

TỶ LỆ NHIỄM VÀ TÍNH KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *ESCHERICHIA COLI* PHÂN LẬP TỪ THỊT BÒ VÀ PHÂN BÒ

Hoàng Minh Đức*, Phạm Thuỳ Linh, Trần Thị Khánh Hoà, Hoàng Minh Sơn

Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

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

TÓM TẮT

Vi khuẩn *E. coli* sản sinh men β -lactamases hoạt phổ rộng đang là mối nguy lớn đối với sức khỏe cộng đồng. Thịt được coi là một trong các vector chính đưa vi khuẩn kháng kháng sinh từ vật nuôi sang người. Trong nghiên cứu này, 90 mẫu (35 mẫu thịt bò và 55 mẫu phân bò) đã được thu thập trên địa bàn thành phố Hà Nội để xác định sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* và tính kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn này. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên thịt bò và phân bò là rất cao; lần lượt là 82,86% và 61,82%. Trong số 63 chủng *E. coli* phân lập được thì có tới 69,84% chủng kháng ít nhất 1 loại kháng sinh và 23 kiểu hình kháng đã được xác định. Tỷ lệ kháng cao nhất với tetracycline (42,86%), ampicillin (39,68%) sulfamethoxazole/trimethoprim (28,57%). Ngược lại, không có chủng kháng meropenem được ghi nhận. Đáng chú ý, 6 chủng *E. coli* phân lập từ thịt bò và phân bò trong nghiên cứu có khả năng sản sinh men ESBL và tất cả đều mang gen *bla*_{CTX-M-1}.

Từ khóa: *E. coli*, ESBL, kháng kháng sinh, thịt bò, phân bò.

Contamination rate and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from beef and cow feces

Hoang Minh Duc, Pham Thuy Linh, Tran Thi Khanh Hoa, Hoang Minh Son

SUMMARY

E. coli producing extended-spectrum β -lactamases is a great danger to public health. Meat is considered to be one of the main vectors for transmitting antibiotic-resistant bacteria strains from animals to humans. In this study, 90 samples (35 beef and 55 cow feces samples) were collected in Ha Noi City to determine the contamination rate and antibiotic resistance profile of *E. coli*. The studied results showed that the contamination rate of beef and cow manure samples with *E. coli* was 82.86% and 61.82%, respectively. Among 63 isolated *E. coli* strains, there were 69.84% resistant to at least 1 antibiotic and 23 antibiotic patterns were identified. The highest resistance rate of the isolated *E. coli* strains to tetracycline was (42.86%), followed by ampicillin (39.68%), and sulfamethoxazole/trimethoprim (28.57%). On the contrary, the isolated *E. coli* strain resisting meropenem was not found. Notably, 6 isolates were found to be capable of producing ESBL and all of them harboured *bla*_{CTX-M-1} gene.

Keywords: *E. coli*, ESBL, antibiotic resistance, beef, cow feces.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Escherichia coli (*E. coli*) là vi khuẩn gram âm, thuộc họ vi khuẩn *Enterobacteriaceae*, sống hội sinh trong đường tiêu hóa của người và động vật. Tuy nhiên, khi sức đề kháng của cơ thể vật chủ giảm thì vi khuẩn sẽ tăng nhanh số lượng, sản sinh độc tố gây ra nhiều

loại nhiễm trùng đường ruột và ngoài đường ruột dẫn đến tỷ lệ mắc bệnh, tử vong cao trên toàn cầu (Kaper và cs., 2004). Bên cạnh đó, vi khuẩn *E. coli* hội sinh không gây bệnh nhưng có thể mang gen kháng kháng sinh và lan truyền trong cộng đồng một cách âm thầm, do vật chủ không biểu hiện triệu chứng (CDC,

2013). Dự đoán đến năm 2050, *E. coli* có khả năng đa kháng kháng sinh và trở thành chủng vi khuẩn không thể chữa khỏi (O' Neil, 2014). Vi khuẩn *E. coli* đã được sử dụng rộng rãi như là vi khuẩn chỉ thị trong giám sát kháng kháng sinh (EFSA, 2008). Trong đó, *E. coli* sản xuất men β -lactamase phổ mở rộng (ESBL) được đưa vào danh sách các mầm bệnh kháng kháng sinh quan trọng nhất do Tổ chức Y tế thế giới công bố (World Health Organization, 2019). ESBL được tìm thấy chủ yếu ở vi khuẩn *E. coli*, enzyme có khả năng thủy phân các kháng sinh thuộc nhóm β -lactam bao gồm penicillins, cephalosporins thế hệ thứ 2, 3, 4, monobactam; tuy nhiên bị vô hiệu hóa bởi các chất ức chế beta-lactamase như acid clavulanic, sulbactam và tazobactam (Bradford, 2001; Tacconelli và cs., 2018). Trong điều trị nhiễm khuẩn sinh men ESBL thì các kháng sinh thuộc nhóm β -lactam thế hệ mới như cephalosporin thế hệ thứ 3, 4 đang dần trở nên kém hiệu quả (Schmid và cs., 2013; Musa và cs., 2020).

