

DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.149

SỰ HIỆN DIỆN CỦA GENE ĐỘC LỰC VÀ TÍNH ĐỀ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *Escherichia coli* O157:H7/H- PHÂN LẬP TỪ BÒ TẠI ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Khánh Thuận* và Lý Thị Liên Khai

Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Khánh Thuận (email: nkthuan@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 10/07/2020

Ngày nhận bài sửa: 23/08/2020

Ngày duyệt đăng: 28/12/2020

Title:

The prevalence of pathogenic genes and antibiotic resistance in *Escherichia coli* O157:H7/H- isolated from cattle in the Mekong Delta

Từ khóa:

Bò, *Escherichia coli* O157:H7/H-, Đồng bằng sông Cửu Long, gene độc lực, kháng kháng sinh

Keywords:

Antibiotic resistance, cattle, *Escherichia coli* O157:H7/H-, Mekong Delta, pathogenic genes

ABSTRACT

Escherichia coli O157:H7 is one of the most dangerous pathogens causing food-borne diseases on over the world, and cattle are the most popular reservoirs. A total of 24 *E. coli* O157:H7/H- strains (11 *E. coli* O157:H7 strains, 13 *E. coli* O157:H- strains) isolated from cattle in the Mekong Delta were clarified the prevalence of pathogenic genes (*stx1*, *stx2*, *eae*, *EHEC-hlyA*) and antimicrobial susceptibility with 12 antibiotics. By using PCR assay, the prevalence of these pathogenic genes in 24 *E. coli* O157:H7/H- strains were *stx1* (29.17%), *stx2* (33.33%), *eae* (37.50%), and *EHEC-hlyA* (33.33%); there were 7/11 of *E. coli* O157:H7 strains that had all four pathogenic genes observed. Those *E. coli* O157:H7/H- strains were completely susceptible (100%) to 7 antibiotics (ceftazidime, gentamycin, amikacin, kanamycin, tetracycline, ciprofloxacin, and norfloxacin). However, those strains showed relatively high resistance against ampicillin (50.00%), followed by nalidixic acid (16.67%), bactrim (12.50%), amox-clavulanic (8.33%), and ceftriaxone (8.33%). Moreover, those *E. coli* O157:H7/H- strains showed multidrug-resistant to 2-5 kinds of antibiotics in 5 multi-resistant phenotypes observed.

TÓM TẮT

Vi khuẩn *Escherichia coli* O157:H7/H- là một trong những nguyên nhân gây ngộ độc thực phẩm nghiêm trọng trên thế giới và con bò là động vật mang trùng chủ yếu nhất. Tổng số 24 chủng *E. coli* O157:H7/H- (11 chủng *E. coli* O157:H7, 13 chủng *E. coli* O157:H-) phân lập trên bò tại Đồng bằng sông Cửu Long được khảo sát sự hiện diện của các gene độc lực (*stx1*, *stx2*, *eae*, *EHEC-hlyA*) và sự nhạy cảm đối với 12 loại kháng sinh. Thông qua phương pháp PCR, tỷ lệ hiện diện của các gene độc lực trên 24 chủng *E. coli* O157:H7/H- lần lượt là *stx1* (29,17%), *stx2* (33,33%), *eae* (37,50%) và *EHEC-hlyA* (33,33%); có 7/11 chủng *E. coli* O157:H7 mang đầy đủ 4 gene độc lực được khảo sát. Các chủng *E. coli* O157:H7/H- còn nhạy cảm cao (100%) với 7 loại kháng sinh (ceftazidime, gentamycin, amikacin, kanamycin, tetracycline, ciprofloxacin, và norfloxacin). Tuy nhiên, các chủng này cho thấy có sự đề kháng khá cao đối với ampicillin (50,00%) và đề kháng thấp đối với nalidixic acid (16,67%), bactrim (12,50%), amox-clavulanic (8,33%), và ceftriaxone (8,33%). Ngoài ra, các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- này có thể đề kháng từ 2 đến 5 loại kháng sinh với 5 kiểu hình đa kháng được ghi nhận.

Trích dẫn: Nguyễn Khánh Thuận và Lý Thị Liên Khai, 2020. Sự hiện diện của gene độc lực và tính đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* O157:H7/H- phân lập từ bò tại Đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(6B): 112-118.

