

PHÁT HIỆN GEN ĐỘC LỰC (*stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*) VÀ TÍNH KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *Escherichia coli* PHÂN LẬP TỪ THỊT

Hoàng Minh Đức*, Cam Thị Thu Hà, Trần Thị Khánh Hòa, Hoàng Minh Sơn

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: hoangminhduc@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 13.03.2024

Ngày chấp nhận đăng: 23.05.2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định tính miễn cảm với kháng sinh và một số gen độc lực của vi khuẩn *Escherichia coli* phân lập được từ mẫu thịt lợn và thịt gà thu thập tại các chợ thuộc quận Cầu Giấy, Hà Nội. Các chủng vi khuẩn *E. coli* được phân lập bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường chọn lọc. Tính miễn cảm với kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập được xác định theo phương pháp vi pha loãng. Gen độc lực của vi khuẩn *E. coli* (*stx1*, *stx2*, *eae*, và *ehxA*) được phát hiện bằng kỹ thuật PCR. Kết quả cho thấy 72% mẫu thịt gà và 74% mẫu thịt lợn dương tính với vi khuẩn *E. coli*. Các chủng phân lập có tỷ lệ kháng cao nhất với florfenicol (95,89%) và kháng thấp nhất với ceftazidime (1,37%). Trong số 73 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được, có 3 chủng (4,11%) mang gen *stx2*, không phát hiện chủng nào mang gen *stx1*. Bên cạnh đó, phát hiện có 4/73 (5,48%) chủng mang đồng thời gen *eae* và gen *ehxA*.

Từ khoá: *E. coli*, STEC, kháng kháng sinh, thịt gà, thịt lợn.

Detection of Virulence Genes (*stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*) and Antibiotic Resistance Profile of *Escherichia coli* Isolated from Raw Meat

ABSTRACT

This study was conducted to determine the antimicrobial resistance profile and some virulence-associated genes of *Escherichia coli* isolated from pork and chicken meat samples collected at local markets in Cau Giay district, Ha Noi city. *E. coli* strains were isolated by culture method using selective media. The antimicrobial susceptibility of *E. coli* isolates was conducted using the broth microdilution method. Virulence-associated genes were detected by PCR. The results showed that 72% of chicken and 74% of pork samples were positive for *E. coli*. The isolates exhibited the highest resistance rate to florfenicol (95.89%) and the lowest resistance rate to ceftazidime (1.37%). Among 73 *E. coli* isolates, 3 (4.11%) harbored *stx2* and none carried *stx1* gene. Furthermore, 4 (5.48%) out of 73 isolates were found to simultaneously possess both *eae* and *ehxA* genes.

Keywords: *E. coli*, STEC, antibiotic resistance, chicken meat, pork meat.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

An toàn thực phẩm luôn là vấn đề được quan tâm hàng đầu trên toàn thế giới. Thực phẩm có nguồn gốc từ động vật (thịt gà, thịt lợn) bị ô nhiễm ảnh hưởng trực tiếp tới sức khỏe cộng đồng và sự phát triển kinh tế xã hội. Có rất nhiều vụ ngộ độc thực phẩm xảy ra trong những năm gần đây và phần lớn tác nhân là vi sinh vật, nó thường xảy ra do thực phẩm bị nhiễm vi khuẩn mang gen độc tố dọc theo chuỗi sản xuất

thực phẩm từ trang trại đến bàn ăn. Thịt là thực phẩm được biết đến với mức tiêu thụ lớn nhất từ các nước thu nhập cao đến các nước có thu nhập thấp (Adzitey & cs., 2020). Tại Việt Nam, thịt gà và thịt lợn là hai loại thực phẩm phổ biến, giàu dinh dưỡng và được người dân sử dụng thường xuyên trong các bữa ăn hàng ngày. Tuy nhiên, thịt là nguồn lưu trữ quan trọng của các mầm bệnh truyền qua thực phẩm bao gồm vi khuẩn *E. coli* (Adzitey & cs., 2020). Thịt bị nhiễm vi sinh vật dẫn đến hệ lụy cho sức khỏe

con người và cần được chú trọng (Trần Thị Hương Giang & Huỳnh Thị Mỹ Lệ, 2012).