Những năm gần đây, nhu cầu tiêu dùng thịt bò ngày càng tăng, tuy nhiên sản xuất trong nước chưa đáp ứng đủ. Trong đó, Hà Nội là thị trường tiêu thụ thịt bò lớn, trung bình mỗi năm tiêu thụ khoảng 100.000 tấn (Cục Chăn nuôi, 2019). Đáng chú ý, tỷ lệ nhiễm vi khuẩn kháng kháng sinh trong thịt bò, sản phẩm từ thịt bò có xu hướng gia tăng, thịt bò dễ dàng trở thành nguồn truyền lây vi khuẩn kháng kháng sinh sang người (Hoài Phương và cs., 2008). Những năm qua, sự hiện diện của *E. coli* kháng kháng sinh trong thịt bò đã được báo cáo ở nhiều quốc gia trên thế giới (Adzitey và cs., 2020a; Ramadan và cs., 2020). Tại Việt Nam, nghiên cứu khảo sát trên các mẫu thịt bò ở thành phố Hồ Chí Minh cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* sinh ESBL/AmpC có khả năng kháng nhiều loại kháng sinh là 24,32% (18/74) (Nguyen và cs., 2016). Vì vậy, tác động của các mối nguy từ vi khuẩn kháng kháng sinh có trong thịt tươi nói chung và thịt bò nói riêng ảnh hưởng tới sức khỏe qua quá trình tiêu dùng là rất đáng lo ngại. Nguyên nhân có thể do *E. coli* kháng kháng sinh trong phân bò dễ dàng nhiễm vào thịt trong quá trình giết mổ, chế biến không đảm bảo vệ sinh. Ngoài ra, phân bò thường được sử

dụng làm nguồn phân bón hữu cơ cho cây trồng trong nông nghiệp (Goyal và cs., 2005). Điều này làm tăng nguy cơ lan truyền vi khuẩn kháng kháng sinh sang người và động vật thông qua thực phẩm và thức ăn chăn nuôi bị vấy nhiễm.

Xuất phát từ những vấn đề đáng lo ngại về tình trạng kháng kháng sinh hiện nay, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “*Tỷ lệ nhiễm và tính kháng kháng sinh của vi khuẩn E. coli phân lập từ thịt bò và phân bò*” nhằm cung cấp thêm thông tin, bằng chứng khoa học về tỷ lệ nhiễm, xu hướng kháng kháng sinh và tình trạng đa kháng thuốc của vi khuẩn *E. coli* có nguồn gốc từ bò và góp phần đưa ra các giải pháp, chiến lược định hướng sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi.

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

2.1. Nội dung nghiên cứu

Xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên thịt bò và phân bò tại thành phố Hà Nội.

Xác định khả năng kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập.

Phát hiện các chủng *E. coli* sản sinh men ESBL và các gen mã hóa men ESBL.

2.2. Vật liệu

90 mẫu (35 mẫu thịt bò và 55 mẫu phân bò) được thu thập tại Hà Nội

Dụng cụ, hóa chất, môi trường dùng để nuôi cấy phân lập, giám định, xác định tính miễn cảm với kháng sinh, xác định kiểu hình, kiểu gen mã hóa ESBL của vi khuẩn *E. coli*.

Trang thiết bị, máy móc tại phòng thí nghiệm bộ môn Thú y cộng đồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 10/2022 đến tháng 8/2023.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Lấy mẫu

Nghiên cứu được tiến hành trên tổng số 90 mẫu. Trong đó, 35 mẫu thịt bò được lấy từ các

quầy thịt bán tại 4 chợ thuộc huyện Gia Lâm, Hà Nội. Quy trình lấy mẫu thịt dựa trên Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4833-1:2002/ISO3100-1991, 2002 về thịt và sản phẩm thịt - lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử. Mẫu phân bố (55 mẫu) được thu thập từ 4 trang trại bò sữa khác nhau tại huyện Ba Vì, Hà Nội dựa trên Quy chuẩn Việt Nam QCVN 01-83: 2011 về lấy mẫu bệnh phẩm, bảo quản và vận chuyển. Mẫu được đựng trong túi zip vô trùng, ghi đầy đủ thông tin, bảo quản trong điều kiện lạnh 2-8°C, vận chuyển về phòng thí nghiệm Bộ môn thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam để tiến hành phân lập.

2.3.2. Phân lập vi khuẩn *E. coli*

Phương pháp phân lập *E. coli* được thực hiện theo phương pháp nuôi cấy đã được mô tả bởi Zhao và cs. (2001), bao gồm các bước: đồng nhất 25 g mẫu với 225 ml dung dịch Buffer Pepton Water (BPW) ủ ở 37°C trong 18-24 giờ. Cấy dịch tăng sinh sơ bộ lên môi trường thạch chọn lọc MacConkey, ủ 35°C/24 giờ. Trên thạch MacConkey, khuẩn lạc *E. coli* có màu hồng cánh sen, tròn bóng, rìa gọn, không nhày, đường kính 1-2mm. Chọn 3-5 khuẩn lạc *E. coli* giả định trên thạch MacConkey rìa cây trên môi trường thạch Eosin Methylene Blue (EMB) ủ ở 37°C/24 giờ. Trên thạch EMB, khuẩn lạc *E. coli* có ánh kim xanh, tâm đen. Cấy chuyển các khuẩn lạc *E. coli* từ thạch EMB vào môi trường Nutrient Broth (NB) ủ ở 37°C/24 giờ để sử dụng cho các phản ứng sinh hóa IMViC (Indol, Methyl red, Voges Proskauer, Simmons citrate), Triple sugar iron agar (TSI). Sau khi giám định các đặc tính sinh hóa, các chủng *E. coli* được giữ giống trong glycerol 20% ở -70°C.

