

## CHARACTERISTICS OF PHYLOGENETIC AND VIRULENCE FACTORS OF *Escherichia coli* STRAINS IN HOSPITAL WASTEWATER IN THE MEKONG DELTA PROVINCES

Ngo Thanh Phong<sup>1,2</sup>, Dang Van Chinh<sup>2</sup>, Tran Do Hung<sup>3</sup>, Huynh Xuan Phong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Food and Biotechnology - Can Tho University, <sup>2</sup>Institute of Public Health in Ho Chi Minh city

<sup>3</sup>Can Tho University Medicine and Pharmacy

| ARTICLE INFO                                                                             | ABSTRACT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Received:</b> 01/7/2025<br><b>Revised:</b> 02/12/2025<br><b>Published:</b> 03/12/2025 | <p>This study aimed to characterize the phylogenetic groups and virulence genes of <i>Escherichia coli</i> strains isolated from hospital wastewater in several provinces of the Mekong Delta, Vietnam. A total of 181 <i>E. coli</i> strains were isolated, comprising 100 from untreated samples and 81 from treated ones. Phylogenetic groups were identified using the Quadruplex PCR method, while virulence genes were detected via PCR targeting 10 specific genes associated with diarrheagenic <i>E. coli</i> strains. The results showed that phylogenetic groups B1 and A were predominant in untreated samples, whereas group C was dominant after treatment. Regarding virulence genes, only two were detected in untreated samples <i>astA</i> (4%) and <i>daaD</i> (9%). In contrast, the number and diversity of virulence genes increased in treated samples, including <i>eaeA</i> (6.17%), <i>eagg</i> (4.94%), <i>astA</i> (9.88%), and <i>daaD</i> (16.05%). These findings suggest that although wastewater treatment reduces the bacterial load, virulent <i>E. coli</i> strains may persist, posing a potential risk of environmental dissemination and highlighting the urgent need to improve hospital wastewater treatment technologies.</p> |
| <b>KEYWORDS</b>                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Phylogenetic                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Virulence genes                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <i>Escherichia coli</i>                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Hospital wastewater                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Quadruplex PCR                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

## ĐẶC ĐIỂM PHÂN NHÓM PHÁT SINH LOÀI VÀ YẾU TỐ ĐỘC LỰC CỦA CHỦNG *Escherichia coli* TRONG NƯỚC THẢI BỆNH VIỆN TẠI CÁC TỈNH ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Ngo Thanh Phong<sup>1,2</sup>, Đặng Văn Chính<sup>2</sup>, Trần Đỗ Hùng<sup>3</sup>, Huỳnh Xuân Phong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm - Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Viện Y tế Công cộng Thành phố Hồ Chí Minh, <sup>3</sup>Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

| THÔNG TIN BÀI BÁO                                                                                     | TÓM TẮT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Ngày nhận bài:</b> 01/7/2025<br><b>Ngày hoàn thiện:</b> 02/12/2025<br><b>Ngày đăng:</b> 03/12/2025 | <p>Nghiên cứu xác định đặc điểm phân nhóm phát sinh loài và các gene độc lực của vi khuẩn <i>Escherichia coli</i> phân lập từ nước thải bệnh viện tại các tỉnh ở Đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam. Tổng số 181 chủng <i>E. coli</i> được phân lập có 100 chủng được phân lập trong mẫu nước thải trước xử lý và 81 chủng từ mẫu sau xử lý. Phân nhóm phát sinh loài được xác định bằng phương pháp Quadruplex PCR, trong khi gene độc lực được phát hiện thông qua kỹ thuật PCR với 10 gene đặc trưng của các chủng <i>E. coli</i> gây bệnh đường ruột. Kết quả cho thấy nhóm phát sinh loài B1 và A chiếm ưu thế trong mẫu chưa xử lý, trong khi nhóm C chiếm ưu thế sau xử lý. Về gene độc lực, trong mẫu chưa xử lý chỉ phát hiện hai gene <i>astA</i> (4%) và <i>daaD</i> (9%). Sau xử lý, số lượng và loại gene độc lực được xác định bao gồm cả <i>eaeA</i> (6,17%), <i>eagg</i> (4,94%), <i>astA</i> (9,88%) và <i>daaD</i> (16,05%). Những kết quả này chỉ ra rằng, mặc dù xử lý nước thải giúp giảm số lượng vi khuẩn, nhưng vẫn còn tồn tại các chủng <i>E. coli</i> mang gene độc lực với nguy cơ phát tán ra môi trường, làm nổi bật nhu cầu cấp thiết cải tiến công nghệ xử lý nước thải tại bệnh viện.</p> |
| <b>TỪ KHÓA</b>                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Phân nhóm phát sinh loài                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Gen gây độc                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <i>Escherichia coli</i>                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Nước thải bệnh viện                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Quadruplex PCR                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.13161>

