

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HCM**

-----

**ĐẶNG THỊ XUÂN THIỆP**

**MÃN CẢM KHÁNG SINH CỦA MỘT SỐ VI KHUẨN  
GÂY BỆNH HÔ HẤP TRÊN HEO VÀ CAN THIỆP GIẢM  
SỬ DỤNG KHÁNG SINH Ở TRANG TRẠI**

Chuyên ngành: Bệnh lý học và chữa bệnh vật nuôi

Mã số: 9.64.01.02

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP**

**TP.HCM - 2025**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HCM**

-----

**MỖN CẢM KHÁNG SINH CỦA MỘT SỐ VI KHUẨN  
GÂY BỆNH HÔ HẤP TRÊN HEO VÀ CAN THIỆP GIẢM  
SỬ DỤNG KHÁNG SINH Ở TRANG TRẠI**

Chuyên ngành: Bệnh lý học và chữa bệnh vật nuôi

Mã số: 9.64.01.02

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP**

**Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. LÊ THANH HIỀN**

**TP.HCM – 2025**

## LỜI CẢM ƠN

Trân trọng cảm ơn Ban Giám Hiệu, Phòng Tổ chức cán bộ, Phòng Đào tạo sau Đại học trường Đại học Nông Lâm TP.HCM đã chấp thuận và tạo điều kiện thuận lợi để tôi được thực hiện và hoàn thành luận án.

Trân trọng cảm ơn Ban chủ nhiệm Khoa Chăn nuôi Thú y, Hội đồng hướng dẫn khoa học Khoa Chăn nuôi Thú y, Quý Thầy Cô Khoa Chăn nuôi Thú y và Bộ môn Khoa học Sinh học Thú y đã hướng dẫn về mặt chuyên môn, hỗ trợ và giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện luận án.

Trân trọng cảm ơn PGS.TS. Lê Thanh Hiền đã tận tình hướng dẫn về mặt chuyên môn để tôi thực hiện và hoàn thành luận án.

Trân trọng cảm ơn PGS.TS. Võ Thị Trà An đã tận tình hướng dẫn về mặt chuyên môn để tôi thực hiện và hoàn thành một phần luận án.

Trân trọng cảm ơn Ban giám đốc Bệnh viện Thú y, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi để tôi thực hiện luận án.

Trân trọng cảm ơn Prof. Qigai He, Phòng Thí nghiệm trọng điểm Vi sinh Nông nghiệp, Đại học Nông nghiệp Huazhong, Trung Quốc đã tạo điều kiện để tôi được thực tập về chuyên môn liên quan đến luận án.

Chân thành cảm ơn các anh/chị quản lý, các bác sĩ thú y của các trang trại, chăn nuôi heo đã nhiệt tình hỗ trợ trong quá trình khảo sát, thu thập mẫu và dữ liệu để thực hiện luận án.

Chân thành cảm ơn các anh/chị/bạn bè đồng nghiệp đã động viên; các bạn sinh viên đã đồng hành quá trình thực hiện luận án.

Luôn ghi khắc và biết ơn tấm lòng của các thành viên trong gia đình, những người đã luôn chia sẻ, ủng hộ, tạo điều kiện để tôi thực hiện và hoàn thành luận án.

Trân trọng,

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Họ tên nghiên cứu sinh

Đặng Thị Xuân Thiệp

## TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu đánh giá mức độ miễn cảm kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo đã phân lập được và xác định khả năng can thiệp giảm sử dụng kháng sinh ở các trang trại thông qua các biện pháp an toàn sinh học. Tổng số 569 mẫu bệnh phẩm gồm 337 mẫu dịch mũi heo ở 15 trại chăn nuôi heo thuộc khu vực Đồng Nai, Bình Dương và Bà Rịa - Vũng Tàu và 232 mẫu phổi tại 2 lò mổ thuộc Bình Dương và TP.HCM được thu thập từ 2017-2023 để phân lập một số vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo. Phương pháp MIC được thực hiện để đánh giá mức độ miễn cảm kháng sinh của các gốc vi khuẩn phân lập được với 14 kháng sinh phổ biến. Bên cạnh đó, 35 trang trại chăn nuôi heo từ cai sữa đến xuất thịt (bao gồm cả 15 trại đã được lấy mẫu) được chọn để đánh giá mức an toàn sinh học bằng ứng dụng Biocheck.Ugent, đồng thời dữ liệu sử dụng kháng sinh và các chỉ số năng suất của mỗi trang trại được thu thập nhằm đánh giá tiềm năng cải thiện an toàn sinh học để giảm sử dụng kháng sinh và hạn chế tình trạng kháng kháng sinh. Kết quả thu thập được như sau:

- 103 gốc vi khuẩn đã được phân lập, trong đó *B. bronchiseptica* chiếm tỉ lệ cao nhất (36/103), tiếp đến là *H. parasuis* (29/103), *P. multocida* (24/103) và thấp nhất là *A. pleuropneumoniae* (14/103).

- Hầu hết các gốc vi khuẩn đã phân lập là những chủng vi khuẩn đa kháng (MDR), trong đó có nhiều gốc vi khuẩn đề kháng với 11/14 kháng sinh. Các kháng sinh tetracycline, penicillin, tilmicosin, tulathromycin, enrofloxacin, florfenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole là những kháng sinh có tần suất xuất hiện thường xuyên trong các kiểu hình đề kháng của vi khuẩn.

- Tulathromycin, ceftiofur, trimethoprim/ sulfamethoxazole là những kháng sinh ít bị đề kháng bởi hầu hết các gốc vi khuẩn hơn so với các kháng sinh khác và đây cũng là lựa chọn phù hợp trong liệu pháp kháng sinh để kiểm soát bệnh hô hấp trên các đàn heo khảo sát.

- Điểm trung bình an toàn sinh học bên ngoài là 79,37% và điểm trung bình an toàn sinh học bên trong của các trại khảo sát là 86,17% đều cao hơn điểm trung bình chung của khu vực và toàn cầu. Tổng điểm an toàn sinh học trung bình của các trại khảo sát là 83,09%.

- Amoxicillin, florfenicol và gentamicin là những kháng sinh dùng phổ biến nhất tại các trang trại khảo sát với tỉ lệ điều trị (TI) lần lượt là 202,0; 134,4 và 88,9.

- An toàn sinh học có ảnh hưởng tích cực đối với các chỉ tiêu liên quan đến tăng trọng ngày, trọng lượng cuối và FCR và sự ảnh hưởng này là có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ).

- An toàn sinh học và lượng kháng sinh sử dụng có mối liên quan với nhau với  $P < 0,05$  và giá trị hệ số góc của phương trình hồi quy là -13,54168, giá trị này có nghĩa là an toàn sinh học tăng 1 đơn vị điểm thì TI tổng sẽ giảm 13,5 đơn vị.

- Những yếu tố an toàn sinh học cụ thể: kiểm soát phân luồng làm việc giữa các khu trong trại và sử dụng thiết bị, vận chuyển động vật, loại bỏ xác chết và phân ảnh hưởng lớn đến tổng lượng kháng sinh sử dụng là có ý nghĩa thống kê.

- Có mối liên quan giữa đề kháng kháng sinh của các vi khuẩn đã phân lập đối với sử dụng kháng sinh, trong đó đề kháng kháng sinh của *H. parasuis* cho thấy có mối liên quan với tổng lượng kháng sinh sử dụng.

- Các yếu tố an toàn sinh học cần cải thiện trong các trang trại khảo sát bao gồm bố trí khu úm, điều chỉnh mật độ nuôi nhốt heo, lắp tấm chắn trước lỗ thông gió và xung quanh các dãy chuồng để ngăn chim cũng như động vật ngoại lai, côn trùng vào trại; không nuôi giữ các động vật khác cùng với heo; xây dựng hệ thống xử lý nước thải, biogas, trang bị hệ thống xử lý nước uống cho heo.

Tóm lại, nghiên cứu đã có những đóng góp đáng kể cho vấn đề lâm sàng trong công tác chẩn đoán và điều trị bệnh hô hấp trên heo chăn nuôi công nghiệp. Từ đó việc hạn chế sử dụng kháng sinh có thể đạt được cùng với những cải tiến nguyên tắc an toàn sinh học với mục tiêu cuối cùng là giảm đề kháng kháng sinh để bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

## SUMMARY

This study was conducted with the aim of assessing the antibiotic susceptibility of bacteria causing respiratory diseases isolated from pigs and determining the possibilities of intervention to reduce antibiotic use on farms through biosecurity measures. A total of 569 clinical samples including 337 nasal swabs from pigs of 15 pig farms in Dong Nai, Binh Duong and Ba Ria -Vung Tau and 232 lung samples collected at 2 slaughterhouses in Binh Duong and Ho Chi Minh City from 2017 to 2023 to isolate bacteria causing respiratory diseases. The MIC method was used to assess the antibiotic susceptibility of these bacteria to 14 commonly used antibiotics. In addition, 35 wean-to-finish pig farms (including the farms had been sampled) were selected to assess biosecurity level by using the Biocheck.Ugent application, to measure antibiotic use and production parameters of each farm to evaluate the potential of biosecurity improvement to reduce antibiotic use and limit antibiotic resistance. The results were as follows:

- 103 bacterial strains were isolated, of which *B. bronchiseptica* had the highest proportion (36/103), followed by *H. parasuis* (29/103), *P. multocida* (24/103) and the lowest was *A. pleuropneumoniae* (14/103).
- Most of the isolated bacterial strains were multidrug-resistant (MDR) strains, among which many bacteria strains were resistant to 11/14 antibiotics. The antibiotics tetracycline, penicillin, tilmicosin, tulathromycin, enrofloxacin, florfenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole were the antibiotics that appeared frequently in the resistance phenotypes of bacteria.
- Tulathromycin, ceftiofur, trimethoprim/ sulfamethoxazole are antibiotics that are less resistant to most bacterial strains than other antibiotics and are also suitable choices in antibiotic therapy to control respiratory diseases in the surveyed pig herds.
- The average external biosecurity score of 79.37% and the average internal biosecurity score of 86.17% of the surveyed farms were both higher than the regional and global averages. The total average biosecurity score of the surveyed farms of 79.37%.

- Amoxicillin, florfenicol and gentamicin were the most commonly used antibiotics in the surveyed farms with treatment incidence (TI) of 202.0, 134.4 and 88.9, respectively.
- Biosecurity level had a significantly positive impact on production parameters (daily gain, final weight).
- Biosecurity level was negatively correlated with antibiotic use ( $P < 0.05$ ) and the slope value of the regression equation would be extrapolated that for every 1 point increasing biosecurity level, the total TI would decrease approximately 13.5 units.
- Biosecurity components: controlling the flow of work between areas in the farm, using equipment, transporting animals, removing dead bodies and feces were greatly affected the total amount of antibiotics used.
- There was a correlation between antibiotic resistance of isolated bacteria and antibiotic use, in which antibiotic resistance of *H. parasuis* showed a clear strong correlation with the total amount of antibiotics used.
- Particular biosecurity factors that need to be improved in the surveyed farms include the arrangement of brooding areas, adjusting the density of pigs, installing screens in front of ventilation holes and around the rows of houses to prevent external animals such as birds and insects from entering the farm; no keeping other animals within the farms; building waste treatment system such as biogas, and having a drinking water treatment system for pigs.

In conclusion, the study has made significant contributions to clinical problems in diagnosis and treatment of respiratory diseases in industrial pig production. Then the use of antibiotics would be achieved a long with improvement of biosecurity principles to reach the ultimate target to reduce antibiotic resistance for public health protection.



## MỤC LỤC

|   |     |
|---|-----|
| LỜI CẢM ƠN .....  | i   |
| LỜI CAM ĐOAN .....  | ii  |
| TÓM TẮT .....   | iii |
| SUMMARY .....   | v   |
| MỤC LỤC.....  | vii |
| DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU/CHỮ VIẾT TẮT .....   | x   |
| DANH MỤC CÁC BẢNG .....   | xi  |
| DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, BIỂU ĐỒ, SƠ ĐỒ .....  | xiv |
| ĐẶT VẤN ĐỀ .....  | 1   |
| 1. Tính cấp thiết của luận án .....   | 1   |
| 2. Phạm vi nghiên cứu.....  | 3   |
| 2. Mục tiêu .....   | 4   |
| 3. Ý nghĩa khoa học, thực tiễn và tính mới của đề tài.....                                      | 4   |
| CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....  | 5   |
| 1.1 Đề kháng kháng sinh - góc nhìn bao quát.....  | 5   |
| 1.1.1 Điều kiện thực tiễn và nguyên nhân đề kháng kháng sinh.....                               | 5   |
| 1.1.2 Ảnh hưởng của đề kháng kháng sinh đối với cộng đồng.....                                  | 7   |
| 1.1.3 Đề kháng kháng sinh trong chăn nuôi heo .....   | 9   |
| 1.2 Bệnh hô hấp trên heo - bệnh phổ biến góp phần quan trọng trong đề kháng<br>kháng sinh ..... | 11  |
| 1.2.1 Tác nhân gây bệnh .....   | 11  |
| 1.2.2 Đặc điểm một số vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo .....                                   | 12  |
| 1.2.3 Phân lập, định danh vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo.....                                | 15  |
| 1.2.3.1 Lấy mẫu và bảo quản mẫu .....   | 15  |
| 1.2.3.2 Môi trường phân lập.....  | 16  |
| 1.2.4 Các phương pháp định danh vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo .....                         | 17  |
| 1.2.4.1 Môi trường tạo màu .....  | 17  |
| 1.2.4.2 Kỹ thuật sinh hóa .....   | 17  |
| 1.2.4.3 Kỹ thuật sinh học phân tử .....   | 18  |

|   |    |
|---|----|
| 1.3 Đề kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo .....   | 20 |
| 1.3.1 Cơ chế đề kháng của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo .....   | 20 |
| 1.3.2 Tình hình đề kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo .....   | 22 |
| 1.3.3 Các phương pháp đánh giá miễn cảm kháng sinh.....   | 25 |
| 1.3.3.1 Khuếch tán trên thạch .....   | 25 |
| 1.3.3.2 Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC).....  | 25 |
| 1.4 Tổng quan về sử dụng kháng sinh và đo lường sử dụng kháng sinh .....  | 27 |
| 1.4.1 Xu hướng sử dụng kháng sinh trong thú y của thế giới và Việt Nam.....   | 27 |
| 1.4.1.1 Xu hướng sử dụng kháng sinh trong thú y của thế giới.....   | 27 |
| 1.4.1.2 Xu hướng sử dụng kháng sinh trong thú y tại Việt Nam.....   | 30 |
| 1.4.2 Phương pháp tính toán lượng kháng sinh sử dụng trong thú y .....  | 31 |
| 1.4.2.1 Lượng kháng sinh sử dụng tính trên sinh khối động vật.....  | 31 |
| 1.4.2.2 Lượng kháng sinh sử dụng tính trên từng nhóm động vật tại trang trại .....  | 31 |
| 1.5 An toàn sinh học và tác động của an toàn sinh học đến sử dụng kháng sinh .....  | 33 |
| 1.5.1 An toàn sinh học và đánh giá an toàn sinh học trong chăn nuôi heo .....   | 33 |
| 1.5.1.1 An toàn sinh học trong chăn nuôi heo.....   | 33 |
| 1.5.1.2 Các phương pháp đánh giá an toàn sinh học.....  | 39 |
| 1.5.2 Tác động của an toàn sinh học đến sử dụng kháng sinh.....   | 39 |
| CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....  | 43 |
| 2.1 Thời gian và địa điểm .....   | 43 |
| 2.1.1 Thời gian .....   | 43 |
| 2.1.2 Địa điểm.....   | 43 |
| 2.2 Nội dung nghiên cứu.....  | 43 |
| 2.3 Phương pháp nghiên cứu.....   | 43 |
| 2.3.1 Nội dung 1: Đánh giá mức độ miễn cảm kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo đã phân lập được .....                    | 43 |
| 2.3.2 Nội dung 2: Xác định các khả năng can thiệp giảm sử dụng kháng sinh ở các trang trại thông qua các biện pháp an toàn sinh học ..... | 48 |
| 2.3.3 Nội dung 3: Đánh giá mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh và đề kháng kháng sinh.....  | 51 |
| 2.3.4 Nội dung 4: Đánh giá ảnh hưởng của an toàn sinh học đến sử dụng kháng sinh.....   | 52 |

|   |     |
|---|-----|
| 2.4 Xử lý số liệu .....   | 54  |
| CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....   | 55  |
| 3.1 Kết quả phân lập vi khuẩn liên quan bệnh hô hấp trên heo .....  | 55  |
| 3.2 Kết quả đánh giá miễn cảm kháng sinh các gốc vi khuẩn đã phân lập.....  | 62  |
| 3.2.1 Miễn cảm kháng sinh theo loài vi khuẩn phân lập.....  | 67  |
| 3.2.2 Miễn cảm của vi khuẩn theo nhóm kháng sinh.....   | 76  |
| 3.2.3 Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc vi khuẩn đã phân lập.....   | 83  |
| 3.3 Kết quả đánh giá an toàn sinh học, sử dụng kháng sinh và mối liên quan giữa an toàn sinh học, sử dụng kháng sinh và năng suất chăn nuôi ..... | 92  |
| 3.3.1 Kết quả đánh giá an toàn sinh học .....   | 92  |
| 3.3.1.1 Hiện trạng an toàn sinh học của các trại khảo sát .....   | 92  |
| 3.3.1.2 Ảnh hưởng của một số yếu tố đối với điểm an toàn sinh học.....  | 104 |
| 3.3.1.3 Mối liên quan giữa an toàn sinh học đến một số chỉ tiêu năng suất .....   | 106 |
| 3.3.2 Các kết quả đánh giá liên quan đến sử dụng kháng sinh ở 35 trại khảo sát.....   | 107 |
| 3.3.2.1 Hiện trạng sử dụng kháng sinh ở 35 trại khảo sát.....   | 107 |
| 3.3.2.2 Ảnh hưởng của một số yếu tố đối với sử dụng kháng sinh.....   | 112 |
| 3.3.2.3 Mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh đến một số chỉ tiêu năng suất .....   | 116 |
| 3.4 Mối liên quan giữa an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh; đề kháng kháng sinh và sử dụng kháng sinh.....                                     | 118 |
| 3.4.1 Mối liên quan giữa an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh .....   | 118 |
| 3.4.2 Mối liên quan giữa đề kháng kháng sinh và sử dụng kháng sinh .....  | 124 |
| KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....  | 129 |
| DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ .....  | 131 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO.....   | 132 |
| PHỤ LỤC.....  | 146 |

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU/CHỮ VIẾT TẮT

ASFV: African swine fever virus

BOD: Biochemical oxygen demand

CAMHB: Cation-adjusted Mueller Hinton Broth

CFU: Colony forming units

CLSI-VAST: Clinical and Laboratory Standard Institute on Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing

CLSI-VET: Clinical and Laboratory Standard Institute for Veterinary

CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute

CSF: Classical swine fever

CV: cyclic voltammetry

DDCA (DCDvet): defined course doses for animals

DDDA (DDDvet): defined daily dose for animal

DPV: differential pulse voltammetry

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

EIS: electrochemical impedance spectroscopy

EMA: European Medicines Agency

ESBL: Extended-spectrum beta-lactamases

ESVAC: European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FCR: Feed Conversion Ratio

FDA: Food and Drug Administration

FMDV: Foot-and-mouth disease virus

GDP: gross domestic product

ISO: International Organization for Standardization

LAMP: Loop-mediated isothermal amplification

MBC: minimum bactericidal concentration

MCDA: Multi-criteria decision analysis

MDR: multidrug-resistant

mg/PCU: miligram/population correction unit

MIC: minimum inhibitory concentration  
MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*  
NAD: nicotinamide adenine dinucleotide  
OIE : Office International des Epizooties  
PCR: Polymerase chain reaction  
PCV: Porcine circovirus  
PCV2: Porcine circovirus type 2  
PDR: pan drug-resistant  
PEDV: Porcine epidemic diarrhea virus  
PMCV: Porcine cytomegalovirus  
PMT: *Pasteurella multocida* toxin  
PRDC: porcine respiratory disease complex  
PRRSV: Porcine reproductive respiratory syndrome virus  
PRV: Pseudorabies virus  
QRDR: quinolone resistance-determining regions  
SIV: Swine influenza virus  
SVA: Senecavirus A  
TBE: Tris-Borate- Ethylenediaminetetraacetic acid  
TGE: Transmissible gastroenteritis  
TI: treatment incidence  
TSA: Tryptic soy agar  
UI: unit international  
WHO: World Health Organization  
XDR: extensively drug-resistant

## DANH MỤC CÁC BẢNG

|  |     |
|--|-----|
| Bảng 2.1 Primer sử dụng cho định danh các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo .....  | 47  |
| Bảng 2.2 Tiêu chí diễn giải MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) của các kháng sinh thử nghiệm đối với <i>A. pleuropneumoniae</i> , <i>H. parasuis</i> , <i>P. multocida</i> và <i>B. bronchiseptica</i> ..... | 50  |
| Bảng 3.1 Tỷ lệ phân lập vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo .....  | 55  |
| Bảng 3.2 Sự miễn cảm kháng sinh của các gốc <i>A. pleuropneumoniae</i> (n=14).....   | 63  |
| Bảng 3.3 Sự miễn cảm kháng sinh của các gốc <i>H. parasuis</i> (n=29).....   | 64  |
| Bảng 3.4 Sự miễn cảm kháng sinh của các gốc <i>P. multocida</i> .....  | 65  |
| Bảng 3.5 Sự miễn cảm kháng sinh của các gốc <i>B. bronchiseptica</i> .....   | 66  |
| Bảng 3.6 Sự miễn cảm kháng sinh chung của tất cả các gốc vi khuẩn đã phân lập.....   | 74  |
| Bảng 3.7 Sự miễn cảm kháng sinh của các đồng nhiễm .....   | 75  |
| Bảng 3.8 Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc <i>A. pleuropneumoniae</i> .....  | 85  |
| Bảng 3.9 Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc <i>H. parasuis</i> .....  | 86  |
| Bảng 3.10 Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc <i>P. multocida</i> .....  | 88  |
| Bảng 3.11 Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc <i>B. bronchiseptica</i> .....   | 90  |
| Bảng 3.12 Kết quả đánh giá an toàn sinh học của 35 trại chăn nuôi heo.....   | 93  |
| Bảng 3.13 Các yếu tố cơ bản của trại ảnh hưởng đến điểm an toàn sinh học.....  | 104 |
| Bảng 3.14 Mối liên quan giữa điểm an toàn sinh học đến một số chỉ tiêu năng suất (đã hiệu chỉnh theo số ngày nuôi) .....   | 106 |
| Bảng 3.15 Lượng hoạt chất kháng sinh sử dụng tại 35 trại (tính theo giá trị TI) .....  | 108 |
| Bảng 3.16 Ảnh hưởng của một số yếu tố đối với lượng kháng sinh sử dụng (tính theo TI).....   | 112 |
| Bảng 3.17 Mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh (TI tổng) đến một số chỉ tiêu năng suất .....  | 116 |
| Bảng 3.18 Mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh (TI hô hấp) đến một số chỉ tiêu năng suất .....  | 117 |
| Bảng 3.19 Mối liên quan giữa các yếu tố an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh (TI tổng và TI hô hấp).....   | 119 |

|  |     |
|--|-----|
| Bảng 3.20 Đề kháng kháng sinh của các vi khuẩn đã phân lập trong số 7/14 kháng sinh<br>.....   | 124 |
| Bảng 3.21 Mối liên quan giữa số kháng sinh bị đề kháng bởi các vi khuẩn gây hô hấp<br>trên heo đã phân lập được (trong tổng số 7 kháng sinh) với lượng kháng sinh sử dụng<br>(TI tổng và TI hô hấp)..... | 125 |

## DANH MỤC CÁC HÌNH, BIỂU ĐỒ, SƠ ĐỒ

|   |     |
|---|-----|
| Hình 1.1 Sự liên quan đề kháng kháng sinh trong chăn nuôi, y tế, môi trường .....   | 6   |
| Hình 1.2 Số ca tử vong do đề kháng kháng sinh so với các nguyên nhân vào năm 2050 .....   | 8   |
| Hình 1.3 Đề kháng kháng sinh trên heo, bò, gà và người.....   | 10  |
| Hình 1.4 Tiêu thụ kháng sinh thú y toàn cầu năm 2020 (thanh trắng) và mức tiêu thụ dự kiến năm 2030 (thanh màu) .....   | 28  |
| Hình 1.5 Tiêu thụ hoạt chất kháng sinh trong thú y năm 2020 so với 2030 .....   | 29  |
| Hình 1.6 Lượng hoạt chất kháng sinh trên sinh khối động vật và người (mg/kg) ở Việt Nam và châu Âu.....   | 30  |
| Hình 2.1 Thu thập mẫu dịch mũi (A) và mẫu phổi (B).....   | 44  |
| Hình 2.2 (A) Xử lý mẫu phổi trước khi phân lập; (B) khuẩn lạc vi khuẩn trên môi trường TSA lần 1; (C) khuẩn lạc <i>A. pleuropneumoniae</i> và (D) <i>P. multocida</i> trên TSA lần 2.....   | 46  |
| Hình 2.3 Các kháng sinh thử nghiệm (A) và kỹ thuật thực hiện MIC (B).....   | 49  |
| Hình 3.1 (A) Sản phẩm PCR gen <i>apxVIA</i> ( <i>A. pleuropneumoniae</i> ) (346 bp); (B) Sản phẩm PCR gen <i>16S rRNA</i> ( <i>H. parasuis</i> ) (821 bp); (C) Sản phẩm PCR gen <i>toxA</i> ( <i>P. multocida</i> ) (460 bp); (D) Sản phẩm PCR gen <i>fla</i> ( <i>B. bronchiseptica</i> ) (237 bp) ..... | 61  |
| Hình 3.2 Kết quả MIC của một gốc <i>P. multocida</i> với lincomycin (64µg/mL).....  | 83  |
| Hình 3.3 Trung bình điểm an toàn sinh học bên trong của các trại khảo sát so với Việt Nam và toàn cầu theo từng nhóm tiêu chí .....   | 94  |
| Hình 3.4 Trung bình điểm an toàn sinh học bên ngoài của các trại khảo sát so với Việt Nam và toàn cầu theo từng nhóm tiêu chí .....   | 95  |
| Hình 3.5 (A) Lối đi riêng của xe; (B) đường lùa heo từ đầu dãy chuồng ra bên ngoài hàng rào chu vi.....   | 97  |
| Hình 3.6 Hệ thống xử lý chất thải biogas .....  | 97  |
| Hình 3.7 (A) Hệ thống cung cấp thức ăn, (B) nước uống tự động cho heo .....   | 98  |
| Hình 3.8 Khu úm heo sau cai sữa .....   | 100 |



|  |     |
|--|-----|
| Biểu đồ 3.1 Trung bình điểm an toàn sinh học của các trại khảo sát so với Việt Nam và toàn cầu ..... | 95  |
| Biểu đồ 3.2 Lượng hoạt chất kháng sinh sử dụng tại 35 trại (tính theo giá trị TI) ....               | 109 |
| Sơ đồ 2.1 Quy trình phân lập một số vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo .....                          | 45  |

## ĐẶT VẤN ĐỀ

### 1. Tính cấp thiết của luận án

Bệnh hô hấp phức hợp ở heo (PRDC) là một trong những bệnh sản xuất quan trọng làm gia tăng tỉ lệ bệnh, tỉ lệ chết trên heo, gây tổn thất kinh tế cho trang trại (Sassu và ctv, 2018) và là nguyên nhân chính để sử dụng kháng sinh (Karriker và ctv, 2012). Nhiều tác nhân vi khuẩn và virus gây bệnh hô hấp trên heo đã được đề cập (Fablet và ctv, 2012). Trong đó, *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis* và *P. multocida* nằm trong số những tác nhân vi khuẩn phổ biến nhất gây ra bệnh đường hô hấp ở heo (Opriessnig, 2011). *A. pleuropneumoniae* gây viêm phổi, màng phổi ở heo (Gottschalk, 2012). *H. parasuis* (*Glaesserella parasuis*) là tác nhân gây bệnh Glässer, đặc trưng bởi viêm đa thanh mạc, viêm màng não và viêm đa khớp (Zhang và ctv, 2012). *P. multocida* cùng với *B. bronchiseptica* gây viêm teo xoang mũi (Horiguchi, 2012). Nhiều kháng sinh thuộc nhóm beta-lactams, macrolides, phenicols, sulfonamides và tetracyclines được đưa vào thức ăn, nước uống hoặc qua đường tiêm để điều trị và phòng ngừa các bệnh nhiễm trùng đường hô hấp do các tác nhân gây bệnh này gây ra (Karriker và ctv, 2012). Một số loại kháng sinh trong các nhóm này cũng đã được sử dụng ở liều thấp hơn liều điều trị để thúc đẩy tăng trưởng và phòng bệnh. Việc tiếp xúc kéo dài với kháng sinh của các tác nhân gây bệnh do vi khuẩn có thể chọn lọc kháng thuốc (Roca và ctv, 2015). *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis* *P. multocida*, *B. bronchiseptica* được ghi nhận đề kháng với nhiều kháng sinh, nhiều gốc vi khuẩn có kiểu hình đa đề kháng, có khuynh hướng gia tăng theo thời gian và đây là dấu hiệu của việc sử dụng kháng sinh không hợp lý (Aarestrup và ctv, 2004; Vanni và ctv, 2012; Kadlec và Schwarz, 2018; Michael và ctv, 2018). Việc đánh giá tình trạng đề kháng (hay miễn cảm) kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh sẽ giúp người chăn nuôi sử dụng kháng sinh hợp lý hơn, từ đó hướng tới việc giảm sử dụng kháng sinh và đề kháng kháng sinh. Tại Việt Nam, các nghiên cứu miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo còn hạn chế vì nhiều lý do như năng lực phòng thí nghiệm, chi phí cao, ... nên người chăn nuôi vẫn chưa có nhiều những thông tin hữu ích để phòng trị hiệu quả các bệnh này. Vì vậy, đẩy mạnh thực hiện các nghiên

cứ đánh giá miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo là rất cần thiết.

Bên cạnh việc đánh giá miễn cảm kháng sinh để lựa chọn các kháng sinh hiệu quả trong phòng trị bệnh, nâng cao ý thức sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi thì các nỗ lực phòng bệnh, các giải pháp giảm/thay thế kháng sinh nhằm hạn chế đề kháng kháng sinh đóng vai trò then chốt. Các giải pháp bao gồm sử dụng kháng sinh hợp lý, thực hành chăn nuôi tốt, áp dụng các biện pháp an toàn sinh học, các lựa chọn thay thế kháng sinh bằng các chế phẩm prebiotic, probiotic, chiết xuất từ thảo dược, các acid hữu cơ, tinh dầu... Mặc dù nhiều nghiên cứu can thiệp giảm sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi đã được thực hiện, tuy nhiên, các can thiệp đó chỉ mang tính cụ thể và chưa đi vào gốc rễ của vấn đề vì nếu bệnh xảy ra thì kháng sinh vẫn là lựa chọn ưu tiên, các giải pháp thay thế khác khó có thể “đủ sức” mang lại hiệu quả. Nhiều nghiên cứu hạn chế sử dụng kháng sinh hay thay thế kháng sinh lại cho kết quả không khả quan về năng suất hay tỉ lệ bệnh trong điều kiện áp lực dịch bệnh hiện nay tại Việt Nam. Do đó, vấn đề chính là làm sao giảm được khả năng mắc bệnh của động vật một cách tổng quát. Và điều đó chỉ có thể đạt được bằng việc thực thi an toàn sinh học. Có thể nói, với tình hình dịch bệnh như hiện nay, hầu hết các giải pháp cải thiện sức khỏe đàn và hạn chế sử dụng kháng sinh chỉ có thể phát huy hiệu quả trên nền tảng thực hiện tốt an toàn sinh học. Nhận thấy vấn đề đó, nghiên cứu này sẽ đi sâu vào khai thác khía cạnh an toàn sinh học liên quan đến giảm sử dụng kháng sinh.

Nhiều bằng chứng tại các quốc gia cho thấy cải thiện an toàn sinh học mang lại tính hiệu quả, khả thi giúp giảm đáng kể lượng kháng sinh sử dụng trên heo; đồng thời cải thiện đáng kể các chỉ tiêu năng suất như số lượng heo con cai sữa trên mỗi nái mỗi năm, tăng trọng hàng ngày cũng như giảm tỉ lệ chết ở heo thịt (Postma và ctv, 2017). Chi phí cho an toàn sinh học về lâu dài thấp hơn chi phí cho sử dụng kháng sinh, góp phần đem lại lợi nhuận (Postma và ctv, 2016). Tuy nhiên, các nghiên cứu liên quan đến can thiệp giảm sử dụng kháng sinh bằng an toàn sinh học trên heo tại Việt Nam còn rất hạn chế; việc thực thi an toàn sinh học chưa được nghiêm túc và trọng tâm mặc dù thông tin hay hướng dẫn về an toàn sinh học đã được giới thiệu.

Hay nói cách khác, vấn đề về thay đổi tư duy hay nhận thức về vai trò của an toàn sinh học trong chăn nuôi chưa thật sự cao. Do đó, thông tin khoa học cho thấy an toàn sinh học có thể cải thiện được năng suất và giảm sử dụng kháng sinh một cách trực quan sẽ là động lực thiết thực cho những can thiệp giảm sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi heo tại Việt Nam.

Từ các vấn đề trọng tâm và cấp thiết nêu trên, nghiên cứu **“Mẫu cảm kháng sinh của một số vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo và can thiệp giảm sử dụng kháng sinh ở trang trại”** được tiến hành.

## **2. Phạm vi nghiên cứu**

Chăn nuôi heo tại Việt Nam tập trung nhiều ở vùng Đông Nam Bộ với quy mô công nghiệp và chuyên môn hóa, trong đó heo nuôi thịt là giai đoạn có nhiều vấn đề về sử dụng thuốc kháng sinh, nhất là đối với bệnh hô hấp. Do đó, nghiên cứu tập trung vào bệnh hô hấp của ngành heo thịt công nghiệp. Các trại chăn nuôi này sẽ được lấy mẫu để đánh giá đề kháng kháng sinh cũng như thu thập dữ liệu về sử dụng kháng sinh. Các giá trị định lượng sử dụng kháng sinh ở cấp độ đàn sẽ được đưa vào nghiên cứu. Giá trị này chưa được sử dụng tại Việt Nam trong việc quản lý sử dụng kháng sinh của nhà nước.

Các giải pháp giảm sử dụng kháng sinh thường mang tính đơn lẻ, giải quyết phần “ngọn” của vấn đề. Hơn nữa, trong bối cảnh bệnh dịch tả heo châu Phi diễn biến phức tạp, nhiều yếu tố tại trại ảnh hưởng đến thực thi an toàn sinh học như các yếu tố chăm sóc, quản lý, qui mô, loại hình trại...Việc tác động trực tiếp một hoặc vài cải tiến trong an toàn sinh học và theo dõi trong thời gian dài là không khả thi. Do đó, nghiên cứu này cũng mong muốn thực hiện để có các nhận định về an toàn sinh học trong điều kiện chăn nuôi tại Việt Nam và làm rõ mối liên quan của an toàn sinh học đến sử dụng kháng sinh từ đó cung cấp cơ sở khoa học cho giải pháp giảm sử dụng kháng sinh. Do đó, phạm vi nghiên cứu của đề tài ở nội dung “can thiệp giảm sử dụng kháng sinh” sẽ tập trung vào đánh giá mối liên quan giữa an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh.

### **3. Mục tiêu**

- Phân lập được các vi khuẩn gây bệnh hô hấp phổ biến trong chăn nuôi heo công nghiệp.
- Đánh giá mức độ đề kháng kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo để góp phần lựa chọn kháng sinh phù hợp trong điều trị bệnh hô hấp trên heo tại các trại khảo sát, đồng thời góp phần cung cấp thông tin về xu hướng đề kháng kháng sinh của nhóm vi khuẩn này theo khu vực, quốc gia.
- Nhận định khả năng can thiệp giảm sử dụng kháng sinh ở các trang trại thông qua mối liên quan với an toàn sinh học.

### **4. Ý nghĩa khoa học, thực tiễn và tính mới của đề tài**

- Cung cấp kết quả có giá trị về mặt khoa học và cho thực tiễn chăn nuôi, là cơ sở để chẩn đoán và sử dụng kháng sinh hiệu quả hơn trong điều trị bệnh hô hấp trên heo, góp phần giảm lượng kháng sinh phải dùng trong phòng trị bệnh cho heo; kết quả luận án còn đóng góp quan trọng vào cơ sở dữ liệu chung về đề kháng kháng sinh của vi khuẩn phân lập từ động vật tại Việt Nam.
- Sử dụng giá trị tỉ lệ điều trị TI (treatment incidence) để đo lường mức sử dụng kháng sinh ở các trại chăn nuôi lần đầu tiên được công bố trong nghiên cứu tại Việt Nam. Giá trị này sẽ giúp cho công tác quản lý vĩ mô về kháng sinh của nhà nước hiệu quả hơn cũng như đồng bộ với các tổ chức quốc tế.
- Phương pháp lượng giá về việc thực thi an toàn sinh học trong trại chăn nuôi được sử dụng với mục tiêu giúp các trại biết điểm mạnh/ yếu của trại trong quản lý và đây là nghiên cứu đầu tiên tại được công bố Việt Nam đánh giá mối liên quan giữa an toàn sinh học, các chỉ tiêu năng suất và sử dụng kháng sinh.
- Các nhận định về ảnh hưởng của an toàn sinh học đối với sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi là tiền đề quan trọng để xác định các khả năng/giải pháp can thiệp để giảm sử dụng kháng sinh đồng thời giúp thay đổi nhận thức, vai trò của an toàn sinh học trong hạn chế dùng kháng sinh cũng như giúp kiểm soát dịch bệnh tốt hơn hướng tới trong chiến lược hạn chế sử dụng kháng sinh và đề kháng kháng sinh trong ngành chăn nuôi heo của quốc gia.

## **Chương 1. TỔNG QUAN**

Mục tiêu thứ nhất đề tài là đánh giá mức độ đề kháng kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo, tuy nhiên đề kháng kháng sinh không chỉ xảy ra ở vật nuôi, mà còn có mối liên hệ mật thiết với đề kháng kháng sinh ở người. Do đó, phần tổng quan dưới đây sẽ làm rõ mối liên hệ này để khẳng định giá trị cho mục tiêu thứ nhất của đề tài; đồng thời các phương pháp đánh giá miễn cảm kháng sinh cũng sẽ được đào sâu vì đây là nền tảng để thực hiện mục tiêu này trong nghiên cứu. Với mục tiêu thứ hai của luận án là xác định việc giảm sử dụng kháng sinh ở các trang trại thông qua chương trình đánh giá an toàn sinh học, vì vậy các phương pháp đánh giá an toàn sinh học cho trang trại, các giá trị đo lường sử dụng kháng sinh sẽ được thảo luận kỹ để làm cơ sở khoa học thực hiện mục tiêu này.

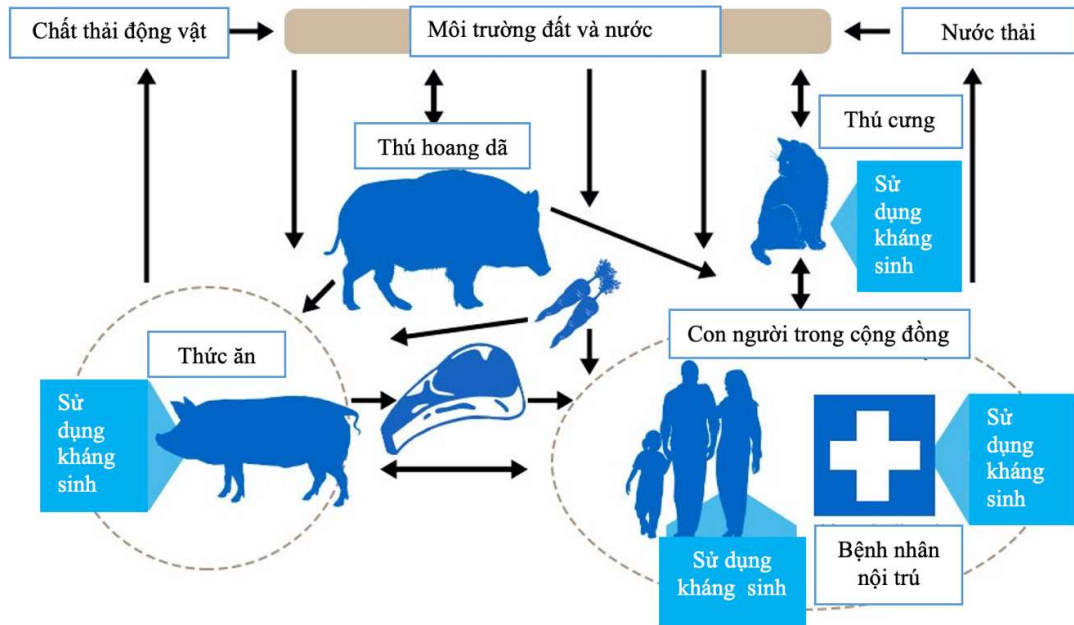
### **1.1 Đề kháng kháng sinh – góc nhìn bao quát**

#### **1.1.1 Điều kiện thực tiễn và nguyên nhân đề kháng kháng sinh**

Kháng sinh là thuốc chống lại nhiễm trùng do vi khuẩn ở người và động vật, bằng cách tiêu diệt vi khuẩn hoặc làm cho vi khuẩn khó phát triển và sinh sôi. Tuy nhiên theo thời gian, sự tiến hóa và thích nghi của mầm bệnh đã giúp cho chúng có khả năng đề kháng với kháng sinh. Hiện tượng này sẽ được thảo luận ở phần sau, nhưng điều kiện để dẫn tới chúng đó là hiện trạng liên quan việc sử dụng kháng sinh hay một số vấn đề riêng biệt có thể được kể đến bên dưới.

Sử dụng kháng sinh quá liều, không đúng chỉ định, dùng kháng sinh khi không cần thiết trong nông nghiệp là yếu tố chính tạo điều kiện cho sự xuất hiện các chủng vi khuẩn kháng thuốc. Ở nhiều khu vực, sự sẵn có của kháng sinh không kê đơn cho phép sử dụng không hạn chế loại thuốc này. Một khi tình trạng kháng thuốc đã xuất hiện, việc lan truyền các chủng vi khuẩn kháng thuốc trở nên mạnh mẽ hơn do áp lực chọn lọc sử dụng kháng sinh nhiều hơn. Việc không tuân thủ các biện pháp kiểm soát nhiễm trùng và vệ sinh kém cũng làm gia tăng mức độ sử dụng loại thuốc này. Điều kiện kiểm soát nhiễm trùng nghèo nàn tại các bệnh viện và phòng khám, thực hành vệ sinh sát trùng kém hay thiếu các xét nghiệm nhanh tại các phòng xét nghiệm, chậm

phát triển các kháng sinh thế hệ mới cũng góp phần quan trọng thúc đẩy đề kháng kháng sinh (WHO, 2015) (Hình 1.1).



**Hình 1.1** Sự liên quan đề kháng kháng sinh giữa chăn nuôi, y tế, môi trường (Gonzalez-Zorn và Moyano, 2017).

Đáng lưu ý, nhiều báo cáo đề cập mối lo ngại đề kháng kháng sinh liên quan đến lượng kháng sinh tiêu thụ; các nước tiêu thụ kháng sinh nhiều hơn có tỉ lệ đề kháng kháng sinh cao hơn (Goossen và ctv, 2007). Sự liên quan chặt chẽ giữa sử dụng kháng sinh và đề kháng kháng sinh đã được tìm thấy (Chantziaras và ctv, 2014). Việc sử dụng bừa bãi và lạm dụng kháng sinh, đặc biệt kháng sinh phổ rộng là những yếu tố chính liên quan đến sự gia tăng tình trạng kháng thuốc của vi khuẩn. Sử dụng kháng sinh phổ rộng có mối liên quan đáng kể đến việc phát triển các chủng vi khuẩn đa kháng (Wushouer và ctv, 2018). Trong đó, sử dụng cephalosporin phổ rộng và fluoroquinolones, carbapemen, polymyxin có mối tương quan thuận đối với sự phát triển của *S. aureus* kháng methicillin (MRSA), *Klebsiella* spp, *E. coli* kháng beta-lactamase phổ rộng (ESBL) và *A. baumannii* đa kháng đã được ghi nhận. Các chủng vi khuẩn đa kháng là một trong những mối đe dọa lớn nhất đối với sức khỏe cộng

đồng, nhất là các vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện trên người. Đề kháng kháng sinh làm tăng mức độ nghiêm trọng của sự nhiễm trùng, tăng tỉ lệ tử vong, tăng sử dụng thuốc, tăng thời gian điều trị và các nguồn lực chăm sóc sức khỏe (Sabtu và ctv, 2015).

Tồn dư kháng sinh trong thịt và trong chất thải cũng đóng góp vào đề kháng kháng sinh. Mối liên quan giữa dư lượng kháng sinh và tình trạng kháng thuốc đã phát hiện ở các chủng *E. coli* phân lập trên thịt gà (Lee và ctv, 2018). Tỉ lệ đề kháng kháng sinh thể hiện các xu hướng biến đổi khác nhau ở các nhóm vi khuẩn trước và sau khi xử lý nước thải, trong đó có vi khuẩn đường ruột. Đề kháng kháng sinh có mối tương quan thuận với sự xuất hiện của dư lượng tetracycline trong chất thải. Mối quan hệ giữa dư lượng kháng sinh, cấu trúc, thành phần cộng đồng vi khuẩn và khả năng đề kháng kháng sinh đã được chứng minh (Novo và ctv, 2013).

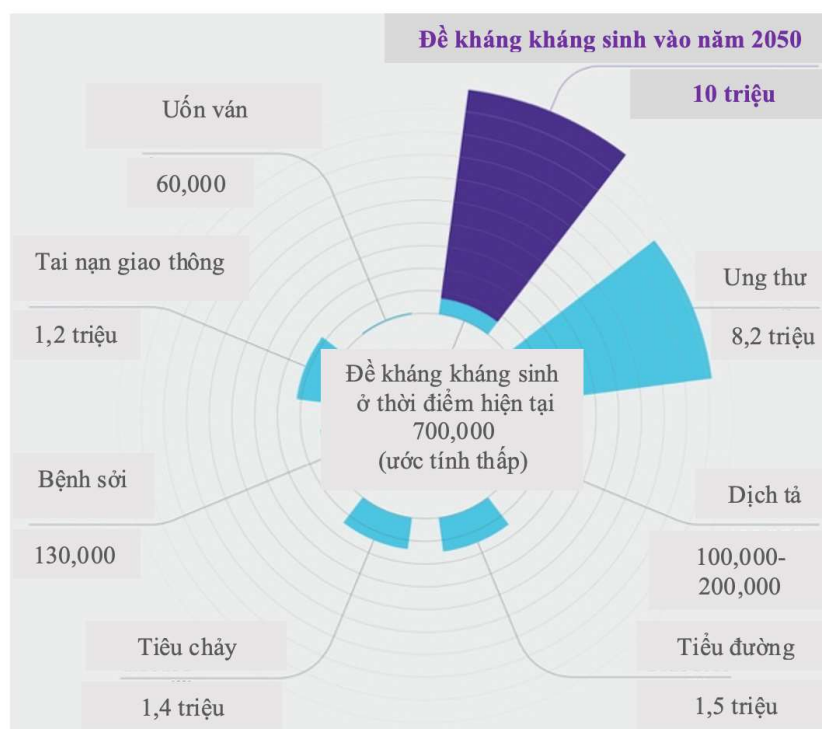
Nhìn chung việc lạm dụng kháng sinh ở người, động vật và thực vật là nguyên nhân chính dẫn đến sự phát triển của mầm bệnh kháng thuốc. Những phát hiện ngày càng củng cố mối quan tâm về sự liên hệ giữa phát triển các chủng đa kháng với sử dụng kháng sinh; sử dụng kháng sinh nghiêm ngặt hơn là rất cần thiết để giảm thiểu nguy cơ xuất hiện các vi sinh vật kháng thuốc; giảm sử dụng kháng sinh làm giảm đáng kể tỉ lệ xuất hiện các chủng vi khuẩn đa đề kháng (Tan và ctv, 2022). Do đó với hiện trạng này, quản lý sử dụng kháng sinh là trách nhiệm hàng đầu cần làm ngay hiện nay không chỉ trong y tế mà còn trong chăn nuôi.

### **1.1.2 Ảnh hưởng của đề kháng kháng sinh đối với cộng đồng**

Đề kháng kháng sinh là một trong những mối đe dọa sức khỏe cộng đồng hàng đầu trên toàn cầu. Đề kháng kháng sinh là nguyên nhân trực tiếp ước tính gây ra 1,27 triệu ca tử vong trên toàn cầu vào năm 2019 và 10 triệu ca tử vong trên người vào năm 2050 trên toàn cầu (Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022) (Hình 1.2). Đề kháng kháng sinh ảnh hưởng đến các quốc gia ở mọi khu vực và ở mọi mức thu nhập. Hậu quả của nó càng trở nên trầm trọng hơn do nghèo đói và bất bình đẳng, trong đó các nước có thu nhập thấp và trung bình bị ảnh hưởng nhiều nhất. Đề kháng kháng sinh khiến nhiều lợi ích của y học hiện đại gặp rủi ro, vì làm cho việc điều trị nhiễm trùng trở nên khó khăn hơn và các phương pháp điều trị y tế khác như phẫu thuật và hóa trị ung thư,...trở nên nguy hiểm hơn nhiều. Thế giới phải đối mặt với



nguồn cung kháng sinh và khủng hoảng tiếp cận. Hiện chưa có đủ nguồn lực nghiên cứu và phát triển trước mức độ kháng thuốc ngày càng tăng và nhu cầu cấp thiết về các biện pháp bổ sung nhằm đảm bảo khả năng tiếp cận công bằng với các loại vaccin, phương pháp chẩn đoán và thuốc mới hiện có. Ngoài gây tử vong và bệnh tật, đề kháng kháng sinh còn gây ra tổn thất kinh tế đáng kể. Ngân hàng Thế giới ước tính rằng đề kháng kháng sinh có thể gây ra chi phí chăm sóc sức khỏe bổ sung thêm 1 nghìn tỷ USD vào năm 2050 và thiệt hại từ 1-3,4 nghìn tỷ USD tổng sản phẩm quốc nội (GDP) vào năm 2030. Các ưu tiên để giải quyết đề kháng kháng sinh bao gồm ngăn ngừa tất cả các bệnh nhiễm trùng có thể dẫn đến việc sử dụng kháng sinh không phù hợp; đảm bảo khả năng tiếp cận các phương pháp chẩn đoán có chất lượng và điều trị thích hợp các bệnh nhiễm trùng và thông tin chiến lược cũng như đổi mới giám sát đề kháng kháng sinh, tiêu thụ kháng sinh, đồng thời nghiên cứu và phát triển các loại vaccin, phương pháp chẩn đoán và thuốc mới (WHO, 2023).



**Hình 1.2** Số ca tử vong do đề kháng kháng sinh so với các nguyên nhân vào năm 2050 (Belluz, 2014).

### 1.1.3 Đề kháng kháng sinh trong chăn nuôi heo

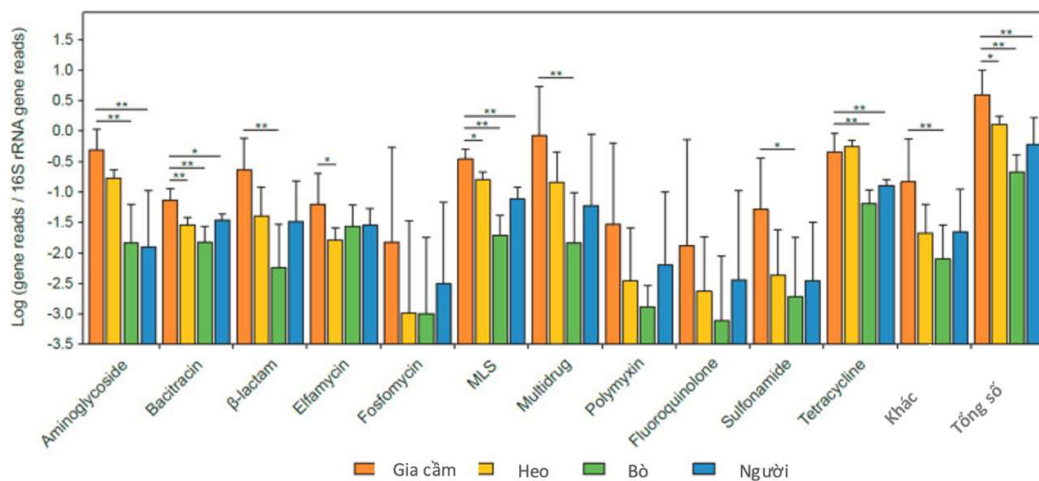
Dân số thế giới đang tăng nhanh và nhu cầu về protein động vật cũng như mật độ chăn nuôi gia súc sẽ tăng tương ứng. Sản xuất chăn nuôi là một trong những ngành phát triển nhanh nhất nhưng lại có tác động nhiều nhất đến môi trường và sức khỏe con người. Chất thải và các sản phẩm thịt tạo nên nguồn dự trữ quan trọng của các gen đề kháng kháng sinh và có thể lan truyền sang người thông qua tiêu thụ sản phẩm thịt, tiếp xúc trực tiếp, môi trường hoặc xử lý kém. Trong đó, heo là loài động vật sản xuất thực phẩm được nuôi và tiêu thụ rộng rãi nhất trên toàn cầu với xu hướng tăng. Chăn nuôi heo sẽ có mức tăng trưởng mạnh nhất, với mức tăng dự kiến là 8,6% vào năm 2030 và 12,7% vào năm 2050 (Magnusson, 2019).

Với mật độ chăn nuôi dày đặc và tối ưu hóa năng suất về mặt di truyền làm cho khả năng kháng bệnh của heo trở nên kém mặc dù các biện pháp an toàn sinh học phần nào đã được áp dụng. Các vi sinh vật gây bệnh vẫn có thể xâm nhập vào khu vực chăn nuôi hay thường xuyên lưu hành trong trại gây ra các vấn đề sức khỏe cho đàn heo và đòi hỏi phải dùng kháng sinh. Kháng sinh được dùng nhiều, tỉ lệ đề kháng tăng, điều trị không hiệu quả, tiếp tục dùng nhiều loại và nhiều kháng sinh hơn, tiếp tục gia tăng đề kháng kháng sinh. Điều này trở thành vòng lẩn quẩn trong chăn nuôi chưa thể giải quyết được. Trong đó, các bệnh về hệ hô hấp và tiêu hóa là những vấn đề đặc biệt quan tâm trong chăn nuôi heo. Năm 2012, kết quả khảo sát của Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ cho thấy các vấn đề về hô hấp là nguyên nhân chính gây tử vong ở các cơ sở chăn nuôi heo giống, heo vỗ béo với tỉ lệ chết của 2 nhóm heo này lên đến 47,3% và 75,1% (Bush, 2012).

Nhiều nghiên cứu cũng đã được thực hiện để xác định các vi khuẩn gây bệnh quan trọng đối với ngành chăn nuôi heo và đánh giá mức độ rủi ro của chúng về khả năng đề kháng kháng sinh. Trong đó, những tác nhân vi khuẩn gây nhiều vấn đề nhất đối với ngành chăn nuôi là *Salmonella*, *E. coli*, *A. pleuropneumoniae* và *P. multocida*. Ngoài ra, sự gia tăng các chủng *Streptococcus suis*, một tác nhân chính gây nhiễm trùng huyết ở heo đề kháng với penicillin, tetracycline và macrolide cũng được ghi nhận (Zimmerman, 2019).

