

XÁC ĐỊNH KHẢ NĂNG SẢN SINH ĐỘC TỔ ĐƯỜNG RUỘT CỦA VI KHUẨN *SALMONELLA* SPP, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PHÂN LẬP TRÊN THỊT LỢN BÁN TẠI CHỢ Ở MỘT SỐ TỈNH PHÍA BẮC VIỆT NAM

Đặng Thị Mai Lan, Đặng Xuân Bình
Khoa Chăn nuôi Thú y - Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

TÓM TẮT

Qua kiểm tra thịt lợn tươi bán tại chợ ở các tỉnh phía Bắc đã phát hiện 50% mẫu thịt nhiễm các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp và 46,15% mẫu nhiễm các chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* sản sinh độc tố đường ruột.

Đã xác định được 3 serovar *Salmonella* spp nhiễm trên thịt lợn, bao gồm *Salmonella typhimurium* (61,53%), *Salmonella weltevreden* (15,38%) và *Salmonella anatum* (23,08%).

Đã xác định được ADN mang gene mã hóa sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được; Sản phẩm PCR nhân đoạn gene mã hóa sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *Salmonella* có kích thước khoảng 259 bp.

Đã xác định được ADN mang gene mã hóa sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *Staphylococcus aureus* phân lập được, sản phẩm PCR nhân đoạn gene mã hóa sản sinh độc tố đường ruột nhóm B (*Staphylococcal enterotoxin B* - SEB) có kích thước khoảng 534 bp.

Từ khóa: Thịt lợn tươi, *Salmonella* spp, *Staphylococcus*, Độc tố đường ruột, PCR.

Determination of the enterotoxin release ability of *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* isolated from fresh pork selling at the markets in Northern provinces, Viet Nam

Dang Thi Mai Lan, Dang Xuan Binh

SUMMARY

The result of determining bacteria contamination in fresh pork selling at the open air markets in Northern provinces showed that 50% and 46.15% of fresh pork samples contaminated with enterotoxin release *Salmonella* spp and *Staphylococcus aureus* respectively.

3 serovar *Salmonella* spp were found in the fresh pork samples, including *Salmonella typhimurium* (61.53%), *Salmonella weltevreden* (15.38%), and *Salmonella anatum* (23.08%).

The DNA carrying the enterotoxin release encoded gene of the isolated *Salmonella* spp was identified. The length of this PCR product was about 259 bp.

The DNA carrying the enterotoxin release encoded gene of the isolated *Staphylococcus aureus* was also identified. The length of this PCR product was about 534 bp.

Keywords: Fresh pork, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, Enterotoxin, PCR

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những năm gần đây, ngộ độc thực phẩm (NDTP) xảy ra thường xuyên làm ảnh hưởng

ng nghiêm trọng đến sức khỏe con người. Nguyên nhân chủ yếu là do thực phẩm có nguồn gốc động vật không đảm bảo vệ sinh thú y, bị nhiễm một số loại vi khuẩn như: *E. coli*, *Campylobacter*

jejuni, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) và *Listeria monocytogenes*... (Li Y. C. et al, 2014).

Ono H. K et al. (2008) cho biết: Trên thế giới, các vụ NĐTP do vi sinh vật chiếm 70%. Tại các nước châu Á, vi khuẩn *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* và *S. aureus* là nguyên nhân hàng đầu gây ra các vụ ngộ độc. Vally H. et al. (2014) thông báo có 98% số ca nhiễm *Clostridium perfringens* qua thực phẩm, nhiễm *L. monocytogenes* chiếm 98%, *Salmonella* spp. chiếm 72% và *Campylobacter* spp. chiếm 77%, Ngô Văn Bắc và Trương Quang (2008) thấy có 1,33% mẫu thịt lợn tại lò mổ được kiểm tra không đạt yêu cầu về chỉ tiêu *S. aureus*.

Xuất phát từ thực tế như nêu trên, chúng tôi đã tiến hành đề tài xác định tỷ lệ nhiễm một số vi khuẩn gây NĐTP trên thịt lợn bán tại chợ và khả năng sản sinh độc tố đường ruột (Enterotoxin) của các vi khuẩn *Salmonella* spp, *S. aureus* phân lập được.

II. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Bảng 1. Cặp mồi sử dụng cho phản ứng PCR

Vi khuẩn	Mồi	Trình tự nucleotide	Kích thước sản phẩm PCR (bp)
<i>Salmonella</i> spp	Stn- F	5'- CTTTGGTCGTAAATAAGGCG- 3'	259
	Stn- R	5'- TGCCCCAAGCAGAGAGATTC- 3'	
<i>S. aureus</i>	SEB - F	ccgGAATTCatgCCAGATGAGTTGCACAAA	534
	SEB - R	cccAAGCTTtcaTCCCGTTTCATAGGCGA	

(Nguồn: Phòng Công nghệ sinh học môi trường - Viện Công nghệ sinh học)

- Cặp mồi đặc hiệu được sử dụng cho phản ứng PCR nhận các đoạn gene đích được thiết kế dựa trên trình tự chuẩn của đoạn gene SEB (*Staphylococcus aureus* B) trên ngân hàng gene quốc tế - (NCBI).

- Máy móc, dụng cụ phòng thí nghiệm vi sinh vật.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Xác định tỷ lệ nhiễm *Salmonella* và *S. aureus* trên thịt lợn thu thập tại chợ.

- Xác định khả năng sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *Salmonella* và *S. aureus* bằng “Phản ứng khuếch tán trong da thỏ”.

- Xác định serovar các chủng *Salmonella* spp phân lập được bằng phương pháp ngưng kết nhanh trên phiến kính.

- Phát hiện gen mã hóa khả năng sản sinh độc tố đường ruột (Enterotoxin) của vi khuẩn *Salmonella* spp và *S. aureus* phân lập được.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

- Thịt lợn tươi thu thập từ quầy bán thịt một số chợ trung tâm trên địa bàn các tỉnh Thái Nguyên, Hà Đông (Hà Nội), Bắc Giang, Vĩnh Phúc.

- Các loại môi trường thông thường và đặc hiệu để nuôi cấy, phân lập và giám định đối với các vi khuẩn *Salmonella* spp và *S. aureus*.

- Các cặp mồi tương ứng của phản ứng PCR để phát hiện gene mã hóa khả năng sản sinh độc tố của hai loại vi khuẩn được lựa chọn (bảng 1).

- Phân lập vi khuẩn *Salmonella* spp. theo TCVN 5153:1990, vi khuẩn *Staphylococcus aureus* theo TCVN 5156:1990.

- Xác định khả năng sản sinh độc tố đường ruột theo quy trình thường quy.

- Thử khả năng gây chết chuột thí nghiệm.

- Phản ứng khuếch tán trong da thỏ theo Sandefur và Peterson (1976) .

- Ngưng kết nhanh trên phiến kính theo sơ đồ của Kauffmann - White (1972) và phương pháp của Popoff M. Y. và Le Minor L. (1997).

- Phương pháp PCR phát hiện gene mã hóa khả năng sản sinh độc tố.

- Số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê sinh học theo Chu Văn Mẫn, Đào Hữu Hồ (1999), phần mềm SaS (Sas 9.3.1 statistical software).

Địa điểm nghiên cứu

- Bộ môn Vi sinh - Viện Khoa học sự sống - Đại học Thái Nguyên.

- Bộ môn Vệ sinh Thú y - Viện Thú y.

- Phòng Công nghệ sinh học môi trường và

Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gene - Viện Công nghệ sinh học.

Thời gian nghiên cứu: Từ năm 2012 đến năm 2015.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Salmonella* spp., *S. aureus* trên thịt lợn bán tại chợ

Phục vụ cho việc xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Listeria*, *Salmonella* spp. và *S. aureus*, 358 mẫu thịt lợn bán tại chợ Trung tâm của tỉnh Thái Nguyên, Bắc Giang, Hà Nội và Vĩnh Phúc đã được thu thập. Kết quả nuôi cấy, phân lập xác định tỷ lệ nhiễm được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* spp. và *S. aureus*

Địa điểm	Số mẫu phân lập	<i>Salmonella</i> spp.		<i>S. aureus</i>	
		Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Thái Nguyên	105	12	11,43	79	75,24
Bắc Giang	89	11	12,36	74	83,15
Hà Nội	88	9	10,23	67	76,14
Vĩnh Phúc	76	9	11,84	55	72,37
Tính chung	358	41	11,45	275	76,82

Kết quả cho thấy: Các mẫu thịt lợn bày bán tại Thái Nguyên có tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. là 11,43% và *S. aureus* là 75,24%.