1 GIỚI THIỆU

Ngộ độc thực phẩm do vi khuẩn thường xảy ra phổ biến ở nhiều quốc gia trên thế giới. Trong các chủng vi khuẩn gây bệnh, *Escherichia coli* (*E. coli*) sinh shiga-toxin, đặc biệt là *E. coli* O157:H7/H- là một trong những tác nhân nguy hiểm nhất. Hiện nay, vẫn chưa có ca bệnh hay tử vong nào do ngộ độc thực phẩm liên quan đến *E. coli* O157:H7/H- tại Việt Nam được báo cáo, nhưng chúng đã được ghi nhận ở nhiều quốc gia như Nhật Bản (Watanabe *et al.*, 2010), Mỹ (CDC, 2012). Vi khuẩn *Escherichia coli* O157:H7/H- thuộc nhóm EHEC (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*), vi khuẩn lây truyền qua đường phân-miệng và tồn tại tự nhiên chủ yếu trong đường ruột của loài nhai lại, trong đó bò là động vật mang trùng phổ biến nhất (Armstrong *et al.*, 1996). Khả năng gây bệnh của vi khuẩn nhờ vào các độc tố chính như *stx1*, *stx2*, *eae*, *EHEC-hlyA*; 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 mắc bệnh (Armstrong *et al.*, 1996). Sự hiện diện của các gene độc lực này trên các chủng *E. coli* O157:H7 được phân lập từ bò tại Thụy Điển chiếm tỷ lệ cao từ 3% đến 100% (Albihn *et al.*, 2003). Năm 2012, khi phân tích các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7 được phân lập từ trâu bò tại Nam Trung Bộ, Việt Nam cũng đã cho thấy các gene độc lực *stx1* và *stx2* hiện diện với tỷ lệ cao từ 64,71% đến 85,35% (Bùi Thị Ba và *ctv.*, 2012). Ngoài ra, tình trạng sử dụng kháng sinh chưa được kiểm soát tốt trong việc phòng trị bệnh cho đàn gia súc như hiện nay làm gia tăng khả năng đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn, bao gồm *E. coli* O157:H7/H-. Vi khuẩn *E. coli* O157 phân lập từ các nông trại bò ở Nhật Bản biểu hiện đề kháng với dihydrostreptomycin, oxytetracycline và ampicillin lần lượt là 9,5%, 7,9% và 5,4% (Sasaki *et al.*, 2012). Từ đó, cho thấy sự nguy hiểm của vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- đối với sức khỏe cộng đồng và vai trò trung gian quan trọng của con bò trong việc phát tán mầm bệnh.

Tại Đồng bằng sông Cửu Long, một số khảo sát đã công bố *E. coli* O157:H7/H- hiện diện trên đàn bò tại đây (Ly *et al.*, 2009); tuy nhiên việc nghiên cứu về các gene độc lực và khả năng đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn này còn hạn chế. Do

đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định tỷ lệ lưu hành của các gene độc lực và khả năng đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- phân lập trên bò tại Đồng bằng sông Cửu Long. Từ kết quả nghiên cứu này giúp cung cấp những thông tin hữu ích trong việc nghiên cứu, quản lý và phòng chống bệnh do *E. coli* O157:H7/H- gây ra đối với sức khỏe cộng đồng.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Tổng số 24 chủng *E. coli* O157:H7/H- (11 chủng *E. coli* O157:H7, 13 chủng *E. coli* O157:H-) phân lập từ phân bò khỏe mạnh tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long (An Giang, Trà Vinh, Thành phố Cần Thơ) trong thời gian từ năm 2012 đến 2014 được sử dụng trong nghiên cứu này. Các chủng này được phân lập và bảo quản tại phòng Thí nghiệm Thú Y chuyên ngành 2, Bộ môn Thú Y, Khoa Nông nghiệp, trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp xác định các gene độc lực của vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H-

Các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- được ly trích DNA bằng phương pháp sốc nhiệt theo Soumet *et al.* (1994). Bộ kit Platinum II Hot-Start PCR Master mix (2X) (Invitrogen, Thermo Fisher, Mỹ) được sử dụng trong nghiên cứu này. Hỗn hợp cho một phản ứng PCR (25,0 μ L) bao gồm Master Mix 2X (12,5 μ L); đoạn mỗi xuôi và mỗi ngược với nồng độ 10 μ M (0,5 μ L/đoạn); nước cất tinh khiết (9,5 μ L) và DNA khuôn mẫu (2,0 μ L).