\* Corresponding author. Email: hxphong@ctu.edu.vn

## 1. Giới thiệu

Nước thải, đặc biệt là từ bệnh viện, chứa nhiều vi khuẩn gây bệnh và kháng kháng sinh. Việc quản lý kém nguồn nước thải này gây ra những nguy cơ đáng kể cho môi trường [1]. *Escherichia coli* là một trực khuẩn Gram âm thuộc họ Enterobacteriaceae, thường sống cộng sinh trong cơ thể người và động vật máu nóng [2] - [4]. *Escherichia coli* thường sống cộng sinh trong ruột của hầu hết các loài động vật, bao gồm cả con người. Tuy nhiên, một số chủng *E. coli* có thể gây ra nhiều loại bệnh đường ruột và ngoài đường ruột, chẳng hạn như tiêu chảy, nhiễm trùng đường tiết niệu, nhiễm trùng huyết và viêm màng não ở trẻ sơ sinh, trong khi hầu hết các chủng cộng sinh thuộc nhóm A [5]. Phân loại phát sinh loài (PSL) các chủng *E. coli* có thể được phân loại thành 8 nhóm PSL, bao gồm 4 nhóm chính (kiểu loài A, B1, B2 và D) và 4 nhóm phụ (C, E, F và nhánh I) [6], [7]. Trong 4 nhóm chính (A, B1, B2 và D) và các chủng ngoài ruột độc lực chủ yếu thuộc nhóm B2 và D [5], [8]. Một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng các chủng cộng sinh nằm trong nhóm A và B1, trong khi các chủng ngoài đường ruột thuộc nhóm B2 và D [3], [9]. Phân nhóm PSL có thể được phát hiện bằng nhiều phương pháp khác nhau. Trong đó, kỹ thuật Quadruplex PCR bằng việc phát hiện các gene (*chuA*, *yjaA*, *TspE4.C2*, *arpA*) thường được sử dụng [6].

*Escherichia coli* gây bệnh ở người được chia thành hai nhóm, nhóm gây bệnh đường ruột và nhóm gây bệnh ngoài đường ruột. *E. coli* gây bệnh đường ruột (IPEC), còn được gọi là *E. coli*, có liên quan đến tiêu chảy (diarrheagenic *E. coli* - DEC), bao gồm các chủng của nhiều huyết thanh khác nhau. Nhóm này được phân loại thành 6 nhóm chính dựa trên cơ chế độc lực của chúng, trong đó bao gồm *E. coli* gây bệnh đường ruột (EPEC), *E. coli* sinh độc tố đường ruột (ETEC), *E. coli* xâm nhập đường ruột (EIEC), *E. coli* gây xuất huyết đường ruột (EHEC), *E. coli* kết tụ đường ruột (EAEC), *E. coli* bám dính khuếch tán (DAEC). *E. coli* gây bệnh ngoài đường ruột (ExPEC) bao gồm: *E. coli* gây bệnh đường tiết niệu (UPEC), *E. coli* liên quan đến viêm màng não/nhiễm trùng huyết (MNEC), *E. coli* gây bệnh ở gia cầm (APEC) [3]. Các chủng vi khuẩn độc hại có khả năng gây ra cả nhiễm trùng ngoài ruột và nhiễm trùng đường ruột ở người, chẳng hạn như nhiễm trùng huyết, viêm màng não ở trẻ sơ sinh, nhiễm trùng đường tiết niệu và tiêu chảy [4], [10].