Tại Bắc Giang, các mẫu thịt lợn có tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. là 12,36% và *S. aureus* là 83,15%.

Tại Hà Đông (Hà Nội), các mẫu thịt lợn có tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. là 10,23% và *S. aureus* là 76,14%.

Tại Vĩnh Phúc, các mẫu thịt lợn có tỷ lệ nhiễm là 13,16%; *Salmonella* spp. là 11,84% và *S. aureus* là 72,37%.

Tính chung cho thấy: các mẫu thịt lợn được bày bán có tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. chiếm 11,45 % (tỷ lệ dao động từ 10,23 - 12,36 %) và *S. aureus* chiếm 76,82 % (tỷ lệ dao động

từ 72,37 - 83,15 %). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Lê Minh Sơn (2003). Các mẫu dương tính với vi khuẩn được kiểm tra các phản ứng sinh hóa và kiểm tra độc lực, từ đó lựa chọn ra các chủng có độc lực mạnh nhất để tiến hành xác định khả năng sản sinh độc tố.

3.2. Xác định khả năng sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *Salmonella* bằng “Phản ứng khuếch tán trong da thỏ”

26/41 chủng *Salmonella* spp. có độc lực mạnh nhất phân lập được trên thịt lợn bán tại chợ (thể hiện qua khả năng gây chết 100% chuột thí nghiệm) được kiểm tra khả năng sản sinh độc tố đường ruột bằng phản ứng tiêm nội bì da thỏ huyền dịch độc tố đã xử lý nhiệt (thử độc tố chịu nhiệt). Kết quả thu được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xác định khả năng sản sinh độc tố đường ruột (Enterotoxin) của vi khuẩn *Salmonella* spp bằng “Phản ứng khuếch tán trong da thỏ”

Đợt thử	Số chủng thử	Số chủng sản sinh độc tố	Tỷ lệ (%)	Số chủng không sản sinh độc tố	Tỷ lệ (%)
Đợt 1	8	3	37,50	5	62,50
Đợt 2	10	6	60,00	4	40,00
Đợt 3	8	4	50,00	4	50,00
Tính chung	26	13	50,00	13	50,00

Từ bảng 3 cho thấy: 13/26 chủng (chiếm 50%) *Salmonella* spp thử nghiệm sản sinh độc tố đường ruột và 13 chủng (chiếm 50%) không sản sinh độc tố đường ruột. Khả năng sản sinh độc tố đường ruột thể hiện tính gây bệnh của chủng vi khuẩn phân lập được.

3.3. Xác định khả năng sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *S. aureus* bằng “Phản ứng khuếch tán trong da thỏ”

Tương tự thí nghiệm với *Salmonella* spp, từ 275 chủng vi khuẩn *S. aureus* nhiễm trên thịt lợn bán tại chợ để kiểm tra khả năng sản sinh độc tố đường ruột, chúng tôi đã lựa chọn 117 chủng có độc lực mạnh nhất thể hiện qua khả năng gây chết 100% chuột thí nghiệm làm phản ứng tiềm nội bì da thỏ huyền dịch độc tố đã xử lý nhiệt (thử độc tố chịu nhiệt). Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Khả năng sản sinh độc tố đường ruột (Enterotoxin) của vi khuẩn *S. aureus*

Đợt thử	Số chủng thử	Số chủng sản sinh độc tố	Tỷ lệ (%)	Số chủng không sản sinh độc tố	Tỷ lệ (%)
Đợt 1	33	14	42,42	19	57,58
Đợt 2	46	23	50,00	23	50,00
Đợt 3	38	17	44,74	21	55,26
Tính chung	117	54	46,15	63	53,85

Từ bảng 4, các kết quả cho thấy: 54/117 (46,15%) chủng *S. aureus* phân lập được sản sinh độc tố đường ruột và 53,85% chủng không sản sinh độc tố đường ruột. Đây là yếu tố gây bệnh của vi khuẩn *S. aureus*.