Gần đây, nghiên cứu của Osorio và ctv (2023) tại Tây Ban Nha cho thấy vi khuẩn phân lập từ heo có mức độ kháng thuốc cao, đứng thứ hai sau gia cầm. Trong

đó, đề kháng với tetracycline là phổ biến nhất ở heo; đề kháng với aminoglycoside rất phổ biến ở gà và heo; đa đề kháng phổ biến ở hầu hết các loài (Hình 1.3). Phân tích của Lekagul và ctv (2019) cũng đã chỉ ra rằng tetracycline là một trong những loại kháng sinh được sử dụng cho heo rộng rãi nhất trên toàn thế giới và các gen đề kháng tetracycline là một trong những gen đề kháng phổ biến nhất được phát hiện trong hệ vi sinh vật đường ruột ở heo (Lekagul, 2019). Burow và ctv (2019) đã chứng minh rằng mức độ kháng thuốc tetracycline tự nhiên tăng cao, ngay cả ở những động vật được nuôi mà không có sử dụng loại kháng sinh này. Mức kháng cơ bản cao này có thể được giải thích bằng sự đồng chọn lọc thuận lợi cho tình trạng kháng tetracycline khi sử dụng một loại kháng sinh khác, chẳng hạn như trimethoprim; sự tiếp xúc với động vật được điều trị bằng kháng sinh có thể truyền gen kháng thuốc của vi khuẩn sang động vật chưa được điều trị (Burow, 2019). Trước đó, Stanton và ctv (2011) đã quan sát sự hiện diện của vi khuẩn kháng tetracycline, ngay cả ở các trang trại nuôi heo hữu cơ trong ít nhất 4 năm, điều này cho thấy sự hiện diện của vi khuẩn kháng thuốc tự nhiên trong các trang trại nuôi heo, mặc dù không tính đến việc sử dụng kháng sinh tại các trang trại này trước thời kỳ chăn nuôi hữu cơ.



**Hình 1.3** Đề kháng kháng sinh trên heo, bò, gia cầm và người (Osorio và ctv, 2023).

Các kết quả trên minh chứng tầm quan trọng của việc cần có cái nhìn rộng hơn về tình trạng kháng kháng sinh, sự lan truyền đề kháng kháng sinh trong chăn nuôi heo. Chiến lược giảm đề kháng kháng sinh cần phải thực hiện trên quy mô rộng và đồng bộ, cần sự quản lý của cơ quan chức năng mới phát huy hiệu quả.

## **1.2 Bệnh hô hấp trên heo – bệnh phổ biến góp phần quan trọng trong đề kháng kháng sinh**

### **1.2.1 Tác nhân gây bệnh**

Bệnh hô hấp là một trong những nguyên nhân chính gây tổn thất sản xuất cho ngành chăn nuôi heo toàn cầu, trong đó phải kể đến là bệnh phức hợp hô hấp ở heo (porcine respiratory disease complex - PRDC) (Opriessnig, 2011). PRDC là một hội chứng đa yếu tố gây ra chủ yếu do sự tương tác giữa mầm bệnh vi khuẩn, virus, các yếu tố stress về môi trường và quản lý cũng như các yếu tố đặc thù của heo. Các vấn đề về hô hấp được ghi nhận là nguyên nhân chính gây tử vong ở heo, đặc biệt là heo thịt. Bên cạnh đó, PRDC được cho là gây ra tổn thất sản xuất thông qua giảm hiệu quả chuyển đổi thức ăn và tốc độ tăng trưởng. Do đó, bệnh hô hấp vẫn là một trong những lý do chính khiến việc sử dụng thuốc kháng sinh ở cả heo con, heo cai sữa và heo thịt (Boeters, 2023).

Trong PRDC, một số tác nhân virus và vi khuẩn có thể gây bệnh theo nhiều cách kết hợp khác nhau, dẫn đến nhiễm trùng đa tác nhân. Do đó, các tác nhân liên quan có thể đóng vai trò vừa là mầm bệnh nguyên phát vừa là mầm bệnh thứ phát. Sự khởi phát của bệnh hô hấp ở các trang trại heo được cho là thường liên quan đến sự tấn công ban đầu của virus từ đó thúc đẩy nhiễm trùng thứ phát (Opriessnig, 2011). Nhiều mầm bệnh virus chính như virus gây hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản ở heo (PRRSV), PCV2, virus cúm heo (SIV), virus giả dại (PRV), và các coronavirus gây bệnh hô hấp trên heo (PRCV) là những mầm bệnh đặc hữu ở các trang trại heo. Tuy nhiên, các mầm bệnh virus liên quan đến bệnh hô hấp ở heo khác nhau đáng kể giữa các trang trại, địa điểm chăn nuôi, khu vực và quốc gia, khiến việc khái quát hóa trở nên khó khăn. Mặc dù các tác nhân này có thể gây bệnh nghiêm trọng, nhưng đa phần gây nhiễm trùng không biến chứng hoặc mức độ nhẹ và thoáng qua (Yaeger, 2019). Nhiều mầm bệnh vi khuẩn tiềm ẩn xâm lấn xoang mũi hoặc hạch amidan của heo nhưng không gây bệnh do cơ chế bảo vệ tự nhiên đường hô hấp. Do đó, tùy theo sự tổn thương biểu mô đường hô hấp trên (thường do yếu tố môi trường và quản lý), sự xâm nhập thứ cấp của vi khuẩn, và các mầm bệnh virus chính làm tổn thương nhu mô phổi ở mức độ khác nhau, ảnh hưởng đến sự tiến triển và kết quả của PRDC (Qin, 2018). *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*,

*Mycoplasma spp* và *S. suis* có thể đóng vai trò là tác nhân gây bệnh nguyên phát quan trọng hoặc thứ phát tùy theo tình huống. Khi nhiễm trùng nguyên phát trở nên phức tạp cùng với vi khuẩn thứ phát thì các bệnh hô hấp mãn tính và nghiêm trọng hơn sẽ xảy ra, gây thiệt hại kinh tế nhiều nhất (Sarli và ctv, 2021).

Mặc dù có nhiều loài vi khuẩn liên quan đến bệnh hô hấp trên heo đã đề cập, tuy nhiên, do phụ thuộc vào điều kiện tiến hành thí nghiệm nên nghiên cứu này chỉ tập trung phân lập và đánh giá miễn cảm kháng sinh của 4 loài vi khuẩn là *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis*, *P. multocida* và *B. bronchiseptica*. Các nội dung tiếp theo cũng sẽ tập trung vào 4 loài vi khuẩn mục tiêu này.

### 1.2.2 Đặc điểm một số vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo

*A. pleuropneumoniae* thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm, yếm khí tùy nghi, không di động, hình que hoặc đa hình. Dựa vào huyết thanh học, *A. pleuropneumoniae* có thể được chia thành 15 serotype. Vi khuẩn có khả năng sinh ngoại độc tố, mỗi serotype có thể tiết ra độc tố thuộc 4 loại bao gồm ApxI, ApxII, ApxIII và ApxIV. Độc tố ApxI gây dung huyết và gây độc tế bào. ApxII gây dung huyết yếu và gây độc tế bào trung bình. ApxIII không gây dung huyết và gây độc tế bào mạnh. Các ApxI, II, III thường phân bố rải rác trong các serotype. Đặc biệt, độc tố tế bào được tổng hợp bởi gen *apxIV* được tạo ra bởi tất cả serotype của *A. pleuropneumoniae* (Cho và ctv, 2002).

*A. pleuropneumoniae* là một trong những tác nhân gây bệnh đường hô hấp do vi khuẩn quan trọng nhất ở heo và được tìm thấy trên toàn thế giới. Các chủng độc lực nhất có thể gây ra bệnh viêm phổi màng phổi hoại tử và xuất huyết do fibrin nhanh chóng gây tử vong cho heo ở mọi lứa tuổi (Gottschalk, 2019). Tùy theo serotype và độc tố, heo mắc bệnh có thể ở các thể khác nhau. Thể quá cấp thường xảy ra trên heo con cai sữa với các biểu hiện sốt cao trên 40°C, mệt mỏi và chán ăn, có thể tiêu chảy nhẹ và nôn ói. Da mũi, mắt, chân, sau đó toàn thân trở nên tím tái. Giai đoạn nặng, heo khó thở phải thở bằng miệng, ngòì và giảm nhiệt độ trực tràng. Bệnh tiến triển qua nhiều giai đoạn khác nhau, thể cấp tính diễn biến tương tự thể quá cấp, các dấu hiệu thể hiện rõ trong vòng 24 giờ sau nhiễm, mức độ tùy thuộc vào sự tổn thương phổi và thời điểm điều trị. Ở thể mãn tính, heo thường không sốt, ho liên tục hoặc cách quãng với cường độ khác nhau, giảm ăn, giảm tăng trọng. Các dấu hiệu lâm

sàng có thể nghiêm trọng khi kết hợp với các mầm bệnh khác như *Mycoplasma* spp hoặc virus gây bệnh PRRS (van Dixhoorn và ctv, 2016). Ở thể quá cấp, heo chết với triệu chứng chảy máu mũi, khí quản và phế quản chứa đầy chất nhày, xuất huyết; phổi viêm xuất huyết bề mặt và hoại tử. Trong thể cấp tính, phổi xuất huyết, hoại tử, sợi fibrin bao phủ, có thể thấy sự bao phủ fibrin ở cả màng ngoài tim, xoang ngực chứa dịch lẫn máu. Ở thể mãn tính, sợi fibrin trong giai đoạn viêm trước đó bị xơ hóa có thể gây kết dính nội tạng.

*H. parasuis* (*Glaserella parasuis*) là vi khuẩn Gram âm, yếm khí tùy nghi, không di động, hình cầu trực hoặc sợi dài. *H. parasuis* được chia thành 15 serovar, trong đó serovar 1, 5, 10, 12, 13 và 14 có độc tính mạnh nhất, gây tỉ lệ chết cao trên heo; serovar 2, 4, 8 và 15 gây bại liệt trên heo. Đáng lưu ý, serovar 5, dòng tham chiếu Nagasaki, phân bố rộng rãi ở nhiều quốc gia, bao gồm Việt Nam. Năm 2009, *H. parasuis* SH0165, một dòng mới thuộc serovar 5 được phát hiện tại Trung Quốc với hệ gen được công nhận trên GenBank (CP001321) (Yue và ctv, 2009). *H. parasuis* là vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp dưới, thường gây bệnh ở heo con từ 4-12 tuần tuổi (Brockmeier và ctv, 2004). *H. parasuis* đã được phát hiện trong dịch mũi của heo con với tỷ lệ nhiễm khuẩn cao nhất xảy ra ở độ tuổi 60 ngày (Angen và ctv, 2007; Cerdà-Cuéllar và ctv, 2010) (trích dẫn Agaron và ctv, 2019). Thể quá cấp xảy ra dưới 48 giờ, heo chết đột ngột mà không có biểu hiện. Ở thể cấp tính, heo sốt cao hơn 40°C kèm thở bụng, ho, sưng khớp và các biểu hiện thần kinh như bơi chèo, run rẩy. Những heo sống sót sẽ chuyển sang thể mãn tính với đặc trưng là lông xù xì, chậm tăng trưởng. Tỷ lệ bệnh và chết do *H. parasuis* dao động từ 5-10% đối với heo thịt và có thể lên đến hơn 70% với heo con. Tỷ lệ bệnh hô hấp do *H. parasuis* có thể gia tăng ở những đàn đã bị nhiễm PRRSV do sự nhiễm virus làm thay đổi hệ thống miễn dịch (Oliveira và Pijoan, 2004; Kavanová và ctv, 2017). Bệnh thường không có tổn thương đặc trưng, chủ yếu là sự tạo thành huyết khối ở một số cơ quan như cầu thận, gan, mao mạch phổi và viêm màng phổi. Ở thể cấp tính, có sự tăng dịch huyết thanh trong xoang ngực và bụng, không có fibrin. Tuy nhiên, viêm màng phổi, màng ngoài tim, màng bụng, màng hoạt dịch và màng não lại chứa nhiều dịch có sợi fibrin. Ở thể mãn tính, bệnh có thể gây xơ hóa nghiêm trọng màng ngoài tim, màng phổi và/hoặc phúc mạc, viêm khớp mãn tính (Oliveira, 2007; Nedbalcova và ctv, 2006).

*P. multocida* là cầu trục khuẩn Gram âm, yếm khí tùy nghi, không di động, cầu hoặc trục khuẩn. *P. multocida* được phân loại thành 5 serogroup (A, B, D, E và F) dựa trên capsule và 16 serotype (1–16) dựa trên lipopolysaccharide (Heddleston và ctv, 1972). Serogroup A, D và các serotype 3, 5, 12 thường thấy trên các chủng phân lập từ heo. Serogroup A xuất hiện trong các ca viêm phổi, trong khi viêm teo xoang mũi ở heo chủ yếu do serogroup D. *P. multocida* là vi khuẩn gây bệnh ở cả đường hô hấp trên và dưới. *P. multocida* là một trong những thành phần phổ biến và tốn kém nhất của bệnh đường hô hấp phức hợp ở heo. Viêm phổi do *P. multocida* là nguyên nhân tử vong hàng đầu ở heo con, heo cai sữa và heo cai sữa đến heo thịt (USDA 2015) (trích dẫn Register và Brockmeier, 2019). Trong bệnh viêm teo xoang mũi tiến triển, độc tố *P. multocida* (PMT) là yếu tố độc lực cần thiết trong cơ chế sinh bệnh của *P. multocida*. PMT được mã hoá bởi gen *toxA*, PMT liên kết với vimentin, một sợi trung gian nội bào chịu trách nhiệm đảm bảo độ bền cơ học cho tế bào, gây các tổn thương ở sụn mũi, can thiệp vào việc tái tạo và hình thành sụn mũi (Amelia, 2013). Viêm teo xoang mũi ở heo chủ yếu gây ra bởi *P. multocida* serogroup D hoặc kết hợp với *B. bronchiseptica*. Sụn mũi bị phá hủy, tiếp tục ảnh hưởng đến niêm mạc mũi, kích ứng niêm mạc mũi gây tắc nghẽn (Zimmerman và ctv, 2012).

*Bordetella* spp là cầu trục khuẩn Gram âm, hiếu khí, không di động; có 8 loài, trong đó 3 loài gây bệnh cho động vật là *B. bronchiseptica*, *B. avium* và *B. parapertussis*. *B. bronchiseptica* lần đầu tiên được phân lập trên chó bị bệnh hô hấp vào năm 1910 và sau đó trên động vật khác. *B. bronchiseptica* là vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp trên, là nguyên nhân gây viêm mũi teo heo. Heo ở mọi lứa tuổi đều có thể nhiễm trùng. Khi *B. bronchiseptica* đã xâm nhập vào đường hô hấp, sự biểu hiện của độc tố góp phần vào sự tiến triển của bệnh. Độc tố hoại tử da (DNT) có tầm quan trọng cốt lõi, đây là một độc tố protein làm suy yếu quá trình hình thành xương, rất cần thiết cho sự phát triển của chứng teo cuốn mũi và viêm phổi ở heo (Brockmeier và ctv, 2002; Horiguchi và ctv, 1995; Magyar và ctv, 2000). DNT chủ yếu gây ra các tổn thương phổi đôi khi gây tử vong ở heo con theo mẹ, đặc trưng bởi hoại tử, xuất huyết, tích tụ bạch cầu trung tính và cuối cùng là xơ hóa (Brockmeier và ctv, 2002). Đồng nhiễm *B. bronchiseptica* và các tác nhân gây bệnh khác ở đường hô hấp cũng ảnh hưởng đến mức độ nghiêm trọng của bệnh. *B. bronchiseptica* làm tăng khả năng

xâm chiếm đường hô hấp trên với *P. multocida* dẫn đến viêm teo xoang mũi truyền nhiễm (de Jong và Nielsen, 1990; Harris và Switzer, 1968; Pedersen và Barfod, 1981; Rutter, 1983). *B. bronchiseptica* cũng đã được chứng minh là làm tăng khả năng mắc bệnh với *S. suis* (Vecht và ctv, 1989, 1992) và làm tăng khả năng xâm chiếm khoang mũi với *H. parasuis* (Brockmeier, 2004). PRRSV làm tăng nguy cơ viêm phế quản phổi với *B. bronchiseptica* (Brockmeier và ctv, 2000). Nhiễm trùng đồng thời *B. bronchiseptica* với SIV hoặc PRCV dẫn đến tình trạng viêm phổi nghiêm trọng hơn với thời gian khởi phát sớm hơn và thời gian phục hồi lâu hơn khi so sánh với từng loại virus riêng lẻ (Brockmeier và ctv, 2008; Kowalczyk và 2014; Loving và ctv, 2010) (trích dẫn Brockmeier và ctv, 2019).

Bệnh hô hấp là một vấn đề sức khỏe nghiêm trọng hiện diện trong các trang trại heo ở nhiều quốc gia. Các vi khuẩn được trình bày bên trên có vai trò quan trọng tùy vào vùng dịch tễ. Tại Việt Nam, các nghiên cứu phân lập và đánh giá đề kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo còn hạn chế. Nghiên cứu này sẽ tiến hành phân lập và đánh giá mức độ miễn cảm kháng sinh của một số vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo đã đề cập. Phương pháp phân lập, định danh vi khuẩn hô hấp cũng như các phương pháp đánh giá mức độ miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn sẽ được trình bày trong phần tiếp theo của luận án.

### **1.2.3 Phân lập, định danh vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo**

#### **1.2.3.1 Lấy mẫu và bảo quản mẫu**

Việc lựa chọn, thu thập, bảo quản và gửi mẫu bệnh phẩm đến phòng thí nghiệm ảnh hưởng rất lớn đến độ chính xác và giá trị của các kết quả xét nghiệm. Lý tưởng nhất là nên lấy mẫu từ động vật sống trước khi sử dụng liệu pháp kháng sinh hoặc nếu mẫu được thu thập từ động vật chết thì thực hiện trước khi xảy ra sự tự phân hủy (Quinn và ctv, 2011).

Quy trình lấy mẫu và bảo quản mẫu bệnh phẩm được thực hiện theo “QCVN 01- 83:2011/BNNPTNT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia Bệnh động vật -Yêu cầu chung lấy mẫu bệnh phẩm, bảo quản và vận chuyển”. Theo quy chuẩn này, các mẫu bệnh phẩm liên quan đến phân lập vi khuẩn hô hấp bao gồm mẫu swab (phết dịch mũi) được lấy bằng cách dùng tăm bông vô trùng ngoáy dịch hầu họng, mẫu hạch hạnh nhân, mẫu phủ tạng (phổi,...). Đối với mẫu phủ tạng, mỗi mẫu cần lấy 10-200 gram,



đựng trong lọ hoặc túi nilon riêng vô trùng. Mẫu bệnh phẩm dùng cho nuôi cấy vi khuẩn phải lấy ngay sau khi mổ khám và phải tiệt trùng bề mặt của cơ quan định lấy bằng nhiệt độ cao (có thể dùng lưỡi dao đốt nóng áp vào), sau đó dùng que cấy chọc sâu xuống vị trí tiệt trùng để lấy bệnh phẩm bên trong cơ quan đó. Các dụng cụ lấy mẫu như dao, kéo, panh kẹp phải được sát trùng bằng cồn ethanol 70% trước và sau khi lấy mẫu. Các mẫu được ghi thông tin rõ ràng, bảo quản sau khi lấy trong thùng/hộp đựng mẫu có nhiệt độ từ 2-8°C và vận chuyển tới phòng thí nghiệm không được quá 24 giờ kể từ khi lấy mẫu (Bộ NN&PTNT, 2011).

Môi trường chuyên chở được sử dụng để bảo quản mẫu, ổn định tính thẩm thấu của tế bào vi khuẩn trong quá trình vận chuyển, trong đó một số môi trường chuyên chở phổ biến được sử dụng như Difco™ Transport Medium Amies, BBL™ Transport Medium, BBL™ Cary-Blair Transport Medium,...

### 1.2.3.2 Môi trường phân lập

Các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo có thể phân lập trên các nhóm môi trường khác nhau. Thứ nhất là nhóm môi trường nuôi cấy tăng sinh không chọn lọc như thạch máu, chocolate, TSA. Trên môi trường thạch máu, *Pasteurella* spp có thể phát triển trên thạch máu có bổ sung 5% máu cừu được ủ hiếu khí ở 37°C trong 24 - 48 giờ, khuẩn lạc *P. multocida* tròn, hơi xám, bóng và không tan huyết; một số chủng gây bệnh khuẩn lạc có dạng nhầy do sản xuất axit hyaluronic của capsule, có mùi ngọt nhẹ đặc trưng. *Actinobacillus* spp hay *Haemophilus* spp,... phát triển trên thạch máu có đường cấy vi khuẩn *S. aureus*. *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis* cần yếu tố V sẽ phát triển gần quần thể *S. aureus*, trong trường hợp này *S. aureus* đóng vai trò là vi khuẩn vệ tinh. Trên thạch máu cừu, các khuẩn lạc *B. bronchiseptica* có thể nhìn thấy sau khi ủ trong 24 giờ, nhỏ, lồi và nhẵn, màu xám, nhiều chủng có tính dung huyết (Hình 1.1). Thạch chocolate, thạch máu được xử lý nhiệt để tạo yếu tố V và X trong môi trường, có thể được sử dụng để thay thế thạch máu trong trường hợp này. Thạch TSA bổ sung 5% huyết thanh thai bò (yếu tố X) và 1% NAD (yếu tố V) được dùng để phân lập đồng thời *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis* (Shuka và ctv, 2022).

Thứ hai là nhóm môi trường chọn lọc bổ sung chất ức chế hoặc môi trường chuyên biệt. Thạch máu có bổ sung neomycin, bacitracin và actidione có thể được sử

dụng để phân lập *P. multocida* từ các mẫu bệnh phẩm vẩy nhiễm nặng. Trên môi trường này, khuẩn lạc *Pasteurella* spp có đường kính từ 1-2 mm, đục, hơi xám, có thể có một chút màu xanh bên dưới các khuẩn lạc. Môi trường chọn lọc có chứa chất chỉ thị xanh bromothymol hay thạch than/cephalexin được sử dụng để phân lập và định danh Bordetellae. Trên thạch MacConkey, *B. bronchiseptica* tạo ra các khuẩn lạc nhạt màu, không lên men lactose, hầu hết các *Pasteurella* spp không mọc trên môi trường này (Bradley và Amelia, 2013; Bradley, 2013; Amelia, 2013).

Ngoài ra, một số môi trường khác cũng được dùng trong phân lập nhóm vi khuẩn này. *H. parasuis* có thể được phân lập trên môi trường Luria-Bertani (Difco, USA) (peptone, chiết xuất nấm men và NaCl) bổ sung 0,01% NAD (Jung và ctv, 2019), thạch Casman (Becton Dickinson) bổ sung 0,01% NAD và 5% huyết thanh ngựa (Brockmeier, 2004). Thạch Mueller Hinton; canh Casein-sucrose yeast, thạch Dextrose-starch là những môi trường đã dùng trong phân lập *Pasteurella* spp (Unchitti và ctv, 1992; Shuka và ctv, 2022). Trong nghiên cứu này, môi trường TSA bổ sung 5% huyết thanh thai bò và 1% NAD được sử dụng để phân lập các vi khuẩn mục tiêu.

## **1.2.4 Các phương pháp định danh vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo**

### **1.2.4.1 Môi trường tạo màu**

Hiện nay, có rất nhiều các hãng sản xuất môi trường tạo màu để định danh vi sinh vật như Bio-Rad (Mỹ), CHROMagar™ (Pháp), Merck (Đức), Rosco (Đan Mạch),... Tuy nhiên, môi trường tạo màu để phát hiện vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo khá hạn chế, có lẽ do nhóm vi khuẩn này khó nuôi cấy và cần có các yếu tố chuyên biệt. Năm 2021, CHROMagar™ *Pasteurella* (Pháp) (thành phần gồm có agar, peptone, muối, hỗn hợp chất tạo màu và chất ức chế chọn lọc) là môi trường tạo màu đầu tiên được dùng phát hiện *Pasteurellaceae* từ mẫu thu thập ở đường hô hấp (ngoáy mũi, dịch khí quản và phổi). Môi trường này cho phép phát hiện và phân lập các khuẩn lạc *Pasteurellaceae* bằng cách ức chế sự phát triển hoặc phân biệt với các vi khuẩn khác.

### **1.2.4.2 Kỹ thuật sinh hóa**

Phương pháp định danh bằng các phản ứng sinh hóa truyền thống của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo được hướng dẫn rất cụ thể trong các tài liệu vi sinh

thú y như Veterinary Microbiology and Microbial Diseases (Quinn và ctv, 2011) Manual of Clinical Microbiology (Jorgensen và ctv, 2015),...

Hiện nay, các test sinh hóa được sử dụng rất phổ biến do sự tiện lợi, nhanh chóng, độ tin cậy cao, tuy nhiên chi phí cao. Hệ thống Microbact™ dành cho vi khuẩn Gram âm (ThermoFisher Scientific) được thiết kế để mô phỏng các chất nền sinh hóa thông thường để định danh *Enterobacteriaceae* và các trực khuẩn Gram âm phổ biến. Nguyên tắc định danh dựa trên sự thay đổi độ pH do vi khuẩn sử dụng chất nền được thiết lập. *P. multocida*, *Actinobacillus* spp. và *Enterobacteriaceae* có thể được định danh bằng bộ kit này dựa trên dãy chất nền 24E với phản ứng oxidase dương tính, nitrate âm tính và không lên men glucose. Thẻ Wickerham là một điển hình cho phương pháp định danh tự động dựa trên độ đục. Hệ thống API và ID 32 (bioMérieux, Pháp) sử dụng các tấm giếng chứa chất nền dựa trên độ pH để định danh vi sinh vật. *P. multocida* và *B. bronchiseptica* được định danh bằng hệ thống API 20E và API 20NE, *Haemophilus* spp và *A. pleuropneumoniae* được định danh bằng API 20 NH. Trên lâm sàng, API 20NE đã được sử dụng rất rộng rãi trong định danh các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo (Desem và ctv, 2023; Prihandani và ctv, 2022). Nhiều hệ thống định danh/đánh giá miễn cảm kháng sinh tự động khác như Vitek®2 (bioMérieux), Micro-Scan Walk Away® (Beckman-Coulter), BD Phoenix™ (Becton, Dickinson), Sensititre™ (Thermo Fisher Scientific) .... Trong đó, Vitek®2, Micro-Scan Walk Away® là những hệ thống đã được dùng trong định danh các khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo. Trong đó, thẻ Vitek®2 GN có thể sử dụng để định danh các vi khuẩn *P. multocida* và *B. bronchiseptica*. Ngoài ra, còn có thẻ Vitek®2 NH dùng để định danh 26 loài vi khuẩn Gram âm khó tính bao gồm *A. pleuropneumoniae*, *Neisseria* spp, *Haemophilus* spp và các vi khuẩn nhóm HACEK. Vitek®2 NH gồm 30 xét nghiệm sinh hóa, thời gian thực hiện trong vòng 8 giờ. Kết quả định danh được phân tích bằng Vitek®2 Advanced Expert System™.

#### 1.2.4.3 Kỹ thuật sinh học phân tử

Kỹ thuật PCR rất phổ biến trong phát hiện các mầm bệnh hô hấp trên heo. Đối với *A. pleuropneumoniae*, gen mã hoá độc tố ApxIV có mặt ở tất cả các serotype (Cho và ctv, 2002), do đó gen *apxIV* trở thành mục tiêu để định danh *A. pleuropneumoniae* bằng PCR. Định danh *P. multocida* bằng PCR dựa trên gen *toxA*,

gen mã hóa độc tố PMT gây hoại tử mô, sụn trong bệnh viêm teo mũi tiến triển lần đầu tiên được báo cáo vào năm 1994 (Nagai và ctv, 1994). Gen *toxA* sau đó tiếp tục được nghiên cứu, tối ưu hóa trình tự và được sử dụng rộng rãi trong nhiều nghiên cứu định danh các chủng *P. multocida* gây độc (Liu và ctv, 2017; Townsend và ctv, 2000). Gen *16S rRNA* được nghiên cứu (Oliveira và ctv, 2001) và ứng dụng rất thành công trong phát hiện *H. parasuis* (Loera-Muro và ctv, 2013) và gen này cho thấy tính đặc hiệu cao hơn so với gen *23S rRNA* trong phát hiện *H. parasuis* (Álvarez-Estrada và ctv, 2018). *fla*, gen flagellin, yếu tố độc lực quan trọng trong cơ chế sinh bệnh của *B. bronchiseptica* trên đường hô hấp (Akerley và Miller, 1993) và cũng là gen mục tiêu trong định danh *B. bronchiseptica* bằng kỹ thuật PCR (Zhao và ctv, 2011).

Multiplex PCR phát hiện đồng thời nhiều tác nhân gây bệnh hô hấp trên heo giúp xác định nhanh chóng, đầy đủ tác nhân gây bệnh hô hấp và đưa ra liệu pháp điều trị sớm. Nghiên cứu kết hợp multiplex PCR và microarray đã phát hiện 4 loại vi khuẩn (*M. hyopneumoniae*, *P. multocida*, *S. enterica* serovar Choleraesuis, *S. suis*) và 4 loại virus (PRRSV, SIV, PCV2, PRCV) trong bệnh PRDC trên heo, đồng thời phân biệt các kiểu gen của PRRSV cũng như phân biệt các chủng *P. multocida* độc lực và không độc lực (Lung và ctv, 2017).

Kỹ thuật TaqMan PCR (Dempo-PCR, one run realtime PCR) được thực hiện để định danh đồng thời các vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis*, *B. bronchiseptica*, *P. multocida*, *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *S. suis* và virus PCV2, PCMV, PRRS, PRCV, SIV (Sunaga và ctv, 2020). Ngoài ra, LS-PCR và pathotyping-PCR dựa trên một trình tự giả định của bộ gen đã phát hiện và phân loại các chủng *H. parasuis* độc lực và không độc lực (Schuwerk và ctv, 2020).

LAMP, kỹ thuật khuếch đại đẳng nhiệt qua trung gian vòng lặp, là phương pháp khuếch đại acid nucleic được thực hiện trong điều kiện đẳng nhiệt. Kết quả khuếch đại được hiển thị bằng cách thêm SYBR Green I vào hỗn hợp. LAMP đã cho thấy độ nhạy cao hơn nested PCR trong phát hiện *A. pleuropneumoniae* dựa trên gen *apxIVA* (Yang và ctv, 2009), hay *P. multocida*, *M. haemolytica* và *H. somni* (Mohan và ctv, 2021). LAMP dựa trên gen *infB* của *H. parasuis* đã được chứng minh là rất hữu ích trong nghiên cứu phát sinh loài và được xem gen thay thế tốt hơn cho các nghiên cứu dựa trên gen *16S rRNA*. LAMP chiếm ưu thế về giới hạn phát hiện chỉ 10

CFU/mL, độ nhạy cao hơn 10 lần so với PCR và không có phản ứng chéo với các chủng khác (Zhang và ctv, 2012).

Ngoài ra, các kỹ thuật sinh học phân tử khác cũng được ứng dụng trong phân tích gen để đánh giá sự đa dạng của vi sinh vật.

### 1.3 Đề kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo

#### 1.3.1 Cơ chế đề kháng của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo

Đề kháng kháng sinh được coi là hậu quả tất yếu của việc sử dụng kháng sinh, các vi sinh vật có thể đề kháng một loại kháng sinh hoặc phát triển tính kháng thuốc sau khi tiếp xúc với loại kháng sinh đó. Tính kháng thuốc phát triển do đột biến và nguyên lý áp lực chọn lọc tạo ra cộng đồng vi khuẩn đề kháng (Munita và Arias, 2016). Các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo phát triển nhiều cơ chế đề kháng khác nhau với các nhóm kháng sinh.

Đối với nhóm tetracycline, có ít nhất 9 gen đề kháng tetracycline, gen *tet*, đã được phát hiện. Trong đó, các gen (*tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(G)*, *tet(H)*, *tet(L)* và *tet(K)*) mã hoá cho các protein liên kết màng đẩy tetracycline khỏi tế bào vi khuẩn đã được tìm thấy ở các *Pasteurellaceae*. Hai gen kháng tetracycline khác, *tet(M)* và *tet(O)*, mã hóa protein bảo vệ ribosome đã được xác định ở *P. multocida* và *A. pleuropneumoniae*. Gen *tet(M)* liên kết với transposon liên hợp Tn916 được coi là gen lây lan rộng rãi nhất trong số các vi khuẩn Gram dương và Gram âm. Ba gen kháng tetracycline, *tet(A)*, *tet(C)* và *tet(31)* mã hóa cho bơm thoát dòng đã được xác định ở *B. bronchiseptica* (Michael và ctv, 2018; Kadlec và Schwarz, 2018).

Khả năng đề kháng kháng sinh nhóm beta-lactam của *Pasteurellaceae* dựa trên sản xuất enzyme beta-lactamase làm bất hoạt kháng sinh. Cho đến nay, 5 gen quy định beta-lactamase (*bla*) đã được xác định ở *Pasteurellaceae* gồm *blaROB-1* (84–88), *blaTEM-1*, *blaPSE-1*, *blaCMY-2* và *blaOXA-2*. *B. bronchiseptica* được xác định mang gen *blaOXA-2* (Michael và ctv, 2018; Kadlec và Schwarz, 2018).

Sự đề kháng với kháng sinh aminoglycoside và aminocyclitol liên quan đến sự hình thành các enzyme làm bất hoạt kháng sinh bằng cách adenyl hóa, acetyl hóa hoặc phosphoryl hóa. Gen *aadA1* mã hóa aminoglycoside-3-adenyltransferase cho sự đề kháng với streptomycin và spectinomycin. *strA* mã hóa cho aminoglycoside-3-phosphotransferase và *strB* mã hóa cho aminoglycoside-6-phosphotransferase

được tìm thấy ở *Pasteurella*, *Actinobacillus*, *B. bronchiseptica*. Đề kháng với kanamycin/neomycin liên quan đến gen *aphA1*, mã hóa cho aminoglycoside-3'-phosphotransferase làm trung gian cho tính kháng kanamycin và neomycin. Đột biến ribosome ảnh hưởng đến sự liên kết ribosome gây kháng spectinomycin đã được mô tả ở nhiều loại vi khuẩn (Michael và ctv, 2017; Kadlec và Schwarz, 2018).

Đề kháng sulfonamid ở các chủng *Pasteurellaceae*, *B. bronchiseptica* thường được điều hòa bởi 3 gen kháng *sul1*, *sul2* và *sul3* và cho đến nay chỉ có *sul1* và *sul2* được xác định ở *B. bronchiseptica*. Các gen *sul* mã hóa cho enzyme tổng hợp dihydropteroate synthetases làm giảm ái lực của vi khuẩn với sulfonamid (Michael và ctv, 2017; Kadlec và Schwarz, 2018).

Đề kháng của vi khuẩn với trimethoprim liên quan đến enzyme dihydropteroate synthetases và dihydrofolate reductase. Đây là 2 enzyme tham gia vào con đường tổng hợp folate, nguyên liệu để tổng hợp DNA vi khuẩn. Gen *dfrA20* mã hóa enzyme dihydropteroate synthetases. Trong số các gen *dfr* khác nhau đã được mô tả ở vi khuẩn Gram âm, có khoảng 30 gen mã hóa cho enzyme dihydrofolate reductase, trong đó *dfrA1* và *dfrB1* tìm thấy ở *B. bronchiseptica* (Michel và ctv, 2017; Kadlec và Schwarz, 2018).

Nhiều vi khuẩn Gram âm được cho là có khả năng kháng macrolide bẩm sinh do hàng rào tính thấm hoặc bơm thoát dòng. *P. multocida* có các gen *mrs(E)* và *mph(E)*, mã hóa cho bơm thoát dòng và phosphotransferase. Ngoài ra, sự biến đổi hóa học của vị trí đích ribosome bằng rRNA methylase hoặc đột biến protein ribosome cũng đã được mô tả. Các gen *erm(A)* và *erm(C)* mã hóa rRNA methylase đã được phát hiện ở *A. pleuropneumoniae* (Michel và ctv, 2017; Kadlec và Schwarz, 2018).

Cơ chế đề kháng với lincosamid liên quan đến gen mã hoá 23S rRNA methyltransferase, protein bơm thoát dòng, enzyme bất hoạt và đột biến. Gen *lnu(C)*, đã được xác định ở *H. parasuis* (Michel và ctv, 2017; Kadlec và Schwarz, 2018).

Đề kháng với chloramphenicol thường do vi khuẩn sản xuất enzym chloramphenicol acetyltransferase làm bất hoạt kháng sinh này. Chloramphenicol acetyltransferase, A và B, được quy định bởi một số gen *catA* và *catB* khác nhau. Các gen *catA* và *catB* thường nằm trên các plasmid, transposon hoặc gen catsette đã được

xác định ở các chủng *P. multocida* và *A. pleuropneumoniae*. Hai gen mã hoá chloramphenicol acetyltransferase loại B, *catB1* và *catB3*, có khả năng kháng lại phenicols đã được xác định ở *B. bronchiseptica* (Michael và ctv, 2017; Kadlec và Schwarz, 2018).

Báo cáo đầu tiên về chủng phân lập *P. multocida* kháng florfenicol được công bố vào năm 2005. Tính kháng florfenicol dựa trên sự hiện diện của gen *floR*, mã hóa cho bơm thoát dòng đã được ghi nhận ở *P. multocida*, *B. bronchiseptica* (Michael và ctv, 2017; Kadlec và Schwarz, 2018).

Đề kháng với fluoro/quinolone liên quan đến ức chế hoạt động của DNA gyrase và topoisomerase IV của vi khuẩn. Sự đề kháng thường là do đột biến ở các gen mã hóa cho các tiểu đơn vị khác nhau của cả hai enzyme hoặc tạo ra các bơm thoát dòng. Vùng xác định tính kháng quinolone (QRDR) của các protein được mã hóa bởi gen *gyrA*, *parC*, *parE* ở các Pasteurellaceae đã được xác định. Đề kháng liên quan đến tạo bơm thoát dòng cũng được phát hiện ở *A. pleuropneumoniae* kháng enrofloxacin. Các gen *nrA1*, *qnrB6* và *aac(6')-Ib-cr* mã hóa cho bơm thoát dòng đã được phát hiện ở *H. parasuis*. Fluoroquinolones có hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối với *B. bronchiseptica* (Michael và ctv, 2017; Kadlec và Schwarz, 2018).

### **1.3.2 Tình hình đề kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo**

Điều trị bệnh hô hấp là lý do chính sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi heo (Karriker và ctv, 2012). Năm 2012, báo cáo của Hệ thống giám sát sức khỏe động vật quốc gia (NAHMS), Bộ Nông nghiệp Mỹ (USDA) cho thấy 59,9% trang trại chăn nuôi heo đã sử dụng kháng sinh dạng tiêm và 41,2% sử dụng kháng sinh hòa tan trong nước để điều trị bệnh hô hấp. Quan trọng hơn, báo cáo nhấn mạnh 72,8% trang trại chăn nuôi heo đã sử dụng kháng sinh dạng tiêm và 64,2% sử dụng kháng sinh hòa tan trong nước để điều trị bệnh hô hấp (USDA, 2016; Sargeant và ctv, 2019). Đề kháng kháng sinh do vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo được ghi nhận trong nhiều báo cáo. Kết quả một số nghiên cứu dưới đây cho thấy các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo có mức độ miễn cảm khác nhau với kháng sinh, kiểu hình đề kháng đa dạng. Vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo mang nhiều gen đề kháng kháng sinh hoặc đột biến gen đã được phát hiện.

Nghiên cứu của Dayao và ctv (2014) tại Úc cho thấy phần lớn các chủng *A. pleuropneumoniae* phân lập đều kháng erythromycin (89%) và tetracycline (75%). Khả năng kháng ampicillin (8,5%), penicillin (8,5%) và tilmicosin (25%) cũng được xác định. Các chủng *P. multocida* phân lập có khả năng kháng co-trimoxazole (2%), florfenicol (2%), ampicillin (4%), penicillin (4%), erythromycin (14%) và tetracycline (28%). Trong khi tất cả các chủng *B. bronchiseptica* phân lập đều kháng với beta-lactam (ampicillin, ceftiofur và penicillin), erythromycin (94%), florfenicol (6%), tilmicosin (22%) và tetracycline (39%). Tỷ lệ kháng nhiều loại thuốc (MDR) khác nhau giữa các loài, 27,8% *B. bronchiseptica* MDR, 9,1% *A. pleuropneumoniae* MDR và 4,8% *P. multocida* MDR trong tổng số chủng phân lập.

Nghiên cứu của Kucerkova và ctv (2012) tại cộng hoà Czech, tổng cộng có 242 chủng phân lập được kiểm tra độ nhạy cảm với 16 chất kháng khuẩn bằng phương pháp MIC. Mức độ đề kháng thấp được quan sát thấy đối với florfenicol (0,8%), amoxicillin và axit clavulanic (0,8%), tilmicosin (1,2%), tiamulin (1,7%) và ampicillin (3,3%), trong khi đề kháng với tetracycline được phát hiện thường xuyên hơn, 23,9% số chủng phân lập được. Điều thú vị là tình trạng kháng florfenicol vẫn chưa được báo cáo trong bất kỳ nghiên cứu nào điều tra khả năng kháng kháng sinh của *A. pleuropneumoniae*. Bằng phương pháp PCR, sự hiện diện của gen *floR* đã được xác nhận ở tất cả các chủng phân lập kháng florfenicol. Nghiên cứu của Vanni và ctv (2012) tại Ý cho thấy xu hướng kháng kháng sinh của *A. pleuropneumoniae* gia tăng đáng kể theo thời gian, tỷ lệ kháng thuốc cao đã được đối với các sulfamides, tetracycline và penicillin, hiện đang được khuyến dùng để điều trị bệnh viêm phổi màng phổi cho heo. Tuy nhiên, *A. pleuropneumoniae* được ghi nhận nhạy cảm cao với amphenicols, fluoroquinolones và ceftiofur.

Nghiên cứu của Zhao và ctv (2018) tại Trung Quốc cho thấy tất cả các chủng *H. parasuis* phân lập đều có mức độ kháng cao với axit nalidixic (82,52%) và enrofloxacin (55,94%), đề kháng thấp hơn với lomefloxacin (28,67%), levofloxacin (20,28%), norfloxacin (22,38%), ciprofloxacin (23,78%). Các gen kháng kháng sinh hiện diện ở các chủng *H. parasuis* đã phát hiện gồm *blaTEM-1*, *blaROB-1*, *ermB*, *ermA*, *flor*, *catl*, *tetB*, *tetC*, *rmtB*, *rmtD*, *aadA1*, *aac(3')-IIc*, gen *sul1* và *sul2*. Điều thú vị là một chủng phân lập mang 5 gen kháng kháng sinh (*tetB*, *tetC*, *flor*, *rmtB*, *sul1*).



Các gen *tetB*, *rmtB* và *flor* là các gen kháng phổ biến nhất ở *H. parasuis* ở Trung Quốc. Những thay đổi trong gen *gyrA* (S83F/Y, D87Y/N/H/G) được phát hiện ở 81% các chủng và đột biến *parC* thường đi kèm với đa dạng di truyền đáng kể và cho thấy các gen này đã được lan truyền theo chiều ngang (Zhao và ctv, 2018).

Nghiên cứu của Oh và ctv (2018) trên 454 phân lập *P. multocida* ở Hàn Quốc cho thấy kháng thuốc của vi khuẩn này mạnh nhất đối với sulphadimethoxine (76,0%), tiếp theo là oxytetracycline (66,5%), chlortetracycline (36,8%) và florfenicol (18,5%). Mặc dù không thấy sự tăng hoặc giảm nhất quán về khả năng đề kháng đối với hầu hết các loại thuốc kháng sinh, nhưng tình trạng đề kháng với fluoroquinolone có xu hướng tăng trong thời gian nghiên cứu. Một nghiên cứu tại Tây Ban Nha cho thấy 84,4% *P. multocida* phân lập có khả năng kháng ít nhất 2 loại kháng sinh, 46,9% kháng ít nhất 3 loại kháng sinh. Tỷ lệ nhạy cảm của vi khuẩn thấp hơn 60% được ghi nhận ở 4/8 loại kháng sinh. Enrofloxacin, chloramphenicol, tetracycline và cefotaxime xuất hiện chủ yếu trong các kiểu hình kháng thuốc của *P. multocida*. Các gen kháng *ermC*, *blaROB1*, *tetB* và *msrE* xuất hiện ở hơn 37,0% các chủng phân lập (Petrocchi-Rilo và ctv, 2019).

Với một số kết nghiên cứu đã tổng kết, có thể thấy các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo có mức độ miễn cảm khác nhau với kháng sinh. Đáng lưu ý, tetracycline được nhận thấy là kháng sinh bị đề kháng mạnh mẽ nhất trong số các kháng sinh thử nghiệm, nhiều gốc vi khuẩn có kiểu hình đa kháng được quan sát trong nhiều nghiên cứu. Bên cạnh đó, nhiều gen đề kháng cũng đã được phát hiện; một gốc vi khuẩn có thể mang một hoặc nhiều gen đề kháng. Những phát hiện này cung cấp các thông tin giá trị cho phép lựa chọn các loại kháng sinh tối ưu để điều trị hiệu quả bệnh hô hấp trên heo, đồng thời cũng là những cảnh báo quan trọng để sử dụng kháng sinh thận trọng hơn trong điều trị bệnh trên heo, góp phần hạn chế đề kháng kháng sinh.

Mặc dù vậy, các kết quả nghiên cứu về đề kháng kháng sinh của nhóm vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo tại Việt Nam còn hạn chế. Do đó, tiếp tục phân lập và đánh giá mức độ miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo thực sự cần thiết nhằm lựa chọn kháng sinh phù hợp trong điều trị, góp phần giảm thiểu thiệt hại trong bối cảnh ngành chăn nuôi heo đang đối mặt với áp lực dịch bệnh như hiện nay.

### 1.3.3 Các phương pháp đánh giá miễn cảm kháng sinh

#### 1.3.3.1 Khuếch tán trên thạch

Phương pháp này được công bố bởi Kirby và Bauer vào năm 1960 tại Mỹ. Vi khuẩn thử nghiệm được nuôi cấy trên môi trường thạch Mueller-Hinton có đặt các đĩa giấy tẩm kháng sinh. Khả năng phát triển của khuẩn lạc xung quanh các đĩa giấy kháng sinh là kết quả để đánh giá khả năng tác động của kháng sinh đối với vi khuẩn. Các kháng sinh sử dụng trong đánh giá tính nhạy cảm của các vi khuẩn gây bệnh trên heo bao gồm ceftiofur, tildipirosin, tilmicosin, tulathromycin, ampicillin, penicillin, florfenicol, tiamulin, enrofloxacin, tetracycline, gentamicin, clindamycin, sulfonamides, erythromycin, apramycin, spectinomycin, cefquinome, tylosin, amikacin, sulfamethoxazole/trimethoprim, tylvalosin, valnemulin,... (CLSI, 2018). Tuy nhiên, CLSI cung cấp hạn chế tiêu chuẩn để đánh giá mức độ nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp bằng phương pháp khuếch tán trên thạch, do đó phương pháp này được nhận thấy ít áp dụng hơn so với phương pháp MIC.

#### 1.3.3.2 Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

##### MIC truyền thống

Phương pháp này được thực hiện bằng cách pha loãng kháng sinh theo dãy nồng độ trong các ống nghiệm (broth macrodilution) hoặc trên khay vi pha loãng có 96 giếng (broth microdilution) hoặc trên đĩa thạch (agar dilution). Môi trường Mueller-Hinton điều chỉnh cation (CAMHB) được sử dụng để thực hiện phương pháp này. Khuẩn lạc từ môi trường không chọn lọc được ủ qua đêm sẽ cho vào canh đạt nồng độ MacFarland 0.5, tiếp tục pha loãng để đạt nồng độ  $5 \times 10^5$  CFU/mL. Canh pha loãng vi khuẩn tiếp tục cho vào ống/khay môi trường CAMHB có chứa kháng sinh pha loãng theo dãy nồng độ. Các ống/khay được ủ ở  $35^\circ\text{C}$  từ 16 - 20 giờ trước khi xác định MIC. CLSI cung cấp các tiêu chuẩn diễn giải MIC của từng loại kháng sinh với vi khuẩn. Để đánh giá tác dụng kháng khuẩn, các khái niệm được mô tả bao gồm như MIC, MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> và MBC; trong đó MIC là nồng độ thấp nhất của kháng sinh ức chế quần thể vi khuẩn phân lập được. MIC<sub>50</sub> và MIC<sub>90</sub> là nồng độ thấp nhất của kháng sinh có thể ức chế 50% và 90% quần thể vi khuẩn phân lập được, MBC là nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của kháng sinh đối với quần thể vi khuẩn phân lập được.

## Hệ thống đánh giá MIC

Hệ thống Vitek®2 đo độ đục của các tấm giếng bằng máy quang phổ để đánh giá khả năng phát triển vi khuẩn. Vitek®2 phát triển 25 thẻ thử tính nhạy cảm kháng sinh đối với trực khuẩn Gram âm với 78 kháng sinh và ESBL, 6 thẻ gồm 67 kháng sinh đối với staphylococci và/hoặc enterococci và 6 kháng sinh đối với nấm men. Kết quả đánh giá nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn sẽ có trong ít nhất 4 giờ và nấm men chỉ sau 13 giờ. VITEK® 2 Advanced Expert System™ cung cấp kiểu hình đề kháng kháng sinh đối với từng phân lập vi khuẩn được thử nghiệm.

Hệ thống Sensititre™ sử dụng các tấm 96 vi giếng (microtitre), có sẵn ở cả định dạng tiêu chuẩn và tùy chỉnh, với hơn 240 loại kháng sinh có sẵn ở phạm vi pha loãng mở rộng trên nhiều định dạng khác nhau để thử tính nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn Gram âm, Gram dương, nấm, Mycoplasma, *M. tuberculosis*. Nhiều tấm vi giếng được thiết kế để đánh giá nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh trên người, động vật. Đặc biệt, Sensititre Vet Bovine/Swine BOPO6F Plate là tấm thử nghiệm nhạy cảm kháng sinh dùng để xét nghiệm các chủng Gram dương và Gram âm khó tính có nguồn gốc thú y gồm *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *M. hemolytica*, *S. pneumoniae*, *H. somni*. Kết quả MIC được xác định bằng cách đọc độ đục thủ công bằng mắt thường hoặc các thiết bị hỗ trợ Thermo Scientific™ Sensititre™ Manual Viewer, Thermo Scientific™ Sensititre™ OptiRead™ Automated Fluorometric Plate Reading System; Thermo Scientific™ Sensititre™ ARISTM 2X Instrument.

MicroScan WalkAway® là hệ thống đánh giá nhạy cảm kháng sinh sử dụng công nghệ huỳnh quang quét qua tấm 96 vi giếng. Các tấm định danh/đánh giá nhạy cảm kháng sinh kết hợp (Microscan Gram-negative combo panels/Microscan Gram-positive combo/MIC panels) hoặc riêng lẻ (Microscan Gram-negative MIC panels) cho vi khuẩn Gram âm, bao gồm *P. multocida* và *B. bronchiseptica*, Gram dương với nhiều loại kháng sinh kể cả các carbapenems được thiết lập trên mỗi tấm. Kết quả xác định độ nhạy có thể thu được sau 20 giờ, trong khoảng 16-27 giờ, tùy theo vi khuẩn.

Hiện tại, Vitek®2, Sensititre™, MicroScan WalkAway®, BD Phoenix™ được nhận thấy tính khả thi cao trong đánh giá nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh

hô hấp trên heo do bộ thử nghiệm đa dạng trên nhiều nhóm vi khuẩn, phương pháp đánh giá linh hoạt, đặc biệt là hệ thống Sensitire™ cung cấp kết quả cho tỉ lệ tương đồng cao hơn so với các phương pháp khác trong đánh giá nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn đã được chứng minh và khả năng cung ứng cao các thiết bị này trên thị trường.

#### **1.4 Tổng quan về sử dụng kháng sinh và đo lường sử dụng kháng sinh**

##### **1.4.1 Xu hướng sử dụng kháng sinh trong thú y của thế giới và Việt Nam**

###### **1.4.1.1 Xu hướng sử dụng kháng sinh trong thú y của thế giới**

###### **Theo loài động vật**

Nhu cầu về protein động vật đang gia tăng trên toàn cầu (FAO, 2020). Tuy nhiên, sự mở rộng chăn nuôi thâm canh đã dẫn đến gia tăng sử dụng kháng sinh. FAO ước tính sản lượng chăn nuôi và thủy sản sẽ tăng 14% từ năm 2020 đến năm 2030. Lượng kháng sinh ước tính sử dụng cho gà, bò và heo chiếm 93,75% tổng lượng kháng sinh sử dụng cho động vật làm thực phẩm và dự kiến tăng 11,5% đến năm 2030. Mức tiêu thụ kháng sinh trên heo được dự kiến tăng cao nhất, chiếm 45% tổng mức tăng sử dụng kháng sinh từ năm 2017 đến năm 2030.

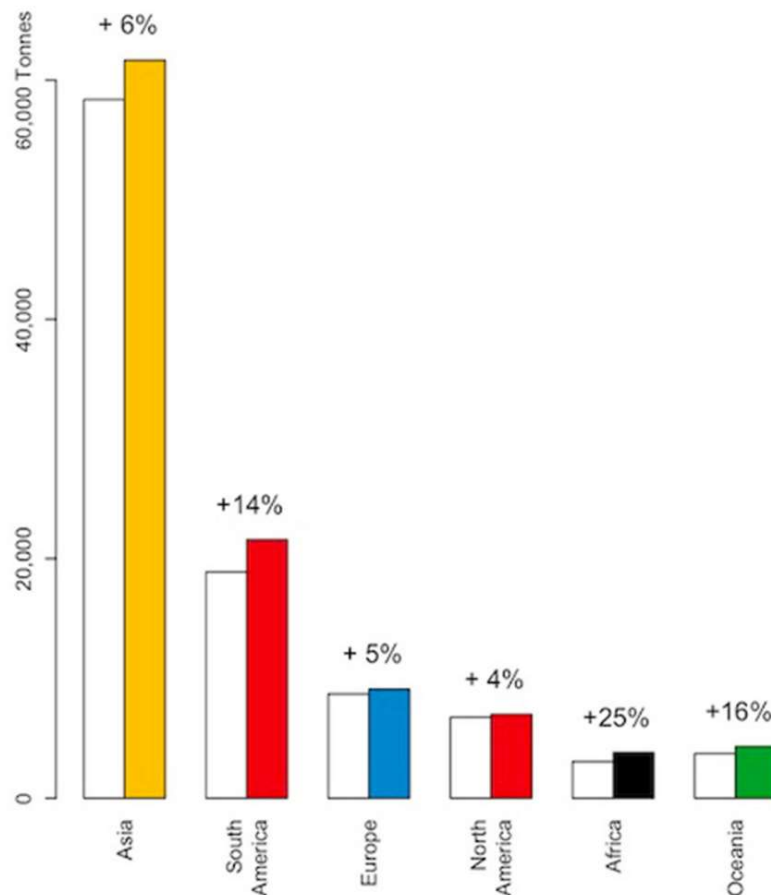
Năm 2020, sử dụng kháng sinh toàn cầu cho gia súc, gà và heo ước tính là 99.502 tấn hoạt chất. Sử dụng kháng sinh (mg/PCU) toàn cầu được dự đoán sẽ tăng 8,0% lên 107.472 tấn vào năm 2030. Cường độ sử dụng kháng sinh toàn cầu cũng được dự đoán sẽ tăng từ 79,3 mg/PCU vào năm 2020 lên 85,6 mg/PCU vào năm 2030. Cường độ sử dụng kháng sinh thay đổi đáng kể giữa các quốc gia vào năm 2020, dao động từ 337,8 mg/PCU ở Thái Lan đến 4,4 mg/PCU ở Na Uy. Năm 2020, mức sử dụng kháng sinh trên mỗi đơn vị sinh khối cừu là 243,3 mg/PCU, heo là 173,1 mg/PCU, gia súc khác là 59,6 mg/PCU và gà là 35,4 mg/PCU (Mulchandani và ctv, 2023).

