



ĐẶC ĐIỂM KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *STREPTOCOCCUS SUIS* PHÂN LẬP TỪ LỢN BẢN ĐỊA NUÔI TRÊN ĐỊA BÀN HUYỆN A LƯỚI, TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Nguyễn Văn Chào^{1,*}, Bùi Thị Hiền¹, Hồ Thị Dung¹, Lê Minh Đức¹, Vũ Thị Thanh Tâm²,
Phan Thị Hằng¹, Nguyễn Thị Hoa¹

¹ Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

² Viện nghiên cứu khoa học miền Trung, Bảo tàng Thiên nhiên, Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 321 Huỳnh Thúc Kháng, Huế, Việt Nam

* Tác giả liên hệ: Nguyễn Văn Chào <nvchao@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 12-9-2023; Ngày chấp nhận đăng: 7-1-2024)

Tóm tắt. *Streptococcus suis* (*S. suis*) là vi khuẩn Gram dương gây bệnh ở lợn và có thể lây sang người. Mục tiêu của nghiên cứu là xác định tỷ lệ nhiễm, đặc điểm kháng kháng sinh của *S. suis* phân lập được từ lợn bản địa ở A Lưới, Thừa Thiên Huế. *S. suis* được phân lập trên môi trường thạch máu, định danh bằng phương pháp PCR; kháng kháng sinh được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán trên thạch và gene kháng kháng sinh được phát hiện bằng phương pháp PCR. Kết quả cho thấy, có 41/123 (33,33%) con bị nhiễm *S. suis*. Tỷ lệ cao chủng *S. suis* nhạy cảm với streptomycin, neomycin, gentamicin và erythromycin; nhưng cũng có tỷ lệ cao đã kháng lại penicillin, amoxicillin, ampicillin và tetracycline. Mối tương quan chặt chẽ giữa tính kháng với amoxicillin và penicillin; tetracycline và penicillin; giữa tính nhạy cảm với enrofloxacin và tính kháng lại penicillin; giữa tính nhạy cảm với gentamicin và tính kháng với ampicillin của các chủng *S. suis* đã được phát hiện. Tỷ lệ cao các chủng *S. suis* mang gene *gyrA* và *parC* (75,61%), *Sul1* (70,73%), và *ermB* (29,27%). Có 92,68% số chủng *S. suis* kháng lại nhiều loại kháng sinh và 82,93% chủng mang nhiều gene kháng kháng sinh.

Từ khoá: *Streptococcus suis*, kháng kháng sinh, lợn bản địa, A Lưới

Characteristics of antimicrobial resistance of *streptococcus suis* isolated from local pigs in A Luoi district, Thua Thien Hue province

Nguyen Van Chao^{1,*}, Bui Thi Hien¹, Ho Thi Dung¹, Le Minh Đức¹, Vu Thi Thanh Tam², Phan Thi Hang¹, Nguyen Thi Hoa¹

¹ University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

² Mientrung Institute for Scientific Research, Vietnam National Museum of Nature, Vietnam Academy of Science and Technology, 321 Huynh Thuc Khang St., Hue, Vietnam

* Correspondence to Nguyen Van Chao <nvchao@hueuni.edu.vn>

(Submitted: September 12, 2023; Accepted: January 7, 2024)

Abstract. *Streptococcus suis* (*S. suis*) is a Gram-positive bacterium, a common cause of disease in pigs, and is a zoonotic pathogen. The objective of this study was to determine the infection rate, and antimicrobial resistance characteristics of *S. suis* isolated from local pigs in A Luoi district, Thua Thien Hue province. *S. suis* was isolated using on blood agar, and identified by PCR method; the antimicrobial resistance was assessed by disk diffusion method and the antimicrobial resistance genes were detected by PCR. The results showed that 33,33% of the samples were positive for *S. suis*. Most of *S. suis* isolates were susceptible to neomycin, gentamicin, and erythromycin; but resistant to penicillin, amoxicillin, ampicillin, and tetracycline. The results also showed that, amoxicillin and tetracycline resistance were significantly positively correlated with penicillin resistance; enrofloxacin and gentamicin were significantly negatively correlated with penicillin and ampicillin. A high percentage of *S. suis* isolates carried *gyrA* and *parC* genes (75.61%), *Sul1* (70.73%), and *ermB* (29.27%). There was 92.68% of *S. suis* isolates showed multidrug resistance and 82.93% of the isolates carried multiple antimicrobial resistance genes.

Keywords: *Streptococcus suis*, antimicrobial resistant, local pigs, A Luoi

1 Đặt vấn đề

Một số loài thuộc giống vi khuẩn *Streptococcus* gây ra các thể bệnh ở đường sinh dục, đường hô hấp, đường ruột, viêm hạch, nhiễm trùng huyết, viêm màng não ở lợn cai sữa và lợn vỗ béo, bệnh viêm khí quản, viêm phổi và bệnh viêm khớp ở lợn con [1]. Trong số các *Streptococcus* spp. có *Streptococcus suis* (*S. suis*) serotype 2 là tác nhân phổ biến nhất gây bệnh chung giữa người và động vật [2]. Vi khuẩn khu trú ở đường hô hấp trên của lợn có thể gây bệnh khi sức đề kháng của con vật giảm. Một số chủng có thể xuất hiện dưới dạng mầm bệnh cơ hội liên quan đến sự đồng nhiễm với các mầm bệnh là vi khuẩn hoặc virus, nhưng khi *S. suis* được phân lập từ mô nhiễm trùng thì nó được coi là mầm bệnh chính [3, 4]. Đối với những người thường xuyên tiếp xúc với lợn như người chăn nuôi, bác sỹ thú y, công nhân lò mổ và người ăn các sản phẩm từ thịt

lợn chưa được nấu chín sẽ có nguy cơ cao mắc phải *S. suis* độc lực cao. Trong đó, *S. suis* serotype 1/2, 1, 2 và 14 là nguyên nhân chính gây viêm màng não cấp ở người [5, 6].