Phản ứng PCR được tiến hành theo chu trình nhiệt sau: tiền biến tính (94°C, 2 phút); 35 chu kỳ: biến tính (94°C, 1 phút), gắn môi (55°C, 1 phút), kéo dài (72°C, 1 phút); kết thúc (72°C, 10 phút). Sản phẩm PCR được điện di ở hiệu điện thế 50V trong vòng 60 phút trên gel 1,5% agarose và được nhuộm với dung dịch ethidium bromide; đọc kết quả bằng cách quan sát và chụp ảnh gel dưới ánh sáng UV.

Trình tự nucleotide của các đoạn môi xác định gene độc lực được sử dụng trong nghiên cứu này thể hiện qua Bảng 1.

Bảng 1: Trình tự nucleotide các đoạn môi xác định gene độc lực của vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H-

Gene độc lực	Trình tự primer (5'-3')	Kích thước sản phẩm (bp)	Nguồn tham khảo
<i>stx1</i>	CAGTTAATGTGGTGGCGAAG CTGCTAATAGTTCTGCGCATG	894	Olsvik and Strockbine (1993)
<i>stx2</i>	CTTCGGTATCCTATTCCCGG GGATGCATCTCTGGTCATTG	478	Olsvik and Strockbine (1993)
<i>eae</i>	ACGTTGCAGCATGGGTAAGTC GATCGGCAACAGTTTCACCTG	815	Gannon <i>et al.</i> (1993)
<i>EHEC-hlyA</i>	GCATCATCAAGCGTACGTTCC AATGAGCCAAGCTGGTTAAGCT	534	Paton and Paton (1998)

2.2.2 Phương pháp kiểm tra sự đề kháng của vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- đối với kháng sinh

Xác định tính nhạy cảm của vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- với 12 loại kháng sinh được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch Mueller-Hinton (MHA) (Bauer *et al.*, 1966). Kết quả xác định mức độ nhạy cảm hay đề kháng của các chủng *E. coli* O157:H7/H- đối với kháng sinh dựa theo tiêu chuẩn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và xét nghiệm (Clinical and Laboratory standards Institute-CLSI, 2018).

Các đĩa kháng sinh được cung cấp bởi Công ty Nam Khoa Biotek (Thành phố Hồ Chí Minh) sử dụng trong nghiên cứu này bao gồm: ampicillin (Am, 10 µg), amoxicillin/clavulanic acid (Ac, 20/10 µg), ceftriaxone (Cx, 30 µg), ceftazidime (Cz, 30 µg), gentamicin (Ge, 10 µg), amikacin (Ak, 30 µg),

kanamycin (Kn, 30 µg), tetracycline (Te, 30 µg), ciprofloxacin (Ci, 5 µg), norfloxacin (Nr, 10 µg), nalidixic acid (Ng, 30 µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (Bt, 1,25/23,75 µg).

2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả được phân tích thống kê bằng phương pháp Chi bình phương, Fisher's exact test với độ tin cậy 95% trên phần mềm Minitab 16.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả xác định sự hiện diện của các gene độc lực trên các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H-

Qua kết quả PCR, sự hiện diện của các gene độc lực (*stx1*, *stx2*, *eae*, *EHEC-hlyA*) của 24 chủng *E. coli* O157:H7/H- được thể hiện qua Bảng 2 và Hình 1, 2, 3, 4.

