

# KHÁNG KHÁNG SINH VÀ ĐỘC LỰC CỦA *VIBRIO CHOLERAE* O1 PHÂN LẬP TẠI KHU VỰC PHÍA NAM VIỆT NAM 2010

NGUYỄN HOÀNG VŨ, PHAN ĐÌNH HỒNG CHÂU, PHẠM THỊ HOAN,  
DIỆP THẾ TÀI, NGUYỄN QUANG TRƯỜNG, NGUYỄN THỊ NGỌC NHI,  
NGUYỄN VĂN THƯƠNG, ĐỖ KIẾN QUỐC, NGUYỄN QUỐC HUY,  
PHAN CÔNG HÙNG, NGUYỄN THỊ PHƯƠNG LAN  
Viện Pasteur Tp.Hồ Chí Minh.

## TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Dịch tả lan rộng ở các tỉnh phía Nam suốt năm 2010. Tác nhân gây bệnh được xác nhận là *Vibrio cholerae* O1 tít sinh học mới. Nghiên cứu về tính kháng kháng sinh và độc lực của tít mới trên khu vực là nhu cầu cần thiết trong việc định hướng điều trị và kiểm soát dịch bệnh lây lan. **Phương pháp:** Các chủng *Vibrio cholerae* O1 tít sinh học mới gây dịch ở phía Nam Việt Nam năm 2010 được khảo sát tính kháng kháng sinh và độc lực. Dùng phương pháp khuếch tán đĩa khảo sát trên 9 loại kháng sinh theo CLSI, và dùng MIC (nồng độ ức chế tối thiểu) cho ciprofloxacin và azithromycin thử nghiệm trên 54 chủng được chọn. Độc lực được khảo sát trên 2 chủng lâm sàng và 1 chủng môi trường bằng mô hình thỏ 3 ngày tuổi. **Kết quả:** Tỷ lệ kháng kháng sinh của *Vibrio cholerae* O1 năm 2010 tăng, nồng độ ức chế tối thiểu của ciprofloxacin và azithromycin cũng tăng so với chủng từ các năm trước. Kết quả bước đầu cho thấy độc lực của chủng *Vibrio cholerae* O1 tít mới cao. **Kết luận:** *Vibrio cholerae* O1 tít sinh học mới có tính kháng kháng sinh cao và có độc lực mạnh, đây là một vấn đề đáng lo ngại trong công tác điều trị và phòng chống tả. Do vậy, tiếp tục giám sát tít sinh học mới là rất cần thiết.

**Từ khóa:** *Vibrio cholerae* O1, kháng kháng sinh, độc lực.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND TOXICITY OF *Vibrio cholerae* O1 ISOLATED IN SOUTHERN VIETNAM IN 2010

## SUMMARY

**Background:** The cholera outbreaks spread to southern Vietnam in 2010. The new biotype *Vibrio cholerae* O1 was defined caused agent. Studying about antibiotic resistance and toxicity of new biotype in the area are essential for outbreak control and orientational treatment. **Method:** The new biotype of *Vibrio cholerae* O1 strains isolated in southern of Vietnam in 2010 were studied about susceptibility and toxicity. Total 54 strains were tested 9 antibiotics by the Kirby Bauer disc diffusion and MIC method for ciprofloxacin and azithromycin belong to CLSI. Two clinical strains and one environmental strain were studied about toxicity in 3-days rabbit model. **Results:** All studied strains increased antimicrobial resistance. Initial results proclaimed the high toxicity in new biotype of *Vibrio cholerae* O1. **Conclusion:** *Vibrio cholerae* O1 2010 strains have high antimicrobial resistance and strong toxicity. This is significant

information which is useful for not only the campaign to control cholera but also the treating mission.