Việc sử dụng các loại kháng sinh không hợp lý sẽ dẫn tới nhiều hậu quả nghiêm trọng như gia tăng tình trạng kháng thuốc, tồn dư thuốc, gây ô nhiễm môi trường [7]. Trong chăn nuôi, việc sử dụng nhiều loại thuốc khác nhau trong đó có kháng sinh là nguyên nhân thúc đẩy tình trạng kháng kháng sinh (KKS) của nhiều loài vi khuẩn gây bệnh [8, 9]. Đặc điểm KKS của *S. suis* cũng đã được nghiên cứu trên người và một số đối tượng khác [10]. Tỷ lệ kháng tetracycline và erythromycin của *S. suis* phân lập trên lợn đã được thông báo ở Đan Mạch (với tỷ lệ tương ứng là 52,2% và 29,1%), Anh (68,0% và 50,0%), Pháp (62,5% và 64,0%), Hà Lan (48,0% và 35,0%), Ba Lan (73,3% và 30,0%), Bồ Đào Nha (95,0% và 72,0%) [11]; Ý (90,0% và 78,0%) [12]; Trung Quốc (99,1% và 67,9%) [13], và Brazil (97,7% và 46,5%) [14]. *S. suis* cũng thể hiện tính đa kháng thuốc cao khi có đến 95,0% và 99,0% các chủng phân lập ở Hàn Quốc [15] và Brazil [14] đã kháng lại ít nhất ba loại kháng sinh khác nhau. *S. suis* phân lập tại Việt Nam cũng được ghi nhận kháng với nhiều loại kháng sinh. Năm 2008, 83,2% chủng *S. suis* phân lập từ người kháng tetracyclin, 30,2% chủng kháng erythromycin và 3,3% chủng kháng chloramphenicol [16]. Theo Hoa N. T. và cs. [17], tỷ lệ kháng thuốc của *S. suis* tăng dần theo từng năm, giai đoạn 1998–2003 có 80,8% chủng được phân lập trên người kháng tetracyclin, 2,5% số chủng kháng lại chloramphenicol, tuy nhiên, ở giai đoạn 2004–2008 tỷ lệ được xác định là cao hơn lần lượt là 99,0% và 13,0%. Tất cả (100%) các chủng *Streptococcus* spp. phân lập từ lợn nuôi trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế kháng lại hai loại kháng sinh penicillin và erythromycin và 72,09% số chủng kháng lại tetracycline [18].

Hiện nay, công tác bảo tồn và phát triển các giống lợn bản địa đang rất được quan tâm tại Việt Nam. A Lưới là huyện miền núi của tỉnh Thừa Thiên Huế có điều kiện khí hậu thời tiết phù hợp với mô hình nuôi lợn bản địa. Người dân ở A Lưới nuôi nhiều nhóm giống khác nhau như lợn Cỏ, lợn lai giữa Móng Cái và Yorkshire hay Landrace. Tuy nhiên, tỷ lệ lợn Cỏ, một giống lợn có nguồn gốc từ A Lưới, vẫn chiếm cao nhất, chiếm khoảng 58,69% [20]. Số lượng lợn trung bình là 6,3 con/hộ, trong đó số lượng lợn bản địa trung bình là 3,46 con/hộ. Hiện tại, một số hộ mở trang trại nuôi lợn bản địa với quy mô 30–50 con với mục đích là cung cấp thịt lợn đặc sản cho cộng đồng [19]. Phương thức chăn nuôi thả rông hoặc bán chăn thả nên việc vệ sinh, phòng dịch cho lợn chưa được chú trọng, tiêm phòng đạt tỷ lệ thấp. Hiện nay, các nghiên cứu về đánh giá mức độ KKS chưa được thực hiện thường xuyên và còn hạn chế về đối tượng vật nuôi, số lượng mẫu và kỹ thuật áp dụng. Đặc biệt, các nghiên cứu về việc sử dụng kháng sinh và khả năng KKS của vi khuẩn phân lập từ các giống lợn bản địa tại Việt Nam còn rất hạn chế. Từ đó cho thấy, nghiên cứu tỷ lệ nhiễm, khả năng kháng thuốc của *S. suis* phân lập từ lợn bản địa nuôi tại huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế sẽ cung cấp nhiều thông tin hữu ích cho việc hạn chế sự kháng thuốc của vi khuẩn; nâng cao hiệu quả điều trị các bệnh truyền lây chung giữa người và gia súc; đồng thời góp phần thực hiện các mục tiêu, chiến lược Quốc gia về bảo tồn, phát triển các giống bản địa và đa dạng sinh học.

2 Phương pháp

2.1 Phương pháp lấy mẫu

Mẫu từ dịch mũi được lấy từ lợn bản địa hiện đang nuôi tại nông hộ thuộc sáu xã của huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế, từ tháng 1 đến tháng 6 năm 2023. Tổng số 123 hộ có chăn nuôi lợn bản địa đã được chọn lấy mẫu, mỗi hộ lấy mẫu của 1 con lợn. Các mẫu phân bố theo nguyên tắc: ưu tiên lấy mẫu từ những con có triệu chứng (ho, khó thở, sốt cao, ...), số lượng mẫu lấy có sự phân bố đồng đều về tỷ lệ đực cái và độ tuổi (≤ 3 tháng và ≥ 3 tháng). Mẫu dịch mũi được lấy bằng tăm bông vô trùng, sau đó mẫu được bảo quản trong ống vô trùng và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong điều kiện 2–8 °C. Vi khuẩn được phân lập từ mẫu trong vòng 12 giờ sau khi lấy.

2.2 Phương pháp phân lập vi khuẩn

Vi khuẩn *S. suis* được phân lập theo mô tả của Baeck và cs. [20] và Renzhammer và cs. [21]. Mẫu được cấy trải trên môi trường Blood agar base (HiMedia, Ấn Độ) có bổ sung 5% máu cừu, các đĩa được ủ ở nhiệt độ 37 °C trong 16–24 giờ. Mỗi mẫu được chọn 1–3 khuẩn lạc có đặc điểm điển hình của *S. suis* (gây dung huyết kiểu alpha, trong, nhầy, đường kính 0,5–1 mm) để nuôi cấy thuần trên Tryptic soy agar (TSA, BD DifcoTM, BD Biosciences, Mỹ). Vi khuẩn được định danh bằng phương pháp nhuộm Gram và khuếch đại gene mã hóa cho glutamate dehydrogenase (*gdh*) bằng PCR theo mô tả của Okwumabua và cs. [22] để định danh những khuẩn lạc nghi ngờ là *S. suis*. Trình tự đoạn môi, kích thước sản phẩm và nhiệt độ bắt cặp được mô tả trong Bảng 1. Các chủng *S. suis* sau khi phân lập sẽ được cấy chuyển sang môi trường lòng BHI bổ sung 50% glycerol, bảo quản ở nhiệt độ -20 °C để lưu giữ.

2.3 Phương pháp đánh giá mức độ kháng kháng sinh

Mức độ KKS của các chủng vi khuẩn được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch theo mô tả của Bryan và cs. [23] và Bauer và cs. [24]. Các chủng vi khuẩn được nuôi tăng sinh trên môi trường BHI lỏng, sau 18–24 giờ ly tâm thu sinh khối; vi khuẩn được hòa trong nước sinh lý; mật độ tế bào được xác định bằng máy DensiCHEKTM Plus (ALT, Sandiago, Mỹ). Mật độ tế bào sử dụng cho thử nghiệm kháng sinh đồ tương đương 10^8 CFU/mL. Vi khuẩn được cấy trải trên môi trường Mueller hinton agar (MHA, Merck KGaA, Darmstadt, Đức). Sau đó, mỗi đĩa thạch được đặt các khoanh giấy kháng sinh (mỗi đĩa sáu khoanh). Tổng số 12 loại KKS (Nam Khoa Biotek, Bình Thạnh, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam) thuộc các nhóm β -lactam, aminoglycoside, glycopeptid, tetracyclin, fluoroquinolone, và macrolid đã được sử dụng (chi tiết tại Bảng 1). Kết quả được đọc sau 18 đến 24 giờ nuôi cấy ở 37 °C bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn. Kháng kháng sinh của các chủng *Streptococcus suis* được xác định ở các mức kháng, trung bình và nhạy cảm cho từng loại kháng sinh được mô tả ở Bảng 1.

