

# SỰ HIỆN DIỆN CỦA MỘT SỐ GEN ĐỘC LỰC VÀ GEN KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *ESCHERICHIA COLI* PHÂN LẬP TRÊN BÒ TẠI ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Lý Phương Vy, Nguyễn Trần Phước Chiến, Nguyễn Khánh Thuận\*

Khoa Thú y, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

\*Tác giả liên hệ email: nkthuan@ctu.edu.vn

## TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định sự hiện diện của một số gen độc lực và gen kháng kháng sinh trên 151 chủng vi khuẩn *Escherichia coli* phân lập từ bò ở đồng bằng sông Cửu Long trong năm 2022 bằng phương pháp PCR. Kết quả nghiên cứu cho thấy trong tổng số 151 chủng *E. coli*, có 74 chủng (49,01%) mang từ 1 đến 4 gen độc lực đã được xác định. Trong đó, các chủng chỉ mang gen *stx1* hiện diện với tỷ lệ cao nhất (14,57%), kế đến là các chủng mang hai gen độc lực *stx2* + *hlyA* (11,92%). Các chủng vi khuẩn *E. coli* đã được thử nghiệm về tính mẫn cảm của chúng với 13 loại kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Kết quả nghiên cứu cho thấy các chủng *E. coli* nhạy cảm cao đối với hầu hết các loại kháng sinh, tuy nhiên vẫn có tỷ lệ cao các chủng *E. coli* đề kháng với ampicillin (47,68%), colistin (46,36%), streptomycin (43,71%), và tetracycline (41,72%). Các chủng *E. coli* này có thể đề kháng từ 1 đến 12 loại kháng sinh được khảo sát và đa kháng với 5 loại kháng sinh (18,54%) là phổ biến nhất. Kết quả kiểm tra sự hiện diện của 5 gen đề kháng kháng sinh (*blaampC*, *blaTEM*, *blaCTX-M1*, *strA* và *aadA1*) bằng phương pháp PCR cho thấy gen *blaampC* hiện diện trên tất cả 151 chủng *E. coli* (100%), kế đến là gen *strA* (45,70%), gen *blaTEM* (43,05%), và gen xuất hiện ít nhất là *blaCTX-M1* (9,93%). Có 13 kiểu ghép gen kháng kháng sinh trên các chủng *E. coli* đã được ghi nhận, và kiểu ghép gen *blaampC* + *blaTEM* + *strA* xuất hiện phổ biến nhất (13,25%). Sự hiện diện của các gen độc lực và kháng kháng sinh trên vi khuẩn *E. coli* phân lập từ bò ở đồng bằng sông Cửu Long cho thấy mối nguy này cần được quan tâm nhằm bảo vệ sức khỏe vật nuôi và sức khỏe cộng đồng ở đồng bằng sông Cửu Long.

**Từ khóa:** Độc lực, đề kháng kháng sinh, *E. coli*, bò, đồng bằng sông Cửu Long.

## Prevalence of virulence genes and antibiotic-resistance genes in *Escherichia coli* isolated from cattle in the Mekong delta

Nguyen Ly Phuong Vy, Nguyen Tran Phuoc Chien, Nguyen Khanh Thuan

## SUMMARY

This study was conducted to determine the prevalence of virulence genes and antibiotic-resistance genes in 151 *Escherichia coli* strains isolated from cattle in the Mekong Delta in 2022, by PCR assay. The studied result showed that out of 151 isolated *E. coli* strains, there were 74 strains (49.01%) harboring from one to four virulence genes investigated. Among them, the rate of strains harboring the *stx1* gene was the highest (14.57%), followed by the strains carrying two virulence genes: *stx2* + *hlyA* (11.92%). Testing the antimicrobial susceptibility of the isolated *E. coli* strains with 13 antibiotics was carried out by Kirby–Bauer method. The tested result showed that the *E. coli* strains were sensitive with most of the antibiotics, However, there was still a high rate of *E. coli* strains resistant to ampicillin (47.68%), colistin (46.36%), streptomycin (43.71%), and tetracycline (41.72%). Those *E. coli* strains could resist from one to twelve antibiotics, and the resistance to 5 antibiotics (18.54%) was the most popular. The result of testing prevalence of five antibiotic-resistance genes (*blaampC*, *blaTEM*, *blaCTX-M1*, *strA*, and *aadA1*) showed that the *blaampC* gene was presented at all 151 *E. coli* strains (100%), followed by *strA* gene (45.70%), *blaTEM* gene (43.05%), and *blaCTX-M1* (9.93%). Thirteen antibiotic-resistance patterns of *E. coli* strains were recognized, and the pattern of *blaampC* + *blaTEM* + *strA* was exhibited popularly (13.25%). The prevalence of virulence genes and antibiotic-resistance genes in *E. coli* isolated from cattle in the Mekong Delta indicate that these factors is a hazard that needs to concern to protect the animal and community health in the Mekong Delta.