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

Kiểm tra khả năng kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được bằng phương pháp pha loãng trên thạch theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và phòng thí nghiệm (CLSI, 2018). Mười lăm loại kháng sinh khác nhau được sử dụng bao gồm: ampicillin (AM), cefoxitin (FOX), cefotaxime (CTX), cefepime

(FEP), ceftazidime (CAZ), meropenem (MEM), gentamicin (GE), streptomycin (SM), azithromycin (AZ), florfenicol (FL), tetracycline (TE), colistin (CST), ciprofloxacin (CIP), nalidixic acid (NA), sulfamethoxazole/trimethoprim (SXT). Tính kháng kháng sinh của vi khuẩn đem kiểm tra được xác định dựa vào nồng độ ức chế tối thiểu (MIC). Vi khuẩn *Escherichia coli* ATCC 25922 được sử dụng làm chủng đối chứng.

2.3.4. Phát hiện các chủng *E. coli* có kiểu hình ESBL

Dựa trên kết quả xác định tính miễn cảm với kháng sinh, các chủng *E. coli* kháng cefotaxime hoặc/và ceftazidime, đồng thời kháng cefepime được lựa chọn đem kiểm tra khả năng sản sinh men ESBL bằng phương pháp đĩa kết hợp (Synergy test) theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và Phòng thí nghiệm (CLSI, 2020). Tóm tắt như sau: 0,1mL canh khuẩn *E. coli* ở nồng độ 10^8 CFU/mL tương đương với độ đục chuẩn 0.5 McFarland được láng lên bề mặt môi trường thạch Mueller Hilton Agar (MHA). Sau đó, các đĩa giấy tẩm kháng sinh ceftazidime (30µg), cefotaxime (30µg) + clavulanic acid (10µg), cefotaxime (30µg) + clavulanic acid (10µg) được đặt lên trên bề mặt MHA, ủ 37°C/16-18 h. Các chủng có khả năng sản sinh men ESBL khi đường kính vòng vô khuẩn của đĩa có chứa clavulanic acid so với đĩa không có clavulanic acid chênh lệch nhau lớn hơn 5mm.

2.3.5. Phát hiện gen mã hóa men ESBL

Một số gen phổ biến mã hóa men ESBL của các chủng *E. coli* phân lập được phát hiện bằng kỹ thuật multiplex PCR (Le và cs., 2015). DNA của các chủng này được tách chiết bằng bộ kit GeneJET Genomic DNA Purification (Thermo Scientific, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các cặp môi dùng cho phản ứng PCR trong nghiên cứu này được thể hiện ở bảng 1.

Chu trình nhiệt của phản ứng PCR: giai đoạn biến tính ở 95°C/5 phút; 25 chu kỳ với giai đoạn biến tính ở 95°C/30 giây, giai đoạn gắn môi ở 60°C/90 giây, giai đoạn kéo dài ở 72°C/90 giây; cuối cùng là giai đoạn kết thúc ở 68°C trong 10 phút.

Bảng 1. Thông tin các cặp mồi dùng phát hiện gen mã hóa men ESB� (Le và cs., 2015)

Gen mục tiêu	Mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Sản phẩm (bp)
TEM	TEM-410F	GGTCGCCGCATACACTATTCTC	372
	TEM-781R	TTTATCCGCCTCCATCCAGTC	
SHV	SHV-287F	CCAGCAGGATCTGGTGGACTAC	231
	SHV-517R	CCGGGAAGCGCCTCAT	
CTX-M-1	CTXM-1-115F	GAATTAGAGCGGCAGTCGGG	588
	CTXM-1-702R	CACAACCCAGGAAGCAGGC	
CTX-M-2	CTXM-2-39F	GATGGCGACGCTACCCC	107
	CTXM-2-145R	CAAGCCGACCTCCCGAAC	
CTX-M-9	CTXM-9-16F	GTGCAACGGATGATGTTCGC	475
	CTXM-9-490R	GAAACGTCTCATCGCCGATC	
CTX-M-8/25	CTXM-8g25g-533F	GCGACCCGCGCGATAC	186
	CTXM-8g25g-718R	TGCCGGTTTTATCCCCG	

2.3.6. Xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2021.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* trên phân bò và thịt bò

Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* từ 90 mẫu thịt bò và phân bò được tổng hợp ở bảng 2.

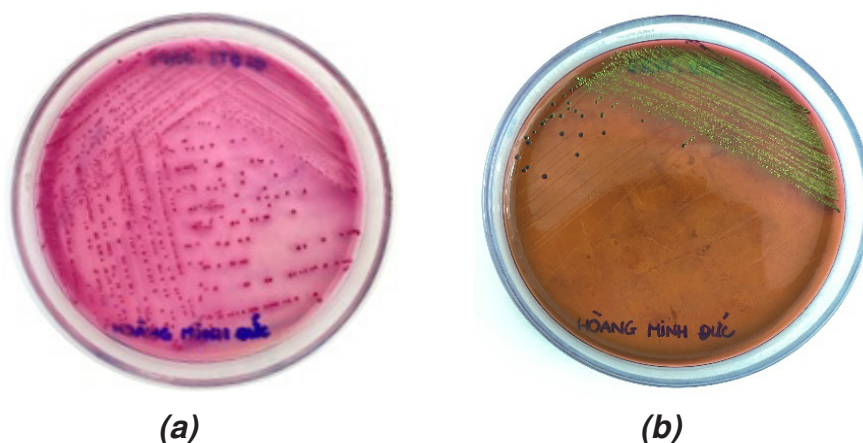
Bảng 2. Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* từ thịt bò và phân bò

Loại mẫu	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Thịt bò	35	29	82,86
Phân bò	55	34	61,82
Tổng	90	63	70

Trong tổng số 90 mẫu thu thập được có 63 mẫu dương tính với *E. coli* sau khi nuôi cấy trên môi trường chọn lọc và giám định bằng các phản ứng sinh hóa. Cụ thể, 29/35 (82,86%) mẫu thịt bò và 34/55 (61,82%) mẫu phân bò phát hiện sự có mặt của vi khuẩn *E. coli*.