**Keywords:** *Vibrio cholerae* O1, antimicrobial resistance, toxicity.

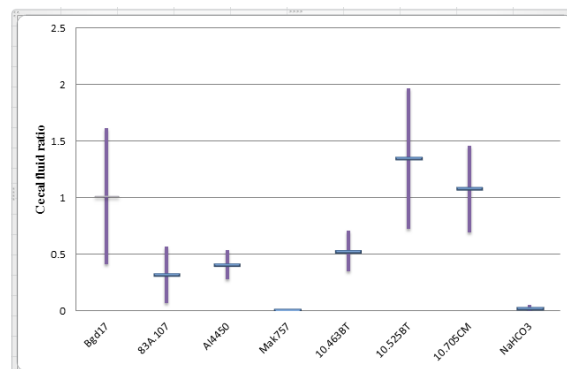
## ĐẶT VẤN ĐỀ

Dịch tả là một trong những bệnh nguy hiểm và gây ảnh hưởng lớn đến sức khỏe tại các nước trên thế giới và Việt Nam [1]. Năm 2010, dịch tả đã xảy ra và hoành hành tại khắp các tỉnh khu vực phía Nam. Hơn 150 trường hợp nhiễm bệnh được xác định do *Vibrio cholerae* O1 tít sinh học mới gây ra. Sự kháng kháng sinh cũng như về độc lực của các chủng mới này vẫn còn là câu hỏi. Giải quyết thỏa đáng vấn đề này sẽ cung cấp các thông tin để phục vụ cho công tác điều trị lâm sàng và trong công tác phòng chống dịch tả. Ngoài ra, đây cũng là lần đầu tiên sự nghiên cứu về độc tố tả thực hiện trên mô hình động vật được công bố tại Việt Nam.

## VẬT LIỆU – PHƯƠNG PHÁP

**Chủng.** Tổng số 54 chủng đã xác định là *Vibrio cholerae* O1 tít EI Tor không điển hình được chọn lọc. Ngoài ra, đề tài cũng thử nghiệm trên 21 chủng phân lập từ 1999-2008 trong cùng khu vực và 4 chủng chuẩn dùng làm chứng là *V. cholerae* O1 tít Classical Bgd17, VCO1 tít EI Tor 83A.107, VCO1 tít EI Tor Vc757 (không có gen độc tố *ctxAB*) và VCO139 AI4450.

**Khảo sát tính kháng kháng sinh.** Các chủng được thử nghiệm với 9 kháng sinh trimethoprim – sulfamethoxazole (SXT) 1.25/23.75µg, gentamicin (GM) 10µg, chloramphenicol (C) 30µg, doxycycline



(DO) 30µg, ciprofloxacin (CIP) 5µg, ampicillin (AM) 10µg, tetracycline (TE) 30µg, ofloxacin (OFX) 5µg và

norfloxacin (NOR) 10µg bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Kháng sinh ciprofloxacin và azithromycin (Sigma) được thử nghiệm bằng phương pháp nồng độ tối hạn MIC. Quy trình thực hiện theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn về Phòng thí nghiệm và Lâm sàng (CLSI, 2010) [2].

**Khảo sát độc tố in vivo.** Dùng mô hình thỏ 3 ngày tuổi để khảo sát trên 3 chủng El Tor không điển hình được chọn ngẫu nhiên. Thỏ được bơm cimetidine (50mg/kg) trước 3 giờ đồng hồ trước khi gây nhiễm. Pha loãng vi khuẩn vào NaHCO<sub>3</sub> (2.6% w/v, pH=9) với nồng độ khoảng 2x10<sup>9</sup>CFU/ml và bơm vào ruột thỏ. Sau 22 giờ gây nhiễm, tiến hành giải phẫu, quan sát manh tràng và tính tỷ lệ lượng dịch tiết manh tràng (khối lượng dịch tiết/ khối lượng manh tràng) [3].

**Phân tích thống kê.** Tỷ lệ dịch tiết manh tràng được phân tích bằng ANOVA và thống kê phi tham số Wilcoxon's rank sum.

### KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

#### Sự tăng tỷ lệ kháng kháng sinh của *Vibrio cholerae* O1 2010.

Bảng Tỷ lệ kháng kháng sinh (%) của các chủng *Vibrio cholerae* O1 khu vực phía Nam 2010

	SXT	GM	C	DO	CIP	AM	TE	OFX	NOR
2010 (n=54)	100	1.6	1.6	6.5	0	1.6	75.8	0	0
1999-2008 (n=21)	28.6	0	0	0	0	0	14.3	0	0

SXT: trimethoprim + sulfamethoxazole; GM: gentamicin; C: chloramphenicol; DO: doxycycline; CIP: ciprofloxacin; AM: ampicillin; TE: tetracycline; OFX: ofloxacin; NOR: norfloxacin

So với các chủng 1999-2008, các chủng 2010 đã tăng tỷ lệ kháng kháng sinh (trừ kháng sinh ciprofloxacin, ofloxacin và norfloxacin, chủng 2010 nhạy hoàn toàn). Trong đó, chủng 2010 đã kháng hoàn toàn với trimethoprim + sulfamethoxazole và kháng tetracycline với tỷ lệ cao (75.8%). Sự tăng tỷ lệ kháng ở các kháng sinh khác dù chưa đáng kể nhưng cũng là vấn đề cần lưu ý cho sự đa kháng thuốc của vi khuẩn tả trong tương lai.