###### **Theo quốc gia**

Châu Á được dự đoán có mức tăng tiêu thụ kháng sinh lớn nhất khoảng 6% vào năm 2030 so với năm 2020 (Hình 1.4). Sử dụng kháng sinh ở Châu Á vào năm 2030 được dự kiến sẽ chiếm tới 68% tổng số kháng sinh được sử dụng trên toàn thế giới so với năm 2017. Trong đó, Trung Quốc là nước tiêu thụ kháng sinh thú y lớn nhất, chiếm 45% lượng kháng sinh sử dụng toàn cầu năm 2017 và dự kiến vẫn sẽ tiếp

tục là nước tiêu thụ kháng sinh lớn nhất thế giới vào năm 2030 (43%), tiếp theo là Brazil (7,9%), Mỹ (7,0%), Thái Lan (4,2%), Ấn Độ (2,2%), Iran (1,9%), Tây Ban Nha (1,9%), Nga (1,8%), Mexico (1,7%) và Argentina (1,5%) và dự kiến đến năm 2030; lượng kháng sinh được sử dụng trong chăn nuôi tại các quốc gia nói trên sẽ chiếm 75% trong khi dân số chỉ chiếm 50% của toàn thế giới.

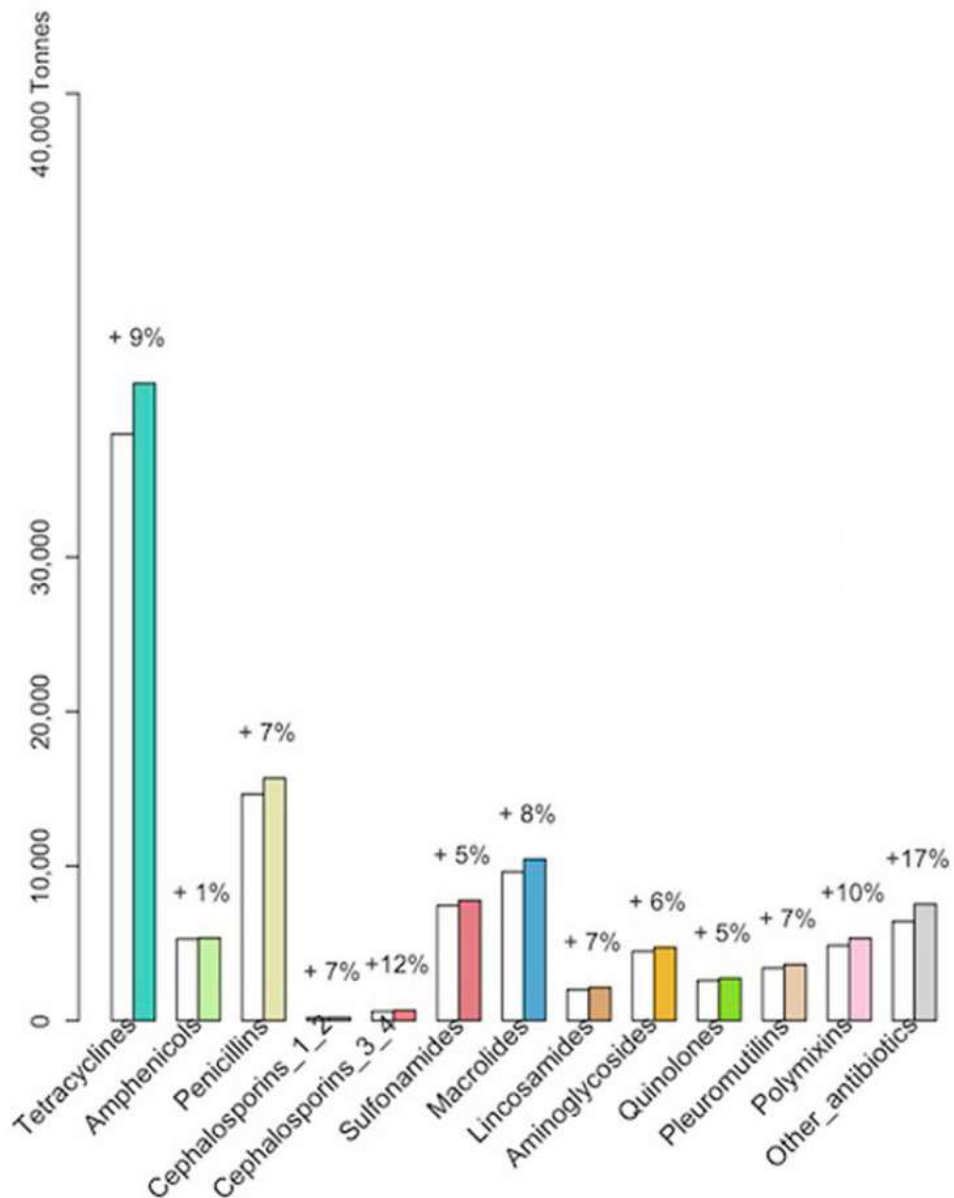
Các điểm nóng về cường độ sử dụng kháng sinh phần lớn được tìm thấy ở Châu Á (67%) bao gồm một số khu vực của Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Thái Lan, Việt Nam, Hàn Quốc, Bangladesh, Pakistan, Iran, Úc, Ý, Đức, Ba Lan, Brazil, Mỹ. Cường độ sử dụng kháng sinh thấp nhất (<1%) được xác định là ở Châu Phi.



**Hình 1.4** Tiêu thụ kháng sinh thú y toàn cầu năm 2020 (thanh trắng) và mức tiêu thụ dự kiến năm 2030 (thanh màu) (Mulchandani và ctv, 2023)

### Theo hoạt chất kháng sinh

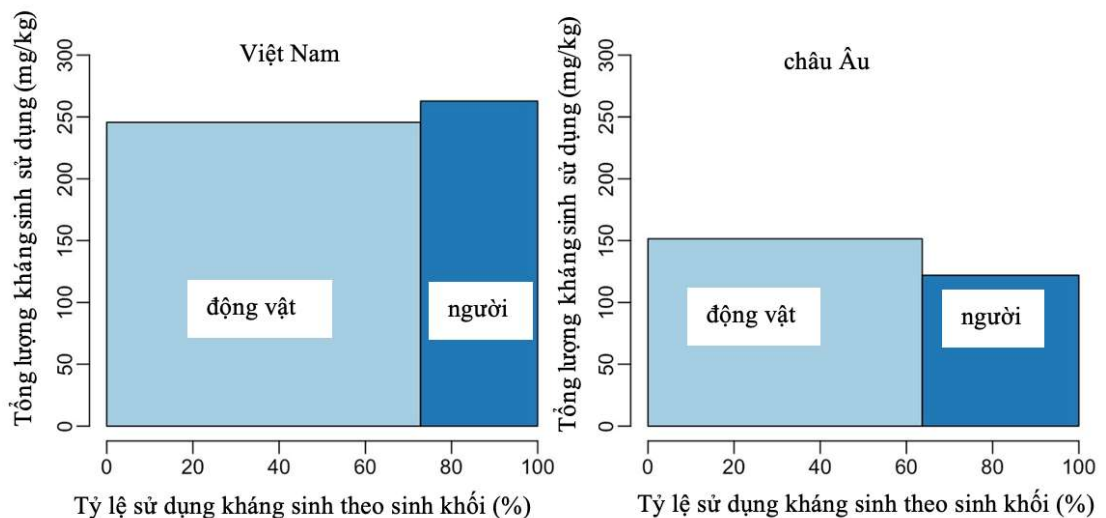
Tetracycline là kháng sinh được sử dụng phổ biến nhất (33.305 tấn) và được dự đoán sẽ tăng 9%, tiếp theo là penicillin tăng 7%, các amphenicol được dự đoán tăng ít nhất khoảng 1% vào năm 2030 (Hình 1.5). Tuy nhiên, cường độ sử dụng kháng sinh trên mỗi nhóm kháng sinh khác nhau tùy theo quốc gia, cụ thể Thái Lan có tỉ lệ sử dụng penicillin cao nhất, trong khi Chile có tỉ lệ sử dụng amphenicols cao nhất.



**Hình 1.5** Tiêu thụ hoạt chất kháng sinh trong thú y năm 2020 so với 2030  
(Mulchandani và ctv, 2023)

### 1.4.1.2 Xu hướng sử dụng kháng sinh trong thú y tại Việt Nam

Trong năm 2015, ước tính tổng cộng 3.842 tấn kháng sinh đã được sử dụng ở Việt Nam, trong đó 2.751 tấn (71,7%) sử dụng trên động vật và phần còn lại 1.086 tấn (28,3%) sử dụng ở người. Lượng hoạt chất kháng sinh được sử dụng tính trên sinh khối người và động vật ở Việt Nam lần lượt là 261,7 mg/kg và 247,3 mg/kg, trong khi ở Châu Âu các con số tương ứng lần lượt là 122 mg/kg và 151,1 mg/kg (Hình 1.6). Như vậy, ước tính lượng kháng sinh sử dụng trên kg sinh khối động vật tại Việt Nam cao gấp đôi so với Châu Âu. Đáng lưu ý, lượng kháng sinh được sử dụng cho heo chiếm cao nhất (41,7%), tiếp đến là người (28,3%), nuôi trồng thủy sản (21,9%), gà (4,8%) và các loài khác chiếm < 1,5% tổng lượng sử dụng (Carrique-Mas và ctv, 2020). Việt Nam có tỉ lệ bùng phát dịch bệnh cao, do đó kháng sinh đã được lựa chọn để phòng trị bệnh cũng như thúc đẩy tăng trưởng ở vật nuôi (Phạm Kim và ctv, 2013).



**Hình 1.6** Lượng hoạt chất kháng sinh trên sinh khối động vật và người (mg/kg) ở Việt Nam và Châu Âu (Carrique-Mas và ctv, 2020)

Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn Việt Nam đã ban hành nhiều quy định liên quan đến sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi. Tuy nhiên, khoảng 73,3% lượng kháng sinh dùng để phòng bệnh cho heo mà không có chẩn đoán cụ thể (Nguyen và ctv, 2016); 43,7% thức ăn chăn nuôi thương mại hiện có ở Việt Nam có ít nhất một loại kháng sinh, trong đó, 21,5% thức ăn cho heo có ít nhất 2 loại kháng

sinh. Ước tính khoảng 286,6 mg kháng sinh trong thức ăn được sử dụng cho 1kg sinh khối heo. Florfenicol, chlortetracycline, colistin và bacitracin là những kháng sinh được dùng phổ biến cho heo. Nghiêm trọng hơn, lincomycin, tetracycline, colistin và amoxicillin là những kháng sinh rất quan trọng đối với nhân y nhưng lại chiếm tới 57% tổng lượng kháng sinh sử dụng trong chăn nuôi heo ở Việt Nam (Cuong và ctv, 2016). Khoảng 50% sản phẩm thịt heo trên thị trường có chứa ít nhất 2 dư lượng kháng sinh (Nguyen và ctv, 2016; Di và ctv, 2021). Một nghiên cứu dự đoán tương lai đến năm 2030, Việt Nam sẽ là 1 trong 5 quốc gia có mức tăng sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi là 157% so với năm 2010, bên cạnh Myanmar, Peru, Nigeria và Indonesia; trong khi đó Mỹ, Brazil hay Ấn Độ được dự đoán mức kháng sinh dùng trong chăn nuôi chỉ tăng thêm từ 4-8% ở cùng thời điểm (Van Boeckel và ctv, 2015).

#### **1.4.2 Phương pháp tính toán lượng kháng sinh sử dụng trong thú y**

##### **1.4.2.1. Lượng kháng sinh sử dụng tính trên sinh khối động vật**

Cơ quan giám sát tiêu thụ kháng sinh Châu Âu (ESVAC) công bố dữ liệu thống kê hàng năm về mức tiêu thụ kháng sinh cho vật nuôi tại các quốc gia Châu Âu dựa trên đơn vị đo lường mg/PCU, tương đương 1mg/kg sinh khối vật nuôi. Đơn vị này được phát triển bởi Cơ quan Dược phẩm Châu Âu (EMA) năm 2009 và được sử dụng toàn Châu Âu. Đơn vị mg/PCU được dùng để đo lường nhằm giám sát việc sử dụng và bán kháng sinh ở các nước Châu Âu cũng như các quốc gia khác. PCU là quần thể động vật cũng như trọng lượng ước tính của từng con vật cụ thể tại thời điểm điều trị bằng kháng sinh. Hàm lượng của từng hoạt chất kháng sinh (mg), được tính dựa trên hàm lượng hoạt chất có trong thành phần của tất cả các sản phẩm kháng sinh có chứa hoạt chất đó. Mặc dù đây là một ước tính nhưng nó cho phép thực hiện các so sánh hàng năm và nhìn thấy các xu hướng trong các báo cáo về sử dụng kháng sinh tại một quần thể, quốc gia, khu vực hoặc so sánh giữa các nước trên thế giới.

##### **1.4.2.2. Lượng kháng sinh sử dụng tính trên từng nhóm động vật tại trang trại**

Lượng kháng sinh sử dụng tính trên từng nhóm động vật tại trang trại được xác định thông qua các chỉ số, trong đó tỉ lệ điều trị TI (treatment incidence) là một trong các chỉ số quan trọng liên quan đến sử dụng kháng sinh được xác định trong các nghiên cứu. TI là đơn vị đo lường kỹ thuật để định lượng số động vật trong một nhóm lý thuyết gồm 1000 con được điều trị hàng ngày bằng kháng sinh (Timmerman



và ctv, 2006). Chỉ số này tương đương với số ngày mà một con vật sẽ được điều trị bằng kháng sinh, nếu nó sống trong khoảng thời gian lý thuyết là 1000 ngày (Raasch và ctv, 2018), TI được tính bằng công thức sau:

$$TI = \frac{\text{Tổng lượng hoạt chất kháng sinh được sử dụng (mg)}}{\text{DDDvet (mg/kg) x số ngày có nguy cơ x số động vật có nguy x trọng lượng trung bình của nhóm động vật (kg)}} \times 1000$$

Trong đó, tử số và mẫu số được xác định như sau:

- Tổng lượng hoạt chất kháng sinh sử dụng (mg) = số lượng sản phẩm có chứa hoạt chất kháng sinh x lượng hoạt chất kháng sinh của mỗi sản phẩm (mg). Nếu hoạt chất được tính theo đơn vị quốc tế (UI) thì cần chuyển đổi sang mg. Sản phẩm chứa nhiều hoạt chất kháng sinh việc tính toán được thực hiện cho từng chất và tính tổng từng hoạt chất. Đối với premix, lượng hoạt chất kháng sinh được sử dụng được tính bằng cách nhân số mg hoạt chất kháng sinh trên mỗi kg premix với số kg premix đã sử dụng.
- DDDvet là các đơn vị đo lường kỹ thuật nhằm mục đích báo cáo dữ liệu tiêu thụ kháng sinh được xây dựng bởi Cơ quan Dược Phẩm Châu Âu (EMA) vào năm 2016. Liều xác định hằng ngày cho động vật (DDDvet) và liều xác định theo đợt điều trị cho cho động vật (DCDvet) đối với kháng sinh được áp dụng cho bò, heo và gà (EMA, 2016).
- Số ngày có nguy cơ là số ngày nuôi heo thực tế tại trại
- Số động vật có nguy cơ là số heo nuôi thực tế tại trại
- Loại động vật và trọng lượng tiêu chuẩn tương ứng (kg) tại thời điểm điều trị. Tổng trọng lượng động vật tại thời điểm điều trị (kg) bằng số động vật nhân với trọng lượng tiêu chuẩn ước đoán tại thời điểm điều trị đối với heo: heo theo mẹ là 4kg, heo cai sữa là 12kg, heo vỗ béo 50kg và heo nái là 220kg (EMA, 2013).

Như vậy, mg/PCU cho phép xác định cụ thể tổng lượng kháng sinh/từng loại kháng sinh sử dụng cho một kilogram quần thể động vật nhất định. Tuy nhiên, PCU được thiết lập dựa trên dữ liệu điều tra quần thể động vật, dữ liệu giết mổ và xuất/nhập

khẩu được sử dụng tại cấp quốc gia (EMA, 2011). Lượng kháng sinh sử dụng cũng phụ thuộc vào các nguồn liên quan đến các thành viên tham gia cung cấp dữ liệu từ nhiều nguồn khác nhau như nhà cung cấp, nhà chăn nuôi hay các đơn vị xuất nhập khẩu,.... Vì vậy, mức độ bao phủ dữ liệu mg/PCU cũng sẽ phụ thuộc vào nhiều nguồn dữ liệu liên quan. Trong khi đó, TI là một tỉ lệ, nó đo lường mức tiêu thụ kháng sinh theo thời điểm có nguy cơ. Mức rủi ro về thời gian hiển thị tổng số lần mà động vật thực sự được giữ trong trang trại. Khi tính TI, toàn bộ thời gian có hoặc không có sử dụng kháng sinh trong một quần thể đều được đưa vào. Do đó, TI cho thấy một bức tranh chi tiết, chính xác hơn về tình hình quần thể được nghiên cứu. Tuy nhiên, để thuận tiện cho việc tính toán TI, cần phải thu thập nhiều dữ liệu chi tiết hơn ở cấp độ trang trại. TI thể hiện lượng kháng sinh sử dụng tính trên từng nhóm động vật tại trang trại, có ý nghĩa “ca điều trị theo ngày”, cho phép xác định số ngày điều trị bằng kháng sinh trong toàn giai đoạn nuôi hay số động vật được điều trị bằng kháng sinh, từ đó đánh giá tình hình chung của đàn về dùng kháng sinh hay thậm chí là sức khỏe đàn.

## **1.5 An toàn sinh học và tác động của an toàn sinh học đến sử dụng kháng sinh**

### **1.5.1 An toàn sinh học và đánh giá an toàn sinh học trong chăn nuôi heo**

#### **1.5.1.1 An toàn sinh học trong chăn nuôi heo**

An toàn sinh học bao gồm an toàn sinh học bên ngoài và an toàn sinh học bên trong. Trong đó, an toàn sinh học bên ngoài là biện pháp ngăn chặn sự xâm nhập của các mầm bệnh từ bên ngoài vào trong trại như mua động vật và tinh dịch; vận chuyển động vật, loại bỏ phân, động vật chết; thức ăn, nước uống, thiết bị, khách tham quan và công nhân và kiểm soát côn trùng/chim; môi trường và vùng đất. An toàn sinh học bên trong nhằm ngăn chặn sự lây lan mầm bệnh trong đàn bao gồm quản lý dịch bệnh; quản lý thời kỳ đẻ và bú mẹ; thời kỳ cai sữa, thời kỳ vỗ béo; kiểm soát phân luồng làm việc trong các ô chuồng và sử dụng thiết bị; vệ sinh và khử trùng. Mức độ an toàn sinh học cao hơn dẫn đến sức khỏe và năng suất vật nuôi được cải thiện; giảm việc sử dụng kháng sinh là những đặc điểm quan trọng của chăn nuôi bền vững (Ribbens và ctv, 2008).

#### **Các yếu tố an toàn sinh học bên ngoài**

##### **Thay đàn**

Để duy trì năng suất mong muốn trong chăn nuôi, việc thay đàn nái là cần thiết và có thể nhận thú từ bên trong hoặc bên ngoài. Việc sử dụng heo thay thế từ đàn nội bộ giúp trang trại hoạt động như một hệ thống khép kín và dựa vào con đực hoặc tinh dịch để cải thiện di truyền, tuy nhiên hình thức này gây khó khăn cho việc loại bỏ các bệnh lưu hành trong trang trại. Việc thay thế bên ngoài được ưu tiên hơn để kiểm soát hoàn toàn mọi khía cạnh quản lý và sức khỏe của heo hậu bị thay thế. Tuy nhiên, tần suất nhập heo mới càng cao thì khả năng xâm nhập mầm bệnh càng lớn và việc duy trì khả năng miễn dịch của đàn đối với các mầm bệnh đặc hữu ở trang trại càng khó khăn hơn. Việc sử dụng tinh dịch trên heo tại trang trại cũng dẫn đến các ảnh hưởng tương tự. Nếu phải dựa vào các nguồn từ bên ngoài, cách quản lý những động vật mới sẽ trở thành chìa khóa thành công. Hiện nay, cách tổ chức sản xuất hiệu quả nhất là theo đợt phối giống/đẻ (hàng tuần hoặc 3 tuần một lần). Trong các hệ thống này, rào cản an toàn sinh học đầu tiên là thiết lập danh sách các yêu cầu về sức khỏe đối với nguồn heo hậu bị. Danh sách này phải phân loại bệnh dựa trên mức độ rủi ro và những xét nghiệm cần được thực hiện (Alarcón và ctv, 2021).

### **Cách ly**

Khu cách ly phải được thiết kế để tránh sự lây lan của bất kỳ mầm bệnh nào do động vật được cách ly mang tới. Do vậy, khu cách ly phải cách xa khu vực chính của trang trại và được quản lý độc lập. Các khu kiểm dịch cần được quản lý theo hệ thống vào/ra nghiêm ngặt, nằm cách cơ sở chăn nuôi khác ít nhất 1km. Tuy nhiên, một số mầm bệnh như virus gây bệnh Aujeszky, lở mồm long móng, rối loạn hô hấp sinh sản hoặc *M. hyopneumoniae* đã được báo cáo là lây truyền hoặc có thể lan truyền qua đường không khí với khoảng cách lên đến 9-20 km (Otake và ctv, 2010). Bộ lọc không khí làm giảm sự xâm nhập của *A. pleuropneumoniae*, *M. hyopneumoniae* đã được ghi nhận (Dee và ctv, 2004).

Mối liên hệ chính giữa khu cách ly và trang trại là nhân sự. Việc truyền mầm bệnh từ người sang heo chủ yếu liên quan đến vai trò của con người. Sử dụng quần áo, ủng, găng tay kết hợp với rửa tay là những biện pháp bắt buộc tối thiểu và cần tầm trước khi rời khỏi khu cách ly.

Thời gian cách ly sẽ được xác định bởi các bệnh có trong danh sách và sự sẵn có của các phương tiện chẩn đoán. Động vật phải được kiểm tra hàng ngày để phát

hiện bất kỳ dấu hiệu bệnh nào (Amass và ctv, 2004). Thời gian cách ly có thể kéo dài cho đến khi bệnh không còn là mối đe dọa nữa, loại bỏ những cá thể dương tính và mở rộng cách ly những cá thể khác bằng cách theo dõi liên tục, đến khi hoàn thành việc cách ly và giám sát ở trang trại đích.

### **Người và phương tiện**

Các biện pháp rào cản và quy định hạn chế vào trang trại giúp giảm thiểu rủi ro liên quan đến các chuyến tham quan. Danh sách những người có thể hoặc không thể vào trại cần được xây dựng chi tiết và nêu rõ các quy định, hành động cần thực hiện nhằm giảm thiểu những rủi ro. Biện pháp cần thiết để hạn chế khách và phương tiện đi lại trong trang trại là thiết lập ranh giới rõ ràng giữa khu vực sạch và bẩn (Filippitzi, 2018). Khu vực sạch là những khu vực bên trong trang trại, tiếp xúc với heo gồm chuồng trại, văn phòng, hành lang nổi và tất cả các khu vực, thiết bị tiếp xúc với heo. Khu vực bẩn là những nơi có thể chứa nguồn lây nhiễm cho heo. Cửa ra vào, tường, phòng thay đồ, vòi sen hoặc đường sơn trên sàn có thể là ranh giới giữa khu vực sạch và bẩn. Không được phép đi từ khu vực bẩn sang khu vực sạch mà không thực hiện các biện pháp an toàn sinh học. Đường sạch và đường bẩn cũng có thể tồn tại. Đường bẩn được sử dụng cho các phương tiện giao thông phục vụ nhiều công ty hoặc trang trại.

Hàng rào chu vi có cửa đóng vĩnh viễn, chỉ có thể mở từ bên trong trang trại, là sự phân chia chính giữa khu vực bên trong và bên ngoài trang trại. Hàng rào này còn giúp hạn chế sự tiếp cận của động vật hoang dã như heo rừng có nguy cơ truyền lây bệnh như dịch tả heo cổ điển hoặc dịch tả heo Châu Phi (Moennig, 2015).

Phải bố trí một khu vực đậu xe bên ngoài trang trại cho tất cả những hoạt động không yêu cầu xe vào trang trại (Hege và ctv, 2002). Một số hoạt động có tiếp xúc với trang trại như vận chuyển thức ăn chăn nuôi, thu gom xác động vật chết hoặc phân cần có bố trí thích hợp. Đối với thức ăn chăn nuôi, thích hợp nhất là đặt các silo chứa thức ăn gần hàng rào chu vi, cho phép lấy thức ăn từ xe tải mà không cần phải vào trang trại. Các thùng đựng xác động vật chết và bể chứa phân phải được bố trí ngay bên ngoài hàng rào chu vi. Ở những trang trại mà thiết kế không cho phép điều đó, việc phân định rõ ràng đường đi, phân chia khu vực sạch/bẩn là điều cần thiết (Amass và ctv, 2004).

### **Vận chuyển động vật**

Các phương tiện dùng để vận chuyển động vật giữa các trang trại hoặc đến lò mổ và người điều khiển các phương tiện này có thể đóng vai trò quan trọng trong việc truyền mầm bệnh giữa các trang trại (Pitkin và ctv, 2009). Để giảm thiểu rủi ro cần xác định mục đích sử dụng của phương tiện. Không sử dụng xe tải vận chuyển động vật khỏe mạnh, an toàn để vận chuyển động vật bệnh. Việc vệ sinh và khử trùng xe tải phải được thực hiện một cách có kế hoạch và tận tâm. Làm sạch và khử trùng xe là một công việc rất khó thực hiện trên thực tế. Các mẫu thu thập từ xe tải của lò mổ dương tính với *Salmonella* sau quy trình làm sạch và khử trùng (Mannion và ctv, 2008). Các giải pháp thay thế như sấy khô hoặc hộp làm nóng được đề nghị và những mẫu thu thập từ xe tải được rửa, khử trùng và sấy khô đã không tìm thấy virus PRRS bằng RT-PCR và cũng không xảy ra sự lây truyền sang heo (Dee và ctv, 2004; Canadian Swine Health Board, 2011).

### **Vùng lân cận**

Mầm bệnh có thể lây lan từ trang trại sang vùng lân cận thông qua không khí. Khoảng cách mà mầm bệnh có thể lan truyền qua không khí là khác nhau và cũng sẽ phụ thuộc vào điều kiện thời tiết. FMDV có sự lan truyền qua không khí ở khoảng cách xa tới 10 km và dễ xảy ra hơn khi độ ẩm cao (> 60%), gió tốc độ thấp với hướng ổn định, mây che phủ, nhiệt độ dưới 27°C và không có mưa (Hermann và ctv, 2007). PRRSV có khả năng tồn tại trong khí dung ở nhiệt độ 20°C. Các biện pháp ngăn chặn sự lây truyền bằng cách dựng hàng rào hoặc trồng cây xung quanh trang trại như một rào cản đối với hướng gió hoặc lắp đặt bộ lọc không khí.

### **Thức ăn và nước**

Bản thân thức ăn chăn nuôi thường không gây ra rủi ro do các điều kiện vệ sinh trong quá trình sản xuất, đặc biệt nếu thức ăn được xử lý bằng nhiệt. Tuy nhiên, PEDV, ASFV, SVA, PRV và FMD có thể có trong nguyên liệu thức ăn (Dee và ctv, 2016). Chất phụ gia như các acid hữu cơ (formic, lactic hoặc propionic), các axit béo và tinh dầu đã được chứng minh có hiệu quả chống lại một số mầm bệnh (Cochrane và ctv, 2018).

Các mầm bệnh có sự lây truyền qua đường miệng, phân đều có khả năng lây truyền qua nước. PRRS liên quan đến lây truyền qua không khí và nước cũng như

việc di chuyển của con người hoặc động vật (Silva và ctv, 2018). Leptospirosis là bệnh phổ biến lây lan từ chuột và các động vật khác làm ô nhiễm nguồn nước. Vì vậy, nước cần được kiểm tra thường xuyên, đánh giá chất lượng ít nhất mỗi năm một lần (Román và ctv, 2006). Hệ thống nước, bể chứa và đường ống phải được làm sạch và khử trùng định kỳ vì vi khuẩn có thể tạo màng sinh học. Các kỹ thuật xử lý nước thông thường bao gồm loại bỏ vật lý các chất gây ô nhiễm hóa học và sinh học thông qua quá trình lọc thẩm thấu ngược và/hoặc sử dụng tia cực tím hoặc chất khử trùng như clo, cloramine và ozone (Betancourt và Joan, 2004).

Vaccin là một phần thiết yếu của an toàn sinh học bên trong. Những tiến bộ gần đây trong sinh học phân tử đã tạo ra vaccin hiệu quả hơn giúp ngăn ngừa bệnh trên heo hoặc bệnh truyền lây giữa heo và người như cúm heo (Layton và ctv, 2017).

### **Động vật nguy hại và chim**

Động vật gặm nhấm đóng vai trò quan trọng trong việc lây lan một số mầm bệnh trong một trang trại heo cũng như trong việc đưa mầm bệnh từ một trang trại lân cận vào. Loài gặm nhấm rất đáng chú ý trong việc truyền các vi sinh vật như *B. hyodysenteriae* (bệnh lỵ ở heo), bệnh leptospirosis, PRRSV, *Salmonella*, *E. coli* và *L. intracellularis*. Vật nuôi (chó và mèo) có thể đóng vai trò là vật trung gian gián tiếp cho các tác nhân truyền nhiễm khi chúng vào chuồng. Theo cách này, chúng có thể mang vật liệu truyền nhiễm đến quần thể heo nhạy cảm tại trang trại. Vì vậy, việc kiểm soát chuột bằng vật nuôi không phải là phương pháp lý tưởng và do đó hoàn toàn không được khuyến khích (Vangroenweghe và ctv, 2009).

Chim có thể lây truyền mầm bệnh trực tiếp hoặc gián tiếp cho đàn heo như *Bordetella* spp., *Salmonella* spp. (Filippitzi và ctv, 2017). Côn trùng cũng có thể là tác nhân lây truyền nhiều mầm bệnh liên quan đến heo như *Salmonella* spp., TGEV, *S. suis*, PRRSV và PCV2 (Otake và ctv, 2003).

### **Các yếu tố an toàn sinh học bên trong**

#### **Quản lý**

Các biện pháp quản lý bao gồm kiểm soát sự di chuyển của heo để tránh trộn lẫn heo ở các nhóm tuổi khác nhau, áp dụng nghiêm ngặt hệ thống cùng vào/cùng ra; làm sạch và khử trùng cơ sở vật chất cho các lứa heo mới. Các biện pháp này có hiệu quả trong việc giảm sự lưu hành của mầm bệnh và giảm sử dụng thuốc ở các trang

trại. Heo nái là ổ chứa nhiều mầm bệnh có trong trang trại, tách heo con khỏi mẹ sớm hơn sẽ ngăn chặn sự lây truyền này, làm giảm hoặc có thể loại bỏ sự hiện diện của một số bệnh. Dù vậy, điều này gây bất lợi cho sức khỏe của heo và không phù hợp với tiêu chuẩn phúc lợi động vật. Ngoài ra, cần thiết lập quy trình làm việc theo hạng heo, từ heo con đến heo ở các lứa tuổi lớn hơn (Isomura và ctv, 2018).

### **Cơ sở vật chất và vệ sinh, khử trùng**

Các cơ sở vật chất phải góp phần làm giảm sự lây truyền bệnh tật hoặc hạn chế tạo điều kiện cho mầm bệnh lây lan. Cơ sở vật chất tốt cho phép tổ chức công việc một cách hiệu quả, góp phần tạo sự tách biệt các hạng heo trong trại. Ở các trang trại được thiết kế hoặc quy hoạch kém, vật nuôi phải di chuyển giữa các khu vực khác nhau để bốc dỡ hoặc di chuyển giữa các giai đoạn sản xuất. Điều này có thể hạn chế bằng các rào chắn vật lý như cửa ra vào, bồn ngâm chân hoặc khu vực trung gian để rửa tay và thay ủng. Tuy nhiên, các biện pháp rào cản này có xu hướng cản trở thói quen làm việc. Vì vậy, để tăng tính thực thi, các khu vực khác nhau có thể được sơn bằng các màu khác nhau và sử dụng quần áo, ủng có màu tương ứng. Bản chất của vật liệu được sử dụng trong cơ sở vật chất là một yếu tố quan trọng. Sàn kim loại và nhựa sạch hơn nhưng ảnh hưởng đến sự thoải mái của vật nuôi. Chất độn chuồng bằng rơm rất thoải mái nhưng làm tăng nguy cơ bùng phát bệnh tiêu chảy (Isomura và ctv, 2018).

Việc thay kim tiêm cho mỗi cá thể heo là rất khó thực hiện trên thực tế và được xem là lãng phí thời gian. Tuy nhiên, tối thiểu là phải sử dụng kim tiêm riêng cho từng heo nái, thay kim tiêm cho mỗi lứa heo hoặc mỗi ô chuồng. Nâng cao ý thức của người chăn nuôi về tầm quan trọng của thực hành này là điều cần thiết.

### **Nhân sự**

Nhân sự là yếu tố then chốt để đảm bảo an toàn sinh học bên trong. Một mặt con người là nhân tố thực hiện các quy định nhưng mặt khác có thể là phương tiện lây lan mầm bệnh trong trại. Sử dụng màu sắc phân biệt các khu vực, giày ủng, quần áo hữu ích cho mục đích này. Sử dụng găng tay, rửa tay và ngâm ủng hoặc thay ủng theo khu vực sẽ làm giảm lây lan mầm bệnh trong trang trại. Ủng được làm sạch bằng nước, sử dụng bàn chải và xà phòng, sau đó ngâm ủng sạch trong dung dịch khử trùng

ít nhất 5 phút và phủ ít nhất 15 cm chiều cao bề mặt ủng, đế ủng. Tốt nhất là nên thay dung dịch khử trùng hằng ngày (Postma, 2008).

#### **1.5.1.2 Các phương pháp đánh giá an toàn sinh học**

Cách tiếp cận của các phương pháp đánh giá an toàn sinh học là tạo ra một điểm số cho trang trại từ việc tổng hợp điểm số của các thực hành an toàn sinh học khác nhau (Correge và ctv, 2019). Một số hệ thống tính điểm đã được phát triển trong đó, Đại học Ghent, Bỉ đã phát triển hệ thống chấm điểm an toàn sinh học Biocheck.UGent™. Biocheck.UGent™ (<https://biocheckgent.com/en>) là ứng dụng đánh giá an toàn sinh học được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu. Postma và ctv (2008) đã phát triển thành công hệ thống bao gồm 6 mục đánh giá cho các yếu tố an toàn sinh học bên trong và an toàn sinh học bên ngoài. Hệ thống có thể đánh giá an toàn sinh học trong trại chăn nuôi heo, bò, gà và có thể lựa chọn một trong số 11 ngôn ngữ khác nhau, trong đó có tiếng Việt để trả lời các câu hỏi. Mỗi nội dung đánh giá có từ 6-13 câu hỏi, tổng số 109 câu hỏi. Kết quả phân tích từ Biocheck.Ugent™ sẽ đánh giá điểm của các yếu tố an toàn sinh học bên trong và bên ngoài, thông qua bảng kết quả biểu thị bằng tỉ lệ (%) và biểu đồ so sánh điểm an toàn sinh học của trại được đánh giá với điểm an toàn sinh học của khu vực và toàn cầu.

#### **1.5.2 Tác động của an toàn sinh học đến sử dụng kháng sinh**

Nhiều nghiên cứu đánh giá mối liên hệ giữa an toàn sinh học với sử dụng kháng sinh được thực hiện làm cơ sở cho việc cải thiện các yếu tố an toàn sinh học đã được thực hiện. Kết quả cho thấy ảnh hưởng của các yếu tố an toàn sinh học đến sử dụng kháng sinh ở trang trại có sự khác nhau giữa các nghiên cứu. Tuy nhiên, tất cả đều cho thấy khi an toàn sinh học được cải thiện, thực thi tốt, mầm bệnh được kiểm soát tốt hơn đã làm giảm sử dụng kháng sinh ở trang trại.

An toàn sinh học được cải thiện có thể làm giảm sử dụng kháng sinh trên heo mà không gây nguy hiểm cho kết quả sản xuất. Nghiên cứu trên đàn heo ở Bỉ cho thấy những đàn có điểm an toàn sinh học bên trong cao hơn, có tỉ lệ điều trị (TI) thấp hơn, cho thấy rằng an toàn sinh học được cải thiện có thể giúp giảm lượng kháng sinh được sử dụng (Laanen và ctv, 2013).

Các biện pháp an toàn sinh học như khử trùng khu vực chất hàng, cách ly heo nái hậu bị, cơ cấu trang trại/dây chuyền làm việc và các biện pháp thực hành toàn



diện/tất cả đều có liên quan đáng kể đến giảm sử dụng kháng sinh. Tuổi cai sữa cao hơn (>24 ngày), hệ thống quản lý cai sữa từ 5 tuần trở lên và mức độ an toàn sinh học bên ngoài có liên quan đáng kể đến việc giảm tỉ lệ điều trị bằng kháng sinh (Postma và ctv, 2016). Mức độ an toàn sinh học bên trong có liên quan tích cực đến việc kiểm soát các bệnh truyền nhiễm và giảm nhu cầu sử dụng kháng sinh (Collineau và ctv, 2017). Với “Hệ thống Thẻ vàng” ở Đan Mạch, nông dân và bác sĩ thú y đã thực hiện các biện pháp nhằm giảm mức tiêu thụ kháng sinh hàng năm từ 10% trở lên. Quy trình làm sạch, hành động thích hợp liên quan đến động vật bị bệnh, hệ thống cùng vào/cùng ra đều được nông dân và bác sĩ thú y nhận định như là phương tiện để giảm sử dụng kháng sinh. Yếu tố rủi ro khiến sử dụng kháng sinh nhiều hơn liên quan đến các trang trại chăn nuôi heo nằm ở khu vực đông dân cư, có xu hướng áp dụng kém các biện pháp an toàn sinh học cho khách tham quan và công nhân hay điểm an toàn sinh học bên ngoài thấp sẽ dẫn đến nhiều phương pháp điều trị nhiễm trùng hơn cho heo từ khi sinh ra cho đến khi giết mổ đã được ghi nhận (Raasch và ctv, 2018).

Mức độ cải thiện sử dụng kháng sinh ở trang trại thông qua can thiệp các biện pháp quản lý an toàn sinh học cụ thể đã được báo cáo. Nghiên cứu tại Bỉ về can thiệp sử dụng kháng sinh thông qua an toàn sinh học được thực hiện trên 61 đàn heo. Chúng ngừa bổ sung bệnh viêm teo mũi truyền nhiễm, *E. coli*, bệnh Glassers, bệnh cúm và PCV2, kết hợp tẩy giun sán và các xét nghiệm chẩn đoán bổ sung được kết hợp thực hiện. Trong chuyến thăm đầu tiên, thông tin quản lý đàn, tình trạng an toàn sinh học, chiến lược tiêm phòng, liệu pháp tẩy giun sán và sử dụng kháng sinh được thu thập. Thông tin này sau đó được chuyển thành một kế hoạch hành động cụ thể cho từng đàn và kế hoạch này đã được thảo luận với người nông dân và bác sĩ thú y/các cố vấn khác trong chuyến thăm thứ hai và dữ liệu được thu thập ở chuyến thăm cuối. Kết quả cho thấy đã cải thiện 2,4 điểm an toàn sinh học bên ngoài và 7 điểm an toàn sinh học bên trong kết hợp với việc tiêm phòng bổ sung, tẩy giun sán và sử dụng kháng sinh thận trọng. Cụ thể đã giảm 52% lượng kháng sinh sử dụng đối với heo từ khi sinh ra đến khi giết mổ và 32% đối với heo sinh sản dựa trên tỉ lệ điều trị (TI), giảm đáng kể việc sử dụng các kháng sinh cực kỳ quan trọng. Ngoài ra, năng suất chăn nuôi cũng cải thiện đáng kể như số lượng heo con cai sữa trên mỗi heo nái mỗi năm, tăng trọng hằng ngày và giảm tỉ lệ chết ở giai đoạn xuất chuồng. Các biện pháp can

thiệp có hướng dẫn như một nỗ lực của nông dân, bác sĩ thú y/cố vấn khác là một giải pháp đầy hứa hẹn để giảm sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi heo (Postma và ctv, 2017).

Một nghiên cứu khác trên 68 đàn heo ở Bỉ, Pháp, Đức và Thụy Điển đã được thực hiện trên cơ sở tự nguyện áp dụng các kế hoạch can thiệp phù hợp nhằm giảm sử dụng kháng sinh, bao gồm cải thiện an toàn sinh học, tiêm phòng, thay đổi chế độ cho ăn hoặc chất lượng nước uống, cải thiện sức khỏe và chăm sóc phúc lợi, thay đổi tiêu khí hậu chuồng nuôi và các biện pháp kỹ thuật chăn nuôi. Các đàn được theo dõi trong 1 năm sau khi thực hiện các biện pháp. Hồ sơ sử dụng kháng sinh, hồ sơ điều trị, tỉ lệ mắc bệnh,... được thu thập và so sánh với năm trước khi can thiệp. Sử dụng kháng sinh được đánh giá bằng tỉ lệ điều trị theo nhóm tuổi, nhóm kháng sinh và đường dùng. Kết quả cho thấy mức độ tuân thủ các kế hoạch can thiệp ở các trại đạt tỉ lệ cao (93%). Sử dụng kháng sinh đã giảm đáng kể sau khi thực hiện các biện pháp thay thế, số heo được điều trị bằng kháng sinh trung bình là 25% trước can thiệp và 16% sau can thiệp. Tỉ lệ giảm sử dụng kháng sinh trên heo con theo mẹ và heo cai sữa lần lượt là 37% và 54%. Kháng sinh polymyxin và tetracycline có tỉ lệ giảm đáng kể lần lượt là 69% và 49%. Kháng sinh dùng qua đường tiêu hoá và đường tiêm đã giảm đáng kể lần lượt là 46% và 36%. Những đàn có mức sử dụng kháng sinh cao trước khi can thiệp đạt mức giảm sử dụng kháng sinh nhiều hơn các đàn khác sau khi can thiệp. Tỉ lệ mắc bệnh trước và sau can thiệp là như nhau, ngoại trừ một số bệnh liên quan đến đường tiêu hóa có giảm ở heo con theo mẹ nhưng lại tăng ở heo giống (Raasch và ctv, 2020).

Tại Việt Nam, các đánh giá an toàn sinh học đã thực hiện cho thấy hiện trạng an toàn sinh học tại các trại heo khảo sát còn nhiều khía cạnh chưa được thực thi tốt. Bên cạnh đó, các đánh giá về mối liên quan giữa an toàn sinh học với sử dụng kháng sinh và đề kháng chưa được thực hiện. Do đó, các nghiên cứu tiếp theo về an toàn sinh học và mối liên quan giữa an toàn sinh học với sử dụng kháng sinh hay đề kháng kháng sinh là thực sự cần thiết.

Chính vì thế, các nội dung đã được thảo luận liên quan đến phương pháp phân lập, định danh và đánh giá đề kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo; sử dụng kháng sinh, an toàn sinh học cũng như các phương pháp đánh giá sử

dụng kháng sinh, an toàn sinh học và những tác động của an toàn sinh học đến sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi heo là cơ sở khoa học quan trọng để xây dựng phương pháp nghiên cứu nhằm thực hiện các mục tiêu của luận án.

## **Chương 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1 Thời gian và địa điểm**

**2.1.1 Thời gian:** từ tháng 09/2017-05/2023

**2.1.2 Địa điểm:**

- Thu thập mẫu dịch mũi, đánh giá an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh được thực hiện tại các trang trại chăn nuôi heo thuộc khu vực Đồng Nai, Bình Dương; Bà Rịa -Vũng Tàu; thu thập mẫu phổi tại lò mổ ở Bình Dương và TP.HCM
- Phân lập, định danh và đánh giá miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn được thực hiện tại phòng thí nghiệm Bộ môn Khoa học Sinh học Thú y, Bệnh viện Thú y trường Đại học Nông Lâm TP.HCM.

### **2.2 Nội dung nghiên cứu**

- Nội dung 1: Phân lập các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo
- Nội dung 2: Đánh giá miễn cảm kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo
- Nội dung 3: Đánh giá mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh và đề kháng kháng sinh
- Nội dung 4: Đánh giá ảnh hưởng của an toàn sinh học đến sử dụng kháng sinh

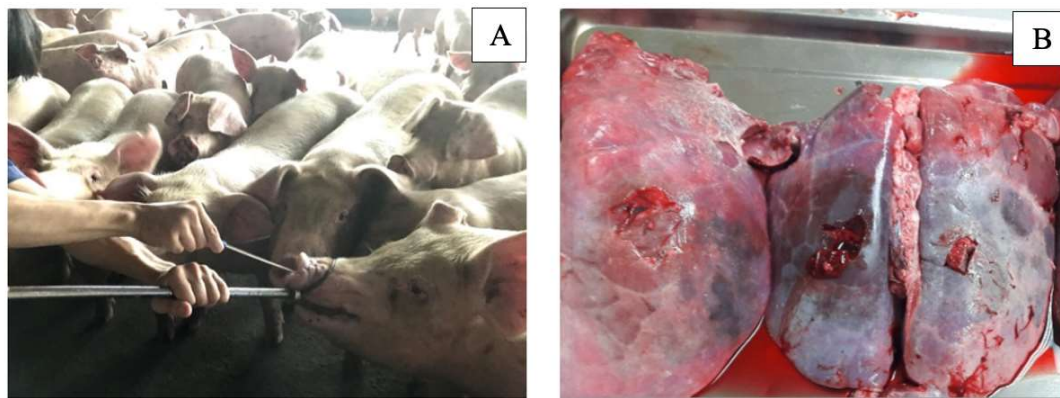
### **2.3 Phương pháp nghiên cứu**

#### **2.3.1 Nội dung 1: Phân lập các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo**

##### **Thu thập mẫu**

Tổng số 569 mẫu bệnh phẩm gồm 337 mẫu dịch mũi heo được thu thập tại 15 trại chăn nuôi heo giai đoạn từ cai sữa đến xuất thịt thuộc khu vực Bình Dương, Đồng Nai và Bà Rịa - Vũng Tàu và 232 mẫu phổi được thu thập tại 2 lò mổ thuộc Bình Dương và TP.HCM (Phụ lục 1, Phụ lục 3). Mẫu dịch mũi được thu thập trên những heo được nuôi tại trại có biểu hiện bệnh hô hấp như sốt, ho, chảy dịch mũi, thở ngò, thở thở bụng, da tím tái. Dịch mũi được lấy bằng cách dùng tăm bông vô trùng ngoáy sâu vào bên trong mũi heo, sau đó tiếp tục cho tăm bông vào eppendorf vô trùng.

Mẫu phổi trên nhóm heo tại lò mổ có các bệnh tích như xuất huyết, hoại tử, hay viêm phổi dính sườn sẽ được thu thập ngẫu nhiên và để riêng từng mẫu trong các túi sinh học (Hình 2.1). Các dụng cụ lấy mẫu như dao, kéo, panh kẹp phải được sát trùng bằng cồn ethanol 70% trước và sau khi lấy mẫu. Các mẫu được ghi thông tin rõ ràng, bảo quản trong thùng đựng mẫu có nhiệt độ từ 2 - 8<sup>0</sup>C và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 12 giờ để tiến hành các xét nghiệm tiếp theo (Bộ NN&PTNT, 2011).



**Hình 2.1** (A) Thu thập mẫu dịch mũi và (B) mẫu phổi

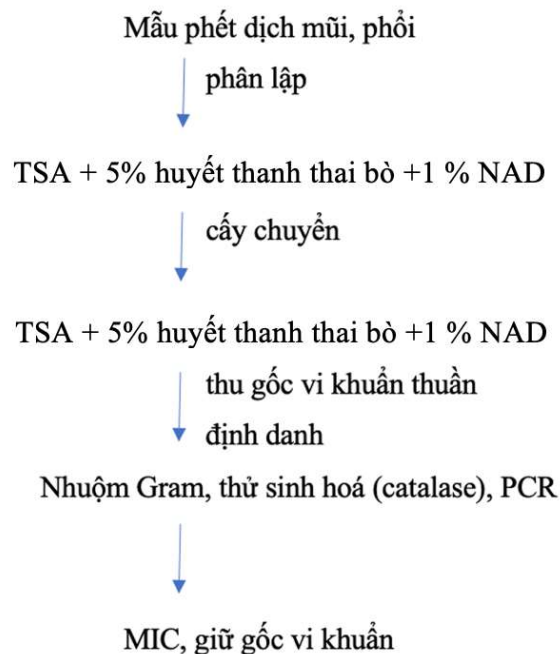
### **Phân lập**

Phương pháp phân lập các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo trong nghiên cứu này được thực hiện theo công bố Zhao và ctv, (2011) và quy trình thường qui phân lập vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo của Phòng thí nghiệm trọng điểm vi sinh nông nghiệp thuộc Đại học Nông nghiệp Huazhong, Trung Quốc (Sơ đồ 2.1).

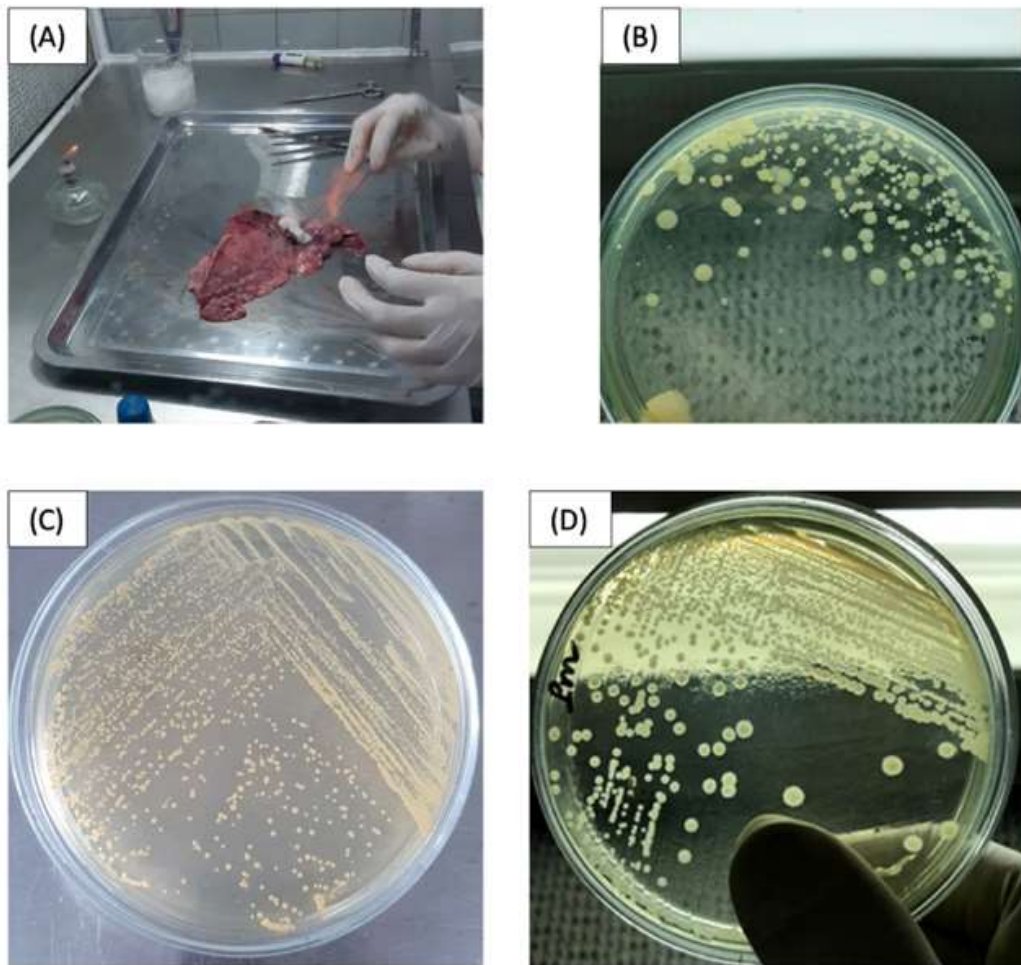
Môi trường TSA (Tryptic soy agar (105458), Merck, Đức) bổ sung 5% huyết thanh thai bò (Gibco™ Fetal Bovine Serum (16000044), Thermo Fisher Scientific, Mỹ) và 1% NAD (nicotinamide adenin nucleotide (N6879), Merck, Đức) được sử dụng để phân lập. Mỗi mẫu bệnh phẩm được cấy trên 1 đĩa TSA ở bước phân lập ban đầu và một khuẩn lạc nghi ngờ của của mỗi loại vi khuẩn sẽ được cấy chuyển sang 1 đĩa TSA lần 2.

Đối với mẫu dịch mũi, phết tăm bông ngoáy dịch mũi trực tiếp ở một góc trên đĩa thạch, sau đó dùng que cấy để cấy rìa những đường cấy còn lại. Đối với mẫu phổi,

bề mặt phổi được đốt bằng cồn, sau đó dùng kéo đã được đốt trên đèn cồn cắt sâu vào phần mô phổi bên trong, đồng thời cắt lấy một mẫu phổi nhỏ và phết lên đĩa, tiếp tục cấy ria bằng que cấy. Trên môi trường TSA bổ sung 5% huyết thanh thai bò + 1% NAD, trong điều kiện nuôi cấy hiếu khí ở 37°C, khuẩn lạc *P. multocida* (trắng, to, nhẵn bóng) và *B. bronchiseptica* (trắng đục, to) hình thành sớm, trong vòng 24 giờ, *H. parasuis* và *A. pleuropneumoniae* (nhỏ, trong mờ) hình thành trễ hơn trong vòng 36-48 giờ. Các khuẩn lạc sau đó được định danh bước đầu bằng nhuộm Gram (cầu trực khuẩn hoặc sợi, Gram âm), thử phản ứng catalase (*P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *H. parasuis* dương tính, *A. pleuropneumoniae* âm tính), sau đó khuẩn lạc nghi ngờ được cấy chuyển sang môi trường TSA bổ sung 5% huyết thanh thai bò + 1% NAD lần thứ hai để thu khuẩn lạc thuần (Hình 2.2), tiếp tục định danh bằng kỹ thuật PCR dựa trên phát hiện gen *16S rRNA* (*H. parasuis*), *apxIVA* (*A. pleuropneumoniae*), *toxA* (*P. multocida*), *fla* (*B. bronchiseptica*) với các quy trình PCR được thực hiện theo các tài liệu tham khảo được trình bày trong Bảng 2.1.



**Sơ đồ 2.1** Quy trình phân lập một số vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo



**Hình 2.2** (A) Xử lý mẫu phổi trước khi phân lập; (B) khuẩn lạc vi khuẩn trên môi trường TSA lần 1; (C) khuẩn lạc *A. pleuropneumoniae* và (D) *P. multocida* trên TSA lần 2

### **Định danh**

Ly trích DNA: DNA của vi khuẩn được ly trích bằng phương pháp sốc nhiệt. Dùng que cấy lấy 3-5 khuẩn lạc đã được cấy thuần trên môi trường TSA cho vào ống eppendorf có chứa sẵn 50  $\mu$ l TBE (tris - boric EDTA), tiếp theo đặt eppendorf vào nước đang đun sôi 100°C/5 phút, sau đó cho tủ -70°C/5 phút. Sau cùng, ly tâm dịch chiết DNA ở mức 15.000 vòng/phút trong 5 phút, hút lấy 20  $\mu$ l phần nước nổi để thu DNA vi khuẩn. Các gốc vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* ATCC 27090, *P. multocida*

ATCC 12945, *H. parasuis*, *B. bronchiseptica* giải trình tự được sử dụng làm đối chứng dương (Phụ lục 8).

Primer sử dụng cho định danh các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo được trình bày qua Bảng 2.1.

**Bảng 2.1** Primer sử dụng cho định danh các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo

| Vi khuẩn                   | Gen             | Primer              | Trình tự (5'-3')                                      | Kích cỡ (bp) | Nguồn                 |
|----------------------------|-----------------|---------------------|---|--------------|-----------------------|
| <i>A. pleuropneumoniae</i> | <i>apxIVA</i>   | AP-IVF<br>AP-IVR    | ATACGGTTAATGGCGGTAATGG<br>ACC TGA GTG CTC ACC AAC G   | 346          | Xiao và ctv, 2006     |
| <i>H. parasuis</i>         | <i>16S rRNA</i> | HPS-1<br>HPS-2      | GTG ATG AGG AAG GGT GGT GT<br>GGC TTC GTC ACC CTC TGT | 821          | Oliveira và ctv, 2001 |
| <i>P. multocida</i>        | <i>toxA</i>     | KMT1 T7<br>KMT1 SP6 | ATCCGCTATTTACCCAGTGG<br>GCTGTAAACGAAGCTCGCCAC         | 460          | Townsend và ctv, 1998 |
| <i>B. bronchiseptica</i>   | <i>fla</i>      | Fla4<br>Fla2        | TGGCGCCTGCCCTATC<br>AGGCTCCCAAGAGAGAAA                | 237          | Hobor và ctv, 1999    |

Thể tích 1 phản ứng PCR gồm 10 µl Go Taq green (Promega, Mỹ), 2 µl primer (Promega), 2 µl DNA mẫu và 6 µl H<sub>2</sub>O (nuclease free water).