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* trong các mẫu ở mức cao và phù hợp với các báo cáo trước đây của một số tác giả khác. Kết quả nghiên cứu của Trần Thị Hương Giang và Huỳnh Thị Mỹ Lệ (2012) về tỷ lệ nhiễm của vi khuẩn *E. coli* trên thịt ở

một số huyện ngoại thành Hà Nội (Gia Lâm, Đông Anh và Sóc Sơn), cho thấy 76,67% (23/30) mẫu thịt bò thu thập tại 11 chợ dương tính với vi khuẩn *E. coli*. Một nghiên cứu của Adzitey và cs. (2020) về mức độ phổ biến và khả năng kháng kháng sinh của *E. coli* được phân lập từ các loại thịt ở thủ đô Tamale của Ghana, phát hiện 86,67% (39/45) mẫu thịt bò dương tính. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Sahoo và cs. (2012) chỉ ra tỷ lệ nhiễm *E. coli* trong phân bò tại Odisha, Ấn Độ là 64,27% (268/417), tương đồng với kết quả nghiên cứu này. Ngược lại, nghiên cứu của Li và cs. (2017) tại Trung Quốc cho thấy tỷ lệ các sản phẩm thịt nhiễm *E. coli* ở mức thấp là 8,89% (64/720). Như vậy, có thể do vùng sinh thái, phương thức chăn nuôi, điều kiện vệ sinh của từng địa phương là những yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm *E. coli* trên phân bò và thịt bò. Bên cạnh đó, do sự đa dạng trong phương pháp thu thập mẫu, thời gian và kỹ thuật thực hiện khác nhau nên rất khó để so sánh số liệu về tỷ lệ nhiễm *E. coli* ở các nghiên cứu khác nhau (Li và cs., 2013). Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ các mẫu phân bò dương tính với *E. coli* thấp hơn mẫu thịt bò có thể còn do phân bò có hệ vi sinh vật đa dạng với nồng độ cao hơn thịt bò đã làm cản trở khuẩn lạc *E. coli* hình thành và phát triển khi ria cấy mẫu trên môi trường thạch MacConkey. Chính điều này đã gây khó khăn trong việc nhận diện và tinh khiết khuẩn lạc *E. coli* trên thạch MacConkey đối với mẫu phân bò. Do đó, tỷ lệ nhiễm *E. coli* của mẫu phân bò trong nghiên cứu này có thể thấp hơn so với thực tế.



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

3.2. Tính kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập

Khả năng kháng kháng sinh của 63 chủng *E. coli* phân lập được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập từ phân bò và thịt bò

Nhóm kháng sinh	Loại kháng sinh	Tỷ lệ kháng của vi khuẩn <i>E. coli</i> phân lập		
		Phân bò (N=34) n (%)	Thịt bò (N=29) n (%)	Tổng (N=63) n (%)
Penicillins	Ampicillin	12 (35,29)	13 (44,83)	25 (39,68)
	Cefotaxime	3 (8,82)	3 (10,34)	6 (9,52)
Cephalosprins	Cefoxitin	0 (0)	2 (6,9)	2 (3,17)
	Ceftazidime	3 (8,82)	2 (6,9)	5 (7,94)
	Cefepime	4 (11,76)	3 (10,34)	7 (11,11)
Carbapenem	Meropenem	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Aminoglycosides	Gentamicin	2 (5,88)	0 (0)	2 (3,17)
	Streptomycin	7 (20,59)	6 (20,69)	13 (20,63)
Macrolides	Azithromycin	1 (2,94)	0 (0)	1 (1,59)
Tetracyclines	Tetracyclin	16 (47,06)	11 (37,93)	27 (42,86)
Phenicols	Florfenicol	9 (26,47)	3 (10,34)	12 (19,05)
Polymycin	Colistin	8 (23,53)	2 (6,9)	10 (15,87)
Quinolones	Nalidixic acid	5 (14,71)	5 (17,24)	10 (15,87)
	Ciprofloxacin	3 (8,82)	2 (6,9)	5 (7,94)
Sulfonamides	Sulfamethoxazole/ trimethoprim	13 (38,24)	5 (17,24)	18 (28,57)