**Keywords:** Virulence, antibiotic resistance, *E. coli*, cattle, Mekong Delta.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

*Escherichia coli* (*E. coli*) là một trong những nguyên nhân gây bệnh nguy hiểm cho động vật và con người. Nhiều chủng vi khuẩn *E. coli* hiện diện trên gia súc và có khả năng truyền lây, sản sinh các loại độc tố gây bệnh cho con người (Dewsbury và cs., 2015; Fratamico và cs., 2011). Trong các loài gia súc, bò là loài thường xuyên được ghi nhận có hiện diện các chủng *E. coli* thuộc các nhóm huyết thanh gây bệnh trên người. Ngoài ra, trong các độc tố của *E. coli* gây bệnh trên người, có bốn yếu tố độc lực được xét nghiệm phổ biến, bao gồm độc tố tế bào Shiga 1 và Shiga 2 (được mã hóa bởi gen *stx1* và *stx2* tương ứng), protein intimin (được mã hóa bởi gen *eae*) và yếu tố độc lực gây tan huyết (được mã hóa bởi gen *hlyA*) (Menestrina và cs., 1994; Solomakos và cs., 2009). Một số nghiên cứu về vi khuẩn *E. coli* được thực hiện trên gia súc tại Việt Nam, chủ yếu nhằm xác định sự lưu hành của *E. coli* O157:H7/- và độc lực của các chủng này. Các báo cáo hầu hết đều ghi nhận có sự hiện diện của *E. coli* O157:H7/- và các chủng này đều có thể mang đơn lẻ gen độc lực hoặc mang ghép các gen. Nakasone và cs. (2005) phân lập *E. coli* O157:H7 trên bò tại miền Bắc Việt Nam đã ghi nhận các chủng này mang các gen độc lực *eae*, *ehxA*, *stx2c*. Tại miền Trung Việt Nam, Hung và Cornick (2008) khảo sát sự hiện diện của vi khuẩn EHEC và các gen độc lực của chúng trên gia súc (trâu, bò, dê) khỏe mạnh tại đây đã phát hiện 99 chủng mang cả gen *stx1* và *stx2*, 36 chủng chỉ mang gen *stx2* và 35 chủng chỉ mang gen *stx1*. Trên thế giới, có nhiều báo cáo về sự lưu hành của các gen độc lực *stx*, *eae*, *hlyA* trên *E. coli* không thuộc nhóm O157 phân lập từ bò như nghiên cứu của Arthur và cs. (2002) cho thấy tỷ lệ hiện diện của các gen *stx1*, *stx2*, *eae* và *hlyA* trên các chủng *E. coli* không phải nhóm O157 lần lượt là 47,1%; 36,6%; 11,9% và 27,1%; có 16,3% chủng mang cả hai gen *stx1* và *stx2*. Tuy nhiên, tại Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu về các gen độc lực này trên các chủng vi khuẩn *E. coli* không thuộc nhóm O157 được công bố phổ biến.

Ngoài ra, vấn đề kháng kháng sinh của vi khuẩn ngày càng trở nên phức tạp. Những yếu tố về mặt di truyền (các gen kháng kháng sinh trên DNA hay plasmid) là cơ sở làm lan truyền tính

đề kháng kháng sinh giữa các chủng vi khuẩn (Carattoli, 2009). Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi có liên quan đến các chủng vi khuẩn đề kháng kháng sinh trên người (Sorum và L'Abée-Lund, 2002). Nghiên cứu của Sawant và cs. (2007) được thực hiện tại một số khu vực của tiểu bang Pennsylvania, Hoa Kỳ cho thấy tỷ lệ đề kháng kháng sinh trên *E. coli* trên bò đối với ampicillin (48%), ceftiofur (11%), chloramphenicol (20%), florfenicol (78%), spectinomycin (18%) và tetracycline (93%). Riêng tại Việt Nam năm 2011, khi phân tích 800 mẫu phân trâu, bò khỏe mạnh được thu thập tại các tỉnh Phú Yên, Khánh Hòa, Ninh Thuận bằng phương pháp multiplex-PCR đã phát hiện sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* O157:H7 và 100% chủng vi khuẩn đề kháng với clindamycin, erythromycin, oxacillin (Nguyễn Trọng Hải và cs., 2011). Tại đồng bằng sông Cửu Long, Nguyễn Khánh Thuận và Lý Thị Liên Khai (2020) cũng đã có báo cáo trên 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 còn nhạy cảm cao (100%) với 7 loại kháng sinh (ceftazidime, gentamycin, amikacin, kanamycin, tetracycline, ciprofloxacin và norfloxacin); nhưng 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%). 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. Báo cáo của Nguyễn Khánh Thuận và cs. (2022) khi tiến hành kiểm tra sự hiện diện của các gen đề kháng kháng sinh trên vi khuẩn *E. coli* O157 phân lập từ bò cho thấy tỷ lệ hiện diện của gen *blaCTX-M1* và *blaampC* có tỷ lệ cao nhất (48,86%) và thấp nhất là gen *blaSHV* (10,71%). Các báo cáo về sự đề kháng kháng sinh và gen kháng kháng sinh trên *E. coli* không thuộc nhóm O157 vẫn chưa được công bố rộng rãi. Các kết quả tham khảo trên cho thấy sự hiện diện của các chủng *E. coli* đề kháng kháng sinh và mang gen mã hoá sự đề kháng kháng sinh là mối nguy cơ gây thất bại trong công tác phòng trị bệnh trên vật nuôi và con người.

Hiện nay, đồng bằng sông Cửu Long là khu vực chăn nuôi bò với số lượng lớn; tuy nhiên, công tác phòng trị bệnh, vệ sinh trong chăn nuôi vẫn còn nhiều hạn chế. Mặt khác, người dân thường

có xu hướng sử dụng kháng sinh thiếu kiểm soát, không đúng mục đích dẫn tới nguy cơ hình thành các chủng vi khuẩn đề kháng kháng sinh. Do đó, nghiên cứu về các yếu tố độc lực và đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò là rất cần thiết, giúp cung cấp thông tin dịch tễ, góp phần ngăn chặn dịch bệnh và tình trạng đề kháng kháng sinh lây truyền giữa người và động vật.

## II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nội dung nghiên cứu

- Xác định sự hiện diện của các gen độc lực (*eae*, *stx1*, *stx2* và *hlyA*) trên các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được.

- Khảo sát sự nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò nuôi tại đồng bằng sông Cửu Long bằng phương pháp khuếch tán trên môi trường MHA.