Bảng 2: Tỷ lệ hiện diện các gene mã hóa độc lực (*stx1*, *stx2*, *eae*, *EHEC-hlyA*) trên các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- (n = 24)

Chủng	SMKS	Gene độc lực							
		<i>stx1</i>		<i>stx2</i>		<i>eae</i>		<i>EHEC-hlyA</i>	
		SM DT	Tỷ lệ (%)	SM DT	Tỷ lệ (%)	SM DT	Tỷ lệ (%)	SM DT	Tỷ lệ (%)
<i>E. coli</i> O157:H7	11	7	63,33	7	63,33	7	63,33	7	63,33
<i>E. coli</i> O157:H-	13	0	0,00	1	7,69	2	15,38	1	7,69
Tổng	24	7	29,17 ^a	8	33,33 ^a	9	37,50 ^a	8	33,33 ^a

SMKS: số mẫu khảo sát; SMDT: số mẫu dương tính.

Trong cùng một hàng, các giá trị với các chữ số giống nhau thì không khác nhau có ý nghĩa thống kê (P>0,05).

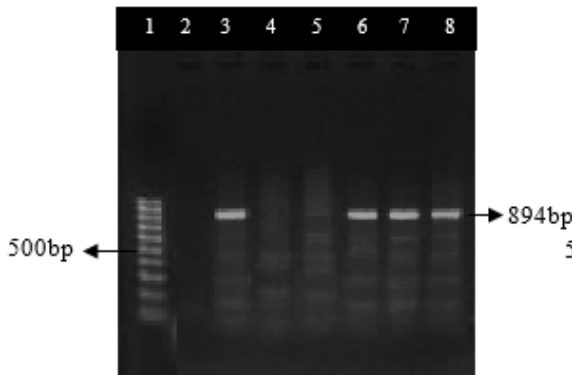
Kết quả khảo sát trên 24 chủng *E. coli* O157:H7/H- cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ hiện diện giữa các gene độc lực *stx1*, *stx2*, *eae*, *EHEC-hlyA* với tỷ lệ lần lượt là 29,17%, 33,33%, 37,50%, và 33,33%. Điều này cho thấy các gene độc lực đều có khả năng hiện diện trên các chủng *E. coli* O157:H7 và *E. coli* O157:H- phân lập được trên bò. Các độc tố này kết hợp với nhau làm ly giải tế bào biểu mô ruột, phá hủy tế bào nội mô cầu thận, kích hoạt tiểu cầu, gây lắng đọng cục máu đông, dẫn đến

suy giảm lọc máu ở cầu thận và suy thận (Eklund, 2005; Murray *et al.*, 2009). Tuy nhiên, kết quả phân tích cũng chỉ ra sự hiện diện của các gene độc lực trên các chủng *E. coli* O157:H7 cao hơn trên các chủng *E. coli* O157:H- (P<0.05), và gene *stx1* chỉ lưu hành trên các chủng *E. coli* O157:H7. Ngoài ra, 7/11 chủng *E. coli* O157:H7 mang cả 4 gene độc lực đặc trưng cho các chủng *E. coli* EHEC độc lực cao. Một số nghiên cứu đã đề cập các chủng *E. coli* O157:H7 thường đặc trưng bởi sự hiện diện của

gene mã hóa độc lực *stx* và *EHEC-hlyA* (Eklund, 2005); tuy nhiên, gene *stx1* có thể mất đi do sự biến chủng yếu tố di động của vi khuẩn *E. coli* O157:H7 (Feng *et al.*, 1998). Toth *et al.* (2009) cũng đã lập luận rằng những chủng *E. coli* O157 mang cả gene *stx* và *eae* thì thuộc nhóm EHEC, những chủng *E. coli* O157 chỉ mang gene *eae* thì thuộc nhóm EPEC, còn những chủng không mang các gene *stx* và *eae* thì thuộc nhóm *E. coli* O157 không điển hình.

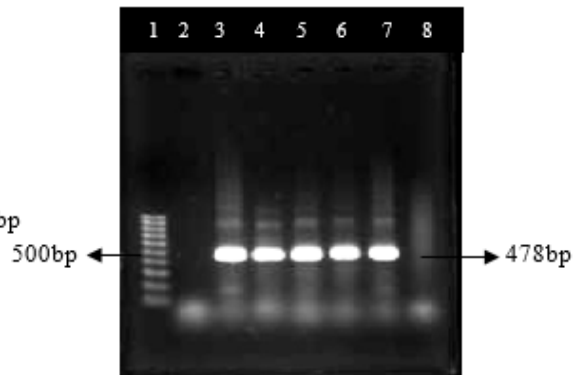
Kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Tâm và *ctv.* (2011) trên các chủng *E. coli* O157:H7 được phân lập từ thịt bò tại một số lò mổ ở Hà Nội đều mang