Đối với ciprofloxacin và azithromycin, hai loại kháng sinh điều trị tả được dùng phổ biến hiện nay tại Việt Nam, kết quả cho thấy nồng độ ức chế tối thiểu lần lượt với chủng 2010 là 0.5 µg/ml và 2 µg/ml. Tuy vẫn còn trong giới hạn nhạy kháng sinh, nhưng nồng độ ức chế của ciprofloxacin với chủng 2010 đã tăng hơn 125 lần so với chủng 1994-2004. Sự tăng nồng độ ức chế của các kháng sinh này cũng cần được cân nhắc trong quá trình điều trị bệnh tả.

#### Độc lực của độc tố tả các chủng *Vibrio cholerae* O1 2010 cao.

Độc lực của độc tố được đánh giá bằng tỷ lệ dịch tiết manh tràng và quan sát sự phù nề của manh tràng sau giải phẫu.

Hình. Tỷ lệ dịch tiết manh tràng của các thỏ khi được ủ với những vi khuẩn tương ứng: *V. cholerae* O1 Classical Bgd17, El Tor 83A.107, *V. cholerae* O139 AI4450 và *V. cholerae* O1 El Tor Vc757 (không có gen độc tố *ctxAB*), chủng lâm sàng 10.525BT và 10.705CM, chủng môi trường 10.463B. Mỗi chủng được thử nghiệm lặp lại 3-5 lần với chứng NaHCO<sub>3</sub>. Thanh ngang biểu diễn cho giá trị trung bình.

Típ Classical được chứng minh là có độc lực cao hơn típ El Tor [3]. Kết quả thử nghiệm bước đầu cho thấy tỷ lệ dịch tiết manh tràng trên các chủng chuẩn phù hợp với các nghiên cứu và công bố trước đây [3,4]. Các chủng 2010 có độc lực xấp xỉ chủng thuộc típ Classical, trong đó chủng từ lâm sàng có độc lực cũng phù hợp với những quan sát sự phù nề trên manh tràng thỏ. Thỏ bị nhiễm chủng 2010 lâm sàng và chủng Classical có độ phù nề nặng hơn so với các chủng khác. Điều này trở thành một vấn đề đáng lo ngại về độc tính của các chủng 2010 thuộc típ sinh học mới.

### KẾT LUẬN

Nhiều báo cáo về sự xuất hiện típ sinh học mới của *Vibrio cholerae* đã được công bố, nhưng nghiên cứu về sự kháng kháng sinh và độc lực *in vivo* của vi khuẩn thì chưa cụ thể [5]. Típ sinh học mới đã được xác định đã xuất hiện ở Việt Nam từ trước 1999 nhưng các chủng 2010 đã ghi nhận sự tăng tỷ lệ kháng kháng sinh cao và độc lực gây bệnh mạnh. Đây là vấn đề đáng lo ngại cần lưu tâm trong công tác phòng chống dịch tả.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Binh Minh Nguyen, Je Hee Lee, Ngo Tuan Cuong, Seon Young Choi, Nguyen Tran Hien, Dang Duc Anh, Hye Ri Lee, M. Ansaruzzaman, Hubert P. Endtz, Jongsik Chun, Anna Lena Lopez, Cecil Czerkinsky, John D. Clemeng & Dong Wook Kim (2009). Cholera Outbreaks Caused by an Altered *Vibrio cholerae* O1 El Tor Biotype Strain Producing Classical Cholera Toxin B in Vietnam in 2007 to 2008. *Journal Of Clinical Microbiology*, 47 (5) : 1568–1571.
2. *Procedures/ Guideline for the Microbiology Laboratory*, (2010). 52-57.
3. Ritchie, J. M., H. Rui, R. T. Bronson, and M. K. Waldo (2010). Back to the Future: Studying Cholera Pathogenesis Using Infant Rabbits, *mBio* 1(1):e00047-10. doi:10.1128/ mBio.00047-10.
4. Subhra Pradhan, Amit K. Baidya, Amalendu Ghosh, Kalidas Paul, Rukhsana Chowdhury (2010). The El Tor biotype of *Vibrio cholerae* exhibits a growth advantage in the stationary phase in mixed cultures with the Classical biotype. *Journal of Bacteriology* 192, 955-963.
5. Ashrafus Safa, G. Balakrish Nair and Richard Y.C Kong (2009). Evolution of news vaiants of *Vibrio cholerae* O1. *Cell Press / Trends in Microbiology*, 18 (1) : 46-54.