- Xác định sự hiện diện của các gen đề kháng kháng sinh (*blaampC*, *blaCTX-M1*, *blaTEM*, *strA* và *aadA1*) trên các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Chủng *E. coli* sử dụng trong nghiên cứu

Tổng cộng 151 chủng vi khuẩn *E. coli* không thuộc nhóm EHEC (Enterohemorrhagic

*Escherichia coli*) được phân lập trên bò thịt khỏe mạnh ở mọi lứa tuổi, giống, giới tính được nuôi ở một số tỉnh tại đồng bằng sông Cửu Long trong năm 2022, và được bảo quản ở Phòng thí nghiệm TY chuyên ngành 2 (E208), Khoa Thú y, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

#### 2.2.2. Xác định sự hiện diện của một số gen độc lực trên các chủng *E. coli* bằng phương pháp PCR

*Tách chiết DNA*: các chủng vi khuẩn *E. coli* được tăng sinh trên môi trường Nutrient Agar (NA, Merck, Đức). DNA của các chủng vi khuẩn *E. coli* được tách chiết theo phương pháp shock nhiệt của Soumet và cs. (1994). Sau đó, DNA sẽ được trữ ở -20°C.

*Thực hiện phản ứng PCR*: Phản ứng PCR sử dụng bộ kit Mastermix 2X (Bioline, Canada) với tổng thể tích là 25 µL: Mastermix 2X (12,5 µL), mỗi xuôi (0,5 µL), mỗi ngược (0,5 µL), distilled water (9,5 µL) và DNA template (2 µL). Chu trình nhiệt được sử dụng trong các phản ứng PCR đối với các gen *eae*, *stx2*, *hlyA* như sau: 95°C – 5 phút; 30 chu kỳ: 94°C – 30 giây, 50°C – 90 giây, 72°C – 90 giây; 72°C – 5 phút. Đối với gen *stx1*, chu trình nhiệt cho phản ứng PCR tương tự như ba gen còn lại, nhưng nhiệt độ gắn mồi là 58°C. Trình tự các đoạn mồi và chu trình nhiệt cụ thể được sử dụng trong quá trình nghiên cứu dựa trên tài liệu tham khảo được trình bày qua bảng 1.

**Bảng 1. Trình tự cặp mồi xác định các gen độc lực được sử dụng trong nghiên cứu**

Mồi	Trình tự nucleotide (5'-3')	Kích thước (bp)	Tài liệu tham khảo
<i>eae</i>	GCGCGTTACATTGACTCCCG CCATTTGCTGGGCGCTCATC	245	Son và cs. (2014)
<i>stx1</i>	CAGTTAATGTGGTGGCGAAG CTGCTAATAGTTCTGCGCATG	894	Olsvik và Strockbine (1993)
<i>stx2</i>	CTTCGGTATCCTATTCCCGG GGATGCATCTCTGGTCATTG	478	
<i>hlyA</i>	GCATCATCAAGCGTACGTTCC AATGAGCCAAGCTGGTTAAGCT	534	Paton và Paton (1998)

Điện di: Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1,5% (Bioline, Canada) ở hiệu điện thế 50V trong 60 phút, sau đó nhuộm với Ethidium bromide trong 20 phút. Đọc kết quả điện di trên gel dưới tia UV để xác định sự

hiện diện của các gen độc lực. Mẫu đối chứng dương: DNA của vi khuẩn *E. coli* được xác định dương tính với gen độc lực được khảo sát; mẫu đối chứng âm: nước tinh khiết không chứa DNA hay RNA.

**2.2.3. Khảo sát sự nhạy cảm đối với kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập trên bò**

Kiểm tra sự nhạy cảm đối với kháng sinh của các chủng vi khuẩn *E. coli* bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch của Kirby-Bauer (Bauer và cs., 1966). Huyền dịch vi khuẩn được pha loãng trong nước muối NaCl 0,9% và điều chỉnh tương đương McFarland 0,5 ( $10^6 - 10^8$  CFU/mL), sau đó được cấy lên đĩa môi trường Muller-Hilton Agar (MHA, Merck, Đức). Đặt các đĩa kháng sinh chuẩn lên mặt môi trường và ủ ở nhiệt độ 37°C trong 16 - 18 giờ. Kết quả được ghi nhận bằng việc so sánh kích thước vòng vô khuẩn với kích thước được ghi nhận trong bảng CLSI (2021) để đánh giá mức độ nhạy cảm của các chủng *E. coli* đối với kháng sinh.

Các đĩa kháng sinh được sử dụng trong quá trình nghiên cứu được cung cấp bởi công ty Nam Khoa (Việt Nam) bao gồm: ampicillin (Am) 10 µg, amoxicillin-

clavulanic acid (Ac) 20/10 µg, ceftazidime (Cz) 30 µg, cefuroxime (Cu) 30 µg, colistin (Co) 10 µg, gentamycin (Ge) 10 µg, amikacin (Ak) 30 µg, streptomycin (Sm) 10 µg, tetracycline (Te) 30 µg, doxycycline (Dx) 30 µg, chloramphenicol (Cl) 30 µg, levofloxacin (Lv) 5 µg, ofloxacin (Of) 5 µg.

**2.2.4. Xác định sự hiện diện của một số gen độc lực và đề kháng kháng sinh trên các chủng *E. coli* bằng phương pháp PCR**

Quy trình thực hiện phản ứng PCR để xác định sự hiện diện của các gen đề kháng kháng sinh tương tự như phương pháp xác định gen độc lực ở mục 2.2.2.

Trong nghiên cứu này, các gen mã hoá sự đề kháng kháng sinh nhóm β-lactam và aminoglycoside được lựa chọn để phân tích. Đây là hai nhóm kháng sinh được sử dụng phổ biến từ lâu tại đồng bằng sông Cửu Long. Trình tự các đoạn môi và chu trình nhiệt được thực hiện theo tài liệu tham khảo trong bảng 2.