Bảng 1. Tiêu chuẩn sử dụng để đánh giá KKS của *S. suis* cho từng loại kháng sinh

Kháng sinh	Lượng kháng sinh có trong một đĩa giấy	Tiêu chuẩn đánh giá các mức (mm)			Nguồn tham khảo
		Nhạy cảm	Trung bình	Kháng	
Ampicillin (AMP)	10 µg	≥ 24	23–17	≤ 16	CLSI 2020 for <i>Streptococcus pneumoniae</i> [25] [26] [27] <i>Streptococcus</i> Group B [28] Streptococci [29]
Amoxicillin (AM)	10 µg	≥ 20		≤ 19	
Penicillin G (PEN)	10 units	≥ 26	25–13	≤ 12	
Vancomycin (VAN)	30 µg	≥ 17	16–15	≤ 14	
Doxycycline (DOX)	30 µg	≥ 28	25–27	≤ 24	
Tetracycline (TET)	30 µg	≥ 28	25–27	≤ 24	
Erythromycin (ERY)	15 µg	≥ 21	16–20	≤ 15	
Gentamicin (GEN)	10 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	
Enrofloxacin (ENR)	5 µg	≥ 23	19–22	≤ 18	
Streptomycin (ST)		≥ 19	18	≤ 17	
Amikacin (AM)	30 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	
Neomycin (NEO)	30 µg	≥ 13		≤ 13	

2.4 Phương pháp tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số của các chủng *S. suis* được tách chiết bằng phương pháp sốc nhiệt theo mô tả của Dashti và cs. [30]. Cụ thể như sau, các chủng vi khuẩn được nuôi tăng sinh trong môi trường BHI, ở 37 °C trong 18 giờ, sau đó lấy 1 mL huyền phù vi khuẩn ly tâm rửa hai lần bằng nước sinh lý để thu sinh khối tế bào. Tế bào sẽ được tái huyền phù bằng 200 µL nước cất hai lần, hỗn hợp được đun cách thủy (100 °C) trong 10 phút, sau đó chuyển vào làm lạnh (0–4 °C) trong 15 phút. Hỗn hợp sau đó được ly tâm ở 10.000 rpm/5 phút. DNA tổng số được thu bằng cách hút dịch nổi sau ly tâm. Chất lượng DNA tổng số được xác định bằng điện di trong agarose gel 1,5%.

2.5 Phương pháp phát hiện gene kháng kháng sinh

Các gene *ermB*, *tetM*, *gyrA*, *parC*, *sul1* và *pbp2b* được phát hiện bằng phương pháp PCR đơn môi. Trình tự đoạn môi, kích thước sản phẩm và nhiệt độ bắt cặp được mô tả trong Bảng 2. Thành phần phản ứng được thực hiện theo mô tả của Tian và cs. [31] hỗn hợp phản ứng gồm 12,5 µL Super master mix 2X (Invitrogen, Mỹ), 1,0 µL mỗi môi, 1,0 µL DNA mẫu, và 9,5 µL of H₂O nuclease-free. Sản phẩm PCR được điện di trong 1,5% agarose gel, đọc và phân tích kết quả bằng hệ thống Gel Doc™ XR (Biorad, Mỹ).

Bảng 2. Trình tự đoạn mồi, kích thước sản phẩm, nhiệt độ bắt cặp sử dụng trong phản ứng PCR phát hiện gene kháng kháng sinh ở các chủng *Streptococcus suis*

Primer	Trình tự (5'---> 3')	Kích thước sản phẩm (bp)	Nhiệt độ bắt cặp mồi (°C)	Nguồn tham khảo
gdh-F	GCAGCGTATTCTGTCAAACG	688	55	[22]
gdh-R	CCATGGACAGATAAAGATGG			
ermB-F	GCGGATCCATGAACAAAAATATAAAAAT	751	50	[32]
ermB-R	GCGTCGACTTTCCTCCCGTTAAATAAT			
tetM-F	GTGGACAAAGGTACAACGAG	406	55	[33]
tetM-R	CGGTAAAGTTCGTCACACAC			
gyrA-F	CGATGTCGGTCATTGTTG	496	50,5	[34]
gyrA-R	ACTTCCGTCAGGTTGTGC			
parC-F	CTGAATGCCAGCGCAAAT	567	56	
parC-R	GCGCATACTGCACTGAACC			
Sul1-F	CATTGCCTGGTTGCTTCAT	238	50,5	
Sul1-R	ATCCGACTCGCAGCATTT			
pbp2b-F	GATCCTCTAAATGATTCTCAGGTGG	1500	50	[35]
pbp2b-R	CCATTAGCTTAGCAATAGGTGTTGG			

Ghi chú: *gdh*: Glutamate dehydrogenase, *ermB*: Encodes the ribosomal methylase, *tetM*: Tetracycline resistance genes, *gyrA*: Genes encoding DNA gyrase, *parC*: Genes encoding topoisomerase IV, *Sul1*: Sulfonamide resistant gene, *pbp2b*: Penicillin-binding proteins 2b.

2.6 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được nhập và xử lý thống kê mô tả trên phần mềm Microsoft Excel 2016 MSO (16.0.4266.1001). Sự sai khác về tỷ lệ nhiễm *S. suis*; tỷ lệ chủng vi khuẩn kháng với mỗi loại kháng sinh; tỷ lệ mang gene KKS giữa các nhóm được phân tích bằng phần mềm SPSS (IBM SPSS Statistics version 18.0, IBM, Armonk, NY, Mỹ). So sánh thống kê các tỷ lệ được phân tích bằng hàm Chi-square. Hàm Logistic hồi quy đa biến được áp dụng cho các biến đầu vào khi phân tích bằng hàm Chi-square có ý nghĩa thống kê. Khi so sánh các tỷ lệ được cho là sai khác có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$. So sánh cặp được sử dụng để đánh giá mối tương quan tính nhạy cảm hoặc kháng lại kháng sinh của các chủng *S. suis* theo từng cặp kháng sinh; tương quan được coi là chặt chẽ khi giá trị $p < 0,05$. Các chủng vi khuẩn kháng lại ít nhất hai loại kháng sinh được xác định là chủng đa kháng thuốc. Các chủng vi khuẩn mang ít nhất hai gene KKS được xác định là chủng mang đa gene KKS.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả phân lập *Streptococcus suis* từ lợn bản địa nuôi tại A Lưới, Thừa Thiên Huế

Mẫu dịch mũi của lợn bản địa nuôi trên địa bàn huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế được sử dụng để phân lập *S. suis* bằng môi trường thạch máu cừu, khuẩn lạc nghi ngờ được định danh bằng phương pháp PCR phát hiện gene *gdh*.