Vi khuẩn *E. coli* sản sinh độc tố Shiga (STEC) được xác định bằng khả năng sản sinh ra ít nhất một loại độc tố Shiga (Stx) (Nong & cs., 2021). Độc tố Shiga bao gồm Stx1, Stx2 và các biến thể của chúng (EFSA, 2020). Các độc tố này gây tiêu chảy nghiêm trọng và có thể dẫn đến hội chứng tan huyết và suy thận (Hemolytic uremic syndrome - HUS) trên người (Armstrong & cs., 1996). Nguyên nhân gây bệnh ở người qua việc tiêu thụ thực phẩm bị nhiễm STEC đã được công bố trong một số nghiên cứu trước đây (Caprioli & cs., 2005; Hussein & Sakuma, 2005; Mead & cs., 1999; Mughini-Gras & cs., 2018). Mặc dù bò được xem là nguồn tàng trữ, nhưng nghiên cứu này thực hiện trên thịt gà và thịt lợn để xác định liệu có phát hiện được STEC ở những loại thịt khác không.

Bên cạnh đó, tình trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* có xu hướng gia tăng, đặc biệt là các chủng kháng kháng sinh nhóm β -lactam thế hệ mới như cephalosporin thế hệ thứ ba và thứ tư, dòng kháng sinh được WHO xếp vào danh mục các loại kháng sinh cực kỳ quan trọng, thường được sử dụng làm thuốc điều trị nhiễm trùng do *E. coli* và các loại vi khuẩn khác (Cormican & cs., 1996). Hiện trạng sử dụng kháng sinh rộng rãi trong chăn nuôi và chưa được kiểm soát tốt là nguyên nhân làm tăng khả năng kháng thuốc kháng sinh của nhiều loại vi khuẩn gây bệnh, hệ quả là quá trình điều trị bệnh ở người và vật nuôi không có hiệu quả. *E. coli* kháng kháng sinh có thể dễ dàng xâm nhiễm vào con người qua đường ăn uống (EFSA, 2017) và người ta cũng đã phát hiện được rằng *E. coli* là nguồn dự trữ đáng kể các gen kháng thuốc và độc lực (Sarter & cs., 2014).

Xuất phát từ những vấn đề nêu trên, việc kiểm tra, giám sát ô nhiễm vi khuẩn trên thực phẩm rất quan trọng và cần xây dựng số liệu quốc gia về vi khuẩn *E. coli* kháng thuốc để có bằng chứng khoa học hỗ trợ công tác lựa chọn kháng sinh thận trọng trong điều trị bệnh vật nuôi. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm xác định được tính miễn cảm với kháng sinh và một số gen độc lực của vi khuẩn

E. coli phân lập từ thịt (gà và lợn) trên địa bàn quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội làm cơ sở cho việc xây dựng các biện pháp kiểm soát.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Mẫu nghiên cứu: 100 mẫu thịt (50 mẫu thịt gà và 50 mẫu thịt lợn) được thu thập ngẫu nhiên tại các chợ truyền thống thuộc quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội.

Môi trường, hóa chất của hãng Merck, Đức: Buffer Peptone Water (BPW), MacConkey Agar, Eosin Methylene Blue (EMB), Triple Sugar Iron Agar (TSI), Simmons Citrate Agar, Trypticase Soy Broth (TSB), Glucose Phosphate Broth (MR-VP), Mueller Hinton Broth (MHB), Thuốc thử Kovac's, Methyl red, thuốc nhuộm Gram, NaCl.

Các loại kháng sinh bột gồm: Streptomycin (S6501-5G, Mỹ), Gentamicin (G1264-1G, Mỹ), Azithromycin (PHR1088-1G, Đức), Ampicillin (59349-100MG, Đức), Tetracycline (T4062-1G, Mỹ), Cefoxitin (C4786-1G, Đức), Nalidixic acid (N4382-1G, Mỹ), Ciprofloxacin (33434-100MG-R, Đức), Trimethoprim/Sulfamethoxazole (S7507-10G, Đức), Meropenem (PHR1772-500MG, Đức), Cefotaxime (C7039-1G, Mỹ), Cefepime (A3737-100MG, Mỹ), Ceftazidime (C3809-1G, Mỹ), Colistin (C4461-1G, Mỹ), Florfenicol (F1427-500MG, Đức). Các kháng sinh này có độ tinh khiết rất cao ($\geq 98\%$).

Trang thiết bị, máy móc tại Phòng Thí nghiệm Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Thời gian và địa điểm

Địa điểm lấy mẫu: Một số chợ bán lẻ truyền thống trên địa bàn quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội.