**Bảng 2. Trình tự cặp môi xác định các gen đề kháng kháng sinh được sử dụng trong nghiên cứu**

Môi	Trình tự nucleotide (5'-3')	Kích thước (bp)	Tài liệu tham khảo
<i>blaampC</i>	AATGGGTTTTCTACGGTCTG GGGCAGCAAATGTGGAGCAA	191	Caroff và cs. (1999)
<i>blaTEM</i>	ATTCTTGAAGACGAAAGGGC ACGCTCAGTGAACGAAAAC	1150	Jouini và cs. (2007)
<i>blaCTX-M1</i>	TTAGGAARTGTGCCGCTGYA CGATATCGTTGGTGGTRCCAT	688	Dallene và cs. (2010)
<i>strA</i>	AGCAGAGCGCGCCTTCGCTG CCAAAGCCCACTTCACCGAC	546	Carattoli và cs. (2002)
<i>aadA1</i>	TATCCAGCTAAGCGCGAACT ATTTGCCGACTACCTTGGTC	447	Randall và cs. (2004)

Mẫu đối chứng dương: DNA của vi khuẩn *E. coli* được xác định dương tính với gen kháng kháng sinh được khảo sát; mẫu đối chứng âm: nước tinh khiết không chứa DNA hay RNA.

**2.2.5. Xử lý số liệu**

Kết quả phân tích được xử lý thống kê bằng phương pháp Chi bình phương với độ tin cậy 95% trên phần mềm Minitab 16.0.

**III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Kết quả kiểm tra sự hiện diện của các gen độc lực trên các chủng *E. coli* phân lập trên bò**

Kết quả kiểm tra sự hiện diện của các gen độc lực trên các chủng *E. coli* được thể hiện qua bảng 3. Các nghiên cứu được công bố trước đây tập trung vào sự hiện diện của các gen độc lực *stx*, *eae*, *hlyA* trên *E. coli* thuộc nhóm EHEC. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này cũng đã cho thấy trong tổng số 151 chủng vi khuẩn *E. coli* được khảo sát thì có 74 chủng (49,01%) có mang từ một đến ba gen độc lực được khảo sát. Có sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê về sự hiện diện của các gen độc lực trên các chủng *E. coli* phân lập được trên bò ( $P < 0,01$ ). Các chủng chỉ mang gen *stx1* chiếm tỷ lệ cao nhất (14,57%) trong bốn gen được khảo sát. Trong nhóm gen *stx* (sinh độc tố Shiga), gen *stx2* hiện

diện với tỷ lệ thấp hơn là 5,3% nhưng sự hiện diện đơn lẻ hay ghép kiểu hình của gen *stx2* cho thấy các chủng *E. coli* phân lập trên bò có khả năng gây bệnh cao trên động vật và con người. Gen *stx2* xuất hiện nhiều trên các chủng *E. coli* là một vấn đề đáng được quan tâm bởi những chủng sở hữu *stx2* được chứng minh có độc lực cao hơn các chủng chỉ mang gen *stx1* (Wadolowski và cs., 1990).

**Bảng 3. Tỷ lệ hiện diện của các kiểu hình gen độc lực trên các chủng *E. coli* phân lập từ bò (n=151)**

Số lượng gen	Kiểu hình gen	Số lượng chủng	Tỷ lệ (%)
1	<i>eae</i>	4	2,65
	<i>stx1</i>	22	14,57
	<i>stx2</i>	8	5,30
	<i>hlyA</i>	7	4,64
2	<i>eae + hlyA</i>	5	3,31
	<i>stx2 + hlyA</i>	18	11,92
	<i>stx1 + stx2</i>	2	1,32
3	<i>stx1 + hlyA</i>	3	1,99
	<i>stx1 + stx2 + hlyA</i>	4	2,65
	<i>eae + stx1 + hlyA</i>	1	0,66
			(P<0,0001)
<b>Tổng</b>		<b>74</b>	<b>49,01</b>

Mặc dù, gen *hlyA* hiện diện đơn lẻ với tỷ lệ thấp (4,64%) nhưng trong các kiểu hình ghép gen đều có sự hiện diện của gen *hlyA*. Điều này cho thấy gen *hlyA* hiện diện phổ biến trên các chủng *E. coli* phân lập trên bò. Theo Kobayashi và cs. (2001), có 66/92 (72%) chủng *E. coli* phân lập trên gia súc khoẻ mạnh được ghi nhận là dương tính với gen *hlyA*. Ngoài ra, trong các kiểu ghép gen được ghi nhận, kiểu ghép gen *stx2 + hlyA* phổ biến nhất (11,92%). Sự hiện diện đồng thời của các gen độc lực này càng làm tăng độc lực của các chủng *E. coli*, gây dung huyết và sinh độc tố. Trong nghiên cứu này, gen *eae* hiện diện với tỷ lệ thấp trong kiểu hình đơn lẻ (2,65%) hay trong các kiểu hình ghép *eae + hlyA* (3,31%) và *eae + stx1 + hlyA* (0,66%). Mặc dù vậy, yếu tố bám dính intimin mã hóa bởi gen *eae* cũng đóng vai trò quan trọng trong độc lực của vi khuẩn. Gen *eae* có thể được dùng để xem xét

độc lực của các chủng *E. coli* sinh độc tố Shiga, vi khuẩn dương tính với *eae* sẽ có khả năng gây bệnh cao hơn vi khuẩn âm tính với gen *eae* (Beutin và cs., 1995; Yang và cs., 2020). Sự hiện diện của các gen độc lực nguy hiểm này trên *E. coli* phân lập từ bò tại đồng bằng sông Cửu Long cho thấy nguy cơ gây bệnh cao cho động vật và con người tại đây.