Kết quả phân lập vi khuẩn ở Bảng 3 cho thấy, có tổng số 41/123 (33,33%) mẫu dương tính với vi khuẩn *S. suis*. Trong đó tỷ lệ dương tính với *S. suis* của mẫu lấy từ lợn nuôi ở xã A Ngo là thấp nhất (21,05%), tiếp theo là xã Hồng Bắc (23,53%), và cao nhất là mẫu lấy từ xã Hồng Quảng (39,13%). Kết quả phân tích cũng cho thấy có sự sai khác về tỷ lệ mẫu dương tính giữa nhóm có triệu chứng (47,16%) và nhóm không có triệu chứng (22,86%); giữa nhóm mẫu lấy từ lợn nhỏ hơn ba tháng tuổi (44,07%) và nhóm lớn hơn ba tháng tuổi (23,44%). Trong khi đó, không có sự sai khác giữa nhóm lợn đực (36,51%) và nhóm lợn cái (30,00%). Kết quả nghiên cứu này tương đồng với kết quả của một số nghiên cứu trước đây, khi phân lập *S. suis* từ mẫu dịch mũi của lợn khu vực phía Nam cho thấy tỷ lệ mẫu dương tính là 40,9% [36; 37]. Khi phân tích hồi quy đa biến

Bảng 3. Tỷ lệ dương tính với vi khuẩn *S. suis* trên mẫu lấy từ lợn bản địa nuôi tại A Lưới

Chỉ tiêu	Số mẫu (mẫu)	Số mẫu dương tính (mẫu)	Tỷ lệ (%)
Tổng	123	41	33,33
<i>Theo địa điểm nghiên cứu</i>			
Thị trấn A Lưới	27	10	37,04
Xã Hồng Quảng	23	9	39,13
Xã Hồng Kim	21	8	38,1
Xã A Ngo	19	4	21,05
Xã Bắc Sơn	16	6	37,5
Xã Hồng Bắc	17	4	23,53
<i>Theo giới tính</i>			
Đực	63	23	36,51
Cái	60	18	30
<i>Theo triệu chứng</i>			
Có	53	25	47,16 ^a
Không	70	16	22,86 ^b
<i>Theo tuổi</i>			
≤ 3 tháng tuổi	59	26	44,07 ^a
> 3 tháng tuổi	64	15	23,44 ^b

Ghi chú: các chữ a, b khác nhau trong cùng một nhóm thể hiện có sự sai khác thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 4. Phân tích hồi quy đa biến của triệu chứng và tuổi của lợn liên quan đến tỷ lệ nhiễm *S. suis*

Yếu tố ảnh hưởng	Hệ số hồi quy	Sai số chuẩn	Giá trị p	OR (95% CI)
Triệu chứng	1,02	0,40	0,012	2,76 (1,25 – 6,09)
Tuổi	0,84	0,41	0,039	2,32 (1,05 – 5,14)
α	-1,61	0,36	0,0001	

cũng cho thấy ảnh hưởng tương tác của triệu chứng và tuổi của lợn đến lệ nhiễm *S. suis* ($p < 0,0001$); trong đó triệu chứng (hệ số hồi quy = 1,02) là yếu tố ảnh hưởng lớn hơn yếu tố tuổi (hệ số hồi quy = 0,84) (chi tiết tại Bảng 4).

3.2 Kết quả đánh giá mức độ kháng kháng sinh của *Streptococcus suis*

Kết quả đánh giá mức độ KKS của các chủng *S. suis* phân lập được từ lợn bản địa nuôi trên địa bàn huyện A Lưới được trình bày ở Bảng 5. Kết quả cho thấy, tỷ lệ cao số chủng vẫn còn nhạy cảm với nhiều loại kháng sinh ST (65,85%), NEO (63,41%), GEN và ERY (60,98%), ENR(56,10%) và VAN (51,22%). Ngược lại, các chủng *S. suis* có tỷ lệ kháng cao với các loại kháng sinh nhóm β -lactam như PEN (75,61%), AM (65,85%), và AMP (51,22%); và TET (65,85%). Các nghiên cứu trước đây đều cho thấy tỷ lệ cao các chủng *Streptococcus* sp. phân lập từ lợn ở Thừa Thiên Huế kháng lại các loại kháng sinh PEN (100%), ERY (100%), và TET (72,09%) [38]; oxytetracycline (60,0%), linezolid (40,0%) [39]; phân lập từ lợn ở Quảng Ngãi kháng lại oxacillin (96,97%), linezolid (72,73%) và cephalexin (69,70%) [40]. Nghiên cứu khác ở Thái Lan cho thấy *S. suis* có tỷ

Bảng 5. Mức độ kháng kháng sinh của *Streptococcus suis*

Nhóm kháng sinh	Kháng sinh	Kháng		Trung bình		Nhạy cảm	
		Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
β -lactam	AM	27	65,85	0	0	14	34,15
	AMP	21	51,22	17	41,5	3	7,32
	PEN	31	75,61	1	2,44	9	21,95
Aminoglycosides	AK	15	36,59	16	39	10	24,39
	ST	9	21,95	5	12,2	27	65,85
	NEO	15	36,59	0	0	26	63,41
	GEN	16	39,02	0	0	25	60,98
Tetracycline	DOX	16	39,02	10	24,4	15	36,59
	TET	27	65,85	9	22	5	12,2
Glycopeptide	VAN	20	48,78	0	0	21	51,22
Fluoroquinolone	ENR	8	19,51	10	24,4	23	56,1
Macrolide	ERY	10	24,39	6	14,6	25	60,98

lệ kháng cao với các kháng sinh nhóm tetracycline như TET (99,2%), oxytetracycline (96,3%) và chlortetracycline (95,5%) và nhóm macrolide như ERY (97,2%) và azithromycin (96,3%). Đây là những loại kháng sinh được sử dụng chung cả ở người và động vật, việc này có khả năng làm gia tăng tình trạng kháng thuốc ở những vi khuẩn gây bệnh chung [41]. Kết quả nghiên cứu của Coyne và cs. [41] cho thấy, các loại kháng sinh thường được chọn để điều trị bệnh do *S. suis* gây ra như các β -lactams (AM, AMP, ceftiofur, ceftriaxone và PEN) [42] đã bị phần lớn các chủng phân lập được kháng lại.