Địa điểm xét nghiệm: Phòng Thí nghiệm Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 1 năm 2021 đến tháng 12 năm 2022.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thu thập mẫu

Mẫu thịt được thu thập theo TCVN 4833-1:2002/ISO3100-1991: 100 mẫu thịt (50 mẫu thịt gà, 50 mẫu thịt lợn) được thu thập tại 5 chợ bán lẻ truyền thống trên địa bàn quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội, mỗi chợ lấy ngẫu nhiên 10 mẫu vào buổi sáng, đựng trong các túi zip vô trùng, ghi đầy đủ thông tin, bảo quản lạnh trong hộp đá và vận chuyển ngay về phòng thí nghiệm để phân tích trong vòng 24h.

2.3.2. Phân lập vi khuẩn *E. coli*

E. coli được phân lập theo phương pháp mô tả bởi (Zhao & cs., 2001) với một số điều chỉnh nhỏ: Đồng nhất 25g mẫu thịt với 225ml dung dịch Buffer Peptone Water, sau đó rìa cấy lên các đĩa thạch MacConkey Agar, đem ủ 37°C trong 24 giờ. Lựa chọn khuẩn lạc *E. coli* điển hình có đường kính từ 1-2mm màu hồng cánh sen, tròn bóng, rìa gợn trên thạch MacConkey. Các khuẩn lạc này được cấy chuyển sang thạch Eosin Methylene Blue (EMB) ủ 37°C/24 giờ. Trên đĩa thạch EMB, *E. coli* hình thành khuẩn lạc có tâm đen, ánh kim xanh, tròn, lồi và rìa gợn. Tiếp theo, khuẩn lạc được cấy chuyển từ đĩa thạch EMB vào ống dung dịch Trypticase Soy Broth (TSB) ủ 24 giờ ở 37°C để tiến hành nhuộm Gram và thử dây phản ứng sinh hoá IMViC và nuôi cấy trên thạch TSI. Sau khi kiểm tra phản ứng hoá sinh, các chủng *E. coli* sẽ được giữ giống trong ống eppendorf (1,5ml) bằng dung dịch Glycerol 20% ở -86°C

2.3.3. Xác định tính kháng kháng sinh của các chủng *E. coli*

Tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* với 15 loại kháng sinh streptomycin, gentamicin, colistin, florfenicol, azithromycin, ampicillin, tetracycline, cefotaxime, cefoxitin, cefepime, ceftazidime, meropenem, nalidixic acid, ciprofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole được xác định bằng phương pháp vi pha loãng (Broth Microdilution) theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và Phòng thí nghiệm (CLSI, 2020). Tóm tắt như sau: Tiến hành lấy 3-5 khuẩn lạc từ đĩa TSA được pha loãng với nước muối sinh lý 0,9% đạt

được huyền dịch có nồng độ khoảng 10^8 CFU/ml, tiếp tục pha loãng huyền dịch bằng môi trường lỏng Mueller Hinton đạt được nồng độ 10^6 CFU/ml trước khi đưa vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng có chứa kháng sinh ở các nồng độ khác nhau để đạt được nồng độ cuối cùng trong dải (0,0625-128 µg/ml). Đĩa 96 giếng được đem ủ ở 37°C trong vòng 16-24h. Sau ủ, quan sát độ đục của môi trường trong các giếng để xác định nồng độ thấp nhất trong dây pha loãng có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn. Nồng độ đó gọi là nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum Inhibitory Concentration; MIC).

2.3.4. Phát hiện một số gen độc lực của các chủng *E. coli* bằng kỹ thuật Multiplex PCR

Chuẩn bị DNA mẫu: DNA được tách chiết bằng Kít Dneasy tissue (Qiagen, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Kiểm tra sự có mặt của các gen mã hóa độc lực (*stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*) của các chủng *E. coli* phân lập được thực hiện bằng kỹ thuật Multiplex PCR. Trình tự các cặp mồi được tham khảo trong nghiên cứu của Bai & cs. (2012), thể hiện ở bảng 1.

Chu trình nhiệt của phản ứng PCR gồm: biến tính ban đầu ở 94°C/5 phút; sau đó là 35 chu kì: biến tính ở 94°C/30 giây, bắt cặp mồi ở 59°C/80 giây, kéo dài ở 72°C/90 giây; hoàn tất kéo dài ở 72°C/10 phút.