Chu trình nhiệt của gen *apxIVA*, *16S rRNA* và *toxA* gồm tiền biến tính (95°C, 5 phút), sau đó khuếch đại 30 chu kỳ gồm biến tính (94°C, 30 giây), bắt cặp (58°C, 30 giây), kéo dài (72°C, 45 giây) và kéo dài cuối cùng (72°C, 10 phút) (Hričínová và ctv, 2010).

Chu trình nhiệt của gen *fla* gồm 35 chu kỳ trong đó biến tính (94°C, 15 giây), bắt cặp (53°C, 15 giây) và kéo dài (72°C, 20 giây) (Hobor và ctv, 1999).

Sản phẩm PCR (5 µl) sẽ được điện di trên gel 1,5 % agarose (Promega, Mỹ) có chứa GelRed (Biotium, Mỹ) trong môi trường TBE 0,5X, thời gian điện di là 20 phút ở hiệu điện thế 150 V, cường độ 144 mA. Kết quả điện di được đọc trên máy Biorad UV 2000. Sử dụng thang chuẩn DNA phù hợp để ước lượng kích cỡ đoạn sản phẩm PCR.

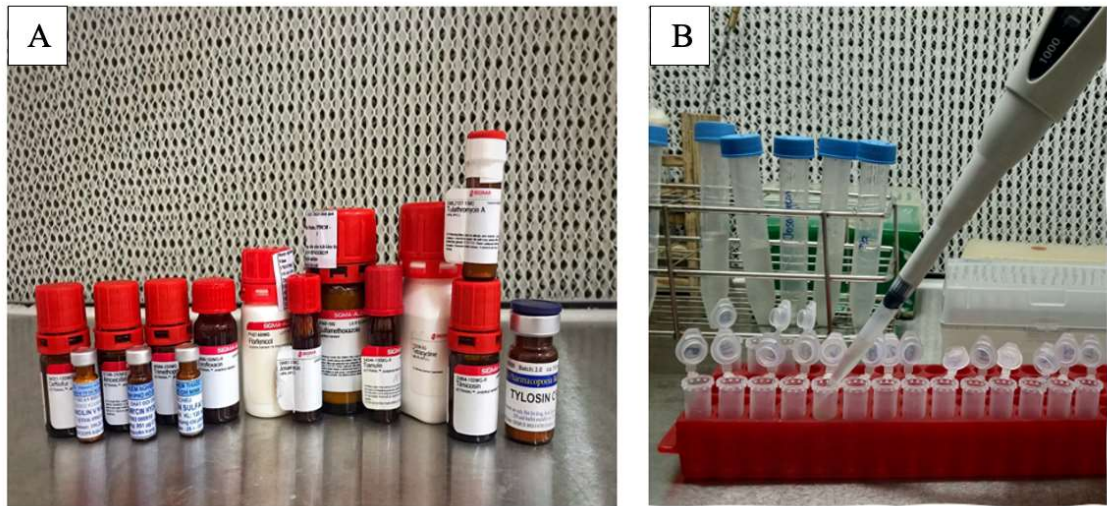


**Chỉ tiêu khảo sát:**

Tỉ lệ phân lập vi khuẩn (%) = số gốc từng loại vi khuẩn phân lập được/tổng số mẫu phân lập x 100

**2.3.2 Nội dung 2: Đánh giá mẫn cảm kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo**

Từ 103 gốc vi khuẩn đã phân lập được, nghiên cứu tiếp tục đánh giá mẫn cảm kháng sinh của các gốc vi khuẩn này. Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) được thực hiện với 14 kháng sinh gồm amoxicillin (AMO) (31586), ceftiofur (CEF) (34001), enrofloxacin (ENR) (33699), tilmicosin (TIL) (33864), florfenicol (FFN) (F1427), tiamulin (TIA) (34044), trimethoprim (46984)/sulfamethoxazole (SXT) (S7507) được sản xuất bởi Supelco (Merck), Đức; tylosin (T2880000), tulathromycin (TUL) (SML2107), tetracycline (TET) (T3258) được sản xuất bởi Sigma-Aldrich (Merck), Đức; penicillin (PEN), gentamicin (GEN), lincomycin (LIN) được cung cấp bởi Viện kiểm nghiệm Thuốc TP.HCM, Bộ Y tế (Hình 2.3). Các kháng sinh được hòa tan và pha loãng bằng các dung môi theo hướng dẫn CLSI M07-A10, 2015. Mỗi kháng sinh được pha loãng theo dãy nồng độ từ 128 - 0,015 µg/mL trong các ống eppendorf để xác định MIC. Môi trường CAMHB (CM0405), Oxoid, Anh) được sử dụng để thực hiện kỹ thuật này. Các ống đối chứng gồm CI: môi trường CAMHB + huyền dịch vi khuẩn; CM: môi trường CAMHB; CS: môi trường CAMHB + dung dịch kháng sinh được chuẩn bị để kiểm tra sự vô trùng của môi trường. Huyền dịch vi khuẩn được chuẩn bị ở nồng độ  $5 \times 10^5$  CFU/mL trong dung dịch NaCl 0,9%. Vi khuẩn *E. coli* ATCC 25922 được dùng làm đối chứng. Phương pháp MIC được thực hiện và đánh giá kết quả theo theo hướng dẫn của CLSI VET08, 2018 và một số tài liệu tham khảo (Bảng 2.2).



**Hình 2.3** (A) Các kháng sinh thử nghiệm; (B) Kỹ thuật thực hiện MIC  
**Chỉ tiêu khảo sát:**

- 1) Xác định MIC50 và MIC90 của từng loại vi khuẩn
- 2) Tỷ lệ đề kháng kháng sinh (%) =  $\frac{\text{tổng số gốc vi khuẩn đề kháng với từng loại kháng sinh}}{\text{tổng số gốc vi khuẩn thực hiện MIC}} \times 100$
- 3) Xác định kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc vi khuẩn đã phân lập
- 4) Tỷ lệ đa đề kháng

**Bảng 2.2** Tiêu chí diễn giải MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) của các kháng sinh thử nghiệm đối với *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis*, *P. multocida* và *B. bronchiseptica*

| Kháng sinh                        | Tiêu chí diễn giải MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) |     |               |                    |   |               |                     |     |               |                          |    |               |
|-----------------------------------|---|-----|---------------|--------------------|---|---------------|---------------------|-----|---------------|--------------------------|----|---------------|
|                                   | <i>A. pleuropneumoniae</i>                  |     |               | <i>H. parasuis</i> |   |               | <i>P. multocida</i> |     |               | <i>B. bronchiseptica</i> |    |               |
|                                   | S   | I   | R             | S                  | I | R             | S                   | I   | R             | S                        | I  | R             |
| Amoxicillin                       | -   | -   | -             | -                  | - | $\geq 32^d$   | -                   | -   | -             | -                        | -  | -             |
| Penicillin                        | $\leq 0,5^a$                                | -   | $\geq 2^a$    | $\leq 1$           | 2 | $\geq 4^e$    | $\leq 0,25$         | 0,5 | $\geq 1$      | $\leq 2^a$               | -  | $\geq 2^a$    |
| Ceftiofur                         | $\leq 2$                                    | 4   | $\geq 8$      | $\leq 2$           | - | $\geq 8^e$    | $\leq 2$            | 4   | $\geq 8$      | -                        | -  | $\geq 8^a$    |
| Gentamicin                        | -   | -   | $\geq 4^b$    | $\leq 1$           | - | $\geq 16^e$   | -                   | -   | $\geq 16^g$   | -                        | -  | -             |
| Enrofloxacin                      | $\leq 0,25$                                 | 0,5 | $\geq 1$      | $\leq 0,05$        | - | $\geq 2^e$    | $\leq 0,25$         | 0,5 | $\geq 1$      | -                        | -  | -             |
| Florfenicol                       | $\leq 2$                                    | 4   | $\geq 8$      | $< 0,25$           | - | $\geq 8^e$    | $\leq 2$            | 4   | $\geq 8$      | $\leq 2$                 | 4  | $\geq 8$      |
| Tetracycline                      | $\leq 0,5$                                  | 1   | $\geq 2$      | $\leq 2$           | 4 | $\geq 16^e$   | $\leq 0,5$          | 1   | $\geq 2$      | -                        | -  | $\geq 2^a$    |
| Tiamulin                          | $\leq 16$                                   | -   | $\geq 32$     | $\leq 2$           | - | $\geq 32^e$   | $\leq 16$           | -   | $\geq 32^g$   | -                        | -  | -             |
| Tilmicosin                        | $\leq 16$                                   | -   | $\geq 32$     | $< 1$              | - | $\geq 32^d$   | $\leq 16$           | -   | $\geq 32$     | -                        | -  | $\geq 32^a$   |
| Tylosin                           | -   | -   | -             | -                  | - | -             | -                   | -   | -             | -                        | -  | -             |
| Lincomycin                        | -   | -   | -             | -                  | - | -             | -                   | -   | -             | -                        | -  | -             |
| Tulathromycin                     | $\leq 64$                                   | -   | $\geq 64^c$   | -                  | - | $\geq 16^f$   | $\leq 16$           | 32  | $\geq 64$     | $\leq 16$                | 32 | $\geq 64$     |
| Trimethoprim/<br>Sulfamethoxazole | $< 4/76^a$                                  | -   | $\geq 4/76^a$ | $< 4/76$           | - | $\geq 4/76^e$ | $\leq 4/76^a$       | -   | $\geq 4/76^a$ | -                        | -  | $\geq 4/76^a$ |

**S** (susceptible): nhạy cảm, **I** (intermediate): trung gian, **R** (resistant): đề kháng; Nguồn: CLSI VET08 (2018) và một số tài liệu tham khảo (<sup>a</sup>: Dayao và ctv, 2014, <sup>b</sup>: Archambaut và ctv, 2012; <sup>c</sup>: Dayao và ctv, 2014, <sup>d</sup>: Zhou và ctv, 2010; <sup>e</sup>: de la Fuente và ctv, 2007; <sup>f</sup>: Kucerkova và ctv, 2011, <sup>g</sup>: Nedbalcova và ctv, 2013); (-): chưa có dữ liệu

### 2.3.3 Nội dung 3: Đánh giá mối liên quan giữa đề kháng kháng sinh và sử dụng kháng sinh

Đánh giá sử dụng kháng sinh ở trại có thể được thu thập bằng nhiều cách khác nhau đã được thực hiện bao gồm kết hợp các chuyến thăm đàn, kết hợp với sinh viên thực tập ở trại, hồ sơ điều trị sử dụng kháng sinh của nông dân, hóa đơn từ bác sĩ thú y và công ty thức ăn chăn nuôi kết hợp với thông tin từ người nông dân, các mẫu đơn đăng ký và phân phát từ bác sĩ thú y kê đơn (Sjölund và ctv, 2016).

Trong nghiên cứu này, các chuyến thăm đàn và thu thập dữ liệu sử dụng kháng sinh ở 35 trại chăn nuôi heo (bao gồm 15 trại heo đã lấy mẫu trước đó để phân lập vi khuẩn và đánh giá mức cảm kháng sinh) từ giai đoạn cai sữa đến xuất thịt được thực hiện. Dữ liệu sử dụng kháng sinh sẽ được thu thập trong một đợt nuôi ở mỗi trại (Phụ lục 5, Phụ lục 6). Thời gian nuôi trung bình là 153 ngày, trọng lượng trung bình heo lúc bắt đầu nuôi là 7 kg, trọng lượng trung bình lúc xuất chuồng là 106kg, ngoài ra các chỉ tiêu năng suất chăn nuôi như tỉ lệ chết, FCR, tăng trọng ngày và trọng lượng cuối cũng được thu thập (Phụ lục 7). Các chỉ tiêu năng suất chăn nuôi như tỉ lệ chết, FCR, tăng trọng ngày và trọng lượng cuối cũng được thu thập. Việc sử dụng và quản lý kháng sinh ở các trại khảo sát được thực hiện bởi bác sĩ thú y phụ trách ở trang trại đó. Dữ liệu này không chỉ là cơ sở đánh giá lượng kháng sinh sử dụng ở mỗi lứa heo, mà còn liên quan đến tính toán hiệu quả kinh tế của trang trại ở mỗi đợt nuôi. Do đó, dữ liệu sử dụng kháng sinh ở các trang trại được thu thập bằng cách kết hợp bác sĩ thú y của trại để có thể có được dữ liệu một cách đầy đủ và khách quan.

Mức tiêu thụ kháng sinh, được biểu thị bằng thể tích hoặc khối lượng được ghi nhận theo sản phẩm, hàm lượng các hoạt chất trong thành phần của mỗi sản phẩm. Sau đó, lượng kháng sinh sử dụng cho một đàn cụ thể sẽ được tính toán (Timmerman và ctv, 2006). Các thông số liên quan trong công thức tính bao gồm số ngày có nguy cơ (số ngày nuôi heo thực tế tại mỗi trại), trọng lượng trung bình của heo thịt, số lượng động vật có nguy cơ (số heo nuôi thực tế tại mỗi trại) và DDDA tham chiếu (Postma và ctv, 2016). DDDA là liều sử dụng hằng ngày được xác định. Giá trị thu được là tỉ lệ điều trị (TI, treatment incidences), đơn vị đo lường kỹ thuật để định lượng số heo được điều trị hằng ngày bằng kháng sinh trong một nhóm giả định gồm 1000 con heo. Chỉ số này cũng tương đương với số ngày mà một con heo sẽ được

điều trị bằng kháng sinh, nếu nó sống trong khoảng thời gian lý thuyết giả định là 1000 ngày. TI được tính bằng công thức sau:

$$TI = \frac{\text{tổng lượng kháng sinh sử dụng của 1 trại (mg)}}{\text{DDDA(mg/kg) x số ngày nuôi heo x số heo thịt được nuôi x trọng lượng trung bình của heo thịt (kg)}} \times 1000 \text{ (heo)}$$

Đánh giá đề kháng kháng sinh đã được thảo luận ở nội dung trước. Mỗi liên quan giữa sử dụng kháng sinh và đề kháng kháng sinh sẽ được phân tích dựa trên các chỉ tiêu khảo sát gồm:

- 1) Lượng kháng sinh sử dụng của các trại khảo sát thông qua TI từng hoạt chất kháng sinh và TI tổng được tính theo công thức trên
- 2) Mỗi liên quan giữa đề kháng kháng sinh và sử dụng kháng sinh

#### **2.3.4 Nội dung 4: Đánh giá ảnh hưởng của an toàn sinh học đến sử dụng kháng sinh**

Biocheck.UGent™ (<https://biocheckgent.com/en>) là ứng dụng đánh giá an toàn sinh học được sử dụng trong nghiên cứu này. Hệ thống bao gồm 6 mục đánh giá an toàn sinh học bên trong gồm quản lý bệnh; giai đoạn heo nái đẻ và cho con bú; chuồng úm; khu nuôi heo thịt; kiểm soát phân luồng làm việc giữa các khu trong trại và sử dụng thiết bị; vệ sinh và khử trùng và 6 mục đánh giá an toàn sinh học bên ngoài gồm mua heo giống, heo con và tinh; vận chuyển động vật; loại bỏ xác chết và phân; cung cấp thức ăn, nước và trang thiết bị, khách tham quan và công nhân; kiểm soát động vật nguy hại và chim, vị trí của trại. Mỗi nội dung đánh giá có từ 6-13 câu hỏi và tổng số gồm 109 câu hỏi (Phụ lục 2). Kết quả phân tích từ Biocheck.Ugent được thể hiện qua bảng kết quả biểu thị bằng tỉ lệ (%) và biểu đồ so sánh điểm an toàn sinh học của trại được đánh giá với điểm an toàn sinh học của khu vực và thế giới (Phụ lục 4). Do dịch bệnh trên heo diễn biến phức tạp và để đảm bảo an toàn sinh học của các trại khảo sát, thông tin thu thập để trả lời từ bảng câu hỏi được thực hiện bằng cách phỏng vấn trực tiếp bác sĩ thú y của trại, kết hợp với hình ảnh liên quan đến an toàn sinh học của trại đã thu thập được.

Từ các kết quả đánh giá an toàn sinh học và lượng kháng sinh sử dụng đã được tính toán, nghiên cứu tiếp tục đánh giá mối liên quan giữa an toàn sinh học và sử dụng

kháng sinh với các yếu tố ảnh hưởng; mối liên quan giữa an toàn sinh học, sử dụng kháng sinh với một số chỉ tiêu đầu ra năng suất; mối liên quan giữa an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh cũng như đánh giá mối liên quan giữa đề kháng kháng sinh và sử dụng kháng sinh.

Với mục tiêu định lượng mối quan hệ giữa điểm an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh của trại, hồi quy tuyến tính sẽ được sử dụng để phân tích. Trong đó biến phụ thuộc là TI và biến độc lập sẽ là điểm an toàn sinh học của trại. Thông tin về an toàn sinh học cũng như kháng sinh sử dụng liên tục trong cả quá trình nuôi rất khó có thể thu thập được nên dung lượng mẫu (số trại) sẽ được giới hạn ở mức tối thiểu mà vẫn đạt được ý nghĩa về mặt thống kê. Phần mềm G\*Power 3.1 (Heinrich Heine University Dusseldorf; North Rhine-Westphalia; Germany) được dùng để tính số lượng trại. Trong đó, phương pháp thống kê được dùng là hồi quy (linear regression), mức độ liên quan vừa (effect size=0,3), alpha=0,05, và beta=0,8 (Kang và ctv, 2021; Faul và ctv, 2009) và số lượng biến là 1. Kết quả cho thấy số lượng trại cần thiết cho phân tích này là 29 trại (Phụ lục 9).

Các kết quả đánh giá, phân tích mối liên quan là cơ sở để xác định các khả năng can thiệp giảm sử dụng kháng sinh trên heo ở các trang trại khảo sát. Các khả năng can thiệp giảm sử dụng kháng sinh liên quan đến an toàn sinh học trên heo tại các trang trại khảo sát cũng sẽ được phân tích và thảo luận dựa trên các chỉ tiêu khảo sát:

- 1) Kết quả đánh giá an toàn sinh học của các trại khảo sát
- 2) Mối liên quan giữa an toàn sinh học, sử dụng kháng sinh đối với một số yếu tố ảnh hưởng
- 3) Mối liên quan của an toàn sinh học, sử dụng kháng sinh đối với một số chỉ tiêu năng suất
- 4) Mối liên quan giữa an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh

## 2.4 Xử lý số liệu

Các số liệu thô được thu thập và quản lý bằng phần mềm Excel (Microsoft 365, Version 16.83), đồng thời dùng để tính toán các thông số thống kê cơ bản cũng như vẽ biểu đồ.

Số liệu được xử lý thống kê chuyên sâu bằng phần mềm STATA 14.1 (2015) (StataCorp College Station, Texas 77845 USA). Trong đó, phân tích ANOVA được dùng để so sánh các điểm an toàn sinh học theo các yếu tố cơ bản của trại. Mỗi liên quan giữa điểm an toàn sinh học với các tiêu chí năng suất được đánh giá bằng tương quan hồi quy, trong đó biến độc lập (thường gọi là X) là điểm an toàn sinh học, biến phụ thuộc (thường gọi là Y) là giá trị năng suất. Hệ số góc của phương trình này cho biết mỗi liên quan khi tăng một giá trị đơn vị an toàn sinh học sẽ làm thay đổi như thế nào về chỉ số năng suất. Giá trị P cho biết mức ý nghĩa của hệ số góc (với  $H_0$  là hệ số góc bằng “0”). Giá trị  $P < 0,05$  được coi là có ý nghĩa thống kê.

Tương tự, mỗi liên quan giữa yếu tố cơ bản của trại với TI cũng được đánh giá thông qua phân tích ANOVA so sánh điểm an toàn sinh học của các nhóm trại theo đặc tính; mỗi liên quan giữa TI và năng suất được tính thông qua phương trình hồi quy với giá trị TI là biến độc lập (X), năng suất là biến phụ thuộc (Y). Mỗi liên quan giữa an toàn sinh học (hay các thành phần của nó) và TI cũng được đánh giá theo phương trình hồi quy.

Mỗi liên quan giữa số kháng sinh đề kháng và lượng kháng sinh sử dụng được đánh giá bằng phương trình hồi quy, trong đó số kháng sinh đề kháng là biến độc lập (X), lượng kháng sinh sử dụng là biến phụ thuộc (Y) cho từng loại vi khuẩn (Phụ lục 10).

### Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các kết quả nghiên cứu được trình bày theo 4 nội dung đã được đề cập, bao gồm kết quả phân lập, đánh giá miễn cảm miễn cảm kháng sinh của các gốc vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo; mối liên quan giữa an toàn sinh học, sử dụng kháng sinh với một số chỉ tiêu năng suất; mối liên quan giữa an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh và mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh và đề kháng kháng sinh.

#### 3.1 Kết quả phân lập vi khuẩn liên quan bệnh hô hấp trên heo

Nghiên cứu đã tiến hành phân lập 4 loài vi khuẩn mục tiêu liên quan đến bệnh hô hấp trên heo bao gồm *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*. Đây là bước tiến hành quan trọng làm cơ sở để thực hiện đánh giá miễn cảm kháng sinh, góp phần vào việc chọn kháng sinh hiệu quả trong điều trị bệnh hô hấp trên heo, đồng thời trong xây dựng thông tin liên quan đến xu hướng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn liên quan bệnh hô hấp trên heo của khu vực và quốc gia. Tỷ lệ phân lập vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo được trình bày qua Bảng 3.1. Ngoài ra, sự đồng nhiễm vi khuẩn và nhạy cảm kháng sinh của các dạng đồng nhiễm (Bảng 3.7) sẽ được phân tích để giải quyết vấn đề lâm sàng về bệnh hô hấp do sự hiện diện đồng thời của các mầm bệnh vi khuẩn hô hấp ở cấp độ đàn tại 15 trại chăn nuôi heo.

**Bảng 3.1** Tỷ lệ phân lập vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo

| Loại mẫu       | Số mẫu     | <i>App</i> | <i>Hps</i> | <i>Pm</i> | <i>Bb</i> | Tổng số<br>(n1+n2+n3+n4) |
|----------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|--------------------------|
|                |            | n1 (%)     | n2 (%)     | n3 (%)    | n4 (%)    |                          |
| Dịch mũi       | 337        | 5 (1,48)   | 20 (5,94)  | 12 (3,56) | 21 (6,23) | 58                       |
| Phổi           | 232        | 9 (3,88)   | 9 (3,88)   | 12 (5,17) | 15 (6,46) | 45                       |
| <b>Tổng số</b> | <b>569</b> | <b>14</b>  | <b>29</b>  | <b>24</b> | <b>36</b> | <b>103</b>               |

*App*: *A. pleuropneumoniae*; *Hps*: *H. parasuis*; *Pm*: *P. multocida*; *Bb*: *B. bronchiseptica*

n: số gốc vi khuẩn đã phân lập được

‰: tỷ lệ phân lập (số gốc vi khuẩn đã phân lập được/tổng số mẫu phân lập)



Kết quả nghiên cứu cho thấy đã phân lập được 103 gốc vi khuẩn trong tổng số 569 mẫu bệnh phẩm. Trong đó, tỉ lệ phân lập được các vi khuẩn mẫu phổi cao hơn mẫu phết dịch mũi, ngoại trừ *H. parasuis*. Trong đó, *B. bronchiseptica* phân lập được nhiều nhất với 36 gốc vi khuẩn, gồm 21 gốc phân lập từ 337 mẫu dịch mũi, chiếm tỉ lệ 6,23% và 15 gốc phân lập từ 232 mẫu phổi, chiếm tỉ lệ 6,46%. Tỉ lệ phân lập *B. bronchiseptica* có sự khác nhau giữa nghiên cứu. Tại Trung Quốc, Zhao và ctv (2011) ghi nhận tỉ lệ phân lập *B. bronchiseptica* từ mẫu phổi là khá cao, chiếm 18,6% các mẫu thu thập từ những heo có biểu hiện bệnh hô hấp và nhận định rằng tỉ lệ phân lập *B. bronchiseptica* có sự ảnh hưởng bởi độ tuổi heo và thời điểm trong năm do bởi *B. bronchiseptica* được nhận thấy có tỉ lệ phân lập cao nhất trên heo từ 40-60 ngày tuổi và vào mùa đông. Ngoài ra, *B. bronchiseptica* có thể phân lập từ não, thận, lách, gan, máu, tim, hạch lympho và dịch khớp nhưng tỉ lệ phân lập thấp hơn so với mẫu phổi. Một nghiên cứu khác cũng tại Trung Quốc nhưng tỉ lệ phân lập *B. bronchiseptica* trong nghiên cứu này khá thấp chỉ 4,25% trên tổng số mẫu. Tỉ lệ này được nhận định là thấp hơn so với giai đoạn trước đó là do Trung Quốc không ngừng nỗ lực thúc đẩy chuyển đổi và nâng cấp ngành chăn nuôi heo cũng như nâng cấp mức độ phòng ngừa và kiểm soát dịch bệnh ở các trang trại chăn nuôi heo. Ngoài ra, sự phát triển của dịch tả heo Châu Phi vào năm 2018 và lan truyền liên tục trên heo ở Trung Quốc cũng thúc đẩy việc cải thiện và nâng cao an toàn sinh học ở các trang trại heo trong những năm gần đây, điều này có thể đã góp phần vào việc kiểm soát *B. bronchiseptica* và những mầm bệnh khác (Zhang và ctv, 2012). Nhận định trên tương tự điều kiện chăn nuôi tại Việt Nam trong giai đoạn khảo sát cho đến nay, trước áp lực dịch bệnh và những thiệt hại của bệnh dịch tả heo Châu Phi, ý thức thực hiện an toàn trong chăn nuôi được nâng cao, góp phần kiểm soát mầm bệnh tốt hơn, ít nhất có thể ảnh hưởng đến sự hiện diện của *B. bronchiseptica* trong các đàn heo khảo sát.

*B. bronchiseptica* có liên quan đến nguyên nhân gây viêm teo mũi và viêm phế quản phổi ở heo. Mặc dù mầm bệnh chính là quan trọng, nhưng điều quan trọng hơn là thực tế *B. bronchiseptica* có thể xâm nhập và tạo khuẩn lạc gây nhiễm trùng trên đường hô hấp cùng với mầm bệnh vi khuẩn và virus khác. *B. bronchiseptica* có

thể làm cho động vật mắc bệnh do *S. suis*, thúc đẩy sự xâm nhập của *H. parasuis* và có thể góp phần vào sự tồn tại của *A. pleuropneumoniae* trên đường hô hấp. Đồng nhiễm *B. bronchiseptica* và *H. parasuis* làm tăng gánh nặng *H. parasuis* trong xoang mũi. *B. bronchiseptica* cùng với *P. multocida* gây viêm teo xoang mũi truyền nhiễm. Điều này minh chứng cho các dạng đồng nhiễm của *B. bronchiseptica* với các vi khuẩn khác trong nghiên cứu, bao gồm (*B. bronchiseptica* + *P. multocida*, 13,33%; *B. bronchiseptica* + *A. pleuropneumoniae*, 6,67%; *B. bronchiseptica* + *H. parasuis*, 6,67% (Bảng 3.7). Ngoài ra, sự đồng nhiễm *B. bronchiseptica* và *S. suis* trên heo làm tăng tỉ lệ mắc bệnh viêm phổi cũng như tăng tỉ lệ nhiễm trùng toàn thân với *S. suis*. Cuối cùng, màng sinh học do *B. bronchiseptica* tạo ra có thể cung cấp một nơi thích hợp cho sự tồn tại của các vi khuẩn gây bệnh khác trong đường hô hấp như *A. pleuropneumoniae* đã được chứng minh trong ống nghiệm (Loera-Muro và ctv, 2016). *B. bronchiseptica* là tác nhân góp phần gây ra bệnh hô hấp phức hợp ở heo, một bệnh đa yếu tố ngày càng trở thành vấn đề nghiêm trọng đối với ngành chăn nuôi heo (Brockmeier và ctv, 2004).

*H. parasuis* có tỉ lệ phân lập cao thứ hai sau *B. bronchiseptica* với 20 gốc vi khuẩn được phân lập từ 337 mẫu dịch mũi và 9 gốc vi khuẩn được phân lập từ 232 mẫu phổi, chiếm tỉ lệ lần lượt là 5,94% và 3,88%. *H. parasuis* được ghi nhận có tỉ lệ phân lập khác nhau tùy theo mẫu bệnh phẩm. Nghiên cứu trước đây của Lương Thị Xuân Quỳnh và ctv (2018) cho thấy tỉ lệ phát hiện *H. parasuis* từ các mẫu bệnh phẩm được thu thập tại các trại chăn nuôi heo một số tỉnh phía Nam là 8,6%. Năm 2019, Trương Quang Lâm và ctv ghi nhận tỉ lệ phân lập vi khuẩn *H. parasuis* là khá cao với 41,46% từ dịch ngoáy khí quản và phổi, 36,58%, là dịch ngoáy mũi 24,39% từ tim và 17% từ dịch khớp. Tại Trung Quốc, Zhao và ctv (2011) ghi nhận tỉ lệ phân lập *H. parasuis* từ mẫu phổi cũng khá cao chiếm đến 26,7%. Tuy vậy, Hričínová và ctv (2010) nhận định *H. parasuis* có tỉ lệ phân lập từ mẫu phổi khá thấp, chỉ 1,83% tổng số mẫu và nhận định mẫu phết dịch mũi, dịch hầu họng hoặc amidan là những vị trí

được phát hiện phổ biến đối với *H. parasuis* so với mẫu phổi. Nhìn chung, tỉ lệ phân lập *H. parasuis* trong nghiên cứu này thấp hơn so với một số nghiên cứu trong và ngoài nước trước đây có thể do áp lực dịch bệnh cao, đặc biệt trong giai đoạn dịch tả heo châu Phi, làm tăng áp lực sử dụng kháng sinh, từ đó giảm khả năng phân lập *H. parasuis*. Khả năng phân lập vi khuẩn *H. parasuis* trên môi trường nuôi cấy hạn chế có thể được giải thích do đây là những vi khuẩn phát triển chậm, các vi khuẩn phụ thuộc vào NAD dễ bị các vi khuẩn khác phát triển quá mức và sẽ nhanh chóng mất khả năng tồn tại trong môi trường. *H. parasuis* có thể liên quan đến viêm phổi nhưng sự hiện diện của vi khuẩn trong phổi có thể là hậu quả của sự xâm lấn sau khi chết từ đường hô hấp trên, nơi vi khuẩn này thường được tìm thấy.

Trong nghiên cứu này, *P. multocida* có tỉ lệ phân lập từ mẫu phổi là 5,17% (12/232) cao hơn so với mẫu phết dịch mũi là 3,56% (12/337). Ngoài ra, *P. multocida* được ghi nhận có sự đồng nhiễm với *B. bronchiseptica*, *A. pleuropneumoniae* chiếm cùng tỉ lệ 6,67%; *P. multocida* đồng nhiễm với *H. parasuis* chiếm 13,33%; sự đồng nhiễm *P. multocida*, *H. parasuis* và *B. bronchiseptica* chiếm tỉ lệ 13,33% (Bảng 3.7) Tỉ lệ phân lập *P. multocida* từ mẫu phổi cũng có sự biến động ở các nghiên cứu khác với tỉ lệ dưới 10% (Đặng Xuân Bình và ctv, 2010; Tang và ctv, 2009; Liu và ctv, 2017) hoặc thậm chí lên đến hơn 70% (Hričinová và ctv, 2010). *P. multocida* đã được báo cáo là nguyên nhân gây ra hàng loạt đợt bùng phát dịch, đặc biệt là ở Úc, Việt Nam, Canada và Mỹ (Tang và ctv, 2009). Tỉ lệ phân lập serogroup A và D là có sự khác nhau, tuy nhiên không có sự khác biệt về tỉ lệ phân lập giữa các thời điểm thu thập mẫu. Ngoài ra, khả năng phân lập *P. multocida* không có sự biến đổi theo mùa (Liu và ctv, 2017; Tang và ctv, 2009). Tương tự *B. bronchiseptica*, tỉ lệ phân lập *P. multocida* từ các mẫu đã thu thập trong nghiên cứu này thấp hơn so với các nghiên cứu khác. Kế hoạch sử dụng kháng sinh trong kiểm soát dịch bệnh cũng có thể đã ảnh hưởng đến sự hiện diện của mầm bệnh này từ các mẫu thu thập, từ đó ảnh hưởng đến khả năng phân lập.

*A. pleuropneumoniae* có tỉ lệ phân lập thấp nhất, với tổng số 14 gốc vi khuẩn, trong đó có 9 gốc phân lập từ 232 mẫu phổi, chiếm 2,46% và 5 gốc phân lập từ 337 mẫu dịch mũi, chiếm 1,48%. *A. pleuropneumoniae* được ghi nhận có sự đồng nhiễm với *P. multocida* hoặc *B. bronchiseptica* với cùng tỉ lệ là 6,67% cho cả 2 dạng đồng nhiễm (Bảng 3.7). Các nghiên cứu khác có tỉ lệ phân lập *A. pleuropneumoniae* cao hơn, dao động từ 20-24% (Phan Kim Thanh và ctv, 2018; Hričinová và ctv, 2010). *A. pleuropneumoniae* là tác nhân gây bệnh viêm phổi màng phổi ở heo. Tuy nhiên, ở nhiều đàn heo có thể mắc bệnh mà không có biểu hiện lâm sàng. Những động vật có vẻ khỏe mạnh có thể ẩn chứa vi khuẩn này ở đường hô hấp trên, đặc biệt là ở xoang mũi và amidan (Sidibe và ctv, 1993). Xác định nhanh chóng và chính xác *A. pleuropneumoniae* liên quan đến một đợt bùng phát dịch bệnh rất quan trọng để hạn chế mức độ nghiêm trọng của bệnh đồng thời xác định nguồn gốc của tác nhân lây nhiễm. *A. pleuropneumoniae* là vi khuẩn khó nuôi cấy, khó phân lập, ngoài ra các mẫu được thu thập từ các trại heo thịt, cùng một hạng heo, áp dụng quy trình chăn nuôi cùng vào/cùng ra, yếu tố then chốt trong kiểm soát *A. pleuropneumoniae*, có thể đã làm giảm thấp sự lưu hành của vi khuẩn này trong đàn. Do đó, tỉ lệ phân lập của *A. pleuropneumoniae* trong mẫu thấp không hẳn đã nói lên sự hiện diện của vi khuẩn này trong đàn heo là ít hơn so với các mầm bệnh khác.

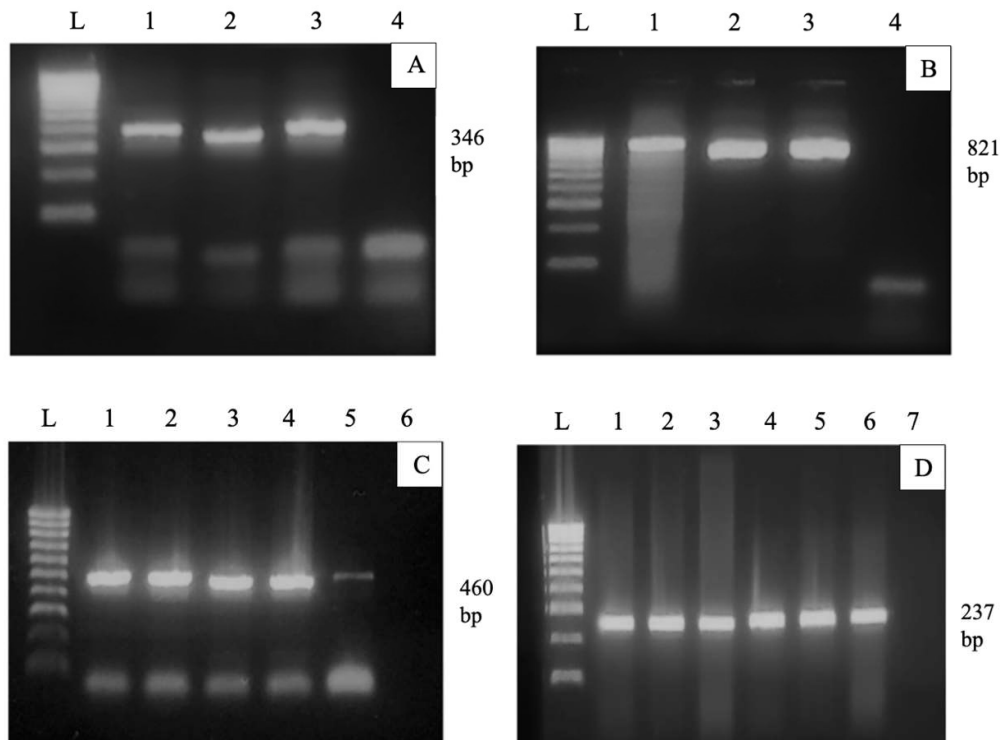
Vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* có thể kết hợp với các tác nhân khác như *M. hyopneumoniae*, virus cúm heo hay PRRSV làm trầm trọng các tổn thương trên đường hô hấp heo (van Dixhoorn và ctv, 2016; Pomorska-Mól và ctv, 2017). Đáng lưu ý, sự kết hợp giữa các mầm bệnh vi khuẩn và virus đã được ghi nhận, trong đó có đến 19,59% và 17,78% số mẫu phân lập dương tính với vi khuẩn *A. pleuropneumoniae* từ những mẫu bệnh phẩm dương tính với virus PRRS (Lê Văn Dương và ctv, 2012, Nguyễn Quốc Huy và ctv, 2013; trích dẫn bởi Phan Kim Thanh và ctv, 2018). Các tác nhân gây bệnh liên hệ mật thiết với nhau, tạo nên những mắt xích quan trọng, làm trầm trọng các vấn đề hô hấp trên heo. Ở thể mãn tính, bệnh làm

giảm tăng trọng trung bình hằng ngày trên heo, làm heo còi cọc, chậm tăng trưởng, ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế (Sassu và ctv, 2018).

Kết quả chung về sự đồng nhiễm ở Bảng 3.7 cho thấy có 46,47% trang trại cho thấy có sự hiện đồng thời hai trong số bốn tác nhân vi khuẩn đã phân lập, 13,33% trang trại tìm thấy ba trong số bốn tác nhân vi khuẩn. Đáng chú ý, *B. bronchiseptica*, *P. multocida* hiện diện ở bốn trong sáu kiểu đồng nhiễm. Một nghiên cứu tại Mexico năm 2013 ở 14 trang trại chăn nuôi heo cho thấy có 21,4% trang trại tìm thấy ba tác nhân vi khuẩn gây bệnh; và 7,1% trang trại có hai tác nhân vi khuẩn gây bệnh được ghi nhận. Trong đó, *H. parasuis* và *P. multocida* chiếm 75% trang trại (Loera Muro và ctv, 2013). Sự hiện diện đồng thời của các tác nhân gây bệnh PRDC trên đàn heo là vấn đề nghiêm trọng về sức khỏe hô hấp mà ngành chăn nuôi heo phải đối mặt.

Nhìn chung, tỉ lệ phân lập các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo là có khác nhau giữa các khu vực khảo sát, trước hết đây là những vi khuẩn khó nuôi cấy, tỉ lệ phân lập cũng phụ thuộc vào kỹ thuật thu thập, bảo quản mẫu, quy trình phân lập, sử dụng kháng sinh trên heo trước khi lấy mẫu phân lập. Ngoài ra, các mẫu bệnh phẩm được thu thập để phân lập các vi khuẩn mục tiêu trong nghiên cứu có nguồn gốc từ các trại chăn nuôi heo và lò mổ thuộc khu vực tỉnh Đồng Nai, Bình Dương, Bà Rịa - Vũng Tàu và TP.HCM, trong đó Đồng Nai hiện được xem là “thủ phủ” chăn nuôi heo của cả nước. Đây là những khu vực có mật độ chăn nuôi heo lớn, khả năng xảy ra dịch bệnh cao, do đó áp lực sử dụng kháng sinh để kiểm soát bệnh cũng theo đó gia tăng. Ngoài ra, khoảng thời gian thu thập mẫu nghiên cứu cũng là thời điểm bùng phát mạnh dịch lở mồm long móng và dịch tả heo Châu Phi ở các khu vực lấy mẫu khảo sát, điều này càng làm tăng áp lực sử dụng kháng sinh tại các trại để phòng bệnh và chống phụ nhiễm các mầm bệnh khác. Do đó, vi khuẩn có mặt trong các mẫu thu thập có thể yếu đi, giảm khả năng phát triển trên môi trường nuôi cấy, từ đó ảnh hưởng tỉ lệ phân lập. Ngoài ra, heo bị bệnh hô hấp còn có thể do tác nhân vi khuẩn khác như *S. suis*, *Mycoplasma* spp hoặc virus PRRS, PCV2, SIV,.. cũng làm ảnh

hưởng đến tỉ lệ phân lập các vi khuẩn mục tiêu. Cũng cần nhấn mạnh rằng, việc so sánh tỉ lệ phân lập vi khuẩn trên 2 loại mẫu trong nghiên cứu này là không nên vì mỗi loại mẫu được thu thập trên một đối tượng khác nhau, trong đó mẫu phết dịch mũi được thu thập trên heo tại trại, còn mẫu phổi được thu thập trên heo được giết mổ tại lò mổ. Bên cạnh đó, đây là những bệnh phẩm được thu thập trên những ca có một/nhiều trong số các biểu hiện bệnh hô hấp. Do đó, kết quả phân lập này có giá trị kể cả trong giai đoạn mang trùng và kết quả kháng sinh đồ đã công bố sẽ cung cấp kịp thời giải pháp kháng sinh để kiểm soát bệnh hô hấp cho heo trên lâm sàng trong điều kiện thực tế tại trang trại, góp phần vào dữ liệu chung về đề kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo.



**Hình 3.1** (A) Sản phẩm PCR gen *apxVIA* (*A. pleuropneumoniae*) (346 bp); (B) Sản phẩm PCR gen *16S rRNA* (*H. parasuis*) (821 bp); (C) Sản phẩm PCR gen *toxA* (*P. multocida*) (460 bp); (D) Sản phẩm PCR gen *fla* (*B. bronchiseptica*) (237 bp)

### **3.2 Kết quả đánh giá miễn cảm kháng sinh các gốc vi khuẩn đã phân lập**

Kết quả đánh giá miễn cảm kháng sinh các gốc vi khuẩn sẽ được phân tích theo góc độ thứ nhất là miễn cảm kháng sinh của từng loại vi khuẩn phân lập đối với các kháng sinh thử nghiệm. Góc độ này được phân tích để thấy sự khác nhau trong mức độ miễn cảm/đề kháng kháng sinh của từng loại vi khuẩn đã phân lập với các kháng sinh thử nghiệm cũng chính là các kháng sinh phổ biến trong thú y. Ở một góc độ khác, miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn được phân tích theo khía cạnh các yếu tố ảnh hưởng, đặc tính của từng nhóm kháng sinh đến sự miễn cảm của các loài vi khuẩn đã phân lập được. Việc phân tích kết quả này theo các góc độ, khía cạnh khác nhau được đề cập không chỉ mang lại cái nhìn tổng quan về sự miễn cảm kháng sinh của các vi khuẩn liên quan đến hô hấp trên heo, góp phần vào cơ sở chọn kháng sinh trong điều trị, mà còn là cơ sở để có sự thận trọng hơn trong lựa chọn hay quyết định sử dụng các nhóm kháng sinh trong phòng trị bệnh hô hấp trên heo.

Các kết quả đánh giá miễn cảm kháng sinh của từng loại vi khuẩn đã phân lập được trình bày qua Bảng 3.2, Bảng 3.3, Bảng 3.4, Bảng 3.5 và kết quả đánh giá chung về miễn cảm kháng sinh của tất cả các gốc vi khuẩn đã phân lập được trình bày qua Bảng 3.6. Miễn cảm kháng sinh của các đồng nhiễm được trình bày qua Bảng 3.7. Tỷ lệ các dạng đồng nhiễm vi khuẩn hô hấp trong Bảng 3.7 được tính dựa trên tần suất hiện diện đồng thời các vi khuẩn từ các mẫu bệnh phẩm được thu thập tại cùng một trại trong tổng số 15 trại heo đã lấy mẫu phân lập. Kháng sinh nhạy cảm đối với mỗi dạng đồng nhiễm được đề xuất dựa trên kết quả đánh giá chung về miễn cảm kháng sinh của tất cả các gốc vi khuẩn đã phân lập đã được trình bày ở Bảng 3.6. Kết quả này được phân tích có ý nghĩa trong liệu pháp sử dụng kháng sinh để kiểm soát vấn đề hô hấp trên đàn heo khi có sự hiện diện đồng thời và tùy theo từng dạng đồng nhiễm của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp. Các kết quả này sau đó sẽ được phân tích theo các góc độ đã đề cập ở trên.

**Bảng 3.2** Sự mẫn cảm kháng sinh của các gốc *A. pleuropneumoniae* (n=14)

| Kháng sinh       | Số gốc <i>A. pleuropneumoniae</i> tương ứng với mỗi nồng độ MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) (n=14) |      |      |      |     |   |   |   |   |    |    |    |     |           | MIC90      | % R   |
|------------------|---|------|------|------|-----|---|---|---|---|----|----|----|-----|-----------|------------|-------|
|                  | MIC breakpoint ( $\mu\text{g/mL}$ )   | 0,06 | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | MIC50     |            |       |
| Amoxicillin      | -   |      |      |      | 2   | 3 | 2 | 1 | 0 | 0  | 0  | 0  | 6   | 2         | 128        | -     |
| Penicillin       | $\geq 2^a$  | 3*   | 1    |      | 3   | 3 | 2 |   |   | 1  | 1  |    |     | 0,5       | 32         | 28,57 |
| Ceftiofur        | $\geq 8$  | 3*   |      |      | 4   | 4 | 3 |   |   |    |    |    |     | 0,5       | 2          | 0,00  |
| Gentamicin       | $\geq 4^b$  |      |      |      | 1   | 3 | 3 | 2 |   | 1  | 1  | 1  |     | 2         | 64         | 50,00 |
| Enrofloxacin     | $\geq 1$  | 3*   |      | 3    | 3   | 1 | 3 | 1 |   |    |    |    |     | 0,5       | 2          | 35,71 |
| Florfenicol      | $\geq 8$  |      |      |      | 2   | 3 | 2 | 5 | 1 |    | 1  |    |     | 4         | 16         | 50,00 |
| Tetracycline     | $\geq 2$  |      |      |      | 1   | 2 | 1 | 5 | 2 | 1  | 1  | 1  |     | 8         | 64         | 92,85 |
| Tiamulin         | $\geq 32$   |      |      | 2    | 1   | 1 | 1 | 3 | 3 | 3  | 3  |    |     | 8         | $\leq 32$  | 21,42 |
| Tilmicosin       | $\geq 32$   | 1    |      |      |     | 1 |   |   | 2 | 6  | 2  | 2  |     | $\leq 32$ | $\leq 128$ | 71,42 |
| Tylosin          | -   |      |      |      | 1   | 1 | 1 | 3 | 3 |    | 4  | 2  |     | $\leq 16$ | $\leq 128$ | -     |
| Lincomycin       | -   |      |      | 1    |     | 1 | 1 | 3 | 3 | 5  | 2  | 1  |     | 16        | 64         | -     |
| Tulathromycin    | $\geq 64^c$   |      |      |      |     | 2 | 1 | 2 | 6 | 3  |    |    |     | $\leq 32$ | $\leq 64$  | 21,42 |
| Trimethoprim/    | $\geq 4/76^a$   | 1    |      | 1    | 4   | 4 | 1 | 1 | 1 | 1  | 1  | 1  |     | $\leq 1$  | $\leq 16$  | 21,42 |
| Sulfamethoxazole |   |      |      |      |     |   |   |   |   |    |    |    |     |           |            |       |

**MIC breakpoint:** điểm cắt đề kháng (CLSI VET08, 2018; <sup>a</sup>: Dayao và ctv, 2014; <sup>b</sup>: Archambaut và ctv, 2012; <sup>c</sup>: Dayao và ctv, 2014);

**MIC50:** là nồng độ thấp nhất của kháng sinh có thể ức chế 50% các gốc vi khuẩn phân lập được

**MIC90:** là nồng độ thấp nhất của kháng sinh có thể ức chế 90% các gốc vi khuẩn phân lập được

**% R:** tỉ lệ đề kháng; \*: số gốc vi khuẩn có MIC bằng hoặc nhỏ hơn nồng độ được đánh dấu \*; (-): chưa có dữ liệu



**Bảng 3.3** Sự mẫn cảm kháng sinh của các gốc *H. parasuis* (n=29)

| Kháng sinh       | MIC breakpoint<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | Số gốc <i>H. parasuis</i> tương ứng với mỗi nồng độ MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) (n=29) |      |      |     |   |   |   |   |    |    |    |           |            |       |  | % R |
|------------------|--|---|------|------|-----|---|---|---|---|----|----|----|-----------|------------|-------|--|-----|
|                  |  | 0,06  | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128       | MIC50      | MIC90 |  |     |
| Amoxicillin      | $\geq 32^d$                            |   | 2    |      | 5   | 2 | 1 | 2 | 6 | 11 |    |    | $\leq 32$ | $\leq 128$ | 58,62 |  |     |
| Penicillin       | $\geq 4^e$                             | 1   | 2    | 3    | 5   | 2 | 3 | 3 | 1 | 5  | 1  | 2  | 2         | 64         | 44,82 |  |     |
| Ceftiofur        | $\geq 8^e$                             | 2   | 2    | 2    | 4   | 2 | 3 | 6 | 1 | 2  | 2  | 2  | 2         | 64         | 27,58 |  |     |
| Gentamicin       | $\geq 16^e$                            | 1   | 1    | 1    | 2   | 4 | 2 | 5 | 3 | 1  | 2  | 3  | 4         | 32         | 31,03 |  |     |
| Enrofloxacin     | $\geq 2^e$                             | 4*  | 3    | 5    | 3   | 3 | 4 | 3 | 3 | 1  |    |    | 1         | $\leq 16$  | 48,27 |  |     |
| Florfenicol      | $\geq 8^e$                             |   |      | 1    | 7   | 7 | 4 | 3 | 1 | 4  | 2  |    | 2         | 32         | 34,48 |  |     |
| Tetracycline     | $\geq 16^e$                            |   | 1    | 1    |     |   | 1 | 2 | 7 | 11 | 6  |    | $\leq 32$ | $\leq 64$  | 82,75 |  |     |
| Tiamulin         | $\geq 32^e$                            |   | 2    | 1    | 3   | 1 | 2 | 4 | 9 | 6  | 1  |    | 32        | $\leq 64$  | 55,17 |  |     |
| Tilmicosin       | $\geq 32^d$                            |   | 2    |      | 1   | 3 | 4 | 5 | 4 | 2  | 6  | 2  | 8         | 64         | 34,48 |  |     |
| Tylosin          | -                                      | 1   | 2    | 2    | 1   | 2 | 1 | 3 | 3 | 4  | 8  | 2  | 16        | 64         | -     |  |     |
| Lincomycin       | -                                      | 2   |      | 1    | 1   |   | 2 | 2 | 5 | 5  | 8  | 3  | $\leq 32$ | 128        | -     |  |     |
| Tulathromycin    | $\geq 16^f$                            |   |      |      |     | 4 | 7 | 5 | 1 | 6  | 6  |    | $\leq 16$ | 128        | 62,06 |  |     |
| Trimethoprim/    | $\geq 4/76^e$                          | 3   | 2    | 4    | 4   | 1 | 4 | 2 | 3 | 7  | 1  |    | $\leq 4$  | 32         | 51,72 |  |     |
| Sulfamethoxazole |  |   |      |      |     |   |   |   |   |    |    |    |           |            |       |  |     |

**MIC breakpoint:** điểm cắt đề kháng (CLSI VET08, 2018; <sup>d</sup>: Zhou và ctv, 2010; <sup>e</sup>: de la Fuente và ctv, 2007; <sup>f</sup>: Kucerkova và ctv, 2011);

**MIC50:** là nồng độ thấp nhất của kháng sinh có thể ức chế 50% các gốc vi khuẩn phân lập được

**MIC90:** là nồng độ thấp nhất của kháng sinh có thể ức chế 90% các gốc vi khuẩn phân lập được

**% R:** tỉ lệ đề kháng; \*: số gốc vi khuẩn có MIC bằng hoặc nhỏ hơn nồng độ được đánh dấu \*; (-): chưa có dữ liệu

**Bảng 3.4** Sự mẫn cảm kháng sinh của các gốc *P. multocida* (n = 24)

| Kháng sinh       | Số gốc <i>P. multocida</i> tương ứng với mỗi nồng độ MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) (n=24) |      |      |     |   |   |   |   |    |    |    |     |           | MIC90      | MIC50 | %R |
|------------------|--|------|------|-----|---|---|---|---|----|----|----|-----|-----------|------------|-------|----|
|                  | 0,06   | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | MIC       |            |       |    |
| Amoxicillin      | -  |      |      | 3   |   |   |   | 3 | 3  | 1  | 1  | 13* | $\geq 64$ | 128        | -     |    |
| Penicillin       | $\geq 1$   | 2    | 2    | 4   | 3 | 2 | 1 | 3 | 3  | 1  | 1  | 2*  | 2         | 64         | 66,67 |    |
| Ceftiofur        | $\geq 8$   | 5*   | 1    |     | 4 | 3 | 4 | 4 | 2  |    |    | 1   | 2         | 16         | 29,17 |    |
| Gentamicin       | $\geq 16^s$  | 2*   | 1    | 1   | 2 | 1 | 7 | 1 | 3  | 1  | 2  | 2   | $\leq 4$  | 64         | 33,33 |    |
| Enrofloxacin     | $\geq 1$   | 4*   | 2    | 3   | 3 | 5 | 2 | 1 |    | 1  |    |     | 0,5       | 4          | 50,00 |    |
| Florfenicol      | $\geq 8$   |      | 2    |     | 3 | 2 | 5 | 2 | 4  |    | 2  | 4   | 8         | $\leq 128$ | 50,00 |    |
| Tetracycline     | $\geq 2$   | 2*   |      |     |   | 1 | 2 | 1 | 1  | 6  | 7  | 4*  | $\leq 32$ | 128        | 91,67 |    |
| Tiamulin         | $\geq 32^s$  |      |      |     | 1 | 1 | 1 | 3 | 3  | 10 | 4  |     | $\leq 32$ | 64         | 58,33 |    |
| Tilmicosin       | $\geq 32$  | 2*   |      | 1   | 2 | 1 | 1 | 1 | 3  | 2  | 5  | 6   | 32        | 128        | 54,16 |    |
| Tylosin          | -  | 1    | 1    | 1   | 1 | 2 | 2 | 1 | 2  | 5  | 2  | 7   | $\leq 32$ | 128        | -     |    |
| Lincomycin       | -  | 4*   | 1    |     |   | 1 | 1 | 1 | 3  | 2  | 8  | 4   | 32        | 128        | -     |    |
| Tulathromycin    | $\geq 64$  |      | 1    |     |   | 1 | 4 | 6 | 6  | 4  | 2  |     | 8         | 32         | 8,33  |    |
| Trimethoprim/    | $\geq 4/76^a$  | 2*   |      | 2   | 2 | 2 | 3 | 1 | 2  | 5  | 3  | 2   | 8         | 64         | 66,67 |    |
| Sulfamethoxazole |  |      |      |     |   |   |   |   |    |    |    |     |           |            |       |    |

**MIC breakpoint:** điểm cắt đề kháng (CLSI VET08, 2018; <sup>a</sup>: Dayao và ctv, 2014; <sup>s</sup>: Nedbalcová và ctv, 2013)

**MIC50:** là nồng độ thấp nhất của kháng sinh có thể ức chế 50% các gốc vi khuẩn phân lập được

**MIC90:** là nồng độ thấp nhất của kháng sinh có thể ức chế 90% các gốc vi khuẩn phân lập được

**% R:** tỉ lệ đề kháng; \*: số gốc vi khuẩn có MIC bằng hoặc nhỏ hơn nồng độ được đánh dấu \*; (-): chưa có dữ liệu

**Bảng 3.5** Sự mẫn cảm kháng sinh của các gốc *B. bronchiseptica* (n = 36)

| Kháng sinh                     | MIC breakpoint (µg/mL) | Số gốc <i>B. bronchiseptica</i> tương ứng với mỗi nồng độ MIC (µg/mL) (n=36) |      |      |     |    |    |   |    |    |    |    |     |       |       |    |  |
|--------------------------------|------------------------|--|------|------|-----|----|----|---|----|----|----|----|-----|-------|-------|----|--|
|                                |                        | 0,06   | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1  | 2  | 4 | 8  | 16 | 32 | 64 | 128 | MIC50 | MIC90 | %R |  |
| Amoxicillin                    | -                      | 1  | 1    | 1    | 2   | 5  | 1  | 1 | 2  | 3  | 6  | 7  | 7   | 32    | 128   | -  |  |
| Penicillin                     | ≥2 <sup>a</sup>        | 4  | 1    | 1    | 3   | 3  | 1  | 1 | 1  | 4  | 6  | 15 | 64  | 128   | 75,00 |    |  |
| Ceftiofur                      | ≥8 <sup>a</sup>        | 2*   | 1    | 3    | 4   | 3  | 2  | 2 | 2  | 1  | 4  | 5  | 8   | 128   | 52,78 |    |  |
| Gentamicin                     | -                      | 1  | 4    | 4    | 5   | 2  | 10 | 2 | 2  | 4  |    | 2  | ≤2  | 16    | -     |    |  |
| Enrofloxacin                   | -                      | 5*   | 2    | 5    | 7   | 10 | 1  | 1 | 1  | 4  | 1  |    | 0,5 | 16    | -     |    |  |
| Florfenicol                    | ≥8                     | 1  | 1    | 4    | 5   | 3  | 1  | 3 | 7  | 4  | 5  | 1  | 4   | 32    | 50,00 |    |  |
| Tetracycline                   | ≥2 <sup>a</sup>        | 1  | 1    |      | 1   |    | 1  | 3 | 1  | 7  | 12 | 9  | ≥32 | 64    | 91,67 |    |  |
| Tiamulin                       | -                      | 1  | 2    |      | 1   | 1  | 1  | 1 | 5  | 7  | 14 | 3  | ≥16 | 64    | -     |    |  |
| Tilmicosin                     | ≥32 <sup>a</sup>       |  |      | 2    | 2   | 2  | 4  | 2 | 2  | 8  | 8  | 8  | ≤16 | 64    | 44,44 |    |  |
| Tylosin                        | -                      | 1  |      | 2    | 1   | 1  | 1  | 2 | 1  | 5  | 5  | 18 | 32  | 64    | -     |    |  |
| Lincomycin                     | -                      | 3*   |      | 3    |     |    |    | 1 | 4  | 1  | 12 | 11 | ≥32 | ≥64   | -     |    |  |
| Tulathromycin                  | ≥64                    | 2  |      |      | 1   | 2  | 4  | 1 | 12 | 7  | 7  |    | ≥16 | 64    | 19,44 |    |  |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazole | ≥4/76 <sup>a</sup>     | 4*   | 1    |      | 2   | 2  | 2  | 2 | 4  | 12 | 4  | 5  | ≥32 | 128   | 80,56 |    |  |

**MIC breakpoint:** điểm cắt đề kháng (CLSI VET08, 2018; <sup>a</sup>: Dayao và ctv, 2014);

**MIC50:** là nồng độ thấp nhất của kháng sinh có thể ức chế 50% các gốc vi khuẩn phân lập được

**MIC90:** là nồng độ thấp nhất của kháng sinh có thể ức chế 90% các gốc vi khuẩn phân lập được

**% R:** tỉ lệ đề kháng\*; số gốc vi khuẩn có MIC bằng hoặc nhỏ hơn nồng độ được đánh dấu\*; (-): chưa có dữ liệu

### 3.2.1 Mẫn cảm kháng sinh theo loài vi khuẩn phân lập

Kết quả từ các Bảng 3.2, Bảng 3.3, Bảng 3.4, Bảng 3.5 và Bảng 3.6 cho thấy các loài vi khuẩn đã phân lập có sự mẫn cảm khác nhau với các kháng sinh được thử nghiệm. Trong đó, một điểm nổi bật có thể nhìn thấy là tất cả các gốc vi khuẩn đã phân lập đều đề kháng mạnh nhất với tetracycline trong số 13 kháng sinh. Tỷ lệ đề kháng của *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica* với tetracycline rất cao, chiếm hơn 90% tổng số gốc vi khuẩn phân lập. *H. parasuis* có tỷ lệ đề kháng với tetracycline thấp hơn so với các vi khuẩn khác nhưng cũng chiếm đến 82,75% số gốc vi khuẩn đã phân lập.