3.3 Phân tích mối tương quan của tình trạng nhạy cảm giữa các kháng sinh ở *S. suis*

Kết quả phân tích tương quan từng cặp kháng sinh cho thấy mối tương quan khác nhau giữa tình trạng nhạy cảm hoặc kháng với các loại kháng sinh khác của *S. suis* (chi tiết tại Bảng 6). Kết quả ở Bảng 6 cho thấy, các mối tương chặt chẽ giữa tính kháng với AM và PEN (CP = 0,67; $p < 0,001$); giữa tính nhạy cảm của NEO và GEN (CP = 0,47; $p < 0,01$); giữa ENR với NEO (CP = 0,52; $p < 0,001$); và với DOX (CP = 0,49; $p < 0,001$) của *S. suis*; mối tương quan giữa sự nhạy cảm với ENR và tính kháng PEN (CP = -0,44, $p < 0,05$); giữa tính nhạy cảm với GEN và tính kháng lại AMP (CP = -0,32; $p < 0,05$) và giữa tính nhạy cảm với ERY và tính kháng lại NEO (CP = -0,31; $p < 0,05$) của các chủng *S. suis*. Kết quả nghiên cứu này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Lunha và cs. [43], khi phân tích mối tương quan mức độ nhạy cảm/kháng của từng cặp kháng sinh cũng phát hiện ra mối tương quan chặt chẽ giữa tình trạng nhạy cảm với AMP và PEN,

Bảng 6. Mối tương quan theo cặp giữa tình trạng nhạy cảm/kháng với kháng sinh của các chủng *S. suis*

	AM												
AM	1	AMP											
AMP	0,02	1	PEN										
PEN	0,67***	0,01	1	AK									
AK	0,23	-0,27	0,20	1	NEO								
NEO	0,01	0,23	-0,16	0,26	1	GEN							
GEN	0,47**	-0,32*	0,34*	0,33*	0,33*	1	DOX						
DOX	-0,27	0,18	-0,24	-0,19	0,22	-0,13	1	TET					
TET	0,24	0,22	0,31*	-0,09	-0,09	0,05	0,15	1	VAN				
VAN	0,19	0,17	0,10	0,27	0,37*	0,12	0,02	0,09	1	ENR			
ENR	-0,29	0,36*	-0,44**	-0,12	0,52***	-0,14	0,49**	-0,03	0,14	1	ERY		
ERY	0,05	-0,01	0,06	-0,08	-0,31*	0,01	0,01	0,41	0,01**	-0,14	1	ST	
ST	-0,24	0,05	-0,25	-0,04	0,33*	0,18	0,18	-0,24	0,07	0,48**	-0,03	1	

Ghi chú: Mối tương quan chặt chẽ được biểu thị bằng dấu hoa thị (***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$).

cefotaxime, ceftiofur và cefuroxime với giá trị CP lần lượt là 0,60, 0,54, 0,52, và 0,40 ($p < 0,001$). Liệu pháp kết hợp kháng sinh với các phương thức tác dụng khác nhau là cách tiếp cận hiệu quả hơn nhiều để chống tình trạng đa kháng thuốc và ngăn ngừa sự xuất hiện của tình trạng kháng thuốc do dùng đơn một loại kháng sinh [44]. Sự kết hợp giữa các beta-lactam với GEN, cho thấy tác dụng hiệp đồng mạnh mẽ chống lại nhiễm trùng do *Streptococcus pneumoniae* [45]. Ngoài ra, tác dụng hiệp đồng rõ khi phối hợp AMP với apramycin và tiamulin với spectinomycin, để điều trị nhiễm trùng *S. suis* [46]. Trong nghiên cứu này, mối tương quan nghịch giữa ENR với PEN và giữa GEN với AMP; đây là mối quan hệ giữa kháng sinh ức chế tổng hợp thành tế bào (PEN và AMP) và kháng sinh ức chế sinh tổng hợp protein (GEN và ENR). Từ kết quả trên cho thấy, tính nhạy cảm với ST và ENR; DOX và ENR, ERY và VAN của *S. suis* nên được áp dụng trong điều trị nhiễm trùng *S. suis* ở địa bàn đã lấy mẫu. Ngược lại, không nên phối hợp giữa PEN với ENR; giữa AM với GEN, giữa ERY với NEO điều trị nhiễm trùng do *S. suis* gây nên, do tính nhạy cảm của thuốc này sẽ làm tăng tính kháng của thuốc tương ứng.

3.3 Kết quả phân tích gene kháng kháng sinh của *Streptococcus suis*

Tổng số 41 chủng *S. suis* phân lập đã được sử dụng phân tích các gene quy định tính kháng lại kháng sinh đại diện cho các nhóm: β -lactam (*pbp2b*), fluroquinolone (*gyrA* và *parC*), macrolide (*ermB*), sulfonamide (*Sul1*) và tetracycline (*tetM*). Kết quả ở Bảng 7 cho thấy, tỷ lệ cao các chủng *S. suis* mang gene *gyrA* và *parC* (75,61%), gene *Sul1* (70,73%) và gene *ermB* (29,27%), trong khi đó chỉ có 4,88% chủng mang gene *tetM* và không chủng nào mang gene *pbp2b*. Gene *gyrA* và *parC* là hai gene quy định tính kháng lại các fluroquinolone thông qua thay đổi hoạt động của enzym topoisomerase [47]. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra mối tương quan giữa kiểu hình kháng một số kháng sinh nhóm fluroquinolone (ENR, norfloxacin và ciprofloxacin) với sự có mặt của các gene *gyrA* và *parC* [48; 49]. Trong nghiên cứu này, mặc dù tỷ lệ mang gene *gyrA* và *parC* (75,61%) khá cao nhưng tỷ lệ chủng kháng lại ENR chỉ là 19,51%. Chính vì vậy, cần sử dụng các kháng sinh nhóm fluroquinolone một cách thận trọng để giảm tốc độ gia tăng tính kháng lại kháng sinh nhóm này. Mức độ kháng lại kháng sinh ERY được quy định bởi gene *ermB*, những nghiên cứu trước đây cũng cho thấy có 93% chủng kháng ERY có mang gene *ermB* [50]. Các chủng

Bảng 7. Tần số mang gene kháng kháng sinh của *Streptococcus suis* (n = 41)

Gene kháng kháng sinh	Số chủng mang gene (chủng)	Tỷ lệ (%)
<i>ermB</i>	12	29,27
<i>tetM</i>	2	4,88
<i>gyrA</i>	31	75,61
<i>Sul1</i>	29	70,73
<i>parC</i>	31	75,61
<i>pbp2b</i>	0	0

được phân lập ở Việt Nam cũng có tỷ lệ cao mang gene này [51], các chủng phân lập từ lợn nuôi ở Hồng Kông [52], Thái Lan [53] cũng cho kết quả tương tự. Trong nghiên cứu này, có sự tương đồng tỷ lệ mang gene *ermB* (29,27%) với tỷ lệ kháng lại ERY (24,39%). Kết quả của nghiên cứu này cũng cho thấy không có chủng nào mang gene *pbp2b* trong khi đó có tỷ lệ cao các chủng *S. suis* phân lập được kháng lại kháng sinh nhóm β -lactam như AM (65,85%), AMP (51,22%) và PEN (75,61%). Như vậy, mức độ kháng các kháng sinh nhóm β -lactam có thể được quy định bởi gene khác ngoài *pbp2b* như *pbp2a*, *pbp1a*, *pbp2x* hoặc *blaROB-1* như các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra [54].

3.4 Kết quả mức độ đa kháng thuốc và mang đa gene kháng kháng sinh của *Streptococcus suis*

Mức độ đa KKS và mang đa gene KKS của 41 chủng *S. suis* phân lập từ lợn bản địa nuôi ở A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế được trình bày ở Bảng 8. Kết quả cho thấy, chỉ có một chủng duy nhất không kháng với bất kỳ loại kháng sinh nào, và hai chủng kháng lại chỉ một loại kháng sinh, còn có đến 92,68% kháng lại ít nhất từ ba đến chín loại kháng sinh. Trong đó có 1 chủng kháng lại tới 10 loại kháng sinh cùng lúc, phổ biến nhất là số chủng kháng lại từ 3 đến 6 loại kháng sinh.