2.3.5. Xử lý số liệu

Số liệu tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* được phân tích và xử lý bằng phần mềm Excel 2016.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên thịt tại một số chợ thuộc quận Cầu Giấy

Kết quả kiểm tra vi khuẩn *E. coli* từ 50 mẫu thịt lợn và 50 mẫu thịt gà bày bán tại các chợ truyền thống tại quận Cầu Giấy được tổng hợp ở bảng 2. Kết quả cho thấy trong tổng số 100 mẫu thịt có 73 (73%) mẫu dương tính với vi khuẩn *E. coli*. Trong đó, có 36/50 (72%) mẫu thịt gà và 37/50 (74%) mẫu thịt lợn phát hiện được vi khuẩn *E. coli*.

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi trong phản ứng

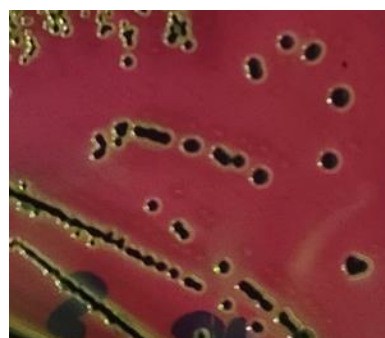
Gen mục tiêu	Trình tự primer (5'-3')	Sản phẩm (bp)
stx1	TGTCGCATAGTGGAACCTCA	655
	TGCGCACTGAGAAGAAGAGA	
stx2	CCATGACAACGGACAGCAGTT	477
	TGTCGCCAGTTATCTGACATTC	
eae	CATTATGGAACGGCAGAGGT	375
	ACGGATATCGAAGCCATTTG	
ehxA	GCGAGCTAAGCAGCTTGAAT	199
	CTGGAGGCTGCACTAACTCC	

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên thịt

Thịt	Số mẫu khảo sát (mẫu)	Số mẫu dương tính (mẫu)	Tỷ lệ (%)
Gà	50	36	72
Lợn	50	37	74
Tổng	100	73	73



(a)



(b)

Hình 1. Hình thái khuẩn lạc *E. coli* trên đĩa thạch MacConkey (a) và đĩa thạch EMB (b)

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cao hơn kết quả của một số nghiên cứu khác trong nước. Nghiên cứu của Trần Thị Hương Giang & Huỳnh Thị Mỹ Lệ (2012) cho biết khi kiểm tra 90 mẫu thịt lấy tại chợ một số huyện ngoại thành Hà Nội phát hiện thấy 53,3% mẫu thịt lợn và 60% thịt gà nhiễm vi khuẩn *E. coli*. Một nghiên cứu khác của Đặng Xuân Bình & cs. (2017) cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên thịt lợn và thịt gà tại chợ ở một số tỉnh phía Bắc Việt Nam lần lượt là 57,5% và 34,5%. Tại Buôn Ma Thuột, tỉ lệ nhiễm *E. coli* trên thịt gà và thịt lợn được báo cáo là 86,7% (Tuồng Quốc Triều & cs., 2022). Trên thế giới, mức độ nhiễm khuẩn *E. coli* trên thịt cũng được ghi nhận ở các tỷ lệ khác nhau. Khảo sát tại tỉnh

Tứ Xuyên, Trung Quốc trên các loại mẫu thịt, đã phát hiện 255/328 (77,7%) mẫu dương tính với vi khuẩn *E. coli* và trong đó mẫu thịt gà chiếm tỷ lệ cao (84,8%) hơn mẫu thịt lợn (79,3%) (Zhang & cs., 2016). Kết quả nghiên cứu của Skočková & cs. (2015) tại Cộng hòa Séc cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên thịt gà và thịt lợn lần lượt là 36,25% và 29,09%. Một nghiên cứu khác tại 6 huyện của thành phố Bắc Kinh, Trung Quốc cho biết tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên thịt là 64,1%, trong đó mức độ ô nhiễm trên thịt gà là cao hơn nhiều so với thịt lợn (Li & cs., 2021). Sự chênh lệch giữa các kết quả nghiên cứu có thể do sự khác biệt giữa các vùng địa lý, thời gian và số lượng mẫu, quy trình phát hiện và điều kiện vệ sinh giết mổ, buôn bán.