3.4. Xác định serovar của vi khuẩn *Salmonella* spp phân lập được

Đã lựa chọn 13 chủng *Salmonella* spp phân lập được có biểu hiện sản sinh độc tố gây bệnh để bố trí thí nghiệm xác định serovar theo quy trình của Kauffmann - White. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Từ bảng 5, các kết quả cho thấy: Vi khuẩn *Salmonella* spp phân lập được đã cho kết quả

dương tính trong phản ứng ngưng kết nhanh trên phiến kính với các serovar kháng huyết thanh chuẩn (O, H1, H2), thể hiện rõ so với các đối chứng dương và đối chứng âm. Thí nghiệm đã định loại được 3 serovar *Salmonella* spp khác nhau, trong đó có 8 chủng *Salmonella* spp thuộc về loài *S. typhimurium* (61,53%), 2 chủng thuộc loài *S. weltevreden* (15,38%), 3 chủng thuộc về loài *S. anatum* (23,08%). Kết quả của chúng tôi cho thấy loài *S. typhimurium* chiếm nhiều nhất (61,53%), tương tự với kết quả của Võ Thị Bích Thủy và cs (2002); Phạm Thị Ngọc và cs (2013) khi tiến hành phân lập, xác định serotype của vi khuẩn *Salmonella* spp ô nhiễm trên thịt có nguồn gốc động vật khu vực Hà Nội.

Bảng 5. Kết quả xác định serovar của vi khuẩn *Salmonella* spp phân lập được

STT	Ký hiệu mẫu	O	H1	H2	Serovar
1	Sal 1	A 4	A i	1, 2	<i>Typhimurium</i>
2	Sal 2	A 4	A i	1, 2	<i>Typhimurium</i>
3	Sal 3	A 4	A i	1, 2	<i>Typhimurium</i>
4	Sal 4	A3, 10, 15	C r	Z6	<i>Weltevreden</i>
5	Sal 5	A 4	A i	1, 2	<i>Typhimurium</i>
6	Sal 12	A 4	A i	1, 2	<i>Typhimurium</i>
7	Sal 17	O3, 10	e, h	1, 6	<i>Anatum</i>
8	Sal 24	A 4	A i	1, 2	<i>Typhimurium</i>
9	Sal 28	O3, 10	e, h	1, 6	<i>Anatum</i>
10	Sal 35	A 4	A i	1, 2	<i>Typhimurium</i>
11	Sal 36	A 4	A i	1, 2	<i>Typhimurium</i>
12	Sal 38	O3, 10	e, h	1, 6	<i>Anatum</i>
13	Sal 40	A3, 10, 15	C r	Z6	<i>Weltevreden</i>

3.5. Kết quả phát hiện gene mã hóa sản sinh Enterotoxin của vi khuẩn *Salmonella* spp phân lập được

3.5.1 Kết quả xác định ADN tổng số mang gene mã hóa sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *Salmonella* spp

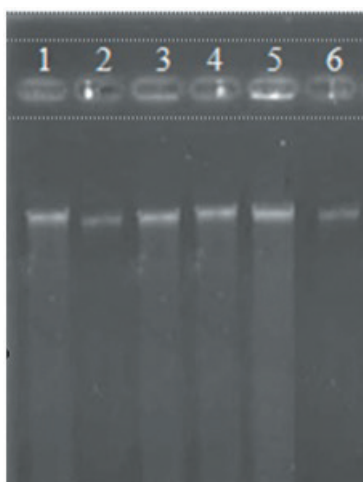
Đã lựa chọn 13 chủng *Salmonella* spp bao gồm *S. typhimurium* (8 chủng); *S. weltevreden* (3 chủng) và *S. anatum* (2 chủng) để tách chiết, xác định ADN tổng số có mang đoạn gene mã hóa sản sinh độc tố đường ruột theo quy trình tách chiết của kit QIAamp ADN Minikit. Kết quả thu được trình bày ở bảng 6, hình 1 và hình 2.