gene *stx2* và *eae* nhưng chỉ có 2/4 chủng mang gene *stx1*. Theo nghiên cứu của Ly *et al.* (2009), khi kiểm tra 12 mẫu *E. coli* O157:H7/H- trên phân bò tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long với tỷ lệ *stx2* (91,67%), *eae* (83,33%) và *EHEC-hlyA* (100%), nhưng không có sự hiện diện của gene *stx1* trên tất cả các chủng. Đồng thời, kết quả nghiên cứu của Regua-Mangia *et al.* (2012) cũng cho thấy 100% các chủng EHEC O157:H7 được phân lập trên bò đều mang gene *stx* (*stx1* hoặc *stx2* hoặc cả hai) và gene *eae*, chúng được nhận định là mối nguy cơ gây bệnh cho cộng đồng tại Brazil.



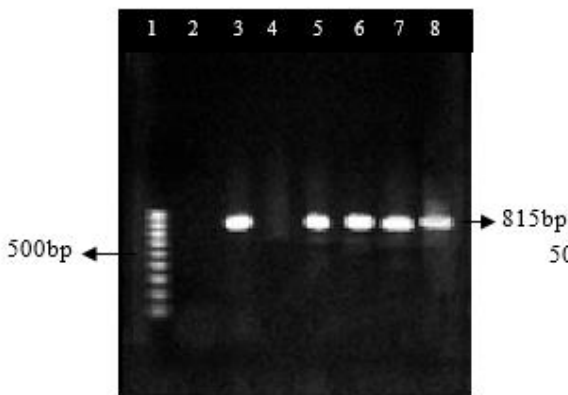
Hình 1: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gene *stx1* (894 bp)

Giếng 1: 100 bp Ladder; Giếng 2: đối chứng âm *stx1*; Giếng 3: đối chứng dương *stx1*; Giếng 4: *E. coli* O157:H- (-); Giếng 5: *E. coli* O157:H7 (-); Giếng 6, 7, 8: *E. coli* O157:H7(+)



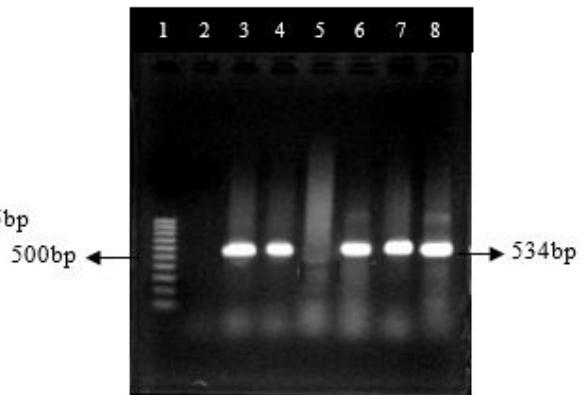
Hình 2: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gene *stx2* (478 bp)

Giếng 1: 100 bp Ladder; Giếng 2: đối chứng âm *stx2*; Giếng 3: đối chứng dương *stx2*; Giếng 4: *E. coli* O157:H- (+); Giếng 5, 6, 7: *E. coli* O157:H7 (+); Giếng 8: *E. coli* O157:H7(-)



Hình 3: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gene *eae* (815 bp)

Giếng 1: 100 bp Ladder; Giếng 2: đối chứng âm *eae*; Giếng 3: đối chứng dương *eae*; Giếng 4: *E. coli* O157:H- (-); Giếng 5: *E. coli* O157:H- (+); Giếng 6, 7, 8: *E. coli* O157:H7(+)



Hình 4: Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định gene *EHEC-hlyA* (534 bp)

Giếng 1: 100 bp Ladder; Giếng 2: đối chứng âm *hlyA*; Giếng 3: đối chứng dương *hlyA*; Giếng 4: *E. coli* O157:H- (+); Giếng 5: *E. coli* O157:H7(-); Giếng 6, 7, 8: *E. coli* O157:H7(+)

3.2 Kết quả kiểm tra sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- phân lập trên bò

lập trên bò được kiểm tra sự nhạy cảm với 12 loại kháng sinh được sử dụng phổ biến trong chăn nuôi và điều trị bệnh trên động vật và con người. Kết quả kiểm tra được thể hiện qua Bảng 3.