Bên cạnh sự đề kháng mạnh mẽ với tetracycline, mỗi nhóm vi khuẩn đã phân lập cũng đề kháng với những kháng sinh còn lại ở các tỷ lệ khác nhau. Kết quả từ Bảng 3.2 cho thấy *A. pleuropneumoniae* còn đề kháng với mạnh với tilmicosin (71,42%), gentamicin (64,28%), florfenicol (50%) và các kháng sinh còn lại có tỷ lệ đề kháng thấp hơn 50% và đặc biệt là không có gốc *A. pleuropneumoniae* nào đề kháng với ceftiofur. Tại Tây Ban Nha, nghiên cứu đầu tiên về đề kháng kháng sinh của *A. pleuropneumoniae* giai đoạn 1997 -2004 cũng ghi nhận kết quả tương tự, *A. pleuropneumoniae* đề kháng mạnh nhất với tetracycline (85,6%), tiếp đến là amoxicillin (27,9%) (Gutierrez-Martin và ctv, 2006). Nghiên cứu của Kucerova và ctv (2010) tại Cộng hòa Czech cho thấy *A. pleuropneumoniae* cũng đề kháng mạnh nhất với tetracycline, chiếm 23,9% số chủng phân lập, nhưng ít đề kháng với florfenicol, amoxicillin/acid clavulanic (0,8%), tiếp đến là đề kháng với tilmicosin (1,2%), tiamulin (1,7%) và ampicillin (3,3%). Nghiên cứu của Dayao và ctv (2014) tại Úc kết luận *A. pleuropneumoniae* phân lập đề kháng mạnh với tetracycline (75%), erythromycin (89%), ampicillin (8,5%), penicillin (8,5%) và tilmicosin (25%). Tuy nhiên, nghiên cứu trước đây tại Thụy Sĩ trong giai đoạn 2002-2004 cho thấy *A. pleuropneumoniae* ít đề kháng với tetracycline (8,4%) nhưng đề kháng mạnh với amoxicillin/acid clavulanic (100%) và tiamulin (10,8%) (Matter và ctv, 2007).

Nghiên cứu gần đây của Siteavu và ctv (2023) cho kết quả *A. pleuropneumonia* nhạy cảm cao với nhiều loại kháng sinh như cefquinome (100%), ceftiofur (99%), amoxicillin/acid clavulanic (99%), amoxicillin (95%), penicillin (95%), ampicillin (94%), florfenicol (93%), enrofloxacin (92%), marbofloxacin (92%) và trimethoprim/sulfamethoxazole (91%). Tương tự, một cuộc khảo sát gần đây tại Hungary nhận thấy *A. pleuropneumoniae* hoàn toàn nhạy cảm với ceftiofur (100%) và tulathromycin (100%), tuy nhiên mức độ kháng thuốc cao đã được quan sát thấy đối với cefquinome (92,7%) và sulfamethoxazole/trimethoprim (90,8%). Cefquinome là một tác nhân kháng khuẩn thường được sử dụng trong ngành chăn nuôi heo tại Hungary. Thật không may, việc sử dụng cefquinome có thể làm tăng khả năng chọn lọc vi khuẩn đề kháng với các kháng sinh khác thuộc nhóm beta-lactam (Somogyi và ctv, 2023). Việc giảm sử dụng kháng sinh này có lẽ sẽ mang lại kết quả tích cực cho sức khỏe động vật lẫn sức khỏe cộng đồng. Với kết quả ghi nhận được từ các nghiên cứu, ceftiofur được nhận thấy là hoạt chất kháng sinh có thể kiểm soát hiệu quả nhất đối với nhiễm trùng do *A. pleuropneumoniae*. Tuy nhiên, không loại trừ khả năng đề kháng chéo với ceftiofur do áp lực chọn lọc từ việc sử dụng các kháng sinh khác thuộc nhóm beta-lactam như đã được nhận định.

Kết quả đánh giá mẫn cảm kháng sinh của *H. parasuis* từ Bảng 3.3 cho thấy bên cạnh đề kháng mạnh nhất với tetracycline thì *H. parasuis* còn đề kháng với tulathromycin (62,06%), amoxicillin (58,62%), tiamulin (55,17%), trimethoprim/sulfamethoxazole (51,72%); đề kháng với penicillin, gentamicin, enrofloxacin, florfenicol, tilmicosin chiếm tỉ lệ dưới 50%. Tương tự *A. pleuropneumoniae*, các *H. parasuis* đã phân lập đề kháng thấp nhất đối với ceftiofur, chiếm 27,58% tổng số gốc *H. parasuis* đã phân lập. Kết quả đề kháng kháng sinh của *H. parasuis* trong nghiên cứu này có sự tương đồng với kết quả được ghi nhận trong một số nghiên cứu khác ở Việt Nam cũng như nước ngoài. Nghiên cứu của Trương Quang Lâm và ctv (2021) cho thấy các gốc *H. parasuis* đề kháng với các kháng sinh

phổ biến như penicillin và trimethoprim/sulfamethoxazole với tỉ lệ lần lượt là 90,3% và 100% nhưng đặc biệt mẫn cảm với cefotaxime (80,6%) và cefuroxime (77,4%), ceftiofur (74,2%), amoxicillin/clavulanic acid (71,0%), florfenicol (67,7%). Nghiên cứu của Lương Thị Xuân Quỳnh và ctv (2018) cho thấy *H. parasuis* có tỉ lệ kháng cao nhất là tylosin (91%), tiếp theo là tilmicosin (81%), tulathromycin (62%), enrofloxacin (62%), lincomycin/spectinomycin (57%), amoxicillin (52%), florfenicol (48%); ceftiofur (10%) và doxycycline (5%). Công bố của Xu và ctv (2011) tại Trung Quốc cho thấy *H. parasuis* đề kháng với hàng loạt kháng sinh. Trong đó, tỉ lệ đề kháng của *H. parasuis* đối với nalidixic acid (84,8%), trimethoprim (67,9%), trimethoprim/sulfamethoxazole (58%), enrofloxacin (45,5%), streptomycin (48,2%), tetracycline (41,1%), ciprofloxacin (41,1%), norfloxacin (38,4%), erythromycin (29,5%) và benzylpenicillin (29,4%); azithromycin, chloramphenicol, rifampicin, cefotaxime có tỉ lệ đề kháng dưới 20% và đặc biệt không có gốc vi khuẩn nào kháng với florfenicol. Tại cộng hòa Czech, Nedbalcová và Kučerová (2012) ghi nhận đề kháng kháng sinh của *H. parasuis* là rất thấp hoặc không đề kháng, ngoại trừ đề kháng với tetracycline chiếm 27,7% số gốc phân lập; đề kháng với tiamulin, gentamicin, tulathromycin, tilmicosin và ampicillin là thấp hơn 10% và hoàn toàn nhạy cảm với amoxicillin/acid clavulanic, ceftiofur, enrofloxacin và florfenicol. Kết quả nghiên cứu của Zhang và ctv (2019) tại Trung Quốc cho thấy *H. parasuis* có khuynh hướng gia tăng tỉ lệ đề kháng trong giai đoạn có từ 2013-2017 với một số hoạt chất kháng sinh nhóm beta-lactam, aminoglycoside, macrolide, lincomycin, tetracycline, quinolone, polymyxin, ngoại trừ sulfonamides. Gần đây, tại Brazil các *H. parasuis* có tỉ lệ kháng thuốc cao nhất được ghi nhận đối với tylosin (97,1%), sulfadimethoxine (89,5%), danofloxacin (80%), trimethoprim/sulfamethoxazole (62,5%), enrofloxacin (54,3%) và clindamycin (50,5%) (Silva và ctv, 2022).

Sự phát triển đề kháng kháng sinh của *H. parasuis* được nhận định là do nhiều nhóm kháng sinh đã từng được chỉ định dùng một cách thường xuyên và phổ biến cho

mục đích phòng và trị bệnh do *H. parasuis* gây ra trên heo tại nhiều nước trên thế giới như macrolides, beta-lactam, phenicols, sulfonamides và tetracyclines (Dayao và ctv, 2016). Đồng thời, sự đa dạng của các dấu hiệu lâm sàng cũng như sự tương đồng về triệu chứng và bệnh tích so với các bệnh đường hô hấp khác làm bệnh Glässer khó được chẩn đoán một cách chính xác, dẫn đến việc sử dụng phác đồ kháng sinh trong thời gian dài có thể gây ra tình trạng đề kháng kháng sinh ở *H. parasuis* (Howell và ctv, 2015).

Các kết quả trên cho thấy có sự tương đồng về miễn cảm kháng sinh của *H. parasuis* tại Việt Nam cũng như ở một số quốc gia. Bên cạnh đề kháng với tetracycline, các *H. parasuis* cũng có sự đề kháng mạnh với một số kháng sinh thuộc nhóm macrolide như tulathromycin, tylosin hay tilmicosin, nhóm beta-lactam như amoxicillin, mặc dù vậy ceftiofur, amoxicillin/clavulanic acid hay florfenicol sẽ là các lựa chọn phù hợp trong kiểm soát bệnh do *H. parasuis*.

Kết quả đánh giá miễn cảm kháng sinh của các *P. multocida* được thể hiện ở Bảng 3.4. Bên cạnh đề kháng với tetracycline, các *P. multocida* đã phân lập cũng đề kháng với trimethoprim/sulfamethoxazole và penicillin với cùng tỉ lệ (66,67%), tiamulin (58,33%), tilmicosin (54,16%), enrofloxacin và florfenicol (50%); đề kháng thấp nhất với ceftiofur và tulathromycin, chiếm tỉ lệ lần lượt là 29,17% và 8,33%. Các nghiên cứu khác về đề kháng kháng sinh của *P. multocida* cho thấy mức độ kháng thuốc của vi khuẩn này có sự biến động. Nghiên cứu của Oh và ctv (2018) tại Hàn Quốc ghi nhận *P. multocida* đề kháng thường xuyên nhất là sulfadimethoxine (76,0%), oxytetracycline (66,5%), chlortetracycline (36,8%). Tỉ lệ kháng thuốc dưới 5% đã được ghi nhận đối với ampicillin, spectinomycin, enrofloxacin, tilmicosin, trimethoprim/sulfamethoxazole, tulathromycin và ceftiofur. Không có xu hướng tăng hoặc giảm đề kháng với hầu hết các kháng sinh trong giai đoạn 7 năm, ngoại trừ enrofloxacin. Nghiên cứu của Nedbalcová và Kučerová (2013) tại Cộng hòa Czech trong giai đoạn 3 năm (2008-2011) cho thấy *P. multocida* đề kháng với tetracycline

32,2%, tiamulin (18,1%), đề kháng với ampicillin, amoxicillin/acid clavulanic, ceftiofur, tulathromycin, tilmicosin, florfenicol và enrofloxacin ở mức thấp hơn. Nhóm tác giả cũng nhận định khả năng kháng thuốc của các *P. multocida* liên quan đến số lượng kháng sinh được sử dụng trong một thời gian nhất định, đường dùng và liều lượng, mặc dù trong một số trường hợp, các yếu tố này có thể không đủ để giải thích sự khác biệt về khả năng kháng thuốc. Tetracycline được cho là kháng sinh được tiêu thụ nhiều nhất trong thú y tại Cộng hòa Czech. Ngoài ra, có sự gia tăng đáng kể mức tiêu thụ nhóm lincosamide, amfenicols, diterpens và tất cả các thể hệ cephalosporin. Mặc dù mức tiêu thụ tuyệt đối của nhóm tetracycline giảm xuống, tuy nhiên doxycycline được tiêu thụ thường xuyên hơn trong giai đoạn khảo sát. Nghiên cứu của Dayao và ctv (2014) tại Úc cho thấy *P. multocida* ít đề kháng với cotrimoxazole (2%), florfenicol (2%), ampicillin (4%), penicillin (4%), erythromycin (14%) và tetracycline (28%). Tại Trung Quốc, Zhang và ctv (2019) ghi nhận *P. multocida* có khuynh hướng sự tăng tỉ lệ đề kháng trong giai đoạn có từ 2013-2017 với một số hoạt chất kháng sinh thuộc nhóm beta-lactam, aminoglycoside, macrolide, tetracycline, polymyxin; ngoại trừ kháng sinh nhóm lincomycin và quinolone. Trong khi đó, nghiên cứu gần đây của Siteavu và ctv (2023) cho thấy *P. multocida* có mức độ mẫn cảm cao với marbofloxacin (99%), amoxicillin/acid clavulanic (98%), ceftiofur (98%), amoxicillin (97%), penicillin (97%), florfenicol (97%), ampicillin (96%), enrofloxacin (96%), gentamicin (95%) và trimethoprim/sulfamethoxazole (93%).

Kết quả đánh giá mẫn cảm kháng sinh của *B. bronchiseptica* được trình bày ở Bảng 3.5. Tương tự các vi khuẩn khác, bên cạnh đề kháng mạnh nhất với tetracycline, *B. bronchiseptica* còn đề kháng với trimethoprim/sulfamethoxazole (80,56%), penicillin (75%), ceftiofur (52,78%), tilmicosin (44,44%); đề kháng thấp nhất được ghi nhận đối với tulathromycin, chiếm 19,44%. Mặc dù chưa thể kết luận được tỉ lệ đề kháng do thiếu điểm cắt, tuy nhiên nồng độ ức chế tối thiểu của một số kháng sinh



như amoxicillin, tiamulin, tylosin hay lincomycin đối với *B. bronchiseptica* là ở mức cao. Nghiên cứu của Dayao và ctv (2014) tại Úc cho thấy *B. bronchiseptica* kháng với beta-lactam (ampicillin, ceftiofur và penicillin), erythromycin (94%), florfenicol (6%), tilmicosin (22%) và tetracycline (39%). Nghiên cứu của Pruller và ctv (2015) cho thấy các gốc *B. bronchiseptica* phân lập tại Đức và một số quốc gia châu Âu khác đều đề kháng với ampicillin nhưng chỉ có duy nhất một gốc (0,9%) *B. bronchiseptica* là kháng florfenicol và 13,1% có khả năng đề kháng trung gian với florfenicol.

Một điều đáng lo ngại trong kiểm soát đề kháng kháng sinh đó chính sự lan truyền nhanh chóng các gen đề kháng thông qua vật chất di truyền. Nhiều gen đề kháng với các nhóm kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo đã được tìm thấy. Zhao và ctv (2018) đã phát hiện 14 gen đề kháng kháng sinh hiện diện ở các chủng phân lập *H. parasuis* bao gồm *blaTEM-1*, *blaROB-1*, *ermB*, *ermA*, *flor*, *catl*, *tetB*, *tetC*, *rmtB*, *rmtD*, *aadA1*, *aac(3')-IIc*, *gen sul1* và *sul2*. Đáng lưu ý, một chủng phân lập có thể mang nhiều gen đề kháng kháng sinh đã được phát hiện. Tương tự, Dayao và ctv (2016) cũng đã tìm thấy gen *blaROB-1* trong tất cả các chủng *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis* và *P. multocida* kháng ampicillin và penicillin và gen *tetB* được tìm thấy ở 76% chủng phân lập kháng tetracycline.

Có thể thấy rằng các vi khuẩn liên quan đến bệnh hô hấp trên heo có mức độ mẫn cảm khác nhau với các kháng sinh được thử nghiệm tùy theo từng loại vi khuẩn nhưng có một điểm nổi bật, đáng lưu ý đó là hầu hết các vi khuẩn đã phân lập được trong các nghiên cứu đều đề kháng mạnh nhất với tetracycline. Kết quả này không chỉ phản ánh về hiệu quả của tetracycline mà còn cho thấy một khuynh hướng sử dụng kháng sinh trong kiểm soát bệnh hô hấp trên heo trong một thời gian dài như đã được nhận định từ các nghiên cứu khác trước đó tại nhiều quốc gia, khu vực. Trong nghiên cứu hiện tại, kết quả đánh giá sử dụng kháng sinh trong phạm vi tại 35 trại chăn nuôi heo từ giai đoạn cai sữa đến xuất thịt ở một số tỉnh thành miền Đông Nam Bộ của Việt Nam được trình bày ở kết quả sau cho thấy tetracycline vẫn là kháng sinh được

tiêu thụ ở mức cao nhất và đề kháng kháng sinh của những vi khuẩn gây bệnh hô hấp phân lập từ các khu vực này cũng đề kháng với tetracycline mạnh mẽ nhất. Chính vì thế, các kháng sinh kìm khuẩn phổ rộng như tetracycline là sẽ không còn là một lựa chọn phù hợp trong kiểm soát bệnh hô hấp trên heo mà phải thay thế bằng những kháng sinh khác. Thêm vào đó, bệnh hô hấp phức hợp trên heo thường do nhiều tác nhân gây bệnh khác nhau, do đó liệu pháp kháng sinh cần đáp ứng được sự miễn cảm của các tác nhân vi khuẩn gây bệnh hô hấp khác nhau hiện diện trong đàn. Kết quả chung về miễn cảm kháng sinh của tất cả các vi khuẩn phân lập, đặc biệt là các đồng nhiễm được trình bày Bảng 3.6 và Bảng 3.7.

**Bảng 3.6** Sự mẫn cảm kháng sinh chung của tất cả các gốc vi khuẩn đã phân lập

| Kháng sinh                        | <i>A. pleuropneumoniae</i> |            |       | <i>H. parasuis</i> |            |       | <i>P. multocida</i> |            |       | <i>B. bronchiseptica</i> |            |       |
|-----------------------------------|----------------------------|------------|-------|--------------------|------------|-------|---------------------|------------|-------|--------------------------|------------|-------|
|                                   | Nhạy                       | Trung gian | Kháng | Nhạy               | Trung gian | Kháng | Nhạy                | Trung gian | Kháng | Nhạy                     | Trung gian | Kháng |
| Amoxicillin                       | -                          | -          | -     | -                  | -          | 58,62 | -                   | -          | -     | -                        | -          | -     |
| Penicillin                        | 14,28                      | -          | 28,57 | 44,83              | 10,35      | 44,82 | 16,67               | 16,67      | 66,67 | 25,00                    | -          | 75,00 |
| Ceftiofur                         | 100                        | 0,00       | 0,00  | 48,28              | -          | 27,58 | 54,16               | 16,67      | 29,17 | -                        | -          | 52,78 |
| Gentamicin                        | -                          | -          | 50,00 | 27,59              | -          | 31,03 | -                   | -          | 33,33 | -                        | -          | -     |
| Enrofloxacin                      | 42,85                      | 21,42      | 35,71 | 13,79              | -          | 48,27 | 50,00               | -          | 50,00 | -                        | -          | -     |
| Florfenicol                       | 35,72                      | 14,28      | 50,00 | 0,00               | -          | 34,48 | 29,17               | 20,83      | 50,00 | 41,67                    | 8,33       | 50,00 |
| Tetracycline                      | 7,15                       | 0,00       | 92,85 | 6,9                | 10,35      | 82,75 | 8,33                | -          | 91,67 | -                        | -          | 91,67 |
| Tiamulin                          | 78,58                      | -          | 21,42 | 20,69              | -          | 55,17 | 41,67               | -          | 58,33 | -                        | -          | -     |
| Tilmicosin                        | 28,58                      | -          | 71,42 | 20,69              | -          | 34,48 | 45,84               | -          | 54,16 | -                        | -          | 44,44 |
| Tylosin                           | -                          | -          | -     | -                  | -          | -     | -                   | -          | -     | -                        | -          | -     |
| Lincomycin                        | -                          | -          | -     | -                  | -          | -     | -                   | -          | -     | -                        | -          | -     |
| Tulathromycin                     | 78,58                      | -          | 21,42 | -                  | -          | 62,06 | 75,00               | 16,67      | 8,33  | 61,12                    | 19,44      | 19,44 |
| Trimethoprim/<br>Sulfamethoxazole | 78,58                      | -          | 21,42 | 48,28              | -          | 51,72 | 33,33               | -          | 66,67 | -                        | -          | 80,56 |

**Bảng 3.7** Sự mẫn cảm kháng sinh của các đồng nhiễm

| <b>Các dạng đồng nhiễm</b>  | <b>Tỉ lệ (%)</b> | <b>Kháng sinh nhạy cảm*</b>   |
|---|------------------|---|
| <i>B. bronchiseptica</i> +<br><i>H. parasuis</i>                          | 13,33            | tulathromycin, ceftiofur, trimethoprim/<br>sulfamethoxazole               |
| <i>B. bronchiseptica</i> +<br><i>A. pleuropneumoniae</i>                  | 6,67             | ceftiofur, tulathromycin, trimethoprim/<br>sulfamethoxazole               |
| <i>P. multocida</i> +<br><i>A. pleuropneumoniae</i>                       | 6,67             | ceftiofur, tulathromycin, tiamulin  |
| <i>P. multocida</i> +<br><i>B. bronchiseptica</i>                         | 6,67             | tulathromycin, ceftiofur, enrofloxacin                                    |
| <i>P. multocida</i> +<br><i>H. parasuis</i>                               | 13,33            | tulathromycin, ceftiofur, trimethoprim/<br>sulfamethoxazole               |
| <i>P. multocida</i> +<br><i>B. bronchiseptica</i> +<br><i>H. parasuis</i> | 13,33            | tulathromycin, enrofloxacin, ceftiofur,<br>trimethoprim/ sulfamethoxazole |

\*theo thứ tự ưu tiên dựa trên tỉ lệ nhạy cảm của các vi khuẩn với kháng sinh (Bảng 3.6)

Qua Bảng 3.6 và Bảng 3.7 có thể nhận thấy tulathromycin, ceftiofur, trimethoprim/ sulfamethoxazole là những kháng sinh ít bị đề kháng bởi hầu hết các gốc vi khuẩn hơn so với các kháng sinh khác và đây cũng là những lựa chọn phù hợp trong liệu pháp kháng sinh để kiểm soát bệnh hô hấp trên các đàn heo khảo sát. Cần lưu ý rằng có thể ceftiofur như liệu pháp ưu tiên vì đây không những là kháng sinh ít bị đề kháng bởi các vi khuẩn đã phân lập mà còn là kháng sinh đang dùng phổ biến ở các trại khảo sát, đứng thứ tám trong nhóm các kháng sinh đang dùng ở trại với tỉ lệ điều trị cao sau amoxicillin và một số kháng sinh khác (Bảng 3.15). Ngoài ra, sản phẩm có chứa các hoạt chất này được bào chế đa dạng, có thể dùng đường tiêu hóa hoặc đường tiêm. Tulathromycin hay trimethoprim/sulfamethoxazole không nằm trong danh sách kháng sinh dùng ở trại trong thời gian khảo sát nên vi khuẩn đã có

mức kháng thấp với các kháng sinh này (Bảng 3.15). Trong đó, ceftiofur hay tulathromycin nằm trong danh mục “kháng sinh đặc biệt quan trọng”; trimethoprim/sulfamethoxazole nằm trong danh mục “kháng sinh rất quan trọng” trong thú y theo thông tư 12/2020 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Kết quả này còn là đóng góp quan trọng về mặt dịch tễ đối với mẫn cảm kháng sinh của vi sinh vật phân lập từ động vật nói chung.

### 3.2.2 Mẫn cảm của vi khuẩn theo nhóm kháng sinh

Mức độ mẫn cảm kháng sinh của các vi khuẩn đã phân lập là khác nhau và có thể bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố. Trước hết, các kháng sinh kìm khuẩn như tetracycline và florfenicol. Kết quả đánh giá sử dụng kháng sinh tại 35 trại heo được trình bày ở nội dung 2 của nghiên cứu này cũng cho thấy tetracycline cùng với amoxicillin, florfenicol, gentamicin và norfloxacin là những kháng sinh có mức sử dụng cao, thể hiện thông qua tỉ lệ điều trị cao tại các trại khảo sát (Bảng 3.15).

Kết quả nghiên cứu cho thấy để có thể ức chế được 90% các gốc vi khuẩn đã phân lập thì nồng độ ức chế tối thiểu của florfenicol dao động từ 16-128  $\mu\text{g}/\text{mL}$  và tetracycline phải ở nồng độ từ 64-128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , cao hơn rất nhiều so với điểm cắt đề kháng của 2 kháng sinh này. Đáng lưu ý, nồng độ để có thể ức chế 90% số gốc *P. multocida* của 2 kháng sinh này cũng ở mức 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Ngược lại, các nghiên cứu khác cho thấy MIC90 của tetracycline và florfenicol đối với các chủng *A. pleuropneumoniae* chỉ ở mức thấp và dao động trong khoảng lần lượt từ 4-32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  hoặc 0,25-0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Dayao và ctv, 2014; Kucerova và ctv, 2012; Archambault và ctv, 2012). Có đến 50% số gốc vi khuẩn đã phân lập không còn nhạy cảm với kháng sinh florfenicol. Nồng độ ức chế tối thiểu của florfenicol đối với tất cả các vi khuẩn đã phân lập dao động từ 64-128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Trong khi đó, các nghiên cứu khác ghi nhận nồng độ ức chế 90% các *P. multocida*, *H. parasuis*, *A. pleuropneumoniae* của florfenicol ở mức rất thấp lần lượt là 0,5-8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  và 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Nedbalcová và Kučerová, 2013; Oh và ctv, 2018; Kucerova và ctv, 2012).

Một nghiên cứu cho thấy chlortetracycline (23,9%) và florfenicol (17,4%) và bacitracin (24,8%) là 3 kháng sinh phổ biến nhất được bổ sung trong các công thức thức ăn heo tại Việt Nam (Van Cuong và ctv, 2016).

Tiếp đến là các kháng sinh macrolides bao gồm erythromycin, tylosin, tilmicosin, tiamulin, tulathromycin, spiramycin,... Đây cũng là một trong những nhóm kháng sinh bao gồm các hoạt chất có nồng độ ức chế các vi khuẩn đã phân lập là rất cao, lên đến 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , đặc biệt tilmicosin và tulathromycin. Một nghiên cứu khác cho thấy MIC<sub>90</sub> của tiamulin đối với *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *H. parasuis* chỉ ở mức 8-32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , riêng đối với *B. bronchiseptica* được ghi nhận ở mức rất cao 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Prüller và ctv, 2015). Một nghiên cứu về dược động học của tilmicosin cho thấy,  $C_{\text{max}}$  trong huyết tương sau khi dùng cho heo liều duy nhất 40 mg/kg là  $1,67 \pm 0,28 \mu\text{g}/\text{mL}$ , thấp hơn rất nhiều so với nồng độ có thể ức chế vi khuẩn đã ghi nhận trong các nghiên cứu này. Kết quả nghiên cứu của Zhang và ctv (2017), cho thấy liều khuyến nghị của tilmicosin để kiểm soát viêm phổi ở heo do *H. parasuis* khi dùng liều đơn là 20-40 mg/kg. Ở heo, tylosin tartrate với liều 30 mg/kg thể trọng, đường uống thì tylosin được hấp thu vào máu 10 phút sau khi dùng và đạt nồng độ tối đa 2,4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sau khoảng 1,5 giờ; tylosin phosphat ở liều dùng 110 mg/kg cho  $C_{\text{max}}$  trung bình 17,81  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sau 1 giờ và sau 24 giờ thì  $C_{\text{max}}$  chỉ còn  $<0,1 \mu\text{g}/\text{mL}$ .

Tulathromycin có MIC breakpoint đối với các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo cao nhất so với các kháng sinh cùng nhóm, với MIC<sub>90</sub> đối với 4 loại vi khuẩn đều ở mức 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Kết quả nghiên cứu này cho thấy MIC<sub>90</sub> của tulathromycin đối *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* và *B. bronchiseptica* đều thấp hơn hoặc bằng điểm cắt đề kháng, ngoại trừ MIC<sub>90</sub> của tulathromycin đối với *H. parasuis* là 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Nghiên cứu của Benchaoui và ctv (2004), cho thấy tulathromycin ở liều 2,5 mg/kg thì  $C_{\text{max}}$  là 0,6 mg/mL sau 30 phút; 2,8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sau 12 giờ; 3,4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sau 24 giờ tiêm. Giá định  $C_{\text{max}}$  của tulathromycin như trong thử nghiệm trên thì cần dùng liều gấp 20 lần để có  $C_{\text{max}}$  tương đương nồng độ ức chế tối thiểu các vi khuẩn hô hấp trong nghiên cứu này. Tulathromycin là kháng sinh phụ thuộc thời gian, có khả năng phân bố nhiều đến phổi và bài thải chậm sau khi dùng một liều duy nhất, đáp ứng các đặc

tính dược động học mong đợi đối với một loại kháng sinh được chỉ định để điều trị bệnh hô hấp ở heo.

Lincomycin có MIC90 đối với tất cả các vi khuẩn trong nghiên cứu cũng ở mức rất cao, dao động 64-128  $\mu\text{g/mL}$ . Các nghiên cứu khác ghi nhận MIC90 của clindamycin, một kháng sinh cùng nhóm với lincomycin, đối với *A. pleuropneumoniae* và *P. multocida* chỉ ở mức 16  $\mu\text{g/mL}$  (Oh và ctv, 2018; Archambault và ctv, 2012). Ở liều 33mg/kg thể trọng, đường uống thì nồng độ tối đa của lincomycin trong huyết tương ở heo nhin ăn đo được là 8  $\mu\text{g/mL}$  và ở heo được cho ăn là 5  $\mu\text{g/mL}$  (Nielsen và Gyrd-Hansen, 1998). Như vậy, liều dùng trên thực tế cần cao hơn rất nhiều so với các liều lượng đã được thử nghiệm để có thể đạt được nồng độ thuốc trong máu ít nhất là tương đương với nồng độ có thể ức chế các vi khuẩn trong nghiên cứu này.

Mặc dù chưa kết luận được tỉ lệ đề kháng của các vi khuẩn đã phân lập đối với amoxicillin do thiếu MIC breakpoint, ngoại trừ *H. parasuis* có tỉ lệ đề kháng với amoxicillin là 58,62% (Bảng 3.3). Tuy nhiên, kết quả cho thấy nồng độ ức chế tối thiểu MIC50 và MIC90 của các kháng sinh nhóm beta-lactam như amoxicillin và penicillin đối với tất cả các gốc vi khuẩn đã phân lập ở mức rất cao, trong đó MIC50 của amoxicillin đối với *B. bronchiseptica* là cao nhất và ở mức 64  $\mu\text{g/mL}$ , thấp nhất 2  $\mu\text{g/mL}$  là đối với *A. pleuropneumoniae*. Đáng lưu ý, MIC90 của amoxicillin ở mức  $\leq 128$   $\mu\text{g/mL}$  đối với tất cả các gốc vi khuẩn đã phân lập được. MIC50 và MIC90 của penicillin thấp hơn so với amoxicillin ở hầu hết các gốc vi khuẩn, ngoại trừ *B. bronchiseptica*. Điều này có thể do amoxicillin được dùng phổ biến trong phòng trị bệnh hô hấp trên heo hơn so với penicillin do những ưu điểm về phổ kháng khuẩn cũng như dược động học của kháng sinh này. Amoxicillin cũng là kháng sinh có tỉ lệ điều trị cao nhất trong số các kháng sinh được sử dụng trong phòng trị bệnh tại các trại heo đã khảo sát (Bảng 3.15).

Amoxicillin có đặc điểm hấp thu tốt qua đường tiêu hoá, phân bố đến nhiều cơ quan, đặc biệt là phổi, có phổ tác động trên cả vi khuẩn Gram âm và Gram dương. Với những ưu điểm trên, kháng sinh này rất được ưu tiên trong phòng trị với hô hấp

trên heo với đường cấp đơn giản bằng cách trộn vào trong thức ăn hoặc pha vào nước uống. Kết quả từ nghiên cứu khác cho thấy MIC90 của amoxicillin/clavulanic acid đối với các chủng *A. pleuropneumoniae* là rất thấp, chỉ nằm trong khoảng 0,25-0,5 µg/mL (Dayao và ctv, 2014; Kucerova và ctv, 2012; Archambault và ctv, 2012) hay MIC90 của ampicillin, một kháng sinh cùng nhóm beta-lactam và có các đặc điểm dược động học tương tự amoxicillin, với *A. pleuropneumoniae* cũng chỉ  $\geq 8$  µg/mL (Archambault và ctv, 2012).

Amoxicillin bị đề kháng bởi *H. parasuis* với tỉ lệ 58,62% tổng số gốc *H. parasuis* đã phân lập. Sự đề kháng với amoxicillin bởi các vi khuẩn khác chưa kết luận được do thiếu MIC breakpoint mặc dù MIC90 của kháng sinh này là rất cao,  $\leq 128$  µg/mL ở tất cả các gốc vi khuẩn đã phân lập. *B. bronchiseptica* có sự đề kháng mạnh với penicillin, chiếm 75% tổng số gốc *B. bronchiseptica* đã phân lập. *A. pleuropneumoniae* đề kháng thấp nhất với penicillin, chiếm 28,57% tổng số gốc phân lập. Một nghiên cứu về dược động học của amoxicillin cho thấy khi dùng kháng sinh này với liều 28 mg/kg thể trọng thì  $C_{max}$  là 2,19 µg/mL (Krasucka và Kowalski, 2010).

Các sản phẩm đang lưu hành có chứa amoxicillin dạng bột trộn vào thức ăn có liều khuyến cáo sử dụng phòng trị bệnh cho heo là 20-25 mg/kg, liều này tương đương với liều thử nghiệm của nghiên cứu trên. Vậy nên, nếu sử dụng đúng liều khuyến cáo của các sản phẩm này thì nồng độ thuốc trong máu sẽ thấp hơn rất nhiều so với nồng độ tối thiểu thực tế có thể ức chế được vi khuẩn, do đó sẽ không đạt được hiệu quả phòng trị bệnh. Trên thực tế, nếu không đạt được hiệu quả điều trị như mong muốn thì người chăn nuôi có thể tự ý tăng liều kháng sinh để đạt hiệu quả điều trị bệnh tốt hơn. Điều này làm cho khả năng dung nạp kháng sinh của vi khuẩn tăng lên, đồng nghĩa với việc cần phải dùng một lượng kháng sinh lớn hơn hoặc phối hợp kháng sinh mới có thể tiêu diệt vi khuẩn, góp phần thúc đẩy đề kháng kháng sinh.

Ceftiofur có phổ kháng khuẩn rộng, được chỉ định rộng rãi trong điều trị bệnh đối với người và thú y (WHO, 2013; OIE, 2015). Kết quả nghiên cứu cho thấy MIC50 và MIC90 của ceftiofur đối với các gốc vi khuẩn đã phân lập là thấp hơn so với các kháng sinh cùng nhóm là amoxicillin và penicillin, ngoại trừ MIC90 của ceftiofur đối



*B. bronchiseptica* là 128 µg/mL. Tỷ lệ của các gốc *B. bronchiseptica* với ceftiofur cũng cao hơn so với các vi khuẩn còn lại, chiếm tỷ lệ 75%. Tình trạng kháng thuốc beta-lactam (ampicillin, ceftiofur và penicillin) của các vi khuẩn trong nghiên cứu này là phù hợp với các báo cáo trước đó, tính kháng beta-lactam của *B. bronchiseptica* đã được phát hiện có liên quan đến việc sản xuất enzyme *beta-lactamase* và làm giảm tính thấm của màng đối với ceftiofur (Kadlec và ctv, 2007; Dayao và ctv, 2014). Đáng lưu ý, không có chủng *A. pleuropneumoniae* nào đề kháng với ceftiofur và đây cũng là kháng sinh duy nhất không bị đề kháng bởi các *A. pleuropneumoniae*. *A. pleuropneumoniae* cũng được ghi nhận hoàn toàn nhạy cảm với ceftiofur ở các nghiên cứu khác (Dayao và ctv, 2014; Archambault và ctv, 2012). Như vậy, các gốc vi khuẩn đã phân lập có sự nhạy cảm với ceftiofur cao hơn so với các kháng sinh cùng nhóm beta-lactam là amoxicillin hay penicillin. Ở động vật bị viêm phổi, nồng độ albumin huyết tương thường giảm đáng kể, từ đó giảm nồng độ ceftiofur trong huyết tương, tăng nồng độ thuốc tự do đi đến các cơ quan, theo đó ceftiofur cũng nhanh chóng loại thải qua thận (Parra, 2006). Kết quả nghiên cứu về dược động học của ceftiofur trên heo khỏe và heo bệnh với liều thử nghiệm tương ứng khuyến cáo sử dụng ceftiofur để điều trị bệnh hô hấp ở heo là 3 - 5 mg/kg trọng lượng cơ thể, tiêm bắp, trong vòng 7 ngày. Kết quả cho thấy mặc dù  $C_{max}$  của ceftiofur ở nhóm heo khỏe là 12,9 µg/mL cao hơn so với heo bệnh chỉ ở mức 6,03 µg/mL (Tantituvanont và ctv, 2008). Tuy nhiên, nồng độ này vẫn thấp hơn nồng độ có thể ức chế được 90% hầu hết các vi khuẩn trong nghiên cứu này, ngoại trừ *A. pleuropneumoniae* có MIC90 thấp hơn các nồng độ thuốc trong máu từ thử nghiệm trên. Như vậy, ngoài đặc tính của thuốc thì tình trạng sức khỏe của động vật cũng ảnh hưởng đáng kể đến biểu hiện dược động học của thuốc, từ đó ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị bệnh.

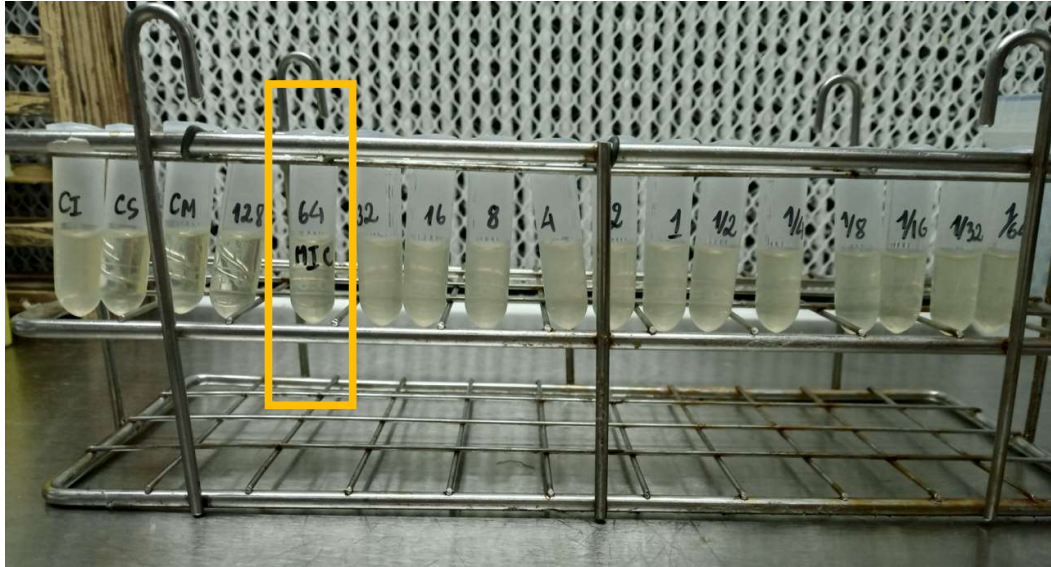
Gentamicin là một trong những kháng sinh nhóm aminoglycosides thường được sử dụng trong điều trị các trường hợp nhiễm khuẩn hô hấp. Nghiên cứu này ghi nhận MIC50 của gentamicin cao nhất đối với *H. parasuis* và *P. multocida* ở mức 4 µg/mL và MIC90 của gentamicin cao nhất đối với *A. pleuropneumoniae* ở mức 64 µg/mL, gấp 16 lần so với MIC breakpoint và cao hơn rất nhiều so với MIC90 của

gentamicin đối với *A. pleuropneumoniae* được ghi nhận trong các nghiên cứu khác, chỉ ở mức 4 µg/mL (Kucerova và ctv, 2012; Archambault và ctv, 2012). Tỷ lệ đề kháng của các *A. pleuropneumoniae* với gentamicin được ghi nhận là cao nhất, chiếm tỷ lệ là 64% trong tổng số các gốc vi khuẩn đã phân lập.

Các fluoroquinolones có phổ kháng khuẩn trên nhiều vi khuẩn Gram dương và Gram âm và được chấp thuận sử dụng trong thú y. Tuy nhiên, FDA Mỹ đã cấm sử dụng fluoroquinolones trên động vật thực phẩm. Có lẽ vì vậy, MIC breakpoint của các kháng sinh này đối với vi khuẩn ở mức rất thấp dao động từ 0,05-1 µg/mL. Kết quả nghiên cứu này cho thấy MIC50 và MIC90 của enrofloxacin đối với tất cả các gốc vi khuẩn là ở mức thấp nhất so với các kháng sinh khác. MIC90 của enrofloxacin cao nhất đối với *H. parasuis* và *B. bronchiseptica*, ở mức 16 µg/mL; MIC90 của enrofloxacin thấp nhất đối với *A. pleuropneumoniae*, ở mức 2 µg/mL. Như vậy, nồng độ ức chế tối thiểu 90% vi khuẩn của enrofloxacin cao hơn MIC breakpoint. Tại Việt Nam, enrofloxacin, norfloxacin hay marbofloxacin vẫn được ưu tiên sử dụng trong điều trị nhiễm khuẩn hô hấp, tiêu hóa với nhiều dạng bào chế, nhiều đường cấp khác nhau từ trộn vào thức ăn, pha vào nước uống hoặc tiêm. Một số nghiên cứu tại Châu Âu cho thấy MIC90 của kháng sinh này đối *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis*, *B. bronchiseptica* rất thấp lần lượt là 0,25; 0,03; 0,5 µg/mL (Archambault và ctv, 2012; Prüller và ctv, 2017). Tại Hàn Quốc, nơi mà enrofloxacin và một kháng sinh khác cùng nhóm là danofloxacin được phép sử dụng cho heo và gà, trong đó danofloxacin là rất hiếm có mặt tại quốc gia này. Tuy nhiên, một nghiên cứu tại đây cho thấy MIC90 của cả 2 kháng sinh này với *P. multocida* đều tăng 10% và dao động trong khoảng 0,125-0,25 µg/mL, tỷ lệ đề kháng với enrofloxacin là 2,6% trong vòng từ năm 2010-2016, MIC danofloxacin tăng lên có thể liên quan đến đề kháng chéo với enrofloxacin vì tất cả các gốc vi khuẩn có MIC90 với danofloxacin là 2 µg/mL thì cũng đề kháng với enrofloxacin. Enrofloxacin có nồng độ phân bố trong mô cao hơn trong máu, có tính ưa lipid cao nhất trong số kháng sinh thuộc nhóm fluoroquinolone, điều này giúp thuốc có khả năng phân tán tốt trong mô, giúp thuốc dự trữ trong cơ thể lâu hơn, kéo dài tác dụng thuốc (Oh và ctv, 2018).

Sự kết hợp của sulfonamid và trimethoprim cũng là một lựa chọn được sử dụng rộng rãi trong điều trị nhiều bệnh trên heo, là một trong số liệu pháp kháng sinh được khuyến dùng để điều trị bệnh viêm phổi màng phổi ở heo (Vanni và ctv, 2012). Nhìn chung, nồng độ ức chế tối thiểu 90% vi khuẩn của phức hợp này cao nhất là đối với *B. bronchiseptica* ở mức 128 µg/mL và thấp nhất là đối với *A. pleuropneumoniae*, ở mức 16 µg/mL. Cũng như các kháng sinh khác, trimethoprim/sulfonamid có nồng độ ức chế tối thiểu 90% các vi khuẩn gây bệnh hô hấp là rất thấp ở các nghiên cứu khác, chỉ ở mức 0,5µg/mL đối với các *A. pleuropneumoniae* (Kucerova và ctv, 2012), 2 µg/mL đối với *B. bronchiseptica* và *P. multocida* (Prüller và ctv, 2015).

Các kết quả trên cho thấy các vi khuẩn đã phân lập đề kháng với hầu hết kháng sinh thử nghiệm, trong đó tetracycline là kháng sinh bị đề kháng mạnh nhất. Nồng độ ức chế tối thiểu của những kháng sinh này với các vi khuẩn trong nghiên cứu là rất cao, cho thấy sự dung nạp kháng sinh một cách mạnh mẽ của những gốc vi khuẩn đã phân lập và có thể làm giảm hiệu quả trị bệnh bằng kháng sinh trên lâm sàng. Việc thiếu các điểm cắt đề kháng dẫn đến chưa thể kết luận về sự đề kháng của các vi khuẩn đã phân lập với một số kháng sinh thử nghiệm, đặc biệt là đối với *B. bronchiseptica*. Mặc dù vậy, kết quả nồng độ ức chế tối thiểu của mỗi kháng sinh đối với các vi khuẩn phân lập đã góp phần quan trọng vào cơ sở chọn kháng sinh trong điều trị bệnh hô hấp tại các khu vực khảo sát, đồng thời trong xây dựng thông tin liên quan đến xu hướng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo của khu vực và quốc gia, góp phần sử dụng kháng sinh hợp lý hơn trong kiểm soát bệnh hô hấp trên heo, từ đó hạn chế đề kháng kháng sinh. Dựa trên kết quả về đánh giá mẫn cảm kháng sinh của các gốc vi khuẩn đã phân lập, kết quả tiếp theo về kiểu hình đề kháng kháng sinh sẽ là bức tranh tổng thể hơn về mức độ đề kháng kháng sinh của mỗi gốc vi khuẩn, từng nhóm vi khuẩn đã phân lập, qua đó xác định sự hiện diện của các chủng vi khuẩn đa kháng.



**Hình 3.2** Kết quả MIC của một gốc *P. multocida* với lincomycin (64  $\mu\text{g/mL}$ )

### 3.2.3 Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc vi khuẩn đã phân lập

Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc vi khuẩn đã phân lập được trình bày qua Bảng 3.8, Bảng 3.9, Bảng 3.10 và Bảng 3.11. Kết quả cho thấy mức độ đề kháng từng gốc vi khuẩn đã phân lập với 14 kháng sinh, cũng như xác định các kiểu hình kháng thuốc khác nhau của vi khuẩn. Nhiều định nghĩa khác nhau đang được sử dụng trong tài liệu y khoa để mô tả các kiểu hình kháng thuốc ở vi khuẩn bao gồm đa kháng thuốc (MDR), kháng thuốc rộng rãi (XDR) và kháng toàn bộ thuốc (PDR). Trong đó, MDR được xác định là không nhạy cảm với ít nhất ba loại kháng sinh trở lên, XDR là không nhạy cảm với nhiều loại kháng sinh (chỉ còn nhạy cảm với 1 hoặc 2 loại kháng sinh) và PDR là không nhạy cảm với tất cả các loại kháng sinh (Magiorakos và ctv, 2012).

Đối với số lượng kháng sinh đề kháng, kết quả nghiên cứu cho thấy 101/103 (98,05%) gốc vi khuẩn đã phân lập đề kháng với ít nhất một loại kháng sinh, chỉ có 3 gốc vi khuẩn đề kháng với 1 kháng sinh, chiếm 2,91%, còn lại là đề kháng với từ 2

cho đến 11 kháng sinh trong tổng số 14 kháng sinh. Các gốc vi khuẩn đã phân lập có kiểu hình đề kháng phổ biến nhất là với 4 kháng sinh, bao gồm 20/103 gốc vi khuẩn chiếm tỉ lệ 19,41%; trong đó hơn một nửa là *B. bronchiseptica*. Tiếp đến là 19/103 gốc vi khuẩn có kiểu hình đề kháng với 5 kháng sinh chiếm tỉ lệ 18,45%. Kiểu hình đề kháng với 3 kháng sinh có 16/103 gốc vi khuẩn, chiếm 15,53%. Đề kháng với 6 kháng sinh chiếm 13,59%. Đề kháng với 2 kháng sinh chiếm 10,67% số gốc phân lập. Đề kháng với 7 và 8 kháng sinh là tương đương nhau với 6/103 số gốc vi khuẩn, chiếm 5,83%. Đề kháng với 9 kháng sinh chiếm 4/103 gốc vi khuẩn, chiếm 3,88%. Chỉ có 1 gốc đề kháng với 10 kháng sinh và 1 gốc đề kháng với 11/14 kháng sinh, chiếm cùng tỉ lệ 0,97% và đó là các gốc *H. parasuis*. Kiểu hình đề kháng kháng sinh của từng loại vi khuẩn sẽ tiếp tục thảo luận chi tiết dưới đây.

**\* *A. pleuropneumoniae***

Kết quả kiểu hình đề kháng kháng sinh của *A. pleuropneumoniae* được trình bày qua Bảng 3.8.

Các *A. pleuropneumoniae* đã phân lập đề kháng ít nhất với 1 kháng sinh và nhiều nhất với 8 kháng sinh, có đến 10/14 (71,42%) số gốc vi khuẩn là MDR *A. pleuropneumoniae*, trong đó *A. pleuropneumoniae* có kiểu hình đề kháng với 3 - 4 kháng sinh là phổ biến nhất. Sự xuất hiện các chủng đa kháng *A. pleuropneumoniae* trong nghiên cứu này là cao hơn rất nhiều so với ghi nhận từ các nghiên cứu khác. Nghiên cứu của Kucerova và ctv (2012) tại cộng hoà Czech cho thấy các *A. pleuropneumoniae* có mức độ nhạy cảm cao với các kháng sinh thử nghiệm chiếm 71,5% số gốc phân lập, 28,5% trong số đó đề kháng với ít nhất 1 kháng sinh, 2,5% đề kháng với 2 hoặc 3 kháng sinh từ hai nhóm kháng sinh khác nhau, đặc biệt không tìm thấy các gốc MDR *A. pleuropneumoniae*. Trong khảo sát của Dayao và ctv (2014) tại Úc cho thấy chỉ có 2 gốc MDR *A. pleuropneumoniae* được phát hiện, chiếm 9,1% trong tổng số các gốc *A. pleuropneumoniae* đề kháng kháng sinh.