Hiện nay, ít nhất 567 gene độc lực (VG) đã được xác định trong *E. coli*, được phân loại thành 78 nhóm yếu tố độc lực (VF). Các VF này có nhiều chức năng khác nhau như chất kết dính, độc tố, vỏ, hệ thống tiết, hệ thống hấp thụ sắt và invasins [10]. Tính gây bệnh của các chủng *E. coli* có thể được đánh giá dựa trên các yếu tố độc tính của chúng. Thông qua giải trình tự, các nhà khoa học đã xác định được khoảng 700-850 trình tự protein liên quan đến 400 yếu tố độc hại [6], [7]. Các gene độc hại này đang trở nên quan trọng hơn do tính di động của chúng, tạo điều kiện thuận lợi cho việc chuyển các gene kháng kháng sinh (plasmid, transposon, thực khuẩn thể và đảo gây bệnh) và các yếu tố độc hại sang các loài khác. Môi trường nước, nói riêng, đóng vai trò là chất nền để chuyển các gene này [8]. Điều đáng lo ngại hơn là sự hiện diện đồng thời của vi khuẩn kháng kháng sinh và gene độc hại trong nước thải bệnh viện chưa được xử lý trước khi thải vào môi trường nước, gây ra rủi ro đáng kể cho hệ sinh thái xung quanh.

Trong nghiên cứu này, các mẫu nước thải từ các bệnh viện ở các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long (trên 300 giường) trước và sau khi xử lý được theo dõi từ tháng 01 đến tháng 10 năm 2023. Phương pháp nuôi cấy (TCVN 6187-1:2019) [11] được sử dụng để phân lập vi khuẩn *E. coli*. Nghiên cứu này xây dựng dựa trên những phát hiện có liên quan trước đây với mục tiêu nhằm (i) phân tích phân nhóm PSL và (ii) xác định đặc điểm gene gây độc vi khuẩn *E. coli* từ nước thải bệnh viện trước và sau khi xử lý tại 5 tỉnh vùng Đồng bằng sông Cửu Long (Vĩnh Long, Cần Thơ, Sóc Trăng, Đồng Tháp, Long An).

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguồn chủng và địa điểm phân tích mẫu

Mẫu vi khuẩn từ bộ sưu tập giống chủng đã được phân lập từ 100 mẫu nước thải bệnh viện tại khu vực Đồng bằng sông Cửu Long (ở mỗi tỉnh chọn một bệnh viện cấp tỉnh trên 300 giường bệnh

để thu mẫu). Số mẫu được lấy tại mỗi bệnh viện là 10 mẫu nước thải trước xử lý và 10 mẫu nước thải sau khi xử lý trong khoảng thời gian từ tháng 01 đến tháng 10 năm 2023. Kết quả phát hiện có 100 chủng vi khuẩn *E. coli* từ mẫu nước thải trước khi xử lý và 81 chủng vi khuẩn *E. coli* từ mẫu nước thải sau khi xử lý.

## 2.2. Tách chiết chủng vi khuẩn *E. coli*

Chủng vi khuẩn *E. coli* được cấy trên môi trường canh thang LB (L3522, Merck, Đức), ủ trong điều kiện qua đêm ở 35°C. DNA được tách chiết bằng cách hút 1 mL dịch vào ống Eppendorf 1,5 mL; sau đó ly tâm 10.000 vòng/phút trong 10 phút ở nhiệt độ 4°C. Loại bỏ phần dịch nổi, thu cặn và rửa bằng nước muối sinh lý 0,9% (lặp lại 3 lần). Tiếp tục, hút 500 µL TE 1X vào ống Eppendorf và đun 95°C trong 10 phút, ly tâm 10.000 vòng/phút trong 5 phút, chuyển phần dịch nổi vào ống Eppendorf mới và giữ ở -20°C để tiến hành phân tích [12].

## 2.3. Phân tích phân nhóm phát sinh loài *E. coli*

Phân tích phân nhóm PSL vi khuẩn *E. coli* được xác định bằng phương pháp Quadruplex PCR. Các cặp mồi *arpA*, *chuA*, *yjaA*, *TspE4.C2* và *trpA* được sử dụng trong phản ứng PCR để phân loại các nhóm PSL (A, B1, B2, C, D, E, F, nhánh I). Chủng đối chứng âm được sử dụng là *Salmonella typhimurium* ATCC 11331 [9].

## 2.4. Phát hiện gene gây độc *E. coli*

Mục tiêu nhằm phát hiện khả năng gây bệnh của các chủng *E. coli* trong việc gây ra các bệnh đường ruột thông qua gene gây độc bằng kỹ thuật PCR nhắm vào 10 gene độc lực liên quan đến 6 nhóm riêng biệt của các chủng DEC (*E. coli* gây tiêu chảy) được thực hiện. Các gene này bao gồm: *mdh* (malate dehydrogenase, đóng vai trò là chất kiểm soát nội bộ của *E. coli*), *bfpA* (*E. coli* gây bệnh đường ruột, EPEC), *eaeA* (có trong EPEC và ETEC), *elt* (ETEC), *stx1* và *stx2* (EHEC), *ial* (EIEC), *eagg* (EAEC), *astA* (thường có trong nhiều nhóm), *daaD* (DAEC) và *est* (ETEC) [13].