Ghi chú: N: tổng số chủng kiểm tra, n: số chủng kháng

Kết quả chỉ ra rằng tỷ lệ *E. coli* kháng cao nhất đối với tetracycline (42,86%), ampicillin (39,68%), sulfamethoxazol/trimethoprim (28,57%), streptomycin (20,63%). Tiếp đến

là florfenicol (19,05%), colistin (15,87%), nalidixic acid (15,87%), cefepime (11,11%), cefotaxime (9,52%), ceftazidime (7,94%), ciprofloxacin (7,94). Ngược lại, các chủng này

kháng ít nhất với gentamicin (3,17%), cefoxitin (3,17%), azithromycin (1,59%) và không ghi nhận chủng kháng meropenem. Nhìn chung, tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập từ thịt bò và phân bò là khá tương đồng. Khác biệt lớn nhất là tỷ lệ kháng với florfenicol, colistin, sulfamethoxazole/trimethoprim của *E. coli* phân lập từ phân bò cao hơn so với *E. coli* phân lập từ thịt bò. Nghiên cứu của Ramadan và cs. (2020) cho thấy các chủng *E. coli* phân lập được từ thịt bò có tỷ lệ kháng cao nhất với 4 loại kháng sinh là tetracyclin (44,4%), sulfamethoxazole/trimethoprim (44,4%), streptomycin (40,7%), ampicillin (37%). Bên cạnh đó, các chủng này có tỷ lệ kháng thấp đối với azithromycin, gentamicin, ciprofloxacin (đồng tỷ lệ là 11,1%) và nhạy cảm hoàn toàn với cefoxitin và meropenem. Tại Canada, Massé và cs. (2021) đã kiểm tra tỷ lệ kháng của vi khuẩn *E. coli* phân lập từ các hố phân tại 102 trang trại bò sữa, cho thấy mức độ kháng cao nhất với tetracycline (26%), streptomycin (19%) và nhạy cảm với meropenem, tỷ lệ kháng thấp hơn kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên, quan sát thấy tỷ lệ kháng colistin là 30% cao hơn trong nghiên cứu này (23,53%). Kết quả nghiên cứu phần nào phản ánh được sự khác biệt trong xu hướng sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi giữa các nước phát triển và nước đang phát triển. Sự chênh lệch tỷ lệ kháng giữa các nghiên cứu có thể do các chủng vi khuẩn được phân lập ở các vùng có quy trình chăn nuôi và sử dụng kháng sinh khác nhau trong phòng và điều trị bệnh.

Trong nghiên cứu này, các chủng *E. coli* phân lập được kháng nhiều nhất với tetracyclin, ampicillin, trimethoprim-sulfamethoxazole ở cả thịt bò và phân bò có thể do các loại kháng sinh này thường được sử dụng để ngăn ngừa và điều trị một số bệnh thường gặp như viêm vú, viêm tử cung, viêm da, viêm phổi, tiêu chảy và các bệnh khác tại các trang trại chăn nuôi bò (Sawant và cs., 2005). Việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi được xem là biện pháp hữu hiệu trong điều trị bệnh, tuy nhiên

lạm dụng kháng sinh trong phòng và điều trị bệnh chưa được giám sát chặt chẽ có thể tạo ra áp lực chọn lọc đối với hệ vi sinh vật đường ruột của bò gây nên tình trạng xuất hiện và lan truyền những chủng vi khuẩn kháng kháng sinh, gây tác động xấu đến sức khỏe cộng đồng (Wichmann và cs., 2014).

Kết quả kiểm tra tính đa kháng và kiểu hình kháng của các chủng *E. coli* được tổng hợp ở bảng 4.

Các chủng *E. coli* có khả năng kháng từ một loại kháng sinh chiếm 69,84% (44/63), trong đó thịt bò và phân bò tương ứng với tỷ lệ là 65,52% (19/29) và 73,53% (25/34). Tỷ lệ các chủng *E. coli* đa kháng kháng sinh (kháng từ 3 nhóm kháng sinh trở lên) phân lập từ thịt bò và phân bò lần lượt là 24,14% (7/29) và 35,29% (12/34).

Từ 44 chủng *E. coli* kháng ít nhất một loại kháng sinh, chúng tôi phát hiện 23 kiểu hình kháng kháng sinh, trong đó kiểu hình CST (11,11%) phổ biến nhất, tiếp theo là TE-SXT và AM-TE-FL-SXT (đồng tỷ lệ 6,35%). Đáng chú ý, sự xuất hiện của 2 chủng *E. coli* phân lập từ 10 loại kháng sinh với kiểu hình kháng là AM-CAZ-FEP-SM-TE-FL-CST-NA-CIP-SXT và AM-CTX-CAZ-FEP-SM-TE-FL-NA-CIP-SXT. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy các kiểu hình kháng của các chủng *E. coli* phân lập từ thịt bò và phân bò trong nghiên cứu này khá tương đồng, khi có tới 8 kiểu hình được phát hiện cả trên *E. coli* phân lập từ thịt bò và phân bò. Đây là một vấn đề đáng lưu ý, có thể vi khuẩn kháng kháng sinh từ phân của gia súc vấy nhiễm vào thịt bò trong quá trình giết mổ. Sự hiện diện của các chủng *E. coli* đa kháng và kiểu hình kháng đa dạng phân lập từ bò cho thấy việc lạm dụng thuốc kháng sinh để phòng và điều trị bệnh, kích thích sinh trưởng cho động vật đã và đang diễn ra, dẫn đến khó khăn trong việc lựa chọn và phối hợp các loại kháng sinh trong điều trị bệnh nhiễm khuẩn, yếu tố nguy cơ gây hại đối với sức khỏe cộng đồng.