**Bảng 3.8** Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc vi khuẩn *A. pleuropneumoniae*

| Số gốc<br>vi khuẩn | Số kháng sinh<br>bị đề kháng | Kiểu hình đề kháng                              |
|--------------------|------------------------------|---|
| 1                  | 1                            | GEN   |
| 2                  | 2                            | TET + TIL                                       |
| 1                  | 3                            | FFN + TET + SXT *                               |
| 1                  | 3                            | PEN + ENR + TET *                               |
| 1                  | 3                            | TET + TIA + TIL                                 |
| 1                  | 3                            | ENR + TET + TIL *                               |
| 1                  | 4                            | PEN + GEN + FFN + TET *                         |
| 1                  | 4                            | GEN + TET + TIL + TUL *                         |
| 1                  | 4                            | PEN + ENR + TET + TIL *                         |
| 1                  | 4                            | GEN + ENR + TET + TIL *                         |
| 1                  | 5                            | GEN + FFN + TET + TIL + TUL *                   |
| 1                  | 5                            | GEN + FFN + TET + TIA + TIL *                   |
| 1                  | 8                            | PEN + GEN + ENR + FFN + TET + TIL + TUL + SXT * |
| <b>14</b>          |                              | <b>*: MDR (10/14; 71,42%)</b>                   |

**\**H. parasuis***

Tiếp theo là kiểu hình đề kháng kháng sinh của *H. parasuis* được trình bày qua Bảng 3.9. Kết quả cho thấy các gốc *H. parasuis* đã phân lập đề kháng với ít nhất là 1 kháng sinh và nhiều nhất với 11 kháng sinh trong tổng số 14 kháng sinh. Trong đó, 25/29 (86,26%) số gốc *H. parasuis* đã phân lập là MDR *H. parasuis*. Kiểu hình đề kháng của *H. parasuis* với 3 kháng sinh là chiếm nhiều nhất (24, 13%), tiếp đến là đề kháng với 5 kháng sinh (20,68%), đề kháng với 4 kháng sinh (17,24%), và đề kháng với 8 kháng sinh (10,34%). Nghiên cứu của Lương Thị Xuân Quỳnh và ctv (2018) cho thấy *H. parasuis* được phân lập từ các trại chăn nuôi heo khu vực miền Đông Nam Bộ đều là vi khuẩn đa kháng. Tỷ lệ phân lập kháng với 7 kháng sinh, 6 kháng sinh và 5 kháng sinh lần lượt là 33,33%, 28,6% và 23,8%. Sự đa đề kháng của *H.*

*parasuis* với kháng sinh cũng đã được ghi nhận từ nhiều năm trước đây tại một số quốc gia châu Âu

**Bảng 3.9** Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc *H. parasuis*

| Số gốc vi khuẩn | Số kháng sinh bị đề kháng | Kiểu hình đề kháng  |
|-----------------|---------------------------|---|
| 1               | 1                         | ENR   |
| 1               | 2                         | TET + TUL   |
| 1               | 3                         | PEN + ENR + TET *   |
| 1               | 3                         | ENR + TIA + TIL   |
| 1               | 3                         | CEF + GEN + TET *   |
| 1               | 3                         | AMO + PEN + ENR   |
| 1               | 3                         | AMO + GEN + TUL *   |
| 1               | 3                         | AMO + GEN + TET *   |
| 1               | 3                         | AMO + CEF + TUL *   |
| 1               | 4                         | TET + TIA + TIL + SXT *   |
| 1               | 4                         | PEN + TET + TIA + TUL *   |
| 1               | 4                         | PEN + FFN + TET + TIA *   |
| 1               | 4                         | ENR + TET + TUL + SXT *   |
| 1               | 4                         | AMO + GEN + TET + TUL *   |
| 1               | 5                         | TET + TIA + TIL + TUL + SXT *                                     |
| 1               | 5                         | PEN + ENR + TET + TUL + SXT *                                     |
| 1               | 5                         | PEN + FFN + TET + TIA + SXT *                                     |
| 1               | 5                         | AMO + GEN + TET + TIA + TUL *                                     |
| 1               | 5                         | AMO + TET + TIL + TUL + SXT *                                     |
| 1               | 5                         | AMO + FFN + TET + TUL + SXT *                                     |
| 1               | 6                         | CEF + GEN + FFN + TET + TIA + TUL *                               |
| 1               | 7                         | PEN + GEN + TET + TIA + TIL + TUL + SXT *                         |
| 1               | 7                         | PEN + ENR + TET + TIA + TIL + TUL + SXT *                         |
| 1               | 8                         | PEN + CEF + GEN + ENR + FFN + TET + TIA + TUL *                   |
| 1               | 8                         | CEF + ENR + FFN + TET + TIA + TIL + TUL + SXT *                   |
| 1               | 8                         | AMO + PEN + ENR + FFN + TET + TIA + TIL + SXT *                   |
| 1               | 9                         | AMO + PEN + CEF + GEN + FFN + TET + TIA + TIL + SXT *             |
| 1               | 10                        | AMO + PEN + CEF + GEN + ENR + FFN + TET + TIA + TUL + SXT *       |
| 1               | 11                        | AMO + PEN + CEF + GEN + ENR + FFN + TET + TIA + TIL + TUL + SXT * |
| <b>29</b>       |                           | <b>*: MDR (25/29; 86,26%)</b>                                     |

Một nghiên cứu tại Tây Ban Nha năm 2007 cho thấy chỉ có 23,3% *H. parasuis* nhạy cảm với tất cả các loại kháng sinh được thử nghiệm, số gốc còn lại là đa đề kháng; trong đó 56,7% đề kháng ít nhất 4 kháng sinh; 23,3% đề kháng với ít nhất 8 kháng sinh và 3,3% có khả năng đề kháng đồng thời với 12 kháng sinh. Ngược lại, 80% các gốc *H. parasuis* có nguồn gốc từ Anh nhạy cảm với tất cả 19 kháng sinh thử nghiệm, 3 phân lập kháng với ít nhất hai kháng sinh và chỉ có một phân lập kháng đồng thời với 4 kháng sinh. Sự khác nhau về mức độ mẫn cảm kháng sinh của *H. parasuis* giữa 2 quốc gia được cho là do sử dụng kháng sinh quá mức để điều trị hoặc phòng ngừa các bệnh truyền nhiễm trong chăn nuôi heo ở Tây Ban Nha và theo cách kém hợp lý hơn so với ở Vương quốc Anh (de la Fuente và ctv, 2007). Nghiên cứu gần đây tại Brazil cho thấy sự đề kháng mạnh mẽ *H. parasuis* với các kháng sinh, có đến 89,5% là các MDR *H. parasuis* thể hiện thông qua 60 kiểu hình đề kháng được xác định (Silva và ctv, 2022). Việc sử dụng kháng sinh quá mức vào thời điểm vi khuẩn *H. parasuis* xâm chiếm đường hô hấp trên có thể cản trở quá trình xâm chiếm của vi khuẩn *H. parasuis*, và sự cản trở này không chỉ giới hạn ở loài này mà còn ảnh hưởng đến các hệ vi khuẩn khác. Việc giảm sự đa dạng trong hệ vi khuẩn ở heo con có thể khiến hệ thống miễn dịch hoạt động kém hơn, như đã mô tả trước đây (Costa-Hurtado và ctv, 2020). Chỉ nên sử dụng các biện pháp điều trị chiến lược bằng kháng sinh trong một số trường hợp hạn chế, chủ yếu là để điều trị cho heo con trong thời gian bùng phát dịch bệnh, điều này không chỉ quan trọng đối với sức khỏe mà còn đối với các vấn đề phúc lợi. Cần thực hiện các biện pháp kiểm soát thay thế để giảm thiểu khả năng gia tăng các trường hợp mắc bệnh Glässer do vi khuẩn *H. parasuis* kháng thuốc. Do đó, cung cấp cho bác sĩ thú y dữ liệu về các serotype lưu hành phổ biến cũng như hồ sơ kháng thuốc của các loài vi khuẩn này là một cách hiệu quả để góp phần lựa chọn kháng sinh phù hợp (Silva và ctv, 2022).

Những kết quả trên nhấn mạnh tầm quan trọng của việc sử dụng kháng sinh thận trọng trong điều trị bệnh Glasser và đặc biệt là theo dõi thường xuyên mức độ nhạy cảm kháng sinh của các phân lập lâm sàng *H. parasuis* trước khi áp dụng một liệu pháp điều trị. Bên cạnh đó, các biện pháp phòng ngừa như thực hành vệ sinh tốt,



xử lý động vật đúng cách, hạn chế việc sử dụng kháng sinh là điều cần thiết để hạn chế thấp nhất các đợt bùng phát bệnh Glasser.

**\**P. multocida***

Kết quả kiểu hình đề kháng kháng sinh của các *P. multocida* đã phân lập được thể hiện ở Bảng 3.10.

**Bảng 3.10** Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc *P. multocida* (n=24)

| Số gốc vi khuẩn | Số kháng sinh bị đề kháng | Kiểu hình đề kháng                                    |
|-----------------|---------------------------|---|
| 1               | 0                         | Không đề kháng  |
| 1               | 1                         | TET   |
| 1               | 2                         | GEN + TET   |
| 1               | 2                         | PEN + SXT   |
| 1               | 2                         | PEN + TET   |
| 1               | 2                         | TET + SXT   |
| 1               | 2                         | TET + TIA   |
| 1               | 3                         | PEN + CEF + TET                                       |
| 1               | 5                         | PEN + FFN + TET + TIA + SXT *                         |
| 1               | 5                         | ENR + FFN + TET + TIA + SXT *                         |
| 1               | 5                         | TET + TIA + TIL + TUL + SXT *                         |
| 1               | 5                         | PEN + ENR + TET + TIL + SXT *                         |
| 1               | 6                         | PEN + GEN + ENR + FFN + TET + SXT *                   |
| 1               | 6                         | PEN + ENR + FFN + TET + TIA + TIL *                   |
| 1               | 6                         | PEN + GEN + TET + TIA + TIL + SXT *                   |
| 1               | 7                         | PEN + CEF + FFN + TET + TIA + TIL + SXT *             |
| 1               | 7                         | PEN + ENR + FFN + TET + TIA + TIL + SXT *             |
| 1               | 7                         | CEF + GEN + ENR + FFN + TET + TIL + SXT *             |
| 1               | 7                         | PEN + GEN + ENR + FFN + TET + TIA + TIL *             |
| 1               | 8                         | PEN + GEN + ENR + FFN + TET + TIA + TIL + SXT *       |
| 1               | 8                         | PEN + ENR + FFN + TET + TIA + TIL + TUL + SXT *       |
| 3               | 9                         | PEN + CEF + GEN + ENR + FFN + TET + TIA + TIL + SXT * |
| <b>24</b>       |                           | <b>*: MDR (16/24; 66,67%)</b>                         |

Kết quả cho thấy, các *P. multocida* đã phân lập được có kiểu hình đề kháng từ 1 đến 9 kháng sinh. Trong số đó có đến 16/24 (66,67%) số gốc đã phân lập là các MDR *P. multocida*; phổ biến là MDR *P. multocida* có kiểu hình đề kháng với từ 5 và 7 kháng sinh, trong đó có 1 MDR *P. multocida* kháng 8 kháng sinh và 1 MDR *P. multocida* kháng với 9 kháng sinh; mỗi MDR *P. multocida* mang 1 kiểu hình đề kháng riêng. Các nghiên cứu trước đó ghi nhận sự đa đề kháng của *P. multocida* ở mức thấp hơn so với kết quả ghi nhận được nghiên cứu này. Tại Úc, sự đa đề kháng của các *P. multocida* được ghi nhận ở mức thấp, chỉ có 4,7% là các MDR *P. multocida* (Dayao và ctv, 2014). Trong khi đó, tại Hàn Quốc các *P. multocida* có kiểu hình đề kháng đa dạng hơn, trong đó đề kháng nhiều nhất là 3 kháng sinh gồm sulfadimethoxine, chlortetracycline và oxytetracycline (22,5%); 2 kháng sinh là sulfadimethoxine và oxytetracycline (18,%); và 1 kháng sinh là sulfadimethoxine (15,4%). Ba kiểu hình đề kháng này chiếm đến hơn 50% các gốc vi khuẩn đã phân lập; 17% trong số đó là MDR *P. multocida* (Oh và ctv, 2018). Những kết quả trên cho thấy đề kháng kháng sinh của *P. multocida* ở heo cần được chú ý, đặc biệt là sự xuất hiện của MDR *P. multocida* được ghi nhận ở hầu hết các nghiên cứu. Do đó, cần sử dụng kháng sinh thận trọng hơn để điều trị bệnh hiệu quả, ngăn ngừa sự lây lan của mầm bệnh, đồng thời theo dõi tính nhạy cảm kháng sinh của các tác nhân gây bệnh quan trọng trong thú y để có thể cung cấp hướng dẫn liệu pháp kháng sinh kịp thời và hiệu quả khi điều trị bệnh tụ huyết trùng ở heo.

#### **\**B. bronchiseptica***

Kết quả ở Bảng 3.11 cho thấy các *B. bronchiseptica* có kiểu hình đề kháng với từ 1 đến 6 kháng sinh, 32/36 gốc *B. bronchiseptica* đã phân lập là các MDR *B. bronchiseptica*, chiếm tỉ lệ 88,89%. Các nghiên cứu liên quan đến đánh giá kiểu hình đề kháng kháng sinh của *B. bronchiseptica* là khá ít. Tại Úc, Dayao và ctv (2014) ghi nhận có *B. bronchiseptica* 27,78% gốc vi khuẩn này biểu hiện MDR *B. bronchiseptica*. Việc phân loại các chủng đa kháng còn nhiều hạn chế trong thú y do thiếu các điểm cắt đề kháng, hiện chỉ có một tổ chức thiết lập tiêu chuẩn phát triển các tiêu chí dành riêng cho thú y đó là tiểu ban CLSI về Thử nghiệm độ nhạy cảm

với kháng sinh trong thú y (CLSI-VAST) và một số tiêu chí diễn giải dành riêng cho từng loài trong thú y; các phiên bản CLSI VET là tài liệu phổ biến để diễn giải các kết quả này. Vì vậy, việc xây dựng các tiêu chí mang tính diễn giải cần được chú trọng nhiều hơn trong thú y (Sweeney và ctv, 2018).

**Bảng 3.11** Kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc *B. bronchiceptica*

| Số gốc vi khuẩn | Số kháng sinh bị đề kháng | Kiểu hình đề kháng                  |
|-----------------|---------------------------|-------------------------------------|
| 1               | 0                         | Không đề kháng                      |
| 1               | 2                         | CEF + TET                           |
| 2               | 2                         | PEN + TET                           |
| 1               | 3                         | CEF + FFN + TET *                   |
| 1               | 3                         | FFN + TET + SXT *                   |
| 1               | 3                         | FFN + TIL + SXT *                   |
| 1               | 3                         | PEN + FFN + TET *                   |
| 1               | 4                         | CEF + TET + TIL + TUL *             |
| 2               | 4                         | FFN + TET + TIL + SXT *             |
| 1               | 4                         | PEN + FFN + TET + SXT *             |
| 6               | 4                         | PEN + CEF + TET + SXT *             |
| 1               | 4                         | PEN + TET + TUL + SXT *             |
| 1               | 5                         | CEF + FFN + TET + TIL + SXT *       |
| 6               | 5                         | PEN + CEF + FFN + TET + SXT *       |
| 1               | 5                         | PEN + CEF + TET + TUL + SXT *       |
| 1               | 5                         | PEN + FFN + TET + TIL + SXT *       |
| 5               | 6                         | PEN + CEF + FFN + TET + TIL + SXT * |
| 1               | 6                         | PEN + CEF + TET + TIL + TUL + SXT * |
| 2               | 6                         | PEN + FFN + TET + TIL + TUL + SXT * |
| <b>36</b>       |                           | <b>*: MDR (32/36; 88,89%)</b>       |

Đến thời điểm hiện tại có thể thấy tetracycline, penicillin, tilmicosin, tulathromycin, enrofloxacin, florfenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole là những kháng sinh có tần suất xuất hiện thường xuyên trong các kiểu hình đề kháng của vi

khủng gây bệnh hô hấp trên heo đã phân lập. Tetracycline là kháng sinh có mặt trong hầu hết các kiểu hình đề kháng, với tỉ lệ đề kháng trên dưới 90% ở các nhóm vi khuẩn. Đề kháng với tetracycline nhiều nhất ở các gốc *A. pleuropneumoniae*, với 13/14 kiểu hình của *A. pleuropneumoniae* có mặt kháng sinh này. Ngoài ra, các kháng sinh khác cũng bị đề kháng mạnh bởi các vi khuẩn trong nghiên cứu này đã được thảo luận. Đây là điều đáng lo ngại bởi vì các kháng sinh nhóm beta-lactam (ampicillin, penicillin và cephalosporin) (trừ *B. bronchiseptica*), trimethoprim/sulfamethoxazole, florfenicol, macrolide (erythromycin, tilmicosin và tulathromycin) và tetracycline được xem là các lựa chọn kháng sinh tốt nhất để kiểm soát PRDC (Karriker và ctv, 2013; Dayao và ctv, 2014).

Dữ liệu của nghiên cứu này đã chỉ ra rằng tình trạng đa kháng thuốc hiện diện ở một tỉ lệ rất cao, hơn 60% đến gần 90% tùy từng loại vi khuẩn. Việc sử dụng thuốc kháng sinh như một biện pháp phòng ngừa và điều trị chắc chắn đã góp phần vào việc lựa chọn các chủng vi khuẩn này. Tuy nhiên, việc sử dụng thuốc kháng sinh quá mức mặc dù có thể cản trở quá trình xâm chiếm của các vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp nhưng sự can thiệp này không chỉ giới hạn ở những loài vi khuẩn này mà còn ảnh hưởng đến phần còn lại của hệ vi sinh vật. Sự suy giảm tính đa dạng của vi khuẩn trong hệ vi sinh vật ở heo có thể khiến hệ thống miễn dịch hoạt động kém hơn, như đã mô tả trước đây (Moreno và ctv, 2019; Costa-Hurtado và ctv, 2020). Việc sử dụng các biện pháp điều trị kháng khuẩn chiến lược chỉ có thể được khuyến cáo trong một số ít trường hợp, chủ yếu là để điều trị trong thời gian bùng phát dịch bệnh, điều này không chỉ quan trọng đối với sức khỏe mà còn đối với các vấn đề phúc lợi. Cần thực hiện các biện pháp kiểm soát thay thế để giảm thiểu khả năng gia tăng các trường hợp mắc bệnh do vi khuẩn kháng thuốc. Do đó, dữ liệu về sự lưu hành và hồ sơ kháng thuốc của các loài vi khuẩn này là then chốt, hiệu quả để góp phần vào việc lựa chọn đúng thuốc kháng sinh.

Kết quả nội dung nghiên cứu này không chỉ góp phần lựa chọn kháng sinh hiệu quả trong điều trị bệnh hô hấp trên heo tại các trang trại, các khu vực khảo sát mà còn góp phần vào cơ sở dữ liệu chung về đề kháng kháng sinh của vi khuẩn phân lập từ động vật nói chung, góp phần thực hiện mục tiêu giám sát đề kháng kháng sinh theo Quyết định số 3609/QĐ-BNN-YT về kế hoạch hành động quốc gia về phòng, chống kháng kháng sinh trong lĩnh vực nông nghiệp giai đoạn 2021-2025. Giảm sử dụng kháng sinh là chính sách y tế toàn cầu ưu tiên hàng đầu trong phòng chống đề kháng kháng sinh (WHO, 2011). Chính vì vậy, xác định các khả năng can thiệp giảm sử dụng kháng sinh trên heo thông qua biện pháp an toàn sinh học là mục tiêu tiếp theo của nghiên cứu này. Các kết quả đánh giá an toàn sinh học, sử dụng kháng sinh cũng như mối liên quan giữa 2 yếu tố này từ các dữ liệu thu thập được tại 35 trại chăn nuôi heo sẽ được phân tích, đánh giá trong các kết quả tiếp theo.

### **3.3 Kết quả đánh giá an toàn sinh học, sử dụng kháng sinh và mối liên quan giữa an toàn sinh học, sử dụng kháng sinh và năng suất chăn nuôi**

#### **3.3.1 Kết quả đánh giá an toàn sinh học**

##### **3.3.1.1 Hiện trạng an toàn sinh học của các trại khảo sát**

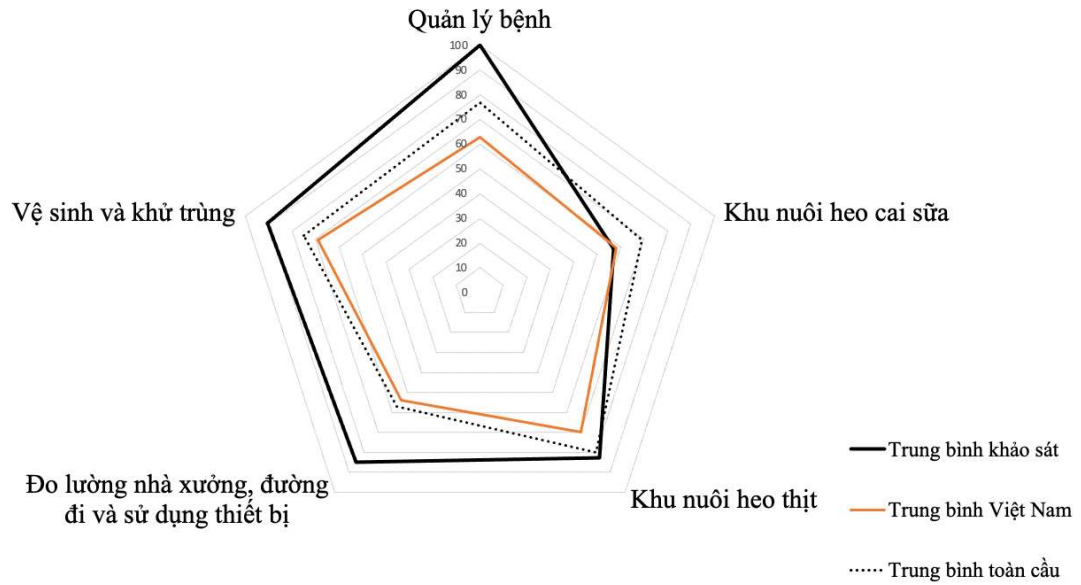
Kết quả đánh giá an toàn sinh học của 35 trại chăn nuôi heo bằng ứng dụng Biocheck.Ugent được trình bày qua Bảng 3.12, Hình 3.3, Hình 3.4 và Biểu đồ 3.1. Kết quả cho thấy điểm trung bình an toàn sinh học bên ngoài của các trại đã khảo sát là 79,37% và điểm trung bình an toàn sinh học bên trong là 86,17% và đều cao hơn điểm trung bình chung của khu vực và toàn cầu. Trước hết là đặc điểm trang trại, 35/35 trại heo tham gia đánh giá an toàn sinh học là các trang trại chăn nuôi heo từ giai đoạn cai sữa đến xuất thịt, quy mô từ 800 - 2900 con, chủ trang trại có kinh nghiệm chăn nuôi heo từ 2 - 12 năm tại thời điểm khảo sát, số lượng nhân công trực tiếp nuôi heo tại trang trại từ 2 - 5 người tùy theo quy mô trang trại trong trại, mỗi trang trại đều có 1 bác sĩ thú y. Do chỉ nuôi một loại heo (heo thịt) nên việc áp dụng cùng vào cùng ra, việc áp dụng an toàn sinh học khác cũng có nhiều thuận lợi. Một

điểm khác nữa là hầu hết các trại có sự tư vấn thú y từ các công ty cung cấp heo giống nên nhìn chung có nhiều thuận lợi hơn các trại khác.

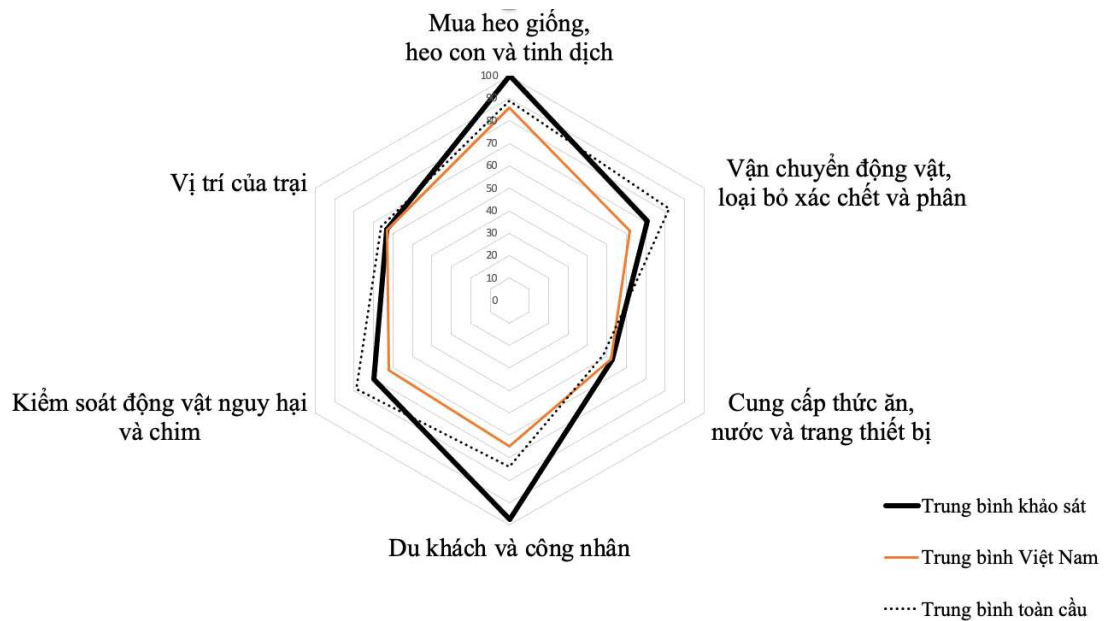
**Bảng 3.12** Kết quả đánh giá an toàn sinh học của 35 trại chăn nuôi heo

| <b>Tiêu chí</b>   | <b>n</b>  | <b>TB</b>    | <b>SD</b>   | <b>Min</b> | <b>Max</b> | <b>TBVN</b> | <b>TBTC</b> |
|---|-----------|--------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|
| <b>An toàn sinh học bên ngoài</b>   |           |              |             |            |            |             |             |
| - Mua heo giống heo con và tinh dịch  | 35        | 100          | 0           | 100        | 100        | 86          | 89          |
| - Vận chuyển động vật, loại bỏ xác chết và phân                             | 35        | 70,71        | 11,38       | 57         | 81         | 62          | 82          |
| - Cung cấp thức ăn, nước uống và trang thiết bị                             | 35        | 52,8         | 13,20       | 40         | 80         | 52          | 48          |
| - Khách tham quan và công nhân  | 35        | 97,25        | 3,032       | 94         | 100        | 65          | 74          |
| - Kiểm soát động vật nguy hại và chim                                       | 35        | 69,71        | 10,97       | 50         | 90         | 62          | 79          |
| - Vị trí của trại   | 35        | 63,42        | 15,89       | 30         | 100        | 63          | 66          |
| <b>An toàn sinh học bên trong</b>   |           |              |             |            |            |             |             |
| - Quản lý bệnh  | 35        | 100          | 0           | 100        | 100        | 63          | 77          |
| - Khu nuôi heo cai sữa  | 35        | 57,05        | 0,24        | 57         | 58         | 58          | 69          |
| - Khu nuôi heo thịt   | 35        | 82,6         | 3,54        | 79         | 86         | 70          | 80          |
| - Kiểm soát phân loãng làm việc giữa các khu trong trại và sử dụng thiết bị | 35        | 84,94        | 6,73        | 79         | 93         | 54          | 57          |
| - Vệ sinh và khử trùng  | 35        | 90,28        | 10,14       | 80         | 100        | 69          | 75          |
| <b>Tổng chung</b>   | <b>35</b> | <b>83,09</b> | <b>4,26</b> | <b>75</b>  | <b>88</b>  | <b>64,0</b> | <b>72,0</b> |

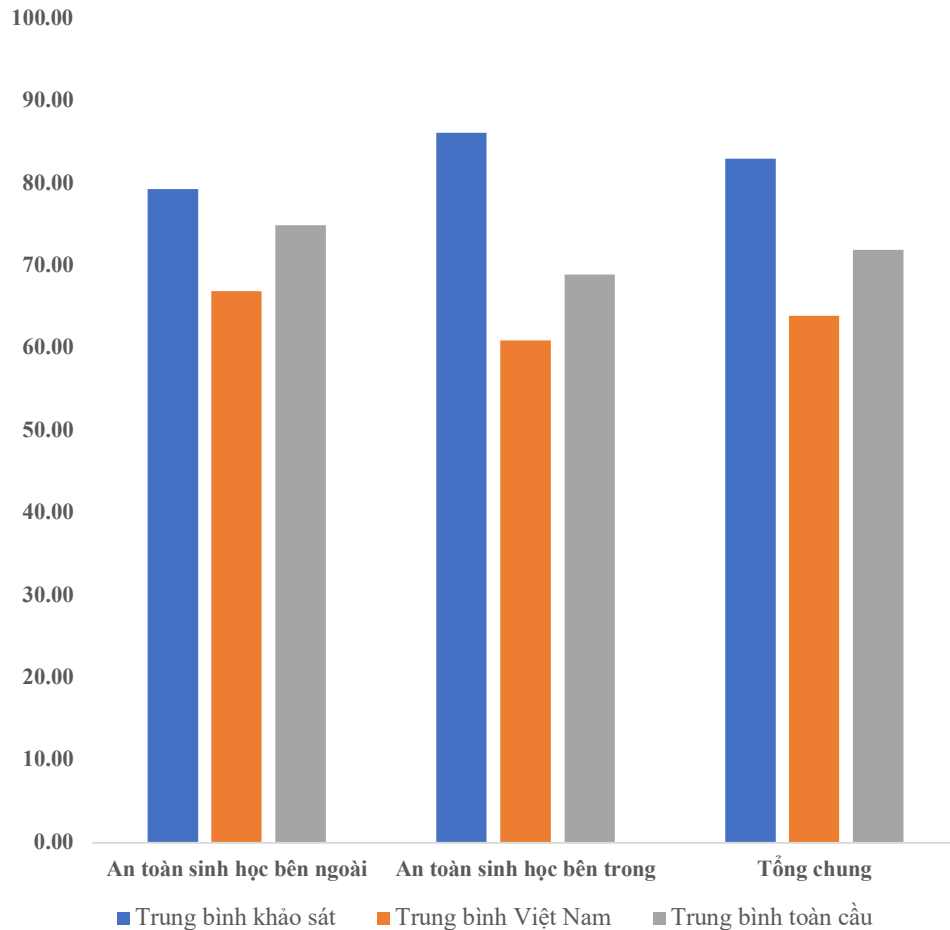
**n:** số trại khảo sát; **TB:** điểm trung bình an toàn sinh học của các trại khảo sát theo tiêu chí; **SD:** độ lệch chuẩn điểm khảo sát; **Min:** điểm nhỏ nhất; **Max:** điểm lớn nhất; **TBVN:** Điểm trung bình của các trại tại Việt Nam theo dữ liệu của trang web; **TBTC:** Điểm trung bình tính cho các trại toàn cầu



**Hình 3.3** Trung bình điểm an toàn sinh học bên trong của các trại khảo sát so với Việt Nam và toàn cầu theo từng nhóm tiêu chí



**Hình 3.4** Trung bình điểm an toàn sinh học bên ngoài của các trại khảo sát so với Việt Nam và toàn cầu theo từng nhóm tiêu chí



**Biểu đồ 3.1** Trung bình điểm an toàn sinh học của các trại khảo sát so với Việt Nam và toàn cầu

### **An toàn sinh học bên ngoài**

Xét về các tiêu chí đánh giá điểm an toàn sinh học bên ngoài, 100% các trang trại mua heo con từ các công ty heo giống uy tín và luôn cùng một nhà cung cấp trong một đợt nuôi. Heo con đã được tiêm vaccin phòng bệnh PRRS, PCV2, *Mycoplasma* trong giai đoạn theo mẹ và tiếp tục được tiêm phòng các bệnh lở mồm long móng, dịch tả, tụ huyết trùng,.. trong giai đoạn cai sữa đến xuất thịt. Quy trình tiêm phòng tùy thuộc vào tình hình dịch tễ từng trại, địa phương. Trong đó, lở mồm long móng, dịch tả, tụ huyết trùng là những bệnh nằm trong danh mục bắt buộc phải tiêm phòng cho heo theo thông tư số 07/2016/TT-BNNPTNT.



### **Vận chuyển động vật, loại bỏ xác heo chết và phân**

Các phương tiện vận chuyển đến trang trại luôn được sát trùng, số lần heo con được vận chuyển đến trang trại là ít hơn 2 lần mỗi năm. Phương tiện vận chuyển heo thịt đến lò mổ luôn luôn trống và luôn được vệ sinh khử trùng khi đến trang trại và không di chuyển heo từ trại này sang trại khác, tất cả các trại đều có lối đi riêng để các phương tiện vận chuyển vào bên trong trại, lái xe luôn được trang bị quần áo, ủng chuyên dụng của trang trại, tắm rửa trước khi vào trại. Heo được vận chuyển lên xe từ khu vực vận chuyển riêng thông qua đường lùa heo từ mỗi dãy (Hình 3.5). Tất cả các trại đều có hệ thống thu gom phân bằng các đường ống để đưa đến các hố phân và xử lý bằng hệ thống biogas (Hình 3.6). Heo chết được đưa vào hố chôn và rải vôi. Tuy nhiên, yếu tố kho lạnh bảo quản xác là không có ở tất cả các trại heo do đó ảnh hưởng đến điểm đánh giá của yếu tố này theo Biocheck. Theo thông tư 12/2021 TT-BNNPTNT, đối với chất thải rắn có nguồn gốc hữu cơ và nước thải chăn nuôi thì tất cả các cơ sở chăn nuôi đều phải có hệ thống xử lý chất thải với quy mô, công suất lắp đặt phù hợp, sử dụng công trình khí sinh (biogas), ủ phân compost, đệm lót sinh học. Nước thải chăn nuôi phải đảm bảo giá trị tối đa cho phép của các thông số ô nhiễm áp dụng (pH, BOD5, chất rắn, nitơ, phospho và coliform) đối với cơ sở chăn nuôi tùy theo đối tượng phải cấp Giấy phép đăng ký môi trường, đăng ký môi trường hay chưa đến mức phải đăng ký môi trường theo quy chuẩn 62:2021 của Bộ Tài nguyên môi trường. Cơ sở chăn nuôi trang trại quy mô lớn chỉ được cấp Giấy chứng nhận đủ điều kiện chăn nuôi khi đảm bảo đáp ứng các điều kiện về chăn nuôi và các yêu cầu, điều kiện về bảo vệ môi trường quy định theo Nghị định số 13/2020/NĐ-CP.



**Hình 3.5** (A) Lối đi riêng của xe ra vào trại; (B) Đường lùa heo từ đầu dãy chuồng ra bên ngoài hàng rào chu vi



**Hình 3.6** Hệ thống xử lý chất thải tạo biogas

### **Cung cấp thức ăn, nước uống và trang thiết bị**

Tất cả các trại sử dụng thức ăn hỗn hợp dập viên và được cung cấp bởi các công ty sản xuất thức ăn chăn nuôi có uy tín trên thị trường. Việc sản xuất thức ăn cho vật nuôi quy định tại Thông tư 04/2020 Ban hành quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về thức ăn chăn nuôi và nguyên liệu sản xuất, trong đó công bố hợp quy thức ăn bắt buộc phải đáp ứng tiêu chuẩn kỹ thuật về độc tố và vi sinh (*E. coli* và *Salmonella*)

được quy định theo thông tư này. Thức ăn được phương tiện vận chuyển đưa đến các kho chứa thức ăn bằng lối đi riêng sau khi vệ sinh sát trùng người và phương tiện vận chuyển. Kho thức ăn được chiếu tia UV để tiệt trùng sau mỗi đợt nhập thức ăn vào kho và trước khi đưa thức ăn vào silo để chuyển đến các máng ăn tự động. Nguồn nước cung cấp cho heo tại các trại là nước giếng khoan, một số trại sử dụng chlorine để khử trùng nguồn nước (Hình 3.7). Nước uống được lấy mẫu và gửi đi kiểm tra, phân tích thành phần vi sinh trước mỗi đợt nuôi mới. Nước uống dùng trong chăn nuôi được quy định theo Quy chuẩn 01-39/2011, theo đó nước uống phải đạt tiêu chuẩn về giới hạn pH, hàm lượng độc tố và vi sinh (vi khuẩn hiếu khí, coliforms tổng số và fecal coliforms).



**Hình 3.7** (A) Hệ thống cung cấp thức ăn, (B) nước uống tự động cho heo

### **Khách tham quan và công nhân**

Khách tham quan và công nhân vào trại không tiếp xúc với heo hoặc đến thăm trại heo khác ít nhất 1 ngày trước đó, đồng thời tắm rửa, thay quần áo của trại, ủng chuyên dùng của trại. Tuy nhiên, kể từ năm 2019 khi bệnh dịch tả heo Châu Phi bùng phát, tất cả các trại đều hạn chế khách tham quan, công nhân làm việc trực tiếp trong khu chăn nuôi cũng giới hạn số lần ra vào trại, chỉ 1-2 lần/đợt nuôi. Khu vực nhà ở của công nhân trực tiếp chăm sóc heo được bố trí bên trong trại và tách biệt khu chăn nuôi, bếp ăn và có sự phân chia khu vực sạch, bẩn trong khu vực vệ sinh của công nhân.

### **Kiểm soát động vật nguy hại và chim**

Hầu hết các trại chăn nuôi heo đều có thói quen nuôi thêm các loại động vật khác như chó, mèo, gà,... để giữ nhà, tận dụng nguồn thức ăn thừa. Chuột cũng là vấn đề khó kiểm soát của trang trại; 20/30 trại kín (cooling) có lắp tấm lưới chắn trước lỗ thông gió và các hành lang xung quanh dãy chuồng để kiểm soát chim. 5/35 trại là trại hở (open) thì việc kiểm soát chim, côn trùng cũng như động vật ngoại lai còn hạn chế. Việc kiểm soát chuột được thực hiện bằng cách sử dụng thuốc diệt chuột đặt xung quanh trại, không phát hiện heo hoang ở các trang trại khảo sát. Điểm trung bình của các trại ở yếu tố này là 69% cao hơn trung bình của Việt Nam là 62% nhưng thấp hơn trung bình thế giới 79% do phần lớn các trại trong khảo sát là trại kín nên có thể kiểm soát chim cũng như các động vật ngoại lai khác, góp phần làm tăng điểm đánh giá an toàn sinh học của yếu tố này.

### **Vị trí của trại**

Kết quả khảo sát có 8/35 (22,85%) trại chăn nuôi heo nằm trong khu vực có mật độ chăn nuôi heo cao, cách trang trại khác trong phạm vi bán kính 50m, thuộc khu vực huyện Thống Nhất, Trảng Bom và Cẩm Mỹ, Đồng Nai. Các phương tiện vận chuyển động vật của các trang trại khác nằm trong khu vực có thể đi cùng trên một con đường cách trang trại khảo sát chưa đến 100m. Tất cả trang trại đều có tường/hàng rào lưới bao quanh. Điểm trung bình vị trí trang trại của 35 trại khảo sát là 63% tương đương với điểm trung bình của Việt Nam nhưng thấp hơn trung bình toàn cầu là 66%. Nghị định 13/2020/NĐ-CP quy định khoảng cách từ trang trại chăn nuôi quy mô lớn đến khu tập trung xử lý chất thải sinh hoạt, công nghiệp, khu dân cư tối thiểu là 400m; trường học, bệnh viện, chợ, nguồn cung cấp nước sinh hoạt cho cộng đồng dân cư tối thiểu là 500m. Khoảng cách giữa 2 trang trại chăn nuôi của 2 chủ thể khác nhau tối thiểu là 50m.

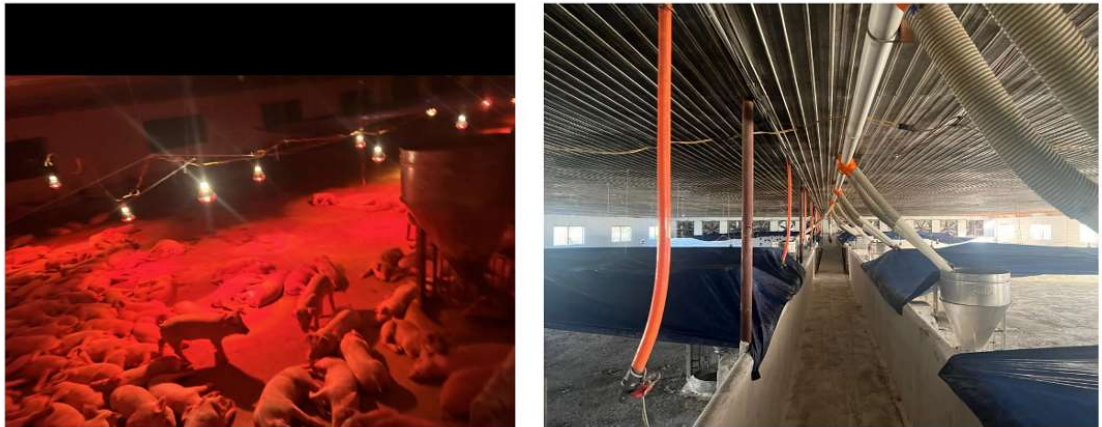
### **An toàn sinh học bên trong**

#### **Quản lý bệnh**

Tất cả các trang trại đều áp dụng quy trình phòng bệnh cho heo bằng vaccin, trong đó các bệnh được tiêm phòng cho heo giai đoạn cai sữa đến xuất thịt như dịch tả heo, lở mồm long móng; các heo bị bệnh luôn luôn được cách ly với heo khỏe mạnh ở những ô chuồng riêng và được thăm khám/điều trị, sau khi chăm sóc các heo khỏe mạnh.

### **Khu nuôi heo cai sữa**

Tất cả các trại đều nuôi heo từ giai đoạn cai sữa đến xuất thịt, việc áp dụng cùng vào/cùng ra được thực hiện ở tất cả các trại và không có sự trộn lẫn các hạng heo khác nhau trong một đợt nuôi. Khu úm heo cai sữa được bố trí ở 17/35 trại, đây là khu vực được che bạt xung quanh và trang bị đèn úm cho heo sau cai sữa, thời gian heo được nuôi giữ trong khu úm từ 15-20 ngày trước khi chuyển sang các ô chuồng khác để tiếp tục nuôi đến xuất chuồng (Hình 3.8). Heo cai sữa được nuôi nhốt với mật độ cao 5-6 heo con/m<sup>2</sup>, đồng thời không có khu vệ sinh riêng ở khu vực nuôi heo cai sữa. Đây là yếu tố có điểm đánh giá an toàn sinh học thấp nhất là 57 điểm, thấp hơn điểm trung bình của Việt Nam là 58% và thế giới là 69%.



**Hình 3.8** Khu úm heo sau cai sữa

### **Khu nuôi heo thịt**

Tất cả các trại đều áp dụng biện pháp cùng vào/cùng ra đối với mỗi ô chuồng, dãy chuồng, tuy nhiên một số trại có mật độ nuôi nhốt heo là 0,6-0,7m<sup>2</sup>/heo thịt so với tiêu chuẩn là 1-1,2m<sup>2</sup>/heo thịt.



### **Kiểm soát phân luồng làm việc giữa các khu trong trại và sử dụng thiết bị**

Các yếu tố thuộc tiêu chí này bao gồm sử dụng quần áo riêng cho trang trại, ủng được thay khi di chuyển sang dãy chuồng khác, các trang thiết bị chổi, cào, xẻng,.. được sử dụng riêng cho trang trại, được đánh dấu bằng màu sắc để dùng riêng cho từng dãy và không di chuyển sang các trang trại khác; các tấm ván được dùng để dẫn heo được vệ sinh sạch sẽ sau mỗi lần sử dụng và được khử trùng cùng với các thiết bị khác sau khi mỗi đợt nuôi, bơm tiêm được thay cho mỗi ô chuồng (50-100 con), một số ít trại thay kim tiêm sau khi tiêm cho khoảng 20 con heo. Điểm trung bình của tiêu chí này ở các trang trại khảo sát là khá cao, 84 điểm so với trung bình của Việt Nam và thế giới, điều này do tất cả các yếu tố đều được đánh giá trên nhóm heo thịt và tất cả các yếu tố đều mang tính định tính (có/không), không có định lượng cụ thể như các yếu tố khác.

### **Vệ sinh và khử trùng**

Tất cả các trang trại khảo sát đều tuân thủ thực hiện vệ sinh khử trùng chuồng trại định kỳ, 1-2 lần/tuần và vệ sinh sát trùng cuối kỳ sau khi kết thúc đợt nuôi và để trống chuồng ít nhất 3 tuần trước khi bắt đầu đợt nuôi mới. Các thuốc sát trùng chứa các hoạt chất sát trùng phổ rộng như iodine, glutaraldehyde, alkylbenzyltrimethylammonium chloride,... được sử dụng phổ biến ở các trại. Đường đi và khu vực bốc dỡ heo được vệ sinh và khử trùng sau khi heo được chuyển đi, tất cả các trại đều có bồn/chậu chứa chất khử trùng ngâm giày, ủng được đặt ở lối vào của trang trại.

Việc thực hiện an toàn sinh học trong chăn nuôi heo tại Việt Nam ngày càng được chú trọng, nhà nước đã ban hành các quy định QCVN 01 - 14: 2010/BNNPTNT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia điều kiện trại chăn nuôi heo an toàn sinh học hoặc gần đây là Thông tư 24/2022/TT- BNNPTNT Quy định về cơ sở, vùng an toàn dịch bệnh động vật theo đó các điều kiện để được công nhận cơ sở an toàn dịch bệnh động vật được quy định tại điều 10 của Thông tư này, liên quan đến việc thực hiện các biện pháp phòng bệnh động vật đáp ứng các quy định tương ứng của pháp luật về vị trí địa lý, xử lý xác động vật, chất thải, kiểm soát động vật hoang dã, có hệ thống tiêu độc,

khử trùng; có kế hoạch tổ chức giám sát dịch bệnh động vật, không để xảy ra dịch bệnh và phải có các biện pháp ứng phó với dịch bệnh theo các quy định tại Thông tư này cũng như các điều khoản theo quy định của Luật thú y. Việc xây dựng cơ sở chăn nuôi theo các quy chuẩn đã ban hành góp phần kiểm soát mầm bệnh cho trang trại và các lợi ích từ thực thi các quy chuẩn như miễn xét nghiệm lấy mẫu kiểm dịch động vật, được hỗ trợ giới thiệu sản phẩm, xúc tiến thương mại và các hỗ trợ khác. Tuy nhiên, việc thực thi các quy chuẩn còn nhiều thủ tục và cần phải phối hợp với nhiều cơ quan chức năng có liên quan. Bên cạnh các chính sách pháp luật về an toàn sinh học trong chăn nuôi, thì ý thức của người chăn nuôi về an toàn sinh học cũng ngày càng được nâng lên sau khi chịu ảnh hưởng nghiêm trọng từ các đợt bùng phát dịch ASF, PRRS. Khảo sát của Cuc và ctv (2020) cho thấy điểm an toàn sinh học bên ngoài và bên trong của các trang trại chăn nuôi heo tại khu vực Đồng Nai và Hà Nội là tương đương nhau (53,56% và 55,05%,  $P > 0,05$ ). Trong đó, mua động vật và tinh dịch là những yếu tố an toàn sinh học bên ngoài đạt điểm cao nhất, trong khi lối vào của nhân viên và khách tham quan đạt điểm thấp nhất. Bên cạnh đó, việc quản lý dịch bệnh là yếu tố an toàn sinh học bên trong đạt điểm cao nhất. Nghiên cứu của Trần Quốc Vĩ và ctv, (2016) cũng cho thấy điểm an toàn sinh học trung bình của các trại khảo sát là 53,5. Trong đó, nhiều biện pháp an toàn sinh học chưa được thực hiện như áp dụng cùng vào/cùng ra, trang bị bảo hộ cho khách tham quan, định kỳ kiểm tra chất lượng nguồn nước, sát trùng phương tiện ra vào trại, ngăn các loài vật nuôi khác vào khu vực chăn nuôi, còn nuôi chung các loài gia súc, gia cầm khác, thực hiện vệ sinh, khử trùng khi di chuyển giữa các dãy chuồng là khó thực hiện, chất thải được xử lý biogas nhưng nước thải biogas chưa được xử lý. Nhận định về thực trạng an toàn sinh học trong chăn nuôi heo nông hộ tại Thừa Thiên Huế, nhóm nghiên cứu của Phan Thị Duy Thuận và ctv (2022) cho rằng các biện pháp ngăn chặn mầm bệnh xâm nhập như hố khử trùng ở cổng và lối ra vào chuồng; giống có kiểm dịch, cách ly heo mới mua, biện pháp ngăn chặn chuột, chó,... và “các biện pháp ngăn chặn mầm bệnh

phát tán” như nguyên tắc cùng vào/cùng ra, cách ly heo ốm, sát trùng các phương tiện vận chuyển, người, vật dụng tại công ra vào trại, khu chăn nuôi và xả chất thải trực tiếp ra môi trường,.. chưa đảm bảo theo qui chuẩn.

Khảo sát tại Bỉ và Thụy Điển cho thấy điểm trung bình an toàn sinh học bên trong của các trang trại chăn nuôi heo ở lần lượt là 66% và 59% (Laanen và ctv, 2013; Backhand và ctv, 2015); các yếu tố an toàn sinh học được thực hiện chặt chẽ liên quan đến việc mua động vật, các quy trình dành cho khách tham quan, việc sử dụng hệ thống cùng vào/ cùng ra và thời gian vệ sinh giữa các lứa. Tuy nhiên, vẫn còn vài yếu tố cần cải thiện như hệ thống vận chuyển động vật, các biện pháp vệ sinh trong trại và giữa các khu cũng như quy trình làm việc của nhân viên giữa các nhóm heo khác nhau (Backhans và ctv, 2015). Một nghiên cứu khác đồng thời tại 4 quốc gia Châu Âu cho thấy điểm an toàn sinh học bên ngoài và an toàn sinh học bên trong các trang trại chăn nuôi heo trung bình lần lượt là 65,5% và 55,7%. Trong đó, an toàn sinh học bên ngoài cao nhất ở Đức (70,2%) và thấp nhất ở Pháp (59,4%; an toàn sinh học bên trong được thực thi tốt nhất ở Thụy Điển (58,8%) và kém nhất là ở Bỉ (50,3%) (Postma và ctv, 2016).

Kết quả đánh giá chung cho thấy các trang trại chăn nuôi trong nghiên cứu này kiểm soát tốt các yếu tố an toàn sinh học bên trong hơn so với các yếu tố an toàn sinh học bên ngoài. Các yếu tố an toàn sinh học bao gồm quản lý bệnh, kiểm soát phân luồng làm việc giữa các khu trong trại và sử dụng thiết bị; mua heo giống, heo con, tinh dịch; khách tham quan và công nhân có điểm trung bình cao hơn so với điểm trung bình của các yếu tố này ở cấp quốc gia và toàn cầu. Điều này có thể lý giải là heo được nhập từ cùng một nguồn, có nguồn gốc rõ ràng, đã được tiêm phòng một số bệnh trước khi vào trại, hệ thống vệ sinh sát trùng cho người và phương tiện được trang bị đầy đủ, hạn chế khách tham quan và công nhân ra vào trại, thức ăn được cung cấp từ các công ty uy tín trên thị trường, nước uống được kiểm tra vi sinh định kỳ trước mỗi đợt nuôi, chất thải được xử lý bằng hệ thống biogas.



Tuy nhiên, một số yếu tố chưa được thực thi tốt như vị trí của trại nằm trong khu vực có mật độ chăn nuôi cao, mật độ nuôi nhốt heo cao trong các ô chuồng, chưa kiểm soát hoàn toàn được chim, chuột,.. và còn nuôi cùng các động vật khác trong trang trại; một số trại kín chưa lắp tấm chắn trước lỗ thông gió để ngăn chim cũng như động vật ngoại lai, côn trùng vào trại, chưa có hệ thống xử lý nước thải biogas, chưa được trang bị hệ thống lọc xử lý nước. Tóm lại, các yếu tố an toàn sinh học cần cải thiện trong các trang trại khảo sát bao gồm điều chỉnh mật độ nuôi nhốt heo, lắp tấm chắn trước lỗ thông gió và xung quanh các dãy chuồng để ngăn chim cũng như động vật ngoại lai, côn trùng vào trại; không nuôi giữ các động vật khác cùng với heo; xây dựng hệ thống xử lý nước thải biogas, trang bị hệ thống xử lý nước uống cho heo.

### 3.3.1.2 Ảnh hưởng của một số yếu tố đối với điểm an toàn sinh học

Sự ảnh hưởng của chu kỳ nuôi (số đợt đã nuôi heo thịt của trại đến thời điểm khảo sát) kiểu chuồng, quy mô trang trại đến các yếu tố an toàn sinh học được trình bày qua Bảng 3.13.

**Bảng 3.13** Các yếu tố cơ bản của trại ảnh hưởng đến điểm an toàn sinh học

| <b>Yếu tố</b>      | <b>n</b> | <b>Điểm an toàn sinh học</b> | <b>SD</b> | <b>P</b> |
|--------------------|----------|------------------------------|-----------|----------|
| <b>Chu kỳ nuôi</b> |          |                              |           |          |
| Từ 1-3             | 15       | 83,60                        | 3,64      | 0,544    |
| Trên 3             | 20       | 82,70                        | 4,72      |          |
| <b>Kiểu chuồng</b> |          |                              |           |          |
| Lạnh (cooling)     | 29       | 83,20                        | 4,38      | 0,569    |
| Hở (open)          | 6        | 82,16                        | 3,81      |          |
| <b>Quy mô</b>      |          |                              |           |          |
| 800 -1500 con      | 14       | 81,92                        | 4,49      | 0,193    |
| Trên 1500 con      | 21       | 83,85                        | 4,01      |          |

**n:** số trại khảo sát, **SD:** độ lệch chuẩn

Kết quả từ Bảng 3.13 chưa cho thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê của các yếu tố đặc tính trại (chu kỳ nuôi, kiểu chuồng và quy mô trang trại) đến điểm an toàn

sinh học. Tuy nhiên, kết quả này cho thấy phần nào xu hướng về sự ảnh hưởng của quy mô chăn nuôi đến an toàn sinh học của các trại khảo sát với giá trị  $p$  thấp nhất. Trong đó, trại quy mô chăn nuôi trên 1500 con có điểm an toàn sinh học tốt hơn trại có quy mô từ 800-1500 con.

Một sự đồng thuận về mối liên quan này được tìm thấy trong một nghiên cứu tại Trung Quốc, khi quy mô trang trại tăng lên thì mức độ an toàn sinh học cũng tăng lên (Wang và ctv, 2023). Cũng trong nghiên cứu này, tác giả kết luận mức độ an toàn sinh học ở trang trại không tăng theo số năm chăn nuôi. Điều này cũng phần nào đúng với kết quả khảo sát của nghiên cứu này khi chu kỳ nuôi không ảnh hưởng có ý nghĩa lên điểm an toàn sinh học.

Sự ảnh hưởng của kiểu chuồng nuôi đến điểm an toàn sinh học của các trại khảo sát trong nghiên cứu này cũng không có ý nghĩa về mặt thống kê ( $p > 0,05$ ). Kết quả này có thể do 29/35 trại khảo sát là trại lạnh và tất cả các trại đều có quy mô chăn nuôi lớn (trên 300 đơn vị vật nuôi) (Nghị định 13/2020/NĐ-CP) và số trại khảo sát còn ít, do đó ảnh hưởng của sự phân bố về chu kỳ nuôi và quy mô chăn nuôi trong mối liên quan của kiểu chuồng nuôi đối với an toàn sinh học là chưa được ghi nhận trong nghiên cứu này. Thông thường với số mẫu lớn, việc phân tích đa biến có thể giúp loại bỏ sự ảnh hưởng này.

Nhiều yếu tố ảnh hưởng đến an toàn sinh học khác đã được ghi nhận nhưng chưa thể xem xét trong nghiên cứu này do tính chủ quan và khả năng tiếp cận của thông tin. Việc áp dụng các biện pháp an toàn sinh học phần lớn phụ thuộc vào thái độ và hiểu biết của người chăn nuôi về các bệnh truyền nhiễm cũng như cách phòng ngừa. Sự hiểu biết của người chăn nuôi về tầm quan trọng của các biện pháp an toàn sinh học khác nhau là một quá trình phức tạp liên quan đến nhiều yếu tố và có thể bị ảnh hưởng bởi đặc điểm của trang trại, các biện pháp được thực hiện hoặc thực hiện bởi các trang trại lân cận, tư vấn thú y và thông tin khoa học và kỹ thuật hiện có. Nghiên cứu Laanen và ctv (2013) cho thấy có mối tương quan nghịch giữa kinh nghiệm của nông dân và điểm an toàn sinh học bên trong; nông dân càng trẻ thì mức độ an toàn sinh học trong trang trại càng cao. Giới tính của chủ trang trại cũng liên

quan đến mức an toàn sinh học của trại, trang trại được quản lý bởi phụ nữ sẽ có điểm an toàn sinh học cao hơn nam giới. Mỗi tương quan tích cực giữa trình độ học vấn và điểm an toàn sinh học bên trong cũng được ghi nhận.