Phát hiện gen độc lực (*stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*) và tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* phân lập từ thịt

Bảng 3. Bảng phân bố nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các kháng sinh đối với vi khuẩn *E. coli* phân lập được

Loại kháng sinh	MIC Breakpoint (µg/ml) (CLSI, 2020)	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) (µg/ml)												Số chủng kháng	Tỷ lệ kháng (%)
		≤ 0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	≥ 128		
Ampicillin	32						1	3	5	1	4	11	48	63	86,3
Cefotaxime	4	11	6	27	9	7	1	1	1	3	5	2	12	16,44	
Cefoxitin	32					3	9	23	20	13	3	1	1	5	6,85
Cefepime	16	14	10	12	1	2	13	6	3	9	1	1	1	12	16,44
Ceftazidime	16	25	12	9	11	4		5	6	1				1	1,37
Meropenem	4	71	2											0	0
Gentamicin	16				2	4	16	11	8	1	9	4	18	32	43,84
Streptomycin	32							1	5	10	12	16	29	57	78,08
Tetracycline	16						1	5	2	2	4	10	49	65	89,04
Colistin	4					28	11	6	5	13	9	1	34	46,58	
Florfenicol	16							1	2	1	1	3	65	70	95,89
Azithromycin	32					3	6	9	17	15	2	8	13	23	31,51
Ciprofloxacin	4	14	9	8	10	1	5	3	3	9	5	2	4	26	35,62
Nalidixic acid	32							9	5	8	10	19	22	51	69,86
Trimethoprim-sulfamethoxazole	4/76			7	1	2	5	1		1	50	2	4	58	79,45

Bảng 4. Tỷ lệ kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập

Loại kháng sinh	Số chủng kháng (tỷ lệ %)		
	Thịt gà (n = 36)	Thịt lợn (n = 37)	Tổng (n = 73)
Ampicillin	32 (88,89)	31 (83,78)	63 (86,3)
Cefotaxime	7 (19,44)	5 (13,51)	12 (16,44)
Cefoxitin	2 (5,56)	3 (8,11)	5 (6,85)
Cefepime	7 (19,44)	5 (13,51)	12 (16,44)
Ceftazidime	1 (2,78)	0 (0)	1 (1,37)
Meropenem	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Gentamicin	12 (33,33)	20 (54,05)	32 (43,84)
Streptomycin	27 (75)	30 (81,08)	57 (78,08)
Tetracycline	35 (97,22)	30 (81,08)	65 (89,04)
Colistin	17 (47,22)	17 (45,95)	34 (46,58)
Florfenicol	34 (94,44)	36 (97,3)	70 (95,89)
Azithromycin	13 (36,11)	10 (27,03)	23 (31,51)
Ciprofloxacin	13 (36,11)	13 (35,14)	26 (35,62)
Nalidixic acid	25 (69,44)	26 (70,27)	51 (69,86)
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	30 (83,33)	28 (75,68)	58 (79,45)

3.2. Kết quả kiểm tra khả năng kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được

Các chủng *E. coli* phân lập được kiểm tra khả năng kháng kháng sinh với 15 loại kháng sinh khác nhau, kết quả được trình bày ở bảng 3 và 4.

Các chủng *E. coli* phân lập được trong nghiên cứu này có tỷ lệ kháng cao nhất với florfenicol (95,89%), tiếp theo là tetracycline (89,04%), ampicillin (86,3%). Tỷ lệ kháng thấp được ghi nhận với kháng sinh nhóm cephalosporins, bao gồm ceftazidime (1,37%), cefoxitin (6,85%), cefepime và cefotaxime (16,44%). Không ghi nhận chủng *E. coli* phân lập từ thịt kháng meropenem. Qua bảng 4 cũng có thể thấy tỷ lệ kháng với các loại kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập từ thịt gà và thịt lợn khá tương đồng nhau.

Có nhiều nghiên cứu trong nước và trên thế giới chỉ ra rằng vi khuẩn *E. coli* đề kháng cao với các kháng sinh tetracycline, ampicillin, streptomycin. Nghiên cứu của Tưởng Quốc Triều & cs. (2022) cho thấy các chủng *E. coli* phân lập được từ thịt tươi kháng ampicillin với tỷ lệ 81,82% và kháng tetracycline với tỷ lệ 70,78%.

Một kết quả nghiên cứu khác cho biết các chủng *E. coli* phân lập thịt gà và thịt lợn kháng tetracycline với tỷ lệ rất cao (96,3%), ampicillin (90,7%), streptomycin (88,9%) (Hoàng Minh Đức & cs., 2022). Kết quả của Omid (2021) cho biết các chủng *E. coli* phân lập từ cửa hàng bán thịt và siêu thị cũng có tỷ lệ kháng cao với tetracycline (89,2%), ampicillin (82,8%), trimethoprim/sulfamethoxazole (71%). Nghiên cứu của Parvin & cs. (2020) cũng cho thấy *E. coli* phân lập từ thịt có tỷ lệ kháng tetracycline và sulfamethoxazole/trimethoprim rất cao, lần lượt là 84,9% và 88,4%.

