiên cứu của tác

giả này phân lập *E. coli* từ mẫu thực phẩm thu mua tại Tp.HCM. Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi đối chiếu với nghiên cứu của Van (2008) cho thấy sự ô nhiễm của gene kháng Chloramphenicol ngày càng tăng.

3.6 Gene kháng Tetracycline

3.6.1 Gene *tet(A)*

Đối với mẫu *E. coli*, hiện diện 100% trên mẫu Hà Nội và 94% trên mẫu Tp.HCM. Đối với mẫu bùn, hiện diện 100% trên mẫu Hà Nội.



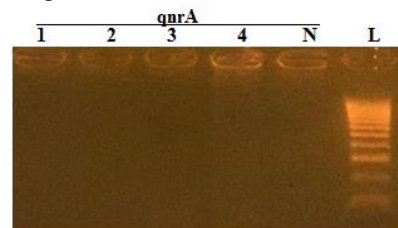
Hình 8 Kết quả điện di xác định gene *Tet(A)* và *Tet(B)*

Chú thích: 1, 2, 3, 4: Mẫu thực nghiệm; N: Đối chứng âm; L: Thang chuẩn; Kích thước *TETA* và *TETB* là 577bp và 634bp.

3.6.2 Gene *tet(B)*

Đối với mẫu *E. coli*, hiện diện 0% trên mẫu Hà Nội và 78% trên mẫu Tp.HCM. Đối với mẫu bùn, hiện diện 75% trên mẫu Hà Nội. Như vậy, 100% các mẫu hiện diện gene kháng Tetracycline. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Thùy Trang (2014) về tỉ lệ kháng thuốc của *E. coli* trên mẫu thực phẩm thu được kết quả là 53% chủng kháng Tetracycline. Hay trong nghiên cứu của Momtaz (2012) cũng cho kết quả là 53% chủng kháng Tetracycline[7]. Nghiên cứu này của chúng tôi cho kết quả 100% chủng *E. coli* phân lập từ bùn bề tự hoại tại 2 thành phố lớn Hà Nội và Tp.HCM. Như vậy, tình trạng ô nhiễm gene kháng Tetracycline tại 2 thành phố này nói riêng hay tại Việt Nam nói chung cần được cảnh báo để ngăn chặn và giải quyết.

3.7 Gene kháng Quinolone



Hình 9 Kết quả điện di xác định gene *qnrA*

Chú thích: 1, 2, 3, 4: Mẫu thực nghiệm; N: Đối chứng âm; L: Thang chuẩn; Kích thước *qnrA* là 670bp.

Tất cả các mẫu thực nghiệm trong nghiên cứu này đều âm tính với *qnrA*. Quinolones có 4 gen phổ biến trên vi khuẩn *E. coli* là *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac(6')-Ib-cr*. Chúng tôi chọn 1 trong số này để kiểm tra, do đó có thể *qnrA* không xuất hiện trong nghiên cứu.

4 Kết luận và đề xuất

4.1 Kết luận

Tỉ lệ hiện diện các gene kháng thuốc là cao. Điển hình, gene kháng Tetracycline, Chloramphenicol và Sulfonamide trong nghiên cứu này là 100%.

Các gene kháng thuốc hiện diện trên mẫu bùn cao hơn trên mẫu *E. coli*. Điển hình là gene *aadA1* hiện diện 0% trên *E. coli* Hà Nội và 50% trên mẫu bùn Hà Nội. Gene *ereA* xuất hiện 100% trên mẫu bùn Hà Nội nhưng không xuất hiện trên *E. coli* Hà Nội. Gene *catA1* và *cmlA* kháng Chloramphenicol xuất hiện trên mẫu bùn Hà Nội lần lượt là 50% và 100% nhưng đều không xuất hiện trên *E. coli* Hà Nội. Điều này nói lên rằng các gene kháng thuốc không chỉ xuất hiện trên *E. coli* mà còn tồn tại trên các sinh vật khác hoặc tự do trong mẫu bùn. Tuy nhiên, chúng tôi vẫn chọn *E. coli* là vi khuẩn chỉ thị cho nghiên cứu này vì *E. coli* là khuẩn đường ruột, do đó liên quan mật thiết với sự ô nhiễm của gene kháng thuốc có nguồn gốc từ phân bùn.