### 3.2. Kết quả khảo sát sự nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò

Bảng 4 ghi nhận kết quả khảo sát sự nhạy cảm của các chủng *E. coli* đối với 13 loại kháng sinh thuộc các nhóm thường được sử dụng phổ biến trong chăn nuôi tại đồng bằng sông Cửu Long.

Kết quả cho thấy các chủng *E. coli* đã phân lập vẫn còn nhạy cảm cao với hầu hết các loại kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu (bảng 4). Tuy nhiên, vi khuẩn *E. coli* đã có biểu hiện đề kháng với ampicillin, colistin, streptomycin và tetracycline. Hai loại kháng sinh tetracycline và chloramphenicol đã bị cấm sử dụng trong chăn nuôi từ lâu, tuy vậy kết quả lại cho thấy vi khuẩn *E. coli* có biểu hiện đề kháng khá cao với hai loại kháng sinh này với tỷ lệ lần lượt là 41,72% và 31,13%. Điều này cho thấy, vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò tại đồng bằng sông Cửu Long có khả năng đã và đang hình thành tính đề kháng tự nhiên đối với các kháng sinh này. Một lý do dẫn đến sự đề kháng đa dạng các loại kháng sinh vì các gen mã hoá kháng kháng sinh có thể nằm trên các yếu tố di truyền vận động, dẫn đến vi khuẩn có thể hình thành sự đề kháng nhiều hơn một loại kháng sinh. Điều này có nghĩa là ngay cả khi không tiếp xúc với những loại kháng sinh đã bị cấm sử dụng, thì vi khuẩn vẫn có khả năng cảm nhiễm tính đề kháng từ các chủng khác trong quần thể (Gow và cs., 2008). Nghiên cứu của Nguyễn Khánh Thuận và cs. (2021) ghi nhận vi khuẩn EHEC O157:H7/- trên bò tại đồng bằng sông Cửu Long cũng đã đề kháng với ampicillin (50,00%), tetracycline (47,62%) và chloramphenicol (28,57%). Nguyễn Xuân Hòa và cs. (2020) cũng đã ghi nhận vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bê tiêu chảy tại Lâm Đồng đề kháng cao với amoxicillin, doxycyclin, oxytetracyclin với tỷ lệ lần lượt là 50%, 70% và 90%. Tại Trung Quốc, Ali và cs. (2016) đã báo cáo các chủng *E. coli* phân lập từ các đàn bò sữa thương phẩm tại 16 tỉnh đã đề kháng với tỷ lệ cao đối với ampicillin (88,89%), amoxicillin/clavulanic acid (75,00%), chloramphenicol (52,78%), ciprofloxacin (44,44%), gentamicin (72,22%),

nalidixic acid (80,56%), tetracycline (83,33%) và trimethoprim/sulphamethoxazole (75%).

Kháng sinh colistin đang được sử dụng phổ biến trong điều trị bệnh do *E. coli* gây ra trên vật nuôi. Tuy nhiên, kết quả khảo sát trong nghiên cứu này cũng cho thấy *E. coli* phân lập trên bò có biểu hiện đề kháng khá cao đối với colistin (46,36%). Trong khi đó, nghiên cứu của Tello

và cs. (2020), Algammal và cs. (2020) đều ghi nhận tỷ lệ nhạy cảm với colistin của *E. coli* là 100%. Vì vậy, có thể thấy vi khuẩn *E. coli* ở đồng bằng sông Cửu Long có nguy cơ đề kháng đối với kháng sinh colistin đang được sử dụng. Do đó, cần các nghiên cứu chuyên sâu hơn nhằm xác định chính xác khả năng và nguồn gốc đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò tại đồng bằng sông Cửu Long.

**Bảng 4. Kết quả khảo sát sự nhạy cảm của các chủng vi khuẩn *E. coli* đối với một số loại kháng sinh (n=151)**

Nhóm kháng sinh	Kháng sinh	Ký hiệu	Nhạy		Kháng	
			Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
β-lactam	Ampicillin	Am	79	52,32	72	47,68
	Amoxicillin-clavulanic acid	Ac	118	78,15	33	21,85
Cephalosporin	Ceftazidime	Cz	122	80,79	29	19,21
	Cefuroxime	Cu	128	84,77	23	15,23
Polymyxin	Colistin	Co	81	53,64	70	46,36
	Gentamycin	Ge	138	91,39	13	8,61
Aminoglycoside	Amikacin	Ak	147	97,35	4	2,65
	Streptomycin	Sm	85	56,29	66	43,71
Tetracycline	Tetracycline	Te	88	58,28	63	41,72
	Doxycycline	Dx	130	86,09	21	13,91
Phenicol	Chloramphenicol	Cl	104	68,87	47	31,13
Quinolone	Levofloxacin	Lv	129	85,43	22	14,57
	Ofloxacin	Of	145	96,03	6	3,97

**Bảng 5. Mức độ đề kháng đối với kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được trên bò (n=151)**

Số lượng kháng sinh kháng	Số chủng kháng	Tỷ lệ (%)
1	23	15,23
2	12	7,95
3	12	7,95
4	11	7,28
5	28	18,54
6	13	8,61
7	8	5,30
8	7	4,64
12	1	0,66
<b>Tổng</b>	<b>115</b>	<b>76,16</b>