Bảng 6. Kết quả tách chiết xác định ADN tổng số mang gene sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *Salmonella* spp

Số đợt tách chiết ADN	Số chủng tách chiết ADN	Kết quả			
		Số chủng biểu thị	Tỷ lệ (%)	Số chủng không biểu thị	Tỷ lệ (%)
Đợt 1	3	1	33,33	2	66,67
Đợt 2	6	3	50,00	3	50,00
Đợt 3	4	2	50,00	2	50,00
Tính chung	13	6	46,15	7	53,85

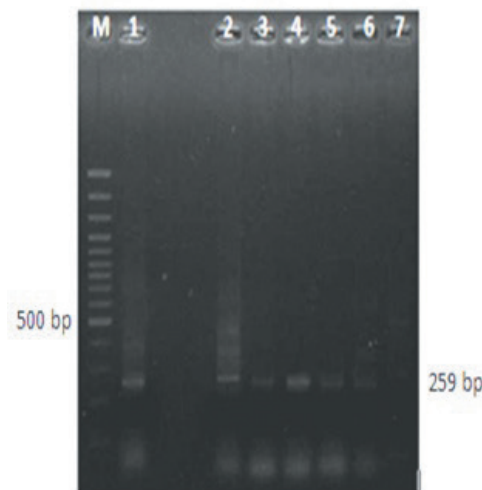
Kết quả điện di trên hình 1 cho thấy ADN tổng số của 6 chủng *Salmonella* đều rõ nét, không có vạch phụ kèm theo. Kết quả của chúng tôi thấy tương tự kết quả của H.V. Murugkar et

al (2003), Dinjus U et al. (1997). Do vậy sản phẩm tách ADN tổng số của 6 chủng vi khuẩn *Salmonella* này được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.



Giếng số 1: ADN tổng số của chủng S1
Giếng số 2: ADN tổng số của chủng S2
Giếng số 3: ADN tổng số của chủng S3
Giếng số 4: ADN tổng số của chủng S4
Giếng số 5: ADN tổng số của chủng S17
Giếng số 6: ADN tổng số của chủng S36

Hình 1. Điện di đồ sản phẩm ADN tổng số của các chủng vi khuẩn *Salmonella*



M: Marker 100 bp, Fermentas, Mỹ
Giếng số 1: Sản phẩm PCR của chủng S1
Giếng số 2: Sản phẩm PCR của chủng S2
Giếng số 3: Sản phẩm PCR của chủng S3
Giếng số 4: Sản phẩm PCR của chủng S4
Giếng số 5: Sản phẩm PCR của chủng S17
Giếng số 6: Sản phẩm PCR của chủng S36
Giếng số 7: Đối chứng âm

Hình 2. Điện di đồ sản phẩm PCR nhân gene độc tố ở các mẫu

3.5.2 Kết quả nhân đoạn gene quy định sản sinh độc tố của vi khuẩn *Salmonella* spp

Sau khi tách ADN tổng số của các chủng *Salmonella*, đã sử dụng kỹ thuật PCR để nhân gene mã hóa sản sinh độc tố đường ruột với cặp mồi đặc hiệu là Stn - F và Stn - R. Thành phần phản ứng PCR và chu kỳ nhiệt đã được trình bày ở mục phương pháp nghiên cứu. Sản phẩm PCR đã được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1 %. Kết quả được thể hiện ở hình 2.

Tại hình 2 cho thấy tất cả sản phẩm PCR của 6 chủng vi khuẩn *Salmonella* spp đều biểu hiện đặc hiệu và không có vạch phụ kèm, kích thước khoảng 259 bp, đúng theo tính toán lý thuyết. Sau đó các sản phẩm PCR này đã được chúng tôi tinh sạch và xác định trình tự gene, kết quả

cho thấy sự phù hợp cao với các gene sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *Salmonella* spp đã được công bố trên ngân hàng gene quốc tế.

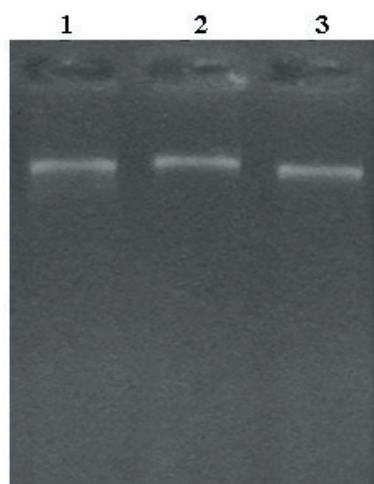
3.6. Kết quả phát hiện gene sản sinh độc tố đường ruột nhóm B của vi khuẩn *S. aureus* phân lập được

3.6.1 Kết quả xác định ADN tổng số mang gene mã hóa sản sinh độc tố đường ruột của *S. aureus*

Sử dụng 54 chủng *S. aureus* có biểu hiện sản sinh độc tố đường ruột nhóm B (Staphylococcal enterotoxin B - SEB) để xác định ADN tổng số mang gene mã hóa về khả năng gây bệnh này. Kết quả được trình bày ở bảng 7, hình 3 và hình 4.