Kháng sinh nhóm cephalosporin được coi là những kháng sinh quan trọng bậc nhất để điều trị nhiễm khuẩn *E. coli*. Trong nghiên cứu này ghi nhận tỷ lệ kháng thấp với kháng sinh nhóm cephalosporin, bao gồm ceftazidime (1,37%), cefoxitin (6,85%), cefepime và cefotaxime (16,44%). Đáng lưu ý, các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được miễn cảm hoàn toàn với meropenem (MIC \leq 0,12). Tỷ lệ này khá tương đồng với nghiên cứu của Đặng Xuân Bình & cs. (2017), kết quả nghiên cứu cho biết, 3,7% các chủng *E. coli* phân lập từ thịt tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam kháng lại ceftazidime.

Tương tự, kết quả nghiên cứu của Tưởng Quốc Triều & cs. (2022) cho thấy 19,48% các chủng *E. coli* phân lập từ thịt tươi tại chợ thuộc Buôn Ma Thuột kháng lại ceftazidime. Một kết quả nghiên cứu khác tại Trung Quốc cho biết tỷ lệ vi khuẩn *E. coli* phân lập từ thịt gà và thịt lợn kháng lại ceftazidime lần lượt là 6,6% và 2,6%, tỉ lệ kháng cefotaxime của các chủng *E. coli* phân lập từ thịt gà là 31,6% cao hơn nhiều so với thịt lợn 7,7% (Li & cs., 2021).

3.3. Kết quả xác định một số gen độc lực của các chủng *E. coli* phân lập được

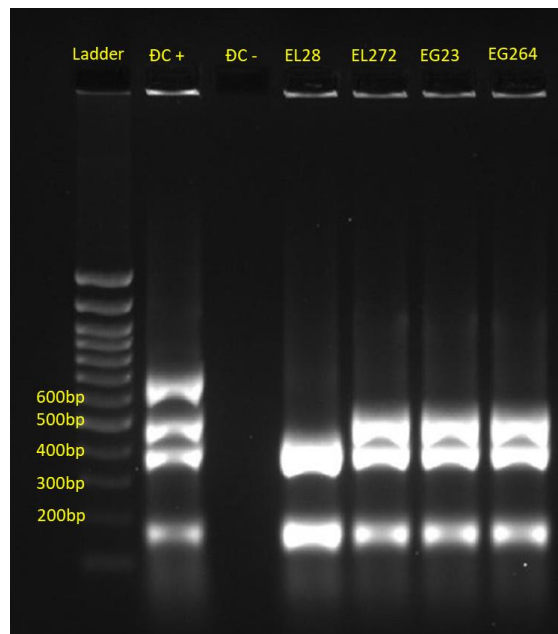
Kết quả bảng 5 và 6 cho thấy tỷ lệ phát hiện gen *stx2* ở vi khuẩn *E. coli* là 4,11% (3/73), trong đó có hai chủng phân lập từ thịt gà, một chủng phân lập từ thịt lợn. Trong nghiên cứu này không phát hiện chủng nào mang gen *stx1*. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm STEC trên thịt gà và thịt lợn dao động ở mức thấp.

Bảng 5. Tỷ lệ hiện diện các gen độc lực của vi khuẩn *E. coli* phân lập từ thịt

Gen	Thịt gà (n = 36)	Thịt lợn (n = 37)	Tổng (n = 73)
<i>stx1</i>	0	0	0
<i>stx2</i>	2	1	3 (4,11%)
<i>eae</i>	2	2	4 (5,48%)
<i>ehxA</i>	2	2	4 (5,48%)

Bảng 6. Các chủng *E. coli* phát hiện được gen độc lực

Gen	Thịt gà		Thịt lợn	
	EG23	EG264	EL28	EL272
<i>stx2</i>	+	+	-	+
<i>eae</i>	+	+	+	+
<i>ehxA</i>	+	+	+	+



Ghi chú: Giếng 1: Ladder; Giếng 2: Đối chứng dương; Giếng 3: Đối chứng âm; Giếng 4-7: Các chủng *E. coli* phân lập.