Các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- phân

Bảng 3: Sự nhạy cảm của các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- đối với kháng sinh (n = 24)

Kháng sinh	Ký hiệu	Nhạy		Kháng	
		Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Ampicillin	Am	12	50,00	12	50,00
Amox-clavunic acid	Ac	22	91,67	2	8,33
Ceftriaxone	Cx	22	91,67	2	8,33
Ceftazidime	Cz	24	100,00	0	0,00
Gentamycin	Ge	24	100,00	0	0,00
Amikacin	Ak	24	100,00	0	0,00
Kanamycin	Kn	24	100,00	0	0,00
Tetracycline	Te	24	100,00	0	0,00
Ciprofloxacin	Ci	24	100,00	0	0,00
Norfloxacin	Nr	24	100,00	0	0,00
Nalidixic acid	Ng	20	83,33	4	16,67
Bactrim*	Bt	21	87,50	3	12,50

*Bactrim: trimethoprim/sulfamethoxazole

Trong nghiên cứu này, 24 chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- hầu hết đều nhạy cảm với 12 loại kháng sinh được thử nghiệm. Các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- nhạy cảm cao (100%) đối với ceftazidime, gentamycin, amikacin, kanamycin, tetracycline, ciprofloxacin, và norfloxacin, nhưng có sự đề kháng cao đối với kháng sinh ampicillin (50,00%); và có biểu hiện đề kháng với nalidixic acid, bactrim, amox-clavunic acid, và ceftriaxone. Kết quả này cho thấy các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- này vẫn còn nhạy cảm đối với các nhóm kháng sinh được sử dụng trong điều trị bệnh do *E. coli* hiện nay (quinolone, aminoglycoside, cephalosporin), ngoại trừ ampicillin. Điều này có thể do trong quá trình chăn nuôi bò, người nông dân ít sử dụng kháng sinh để trộn vào thức ăn, nước uống để phòng hoặc điều trị bệnh; do đó, hạn chế sự hình thành tính đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn, bao gồm cả *E. coli* O157:H7/H- tồn tại trên vật chủ.

Ly *et al.* (2009) đã ghi nhận một số chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- được phân lập trên phân

bò tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long cũng đề kháng với các kháng sinh ampicillin, streptomycin, oxytetracycline, chloramphenicol, nalidixic acid. Nghiên cứu của Nguyễn Trọng Hải và *ctv.* (2011) về sự nhạy cảm của vi khuẩn *E. coli* O157:H7 phân lập trên trâu, bò khỏe mạnh tại Nam Trung Bộ cũng cho thấy 100% số chủng vi khuẩn đều nhạy cảm với amikacin, cefotacime, cefepime, cefoperazone, gentamycin, polymycin B và 100% chủng vi khuẩn đề kháng với clindamycin, erythromycin, oxacillin. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Stanford *et al.* (2012) thì các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7 được thải ra theo phân trong các trại chăn nuôi bò ở Canada có thể đề kháng cao với các kháng sinh như ampicillin, tetracycline, streptomycin, neomycin, ceftazidime, bactrim.

Mặt khác, kết quả khảo sát cũng ghi nhận các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- có khả năng đề kháng từ 2 đến 5 loại kháng sinh. Kiểu hình và tỷ lệ đa kháng của các chủng *E. coli* O157:H7/H- được trình bày qua Bảng 4.

Bảng 4: Sự đa kháng của vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- đối với kháng sinh (n = 24)

Số kháng sinh đa kháng	Kiểu hình kháng	Số kiểu đa kháng	Số chủng kháng	Tỷ lệ (%)	Tỷ lệ chung (%)
2	Am-Ng	2	1	4,17	8,33
	Am-Ac		1	4,17	
3	Am-Bt-Ng	1	1	4,17	4,17
4	Am-Cx-Bt-Ng	1	1	4,17	4,17
5	Am-Ac-Cx-Bt-Ng	1	1	4,17	4,17
Tổng		5	5		20,83