Bảng 7. Kết quả tách chiết xác định ADN tổng số mang gene sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *S. aureus*

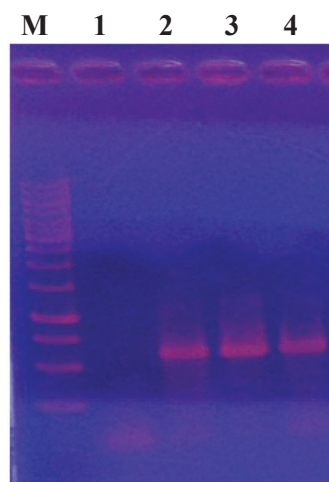
Số đợt tách chiết ADN	Số chủng VK tách chiết ADN	Kết quả			
		Số chủng VK biểu thị	Tỷ lệ (%)	Số chủng VK không biểu thị	Tỷ lệ (%)
Đợt 1	14	8	57,14	6	42,86
Đợt 2	23	12	52,17	11	47,83
Đợt 3	17	7	41,18	10	58,82
Tính chung	54	27	50,00	27	50,00



Giếng số 1: ADN tổng số của chủng S1

Giếng số 2: ADN tổng số của chủng S23

Giếng số 3: ADN tổng số của chủng S24

Hình 3. Điện di đồ sản phẩm ADN tổng số của các chủng vi khuẩn *S. aureus*

M: Marker 1 kb, Fermentas, Mỹ

Giếng số 1: Đối chứng âm

Giếng số 2: Sản phẩm PCR của chủng S1

Giếng số 3: Sản phẩm PCR của chủng S23

Giếng số 4: Sản phẩm PCR của chủng S24

Hình 4. Điện di đồ sản phẩm khuếch đại gene *SEB* của vi khuẩn *S. aureus* ở các mẫu S1, S23, S24

Kết quả điện di trên hình 3 cho thấy ADN tổng số của vi khuẩn *S. aureus* mang gene mã hóa sản sinh SEB là một băng sáng, đều, rõ nét, không có vạch phụ kèm theo. Kết quả này của chúng tôi thấy phù hợp với nghiên cứu của Ono H. K et al (2008). Như vậy, các chủng vi khuẩn *S. aureus* này đều đủ điều kiện để nhân dòng đoạn gene quy định sản sinh SEB bằng kỹ thuật PCR.

3.6.2 Kết quả nhân đoạn gene quy định sản sinh *SEB* của vi khuẩn *S. aureus*

Sau khi tách được ADN tổng số của các chủng vi khuẩn *S. aureus*, mục đích tiếp theo là nhân được gene SEB có kích thước 534 bp. Dựa

vào trình tự gene SEB trên ngân hàng gene, cặp mỗi SEB - F và SEB - R đặc hiệu để khuếch đại đoạn gene SEB có kích thước 534 bp đã được thiết kế và tổng hợp. Với nguyên liệu là ADN tổng số, cặp mỗi đặc hiệu và các thành phần cần thiết, chúng tôi tiến hành phản ứng PCR để khuếch đại đoạn gene SEB. Sản phẩm PCR đã được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1 %. Kết quả thu được thể hiện tại hình 4.

Đối chứng âm, luôn thực hiện đồng thời khi tiến hành phản ứng là mẫu có chứa đầy đủ các thành phần của phản ứng PCR, chỉ khác là thay

mẫu ADN bằng nước cất. Kết quả sau điện di không cho một băng nào. Điều này chứng tỏ trong quá trình thao tác không bị tạp nhiễm ADN lạ. Mục đích chính của mẫu đối chứng âm là xem băng ADN thu được có phải là đoạn ADN quan tâm hay là ADN lạ tạp nhiễm vào do quá trình thao tác hoặc do dụng cụ thí nghiệm, hóa chất bị nhiễm bẩn.