Mức độ đề kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* được ghi nhận qua bảng 5. Trong tổng số 151 chủng *E. coli* được kiểm tra, 115 chủng (76,16%) đề kháng từ 1 đến 12 loại kháng sinh; trong đó, có 28 chủng kháng 5 loại kháng sinh (18,54%) và có một chủng đề kháng 12 loại kháng sinh (0,66%). Sự chuyển giao các gen quy định tính trạng kháng thuốc giữa các vi khuẩn nhờ vào yếu tố di truyền; hoặc do sự đột biến liên tiếp trong các nhiễm sắc thể do tiếp xúc với kháng sinh thường xuyên là những nguyên nhân dẫn đến tình trạng đa kháng kháng sinh ở vi khuẩn (Levy và Marshall, 2004). Tình trạng đa kháng kháng sinh ở các chủng *E. coli* được ghi nhận ở những nghiên cứu khác nhau, nghiên cứu của Adzitey và cs. (2022) ghi nhận tỷ lệ đa kháng ở các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ thịt và sữa gia súc là 40,5%. Tỷ lệ đa kháng kháng sinh cao của *E. coli*

trên bò tại đồng bằng sông Cửu Long cho thấy việc kiểm soát kháng sinh sử dụng trong chăn nuôi là vô cùng cần thiết, nhằm hạn chế sự phát tán các chủng đa kháng kháng sinh ra môi trường.

### 3.3. Kết quả kiểm tra sự hiện diện của các gen đề kháng kháng sinh trên các chủng *E. coli* phân lập trên bò

Sự hiện diện của các gen kháng kháng sinh trên các chủng *E. coli* phân lập được trình bày thông qua bảng 6.

**Bảng 6. Tỷ lệ hiện diện của các gen kháng kháng sinh trên các chủng *E. coli* được phân lập từ bò (n=151)**

Nhóm kháng sinh	Gen	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
β-lactam	<i>blaampC</i>	151	100,0
	<i>blaTEM</i>	65	43,05
	<i>blaCTX-M1</i>	15	9,93
Aminoglycoside	<i>strA</i>	69	45,70
	<i>aadA1</i>	30	19,87

(P<0,0001)

Có sự đa dạng và khác biệt có ý nghĩa thống kê (P<0,001) về sự hiện diện của các gen mã hoá đề kháng kháng sinh trên các chủng *E. coli* phân lập trên bò tại đồng bằng sông Cửu Long. Gen *blaampC* là gen có sự hiện diện cao nhất (100%) ở các chủng vi khuẩn được khảo sát, kể đến là gen *strA* (45,7%), và gen *blaTEM* (43,05%). Gen *blaCTX-M1* hiện diện ít nhất trong 5 gen được khảo sát, tỷ lệ được ghi nhận là 9,93%. Các gen *blaampC*, *blaTEM* và *blaCTX-M1* mã hoá sự đề kháng đối với kháng sinh nhóm β-lactam. Trong đó, vi khuẩn sinh β-lactamase loại CTX-M ngày càng phổ biến, *blaCTX-M1* được phát hiện là loại xuất hiện rộng rãi từ châu Á, châu Âu, Bắc và Nam Mỹ ở các chủng *E. coli* đa kháng thuốc (Peerayeh và cs., 2012). Điều này cho thấy, các chủng *E. coli* phân lập trên bò tại đồng bằng sông Cửu Long có khả năng đề kháng rất cao với các kháng sinh nhóm β-lactam, đây là điều cần lưu ý trong việc lựa chọn kháng sinh sử dụng trong điều trị bệnh do *E. coli* trên vật nuôi và con người tại khu vực này. Tuy nhiên, khi so sánh tỷ lệ hiện diện của các gen kháng kháng sinh ở bảng 6 và kết quả kiểm tra kháng sinh đồ ở bảng 4 có thể thấy không phải tất

cả các chủng mang gen đề kháng đều biểu hiện sự đề kháng đối với kháng sinh đó. Chẳng hạn, các chủng *E. coli* vẫn còn nhạy cảm tốt với kháng sinh nhóm β-lactam, mặc dù tỷ lệ hiện diện các gen đề kháng nhóm kháng sinh này rất cao trong nghiên cứu. Theo Hughes và Andersson (2017), kiểu hình kháng thuốc có thể bị thay đổi bởi những thay đổi môi trường làm thay đổi mức độ kháng thuốc; bên cạnh đó, cấu trúc di truyền trong phương thức đề kháng cũng là yếu tố ảnh hưởng đến sự biểu hiện của kiểu hình. Bùi Thị Ba và cs. (2012) khảo sát tại một số tỉnh Nam Trung Bộ để xác định gen kháng kháng sinh nhóm β-lactam thì cho thấy có 22/34 (64,70%) chủng vi khuẩn *E. coli* O157:H7 phân lập từ trâu bò khỏe mạnh có khả năng sản xuất ít nhất 1 loại β-lactamase. Trong đó, cao nhất là gen *blaTEM* (64,70%), kế đến là *blaSHV* và *blaCMY* (11,76%). Nghiên cứu của Ismaeel và Nasser (2017) cho thấy tỷ lệ hiện diện của gen *blaampC*, *blaTEM* trên *E. coli* phân lập từ gia súc tiêu chảy cũng chiếm tỷ lệ cao là 91,4% và 62,8%. Nghiên cứu của Homeier-Bachmann và cs. (2022) cho thấy trên các chủng *E. coli* phân lập từ động vật hoang dã tại Đức có sự hiện diện của gen *blaCTX-M1* và gen *blaCTX-M15*. Đối với hai gen *strA* và *aadA1*, tỷ lệ phát hiện trong nghiên cứu này cũng chiếm tỷ lệ cao lần lượt là 45,7% và 19,87%. Kết quả này phản ánh tương đồng tỷ lệ đề kháng kháng sinh nhóm aminoglycoside thể hiện trong bảng 4, tiêu biểu là đề kháng với streptomycin (43,71%). Kết quả này cho thấy biểu hiện đề kháng kháng sinh nhóm aminoglycoside của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò tại đồng bằng sông Cửu Long có thể do các chủng vi khuẩn đã mang gen đề kháng tự nhiên với nhóm này. Các nghiên cứu sâu hơn cần được thực hiện trong các nghiên cứu khác để làm rõ đặc điểm này. Một nghiên cứu tại Na Uy cho thấy tỷ lệ hiện diện của *strA* và *aadA1* chủ yếu tìm thấy trên thịt và các sản phẩm từ thịt gia súc ở Na Uy được ghi nhận lần lượt là 64% và 20% (Sunde và Norstrom, 2006). Nguyen và cs. (2022) cũng ghi nhận sự hiện diện khá cao của gen *strA* và *aadA1* trên các chủng EHEC O45, O113, O121, và O157 phân lập trên bò tại đồng bằng sông Cửu Long với tỷ lệ 23,08% và 17,95%. Do đó, việc kiểm soát của các chủng *E. coli* mang gen kháng kháng sinh là rất cần thiết nhằm hạn chế sự phát tán các chủng đề kháng ra môi trường sống và gây nguy hại cho sức khỏe của vật nuôi và con người.