Các chủng *E. coli* O157:H7/H- trong nghiên cứu này đa kháng với kháng sinh ở tỷ lệ khá thấp (20,83%) với 5 kiểu hình đa kháng. Trong đó, một chủng *E. coli* O157:H- (4,17%) đề kháng đến 5 loại kháng sinh, và tất cả các chủng đề kháng kháng sinh đều đề kháng với ampicillin. Singer *et al.* (2006) đã chứng minh sự đa kháng thuốc của vi khuẩn liên quan đến sự hiện diện của những plasmid mang gene đa kháng và sự hiện diện của các plasmid này bị tác động bởi các yếu tố môi trường, cũng như khả năng kháng acid và tình trạng dinh dưỡng. Theo Ly *et al.* (2009), thì chỉ có 3/15 (20%) chủng *E. coli* O157:H7/H- phân lập được trên phân bò tại Đồng bằng sông Cửu Long đề kháng với kháng sinh; trong đó 100% (3/3) chủng vi khuẩn đề kháng với ampicillin và 1/3 chủng đề kháng với 1 loại kháng sinh, 2/3 chủng đề kháng với 5 loại kháng sinh. Stanford *et al.* (2012) cũng ghi nhận các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7 được thải ra theo phân bò tại các trại chăn nuôi ở Canada đề kháng từ 3 đến 5 loại kháng sinh với nhiều kiểu hình đa kháng. Do đó, việc kiểm soát sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi và điều trị bệnh cho gia súc cần được quan tâm, nhằm mục đích giảm thiểu hiện tượng kháng thuốc và phát tán mầm bệnh có khả năng đề kháng ra môi trường, bảo vệ sức khỏe vật nuôi và con người.

4 KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã cho thấy các gene độc lực (*stx1*, *stx2*, *eae*, *EHEC-hlyA*) hiện diện với tỷ lệ khá cao từ 29,17% đến 37,50% ở các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7/H- phân lập trên bò tại Đồng bằng sông Cửu Long. Các gene độc lực nguy hiểm này hiện diện chủ yếu trên các chủng *E. coli* O157:H7; trong đó, gene *stx1* duy nhất chỉ tìm thấy trên các chủng *E. coli* O157:H7. Ngoài ra, các chủng *E. coli* O157:H7/H- vẫn còn nhạy cảm cao với nhiều loại kháng sinh; tuy nhiên, đã có biểu hiện đề kháng kháng sinh trên một số chủng khảo sát, đề kháng cao nhất là với ampicillin (50%) và có khả năng đề kháng từ 2 đến 5 loại kháng sinh. Qua kết quả nghiên cứu này, cho thấy các chủng *E. coli* O157:H7/H- phân lập được trên bò tại khu vực Đồng bằng sông Cửu Long tiềm ẩn nguy cơ gây bệnh nguy hiểm cao cho cộng đồng.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ Chính phủ Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Albihn, A., Eriksson, E., Wallen, C., and Aspan, A., 2003. Verotoxinogenic *Escherichia coli* (VTEC)

O157:H7- A nationwide Swedish survey of bovine faeces. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 44 (1-2): 43-52. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-44-43>

Armstrong, G.L., Hollingsworth, J., and Morris Jr, J.G., 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.
DOI: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a017914

Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., and Turck, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45(4): 493-49. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493

Bùi Thị Ba, Đào Hoài Thu, Đỗ Văn Tấn, Hoàng Huy Hòa và Vũ Khắc Hùng, 2012. Phân tích một số biến thể của độc tố shiga của vi khuẩn *Escherichia coli* O157:H7 phân lập từ trâu bò khỏe mạnh tại một số tỉnh Nam Trung Bộ. *Tạp chí Khoa học Kỹ Thuật Thú Y*. 19 (3): 33-38.

CDC (Centers for Disease control and prevention), 2012. *Escherichia coli* – General information. <http://www.cdc.gov/ecoli/>.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), 2018. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th Edition. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pennsylvania. United State of American, 282 pages.

Eklund, M., 2005. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) findings from human in Finland. Publications of the National Public Health Institute. Helsinki - Finland, 97 pages.