Trên 2 thành phố Hà Nội và Tp.HCM, sự tồn tại của gene kháng thuốc khác nhau. Điển hình như gene kháng Streptomycin trên *E. coli* Hà nội trong nghiên cứu này là 0% trong khi đó ở Tp.HCM là 44%. Gene kháng Chloramphenicol trên *E. coli* Hà Nội là 0% còn trên *E. coli* Tp.HCM là 65%. Hay gene kháng β -lactams trên *E. coli* Hà Nội là 100% còn trên *E. coli* Tp.HCM là 30%. Điều này nói lên rằng giữa các vùng địa lí khác nhau, tình trạng gene kháng thuốc cũng khác nhau.

So sánh kết quả nghiên cứu với các nghiên cứu khác trên thế giới, cho thấy kết quả nghiên cứu này là tương đồng với các nghiên cứu trước đó. Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây đều tập trung hầu hết vào các mẫu thực phẩm, nước thải và rất ít nghiên cứu thực hiện trên mẫu phân bùn. Đặc biệt, ở Việt Nam vẫn chưa có nghiên cứu nào thực hiện trên mẫu phân bùn. Do đó, kết quả nghiên cứu này giúp hoàn thiện bức tranh toàn cảnh về tình hình kháng thuốc ở Việt Nam nói riêng và thế giới nói chung. Nghiên cứu này sẽ đưa ra cái nhìn tổng quát về tình trạng ô nhiễm gene kháng thuốc và con đường lan truyền gene kháng thuốc ra môi trường. Từ đó, đề xuất một số giải pháp cụ thể nhằm góp phần vào quản lí và xử lí vấn đề ô nhiễm gene kháng thuốc ở Việt Nam và thế giới.

4.2 Đề xuất

Để có được bằng chứng rõ ràng về sự ô nhiễm gene kháng thuốc, cần phải định lượng bằng phản ứng PCR. Từ đó mới có thể xây dựng được hệ thống xử lí gene kháng thuốc một cách cụ thể. Ngoài ra, để có cái nhìn tổng quát về vấn nạn kháng thuốc trên vi sinh vật gây bệnh, cần thực hiện trên đối tượng khác, trong nghiên cứu này mới thực hiện trên *E. coli*. Đối với vấn đề xử lí phân bùn bề tự hoại, chúng tôi đề xuất giải pháp thu gom bùn bề tự hoại. Sau đó sản xuất than đốt từ phân bùn không gây ô nhiễm theo nghiên cứu của Ward (2014). Như vậy, gene kháng thuốc sẽ bị loại bỏ trong quá trình đốt và không lan truyền ra môi trường. Than đốt cũng là nguồn lợi kinh tế khi mà nguồn than đốt đang dần cạn kiệt[16].