Các gene độc hại (*mdh*, *ial*, *eaeA*, *bfpA*, *eagg*, *stx1*, *stx2*, *elt*, *astA*) được phát hiện thực hiện trong tổng thể tích phản ứng là 20 µL bằng cách sử dụng các thành phần như sau: 2 µL đệm PCR TaKaRa Ex Taq 10X (TaKaRa, Nhật Bản); 1,6 µL hỗn hợp dNTP (2,5 mM); 0,2 µL mồi *mdh* (10 µM); 0,2 µL mồi *elt* (10 µM); 0,4 µL mồi *ial* và *eagg* (10 µM); 0,6 µL mồi *eaeA*, *bfpA*, *stx2* và *astA* (10 µM); 1 µL mồi *stx1* (10 µM); 0,08 µL TaKaRa Ex Taq polymerase (5 U/µL); 6,62 µL nước không có nuclease và 0,5 µL DNA khuôn mẫu. Các điều kiện chu kỳ nhiệt bao gồm bước biến tính ban đầu ở 95°C trong 15 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ biến tính ở 94°C trong 45 giây, ủ ở 55°C trong 45 giây, kéo dài ở 68°C trong 2 phút và bước kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 5 phút [13].

Phương pháp phát hiện gene độc lực (*daaD*): Thành phần phản ứng bao gồm 2 µL đệm PCR TaKaRa Ex Taq 10X (TaKaRa, Nhật Bản); 1,6 µL dNTP (2,5 mM); 1,0 µL mồi *daaD* (10 µM); 0,08 µL polymerase Ex Taq (5 U/µL); 13,82 µL nước không có nuclease và 0,5 µL DNA khuôn. Điều kiện chu kỳ nhiệt: 96°C trong 5 phút, sau đó là 30 chu kỳ (94°C trong 30 giây, 55°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút) và kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 7 phút [14].

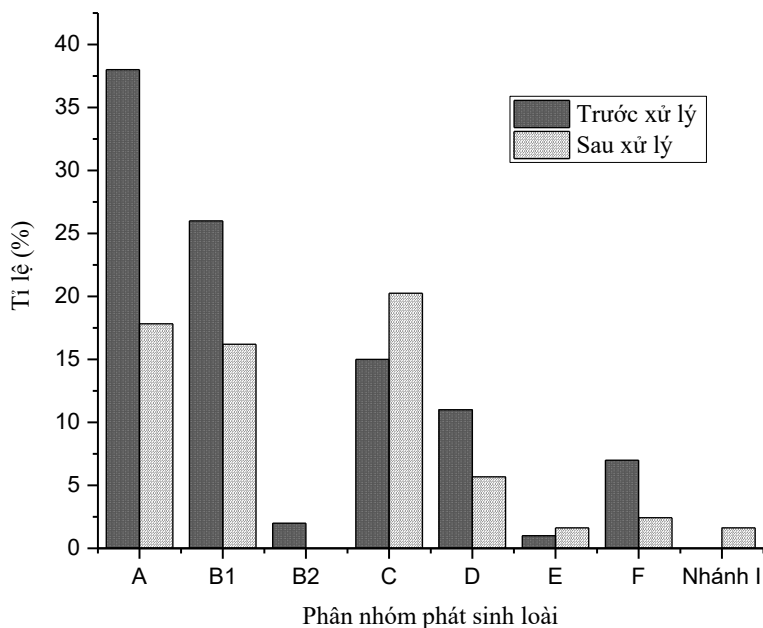
Phương pháp phát hiện gene độc lực (*est*): Thành phần phản ứng bao gồm 2 µL đệm PCR TaKaRa Ex Taq 10X (TaKaRa, Nhật Bản); 1,6 µL dNTP (2,5 mM); 1,0 µL mồi *est* (10 µM); 0,08 µL polymerase Ex Taq (5 U/µL); 13,82 µL nước không có nuclease và 0,5 µL DNA khuôn. Điều kiện chu kỳ nhiệt: 96°C trong 5 phút, sau đó là 30 chu kỳ (94°C trong 30 giây, 50°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút) và kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 5 phút [15].

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% và chụp ảnh bằng máy chiếu tia cực tím. Thang 100 bp (Invitrogen, USA) được dùng làm chuẩn kích thước phân tử.