Bảng 4. Kiểu hình kháng của các chủng *E. coli* phân lập từ thịt bò và phân bò

Số kháng sinh	Số kiểu hình kháng	Kiểu hình kháng	Tỷ lệ <i>E. coli</i> phân lập từ		
			Thịt bò (N=29) n (%)	Phân bò (N=34) n (%)	Tổng (N=63) n (%)
1	5	AM	2 (6,9)	1 (2,94)	3 (4,76)
		CST	1 (3,45)	6 (17,65)	7 (11,11)
		GE	0 (0)	1 (2,94)	1 (1,59)
		NA	2 (6,9)	1 (2,94)	3 (4,76)
		TE	2 (6,9)	0 (0)	2 (3,17)
2	3	AM-FOX	2 (6,9)	0 (0)	2 (3,17)
		AM-TE	1 (3,45)	1 (2,94)	2 (3,17)
		TE-SXT	1 (3,45)	3 (8,82)	4 (6,35)
3	2	AM-SM-TE	1 (3,45)	1 (2,94)	2 (3,17)
		TE-FL-SXT	0 (0)	1 (2,94)	1 (1,59)
4	2	AM-SM-TE-NA	1 (3,45)	0 (0)	1 (1,59)
		AM-TE-FL-SXT	1(3,45)	3 (8,82)	4 (6,35)
		AM-SM-TE-FL-SXT	1(3,45)	1 (2,94)	2 (3,17)
5	4	AM-CTX-CAZ-FEP-CIP	1(3,45)	0 (0)	1 (1,59)
		AM-TE-FL-CST-SXT	0 (0)	1 (2,94)	1 (1,59)
		SM-TE-FL-NA-SXT	0 (0)	1 (2,94)	1 (1,59)
6	1	AM-SM-TE-NA-CIP-SXT	1(3,45)	0 (0)	1 (1,59)
7	2	AM-CTX-FEP-SM-TE-CST-NA	1 (3,45)	0 (0)	1 (1,59)
		AM-CTX-FEP-SM-TE-NA-CIP	0 (0)	1 (2,94)	1 (1,59)
8	1	AM-CTX-CAZ-FEP-SM-TE-FL-SXT	1 (3,45)	0 (0)	1 (1,59)
9	1	AM-CTX-CAZ-FEP-GE-SM-AZ-TE-SXT	0 (0)	1 (2,94)	1 (1,59)
10	2	AM-CAZ-FEP-SM-TE-FL-CST-NA-CIP-SXT	0 (0)	1 (2,94)	1 (1,59)
		AM-CTX-CAZ-FEP-SM-TE-FL-NA-CIP-SXT	0 (0)	1 (2,94)	1 (1,59)
MDR	14		7 (24,14)	12 (35,29)	19 (30,15)
Tổng	23		19 (65,52)	25 (73,53)	44 (69,84)

Ghi chú: AM: Ampicillin, CTX: Cefotaxime, FEP: Cefepime, CAZ: Ceftazidime, SM: Streptomycin, GE: Gentamicin, AZ: Azithromycin, FL: Flofenicol, TE: Tetracycline, CST: Colistin, NA: Nalidixic acid, CIP: Ciproproxacin, SXT: Sufamethoxazole/trimethoprim, N=tổng số chủng đem kiểm tra, n=số chủng kháng, MDR (multi-drug resistant): đa kháng

3.3. Kết quả xác định kiểu hình và kiểu gen ESBL của các chủng *E. coli* phân lập

Kết quả kiểm tra kiểu hình ESBL cho thấy 100% (6/6) số chủng kiểm tra có kiểu hình ESBL, gen mã hóa ESBL được xác định và trình bày cụ thể ở bảng 5. Trong đó, gen $bla_{CTX-M-1}$ được phát hiện ở tất cả các chủng với tỷ lệ 100% và không thấy sự có mặt của

các gen bla_{TEM} , bla_{SHV} , $bla_{CTX-M-2}$, $bla_{CTX-M-8/25}$, $bla_{CTX-M-9}$. Sự hiện diện của vi khuẩn sinh ESBL có thể do thu nhận gen kháng thuốc thông qua plasmid, transposon hoặc do việc sử dụng các kháng sinh nhóm beta-lactam tạo áp lực chọn lọc lên vi khuẩn gây ra các đột biến (Blanc và cs., 2006). Kết quả nghiên cứu này phù hợp với các báo cáo trước đây cho rằng

gen $bla_{CTX-M-1}$ phổ biến nhất ở các chủng *E. coli* sinh ESBL (Leverstein-van Hall và cs., 2011). Tại Việt Nam, theo nghiên cứu của Nguyễn Đỗ Phúc và cs. (2016) thì tỷ lệ nhiễm *E. coli* sinh ESBL/AmpC trên mẫu thịt bò tại thành phố Hồ Chí Minh là 24,3% (18/74), với tỷ lệ mang

gen $bla_{CTX-M-1}$, $bla_{CTX-M-9}$ lần lượt là 31,6% và 26,3%. Kết quả nghiên cứu cho thấy tình trạng đáng báo động khi tần suất phát hiện các chủng vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL này là tương đối cao và dần trở nên phổ biến trong các loại thực phẩm, đặc biệt là thịt bò.