Bảng 8. Mức độ đa kháng thuốc và mang đa gene kháng kháng sinh của của *Streptococcus suis*

Số loại kháng sinh hoặc gene kháng kháng sinh	Kiểu hình kháng kháng sinh		Kiểu gene kháng kháng sinh	
	Số chủng	Tỷ lệ tích lũy (%)	Số chủng mang gene	Tỷ lệ tích lũy (%)
0	1	100	2	100
1	2	97,56	5	95,12
2	0	92,68	9	82,93
3	6	92,68	18	60,98
4	7	78,05	7	17,07
5	4	60,98	0	0
6	9	51,22		
7	7	29,27		
8	2	12,2		
9	2	7,32		
10	1	2,44		

4 Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, có 33,33% mẫu lấy từ lợn bản địa nuôi tại A Lưới, Thừa Thiên Huế dương tính với *S. suis*; tỷ lệ nhiễm *S. suis* giữa nhóm có triệu chứng (47,16%) cao hơn nhóm không có triệu chứng (22,86%), nhóm lợn dưới ba tháng tuổi (44,07%) cao hơn nhóm lợn trên ba tháng tuổi (23,44%). Các chủng *S. suis* đã kháng lại PEN, AM, AMP và TET; nhưng vẫn còn nhạy cảm với NEO, GEN, ERY, ENR và VAN. Nghiên cứu cũng phát hiện mối tương quan kiểu hình kháng thuốc ở các chủng *S. suis* giữa một số loại kháng sinh. *S. suis* mang gene *gyrA* và *parC* (75,61%), gene *Sul1* (70,73%) và gene *ermB* (29,27%); chỉ có 4,88% chủng mang gene *tetM* và không chủng nào mang gene *pbp2b*. Tỷ lệ cao các chủng thể hiện tính đa kháng thuốc (92,68%) và mang đa gene KKS (82,93%). Do đó, cần có các giải pháp nhằm hạn chế sự lây nhiễm *S. suis* từ lợn sang người, đồng thời hạn chế sử dụng các kháng sinh mà vi khuẩn này đã kháng lại. Hơn nữa, cần hạn chế sử dụng các loại kháng sinh có hiện tượng kháng chéo mà nghiên cứu này đã chỉ ra. Nên sử dụng phối hợp giữa ST và ENR; DOX và ENR, ERY và VAN để tăng hiệu quả điều trị nhiễm trùng do *S. suis* gây nên.

Thông tin tài trợ

Nghiên cứu được hỗ trợ tài chính từ Đề tài Nghiên cứu Khoa học của Đại Học Huế, mã số DHH2023-02-176.

Tài liệu tham khảo

1. Staats, J. J., Feder, I., Okwumabua, O., Chengappa, M. M. (1997), *Streptococcus suis*: past and present, *Vet. Res. Commun*, 21(6), 381–407.
2. Gottschalk, M., Segura, M., Xu, J. (2007), *Streptococcus suis* infections in humans: the Chinese experience and the situation in North America, *Anim Health Res Rev*, 8(1), 29–45.
3. Estrada, A. A., Gottschalk, M., Rossow, S., Rendahl, A., Gebhart, C., Marthaler, D. G. (2019), Serotype and Genotype (Multilocus Sequence Type) of *Streptococcus suis* Isolates from the United States Serve as Predictors of Pathotype, *Journal Clinical Microbiology*, 57(9).
4. Weinert, L. A., Chaudhuri, R. R., Wang, J., Peters, S. E., Corander, J., Jombart, T., Baig, A., Howell, K. J., Vehkala, M., Välimäki, N., Harris, D., Chieu, T. T., Van Vinh Chau, N., Campbell, J., Schultsz, C., Parkhill, J., Bentley, S. D., Langford, P. R., Rycroft, A. N., Wren, B. W., Farrar, J., Baker, S., Hoa, N. T., Holden, M. T., Tucker, A. W., Maskell, D. J. (2015), Genomic signatures of human and animal disease in the zoonotic pathogen *Streptococcus suis*, *Nature Communications*, 6, 6740.
5. Scherrer, S., Rademacher, F., Spoerry Serrano, N., Schrenzel, J., Gottschalk, M., Stephan, R., Landolt, P. (2020), Rapid high resolution melting assay to differentiate *Streptococcus suis* serotypes 2, 1/2, 1, and 14, *MicrobiologyOpen*, 9(4), e995.

6. Wertheim, H. F. L., Nguyen, H. N., Taylor, W., Lien, T. T. M., Ngo, H. T., Nguyen, T. Q., Nguyen, B. N. T., Nguyen, H. H., Nguyen, H. M., Nguyen, C. T., Dao, T. T., Nguyen, T. V., Fox, A., Farrar, J., Schultsz, C., Nguyen, H. D., Nguyen, K. V., Horby, P. (2009), *Streptococcus suis*, an Important Cause of Adult Bacterial Meningitis in Northern Vietnam, *PLoS One*, 4(6), e5973.
7. Dương Thị Toàn, Nguyễn Văn Lưu (2015), Tình hình sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi lợn thịt, gà thịt ở một số trang trại chăn nuôi trên địa bàn tỉnh Bắc Giang, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13(5), 717–722.
8. Holmer, I., Salomonsen, C. M., Jorsal, S. E., Astrup, L. B., Jensen, V. F., Høg, B. B., Pedersen, K. (2019), Antibiotic resistance in porcine pathogenic bacteria and relation to antibiotic usage, *BMC Vet Res*, 15(1), 449.
9. Zhang, Y., Zhou, J., Dong, Z., Li, G., Wang, J., Li, Y., Wan, D., Yang, H., Yin, Y. (2019), Effect of Dietary Copper on Intestinal Microbiota and Antimicrobial Resistance Profiles of *Escherichia coli* in Weaned Piglets, *Frontiers in Microbiology*, 10.
10. Nosik, A. G., Phạm Khắc Linh, Vũ Hoàng Giang, Vũ Thị Loan, Dmitriev, A. V., Ilyasov, IU. IU (2017), Nghiên cứu độ nhạy cảm kháng sinh của các chủng *Streptococcus* nhóm a, c, g phân lập từ nhầy họng học sinh tiểu học giai đoạn 2012-2015, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ nhiệt đới*, 13(11), 50–58.
11. Hendriksen, R. S., Mevius, D. J., Schroeter, A., Teale, C., Jouy, E., Butaye, P., Franco, A., Utinane, A., Amado, A., Moreno, M. (2008), Occurrence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens and indicator bacteria in pigs in different European countries from year 2002–2004: the ARBAO-II study, *Acta Vet Scand*, 50(1), 1–10.
12. Princivalli, M., Palmieri, C., Magi, G., Vignaroli, C., Manzin, A., Camporese, A., Barocci, S., Magistrali, C., Facinelli, B. (2009), Genetic diversity of *Streptococcus suis* clinical isolates from pigs and humans in Italy (2003-2007), *Eurosurveillance*, 14(33), 19310.
13. Chen, L., Song, Y., Wei, Z., He, H., Zhang, A., Jin, M. (2012), Antimicrobial susceptibility, tetracycline and erythromycin resistance genes, and multilocus sequence typing of *Streptococcus suis* isolates from diseased pigs in China, *J Vet Med Sci*, 12–0279.
14. Soares, T. C. S., Paes, A. C., Megid, J., Ribolla, P. E. M., Paduan, K. d. S., Gottschalk, M. (2014), Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from clinically healthy swine in Brazil, *Can J Vet Res*, 78(2), 145–149.
15. Gurung, M., Tamang, M. D., Moon, D. C., Kim, S. -R., Jeong, J. -H., Jang, G. -C., Jung, S. -C., Park, Y.-H., Lim, S. -K. (2015), Molecular basis of resistance to selected antimicrobial agents in the emerging zoonotic pathogen *Streptococcus suis*, *J Clin Microbiol*, 53(7), 2332–2336.
16. Mai, N. T., Hoa, N. T., Nga, T. V., Linh Le, D., Chau, T. T., Sinh, D. X., Phu, N. H., Chuong, L. V., Diep, T. S., Campbell, J., Nghia, H. D., Minh, T. N., Chau, N. V., De Jong, M. D., Chinh,