### 3.3.1.3 Mỗi liên quan giữa an toàn sinh học đến một số chỉ tiêu năng suất

Ảnh hưởng của các yếu tố an toàn sinh học đến một số chỉ tiêu đầu ra năng suất như tỉ lệ chết, tăng trọng ngày, trọng lượng cuối và lợi nhuận (đã hiệu chỉnh theo số ngày nuôi) được trình bày qua Bảng 3.14.

**Bảng 3.14** Mỗi liên quan giữa các điểm an toàn sinh học đến đầu ra năng suất

| Chỉ tiêu năng suất               | TB      | SD       | Hệ số góc của phương trình hồi quy |           |       |
|----------------------------------|---------|----------|------------------------------------|-----------|-------|
|                                  |         |          | Giá trị                            | SE        | P     |
| Tỉ lệ chết (%)                   | 0,06    | 0,03     | - 0,0009223                        | 0,0015045 | 0,544 |
| Tăng trọng ngày<br>(kg/con/ngày) | 0,64    | 0,03     | 0,0025319                          | 0,0010571 | 0,023 |
| Trọng lượng cuối<br>(kg/con)     | 106,94  | 4,60     | 0,3652939                          | 0,1592944 | 0,029 |
| Lợi nhuận (đồng/kg)              | 2936,28 | 12323,04 | 452,5714                           | 471,7646  | 0,345 |

**TB:** trung bình, **SD:** độ lệch chuẩn, **SE:** sai số chuẩn

Kết quả Bảng 3.14 cho thấy điểm an toàn sinh học ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đối với các chỉ tiêu liên quan đến tăng trọng ngày, trọng lượng cuối và FCR ( $P < 0,05$ ). Trong đó, một đơn vị điểm an toàn sinh học tăng sẽ làm tăng thêm giá trị tăng trọng ngày tương đương 0,0025319 kg/con/ngày, một đơn vị điểm an toàn sinh học tăng sẽ làm tăng thêm giá trị trọng lượng cuối tương đương 0,3652939 kg/con. Điều này có thể dễ hiểu vì sự cải thiện an toàn sinh học thực sự mang lại giá trị về sức khỏe heo nên năng suất gia tăng.

Một kết quả đáng chú ý là sự ảnh hưởng của an toàn sinh học của đến tỉ lệ chết trên heo của các trại khảo sát, khi tăng một đơn vị điểm (1%) an toàn sinh học thì tỉ lệ chết sẽ giảm khoảng 0,09%. Điều này cho thấy khi an toàn sinh học được thực hiện tốt có thể giúp cải thiện sức khỏe đàn, góp phần giảm tỉ lệ chết trên heo. Mặc dù sự

liên quan này không có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P > 0,05$ ) nhưng kết quả cho thấy nếu cải thiện các điều kiện an toàn tốt hơn so với hiện tại sẽ giúp giảm tỉ lệ chết trên heo.

Ngược lại với kết quả này, Laanen và ctv (2013) không tìm thấy mối quan hệ nào giữa an toàn sinh học và tỉ lệ chết của heo vỗ béo. Điều này có thể phản ánh sự khác biệt trong các phương pháp đo lường an toàn sinh học giữa các nghiên cứu hoặc an toàn sinh học chỉ là một trong số các yếu tố liên quan đến tỉ lệ chết trên heo.

Kết quả nghiên cứu của Postma và ctv (2016) trên 61 đàn heo ở vùng Flemish, Bỉ liên quan đến quản lý đàn, cải thiện an toàn sinh học giúp giảm sử dụng kháng sinh với các kết quả kỹ thuật được cải thiện đáng kể như số lượng heo con cai sữa/nái mỗi năm (+1,1%), tăng trọng hằng ngày (+5,9 g/con/ngày) và tỉ lệ chết trong giai đoạn xuất chuồng (0,6%). Các biện pháp can thiệp bằng an toàn sinh học đồng thời kết hợp với các biện pháp khác có sự tham gia của người nông dân và bác sĩ thú y đã là một phương pháp đầy hứa hẹn trong việc cải thiện các chỉ số liên quan đến năng suất chăn nuôi.

Như vậy, mặc dù an toàn sinh học cho thấy ảnh hưởng chưa nhất quán đến các chỉ tiêu liên quan đến năng suất được ghi nhận trong các nghiên cứu, thế nhưng đa phần cho thấy nếu an toàn sinh học được thực hiện tốt hơn có thể cải thiện sức khỏe đàn, giảm tỉ lệ chết, tăng trọng tốt hơn góp phần nâng cao năng suất chăn nuôi.

### **3.3.2 Các kết quả đánh giá liên quan đến sử dụng kháng sinh ở 35 trại khảo sát**

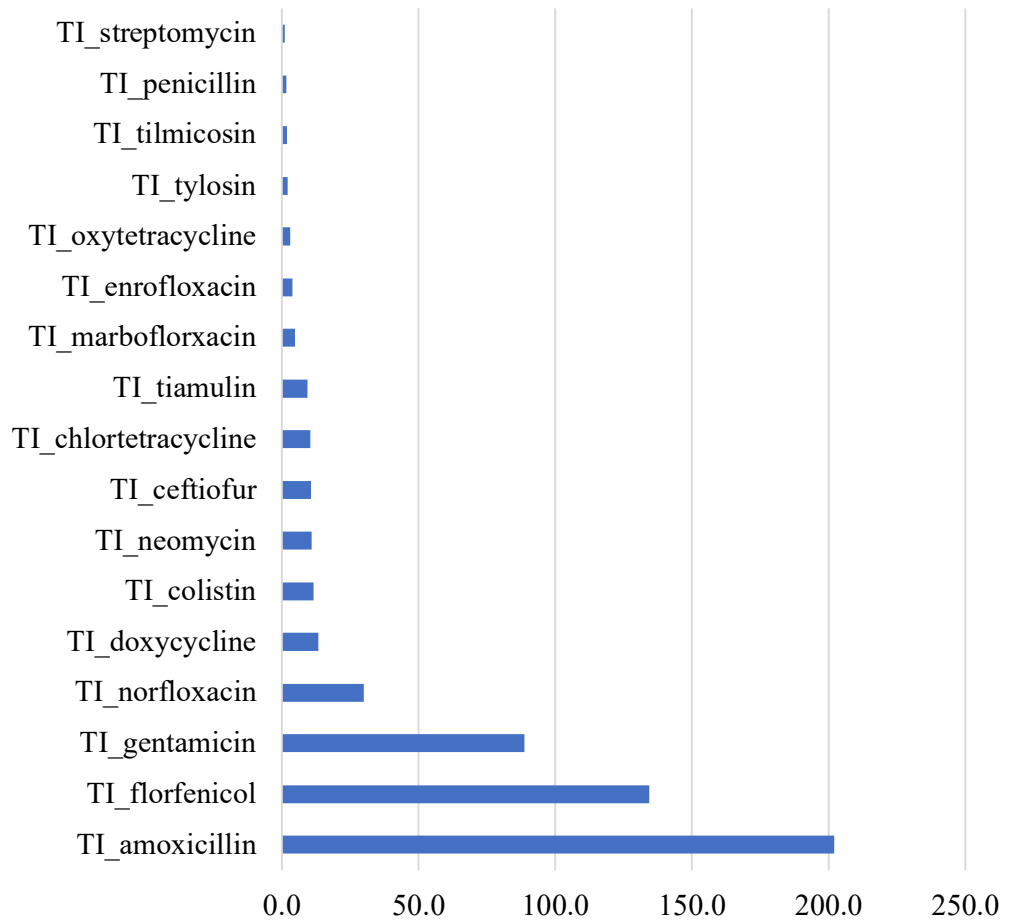
#### **3.3.2.1 Hiện trạng sử dụng kháng sinh ở 35 trại khảo sát**

Các kết quả đánh giá liên quan đến sử dụng kháng sinh ở các trại khảo sát bao gồm lượng hoạt chất kháng sinh sử dụng ở các trại khảo sát được trình bày qua Bảng 3.15, Biểu đồ 3.2.

**Bảng 3.15** Lượng hoạt chất kháng sinh sử dụng tại 35 trại (tính theo giá trị TI)

| <b>Kháng sinh</b>     | <b>n</b> | <b>TB</b> | <b>SD</b> | <b>Min</b> | <b>Max</b> |
|-----------------------|----------|-----------|-----------|------------|------------|
| TI_ amoxicillin       | 35       | 202,0     | 104,3     | 21,23      | 439,7      |
| TI_ florfenicol       | 35       | 134,4     | 114,7     | 7,59       | 497,0      |
| TI_ gentamicin        | 35       | 88,9      | 88,2      | 0          | 411,9      |
| TI_ norfloxacin       | 35       | 30,0      | 30,4      | 0          | 140,3      |
| TI_ doxycycline       | 35       | 13,3      | 8,5       | 0          | 32,8       |
| TI_ colistin          | 35       | 11,6      | 6,7       | 0          | 29,0       |
| TI_ neomycin          | 35       | 11,0      | 21,7      | 0          | 132,1      |
| TI_ ceftiofur         | 35       | 10,7      | 13,9      | 0          | 62,8       |
| TI_ chlortetracycline | 35       | 10,5      | 8,8       | 0          | 38,9       |
| TI_ tiamulin          | 35       | 9,4       | 8,9       | 0          | 38,8       |
| TI_ marbofloxacin     | 35       | 4,8       | 7,5       | 0          | 24,8       |
| TI_ enrofloxacin      | 35       | 3,9       | 7,7       | 0          | 38,7       |
| TI_ oxytetracycline   | 35       | 2,9       | 9,0       | 0          | 47,8       |
| TI_ tylosin           | 35       | 2,1       | 5,0       | 0          | 21,3       |
| TI_ tilmicosin        | 35       | 1,9       | 2,8       | 0          | 12,9       |
| TI_ penicillin        | 35       | 1,7       | 2,7       | 0          | 13,9       |
| TI_ streptomycin      | 35       | 1,1       | 1,8       | 0          | 9,2        |

**TI:** tỉ lệ điều trị, là số ngày 1 con heo sẽ được điều trị bằng một liều kháng sinh /1000 ngày **n:** số trại khảo sát; **TB:** số ngày trung bình mà một con vật sẽ được điều trị bằng kháng sinh, nếu nó sống trong khoảng thời gian lý thuyết là 1000 ngày; **SD:** độ lệch chuẩn; **Min:** số ngày ít nhất mà một con vật sẽ được điều trị bằng kháng sinh, nếu nó sống trong khoảng thời gian lý thuyết là 1000 ngày; **Max:** số ngày nhiều nhất mà một con vật sẽ được điều trị bằng kháng sinh, nếu nó sống trong khoảng thời gian lý thuyết là 1000 ngày



TI: tỉ lệ điều trị

**Biểu đồ 3.2** Lượng hoạt chất kháng sinh sử dụng tại 35 trại chăn nuôi heo

Trong đó, TI là tỉ lệ điều trị, là thông số được tính toán và thể hiện lượng kháng sinh sử dụng ở cấp độ đàn. Chỉ số này tương đương với số ngày mà một con vật sẽ được điều trị bằng kháng sinh, nếu nó sống trong khoảng thời gian lý thuyết là 1000 ngày (Raasch và ctv, 2018). Các thông số liên quan đến công thức tính TI được áp dụng theo công bố của Cơ quan dược phẩm Châu Âu (EMA, 2019). Theo đó, tổng lượng kháng sinh được tính dựa trên hàm lượng hoạt chất của kháng sinh (mg) có trong thành phần của tất cả các sản phẩm kháng sinh có chứa hoạt chất đó.

Kết quả từ Bảng 3.15 và Biểu đồ 3.2 cho thấy có 17 hoạt chất kháng sinh có mặt trong các chế phẩm thuốc thú y được sử dụng trong phòng trị bệnh trên heo tại 35 trại chăn nuôi heo trong nghiên cứu này ở thời điểm khảo sát. Trong đó, amoxicillin là kháng sinh được dùng phổ biến nhất trong phòng trị bệnh cho heo với TI\_ amoxicillin trung bình là 202. Kết quả này có nghĩa là trung bình ít nhất một liều amoxicillin được dùng hằng ngày cho 1 con heo, trong vòng 202 ngày nếu giả định thời gian sống lý thuyết của heo là 1000 ngày. TI\_ amoxicillin trong nghiên cứu này được tính dựa trên hàm lượng hoạt chất amoxicillin có trong tất cả các sản phẩm kháng sinh có chứa hoạt chất này; hầu hết các sản phẩm được dùng chủ yếu qua đường tiêu hoá, một số ít qua đường tiêm. Amoxicillin là một kháng sinh thuộc nhóm beta-lactam, có phổ kháng khuẩn rộng, hấp thu nhanh và hoàn toàn qua đường tiêu hóa, phân bố rộng khắp các cơ quan trong cơ thể, đặc biệt thuốc khuếch tán tốt vào phổi, gan, thận và đạt nồng độ trị liệu tại các cơ quan này. Đây là một trong số kháng sinh dùng chung giữa động vật và người, thuộc “Danh mục các hoạt chất thuốc thú y thuộc nhóm kháng sinh đặc biệt quan trọng” trong thú y và thuộc nhóm “cực kỳ quan trọng” trong nhân y. Florfenicol là kháng sinh có mức sử dụng cao thứ hai sau amoxicillin tại các trại chăn nuôi heo trong thời điểm khảo sát với TI\_ florfenicol là 134,4. Florfenicol là kháng sinh thuộc nhóm phenicols và cũng là một trong những kháng sinh dùng phổ biến trong chăn nuôi heo. Tiếp đến là gentamicin, norfloxacin với TI\_ gentamicin là 88,9; TI\_ norfloxacin là 30 và các kháng sinh có TI thấp hơn, đặc biệt các kháng sinh thế hệ cũ, phổ hẹp như penicillin, streptomycin có TI thấp nhất lần lượt là 1,7 và 1,1. Tương tự amoxicillin, gentamicin cũng là kháng sinh dùng chung giữa động vật và người, thuộc “Danh mục các hoạt chất thuốc thú y thuộc nhóm kháng sinh đặc biệt quan trọng” trong thú y và thuộc nhóm “cực kỳ quan trọng” trong nhân y.

Kết quả trên tương đồng với đánh giá của Khanh Nguyen Di và ctv (2012) dựa trên các dữ liệu thu thập từ các công bố quốc tế về sử dụng kháng sinh trong chăn

nuôi tại Việt Nam cho thấy các loại kháng sinh được sử dụng phổ biến nhất ở heo là fluoroquinolones, beta-lactam, fenicol, tetracycline và aminoglycoside (Pham Kim và ctv, 2013). Đây là các kháng sinh thường được dùng để điều trị nhiễm trùng đường hô hấp do vi khuẩn ở động vật (Brockmeier, 2012; Kadlec và ctv, 2004). Đáng lưu ý, lincomycin, tetracycline, colistin và amoxicillin rất quan trọng đối với y học của con người, nhưng chiếm tới 57% tổng lượng kháng sinh được sử dụng trong chăn nuôi heo ở Việt Nam (Cuong và ctv, 2016). Colistin là hợp chất phổ biến nhất được sử dụng để ngăn ngừa và điều trị các rối loạn đường tiêu hóa ở heo con do vi khuẩn Gram âm gây ra (Pham Kim và ctv, 2013). Việc sử dụng kháng sinh ở động vật làm thực phẩm chọn lọc khả năng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn, có thể lây sang người. Việc giảm sử dụng kháng sinh, đặc biệt những hoạt chất được coi là cực kỳ quan trọng đối với nhân y trong động vật sản xuất thực phẩm tiếp tục là một bước quan trọng để duy trì lợi ích của những loại kháng sinh này đối với con người.

Từ kết quả ở Bảng 3.15 và Biểu đồ 3.2, giá trị “TI tổng” và “TI hô hấp” được tính toán, trong đó “TI tổng” được tính dựa trên tổng lượng kháng sinh chung gồm 17 loại kháng sinh và “TI hô hấp” được tính dựa trên 7 loại kháng sinh gồm florfenicol, doxycycline, amoxicillin, tiamulin, tilmicosin, tylosin, oxytetracycline dùng trong phòng trị bệnh hô hấp trên heo được sử dụng tại các trại khảo sát được xác định.

Kết quả ghi nhận giá trị TI tổng là  $540,22 \pm 168,27$  và TI hô hấp là  $356,64 \pm 122,53$ . TI tổng và TI hô hấp tiếp tục là các giá trị được sử dụng trong đánh giá mối liên quan của một số ảnh hưởng đến sử dụng kháng sinh (Bảng 3.16), đánh giá mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh đến đầu ra năng suất (Bảng 3.17, Bảng 3.18), mối liên quan giữa an toàn sinh học với sử dụng kháng sinh (Bảng 3.19) và đánh giá mối liên quan giữa đề kháng kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo với các kháng sinh dùng trong phòng trị bệnh hô hấp trên heo (Bảng 3.21).



Giá trị TI trên nhóm heo trong nghiên cứu này là rất cao so với TI trên nhóm heo tương ứng được ghi nhận ở các nghiên cứu khác. Các nghiên cứu đánh giá sử dụng kháng sinh thông qua xác định tỉ lệ điều trị được thực hiện rộng rãi tại các quốc gia châu Âu từ những năm 2000. Tại Bỉ, Timmerman và ctv (2006) ghi nhận tỉ lệ điều trị trên 50 đàn heo thịt là 178,1. Trong đó, kháng sinh dùng đường uống được sử dụng thường xuyên nhất là doxycycline, amoxicillin, trimethoprim/sulfonamides và polymyxin E; kháng sinh dạng tiêm được sử dụng thường xuyên nhất là amoxicillin tác dụng kéo dài và ceftiofur. Cũng tại quốc gia này, Raasch và ctv (2018) ghi nhận TI trên heo giai đoạn từ khi sinh ra đến khi giết mổ là 242,8. Kháng sinh dùng phổ biến giai đoạn này là các aminopenicillin, chiếm đến 49% tổng lượng kháng sinh sử dụng và 28% tổng lượng kháng sinh được dùng trong kiểm soát bệnh hô hấp trên nhóm heo thịt.

### 3.3.2.2 Ảnh hưởng của một số yếu tố đối với sử dụng kháng sinh

Kết quả phân tích thống kê về sự ảnh hưởng của một số yếu tố phân loại đối với sử dụng kháng sinh được trình bày qua Bảng 3.16.

**Bảng 3.16** Ảnh hưởng của một số yếu tố đối với lượng kháng sinh sử dụng (tính theo TI)

| Yếu tố             | n  | TI tổng |        |       | TI hô hấp |        |       |
|--------------------|----|---------|--------|-------|-----------|--------|-------|
|                    |    | TB      | SD     | P     | TB        | SD     | P     |
| <b>Chu kỳ nuôi</b> |    |         |        |       |           |        |       |
| Từ 1-3             | 15 | 540,31  | 119,34 | 0,997 | 338,79    | 90,73  | 0,463 |
| Trên 3             | 20 | 540,15  | 200,44 |       | 370,03    | 142,69 |       |
| <b>Loại trại</b>   |    |         |        |       |           |        |       |
| Lạnh (cooling)     | 29 | 521,60  | 169,97 | 0,152 | 348,54    | 114,17 | 0,397 |
| Hở (open)          | 6  | 630,21  | 137,99 |       | 395,81    | 163,96 |       |
| <b>Quy mô</b>      |    |         |        |       |           |        |       |
| Từ 800-1500 con    | 14 | 555,61  | 134,82 | 0,665 | 361,10    | 133,84 | 0,863 |
| Trên 1500 con      | 21 | 529,96  | 189,86 |       | 353,67    | 117,72 |       |

n: số trại khảo sát; **TB**: trung bình; **SD**: độ lệch chuẩn

Kết quả cho thấy sự ảnh hưởng của chu kỳ nuôi, loại trại và quy mô chăn nuôi đối với sử dụng kháng sinh trên heo tại các trại chăn nuôi heo trong nghiên cứu này là không có ý nghĩa về mặt thống kê. Mặc dù vậy, kết quả có chênh lệch về lượng kháng sinh sử dụng trên heo giữa việc phân loại của các nhóm yếu tố. Điều này cho thấy sử dụng kháng sinh cấp độ trang trại có thể bị ảnh hưởng của các yếu tố khác nhau. Trước hết là về ảnh hưởng của chu kỳ nuôi đối với sử dụng kháng sinh. Qua quan sát trên tổng lượng kháng sinh có thể thấy rằng gần như không có sự chênh lệch ở giữa nhóm trại có 1-3 và lớn hơn 3 chu kỳ nuôi với TI tổng lần lượt là 540,31 và 540,15 nhưng có sự tăng nhẹ lượng kháng sinh dùng cho phòng trị bệnh hô hấp trên heo ở nhóm trại có chu kỳ nuôi lớn hơn 3 với TI hô hấp là 370,39 so với nhóm trại có chu kỳ nuôi từ 1-3 là 338,79. Tiếp đến có thể thấy TI tổng và TI hô hấp ở nhóm trại hờ lần lượt là 620,31 và 395,81 cao hơn so với so TI tổng và TI hô hấp là ở nhóm trại lạnh với 521,60 và 348,54. Sau cùng, đối với quy mô chăn nuôi thì các trại có số đầu heo từ 800-1500 con có TI tổng và TI hô hấp đều cao hơn so với nhóm trại có số đầu heo trên 1500 con.

Ngoài ra, kết quả trước đó đã trình bày ở Bảng 3.13 cho thấy các trại có chu kỳ nuôi từ 1-3, mô hình trại lạnh và trại có số đầu heo trên 1500 con có điểm an toàn sinh học cao hơn so với các phân loại còn lại của các yếu tố này. Điều này cho thấy các trại có an toàn sinh học tốt hơn, có thể giúp cải thiện sức khỏe đàn heo, từ đó giảm lượng kháng sinh sử dụng. Nhiều nghiên cứu khác cũng cho thấy quy mô đàn ảnh hưởng đến mức độ an toàn sinh học của trại, đàn lớn hơn có xu hướng tình trạng an toàn sinh học cao hơn (Laanen và ctv, 2013; Collineau và ctv, 2017). Ngoài ra, Laanen và ctv (2013) đã nhận định các trang trại lớn hơn dễ dàng triển khai mức độ an toàn sinh học bên ngoài và bên trong cao hơn, điều này có thể giúp đạt được mức sử dụng kháng sinh thấp hơn.

Nhiều yếu tố chăn nuôi khác có thể ảnh hưởng đến sử dụng kháng sinh trên heo được ghi nhận. Trong đó, mật độ chăn nuôi có mối liên quan tích cực với việc sử

dụng kháng sinh (Stevens và ctv, 2007). Số lượng heo nái được nuôi trong trang trại có mối tương quan thuận với lượng kháng sinh sử dụng (van der Fels-Klerx và ctv, 2011). Các trang trại nằm ở khu vực có mật độ chăn nuôi heo cao có mối tương quan thuận với lượng sử dụng kháng sinh (van der Fels-Klerx và ctv, 2011). Quy mô đàn nhỏ có mức sử dụng kháng sinh cao hơn đáng kể so với quy mô đàn vừa và lớn (Vieira và ctv, 2011), số lượng heo trong các trang trại không có mối liên hệ nào với sử dụng kháng sinh (Casal và ctv, 2007) và chất kích thích tăng trưởng (Stevens và ctv, 2007). Hệ thống sản xuất công nghiệp có mức sử dụng kháng sinh cao hơn hệ thống sản xuất bán công nghiệp và các hộ chăn nuôi nhỏ (Kim và ctv, 2013; Bos và ctv, 2013; Kim và ctv, 2013; Stevens và ctv, 2007; van der Fels-Klerx và ctv, 2011). Việc sử dụng nhiều kháng sinh ở các trang trại có quy mô lớn hơn, có nguy cơ lây truyền mầm bệnh trong đàn cao hơn so với các trang trại nhỏ hơn, mặc dù đánh giá này không thuyết phục vì những phát hiện trái ngược nhau đã được báo cáo. Tại Anh, heo cai sữa được nuôi trong hệ thống chăn nuôi heo trong nhà có mức sử dụng kháng sinh trong thức ăn cao hơn (64-74%) so với nuôi bên ngoài (60%); độ tuổi cai sữa cao hơn dẫn đến vật nuôi khỏe mạnh hơn và giảm nhu cầu sử dụng kháng sinh (Stevens và ctv, 2007). Hệ thống sản xuất toàn diện và heo cai sữa được cung cấp từ một nguồn duy nhất được xác định là những thực hành an toàn sinh học quan trọng giúp giảm lây truyền bệnh và giảm sử dụng kháng sinh trong đàn (Fertner và ctv, 2015).

Tiêm phòng như một chiến lược đã được khuyến nghị để ngăn ngừa bệnh tật, góp phần tối ưu hóa việc sử dụng kháng sinh (Postma và ctv, 2015). Mối liên quan giữa tiêm phòng và sử dụng kháng sinh cũng được ghi nhận. Việc tiêm phòng cho heo con đang bú và cai sữa có liên quan đáng kể đến việc sử dụng nhiều kháng sinh trong thức ăn hơn (Stevens và ctv, 2007). Giải pháp này đã cho thấy mang lại lợi nhuận bất chấp chi phí vaccin (Alarcon và ctv, 2013). Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh trong thức ăn nhiều hơn có liên quan đáng kể đến việc tiêm phòng cho heo ở một số nhóm tuổi bao gồm heo con đang bú, heo cai sữa và heo nái, phát hiện này có thể

bị ảnh hưởng bởi các yếu tố khác như an toàn sinh học, quản lý trang trại kém, tình trạng sức khỏe của đàn kém và tỉ lệ mắc bệnh cao (Stevens và ctv, 2007).

Sử dụng kháng sinh phụ thuộc rất nhiều vào người quản lý trang trại và người phụ trách công việc hằng ngày. Việc bắt đầu điều trị phụ thuộc vào khả năng phát hiện sớm động vật mắc bệnh cũng như mức độ nhận thức và chẩn đoán của người chăn nuôi đối với các dấu hiệu lâm sàng của vật nuôi (Fertner và ctv, 2015). Nông dân có thể có hiểu biết hạn chế về kháng sinh, đặc biệt là ở các nước thu nhập thấp và trung bình. Một nghiên cứu ở Campuchia ghi nhận không có nông dân nào thể hiện sự hiểu biết về tác dụng và chỉ định của kháng sinh (Om và Mcclaws, 2016). Nông dân có trình độ học vấn thấp, kiến thức kém về kháng sinh có mối liên quan đáng kể đến sử dụng kháng sinh và đề kháng kháng sinh được ghi nhận (Eltayb và ctv, 2012). Tất cả những thách thức này có thể dẫn đến việc sử dụng kháng sinh không hợp lý. Quản lý và vệ sinh trang trại được cải thiện góp phần giảm tiêu thụ kháng sinh mà không làm giảm năng suất (Fertner và ctv, 2015); tuy nhiên, sử dụng kháng sinh không có mối liên hệ nào với quản lý trang trại cũng được ghi nhận (Casal và ctv, 2007).

Bác sĩ thú y đóng vai trò quan trọng trong quản lý sức khỏe động vật và sử dụng kháng sinh; người chăn nuôi thường dựa vào lời khuyên của bác sĩ thú y về sức khỏe của heo, cách lựa chọn và sử dụng kháng sinh (Visschers và ctv, 2015). Tuy nhiên, các quyết định kê đơn của bác sĩ thú y đôi khi dựa trên ý kiến chuyên gia hoặc quan điểm từ các nhà lãnh đạo hoặc từ các nguồn trên internet, thay vì từ tài liệu khoa học tin cậy hoặc hồ sơ kháng thuốc của vi khuẩn từ phòng thí nghiệm (Vandeweerd và ctv, 2012). Đại diện của các công ty dược phẩm khi làm cố vấn cho nông dân về quản lý dịch bệnh có thể có xung đột lợi ích khi chào bán sản phẩm của mình. Ở Bỉ, trung bình, 43% thu nhập của các bác sĩ thú y chăn nuôi heo đến từ việc bán các sản phẩm dược phẩm, do đó việc sử dụng kháng sinh thận trọng có thể bị cản trở do tiềm ẩn xung đột lợi ích (Maes và ctv, 2010).

Tỉ lệ bệnh ở heo cũng như mức độ đề kháng và miễn cảm với các loại kháng sinh khác nhau là yếu tố quan trọng để hướng dẫn lựa chọn và sử dụng kháng sinh thận trọng. Tuy nhiên, một nghiên cứu ở châu Âu cho thấy có gần 50% bác sĩ thú (44,3%) hiếm khi thu thập mẫu để phân lập vi khuẩn và xét nghiệm độ nhạy cảm của chúng với kháng sinh trong phòng thí nghiệm (De Briyne và ctv, 2013). Ngoài ra, luật pháp, việc thực thi và sự sẵn có của kháng sinh cũng ảnh hưởng đến việc sử dụng loại thuốc này. Luật pháp của Thụy Điển và Đan Mạch hạn chế sử dụng fluoroquinolones và cephalosporin thế hệ thứ ba và thứ tư đối với heo (Lekagul và ctv, 2019). Các yếu tố khác cũng góp phần vào việc sử dụng kháng sinh, trong đó ảnh hưởng yếu tố mùa trong năm được ghi nhận. Lượng tetracycline được sử dụng vào mùa xuân cao gấp 5 lần so với các mùa khác (van Rennings và ctv, 2015).

### 3.3.2.3 Mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh đến một số chỉ tiêu năng suất

Mối liên quan giữa tổng lượng kháng sinh sử dụng dùng chung (TI tổng) và tổng lượng kháng sinh dùng trong phòng trị bệnh hô hấp (TI hô hấp) trên heo tại các trại khảo sát đến các chỉ tiêu đầu ra năng suất (đã hiệu chỉnh theo số ngày nuôi) được thể hiện qua Bảng 3.17 và Bảng 3.18.

**Bảng 3.17** Mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh (TI tổng) đến một số chỉ tiêu năng suất

| Chỉ tiêu sản suất                | Hệ số góc của phương trình hồi quy |          |             |           |       |
|----------------------------------|------------------------------------|----------|-------------|-----------|-------|
|                                  | TB                                 | SD       | Giá trị     | SE        | P     |
| Tỉ lệ chết (%)                   | 0,06                               | 0,03     | - 0,0000347 | 0,0000378 | 0,356 |
| Tăng trọng ngày<br>(kg/con/ngày) | 0,64                               | 0,03     | 0,0000062   | 0,0000293 | 0,835 |
| Trọng lượng cuối<br>(kg/con)     | 106,94                             | 4,60     | 0,0008976   | 0,0043898 | 0,839 |
| Lợi nhuận<br>(đồng/kg)           | 2936,28                            | 12323,04 | -7,0533810  | 12,16478  | 0,566 |

**TB:** trung bình; **SD:** độ lệch chuẩn; **SE:** sai số chuẩn

**Bảng 3.18** Mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh (TI hô hấp) đến đầu ra năng suất

| Chỉ tiêu sản suất                | Hệ số góc của phương trình hồi quy |          |            |           |       |
|----------------------------------|------------------------------------|----------|------------|-----------|-------|
|                                  | TB                                 | SD       | Giá trị    | SE        | P     |
| Tỉ lệ chết (%)                   | 0,06                               | 0,03     | -0,0000461 | 0,000052  | 0,381 |
| Tăng trọng ngày<br>(kg/con/ngày) | 0,64                               | 0,03     | 0,0000365  | 0,0000392 | 0,359 |
| Trọng lượng cuối<br>(kg/con)     | 106,94                             | 4,60     | 0,0052487  | 0,0058701 | 0,378 |
| Lợi nhuận<br>(đồng/kg)           | 2936,28                            | 12323,04 | 2,107267   | 16,54012  | 0,899 |

**TB:** trung bình; **SD:** độ lệch chuẩn; **SE:** sai số chuẩn

Kết quả từ Bảng 3.17 và Bảng 3.18 cho thấy xu hướng sử dụng kháng sinh và kháng sinh dùng trong phòng trị bệnh hô hấp trên heo nói riêng có ảnh hưởng đến các chỉ tiêu năng suất, mặc dù các mối liên quan này không có ý nghĩa thống kê. Xu hướng đầu tiên có thể nhìn thấy từ các kết quả là sử dụng kháng sinh có sự mối liên quan với tỉ lệ chết, tăng sử dụng kháng sinh sẽ làm giảm tỉ lệ chết trên heo, cụ thể khi giá trị TI tổng và TI hô hấp tăng lên 1 đơn vị thì tỉ lệ chết trên heo sẽ giảm lần lượt tương đương khoảng 0,03% (-0,0000347) và 0,05% (-0,0000461). Trong khi đó, chỉ số năng suất liên quan đến tăng trọng ngày, trọng lượng cuối và có mối liên quan với các giá trị TI tổng và TI hô hấp, tăng sử dụng kháng sinh giúp cải thiện sức khỏe đàn, từ đó cải thiện các chỉ số năng suất, tuy nhiên là sự mối liên quan này cũng không có ý nghĩa về mặt thống kê.

Các nghiên cứu khác cũng không tìm thấy mối liên hệ tích cực đáng kể nào giữa mức sử dụng cao hơn và kết quả sản xuất tốt hơn như tăng trọng ngày hoặc tỉ lệ chết trên heo (van der Fels-Klerx và ctv, 2011; Postma và ctv, 2016). Mặc dù, việc sử dụng kháng sinh kích thích tăng trưởng trong thức ăn sẽ làm heo nặng cân hơn nhưng không tìm thấy mối liên hệ đáng kể nào về sự mối liên quan này. Ở Châu Âu, việc bổ sung kháng sinh kích thích tăng trưởng trong thức ăn chăn nuôi đã bị cấm từ

năm 2006. Các chất thay thế kháng sinh như kẽm oxit không có mối liên hệ nào với việc sử dụng kháng sinh, mặc dù kẽm oxit thường được quảng bá như một giải pháp thay thế trong việc giảm sử dụng kháng sinh. Tuy nhiên, vẫn chưa rõ đàn đã sử dụng kẽm oxit trong bao lâu và liệu điều này có ảnh hưởng đến việc sử dụng kháng sinh hay không. Như vậy, sức khỏe của heo được cải thiện có thể dẫn đến tăng trọng tốt hơn, tỉ lệ chết thấp hơn.

### **3.4 Mối liên quan giữa an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh; đề kháng kháng sinh và sử dụng kháng sinh**

#### **3.4.1 Mối liên quan giữa an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh**

Mối liên quan giữa các yếu tố an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh (TI tổng và TI hô hấp) (đã hiệu chỉnh theo số ngày nuôi) được thể hiện qua Bảng 3.19.

Kết quả ở Bảng 3.19 cho thấy điểm an toàn sinh học có mối liên quan với tổng lượng kháng sinh sử dụng thể hiện thông qua tỉ lệ điều trị tổng (TI tổng) và lượng kháng sinh sử dụng phòng trị hô hấp, thông qua tỉ lệ điều trị hô hấp (TI hô hấp) trên heo, đặc biệt mối liên quan giữa điểm an toàn sinh học và TI tổng có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ). Điểm an toàn sinh học và tổng lượng kháng sinh sử dụng có mối liên quan với nhau và giá trị thống kê thể hiện mối liên quan là -13,54. Giá trị này có ý nghĩa là khi tăng 1 đơn vị điểm an toàn sinh học thì TI tổng sẽ giảm 13,5 đơn vị, tương đương nếu điểm an toàn sinh học tăng thêm 1% thì giảm khoảng 13-14 con heo được điều trị hằng ngày bằng kháng sinh và 2 yếu tố này có liên quan mật thiết với nhau và có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

**Bảng 3.19** Mối liên quan giữa các yếu tố an toàn sinh học và sử dụng kháng sinh (TI tổng và TI hô hấp)

| Tiêu chí  | TI tổng       |             |              | TI hô hấp    |             |              |
|---|---------------|-------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
|   | Hệ số góc     | SE          | P            | Hệ số góc    | SE          | P            |
| <b>An toàn sinh học bên ngoài</b>   |               |             |              |              |             |              |
| -Mua heo giống, heo con và tinh dịch                                      | na            | na          | na           | -10,38       | 4,50        | 0,029        |
| -Vận chuyển động vật, loại bỏ xác chết và phân                            | -9,70         | 5,58        | 0,09         | 9,79         | 4,29        | 0,031        |
| -Cung cấp thức ăn, nước uống và trang thiết bị                            | 7,22          | 5,32        | 0,18         | 9,27         | 12,17       | 0,453        |
| -Khách tham quan và công nhân   | 3,68          | 15,09       | 0,80         | -1,11        | 1,81        | 0,544        |
| -Kiểm soát động vật nguy hại và chim                                      | -0,34         | 2,25        | 0,88         | -1,66        | 1,33        | 0,225        |
| -Vị trí của trại  | -2,06         | 1,66        | 0,22         |              |             |              |
| <b>An toàn sinh học bên trong</b>   |               |             |              |              |             |              |
| -Quản lý bệnh   | na            | na          | na           |              |             |              |
| -Khu nuôi heo cai sữa   | na            | na          | na           |              |             |              |
| -Khu nuôi heo thịt  | na            | na          | na           |              |             |              |
| -Kiểm soát phân lỏng làm việc giữa các khu trong trại và sử dụng thiết bị | -53,48        | 12,57       | 0            | -39,47       | 10,13       | 0,001        |
| -Vệ sinh và khử trùng   | 11,89         | 8,46        | 0,171        | 5,43         | 6,82        | 0,433        |
| <b>Điểm an toàn sinh học tổng</b>   | <b>-13,54</b> | <b>6,46</b> | <b>0,044</b> | <b>-2,64</b> | <b>4,98</b> | <b>0,599</b> |

na (not applicable): không áp dụng do số liệu không khác biệt giữa các trại

Tương tự, điểm an toàn sinh học và tổng lượng kháng sinh sử dụng phòng trị bệnh hô hấp (TI hô hấp) cũng có mối liên quan với nhau và giá trị thống kê thể hiện mối liên quan này là -2,64. Giá trị này có thể hiểu là khi điểm an toàn sinh học tăng



thêm 1% thì giảm khoảng 3 con heo được điều trị hằng ngày bằng các kháng sinh hô hấp, mặc dù mối liên quan này không có ý nghĩa về mặt thống kê. Như vậy, an toàn sinh học một lần nữa khẳng định vai trò của nó trong mối liên hệ với sử dụng kháng sinh, cải thiện các điều kiện an toàn sinh học có thể làm giảm số heo phải điều trị hằng ngày bằng kháng sinh, trong đó có các kháng sinh phòng trị bệnh hô hấp.

Kết quả Bảng 3.19 đã khẳng định an toàn sinh học có ảnh hưởng đến sử dụng kháng sinh ở trại nói chung (TI tổng) và kháng sinh dùng phòng trị bệnh hô hấp trên heo nói riêng (TI hô hấp). Trong đó, an toàn sinh học có ảnh hưởng đến sử dụng kháng sinh ở trại nói chung là có ý nghĩa thống kê được thể hiện thông qua giá trị hệ số góc là -13,54 ( $P < 0,05$ ). Giá trị này có ý nghĩa là khi điểm an toàn sinh học ở trại tăng 1 đơn vị thì sử dụng kháng sinh ở trại (TI tổng) sẽ giảm 13,54 đơn vị. Trong đó, các yếu tố an toàn sinh học bên ngoài gồm vận chuyển động vật, loại bỏ xác chết và phân; cung cấp thức ăn, nước uống; trang thiết bị và yếu tố an toàn sinh học bên trong là kiểm soát phân luồng làm việc giữa các khu trong trại và sử dụng thiết bị là những yếu tố ảnh hưởng đáng kể đến TI tổng và TI hô hấp, đặc biệt hệ số góc giữa các nhóm yếu tố này với TI hô hấp là có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ).

Trước hết, yếu tố kiểm soát phân luồng làm việc giữa các khu trong trại và sử dụng thiết bị là yếu tố an toàn sinh học bên trong đáng chú ý nhất bởi yếu tố này đã tác động đáng kể đến việc sử dụng kháng sinh trong phòng trị bệnh nói chung cũng như trong kiểm soát bệnh hô hấp trên heo nói riêng. Mối liên quan của yếu tố kiểm soát phân luồng làm việc giữa các khu trong trại và sử dụng thiết bị với TI tổng và TI hô hấp thể hiện thông qua hệ số góc lần lượt là -53,48 và -39,47. Điều này chứng minh sự tuân thủ nghiêm ngặt của con người trong quá trình làm việc tại các khu vực chăn nuôi, trong sử dụng trang thiết bị có liên quan mật thiết đối với đến sự lan truyền mầm bệnh, đến khả năng sử dụng kháng sinh cho vật nuôi. Tại Bỉ, Laanen và ctv (2013) cũng nhận định an toàn sinh học bên trong liên quan đáng kể tỉ lệ điều trị ở bệnh ở heo, việc quản lý tốt an toàn sinh học bên trong làm cho nguy cơ lây lan nhiễm trùng trong đàn thấp hơn, từ đó dẫn đến giảm áp lực nhiễm trùng và giảm các biện pháp điều trị bằng thuốc kháng sinh.

Mua heo giống, heo con và tinh dịch, là yếu tố an toàn sinh học bên ngoài tiếp theo có mối liên quan đối với các tỉ lệ điều trị, đặc biệt mối liên quan này có ý nghĩa thống kê đối với TI hô hấp ( $P < 0,05$ ), với hệ số góc là -10,38. Việc tuân thủ chặt chẽ các quy định về nhập heo và tinh dịch có nguồn gốc rõ ràng, heo được tiêm phòng đầy đủ, thực hiện cách ly, yếu tố quản lý cùng vào/cùng ra đối với heo giống, heo con, tinh dịch đã góp phần kiểm soát các tác nhân gây bệnh hô hấp trên heo, từ đó làm giảm sử dụng kháng sinh trong phòng trị bệnh hô hấp trên heo ở trại.

Yếu tố kiểm soát động vật nguy hại và chim, vị trí của trại, khách tham quan có mối liên quan với các tỉ lệ điều trị, mặc dù hệ số góc là không có ý nghĩa về mặt thống kê. Tuy nhiên, kết quả cũng cho thấy cần lưu ý cải thiện các nội dung an toàn sinh học trong các nhóm yếu tố này, đặc biệt hạn chế việc nuôi thêm các vật nuôi khác như chó, mèo, gà,... trong trang trại, trang bị thêm lưới chắn ở các lỗ thông gió để ngăn chim, chuột và các động vật khác xâm nhập vào trại. Ngoài ra, trại nên kết hợp với một công ty chuyên môn để xây dựng kế hoạch kiểm soát các động vật nguy hại.

Kết quả nghiên cứu này chưa ghi nhận mối liên quan giữa của yếu tố quản lý bệnh, khu nuôi heo cai sữa và khu nuôi heo thịt đối với sử dụng kháng sinh, thông qua các tỉ lệ điều trị. Tuy nhiên, có 2 yếu tố đáng chú ý đối với các trại khảo sát là có 18/35 trại chưa trang bị khu vực úm heo cho heo cai sữa trước khi chuyển sang các ô chuồng khác bắt đầu giai đoạn nuôi thịt và cần điều chỉnh mật độ nuôi nhốt heo thịt phù hợp ( $1-1,2\text{m}^2/\text{con}$ ).

Cung cấp thức ăn, nước uống và trang thiết bị cho thấy có mối liên quan với cả TI tổng và TI hô hấp và mối liên quan giữa các yếu tố này là có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ). Đây là một nhóm yếu tố an toàn sinh học có điểm trung bình thấp nhất trong tất cả các yếu tố. Nhóm này bao gồm các yếu tố khó đánh giá, ví dụ như “công ty thức ăn có sử dụng những thức ăn đáp ứng các yêu cầu về vệ sinh như không có Salmonella, xử lý nhiệt”, “chất lượng nước uống có thực sự được kiểm tra, phân tích vi sinh hằng năm”, hay các yếu tố khó thực hiện như “có một ô cửa (pass-through) riêng đối với nguyên vật liệu khi chuyển vào các khu chuồng trại của trang trại hay

không (ví dụ: tử UV cho vật liệu nhập từ nước ngoài”, “các biện pháp kiểm soát cụ thể cho nguyên vật liệu cung cấp (ví dụ: làm sạch và khử trùng, thời gian kiểm dịch tại vị trí đặc biệt) hay không?” và hầu hết các câu hỏi đều được đánh giá “không” trong bảng đánh giá an toàn sinh học. Kết quả nghiên cứu cho thấy có mối liên quan giữa nhóm yếu tố này với tỉ lệ điều trị, có nghĩa là khi an toàn sinh học tăng lên thì tỉ lệ điều trị cũng tăng, điều này có vẻ chưa phù hợp nên chưa được thảo luận trong nghiên cứu này và có lẽ kết quả về mối liên quan ảnh hưởng từ kết quả đánh giá điểm an toàn sinh học của nhóm yếu tố này.

Kết quả tương đồng về sự ảnh hưởng của các yếu tố an toàn sinh học đối với sử dụng kháng sinh trên heo thịt được ghi nhận trong nghiên cứu của Raasch và ctv (2018) tại Đức. Trong đó, các đàn heo thịt có tỉ lệ điều trị cao, sử dụng kháng sinh nhiều hơn là những trại nằm trong khu vực có mật độ heo cao, kiểm tra ra vào ít nghiêm ngặt đối với khách tham quan và nhân viên và hạng mục 'vệ sinh và khử trùng' có điểm đánh giá an toàn sinh học thấp.

Yếu tố an toàn sinh học bên ngoài liên quan đến việc đẻ trống, vệ sinh và khử trùng thiết bị vận chuyển heo từ trang trại đến lò mổ, từ trang trại đến trang trại; trang bị quần áo, ủng cho lái xe đến vận chuyển heo, khu vực vận chuyển heo; xử lý và vận chuyển xác động vật và xử lý phân. Trong đó, an toàn sinh học liên quan xử lý xác chết và phân được nhận thấy chưa được thực thi tốt ở một số trang trại, trại có khu vực để xác chết tách biệt với khu chăn nuôi nhưng không có trang bị hệ thống làm lạnh và việc sử dụng găng tay y tế để mang xác động vật cũng không thể kiểm soát; tất cả các trại đều xử lý phân bằng hệ thống biogas nhưng nước thải biogas chưa được xử lý trước khi thải ra môi trường. Việc cải thiện các yếu tố này giúp an toàn sinh học của trại tốt hơn, giảm tỉ lệ điều trị và góp phần giảm dùng kháng sinh với những kết quả đã được ghi nhận.

An toàn sinh học bên ngoài liên quan đến kiểm soát các yếu tố nguy cơ nhằm giảm thiểu mầm bệnh xâm nhập và thoát ra khỏi đàn. Việc đưa mầm bệnh có nguồn gốc từ bên ngoài vào trại là nguy cơ làm bùng phát bệnh lớn nhất trong chăn nuôi heo. Khi các nguy cơ này được giảm thiểu thì cũng có khả năng là sẽ cần ít kháng

sinh trong phòng trị bệnh hơn. Hơn nữa, an toàn sinh học bên ngoài và bên trong được chứng minh là có mối liên quan chặt chẽ với nhau. Do mối liên hệ này, việc cải thiện an toàn sinh học bên trong cũng có thể có ảnh hưởng đến việc sử dụng kháng sinh cho heo từ khi sinh ra cho đến khi giết mổ. Cải thiện mức độ an toàn sinh học bên trong có thể là một biện pháp can thiệp khá đơn giản (ví dụ: các quy trình vệ sinh nghiêm ngặt, sử dụng đúng dây chuyền làm việc) ở cấp độ đàn, nên đây có thể là một cân nhắc quan trọng trong việc giảm sử dụng kháng sinh (Postma và ctv, 2016).

Nghiên cứu của Postma và ctv (2016) tại Bỉ cho thấy có thể giảm sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi heo bằng cách tối ưu hóa quản lý đàn, tình trạng an toàn sinh học, chiến lược tiêm phòng, liệu pháp tẩy giun sán và tư vấn về sử dụng kháng sinh thận trọng. Các nỗ lực kết hợp an toàn sinh học cùng với can thiệp các giải pháp khác được thực hiện đã giảm 52% lượng kháng sinh sử dụng đối với heo từ khi sinh ra cho đến khi giết mổ và 32% lượng kháng sinh sử dụng đối với heo sinh sản dựa trên tỉ lệ điều trị (TI), giảm đáng kể việc sử dụng các kháng sinh cực kỳ quan trọng.

Một nghiên cứu khác được thực hiện trên 68 đàn heo ở Bỉ, Pháp, Đức và Thụy Điển bao gồm cải thiện an toàn sinh học, tiêm phòng, thay đổi chế độ cho ăn hoặc chất lượng nước uống, cải thiện sức khỏe và chăm sóc phúc lợi, thay đổi tiêu khí hậu chuồng nuôi và các biện pháp kỹ thuật chăn nuôi. Sử dụng kháng sinh đã giảm đáng kể sau khi thực hiện các biện pháp thay thế, số heo được điều trị bằng kháng sinh trung bình là 25% trước can thiệp và 16% sau can thiệp. Tỉ lệ giảm sử dụng kháng sinh trên heo con theo mẹ và heo cai sữa lần lượt là 37% và 54%. Polymyxin và tetracycline là những kháng sinh có tỉ lệ giảm sử dụng đáng kể lần lượt là 69% và 49%. Kháng sinh dùng qua đường tiêu hoá và đường tiêm cũng giảm sử dụng đáng kể với tỉ lệ 46% và 36%. Những đàn có mức sử dụng kháng sinh cao hơn trước can thiệp đạt mức giảm sử dụng kháng sinh lớn hơn những đàn còn lại. Tỉ lệ mắc bệnh trước và sau can thiệp là như nhau, ngoại trừ một số bệnh liên quan đến đường tiêu hoá có giảm ở heo con theo mẹ nhưng tăng ở heo giống (Raasch và ctv, 2020).

### 3.4.2 Mối liên quan giữa đề kháng kháng sinh và sử dụng kháng sinh

Số kháng sinh bị đề kháng của gốc vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo đã phân lập được trong tổng số 7/14 kháng sinh xác định được thông qua tỉ lệ đề kháng. Kết quả này được đánh giá dựa trên kiểu hình đề kháng kháng sinh của các gốc vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo đã phân lập được với 7 trong số 14 kháng sinh xác định được tỉ lệ đề kháng thông qua điểm cắt đề kháng tham khảo từ CLSI VET08 và các công bố khác đã trình bày trước đó. Các kháng sinh bao gồm penicillin, ceftiofur, florfenicol, tetracycline, tilmicosin, tulathromycin, trimethoprim/sulfamethoxazole. Mối liên quan giữa đề kháng kháng sinh và lượng kháng sinh sử dụng được trình bày lần lượt qua Bảng 3.20 và Bảng 3.21.

**Bảng 3.20** Đề kháng kháng sinh của các vi khuẩn đã phân lập trong số 7/14 kháng sinh

| Số kháng sinh<br>bị đề kháng | Số gốc vi khuẩn đề kháng |            |           |           | Tổng số | Tỉ lệ (%) |
|------------------------------|--------------------------|------------|-----------|-----------|---------|-----------|
|                              | <i>App</i>               | <i>Hps</i> | <i>Pm</i> | <i>Bb</i> |         |           |
| 0                            | 0                        | 0          | 1         | 1         | 2       | 3,45      |
| 1                            | 0                        | 1          | 2         | 0         | 3       | 5,17      |
| 2                            | 0                        | 2          | 0         | 1         | 3       | 5,17      |
| 3                            | 2                        | 5          | 1         | 4         | 12      | 20,69     |
| 4                            | 1                        | 5          | 3         | 10        | 19      | 32,76     |
| 5                            | 1                        | 4          | 2         | 1         | 8       | 13,79     |
| 6                            | 1                        | 3          | 3         | 4         | 11      | 18,97     |
| 7                            | 0                        | 0          | 0         | 0         | 0       | 0,00      |
| <b>Tổng số</b>               | 5                        | 20         | 12        | 21        | 58      | 100       |

*App*: *A. pleuropneumoniae*; *Hps*: *H. parasuis*; *Pm*: *P. multocida*; *Bb*: *B. bronchiseptica*

Bảng 3.20 cho thấy có tổng số 58 gốc vi khuẩn xác định được kiểu hình đề kháng với 7 kháng sinh có điểm cắt đề kháng cho cả 4 loài vi khuẩn. Trong đó, có 3/58 gốc vi khuẩn đề kháng với ít nhất 1 kháng sinh, chiếm 5,17% và có 11/58 gốc vi khuẩn đề kháng nhiều nhất với 6 kháng sinh trong tổng số 7 kháng sinh, chiếm 18,97%; số gốc vi khuẩn đề kháng nhiều nhất là với 4 kháng sinh với 19/58 gốc vi khuẩn, chiếm tỉ lệ 32,76%, tiếp đến là 12/58 gốc vi khuẩn đề kháng với 3 kháng sinh,

8/58 gốc vi khuẩn đề kháng với 5 kháng sinh, 3/58 gốc vi khuẩn đề kháng với 2 kháng sinh chiếm tỉ lệ lần lượt là 20,69%, 13,79%, 3,45%, tuy nhiên chỉ có 1 gốc *P. multocida* và 1 gốc *B. bronchiseptica* không kháng với kháng sinh nào trong số 7 kháng sinh.

Từ kết quả trên, phân tích mối liên quan giữa số kháng sinh bị đề kháng bởi các vi khuẩn gây hô hấp trên heo đã phân lập được (trong tổng số 7 kháng sinh) với lượng kháng sinh sử dụng (TI tổng và TI hô hấp) của trại tương ứng được xác định qua Bảng 3.21.

**Bảng 3.21** Mối liên quan giữa số kháng sinh bị đề kháng bởi các vi khuẩn gây hô hấp trên heo đã phân lập được (trong tổng số 7 kháng sinh) với lượng kháng sinh sử dụng (TI tổng và TI hô hấp)

| Vi khuẩn                   | TI tổng   |       |              | TI hô hấp |       |              |
|----------------------------|-----------|-------|--------------|-----------|-------|--------------|
|                            | Hệ số góc | SE    | P            | Hệ số góc | SE    | P            |
| <i>A. pleuropneumoniae</i> | na        | na    | na           | 25,39     | 32,20 | 0,488        |
| <i>H. parasuis</i>         | 49,67     | 26,87 | <b>0,081</b> | 36,14     | 18,06 | <b>0,061</b> |
| <i>P. multocida</i>        | -21,55    | 16,84 | 0,231        | -15,93    | 13,53 | 0,266        |
| <i>B. bronchiseptica</i>   | 20,51     | 26,06 | 0,441        | 38,30     | 21,54 | <b>0,091</b> |

na: not applicable (không áp dụng để tính); SE: sai số chuẩn

Kết quả Bảng 3.21 cho thấy có mối liên quan giữa đề kháng kháng sinh của các vi khuẩn đã phân lập đối với sử dụng kháng sinh, trong đó đề kháng kháng sinh của *H. parasuis* cho thấy có mối liên quan khá chặt với tổng lượng kháng sinh sử dụng (TI tổng) và tổng lượng kháng sinh sử dụng trong phòng trị hô hấp trên heo (TI hô hấp) với giá trị ước tính lần lượt là 49,67 và 36,14. Giá trị này có thể được diễn giải rằng việc tăng thêm 1 kháng sinh đề kháng của các *H. parasuis* phân lập tại trại thì lượng kháng sinh sử dụng của trại sẽ tăng thêm thông qua giá trị TI tổng và TI hô hấp lần lượt là 49,67 và 36,14 đơn vị, tức tăng thêm số heo điều trị trên ngày bằng kháng sinh, tăng tổng lượng kháng sinh sử dụng, trong đó tăng lượng kháng sinh dùng trong phòng trị bệnh hô hấp trên heo.

Đề kháng kháng sinh của *B. bronchiseptica* cũng có mối liên quan với tổng lượng kháng sinh sử dụng trong phòng trị hô hấp trên heo (TI hô hấp) với giá trị hệ số góc là 38,30; giá trị này tương đương mối liên quan của các *H. parasuis* với TI hô hấp là 36,14. Giá trị này cũng gần có ý nghĩa khi các gốc *B. bronchiseptica* tăng đề kháng thêm 1 kháng sinh thì lượng kháng sinh dùng trong phòng trị bệnh hô hấp cho heo tại các trại khảo sát sẽ tăng thêm 38,8 đơn vị. Như vậy, đề kháng kháng sinh của các vi khuẩn phân lập được trong nghiên cứu này có liên quan khá chặt đến lượng kháng sinh sử dụng, khi vi khuẩn tăng số kháng sinh đề kháng thì sử dụng kháng sinh cũng sẽ tăng lên do khi vi khuẩn đề kháng làm giảm hiệu quả điều trị bệnh bằng kháng sinh, làm tăng thời gian điều trị, tăng số ngày điều trị điều trị bằng kháng sinh, từ đó làm tăng tổng lượng kháng sinh để điều trị bệnh.