Bảng 5. Kết quả kiểm tra sự hiện diện của các gen mã hóa ESBL

Loại mẫu	Tên chủng	Kiểu hình kháng	Gen mã hóa ESBL					
			TEM	SHV	CTX-M-1	CTX-M-2	CTX-M-8/25	CTX-M-9
Thịt bò	ETB20	AM-CTX-CAZ-FEP-CIP	-	-	+	-	-	-
	ETB15	AM-CTX-CAZ-FEP-SM-TE-FL-SXT	-	-	+	-	-	-
	ETB22	AM-CTX-FEP-SM-TE-CST-NA	-	-	+	-	-	-
Phân bò	EPB11	AM-CTX-FEP-SM-TE-NA-CIP	-	-	+	-	-	-
	EPB18	AM-CTX-CAZ-FEP-SM-TE-FL-NA-CIP-SXT	-	-	+	-	-	-
	EPB33	AM-CTX-CAZ-FEP-GE-SM-AZ-TE-SXT	-	-	+	-	-	-

Ghi chú: AM: Ampicillin, CTX: Cefotaxime, FEP: Cefepime, CAZ: Ceftazidime, SM: Streptomycin, GE: Gentamicin, AZ: Azithromycin, FL: Flofenicol, TE: Tetracycline, CST: Colistin, NA: Nalidixic acid, CIP: Cipproxacin, SXT: Sufamethoxazole/trimethoprim

Gần đây, tình trạng nhiễm *E. coli* sinh ESBL đang có xu hướng tăng cao và lan rộng ở nhiều quốc gia như Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Đức, Hà Lan, Hoa Kỳ, Canada (Cohen Stuart và cs., 2012; Schmid và cs., 2013; Kawamura và cs., 2014; Zhang và cs., 2021). Nghiên cứu của Agga, Silva và Martin (2021) tại Hoa Kỳ báo cáo rằng 93% (39/42) chủng phân lập từ mẫu phân bò có chứa vi khuẩn *E. coli* sinh ESBL mang gen bla_{CTX-M} , nghiên cứu ở Hàn Quốc phát hiện 52,17% chủng mang gen bla_{CTX-M} (Tamang và cs., 2012). Ngược lại, tỷ lệ *E. coli* mang gen mã hóa ESBL ở mức thấp được báo cáo trong nghiên cứu của Fashae và cs. (2021) ở Nigeria với 12,8% số chủng *E. coli* phân lập từ gia súc mang gen bla_{CTX-M} . Ngoài ra, kết quả trong nghiên cứu này cho thấy sự khác biệt trong phân bố các gen mã hóa ESBL so với một số nghiên cứu khác. Tại Trung Quốc, Zhang và cs. (2021) cho rằng tỷ lệ *E. coli* sinh ESBL trên bò thịt là 39,63% (88/222), trong đó tỷ lệ mang gen bla_{TEM} là 7,95%, bla_{SHV} là 20,45%, bla_{CTX-M} là 23,86% và $bla_{CTX-M+TEM}$ là 20,45%. Một nghiên cứu khác thực hiện bởi Li

và cs. (2017) cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. coli* sinh ESBL trên các sản phẩm thịt là 25% (16/64), với tỷ lệ các gen bla_{SHV} , bla_{TEM} , bla_{CTX-M} lần lượt là 56,25%, 31,25% và 12,5%.



Hình 2. Kết quả kiểm tra kiểu hình ESBL của vi khuẩn *E. coli*

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* thịt bò và phân bò là rất cao với tỷ lệ lần lượt là 82,86% và 61,82%. Phần lớn các chủng *E. coli*

phân lập được (76,19%) có khả năng kháng với ít nhất 1 loại kháng sinh và 34,92% có kiểu hình đa kháng. Tỷ lệ kháng cao được ghi nhận với các kháng sinh tetracyclin (42,86%), ampicillin (39,68%), và sulfamethoxazole/trimethoprim (28,57%). Ngược lại tỷ lệ kháng meopenem, azythromycin, gentamycin là thấp nhất, lần lượt là 0%, 1,59%, và 3,17%. Đáng chú ý, nghiên cứu này phát hiện 9.52% (6/63) các chủng *E. coli* phân lập có kiểu hình ESBL và mang gen *bla*_{CTX-M-1}. Kết quả nghiên cứu cung cấp bằng chứng về tình trạng nhiễm và khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập từ thịt bò và phân bò tại một số huyện ngoại thành Hà Nội. Từ đó cho thấy việc giám sát sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi cũng như vệ sinh chế biến thực phẩm là rất cần thiết để kiểm soát sự xuất hiện và lây lan các vi khuẩn kháng kháng sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adzitey, F. *et al.*, 2020a. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Various Meat Types in the Tamale Metropolis of Ghana. *International Journal of Food Science* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1155/2020/8877196>.
- Adzitey, F. *et al.*, 2020b. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Various Meat Types in the Tamale Metropolis of Ghana. *International Journal of Food Science* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1155/2020/8877196>.
- Blanc, V. *et al.*, 2006. ESBL- and plasmidic class C β -lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Veterinary Microbiology* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.08.002>.
- Bradford, P.A., 2001. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>.
- CDC, 2013. *Antibiotic resistance threats in the United States, Atlanta. GA*. Atlanta, GA.
- CLSI, 2018. *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria*. Available at: www.clsi.org.
- Cohen Stuart, J. *et al.*, 2012. Comparison of ESBL contamination in organic and conventional retail chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), pp. 212–214. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.034>.
- EFSA, 2008. Report from the Task Force on Zoonoses Data Collection including guidance for harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. from food animals. *EFSA Journal*, 6(4). Available at: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.141r>.
- Fashae, K. *et al.*, 2021. Molecular characterisation of extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* in wild birds and cattle, Ibadan, Nigeria. *BMC Veterinary Research* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02734-4>.
- Goyal, S., Dhull, S.K. and Kapoor, K.K., 2005. Chemical and biological changes during composting of different organic wastes and assessment of compost maturity. *Bioresource Technology* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.12.012>.
- Hoài Phương, H. *et al.*, 2008. Khảo sát gen kháng kháng sinh của một số vi khuẩn gây bệnh phân lập từ thực phẩm. *Tạp chí y học thành phố Hồ Chí Minh*, 12, pp. 283–290.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P. and Mobley, H.L.T., 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, pp. 123–140. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>.
- Kawamura, K. *et al.*, 2014. Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamases and *Escherichia coli* isolated from retail foods including chicken meat in Japan. *Foodborne Pathogens and Disease* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1608>.
- Le, Q.P. *et al.*, 2015. Characteristics of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Retail Meats and Shrimp at a Local Market in Vietnam. *Foodborne Pathogens and Disease* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1089/fpd.2015.1954>.
- Leverstein-van Hall, M.A. *et al.*, 2011. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology and Infection* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03497.x>.
- Li, L. *et al.*, 2017. Occurrence of extended-spectrum β -lactamases, plasmid-mediated quinolone resistance, and disinfectant resistance genes in *Escherichia coli* isolated from ready-to-eat meat products. *Foodborne Pathogens and Disease* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2191>.