- N. T., Hien, T. T., Farrar, J., Schultsz, C. (2008), *Streptococcus suis* meningitis in adults in Vietnam, *Clin Infect Dis*, 46(5), 659–667.
17. Hoa, N. T., Chieu, T. T., Nghia, H. D., Mai, N. T., Anh, P. H., Wolbers, M., Baker, S., Campbell, J. I., Chau, N. V., Hien, T. T., Farrar, J., Schultsz, C. (2011), The antimicrobial resistance patterns and associated determinants in *Streptococcus suis* isolated from humans in southern Vietnam, 1997–2008, *BMC Infect Dis*, 11, 6.
 18. Bùi Thị Hiền, Võ Thị Minh Tâm, Hồ Trung Thông, Hồ Lê Quỳnh Châu (2016), Sự lưu hành của liên cầu khuẩn lợn (*Streptococcus suis*) trên một số địa bàn thuộc tỉnh thừa thiên huế trong vụ xuân - hè năm 2015, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, XXIII(2), 12–17.
 19. Phạm Sỹ Tiếp, Phan Thị Phi Phương (2017), Nghiên cứu nâng cao năng suất và sử dụng có hiệu quả nguồn gen lợn Cỏ và lợn Mẹo, Chương trình Khai thác và phát triển nguồn gen, Viện Chăn nuôi.
 20. Baeck, G. W., Kim, J. H., Gomez, D. K., Park, S. C. (2006), Isolation and characterization of *Streptococcus* sp. from diseased flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju Island, *J. Vet. Sci.*, 7(1), 53–58.
 21. Renzhammer, R., Loncaric, I., Ladstätter, M., Piniör, B., Roch, F. F., Spersger, J., Ladinig, A., Unterweger, C. (2020), Detection of Various *Streptococcus* spp. and Their Antimicrobial Resistance Patterns in Clinical Specimens from Austrian Swine Stocks, *Antibiotics (Basel)*, 9(12).
 22. Okwumabua, O., O'Connor, M., Shull, E. (2003), A polymerase chain reaction (PCR) assay specific for *Streptococcus suis* based on the gene encoding the glutamate dehydrogenase, *FEMS Microbiol Lett*, 218(1), 79–84.
 23. Bryan, M., Finola, L., Marie, A., Ann, C., Dores, M. (1994), *Clinical Veterinary Microbiology*, Mosby-Year Book Europe Limited, Wolfe publishing.
 24. Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., Turck, M. (1966), Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, *Am. J. Clin. Pathol.*, 45(4), 493–496.
 25. CLSI, (2020), *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, 30th ed., CLSI
 26. Soares, T. C. S., Paes, A. C., Megid, J., Ribolla, P. E., Paduan Kdos, S., Gottschalk, M. (2014), Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from clinically healthy swine in Brazil, *Can J Vet Res*, 78(2), 145–149.
 27. SFM, (2022), Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, V.1.0 Mai. In: CA-SFM / EUCAST: French Society of Microbiology Ed., Société Française de Microbiologie Ed, 93. https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2022/05/CASFM2022_V1.0.pdf.

28. Hays, C., Louis, M., Plainvert, C., Dmytruk, N., Touak, G., Trieu-Cuot, P., Poyart, C., Tazi, A. (2016), Changing Epidemiology of Group B Streptococcus Susceptibility to Fluoroquinolones and Aminoglycosides in France, *Antimicrob Agents Chemother*, 60(12), 7424–7430.
29. UK-VARSS (2022), Methodology susceptibility testing, Supplementary Material 1 (UK-VARSS 2021), New Haw, Addlestone: Veterinary Medicines Directorate, https://assets.publishing.service.gov.uk/media/63a420038fa8f539169b1d92/TP_08.11.22_FOR_PUBLICATION_-_UK-VARSS_2021_Supplementary_Material_1-accessible.pdf.
30. Dashti, A. A., Jadaon, M. M., Abdulsamad, A. M., Dashti, H. M. (2009), Heat Treatment of Bacteria: A Simple Method of DNA Extraction for Molecular Techniques, *Kuwait Med J*, 46(2), 117–122.
31. Tian, X. Y., Zheng, N., Han, R. W., Ho, H., Wang, J., Wang, Y. T., Wang, S. Q., Li, H. G., Liu, H. W., Yu, Z. N. (2019), Antimicrobial resistance and virulence genes of *Streptococcus* isolated from dairy cows with mastitis in China, *Microb Pathog*, 131, 33–39.
32. Gao, J., Yu, F. Q., Luo, L. P., He, J. Z., Hou, R. G., Zhang, H. Q., Li, S. M., Su, J. L., Han, B. (2012), Antibiotic resistance of *Streptococcus agalactiae* from cows with mastitis, *Vet. J*, 194(3), 423–424.
33. Malhotra-Kumar, S., Lammens, C., Piessens, J., Goossens, H. (2005), Multiplex PCR for simultaneous detection of macrolide and tetracycline resistance determinants in streptococci, *Antimicrob Agents Chemother*, 49(11), 4798–4800.
34. Schmitt-Van de Leemput, E., Zadoks, R. N. (2007), Genotypic and phenotypic detection of macrolide and lincosamide resistance in *Streptococcus uberis*, *J. Dairy Sci.*, 90(11), 5089–5096.
35. Ding, Y., Zhao, J., He, X., Li, M., Guan, H., Zhang, Z., Li, P. (2016), Antimicrobial resistance and virulence-related genes of *Streptococcus* obtained from dairy cows with mastitis in Inner Mongolia, China, *Pharm. Biol*, 54(1), 162–167.
36. Hoa, N. T., Chieu, T. T. B., Nga, T. T. T., Dung, N. V., Campbell, J., Anh, P. H., Huu Tho, H., Van Vinh Chau, N., Bryant, J. E., Hien, T. T., Farrar, J., Schultsz, C. (2011), Slaughterhouse Pigs Are a Major Reservoir of *Streptococcus suis* Serotype 2 Capable of Causing Human Infection in Southern Vietnam, *PLoS One*, 6(3), e17943.
37. Hoa, N. T., Chieu, T. T. B., Nghia, H. D. T., Mai, N. T. H., Anh, P. H., Wolbers, M., Baker, S., Campbell, J. I., Chau, N. V. V., Hien, T. T., Farrar, J., Schultsz, C. (2011), The antimicrobial resistance patterns and associated determinants in *Streptococcus suis* isolated from humans in southern Vietnam, 1997-2008, *BMC Infect Dis*, 11(1), 6.
38. Bùi Thị Hiền, Hồ Lê Quỳnh Châu, Hồ Trung Thông, Hòa, N. X. (2017), Sự lưu hành và mức độ kháng kháng sinh của liên cầu khuẩn (*Streptococcus* spp.) ở lợn nuôi trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế vụ đông năm 2015, *Tạp chí Khoa học – Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 126(3A), 5–12.