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Kết quả phân nhóm phát sinh loài

Bằng kỹ thuật Quadruplex PCR sử dụng phân nhóm PSL cho chủng vi khuẩn *E. coli*, nghiên cứu đã phát hiện đối với nước thải trước khi xử lý phân nhóm phát sinh loài nhóm A cho tỉ lệ cao nhất (38%), kế tiếp là nhóm B1 (26%), C (15%), D (15%), F (7%), B2 (2%) và E (1%) nhưng không phát hiện phân nhóm PSL đối với nhánh I (Hình 1). Trong khi đó, đối với nước thải sau khi xử lý, kết quả phát hiện *E. coli* nhóm C cho tỉ lệ cao nhất trong tổng số 81 chủng nghiên cứu (20,25%), A (17,82%), B1 (16,20%), D (5,67%), F (5,67%), E và nhánh I (1,62%) mỗi loại.



**Hình 1.** Phân nhóm phát sinh loài vi khuẩn *E. coli* trong nước thải bệnh viện

Kết quả nghiên cứu cũng tương đồng với nghiên cứu của nhóm tác giả Redha và cộng sự [16], từ 140 chủng *E. coli* phân lập từ nước thải chưa qua xử lý tại Kuwait đã phát hiện phân nhóm phát sinh loài cao nhất thuộc về nhóm A (46,4%) > B1 (24,3%) > D (10,7%) > B2 và F (5,7%) mỗi loại > E (2,9%) > C (2,1) [16]. Cũng trong năm 2022, Bozorgomid và cộng sự [8] cũng có nghiên cứu tương tự về nhóm PSL nhóm A và B1 xuất hiện chủ yếu trong các nước thải trước khi xử lý. Phân nhóm PSL nhóm A và B1 cũng có thể mang các đặc điểm độc lực cho phép tồn tại trong môi trường bên ngoài đường tiêu hóa [17], đây cũng là nhóm phát sinh loài thường sống phổ biến trong cơ thể người [3], [9]. Kết quả trong nghiên cứu này có sự khác biệt với các nghiên cứu trước đây phát hiện nhóm A và B1 chiếm đa số [8], [18] hoặc nhóm A và D [18]. Nhóm C, E, F và nhánh I thường cho tỉ lệ rất thấp chỉ 25% được tìm thấy [19].

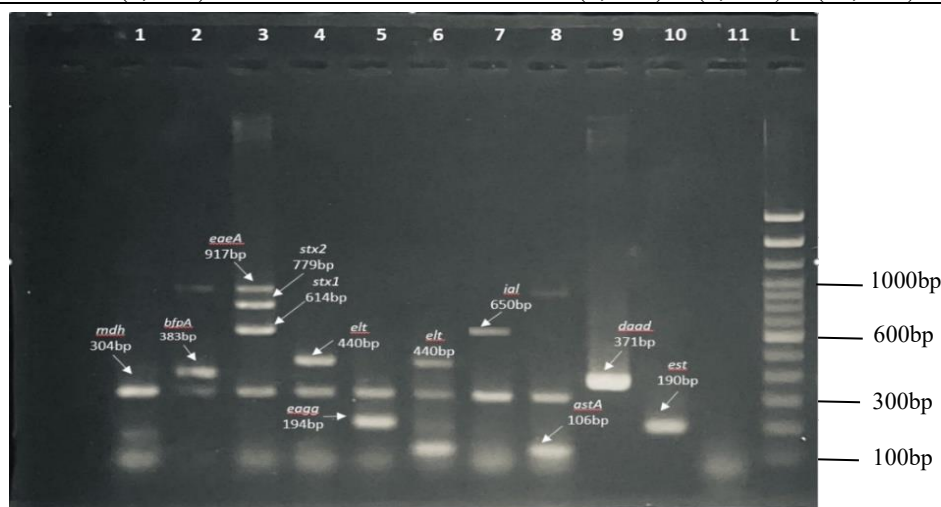
#### 3.2. Xác định gene gây độc vi khuẩn *E. coli*