Tài liệu tham khảo

1. Baquero, F., Martínez, J.-L. & Cantón, R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr. Opin. Biotechnol.* **19**, 260–265 (2008).
2. Hải, T. D. & Luyện, T. H. Nghiên cứu căn nguyên vi khuẩn hiếu khí gây nhiễm khuẩn bệnh viện tại Bệnh viện Trung ương Huế từ tháng 5/2011 đến tháng 5/2012. *Tạp chí Dược Học* **11**, 101–109 (2012).
3. Nga, L. T. V. & Phùng, E. Cải tiến kỹ thuật phát hiện men Beta-lactamases phổ rộng. *Tài liệu Hội nghị Tổng kết hoạt động theo dõi sự kháng thuốc của vi khuẩn gây bệnh thường gặp tại Việt Nam ASTS năm 2004* 64–70 (2005).
4. Van, T. T. H., Moutafis, G., Tran, L. T. & Coloe, P. J. Antibiotic Resistance in Food-Borne Bacterial Contaminants in Vietnam. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 7906–7911 (2007).
5. Van, T. T. H., Chin, J., Chapman, T., Tran, L. T. & Coloe, P. J. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *Int. J. Food Microbiol.* **124**, 217–223 (2008).
6. Chomczynski, P. & Sacchi, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* **162**, 156–159 (1987).
7. Momtaz, H., Rahimi, E. & Moshkelani, S. Molecular detection of antimicrobial resistance genes in *E. coli* isolated from slaughtered commercial chickens in Iran. *Veterinárni Medicina* **57**, 193–197 (2012).
8. Karczmarczyk, M., Abbott, Y., Walsh, C., Leonard, N. & Fanning, S. Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolates from Animals Presenting at a University Veterinary Hospital. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 7104–7112 (2011).
9. Johnson, A. P. *et al.* Gentamicin resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* encoded by genes of veterinary origin. *J. Med. Microbiol.* **40**, 221–226 (1994).
10. Brolund, A., Sundqvist, M., Kahlmeter, G. & Grape, M. Molecular Characterisation of Trimethoprim Resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during a Two Year Intervention on Trimethoprim Use. *PLoS ONE* **5**, (2010).
11. Grape, M., Motakefi, A., Pavuluri, S. & Kahlmeter, G. Standard and real-time multiplex PCR methods for detection of trimethoprim resistance *dftr* genes in large collections of bacteria. *Clin. Microbiol. Infect.* **13**, 1112–1118 (2007).
12. Karczmarczyk, M., Walsh, C., Slowey, R., Leonard, N. & Fanning, S. Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolates from Irish Cattle Farms. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 7121–7127 (2011).
13. Davies, J. & Davies, D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev. MMBR* **74**, 417 (2010).
14. Pehlivanlar Önen, S., Aslantaş, Ö., Şebnem Yılmaz, E. & Kürekci, C. Prevalence of β -Lactamase Producing *Escherichia coli* from Retail Meat in Turkey. *J. Food Sci.* **80**, M2023-2029 (2015).
15. Kibret, M. & Abera, B. Antimicrobial susceptibility patterns of *E. coli* from clinical sources in northeast Ethiopia. *Afr. Health Sci.* **11**, S40–S45 (2011).
16. Ward, B. J., Yacob, T. W. & Montoya, L. D. Evaluation of solid fuel char briquettes from human waste. *Environ. Sci. Technol.* **48**, 9852–9858 (2014).

Prevalence of antibiotic resistance genes (ARGs) in faecal sludge in Vietnam

Nguyen Tra Mi^{1*}, Ho Ta Giap¹, Nguyen Xuan Binh² and Nguyen Ho Cat Dung²

¹Nguyen Tat Thanh Hi-Tech Institute, Nguyen Tat Thanh University

²Department of Chemistry, Food and Environment, Nguyen Tat Thanh University
mi.nguyentra@gmail.com

Abstract The main goal of this study is to investigate the prevalence of 12 ARGs for 9 common antibiotics in faecal sludge samples collected, in Hanoi and Ho Chi Minh cities. We collected 26 faecal sludge samples: 2 of Hanoi city and 24 of Ho Chi Minh City. The existence of ARGs was tested using PCR in two ways: (1) directly with the sludge samples and (2) with the *E. coli* strains isolated from the samples. Our results showed that the prevalence of the tested ARGs in faecal sludge is significant isolated *E. coli*, the presence of ARGs in Hanoi city and Ho Chi Minh City was 0 and 44% for Streptomycin resistance; 50% and 40% Sulfonamide Resistance; 0 and 4% resistance to Erythromycin; 0 and 65% chloramphenicol resistance; 100% and 98% Tetracycline resistance; 50% and 16% Trimethoprim Resistance; 100% and 30% resistance to β -Lactams; 0 and 0 Gentamicin resistance. There was no Quinolone resistance gene for isolated *E. coli* in both cities.

Keywords antibiotic Resistance Genes, fecal sludge.