Hình 2. Kết quả PCR phát hiện gen độc lực của các chủng *E. coli* phân lập được

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với các nghiên cứu đã công bố tại Nhật Bản, Đức và Argentina về tỷ lệ phát hiện gen *stx2* trên *E. coli* phân lập từ thịt (Beutin & cs., 2007; Brusa & cs., 2013; Son & cs., 2015). Độc tố *stx* rất quan trọng trong quá trình gây bệnh của vi khuẩn STEC, tuy nhiên thì một mình *stx* không đủ để vi khuẩn STEC gây bệnh (Nong & cs., 2021). Vì vậy, việc phát hiện các gen độc lực khác bao gồm *eae* và *ehxA* là rất cần thiết để đánh giá khả năng độc lực của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được. Gen *eae* mã hóa cho protein màng intimin, một yếu tố góp phần tạo nên độc lực của *E. coli* liên quan đến việc gắn vi khuẩn vào tế bào ruột và gây tổn thương tế bào (Phillips & cs., 2000). Trong khi đó gen *ehxA* là gen mã hóa cho yếu tố dung huyết hemolysin ở các chủng *E. coli* gây bệnh, đây cũng được coi là một trong các yếu tố độc lực quan trọng nhất của vi khuẩn *E. coli* (Momtaz & Jamshidi, 2013). Trong nghiên cứu này, ba chủng EG23, EG264, và EL272 được phát hiện mang đồng thời 3 gen *stx2*, *eae* và *ehxA* có nguy cơ rất cao gây bệnh ở người. Bên cạnh đó, có một chủng (EL28) mang đồng thời gen *eae* và *ehxA* nhưng không mang gen *stx*.

4. KẾT LUẬN

Tại thời điểm nghiên cứu tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên thịt (gà và lợn) tại chợ quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội ở mức cao (73%). Trong đó, 72% mẫu thịt gà và 74% mẫu thịt lợn dương tính với *E. coli*. Các chủng *E. coli* phân lập được kháng cao với các kháng sinh florfenicol (95,89%), tetracycline (89,04%), ampicillin (86,3%). Một số kháng sinh quan trọng như ceftazidime (1,37%), cefoxitin (6,85%), cefotaxime và cefepime (16,44%) cho kết quả kháng thấp. Tất cả chủng *E. coli* phân lập được đều mẫn cảm với kháng sinh meropenem với nồng độ ức chế tối thiểu thấp (MIC ≤ 0,12). Trong số 73 chủng *E. coli* phân lập được, có 3/73 (4,11%) chủng được xác định là STEC, mang đồng thời gen *stx2*, *eae* và *ehxA*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Adzitey F., Assoah-Peprah P., Teye G.A., Somboro A.M., Kumalo H.M. & Amoako D.G. (2020).

Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Various Meat Types in the Tamale Metropolis of Ghana. International Journal of Food Science.

Armstrong G.L., Hollingsworth J. & Morris J.G. Jr (1996). Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. Epidemiologic reviews. 18(1): 29-51.

Bai J., Paddock Z.D., Shi X., Li S., An B. & Nagaraja T.G. (2012). Applicability of a multiplex PCR to detect the seven major Shiga toxin-producing *Escherichia coli* based on genes that code for serogroup-specific O-antigens and major virulence factors in cattle feces. Foodborne Pathogens and Disease. 9(6): 541-548.

Beutin L., Miko A., Krause G., Pries K., Haby S., Steege K. & Albrecht N. (2007). Identification of Human-Pathogenic Strains of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Food by a Combination of Serotyping and Molecular Typing of Shiga Toxin Genes. Applied and Environmental Microbiology. 73(15): 4769-4775.

Bộ Khoa học và Công nghệ (2022). TCVN 4833-1: Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử - Phần 1: Lấy mẫu.

Brusa V., Aliverti V., Aliverti F., Ortega E.E., de la Torre J.H., Linares L.H., Sanz M.E., Etcheverría A.I., Padola N.L., Galli L., Peral García P., Copes J. & Leotta G.A. (2013). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef retail markets from Argentina. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 3(4): 630-636.

Caprioli A., Morabito S., Brugere H. & Oswald E. (2005). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. Veterinary Research. 36(3): 289-311.

CLSI (2020). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition. In Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.

Cormican M.G., Marshall S.A. & Jones R.N. (1996). Detection of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) -producing strains by the Etest ESBL screen. Journal of Clinical Microbiology.

Đặng Xuân Bình, Đào Thị Hoài Giang & Tạ Thị Phương (2017). Yếu tố độc lực của vi khuẩn *Listeria Monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella* spp. và *Staphylococcus aureus* nhiễm trên thịt bán tại chợ một số tỉnh phía bắc Việt Nam. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y. XXIV (6): 35-46.

EFSA (2017). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015. EFSA Journal. 15(2).