Phân và nước tiểu người bệnh chứa vi khuẩn gây bệnh, đặc biệt là vi khuẩn *E. coli*, thải ra trong nước thải bệnh viện [10]. Mặc dù hầu hết nước thải đã được xử lý trước khi xả thải ra môi trường xung quanh, tuy nhiên theo tiêu chuẩn nước thải bệnh viện tại Việt Nam (QCVN 28:2010/BTNMT) thì vẫn cho phép tổng số Coliforms được xả thải ra môi trường trong giới hạn cho phép 3.000 – 5.000 MPN/100 mL [20]. Vì vậy, khả năng phát tán các chủng vi khuẩn này ra ngoài môi trường là rất cao. Kết quả ở Bảng 1 cho thấy, trong 100 chủng vi khuẩn *E. coli* (nước thải trước xử lý), kết quả phát hiện gene *astA* (nhiều nhóm) (4/100; 4%) chủng và *dadD* (DAEC) (9/100; 9%) chủng. Sản phẩm khuếch đại các gene nghiên cứu được thể hiện ở Hình 2. Gene *astA* là gene độc tố ổn

định nhiệt trong ruột [21] và nhóm *E. coli* (DAEC) gây bám dính phân tán (một trong các nhóm gây tiêu chảy) có khả năng bám dính vào các tế bào biểu mô [22]. Còn đối với nước thải sau khi xử lý thì trong 81 chủng phân lập, nghiên cứu đã tìm thấy cao nhất là gene *dadD* (13/81; 16,05%), *astA* (8/81; 9,88%), *eaeA* (5/81; 6,17 %) và thấp nhất là *eagg* (4/81; 4,94%).

**Bảng 1. Kết quả phát hiện gene gây độc vi khuẩn *E. coli***

| Nước thải   | Gene gây độc |                 |            |             |             |            |                 |                 |                   |            |
|-------------|--------------|-----------------|------------|-------------|-------------|------------|-----------------|-----------------|-------------------|------------|
|             | <i>bfpA</i>  | <i>eaeA</i>     | <i>elt</i> | <i>stx1</i> | <i>stx2</i> | <i>ial</i> | <i>eagg</i>     | <i>astA</i>     | <i>daaD</i>       | <i>est</i> |
| Trước xử lý | -            | -               | -          | -           | -           | -          | -               | 4/100<br>(4%)   | 9/100<br>(9%)     | -          |
| Sau xử lý   | -            | 5/81<br>(6,17%) | -          | -           | -           | -          | 4/81<br>(4,94%) | 8/81<br>(9,88%) | 13/81<br>(16,05%) | -          |



**Hình 2. Hình điện di sản phẩm PCR mang gene gây độc vi khuẩn *E. coli*. Giếng 1: *E. coli* C600 (*mdh*); giếng 2: *E. coli* EPEC PE21 (*mdh*, *bfpA*); giếng 3: *E. coli* EHEC V9 (*mdh*, *stx1*, *stx2*, *eaeA*); giếng 4: *E. coli* ETEC 12566; giếng 5: *E. coli* EAEC 8416; giếng 6: *E. coli* ETEC 135.13 (*mdh*, *elt*); giếng 7: *E. coli* EIEC O3 (*mdh*, *ial*); giếng 8: *E. coli* EPEC 166.12 (*mdh*, *astA*, *eaeA*); giếng 9: *E. coli* DAEC A30 (*mdh*, *daaD*); giếng 10: *E. coli* ETEC 12671 (*mdh*, *est*); giếng 11: chứng âm (nước cất); giếng L: thang 100 bp.**

Kết quả này có sự tương đồng về phát hiện nhóm gene *dadD* (DAEC) và *astA* có tỉ lệ cao nhất giữa nước thải trước khi xử lý và nước thải sau khi xử lý. Ngoài ra, trong nước thải sau khi xử lý thì phát hiện thêm 2 nhóm gene gây độc *eaeA* và *eagg*, đây là nhóm gene phổ biến cho các chủng *E. coli* nhóm gây tiêu chảy (EPEC, ETEC, EAEC) thường xuất hiện trong các vụ dịch gây tiêu chảy [23], [24]. Phát hiện trong nghiên cứu cũng tương đồng về phát hiện vi khuẩn mang gene gây độc *E. coli* (ETEC) trong nước thải bệnh viện tại Iran, trong tổng số 31 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập có 8 chủng *E. coli* gây độc và đa số là chủng ETEC (25,8%) [24]. Nghiên cứu của Mbanga và cộng sự [25] đã phân tích 4 mẫu nước thải bệnh viện tại Bulawayo (Zimbabwe) từ tháng 02 đến tháng 3 năm 2020 đã phân lập 94 chủng *E. coli* đã phát hiện 48 chủng phân lập ETEC mang gene *lt* (53,3%), 2 chủng (2,13%) EAEC (*eagg*) và 1 chủng (1,06%) (EHEC) phân lập gây xuất huyết ruột (*stx* và *eaeA*). Ở Việt Nam, năm 2024, công trình nghiên cứu của Trần Quang Khải và cộng sự [26] tại Bệnh viện Nhi Cần Thơ đã sử dụng kỹ thuật realtime – PCR phát hiện *E. coli* mang gene gây độc từ mẫu bệnh phẩm của trẻ em mắc tiêu chảy cấp đang được điều trị tại bệnh viện. Nhóm tác giả đã phân tích 271 chủng *E. coli* phát hiện 23/271 (8,4% chủng mang gene *eaeA*, EPEC). Điều này đã giải thích việc lây nhiễm từ người sang môi trường là hoàn toàn có thể xảy ra, khi chủng vi khuẩn có thể phát tán qua đường phân và nước tiểu của người bệnh khi được điều trị tại bệnh viện. Nguy hiểm hơn là những vi khuẩn gây độc này có thể phát tán ra môi trường tự nhiên và chuyển gene cho các loài khác khi chúng nằm trên plasmid.