Tại hình 4 kết quả cho thấy tất cả sản phẩm PCR nhân đoạn gene mã hóa sản sinh SEB của vi khuẩn *S. aureus* đều đặc hiệu, rõ nét và không có vạch phụ kèm theo, có kích thước khoảng 534 bp đúng theo tính toán lý thuyết. Các thí nghiệm khác của chúng tôi thực hiện khi nhân đoạn gene SEB đều cho kết quả dương tính, tương tự.

IV. KẾT LUẬN

- Đã xác định 3 serovar *Salmonella* spp khác nhau, trong đó có 8 chủng *Salmonella* spp thuộc về loài *S. typhimurium* (61,53%), 2 chủng thuộc loài *S. weltevreden* (15,38%), 3 chủng thuộc về loài *S. anatum* (23,08%).

- Đã phát hiện 50% số chủng vi khuẩn *Salmonella* spp và 46,15% chủng vi khuẩn *S. aureus* phân lập được từ thịt lợn sản sinh độc tố đường ruột (enterotoxin), thể hiện tính gây bệnh.

- Đã xác định được ADN mang gene mã hóa quy định khả năng sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *Salmonella* spp; sản phẩm nhân gene mã hóa sản sinh độc tố đường ruột của vi khuẩn *S. typhimurium*, *S. weltevreden* và *S. anatum* đều biểu hiện đặc hiệu, kích thước khoảng 259 bp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngô Văn Bắc, Trương Quang (2008), “Khảo sát tình trạng ô nhiễm vi khuẩn trong thịt lợn sữa, lợn choai xuất khẩu tại một số cơ sở giết mổ trên địa bàn Hải Phòng”, *Tạp chí Khoa học & Phát triển*, Đại học Nông nghiệp I, Hà Nội, Tập VI - Số 1, tr. 21 - 25.
2. Chu Văn Mẫn, Đào Hữu Hồ (1999). Giáo trình thống kê sinh học: Dùng cho sinh viên ngành sinh học, y học, sư phạm, nông nghiệp, lâm chuyên ngành, môi trường, thủy sản... các trường đại học và cao đẳng.
3. Phạm Thị Ngọc, Nguyễn Tiến Thành, Trần Thị Hạnh, Nguyễn Việt Hùng (2013), “Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trên lợn tại một số trang trại và lò mổ thuộc các tỉnh phía Bắc Việt Nam”, *Tạp chí Y học dự phòng, tập 23, số 4, tr. 59 - 66*.
4. Nguyễn Quang Tuyên, Lê Xuân Thắng (2009), “Kết quả xác định ô nhiễm một số vi khuẩn trên thịt lợn tại khu vực Tp. Yên Bái”, *Tạp chí KHKT Thú y*, Tập XVI (3), tr. 29 - 33.
5. Li Y. C., Pan Z. M., Kang X. L., Geng S. Z., Liu Z. Y., Cai Y. Q., Jiao X. A. (2014), “Prevalence, characteristics, and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* in retail pork in Jiangsu province, eastern China”, *Journal of Food Protection*, 77 (2), pp. 236 - 245.
6. Ono H. K., Omoe K., Imanishi K., Iwakabe Y., Hu D. L., Kato H. (2008), “Identification and characterization of two novel staphylococcal enterotoxins”, *Infection and Immunity*, 76 (11), pp. 4999 - 5005.
7. Quinn P. J., Carter M. E., Makey B. K., Carter G. R. (2002), *Clinical veterinary microbiology*, Wolfe Publishing, London WC1 H9LB.
8. Dinjus U, Hänel I, Müller W, Bauerfeind R, Helmuth R (1997), Detection of the induction of *Salmonella* enterotoxin gene expression by contact with epithelial cells with RT-PCR. *FEMS Microbiol Lett.* 1997 Jan 15;146(2):175-9.
9. H.V. Murugkar, H. Rahman & P.K. Dutta (2003), Distribution of virulence genes in *Salmonella* serovars isolated from man & animals. *Indian J Med Res* 117, February 2003, pp 66-70.

Nhận ngày 10-5-2016

Phản biện ngày 28-7-2016