39. Nguyễn Thị Quỳnh Anh, Nguyễn Văn Chèo, Trần Thị Na, Lê Minh Đức, Bích B. N. (2022), Sự lưu hành và mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn *Streptococcus* spp. phân lập từ lợn nuôi ở thị xã Hương Trà, tỉnh Thừa Thiên Huế, *Tạp Chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Trường Đại học Nông Lâm Huế*, 6(2), 2936–2943.
40. Nguyễn Văn Chèo, Nguyễn Xuân Hoà, Lê Văn Phước (2023), Mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và *Streptococcus* sp. phân lập từ lợn nuôi ở huyện Sơn Tịnh, tỉnh Quảng Ngãi, *Tạp Chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Trường Đại học Nông Lâm Huế*, 7(2), 3626–3637.
41. Coyne, L., Arief, R., Benigno, C., Giang, V. N., Huong, L. Q., Jeamsripong, S., Kalpravidh, W., McGrane, J., Padungtod, P., Patrick, I., Schoonman, L., Setyawan, E., Harja Sukarno, A., Srisamran, J., Ngoc, P. T., Rushton, J. (2019), Characterizing Antimicrobial Use in the Livestock Sector in Three South East Asian Countries (Indonesia, Thailand, and Vietnam), *Antibiotics*, 8(1), 33.
42. Segura, M., Aragon, V., Brockmeier, S. L., Gebhart, C., Greeff, A. d., Kerdsin, A., O’Dea, M. A., Okura, M., Saléry, M., Schultsz, C. (2020), Update on *Streptococcus suis* Research and Prevention in the Era of Antimicrobial Restriction: 4th International Workshop on *S. suis*, *Pathogens*, 9(5), 2–39.
43. Lunha, K., Chumpol, W., Samngamnim, S., Jiemsup, S., Assavacheep, P., Yongkiettrakul, S. (2022), Antimicrobial Susceptibility of *Streptococcus suis* Isolated from Diseased Pigs in Thailand, 2018-2020, *Antibiotics (Basel)*, 11(3).
44. Dai, C., Zhao, T., Yang, X., Xiao, X., Velkov, T., Tang, S. (2017), Pharmacokinetics and relative bioavailability of an oral amoxicillin-apramycin combination in pigs, *PLoS One*, 12(4), e0176149.
45. Tateda, K., Matsumoto T., Miyazaki S., Yamaguchi K. (1999), Efficacy of beta-lactam antibiotics combined with gentamicin against penicillin-resistant pneumococcal pneumonia in CBA/J mice, *J Antimicrob Chemother*, 43(3), 367–371.
46. Yu, Y., Fang, J. T., Zheng, M., Zhang, Q., Walsh, T. R., Liao, X. P., Sun, J., Liu, Y. H. (2018), Combination Therapy Strategies Against Multiple-Resistant *Streptococcus Suis*, *Front Pharmacology*, 9(489), 1–10.
47. Drlica, K., Zhao, X. (1997), DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones, *Microbiol Mol Biol Rev*, 61(3), 377–392.
48. Gurung, M., Tamang, M. D., Moon, D. C., Kim, S. R., Jeong, J. H., Jang, G. C., Jung, S. C., Park, Y. H., Lim, S. K. (2015), Molecular Basis of Resistance to Selected Antimicrobial Agents in the Emerging Zoonotic Pathogen *Streptococcus suis*, *J Clin Microbiol*, 53(7), 2332–2336.

49. Yao, J., Shang, K., Huang, J., Ran, W., Kashif, J., Wang, L. (2014), Overexpression of an ABC transporter and mutations of GyrA, GyrB, and ParC in contributing to high-level ciprofloxacin resistance in *Streptococcus suis* type 2, *Biosci Trends*, 8(2), 84–92.
50. Tian, Y., Aarestrup, F. M., Lu, C. P. (2004), Characterization of *Streptococcus suis* serotype 7 isolates from diseased pigs in Denmark, *Vet. Microbiol*, 103(1-2), 55–62.
51. Holden, M. T., Hauser, H., Sanders, M., Ngo, T. H., Cherevach, I., Cronin, A., Goodhead, I., Mungall, K., Quail, M. A., Price, C., Rabbinowitsch, E., Sharp, S., Croucher, N. J., Chieu, T. B., Mai, N. T., Diep, T. S., Chinh, N. T., Kehoe, M., Leigh, J. A., Ward, P. N., Dowson, C. G., Whatmore, A. M., Chanter, N., Iversen, P., Gottschalk, M., Slater, J. D., Smith, H. E., Spratt, B. G., Xu, J., Ye, C., Bentley, S., Barrell, B. G., Schultsz, C., Maskell, D. J., Parkhill, J. (2009), Rapid evolution of virulence and drug resistance in the emerging zoonotic pathogen *Streptococcus suis*, *PLoS One*, 4(7), e6072.
52. Chu, Y. W., Cheung, T. K. M., Chu, M. Y., Tsang, V. Y. M., Fung, J. T. L., Kam, K. M., Lo, J. Y. C. (2009), Resistance to tetracycline, erythromycin and clindamycin in *Streptococcus suis* serotype 2 in Hong Kong, *Int J Antimicrob Agents*, 34(2), 181–182.
53. Bamphensin, N., Chopjitt, P., Hatrongjit, R., Boueroy, P., Fittipaldi, N., Gottschalk, M., Kerdsin, A. (2021), Non-Penicillin-Susceptible *Streptococcus suis* Isolated from Humans, *Pathogens*, 10(9).
54. Yongkiettrakul, S., Maneerat, K., Arechanajan, B., Malila, Y., Srimanote, P., Gottschalk, M., Visessanguan, W. (2019), Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from diseased pigs, asymptomatic pigs, and human patients in Thailand, *BMC Vet Res*, 15(1), 5.