#### 4. Kết luận

Phân tích các mẫu nước thải bệnh viện trước và sau xử lý tại một số bệnh viện thuộc khu vực Đồng bằng sông Cửu Long cho thấy sự khác biệt rõ rệt về thành phần nhóm phát sinh loài và gene gây độc của vi khuẩn *E. coli*. Trong nước thải trước xử lý, các nhóm phát sinh loài A và B1 chiếm tỷ lệ cao nhất. Sau xử lý, nhóm C trở nên chiếm ưu thế, tiếp theo là các nhóm A và B1. Xét về gene gây độc, *E. coli* trong nước thải chưa xử lý chỉ mang hai gene là *astA* và *daaD*. Tuy nhiên, sau xử lý, *E. coli* phát hiện được mang nhiều loại gene gây độc hơn, bao gồm *eaeA*, *eagg*, *astA* và *daaD*, cho thấy sự gia tăng tính đa dạng di truyền sau quá trình xử lý.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] E. Liedhegner *et al.*, “Similarities in virulence and extended spectrum beta-lactamase gene profiles among cefotaxime-resistant *Escherichia coli* wastewater and clinical isolates,” *Antibiotics*, vol. 11, no. 2, 2022, doi: 10.3390/antibiotics11020260.
- [2] S. Badi *et al.*, “Antibiotic resistance phenotypes and virulence-associated genes in *Escherichia coli* isolated from animals and animal food products in Tunisia,” *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 365, no. 10, pp. 1–7, 2018, doi: 10.1093/femsle/fny088.
- [3] J. B. Kaper *et al.*, “Pathogenic *Escherichia coli*,” *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 2, pp. 123–140, 2004, doi: 10.1038/nrmicro818.
- [4] B. Naraghi *et al.*, “Pathogenesis traits and antimicrobial resistance pattern in *Escherichia coli* isolates recovered from sewage,” *Crescent J. Med. Biol. Sci.*, vol. 7, no. 4, pp. 488–496, 2020.
- [5] O. Clermont *et al.*, “Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 66, no. 10, pp. 4555–4558, 2000, doi: 10.1128/AEM.66.10.4555-4558.2000.
- [6] O. Clermont *et al.*, “The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups,” *Environ. Microbiol. Rep.*, vol. 5, no. 1, pp. 58–65, 2013, doi: 10.1111/1758-2229.12019.
- [7] J. Sarowska *et al.*, “Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: Recent reports,” *Gut Pathog.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–16, 2019, doi: 10.1186/s13099-019-0290-0.
- [8] A. Bozorgomid *et al.*, “Antibiotic resistance, virulence factors, and phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolated from hospital wastewater: A case study in the west of Iran,” *Environ. Heal. Eng. Manag.*, vol. 10, no. 2, pp. 131–139, 2023, doi: 10.34172/EHEM.2023.15.
- [9] V. Saralaya *et al.*, “Characterization of *Escherichia coli* phylogenetic groups associated with extraintestinal infections in South Indian population,” *Ann. Med. Health Sci. Res.*, vol. 5, no. 4, pp. 241–246, 2015, doi: 10.4103/2141-9248.160192.
- [10] A. Osińska *et al.*, “The prevalence of virulence genes specific for *Escherichia coli* in wastewater samples from wastewater treatment plants with the activated sludge process,” *E3S Web Conf.*, vol. 44, 2018, doi: 10.1051/e3sconf/20184400133.
- [11] Vietnam Metrology Institute, “Vietnam National Standard 6187-1:2019 (ISO 9308-1:2014) - Water quality - Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria - Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora,” Ha Noi, Viet Nam, 2019.
- [12] T. P. Ngo *et al.*, “Antibiotic resistance genes, colistin-resistant *Escherichia coli*, and physicochemicals in health care wastewater in Vinh Long General Hospital, Vietnam,” *Environ. Monit. Assess.*, vol. 196, 2024, doi: 10.1007/s10661-024-13345-z.
- [13] K. B. Omar *et al.*, “Detection of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in clinical and environmental water sources in South Africa using single-step 11-gene m-PCR,” *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 30, no. 10, pp. 2663–2671, 2014, doi: 10.1007/s11274-014-1690-4.
- [14] H. Salmani *et al.*, “Pathotypic and phylogenetic study of diarrheagenic *Escherichia coli* and uropathogenic *E. coli* using multiplex polymerase chain reaction,” *Jundishapur J Microbiol.*, vol. 9, no. 2, pp. 1–7, 2016, doi: 10.5812/jjm.28331.
- [15] A. Hinenoya *et al.*, “Molecular characterization of cytolethal distending toxin gene-positive *Escherichia coli* from healthy cattle and swine in Nara, Japan,” *BMC Microbiol.*, vol. 14, no. 97, pp. 1–13, 2014.
- [16] M. A. Redha *et al.*, “Virulence and phylogenetic groups of *Escherichia coli* cultured from raw sewage in Kuwait,” *Gut Pathog.*, vol. 14, no. 1, 2022, Art. no. 18, doi: 10.1186/s13099-022-00490-4.