Mối liên quan giữa sử dụng kháng sinh và đề kháng kháng sinh được ghi nhận trong báo cáo tại Bỉ của Chantziaras và ctv (2014) về đánh giá mối liên quan giữa việc sử dụng thuốc kháng sinh và tỉ lệ kháng thuốc ở các chủng *E. coli* cộng sinh từ heo, gia cầm và gia súc với các dữ liệu được thu thập từ 7 quốc gia châu Âu. Sự tương quan giữa sử dụng kháng sinh và đề kháng kháng sinh trong báo cáo này được thể hệ thông qua hệ số Spearman. Trong đó, hệ số tương quan cao nhất đối với amphenicol, tiếp theo là đối với sulphonamide, streptomycin và tetracycline, aminopenicillin, gentamicin và cephalosporin thế hệ thứ ba. Nghiên cứu nhận định rằng ở cấp độ quốc gia, mức độ sử dụng thuốc kháng sinh cụ thể có mối tương quan chặt chẽ với mức độ đề kháng đối với các tác nhân này ở các chủng vi khuẩn *E. coli* cộng sinh ở heo, gia cầm và gia súc.

Mối tương quan giữa sử dụng kháng sinh và đề kháng sinh cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Wushouer và ctv (2018) tại Trung Quốc. Trong đó, mối tương quan đáng kể giữa mức độ kháng thuốc của các *K. pneumoniae* kháng cephalosporin thế hệ thứ ba, các phối hợp beta-lactam/chất ức chế beta-lactamase, quinolone và carbapenem. Ngoài ra, các chủng *E. coli* kháng cephalosporin thế hệ thứ ba với các phối hợp beta-lactam/chất ức chế beta-lactamase; *P. aeruginosa* kháng carbapenem

không chỉ tương quan đáng kể với việc sử dụng carbapenem, mà cả penicillin và quinolone cũng được ghi nhận. Có mối tương quan chặt giữa tỉ lệ kháng thuốc của *E. coli* kháng cephalosporin thế hệ thứ ba và chỉ sử dụng phối hợp beta-lactam/chất ức chế beta-lactamase. Gần đây, nghiên cứu giám sát của Tan và ctv (2022) tại Malaysia về xu hướng kháng thuốc cho thấy có mối tương quan dương giữa việc sử dụng cephalosporin phổ rộng và fluoroquinolones đối với sự phát triển của *S. aureus* kháng methicillin (MRSA), *Klebsiella* spp sản xuất *beta-lactamase* phổ rộng (ESBL), *E. coli* sản xuất ESBL và MRO *A. baumannii*. Việc tăng tiêu thụ carbapenem có mối tương quan dương với sự xuất hiện của *Klebsiella* spp và *E. coli* sản xuất ESBL. Sử dụng polymyxin có mối tương quan dương với *Klebsiella* spp sản xuất ESBL, MRO *A. baumannii* và *Enterobacteriaceae* kháng carbapenem. Những phát hiện này củng cố thêm lo ngại về mối liên quan giữa sự phát triển của các chủng đa kháng với sử dụng kháng sinh, đặc biệt là với sự gia tăng tiêu thụ cephalosporin phổ rộng và fluoroquinolones. Do đó, sử dụng thuốc kháng sinh chặt chẽ hơn là rất quan trọng để giảm thiểu nguy cơ xuất hiện các vi khuẩn kháng thuốc mới nổi.

Nhiễm trùng do vi khuẩn kháng thuốc dẫn đến tỉ lệ những kết quả bất lợi cao hơn gấp hai lần so với nhiễm trùng tương tự do các chủng vi khuẩn nhạy cảm gây ra. Những kết quả bất lợi này có thể là hiệu quả điều trị bệnh trên lâm sàng, ảnh hưởng về kinh tế và sự thất bại hoặc trì hoãn điều trị bằng kháng sinh. Mức độ của những kết quả bất lợi này sẽ rõ rệt hơn khi mức độ nghiêm trọng của bệnh, độc lực của chủng hoặc tính dễ bị tổn thương của vật chủ tăng lên. Tác động tiêu cực của tình trạng đề kháng kháng sinh có thể được đo lường ở cấp độ bệnh nhân thông qua tăng tỉ lệ mắc bệnh và tỉ lệ chết, ở cấp độ chăm sóc sức khỏe thông qua tăng cường sử dụng nguồn lực, chi phí cao hơn và ở cấp độ xã hội thể hiện thông qua điều trị bằng kháng sinh phổ rộng ngày càng tăng (Friedman và ctv, 2016).

Do đó, giảm sử dụng kháng sinh là chính sách ưu tiên hàng đầu cần hướng đến của mỗi quốc gia, khu vực trên thế giới để hạn chế đề kháng kháng sinh. Hiện Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã không cho phép sử dụng kháng sinh với mục



đích kích thích tăng trưởng trong chăn nuôi từ 1/1/2018 và đang trong lộ trình giảm sử dụng kháng sinh để phòng bệnh cho vật nuôi và sẽ cấm hoàn toàn việc sử dụng kháng sinh với mục đích phòng bệnh trong chăn nuôi kể từ 1/1/2026 theo quy định tại Nghị định số 13/2020/NĐ-CP của Chính phủ (NĐ-CP, 2020). Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn cũng đã ban hành Quyết định số 3609/QĐ-BNN-TY về Kế hoạch hành động quốc gia về phòng, chống kháng kháng sinh trong lĩnh vực nông nghiệp giai đoạn 2021-2025 với mục tiêu giảm thiểu nguy cơ về kháng kháng sinh cho cộng đồng thông qua việc quản lý sử dụng kháng sinh và kiểm soát kháng kháng sinh trong lĩnh vực nông nghiệp ở Việt Nam (Bộ NN&PTNT, 2021). Gần đây, Chính phủ đã ban hành Quyết định số 1121/QĐ-TTg ngày 25/9/2023 phê duyệt Chiến lược quốc gia về phòng chống kháng thuốc tại Việt Nam giai đoạn 2023-2030, tầm nhìn đến năm 2045. Trong đó, nâng cao nhận thức của cộng đồng, tăng cường hệ thống giám sát quốc gia về sự kháng thuốc, sử dụng và tiêu thụ thuốc kháng vi sinh vật, tăng cường quản lý sử dụng kháng sinh trong thú y giai đoạn 2024 - 2030 là một trong những đề án trọng điểm (QĐ-TTg, 2023). Đây là những nỗ lực cụ thể để có thể giảm lượng sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi và giảm nguy cơ đề kháng kháng sinh ở cả động vật và con người. Người chăn nuôi có thể thúc đẩy các biện pháp phòng chống dịch bệnh để giảm thiểu nhu cầu sử dụng kháng sinh bao gồm quy trình chăn nuôi và phúc lợi động vật tốt như mô hình quản lý, chuồng trại, thức ăn và nước uống phù hợp; thực hiện an toàn sinh học hiệu quả và sử dụng vaccin tối ưu và phù hợp.

## KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Với những kết quả đã ghi nhận được từ nghiên cứu, một số kết luận và đề nghị được trình bày như sau:

### **Kết luận**

- 4 loại khuẩn gây bệnh hô hấp phổ biến trên heo *A. pleuropneumoniae*, *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica* đã được phân lập chiếm tỉ lệ 1,48-6,46%; với khả năng đề kháng kháng sinh khá cao (8,33-91,67%), đặc biệt các gốc vi khuẩn đa đề kháng (MDR) chiếm ưu thế với 66,67-88,89% trong số các gốc vi khuẩn đã phân lập.
- Trong 14 loại kháng sinh thử nghiệm, nồng độ ức chế tối thiểu của các loại kháng sinh (0,5-128 $\mu$ g/mL), trong đó tetracycline, amoxicillin, florfenicol là rất cao. Tetracycline là kháng sinh bị đề kháng mạnh nhất bởi tất cả các vi khuẩn mục tiêu.
- Tulathromycin, ceftiofur, trimethoprim/ sulfamethoxazole là những lựa chọn phù hợp trong liệu pháp kháng sinh để kiểm soát bệnh hô hấp trên các đàn heo khảo sát vì sự mẫn cảm cao và nồng độ ức chế tối thiểu thấp. Đặc biệt với ceftiofur, tất cả *A. pleuropneumoniae* là hoàn toàn nhạy cảm.
- Lượng kháng sinh sử dụng tại trại là cao hơn nhiều so với ghi nhận của các nghiên cứu khác. Trong đó, amoxicillin được sử dụng nhiều nhất tại các trại. Số lượng kháng sinh bị đề kháng ở vi khuẩn càng nhiều làm tăng lượng kháng sinh dùng ở trại.
- Nghiên cứu cho thấy việc sử dụng kháng sinh nhiều không giúp cải thiện năng suất chăn nuôi. Do đó, giảm dùng kháng sinh trong trại thông qua giảm tỉ lệ bệnh là mấu chốt, mà việc đó chỉ có thể thực thi tốt thông qua cải thiện an toàn sinh học.
- Đánh giá và đo lường an toàn sinh học hiện nay vẫn còn một số điều cần quan tâm như trang bị khu úm, điều chỉnh mật độ nuôi, kiểm soát động vật ngoại lai, không nuôi giữ các động vật khác cùng với heo; xây dựng hệ thống xử lý nước thải biogas, trang bị hệ thống xử lý nước uống cho heo.
- Nghiên cứu đã minh chứng cho mối liên quan giữa mức an toàn sinh học tốt có thể cải thiện năng suất chăn nuôi và giảm đáng kể lượng kháng sinh sử dụng. Cải thiện

an toàn sinh học đã trở thành xu hướng giảm dùng kháng sinh trong chăn nuôi và phần nào đã được chứng minh với kết quả nghiên cứu hiện tại.

### **Đề nghị**

Cần thực hiện phân lập, đánh giá miễn cảm kháng sinh của nhóm vi khuẩn gây bệnh hô hấp tại các thời điểm khác, khu vực khác để đánh giá khách quan hơn về khả năng phân lập cũng như đa dạng dữ liệu về miễn cảm kháng sinh.

Tổ chức tốt chương trình chủ động kiểm soát đề kháng kháng sinh của trại, khu vực, quốc gia của các nhóm vi khuẩn để kịp thời cung cấp thông tin về tình hình dịch tễ của các nhóm mầm bệnh do vi khuẩn đang lưu hành.

Duy trì và đảm bảo thực thi các yếu tố an toàn sinh học hiện hữu tại trại, cải thiện các yếu tố chưa thực thi tốt, nâng cao ý thức về an toàn sinh học đối với người chăn nuôi.

Hướng dẫn, hỗ trợ kịp thời các chính sách về an toàn sinh học cần được để việc thực thi được hiệu quả.

## DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Đặng Thị Xuân Thiệp**, Bùi Nguyễn Hoàng Trang, Lê Thanh Tùng, Võ Thị Trà An, 2019. Phân lập, định danh một số vi khuẩn gây bệnh hô hấp trên heo. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y. Tập XXVI, số 6-2019. Trang 49-55.
2. **Đặng Thị Xuân Thiệp**, Bùi Nguyễn Hoàng Trang, Lê Thanh Tùng, Lâm Ánh Tuyết, Võ Thị Trà An, 2020. Mức độ nhạy cảm kháng sinh của các gốc *Haemophilus parasuis* phân lập từ heo. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y. Tập XXVII, số 3-2020. Trang 48-55.
3. **Đặng Thị Xuân Thiệp**, Vũ Đình Thành Lộc, Đinh Võ Gia Linh, Huỳnh Hồ Minh Nhã, Lâm Ánh Tuyết, Võ Thị Trà An, 2021. Phân lập và đánh giá mức độ đề kháng kháng sinh của các chủng *Actinobacillus pleuropneumoniae* phân lập từ heo. Kỷ yếu Hội nghị Khoa học Chăn nuôi Thú y toàn quốc 2021. Trang 294-301.
4. **T. Dang T. X.**, H. Le Thanh. Relationship between biosecurity score and amount of antibiotic used and production parameters in wean-to-finish pig farms in Vietnam. Proceedings on IPVS & ESPHM June 4-7, 2024, Leipzig, Germany. Page 720. Poster number HHM-PP-58.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aarestrup F.M., Seyfarth A.M. and Angen Ø., 2004. Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus parasuis* and *Histophilus somni* from pigs and cattle in Denmark. *Veterinary Microbiology* 101(2):143-146.
2. Akerley B.J. and Miller J.F., 1993. Flagellin gene transcription in *Bordetella bronchiseptica* is regulated by the BvgAS virulence control system. *Journal of Bacteriology* 175(11):3468-3479.
3. Alarcón L.V., Allepuz A. and Mateu E., 2021. Biosecurity in pig farms: A review. *Porcine Health Management* 7(1):5.
4. Amass S.F., Mason P.W., Pacheco J.M., Miller C.A., Ramirez A., Clark L.K., Ragland D., Schneider J.L. and Kenyon S.J., 2004. Procedures for preventing transmission of foot-and-mouth disease virus (O/TAW/97) by people. *Veterinary Microbiology* 103:143-149.
5. Amelia R.W., 2013. *Pasteurellaceae: Avibacterium, Bibersteinia, Mannheimia, and Pasteurella*. In *Veterinary Microbiology, Third Edition*. Edited by Scott McVey D., Kennedy M. and Chengappa M.M. Wiley-Blackwell, 656 pages.
6. Antimicrobial Resistance Collaborators, 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet* 399 (10325):629-655.
7. Álvarez-Estrada Á., Gutiérrez-Martín C.B., Rodríguez-Ferri E.F. and Martínez-Martínez, S., 2018. Development of a quick and easy molecular method for differentiating *Haemophilus (Glässerella) parasuis* from species belonging to the genus. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine* 16(2):6.
8. Archambault M., Harel J., Gouré J., Tremblay Y.D.N. and Jacques M., 2012. Antimicrobial susceptibilities and resistance genes of Canadian isolates of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Microbial Drug Resistance*, 18(2):198–206.
9. Aragon V., Segalés J., and Tucker A.W. (Dan), 2019. Glässer's Disease. In *Disease of Swine 11th edition* (Eds. Jeffrey J. Zimmerman Locke A. Karriker Alejandro Ramirez Kent J. Schwartz Gregory W. Stevenson Jianqiang Zhang). John Wiley & Sons, Inc., USA. pp 844-853.
10. Backhans A., Sjölund M., Lindberg A., and Emanuelson U., 2015. Biosecurity level and health management practices in 60 Swedish farrow-to-finish herds. *Acta Veterinaria Scandinavica* 57(1):14.
11. Benchaoui H.A., Nowakowski M., Sherington J., Rowan T.G. and Sunderland S. J., 2004. Pharmacokinetic and lung tissue concentrations of tulathromycin in swine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic* 27(4):203-210.
12. Betancourt W.Q. and Joan, B.R., 2004. Drinking water treatment processes for removal of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Veterinary parasitology* 126(1-2):219-234.
13. Burow E., Rostalski A.; Harlizius J., Gang A., Simoneit C., Grobbel M., Kollas C., Tenhagen B.A., Kasbohrer A., 2019. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* from pigs from birth to slaughter and its association with antibiotic treatment. *Preventive Veterinary Medicine* 165:52-62.

14. Brockmeier S.L., 2004. Prior infection with *Bordetella bronchiseptica* increases nasal colonization by *Haemophilus parasuis* in swine. *Veterinary Microbiology* 99(1):75-78.
15. Brockmeier S.L., Register K.B, Nicholson T.L, and Loring C.L, 2019. Bordetellosis. In *Disease of Swine* 11th edition (Eds. Jeffrey J. Zimmerman Locke A. Karriker Alejandro Ramirez Kent J. Schwartz Gregory W. Stevenson Jianqiang Zhang). John Wiley & Sons, Inc., USA. Pp. 767-777.
16. Bradley W.F. and Amelia R.W., 2013. *Pasteurellaceae: Actinobacillus*. In *Veterinary Microbiology, Third Edition*. Edited by D. Scott McVey, Melissa Kennedy and M.M. Chengappa. C © 2013 John Wiley & Sons, Inc. Published 2013 by *John Wiley & Sons, Inc.*
17. Bradley W.F., 2013. *Bordetella*. In *Veterinary Microbiology, Third Edition*. Edited by D. Scott McVey, Melissa Kennedy and M.M. Chengappa. C © 2013 John Wiley & Sons, Inc. Published 2013 by *John Wiley & Sons, Inc.*
18. Bộ NN&PTNT, 2010. "Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia điều kiện trại chăn nuôi heo an toàn sinh học". <URL: <https://thuvienphapluat.vn/TCVN/Nong-nghiep/QCVN-01-14-2010-BNNPTNT-dieu-kien-trai-chan-nuoi-lon-an-toan-sinh-hoc-903255.aspx>>.
19. Bộ NN&PTNT, 2011. "Quy chuẩn QCVN 01-83:2011/BNNPTNT Yêu cầu chung về lấy mẫu bệnh phẩm động vật". <URL: <https://luatvietnam.vn/nong-nghiep/quy-chuan-qcvn-01-83-2011-bnnptnt-yeu-cau-chung-ve-lay-mau-benh-pham-dong-vat-161346-d3.html>>.
20. Bộ NN&PTNT, 2011. "Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-39:2011/BNNPTNT về vệ sinh nước dùng trong chăn nuôi". <URL: <https://luatvietnam.vn/nong-nghiep/quy-chuan-qcvn-01-39-2011-bnnptnt-ve-sinh-nuoc-dung-trong-chan-nuoi-161488-d3.html>>.
21. Bộ NN&PTNT, 2011. "Thông tư số 07/2016/TT-BNNPTNT. Quy định về phòng, chống dịch bệnh động vật trên cạn". <URL: <https://vanban.chinhphu.vn/default.aspx?pageid=27160&docid=1856>>.
22. Bộ NN&PTNT, 2020. "Thông tư 12/2020/TT-BNNPTNT - Thông tư quy định về quản lý thuốc thú y có chứa chất ma túy, tiền chất; kê đơn, đơn thuốc thú y; sửa đổi, bổ sung một số điều của thông tư số 18/2018/TT-BNNPTNT". <URL: <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/Linh-vuc-khac/Thong-tu-12-2020-TT-BNNPTNT-quan-ly-thuoc-thu-y-co-chua-chat-ma-tuy-tien-chat-458148.aspx>>.
23. Bộ NN&PTNT, 2021. "Kế hoạch hành động quốc gia về phòng, chống kháng kháng sinh trong lĩnh vực nông nghiệp giai đoạn 2021-2025". <URL: <https://cucthuy.gov.vn/>>.
24. Bộ NN&PTNT, 2021. "Thông tư 12/2021/ TT-BNNPTNT. Hướng dẫn việc thu gom, xử lý chất thải chăn nuôi, phụ phẩm nông nghiệp tái sử dụng cho mục đích khác". <URL: <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/Tai-nguyen-Moi-truong/Thong-tu-12-2021-TT-BNNPTNT-xu-ly-chat-thai-chan-nuoi-tai-su-dung-cho-muc-dich-khac-492929.asp>>.
25. Bộ NN&PTNT, 2022. "Thông tư 24/2022/TT- BNNPTNT. Quy định về cơ sở, vùng an toàn dịch bệnh động vật". <URL: <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/Linh-vuc-khac/Thong-tu-24-2022-TT-BNNPTNT-co-so-vung-an-toan-dich-benh-dong-vat-549293.asp>>.

26. Bush E., 2012. Swine Part I: Baseline Reference of Swine Health and Management in the United States, 2012; United States Department of Agriculture: Washington, DC, USA.
27. Carrique-Mas J. J., Choisy M., Van Cuong N., Thwaites G. and Baker S., 2020. An estimation of total antimicrobial usage in humans and animals in Vietnam. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 9(1):16.
28. Casal J., De Manuel A., Mateu E. and Martín M., 2007. Biosecurity measures on swine farms in Spain: Perceptions by farmers and their relationship to current on-farm measures. *Preventive Veterinary Medicine* 82(1):138–50.
29. Cho W.S., Choi C. and Chae C., 2002. In situ hybridization for the detection of the *apxIV* gene in the lungs of pigs experimentally infected with twelve *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes. *Veterinary Research* 33(6), 653–660.
30. Canadian Swine Health Board, 2011. "Live hog transport vehicle wash/disinfect/ dry protocols".<URL: [https://www.albertapork.com/wp-content/uploads/2017/06/1.-Live-Hog-Transport-Vehicle-Wash Disinfect Dry-Protocols.pdf](https://www.albertapork.com/wp-content/uploads/2017/06/1.-Live-Hog-Transport-Vehicle-Wash-Disinfect-Dry-Protocols.pdf). Accessed 12 Aug 2020>.
31. CLSI, 2015. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
32. CLSI, 2018. Performance standards for antimicrobial disk and dilutionsusceptibility tests for bacteria isolated from animals. 4th ed. CLSI supplement VET08. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
33. Chantziaras I., Boyen F., Callens B., and Dewulf J., 2014. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69:827–834.
34. Cochrane R.A., Amachawadi R.G., Remfry S., Lerner A.B., Gebhardt J.T., Nagaraha T.G., Pluske J.R., Niederwerder M.C., Woodworth J.C., Dritz S.S., Jones C.K., 2018. A review of medium chain fatty acids and their recent role in feed safety. *Journal of Animal Science* 96:55.
35. Collineau L., Belloc C., Stärk K.D.C., Hémonic A., Postma M., Dewulf J. and Chauvin C., 2017. Guidance on the selection of appropriate indicators for quantification of antimicrobial usage in humans and animals. *Zoonoses and Public Health* 64(3):165–84.
36. Correge I., 2019. PORCPROTECT by Ifip: an assessment of the farm biosecurity level on-line. In: 11th European Symposium of Porcine Health Management. Utrecht; 2019.
37. Costa-Hurtado M., Barba-Vidal E., Maldonado J.; Aragon V., 2020. Update on Glässer's disease: How to control the disease under restrictive use of antimicrobials. *Veterinary Microbiology* 242.
38. Cuc, Ngo Thi Kim, Nguyen Cong Dinh, Ngo Thi Le Quyen, and Ha Minh Tuan, 2020. Biosecurity level practices in pig and poultry production in Vietnam. *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 8(10).

39. Cuong N., Nhung N.T., Nghia N.H., Hoa N.T.M., Trung N.V., Thwaites G., Carrique-Mas J., 2016. Antimicrobial consumption in medicated feeds in Vietnamese pig and poultry production. *EcoHealth* 2016.
40. Dayao D.A.E., Gibson J.S., Blackall P.J. and Turni C., 2014. Antimicrobial resistance in bacteria associated with porcine respiratory disease in Australia. *Veterinary Microbiology* 171(1–2):232-235.
41. Dayao D., Gibson, J., Blackall, P. and Turni, C., 2016. Antimicrobial resistance genes in *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis* and *Pasteurella multocida* isolated from Australian pigs. *Australian Veterinary Journal* 94(7):227-231.
42. de la Fuente A.J.M., Tucker A.W., Navas J., Blanco M., Morris S.J. and Gutiérrez-Martín C.B., 2007. Antimicrobial susceptibility patterns of *Haemophilus parasuis* from pigs in the United Kingdom and Spain. *Veterinary Microbiology* 120(1–2):184-191.
43. Dee S., Deen J., Burns D., Douthit G. and Pijoan C., 2004. An assessment of sanitation protocols for commercial transport vehicles contaminated with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Canadian Journal of Veterinary Research* 68(3):208-14.
44. Dee S., Deen J. and Cano J. P., 2006. Further evaluation of alternative air-filtration systems for reducing the transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by aerosol. *Canadian Journal of Veterinary Research* 70:168-75.
45. Desem M.I., Handharyani E., Setiyono A., Safika S., Subekti D.T. and Ekawasti, F., 2023. Morphology, biochemical, and molecular characterization of *Pasteurella multocida* causing hemorrhagic septicemia in Indonesia. *Veterinary Medicine Internationa* 7778-707.
46. Di K.N., Pham D.T., Tee T.S., Binh Q.A. and Nguyen T.C., 2021. Antibiotic usage and resistance in animal production in Vietnam: A review of existing literature. *Tropical Animal Health and Production* 53(3):340.
47. European Medicines Agency, 2012. "Annual report 2011 Overview of the Agency's contribution to science, medicines and health in the European Union EMA/MB/977044/2011". <URL: <https://www.ema.europa.eu/en/about-us/annual-reports-work-programmes>>.
48. European Medicines Agency, 2014. "Annual report 2013 EMA/95980/2013". <URL: <https://www.ema.europa.eu/en/about-us/annual-reports-work-programmes>>.
49. European Medicines Agency, 2017. Annual report 2016. <URL: <https://www.ema.europa.eu/en/about-us/annual-reports-work-programmes>>
50. Eltayb A., Barakat S., Marrone G., Shaddad S., Sta C., 2012. Antibiotic use and resistance in animal farming : A quantitative and qualitative study on knowledge and practices among farmers in Khartoum, Sudan. *Zoonoses Public Health* 330-338.
51. Faul F., Erdfelder E., Buchner A. and Lang A.G., 2009. Statistical power analyses using G\*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behavior Research Methods* 41:1149-1160.



52. Fertner M., Boklund A., Dupont N., Claes E., Stege H. and Toft N., 2015. Weaner production with low antimicrobial usage: a descriptive study. *Acta Veterinaria Scandinavica* 57:38.
53. Filippitzi M.E., Brinch Kruse A. and Postma M., 2018. Review of transmission routes of 24 infectious diseases preventable by biosecurity measures and comparison of the implementation of these measures in pig herds in six European countries. *Transboundary and Emerging Diseases* 65:381–398.
54. Gottschalk M. and Broes A., 2019. *Actinobacillosis*. In Zimmerman J. J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W., and Zhang J., Diseases of Swine (1st ed). Wiley 749–766.
55. Gonzalez-Zorn B. and Moyano G., 2017. "Antibiotic resistance: the role of animal production".<URL: [https:// http://www.effort-against-amr.eu/](https://http://www.effort-against-amr.eu/)>
56. Gutiérrez-Martín C.B., del Blanco N.G., Blanco M., Navas J., Rodríguez-Ferri E.F., 2006. Changes in antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs in Spain during the last decade. *Veterinary Microbiology* 115(1-3):218-222.
57. Harper M., Boyce J. D. and Adler B., 2006. *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur: *Pasteurella multocida* pathogenesis. *FEMS Microbiology Letters* 265(1):1–10.
58. Hermann J., Hoff S., Muñoz-Zanzi C., Yoon K.J., Roof M., Burkhardt A. and Zimmerman J., 2007. Effect of temperature and relative humidity on the stability of infectious porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aerosols. *Veterinary Research* 38:81-93.
59. Hege R., Zimmermann W., Scheidegger R. and Stärk K.D.C., 2002. Incidence of reinfections with *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pig farms located in respiratory disease free regions of Switzerland identification and quantification of risk factors. *Acta Veterinaria Scandinavica* 43:145.
60. Howell K.J., Peters S.E., Wang J., Hernandez-Garcia J., Weinert L.A., Luan S.L., Chaudhuri R.R., Angen Ø., Aragon V., Williamson S.M., Parkhill J., Langford P.R., Rycroft A.N., Wren B.W., Maskell D.J., Tucker A.W. on behalf of the BRaDP1T Consortium, 2015. Development of a Multiplex PCR assay for rapid molecular serotyping of *Haemophilus parasuis*. *Journal of Clinical Microbiology* 53(12):3812-21.
61. Hozbor, D., Fouque, F., Guiso, N., 1999. Detection of *Bordetella bronchiseptica* by the polymerase chain reaction. *Research in Microbiology* 150, 333–341.
62. Hričinová M., Holoda E., Mudroňová D. and Ondrašovičová S., 2010. Multiplex PCR assay for detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Haemophilus parasuis* in lungs of pigs from a slaughterhouse. *Folia Microbiologica* 55(6):635-640.
63. Isomura R., Matsuda M. and Sugiura K., 2018. An epidemiological analysis of the level of biosecurity and animal welfare on pig farms in Japan and their effect on the use of veterinary antimicrobials. *Journal of Veterinary Medical Science*. 80:1853-60.

64. Jorgensen J.H. and Pfaller M.A., 2015. Introduction to the 11th Edition of the Manual of Clinical Microbiology. In: Jorgensen, J.H., Carroll, K.C., Funke, G., et al., Eds., *Manual of Clinical Microbiology*, ASM Press, 873-874.
65. Kadlec K. and Schwarz S., 2018. Antimicrobial resistance in *Bordetella bronchiseptica*. *Microbiology Spectrum* 6(4).
66. Karriker L., Coetze J., Friendship R. and Prescott J., 2012. Drug pharmacology, therapy and prophylaxis. In Zimmerman J, Karriker L, Ramirez A, Schwartz K and Stevenson G (eds), *Diseases of Swine*, 10th edn, Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell 106–118.
67. Kang H., 2021. Sample size determination and power analysis using the G\*Power software. *Journal of Educational Evaluation for Health Professions* 18:17.
68. Kavanová L., Matiašková K., Levá L., Štěpánová H., Nedbalcová K., Matiašovic J., Faldyna M. and Salát J., 2017. Concurrent infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Haemophilus parasuis* in two types of porcine macrophages: Apoptosis, production of ROS and formation of multinucleated giant cells. *Veterinary Research* 48(1):28.
69. Khanh Nguyen Di, Duy Toan Pham, Tay Sun Tee, Quach An Binh, Thanh Cong Nguyen, 2012. Antibiotic usage and resistance in animal production in Vietnam: a review of existing literature. *Tropical Animal Health and Production* 53:340.
70. Krasucka D. and Kowalski C.Z., 2010. Pharmacokinetic parameters of amoxicillin in pigs. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, 67(6):729-732.
71. Kucerova Z., Hradecka H., Nechvatalova K. and Nedbalcova K., 2012. Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates from clinical outbreaks of porcine respiratory diseases. *Veterinary Microbiology* 150(1-2):203-206.
72. Laanen M., Persoons D., Ribbens S., de Jong E., Callens B., Strubbe M., Maes D. and Dewulf J., 2013. Relationship between biosecurity and production/antimicrobial treatment characteristic in pig herds. *The Veterinary Journal* 198(2):508-512.
73. Layton D.S., Choudhary A. and Bean A.G.D., 2017. Breaking the chain of zoonoses through biosecurity in livestock. *Vaccine* 35:5967-73.
74. Lamberte L.E. and van Schaik W., 2022. Antibiotic resistance in the commensal human gut microbiota. *Current Opinion in Microbiology* 68:102150.
75. Lambrini K., 2017. The rational use of antibiotics medicine. *Journal of Health Communication* 2:36.
76. Lee H.J., Cho S.H., Shin D. and Kang H.S., 2018. Prevalence of antibiotic residues and antibiotic resistance in isolates of chicken meat in Korea. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 38(5):1055-106.
77. Lekagul A., Tangcharoensathien V. and Yeung S.M., 2019. Patterns of antibiotic use in global pig production: A systematic review. *Veterinary and Animal Science* 7:12.
78. Liu H., Zhao Z., Xi X., Xue Q., Long T. and Xue Y., 2017. Occurrence of *Pasteurella multocida* among pigs with respiratory disease in China between 2011 and 2015. *Irish Veterinary Journal* 70(1):2.

79. López-Boado Y.S., Cobb L.M. and Deora R., 2005. *Bordetella bronchiseptica* flagellin is a proinflammatory determinant for airway epithelial cells. *Infection and Immunity* 73(11):7525-7534.
80. Loera-Muro A., Jacques M., Avelar-Gonzalez F.J., Labrie J., Tremblay Y.D., Oropeza-Navarro R., Guerrero-Barrera A.L., 2016. Auxotrophic *Actinobacillus pleuropneumoniae* grows in multispecies biofilms without the need for nicotinamide- adenine dinucleotide (NAD) supplementation. *BMC Microbiol* 16:128.
81. Lung O., Ohene-Adjei S., Buchanan C., Joseph T., King R., Erickson A., Detmer S., Ambagala A., 2017. Multiplex PCR and microarray for detection of swine respiratory pathogens. *Transboundary and Emerging Diseases* 64(3):834-848.
82. Lương Thị Xuân Quỳnh, Đỗ Thị Thùy Dương, Hoàng Thị Phương và Đinh Xuân Phát, 2018. Định danh và xét nghiệm kháng sinh đồ vi khuẩn *Haemophilus parasuis* lưu hành trong trại chăn nuôi heo trên địa bàn một số tỉnh phía Nam Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển* 17(5):68-76.
83. Maes D., Vander Beken H., Dewulf J., De Vliegher S., Castryck F. and De Kruif A. 2010. "The functioning of the veterinarian in the Belgian pig sector: A questionnaire survey of pig practitioners". *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 79.
84. Mannion C., Egan J., Lynch B.P., Fanning S. and Leonard N., 2008. An investigation into the efficacy of washing trucks following the transportation of pigs--a salmonella perspective. *Foodborne Pathogens and Disease* 5 (3): 261-71.
85. Matter D., Rossano A., Limat S., Vorlet-Fawer L., Brodard I. and Perreten V., 2007. Antimicrobial resistance profile of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Actinobacillus porcitonisillarum*. *Veterinary Microbiology* 122(1-2):146-56.
86. Magnusson U., Sternberg S., Eklund G. and Rozstalnyy A. 2019. "Prudent and efficient use of antimicrobials in pigs and poultry". *FAO Animal Production and Health Manual* 23. Rome. FAO. <URL: <http://www.fao.org/ag/againfo/resources/en/publications.html>>.
87. Michael G.B., Bossé J.T. and Schwarz S., 2018. Antimicrobial resistance in Pasteurellaceae of veterinary origin. *Microbiology Spectrum* 6(3).
88. Mohan S., Pascual-Garrigos A., Brouwer H., Pillai D., Koziol J., Ault A., Schoonmaker J., Johnson T. and Verma, M.S., 2021. Loop-mediated isothermal amplification for the detection of *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* and *Histophilus somni* in bovine nasal samples. *ACTV Agricultural Science and Technology* 1(2):100-108.
89. McCarthy N., 2015. "Deaths from drug-resistant infections set to skyrocket". <URL: <https://www.statista.com/chart/3095/drug-resistant-infections/>>.
90. Moennig V., 2015. The control of classical swine fever in wild boar. *Frontiers in Microbiology* 6:1-10.
91. ND-CP, 2020. "Nghị định Hướng dẫn chi tiết Luật Chăn nuôi". <URL: <https://datafiles.chinhphu.vn/>>.
92. Nguyen, Nhung T., Hoa M. Nguyen, Cuong V. Nguyen, Trung V. Nguyen, Men T. Nguyen, Hieu Q. Thai, Mai H. Ho et al., 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):3727–3735.
93. Mulchandani R., Wang Y., Gilbert M. and Van Boeckel T.P., 2023. Global trends in antimicrobial use in food producing animals: 2020 to 2030. *PLOS Global Public Health* 3(2):e0001305.
  94. Munita J.M. and Arias C.A., 2016. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol Spectrum* 4(2):10.1128.
  95. Magiorakos A.P, Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E, Giske C.G., Harbarth S., Hindler J.F., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist B., Paterson D.L., Rice L.B., Stelling J., Struelens M.J., Vatopoulos A., Weber J.T., Monnet D.L., 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection* 18(3):268-281.
  96. Nedbalcová K. and Kučerová Z., 2013. Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* and *Haemophilus parasuis* isolates associated with porcine pneumonia. *Acta Veterinaria Brno* 82(1):3-7.
  97. Nedbalcova K., Satran P., Jaglic Z., Ondriasova R. and Kucerova Z., 2006. *Haemophilus parasuis* and Glasser disease in pigs: A review. *Veterinárni Medicína* 51(5):168-179.
  98. Nielsen P. and Gyrd-Hansen N., 1998. Bioavailability of spiramycin and lincomycin after oral administration to fed and fasted pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic* 21(4):251-256.
  99. Novo A., André S., Viana P., Nunes O.C. and Manaia C.M., 2013. Antibiotic resistance, antimicrobial residues and bacterial community composition in urban wastewater 47(5):1875-87.
  100. Pham Kim, Dang, Claude Saegerman, Caroline Douny, Ton Vu Dinh, Bo Ha Xuan, Binh Dang Vu, Ngan Pham Hong and Marie-Louise Scippo, 2013. First survey on the use of antibioticity in pig and poultry production in the red river delta region of Vietnam. *Food and Public Health* 3(5):247-56.
  101. Pitkin A., Deen J. and Dee S., 2009. Further assessment of fomites and personnel as vehicles for the mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Canadian Journal of Veterinary Research* 73:298–302.
  102. Phan Thị Duy Thuận, Đặng Thị Thu Hiền, Vũ Thị Minh Phương, Võ Hoài Nam, Dương Thanh Hải, 2023. Thực trạng an toàn sinh học trong chăn nuôi lợn ở nông hộ tại huyện Phong Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế. *HUAF journal of agricultural science and technology* 7(2):3638-3647.
  103. Oh Y.H., Moon D.C., Lee Y.J., Hyun B.H. and Lim S.K., 2018. Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* strains isolated from pigs between 2010 and 2016. *Veterinary Record Open* 5(1):e000293.
  104. Oliveira S., 2007. *Haemophilus parasuis* diagnostic. *Journal of Swine Health and Production* 15(2):99-103.

105. Oliveira S., Galina L. and Pijoan C., 2001. Development of a PCR test to diagnose *Haemophilus parasuis* infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 13(6):495-501.
106. Oliveira, S. and Pijoan, C., 2004. *Haemophilus parasuis*: New trends on diagnosis, epidemiology and control. *Veterinary Microbiology* 99(1):1-12.
107. Om C., McLaws M.L., 2016. Antibiotics: practice and opinions of Cambodian commercial farmers, animal feed retailers and veterinarians. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 5:42.
108. Otake S., Dee S., Corzo C., Oliveira S., Deen J., 2010. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Veterinary Microbiology* 145:198-208.
109. Osorio V., Mezquita A.S., Balcázar J.L., 2023. Comparative metagenomics reveals poultry and swine farming are hotspots for multidrug and tetracycline resistance. *Environmental Pollution* 322.
110. Opriessnig T., Giménez-Lirola L.G. and Halbur P.G., 2011. Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Animal Health Research Reviews* 12:133-148.
111. Postma M., Backhans A., Collineau L., Loesken S., Sjölund M., Belloc C., Emanuelson U., grosse Beilage E., Nielsen E.O., Stärk K.D.C. and Dewulf, J., 2016. Evaluation of the relationship between the biosecurity status, production parameters, herd characteristicity and antimicrobial usage in farrow-to-finish pig production in four EU countries. *Porcine Health Management* 2(1).
112. Postma M., Vanderhaeghen W., Sarrazin S., Maes D. and Dewulf J., 2017. Reducing antimicrobial usage in pig production without jeopardizing production parameters. *Zoonoses and Public Health* 64(1):63-74.
113. Petrocchi-Rilo M., Gutiérrez-Martín C.B, Méndez-Hernández J.I, Rodríguez-Ferri E.F., Martínez-Martínez S., 2019. Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* isolates recovered from swine pneumonia in Spain throughout 2017 and 2018. *Veterinary and Animal Science* 7:100044.
114. Pham Kim, Dang, Claude Saegerman, Caroline Douny, Ton Vu Dinh, Bo Ha Xuan, Binh Dang Vu, Ngan Pham Hong and Marie-Louise Scippo, 2013. First survey on the use of antibiotics in pig and poultry production in the red river delta region of Vietnam. *Food and Public Health* 3(5):247-56.
115. Piñeiro C., Morales J., Rodríguez M., Aparicio M., Manzanilla E. G. and Koketsu Y., 2019. Big (pig) data and the internet of the swine things: A new paradigm in the industry. *Animal Frontiers* 9(2):6-15.
116. Pomorska-Mól M., Dors A., Kwit K., Kowalczyk A., Stasiak E. and Pejsak Z., 2017. Kinetic of single and dual infection of pigs with swine influenza virus and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Veterinary Microbiology* 201:113-120.
117. Prihandani S.S., Noor S.M., Wibawan I.W.T., Safika, Purba H.H.S., Sumirah and Kusumawati A., 2022. Polymerase chain reaction to confirm biochemically characterization method of *Pasteurella multocida* isolate from fatal cases of Septicaemia epizootica in Nusa Tenggara Timur. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 976(1):012-046.

118. Prüller S., Rensch U., Meemken D., Kaspar H., Kopp P.A., Klein G. and Kehrenberg C., 2015. Antimicrobial susceptibility of *Bordetella bronchiseptica* isolates from swine and companion animals and detection of resistance genes. *PLoS One* 10(8):e0135703.
119. Prüller S., Turni C., Blackall P.J., Beyerbach M., Klein G., Kreienbrock L., Strutzberg-Minder K., Kaspar H., Meemken D. and Kehrenberg C., 2017. Towards a standardized method for broth microdilution susceptibility testing of *Haemophilus parasuis*. *Journal of Clinical Microbiology* 55(1):264–273.
120. Phan Kim Thanh, Lý Thị Liên Khai, Huỳnh Văn Thâm., 2018. Khảo sát bệnh viêm phổi, màng phổi do vi khuẩn *Actinobacillus pleuropneumoniae* trên heo tại tỉnh Bến Tre. *Cần Thơ University Journal of Science* 54(4):54-63.
121. QĐ-TTg, 2023. "Quyết định số 1121/QĐ-TTg của Thủ tướng Chính phủ: Phê duyệt Chiến lược quốc gia về phòng, chống kháng thuốc tại Việt Nam giai đoạn 2023 - 2030, tầm nhìn đến năm 2045". <URL: <https://vanban.chinhphu.vn/>>.
122. Quinn P.J, Markey P.K., Leonard F.C, FitzPatrick E.S., Fanning S. and Hartigan P.J., 2011. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* Second edition. 2011. Oxford, Wiley-Blackwell. 912 pages.
123. Qin S., Ruan W., Yue H., Tang C., Zhou K. and Zhang B., 2018. Viral communities associated with porcine respiratory disease complex in intensive commercial farms in Sichuan province, China. *Scientific Reports* 8:13341.
124. Raasch S., Postma M., Dewulf J., Stärk K.D.C., and grosse Beilage E., 2018. Association between antimicrobial usage, biosecurity measures as well as farm performance in German farrow-to-finish farms. *Porcine Health Management* 4(1):30.
125. Raasch S., Collineau L., Postma M., Backhans A., Sjölund M., Belloc C., Emanuelson U., Beilage E.G., Stärk K. and Dewulf J., 2020. Effectiveness of alternative measures to reduce antimicrobial usage in pig production in four European countries. *Porcine Health Management* 6(1):6.
126. Register K.B and Brockmeier S.L., 2019. Pasteurellosis. In *Disease of Swine* 11th edition (Eds. Jeffrey J. Zimmerman Locke A. Karriker Alejandro Ramirez Kent J. Schwartz Gregory W. Stevenson Jianqiang Zhang). John Wiley & Sons, Inc., USA. pp 884- 897.
127. Román A.V., Lukešová D., Novák P., Žižlavský M., 2006. Biosecurity in pig breeding herds. *Journal of Agriculture and Rural Development* 39:120-3.
128. Ribbens S., Dewulf J., Koenen F., Mintiens K., De Sadeleer L., de Kruif A. and Maes D., 2008. A survey on biosecurity and management practices in Belgian pig herds. *Preventive Veterinary Medicine* 83(3-4):228-41.
129. Sabtu N., Enoch D.A. and Brown N.M., 2015. Antibiotic resistance: What, why, where, when and how?. *British Medical Bulletin* 116:105-13.
130. Sarli G., D'Annunzio G., Gobbo F., Benazzi C. and Ostanello F., 2021. The role of pathology in the diagnosis of swine respiratory disease. *Veterinary Sciences* 8:256.
131. Sassu E.L., Bossé J.T., Tobias T.J., Gottschalk M., Langford P.R. and Hennig-Pauka I., 2018.. Update on *Actinobacillus pleuropneumoniae* - knowledge, gaps and challenges. *Transboundary and Emerging Diseases* 65:72-90.

132. Schuwerk L., Hoeltig D., Waldmann K.H., Strutzberg-Minder K., Valentin-Weigand P. and Rohde J., 2020. Serotyping and pathotyping of *Glaesserella parasuis* isolated 2012–2019 in Germany comparing different PCR-based methods. *Veterinary Research* 51(1):137.
133. Sargeant J.M., Deb B., Bergevin M.D., Churchill K., Dawkins K., Dunn J., Hu D., Moody C., O'Connor M.A., O'Sullivan T.L., Reist M., Wang C., Wilhelm B. and Winder C.B., 2019. Efficacy of bacterial vaccines to prevent respiratory disease in swine: a systematic review and network meta-analysis. *Animal Health Research Reviews* 20:274-290.
134. Shuka J., Tesfaye S., Ababae B. and Abayineh T., 2022. Isolation, Identification and molecular characterization of *Pasteurella multocida* from cases of cattle from selected areas. *Journal of Vaccines Vaccin* 13(2):100047813.
135. Sidibe M., Messier S., Lariviere S., Gottschalk M. and Mittal K.R., 1993. Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the porcine upper respiratory tract as a complement to serological tests. *Canadian Journal of Veterinary Research* 57(3):204-85.
136. Siteavu M.I., Drugea R.I., Pitoiu E. and Ciobotaru-Pirvu E., 2023. Antimicrobial resistance of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis*, and *Pasteurella multocida* isolated from Romanian swine farms. *Microorganisms* 11(10):2410.
137. Silva G.F.R., Moreno L.Z., Matajira C.E.C., Silva A.P.S, Araújo K.M., Gomes V.T.M., Barbosa M.R.F, Sato M.I.Z. and Moreno A.M., 2022. Serotyping and antimicrobial susceptibility profiling of *Glaesserella parasuis* isolated from diseased swine in Brazil. *Pathogens* 11(12):1443.
138. Silva G.S., Corbellini L.G., Linhares D.L.C., Baker K.L. and Holtkamp D.J., 2018. Development and validation of a scoring system to assess the relative vulnerability of swine breeding herds to the introduction of PRRS virus. *Preventive Veterinary Medicine* 160:116-22.
139. Somogyi Z., Mag P., Simon R., Kerek Á., Makrai L., Biksi I. and Jerzsele Á. Susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Streptococcus suis* isolated from pigs in Hungary between 2018 and 2021. *Antibiotics* 12(8):1298.
140. Sunaga F., Tsuchiaka S., Kishimoto M., Aoki H., Kakinoki M., Kure K., Okumura H., Okumura M., Okumura A., Nagai M., Omatsu T. and Mizutani, T., 2020. Development of a one-run real-time PCR detection system for pathogens associated with porcine respiratory diseases. *Journal of Veterinary Medical Science* 82(2):217-223.
141. Stanton T.B., Humphrey S.B. and Stoffregen W.C., 2011. Chlortetracycline-resistant intestinal bacteria in organically raised and feral swine. *Applied and Environmental Microbiology* 77:7167-7170.
142. Stevens K.B., Gilbert J., Strachan W.D., Robertson J., Johnston A. M. and Pfeiffer D. U., 2007. Characteristics of commercial pig farms in Great Britain and their use of antimicrobials. *Veterinary Record* 161(2):45-52.
143. Sweeney M.T., Lubbers B.V., Schwarz S. and Watts J.L., 2018. Applying definitions for multidrug resistance, extensive drug resistance and pandrug resistance to

- clinically significant livestock and companion animal bacterial pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 73(6):1460-1463.
144. Sjölund M., Postma M., Collineau L., Lösken S., Backhans A., Belloc C., Emanuelson U., Beilage E.G., Stärk K. and Dewulf J., 2016. Quantitative and qualitative antimicrobial usage patterns in farrow-to-finish pig herds in Belgium, France, Germany and Sweden. *Preventive Veterinary Medicine* 130: 41-50.
  145. Tan S.Y., Khan R.A., Khalid K.E., Chong C.W. and Bakhtiar A., 2022. Correlation between antibiotic consumption and the occurrence of multidrug-resistant organisms in a Malaysian tertiary hospital: A 3-year observational study. *Scientific Reports* 12(1):3106.
  146. Tang X., Zhao Z., Hu J., Wu B., Cai X., He Q. and Chen H., 2009. Isolation, Antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China. *Journal of Clinical Microbiology* 47(4):951-8.
  147. Tantituvanon A., Yimprasert W., Werawatganone P. and Nilubol D., 2008. Pharmacokinetics of ceftiofur hydrochloride in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 63(2):369-373.
  148. Townsend K.M., Hanh T.X., O'Boyle D., Wilkie I., Phan T.T., Wijewardana T.G., Trung N.T. and Frost A.J., 2000. PCR detection and analysis of *Pasteurella multocida* from the tonsils of slaughtered pigs in Vietnam. *Veterinary Microbiology* 72(1-2):69-78.
  149. Townsend K.M., Frost A.J., Lee Ch.W., Papadimitriou J.M., Dawkins H.J., 1998. Development of PCR assays for species- and typespecific identification of *Pasteurella multocida* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. 36, 1096–1100.
  150. Trần Quốc Vĩ, Lê Thanh Hiền và Hồ Thị Kim Hoa. 2016. Đánh giá mức độ an toàn sinh học tại một số trang trại chăn nuôi heo ở vùng Đông Nam Bộ. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Chăn nuôi* 210:82-90.
  151. Trương Quang Lâm, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn Thị Huyền, 2018. Phân lập và xác định serotyp của các chủng vi khuẩn *Haemophilus parasuis* phân lập từ heo tại tỉnh Thanh Hóa, Hưng Yên và Hà Nam. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam* 16 (12): 1068-1078.
  152. Trương Quang Lâm, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Huyền, Hoàng Thị Phương, 2021. Nghiên cứu phân lập và xác định tính miễn cảm với kháng sinh của vi khuẩn *Haemophilus parasuis* được phân lập từ lợn nghi mắc bệnh tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa Học Kỹ Thuật Thú Y Tập XXVIII Số 3-2021*.
  153. Timmerman T., Dewulf J., Catry B., Feyen B., Opsomer G., Ad K. and Maes D., 2006. Quantification and evaluation of antimicrobial drug use in group treatments for fattening pigs in Belgium. *Preventive Veterinary Medicine* 74:251-63.
  154. Unchitti K., Wongsawang S., Saitanu K. and Thoongsuwan S., 1992. Characteristic of *Pasteurella multocida* isolated from humans, swine and poultry in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 23(3):520-523.



155. van Boeckel T.P., Brower C., Gilbert M., Grenfell B.T., Levin S.A., Robinson T.P., Teillant A. and Laxminarayan R., 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (18):5649-5654.
156. van Dixhoorn I.D.E., Reimert I., Middelkoop J., Bolhuis J.E., Wisselink H.J., Groot Koerkamp P.W.G., Kemp B. and Stockhofe-Zurwieden N., 2016. Enriched housing reduces disease susceptibility to co-infection with porcine reproductive and respiratory virus (PRRSV) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*) in young pigs. *PLOS ONE* 11 (9).
157. van der Fels-Klerx H., Puister-Jansen L., Van Asselt E. and Burgers S., 2011. Farm factors associated with the use of antibiotics in pig production. *Journal of Animal Science* 89:1922–1931.
158. van Rennings L., von Munchhausen C., Otilie H., Hartmann M., Merle R., Honscha W., Kasbohrer A. and Kreienbrock L., 2015. Cross-sectional study on antibiotic usage in pigs in Germany. *PLOS ONE* 10(3):e0119114.
159. Vanni M., Merenda M., Barigazzi G., Garbarino C., Luppi A., Tognetti R. and Intorre L., 2012. Antimicrobial resistance of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from swine. *Veterinary Microbiology* 156(1–2):172-177.
160. Vandeweerd J.M., Vandeweerd S., Gustin C., Keesmaecker G., Cambier C., Clegg P., 2012. Understanding veterinary practitioners' decision-making process: Implications for veterinary medical education. *Journal of Veterinary Medical Education* 39(2):142-151.
161. Visschers V.H.M., Iten D.M., Riklin A., Hartmann S., Sidler X. and Siegrist M., 2014. Swiss pig farmers' perception and usage of antibiotics during the fattening period. *Livestock Science* 162:223-232.
162. Wang J., Shi Z., and Xiangdong Hu X., 2023. Status, evaluation, and influencing factors of biosecurity levels in pig farms in China. *BMC Veterinary Research* 19:272-285.
163. World Health Organization, 2015. "Global action plan on antimicrobial resistance". <URL: <http://www.who.int>>
164. World Health Organization, 2023. "Antimicrobial resistance". <URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>>.
165. Wushouer H., Zhang Z.X., Wang J.H., Ji P., Zhu Q.F., Aishan R. and Shi L.W., 2018. Trends and relationship between antimicrobial resistance and antibiotic use in Xinjiang Uyghur Autonomous Region, China: Based on a 3 year surveillance data, 2014-2016. *Journal of Infect Public Health* 11(3):339-346.
166. Xiao G.S., Cao S.J., Duan L.L., Wen X.T., Ma X.P., Chen H.M, 2006. Identification and detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in infected and subclinically infected pigs by multiplex PCR based on the genes ApxIVA and OmlA. *Agricultural Sciences in China* 5: 146-154.
167. Xu C., Zhang J., Zhao Z., Guo L., Zhang B., Feng S., Zhang L., Liao M., 2011. Antimicrobial susceptibility and PFGE genotyping of *Haemophilus parasuis* isolates from pigs in South China (2008-2010). *Journal of Veterinary Medical Science* 73(8):1061-5.

168. Yang W., Pin C., Haibing G., Yang C., Hui L. and Qigai H., 2009. Loop-mediated isothermal amplification targeting the *apxIVA* gene for detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *FEMS Microbiology Letters* 300(1):83–89.
169. Yaeger M.J. and Alstine W.G., 2019. *Respiratory System*. In Diseases of Swine; Zimmerman, J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W., Zhang J., Eds.; Wiley: Hoboken, NJ, USA; 393–407.
170. Yue M., Yang F., Yang J., Bei W., Cai X., Chen L., Dong J., Zhou R., Jin M., Jin Q. and Chen, H., 2009. Complete genome sequence of *Haemophilus parasuis* SH0165. *Journal of Bacteriology* 191(4):1359–1360.
171. Zhang B., Ku X., Yu X., Sun Q., Wu H., Chen F., Zhang X., Guo L., Tang X., and He Q., 2019. Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacterial pathogens in Chinese pig farms from 2013 to 2017. *Scientific Reports* 9(1):9908.
172. Zhang J., Shen H., Liao M., Ren T., Guo L., Xu C., Feng S., Fan H., Li J., Chen J. and Zhang B., 2012. Detection of *Haemophilus parasuis* isolates from South China by loop-mediated isothermal amplification and isolate characterisation. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 79(1):1-6.
173. Zhang L., Zhao L., Liu Y., Liu J. and Li X., 2017. Pharmacokinetics of tilmicosin in healthy pigs and in pigs experimentally infected with *Haemophilus parasuis*. *Journal of Veterinary Science* 18(4):431- 437.
174. Zhao Z., Wang C., Xue Y., Tang X., Wu B., Cheng X., He Q. and Chen H., 2011. The occurrence of *Bordetella bronchiseptica* in pigs with clinical respiratory disease. *The Veterinary Journal* 188(3):337-340.
175. Zhao Y., Guo L., Li J., Huang X. and Fang B., 2018. Characterization of antimicrobial resistance genes in *Haemophilus parasuis* isolated from pigs in China. *PeerJ* 6:e4613.
176. Zhou X., Xu X., Zhao Y., Chen P., Zhang X., Chen H., and Cai X., 2010. Distribution of antimicrobial resistance among different serovars of *Haemophilus parasuis* isolates. *Veterinary Microbiology* 141(1–2):168-173.
177. Zimmerman, J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J and Stevenson G.W., 2012. *Diseases of swine*, 10th edition. Wiley-Blackwell, 1008 pages.
178. Zimmerman J.J, Karriker L.A., Ramirez A. Schwartz K.J., Stevenson G.W and Zhang J., 2019. *Diseases of Swine*, 11th Edition. Wiley-Blackwell, 1136 pages.