Tổng số 13 kiểu ghép gen kháng kháng sinh đã được ghi nhận trên 94/151 chủng *E. coli* mang từ hai gen trở lên; chiếm tỷ lệ 62,25% (bảng 7). Tỷ lệ hiện diện của các kiểu ghép gen khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ( $P < 0.01$ ). Trong đó, kiểu ghép gen phổ biến nhất là *blaampC* + *blaTEM* + *strA* (13,25%), kế đến là hai kiểu ghép gen *blaampC* + *strA* và *blaampC* + *blaTEM* + *strA* + *aadA1*, tỷ lệ hiện diện là 11,92%. Kết quả nghiên cứu cũng ghi nhận trong tất cả các kiểu ghép gen đều có sự hiện diện của *blaampC*, và có hai chủng (1,32%) mang cả năm gen được khảo sát (*blaampC* + *blaTEM* + *blaCTX-M1* + *strA* + *aadA1*). Kết quả này cho thấy vi khuẩn *E. coli* phân lập trên bò có khả năng mang nhiều gen kháng kháng sinh và kháng đồng thời nhiều nhóm kháng sinh cùng lúc. Điều này cũng phản ánh tỷ lệ biểu hiện kháng kháng sinh khá cao đồng thời ở hai nhóm  $\beta$ -lactam và aminoglycoside thông qua kết quả kháng sinh đồ ở bảng 4. Sự hiện diện đồng

thời của nhiều gen kháng kháng sinh trên vi khuẩn *E. coli* làm tăng nguy cơ đa kháng kháng sinh trong thực tiễn điều trị bệnh do *E. coli* trên vật nuôi và con người. Các gen đề kháng kháng sinh ở vi khuẩn có thể được truyền theo chiều dọc qua quá trình phân chia; hoặc lây truyền theo chiều ngang, đối với các gen được mã hóa bởi plasmid giữa các loài vi khuẩn khác nhau (Licht và cs., 2003). Theo Hammerum và Heuer (2009), đường tiêu hóa là nơi có điều kiện tốt nhất để truyền ngang các gen kháng thuốc giữa các *E. coli*. Nghiên cứu của Srinivasan và cs. (2007) ghi nhận kiểu ghép gen đa kháng phổ biến nhất trên 153 chủng *E. coli* là *tetA* + *aadA* + *ampC*. Do đó, việc nghiên cứu về điều kiện và phương thức lây truyền của các gen đề kháng nên được thực hiện để hạn chế tình trạng kháng kháng sinh trên vi khuẩn phân lập từ bò, bao gồm *E. coli*, nhằm góp phần ngăn chặn các yếu tố nguy hiểm đối với sức khỏe vật nuôi và con người tại đồng bằng sông Cửu Long.

**Bảng 7. Các kiểu ghép gen kháng kháng sinh trên các chủng *E. coli* phân lập từ bò (n=151)**

Số lượng gen	Kiểu ghép gen	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
2	<i>blaampC</i> + <i>strA</i>	18	11,92
	<i>blaampC</i> + <i>blaTEM</i>	13	8,61
3	<i>blaampC</i> + <i>blaCTX-M1</i>	1	0,66
	<i>blaampC</i> + <i>aadA1</i>	4	2,65
	<i>blaampC</i> + <i>blaTEM</i> + <i>strA</i>	20	13,25
	<i>blaampC</i> + <i>strA</i> + <i>aadA1</i>	1	0,66
	<i>blaampC</i> + <i>blaCTX-M1</i> + <i>strA</i>	4	2,65
	<i>blaampC</i> + <i>blaTEM</i> + <i>aadA1</i>	5	3,31
	<i>blaampC</i> + <i>blaCTX-M1</i> + <i>aadA1</i>	1	0,66
4	<i>blaampC</i> + <i>blaTEM</i> + <i>strA</i> + <i>aadA1</i>	18	11,92
	<i>blaampC</i> + <i>blaTEM</i> + <i>blaCTX-M1</i> + <i>strA</i>	6	3,97
5	<i>blaampC</i> + <i>blaTEM</i> + <i>blaCTX-M1</i> + <i>strA</i> + <i>aadA1</i>	2	1,32
<b>Tổng</b>		<b>94</b>	<b>62,25</b>

( $P < 0,0001$ )

#### IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu ghi nhận có sự hiện diện của bốn gen độc lực *stx1*, *stx2*, *eae*, và *hlyA* trên các chủng *E. coli* phân lập trên bò tại đồng bằng sông Cửu Long. Trong đó, gen *stx1* (14,57%) hiện diện phổ biến nhất, ngoài

ra, sự hiện diện đồng thời của các gen độc lực như *stx2* + *hlyA* cho thấy khả năng gây bệnh nguy hiểm của các chủng *E. coli* này. Mặc dù, các chủng vi khuẩn *E. coli* này vẫn còn nhạy cảm đối với nhiều loại kháng sinh hiện đang sử dụng trong chăn nuôi, nhưng đã có

sự hình thành sự đề kháng đối với ampicillin, colistin, streptomycin và tetracycline, cùng với khả năng đa kháng cao. Đây là nguy cơ gây khó khăn trong việc lựa chọn kháng sinh phù hợp dùng trong điều trị bệnh do *E. coli* gây ra trên vật nuôi và con người. Kết quả nghiên cứu cũng ghi nhận sự hiện diện cao của các gen kháng kháng sinh được khảo sát trên chủng *E. coli* phân lập trên bò. Trong đó, tỷ lệ hiện diện cao nhất là đối với nhóm  $\beta$ -lactam, với gen *blaampC* là 100%. Đồng thời, các chủng vi khuẩn này có thể mang nhiều gen kháng kháng sinh cùng lúc, với kiểu hình ghép gen *blaampC* + *blaTEM* + *strA* (13,25%) là phổ biến nhất trong nghiên cứu này, đây có thể là nguyên nhân hình thành khả năng đề kháng với nhiều loại kháng sinh cùng lúc của các chủng *E. coli* này. Vì vậy, quản lý vệ sinh, kiểm soát sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi là thiết yếu nhằm hạn chế sự lây truyền các chủng *E. coli* mang độc lực và đề kháng kháng sinh giữa con bò và con người tại đồng bằng sông Cửu Long.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ và hợp tác giữa Khoa Thú y, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ và các Chi cục Chăn nuôi Thú y tại các tỉnh Bến Tre, Trà Vinh, An Giang và Thành phố Cần Thơ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Algammal, A.M., El-Kholy, A.W., Riad, E.M., Mohamed, H.E., Elhaig, M.M., Yousef, S.A.A., Hozzein, W.N., and Ghobashy M.O.I., 2020. Genes encoding the virulence and the antimicrobial resistance in Enterotoxigenic and Shiga-toxigenic *E. coli* isolated from diarrhetic calves. *Toxins*, 12(6): 383.
2. Arthur, T.M., Barkocy-Gallagher, G.A., Rivera-Betancourt, M. and Koohmaraie M., 2002. Prevalence and characterization of Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* on carcasses in commercial beef cattle processing plants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(10): 4847-4852.
3. Bùi Thị Ba, Đào Hoài Thu, Võ Thành Thịn, Đặng Văn Tuấn, Đỗ Văn Tấn, và Vũ Khắc Hùng, 2012. Xác định một số gen kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* O157: H7 phân lập từ trâu bò khỏe mạnh tại một số tỉnh Nam Trung Bộ. *Khoa học kỹ thuật Thú y*, 19(6): 52-58.
4. Homeier-Bachmann, T., Schütz, A.K., Dreyer, S., Glanz, J., Schaufler, K., and Conraths, F.J., 2022. Genomic analysis of ESBL-producing *E. coli* in wildlife from North-Eastern Germany. *Antibiotics*, 11:123.
5. Hung, V.K., and Cornick, N.A., 2008. Prevalence and genetic profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from buffaloes, cattle, and goats in central Vietnam. *Vet. Microbiol.*, 126: 356-363.
6. Levy, S.B., and Marshall B., 2004. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges, and responses. *Nature Medicine*, 10: S122-S129.
7. Nakasone, N., Hoang, H.T., Nguyen, M.B., Higa, N., Toma, C., Song, T., Ichinose, Y., and Iwanaga, M., 2005. Short report: Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from fecal samples of cows in Vietnam. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 73: 586-587.
8. Nguyễn Khánh Thuận, Phạm Thị Tâm Ái, Nguyễn Trần Phước Chiến, Nguyễn Thanh Lâm, Lý Thị Liên Khai và Trần Ngọc Bích, 2022. Khả năng kháng kháng sinh và mối quan hệ di truyền của vi khuẩn *Escherichia coli* O157 phân lập trên bò tại đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, 29(3): 67-76.
9. Nguyễn Trọng Hải, Đào Hoài Thu, Phan Thị Hằng, Hồ Văn Hiệp, Nguyễn Thị Kim Phụng, Đỗ Văn Tấn, Lê Đình Hải, và Vũ Khắc Hùng, 2011. Xác định tỷ 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.
10. Nguyễn Xuân Hòa, Phạm Đăng Tuấn, Trần Lê Hoàn, Lê Quốc Việt, Thượng Thị Thanh Lễ, Phan Vũ Hải, và Trần Quang Vui, 2020. Độc lực và tính miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* phân lập từ bê sữa bị bệnh tiêu chảy. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, 17(7): 24-30.
11. Nguyen, K.T., Nguyen, T.L., Nguyen, T.P.C., Nguyen, P.K., Ly, T.L.K, and Tran, N.B., 2022. Prevalence of antibiotic resistance genes and genetic relationship of *Escherichia coli* serotype O45, O113, O121, and O157 isolated from cattle in the Mekong Delta, Vietnam. *Vet. Integr. Sci.*, 20(3): 695 - 707.
12. Srinivasan, V., Nguyen, L.T., Headrick, S.I., Murinda, S.E., and Oliver, S.P., 2007. Antimicrobial resistance patterns of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and O157:H7- from different origins. *Microb. Drug Resist.*, 13(1): 44-51.

Ngày nhận: 13-6-2023

Ngày phản biện: 19-6-2023

Ngày đăng: 1-5-2024