- 
- [17] V. Figueira *et al.*, "Differential patterns of antimicrobial resistance in population subsets of *Escherichia coli* isolated from waste- and surface waters," *Sci. Total Environ.*, vol. 409, no. 6, pp. 1017–1023, 2011, doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.12.011.
- [18] G. Kumar *et al.*, "Characterization and comparative analysis of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from hospital and municipal wastewater treatment plants," *J. Water Health*, vol. 22, no. 12, pp. 2276–2288, 2024, doi: 10.2166/wh.2024.126.
- [19] D. Iranpour *et al.*, "Phylogenetic groups of *Escherichia coli* strains from patients with urinary tract infection in Iran based on the new Clermont phylotyping method," *Biomed Res. Int.*, vol. 2015, pp. 1–7, 2015, doi: 10.1155/2015/846219.
- [20] Ministry of Natural Resources and Environment, "QCVN 28:2010/BTNMT - National technical regulation on health care wastewater," Hanoi, Viet Nam, 2010.
- [21] C. Jenkins *et al.*, "Genotyping of enteroaggregative *Escherichia coli* and identification of target genes for the detection of both typical and atypical strains," *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 55, no. 1, pp. 13–19, May 2006, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2005.10.019.
- [22] R. Mansan-Almeida *et al.*, "Diffusely adherent *Escherichia coli* strains isolated from children and adults constitute two different populations," *BMC Microbiol.*, vol. 13, no. 1, 2013, Art. no. 22, doi: 10.1186/1471-2180-13-22.
- [23] L. C. Spano *et al.*, "High prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* carrying toxin-encoding genes isolated from children and adults in southeastern Brazil," *BMC Infect. Dis.*, vol. 17, no. 1, 2017, Art. no. 773, doi: 10.1186/s12879-017-2872-0.
- [24] A. Almasi *et al.*, "The frequency of enterotoxigenic *E. coli* in municipal and hospital wastewater treatment plants in west of Iran," *Int. J. Pharm. Technol.*, vol. 8, no. 4, pp. 22765–22772, 2016.
- [25] J. Mbangwa *et al.*, "Antibiotic resistance, pathotypes, and pathogen-host interactions in *Escherichia coli* from hospital wastewater in Bulawayo, Zimbabwe," *PLoS One*, vol. 18, no. 3, 2023, doi: 10.1371/journal.pone.0282273.
- [26] Q. K. Tran *et al.*, "Study on the infection rate of *Escherichia coli* strains and toxic genes in children with acute diarrhea in can tho using real-time PCR technique," *J. Med Res.*, vol. 175, no. 2, pp. 129–136, 2024, doi: 10.52852/tencyh.v175i2.2270.