Feng, P., Lampel, K.A., Karch, H., and Whittam, T.S., 1998. Genotypic and phenotypic changes in the emergence of *Escherichia coli* O157:H7. *The journal of Infectious diseases*. 177(6): 1750-1753. DOI: 10.1086/517438

Gannon, V.P., Rashed, M., King, R.K., and Thomas, E.J., 1993. Detection and characterization of the *eae* gene of shiga-like-toxin producing *E. coli* using polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*. 31(5): 1268-1274. <https://doi.org/10.1128/JCM.31.5.1268-1274.1993>

Ly, T.L.K, Tran, T.P., Nguyen, T.T. *et al.*, 2009. Prevalence of *Escherichia coli* O157 from cattle and foods in the Mekong Delta, Viet Nam. *Journal of Veterinary Epidemiology*. 13(2): 107-113. <https://doi.org/10.2743/jve.13.107>

Murray, P.R., Ten, S.R., and Tench, A.P., 2009. *Medical microbiology*, 6th Edition. Elsevier. Philadelphia – USA, 806 pages.

Nguyễn Trọng Hải, Đào Hoài Thu, Phan Thị Hằng và *ctv.*, 2011. Xác định tỉ lệ nhiễm và khả năng

- kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* O157:H7 phân lập từ trâu bò khỏe mạnh tại một số tỉnh Nam Trung Bộ. Tạp chí Khoa học Kỹ Thuật Thú Y. 18(3): 31-37.
- Olsvik, O., and Strockbine, N.A., 1993. PCR detection of heat-stable, heat-labile and shiga-like toxin genes in *E. coli*. In: Pearsing, D.H., Smith, T.F., Tenover, F.C., White, T.J. (Eds). Diagnostic molecular microbiology. American Society for Microbiology. Washington DC, pp. 271-276.
- Paton, A.W. and Paton, J.C., 1998. Detection and characterization of shiga toxinogenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfbO111*, and *rfbO157*. Journal of Clinical Microbiology. 36(2): 598-602. doi: 10.1128/JCM.36.2.598-602.1998.
- Phạm Thị Tâm, Phạm Công Hoạt và Tô Long Thành, 2011. Xác định các gene độc tố và khả năng gây bệnh của các chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7 phân lập từ thịt bò ở khu vực Hà Nội. Tạp chí Khoa học Kỹ Thuật Thú Y. 18(2): 31-37.
- Regua-Mangia, A.H., Alice, G.M.G., Aloysio, M.F.C., and Joao, R.C.A., 2012. Molecular characterization of *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated from different sources and geographic regions. Journal of Veterinary Science. 13(2): 139-144. doi: 10.4142/jvs.2012.13.2.139
- Sasaki, Y., Masaru, U., Mariko, M. *et al.*, 2012. Antimicrobial resistance in shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and O26 isolates from beef cattle. Japanese Journal of Infectious Diseases. 65(2): 117-121. PMID: 22446117
- Singer, R.S., Ward, M.P., and Maldonado, G., 2006. Can landscape ecology untangle the complexity of antibiotic resistance? Nature Reviews Microbiology. 4: 943-952. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1553>
- Soumet, C., Ermel, G., Fach, P., and Colin, P., 1994. Evaluation of different DNA extraction procedures for the detection of *Salmonella* from chicken products by polymerase chain reaction. Letters in Applied Microbiology. 19(5): 294-298. DOI: 10.1111/j.1472-765x.1994.tb00458.x
- Stanford, K., Agopowicz, C.C., and McAllister, T.A., 2012. Genetic diversity and antimicrobial resistance among isolates of *Escherichia coli* O157:H7 from feces and hides of super-shedders and low-shedding pen-mates in two commercial beef feedlots. BMC Veterinary Research. 8: 178-187. DOI: 10.1186/1746-6148-8-178
- Toth, I., Schmidt, H., Kardos, G. *et al.*, 2009. Virulence genes and molecular typing of different groups of *Escherichia coli* O157 strains in cattle. Applied and Environmental Microbiology. 75(19): 6282-6291. DOI: 10.1128/AEM.00873-09
- Watanabe, K., Akiko, M., Naomi, K., Masao, K., and Yuki, K., 2010. An outbreak of food poisoning due to Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in Niigata, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases. 63(2): 146-147. PMID: 20332583