- Hoàng Minh Đức, Cam Thị Thu Hà, Phạm Hồng Ngân, Hoàng Minh Sơn, Lê Văn Hùng, Trần Văn Nền, Vũ Thị Thu Trà, Vũ Văn Hoạt & Lê Văn Tùng (2022). Khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* phân lập từ thịt (lợn, gà) tại chợ bán lẻ thuộc huyện Gia Lâm, Hà Nội. Tạp Chí Khoa Học Kỹ Thuật Thú y. XXIX(6): 41-47.
- Hussein H.S. & Sakuma T. (2005). Invited Review: Prevalence of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Dairy Cattle and Their Products. Journal of Dairy Science. 88(2): 450-465.
- Li H., Liu Y., Yang L., Wu X., Wu Y. & Shao B. (2021). Prevalence of *Escherichia coli* and Antibiotic Resistance in Animal-Derived Food Samples Six Districts, Beijing, China, 2020. China CDC Weekly.
- Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., McCaig L.F., Bresee J.S., Shapiro C., Griffin P.M. & Tauxe R.V. (1999). Food-Related Illness and Death in the United States. Emerging Infectious Diseases. 5(5): 607-625.
- Momtaz H. & Jamshidi A. (2013). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from chicken meat in Iran: Serogroups, virulence factors, and antimicrobial resistance properties. Poultry Science. 92(5): 1305-1313.
- Mughini-Gras L., van Pelt W., van der Voort M., Heck M., Friesema I. & Franz E. (2018). Attribution of human infections with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) to livestock sources and identification of source-specific risk factors, The Netherlands (2010-2014). Zoonoses and Public Health. 65(1).
- Nong F., Zhang P., Meng J., Xie Q., Li Y., Pan Y., Zhao Y. & Liu H. (2021). Characterization of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from retail raw meats in Southeast China. Food Control. 126: 108061.
- Omid Zarei. (2021). The Prevalence of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Enteropathogenic *Escherichia coli* Isolated from Raw Chicken Meat Samples. International Journal of Microbiology.
- Phillips A.D., Giròn J., Hicks S., Dougan G. & Frankel G. (2000). Intimin from enteropathogenic *Escherichia coli* mediates remodelling of the eukaryotic cell surface. Microbiology. 146(6): 1333-1344.
- Parvin M.S., Talukder S., Ali M.Y., Chowdhury E.H., Rahman M.T. & Islam M.T. (2020). Antimicrobial Resistance Pattern of *Escherichia coli* Isolated from Frozen Chicken Meat in Bangladesh. Pathogens (Basel, Switzerland): 9(6): 420.
- Sarter S., Ho P.H. & To K.A. (2014). Current context of food safety in Vietnam: A glance at food of animal origin. Quality Assurance and Safety of Crops and Foods. 7(1): 57-62.
- Skočková A., Koláčková I., Bogdanovičová K. & Karpíšková R. (2015). Characteristic and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from retail meats purchased in the Czech Republic. Food Control. 47: 401-406.
- Son H.M., Kimura E., Duc H.M., Honjoh K.I. & Miyamoto T. (2015). Virulence characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from raw meats and clinical samples. Microbiology and Immunology. 59(3): 114-122.
- Trần Thị Hương Giang & Huỳnh Thị Mỹ Lệ (2012). Xác định tỷ lệ nhiễm và độc lực của vi khuẩn *Escherichia coli* phân lập từ thịt (lợn, bò, gà) ở một số huyện ngoại thành Hà Nội. Tạp chí Khoa học và Phát triển. 10(2): 295-300.
- Tường Quốc Triều, Đỗ Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Kim Huệ & Trương Thị Thu (2022). Khảo sát tình trạng nhiễm và tỷ lệ kháng kháng sinh của *Escherichia coli* trong thịt lợn và thịt gà tại một số chợ ở thành phố Buôn Ma Thuột năm 2021. Tạp chí Kiểm nghiệm và An toàn thực phẩm. 5(3): 279-290.
- Zhang A., He X., Meng Y., Guo L., Long M., Yu H., Li B., Fan L., Liu S., Wang H. & Zou L. (2016). Antibiotic and Disinfectant Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Retail Meats in Sichuan, China. Microbial Drug Resistance. 22 (1).
- Zhao C., Ge B., De Villena J., Sudler R., Yeh E., Zhao S., White D.G., Wagner D. & Meng J. (2001). Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* Serovars in Retail Chicken, Turkey, Pork, and Beef from the Greater Washington, D.C., Area. Applied and Environmental Microbiology. 67(12): 5431-5436.