17. Li, R. *et al.*, 2013. Prevalence and characterization of *Salmonella* species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province, China. *International Journal of Food Microbiology*, 163(1), pp. 14–18. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.020>.
18. Massé, J. *et al.*, 2021. Prevalence of Antimicrobial Resistance and Characteristics of *Escherichia coli* Isolates From Fecal and Manure Pit Samples on Dairy Farms in the Province of Québec, Canada. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.654125>.
19. Musa, L. *et al.*, 2020. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* and ESBL-producing *Escherichia coli* diffusion in conventional, organic and antibiotic-free meat chickens at slaughter. *Animals* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.3390/ani10071215>.
20. Nguyen, D.P. *et al.*, 2016a. Dissemination of Extended-Spectrum β -Lactamase- and AmpC β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* within the Food Distribution System of Ho Chi Minh City, Vietnam. *BioMed Research International*, 2016, pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1155/2016/8182096>.
21. Nguyen, D.P. *et al.*, 2016b. Dissemination of Extended-Spectrum β -Lactamase- and AmpC β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* within the Food Distribution System of Ho Chi Minh City, Vietnam. *BioMed Research International* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1155/2016/8182096>.
22. O' Neil, J., 2014. Tackling a crisis for the health and wealth of nations. *The Review on Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill* [Preprint].
23. QCVN 01 - 83: 2011/BNNPTNT, 2011. Yêu cầu chung về lấy mẫu bệnh phẩm động vật.
24. Ramadan, H. *et al.*, 2020. Antimicrobial resistance, genetic diversity and multilocus sequence typing of *Escherichia coli* from humans, retail chicken and ground beef in egypt. *Pathogens*, 9(5). Available at: <https://doi.org/10.3390/pathogens9050357>.
25. Sahoo, K.C. *et al.*, 2012. Geographical variation in antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates from stool, cow-dung and drinking water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9(3), pp. 746–759. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijerph9030746>.
26. Sawant, A.A., Sordillo, L.M. and Jayarao, B.M., 2005. A survey on antibiotic usage in dairy herds in Pennsylvania. *Journal of Dairy Science*, 88(8), pp. 2991–2999. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72979-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72979-9).
27. Schmid, A. *et al.*, 2013. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* on Bavarian dairy and beef cattle farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(9), pp. 3027–3032. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.00204-13>.
28. Tacconelli, E. *et al.*, 2018. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases* [Preprint]. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3).
29. Tamang, M.D. *et al.*, 2012. Molecular characterization of extended-spectrum- β -lactamase- producing and plasmid-mediated AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from stray dogs in South Korea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1128/AAC.05598-11>.
30. TCVN 4833-1:2002/ISO3100-1991, 2002. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4833-1:2002 (ISO 3100 - 1991) về thịt và sản phẩm thịt - lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử.
31. Trần Thị Hương Giang and Huỳnh Thị Mỹ Lệ, 2012. Prevalence and Virulence of *Escherichia coli* Isolated from Pork, Beef and Chicken in Some Districts of Hanoi. *Tạp chí Khoa học và phát triển*, 2, pp. 295–300.
32. Wichmann, F. *et al.*, 2014. Diverse antibiotic resistance genes in dairy cow manure. *mBio* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1128/mBio.01017-13>.
33. World Health Organization, 2019. *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine - 6th Revision 2018*.
34. Zhang, Y.L. *et al.*, 2021. High prevalence of bla CTX-M and bla SHV among ESBL producing *E. coli* isolates from beef cattle in China's Sichuan-Chongqing Circle. *Scientific Reports* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93201-z>.
35. Zhao, C. *et al.*, 2001. Prevalence of *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli*, and *Salmonella* Serovars in Retail Chicken, Turkey, Pork, and Beef from the Greater Washington, D.C., Area. *Applied and Environmental Microbiology* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.67.12.5431-5436.2001>.

Ngày nhận: 16-12-2023

Ngày phản biện: 20-12-2023

Ngày đăng: 1-3-2024