

XÁC ĐỊNH MỘT SỐ GEN GÂY BỆNH CỦA VI KHUẨN CHỊU NHIỆT *CAMPYLOBACTER* SPP. PHÂN LẬP TỪ THỊT LỢN VÀ THỊT GÀ TẠI VIỆT NAM

Nguyễn Ngọc Minh Tuấn¹, Bùi Khánh Linh², Nguyễn Hoàng Thịnh²,
Nguyễn Thị Thu Hằng³, Trần Thị Hạnh⁴, Chu Đình Tới⁵, Mai Vũ Thanh¹

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, đã có 9 chủng vi khuẩn *Campylobacter* (8 chủng *C. jejuni* và 1 chủng *C. coli*) được sử dụng để xác định gen gây bệnh từ 20 chủng vi khuẩn *Campylobacter* được phân lập từ 150 mẫu thịt gà và thịt lợn tại Việt Nam. Kết quả nghiên cứu cho thấy 100% các chủng đều có các gen sau: gen điều khiển hoạt động của flagella (*flaA*, *flaB*, *flhA*, *flhM*), gen thực hiện chức năng xâm nhập (*cadF*, *docB*), gen sản sinh ra độc tố (*cdtA*, *cdtB*, *secD*, *secF*) và gen thực hiện chức năng sinh tổng hợp lipooligosaccharide (*pglB*). Trong khi đó, đã không phát hiện thấy được sự có mặt của 8 gen (*fliY*, *virB11*, *Cje1278*, *Cj1434c*, *Cj1138*, *Cj1438c*, *Cj1440c*, *Cj1136*). Tuy nhiên, đã phát hiện được một số gen ở vi khuẩn *C. jejuni* cho thấy có sự sai khác gen *ciaB* (22,2%), *Cje1280* (77,8%), *docC* (66,7%) và *cgtB* (55,6%), trong đó gen *iamA*, *cdtC* chỉ phát hiện thấy ở các chủng vi khuẩn *C. jejuni* mà không thấy ở chủng *C. coli*.

Từ khóa: Vi khuẩn *Campylobacter*, gen, thịt gà, thịt lợn.

Determining some pathogenic genes of heating resistant *Campylobacter* spp. isolated from chicken meat and pork in Viet Nam

Nguyen Ngoc Minh Tuan, Bui Khanh Linh, Nguyen Hoang Thinh,
Nguyen Thi Thu Hang, Tran Thi Hanh, Chu Dinh Toi, Mai Vu Thanh

SUMMARY

The result of this study showed that nine *Campylobacter* isolates (eight *C. jejuni* and one *C. coli*) from 20 strains were identified virulence gene by multiplex PCR, lipooligosaccharide (LOS) biosynthesis and further functions was tested. In all isolates carrying the motility flagella genes (*flaA*, *flaB*, *flhA*, *flhM*), colonization associated genes (*cadF*, *docB*), toxin production genes (*cdtA*, *cdtB*, *secD*, *secF*), and the LOS biosynthesis gene *pglB* were detected. Meanwhile, eight gene loci (*fliY*, *virB11*, *Cje1278*, *Cj1434c*, *Cj1138*, *Cj1438c*, *Cj1440c*, *Cj1136*) were not identified by PCR. However, there was the difference of the gene loci *ciaB* (22.2 %), *Cje1280* (77.8 %), *docC* (66.7 %), and *cgtB* (55.6 %) found. The gene *iamA*, *cdtC* were identified in all *C. jejuni* isolates but not in *C. coli*.

Keywords: Bacteria, *Campylobacter*, gene, pork, chicken meat.

¹ Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ

² Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³ Viện Thú y

⁴ Viện nghiên cứu dịch bệnh nhiệt đới và bệnh lây truyền từ động vật sang người, Hà Nội

⁵ Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn chịu nhiệt *Campylobacter* là nguyên nhân gây tiêu chảy ở người trên toàn thế giới, đồng thời là tác nhân gây bệnh Campylobacteriosis - bệnh lây truyền giữa động vật và người (Alos và cs, 2001). Triệu chứng ở người mắc bệnh tiêu chảy do vi khuẩn *Campylobacter* gây ra diễn biến từ thể tiêu chảy nhẹ cho đến thể tiêu chảy nặng - viêm ruột-dạ dày chảy máu (Ketley và cs, 1997).

Gia cầm và các sản phẩm thịt gia cầm là nguồn dự trữ vi khuẩn *Campylobacter* spp. (Hafez, 2003; EFSA, 2015). Vi khuẩn *Campylobacter* cư trú trong đường ruột của gia súc, gia cầm và từ đó gây nhiễm thịt gia súc, gia cầm tươi sống (Weijtens MJ và cs, 1997). Quá trình giết mổ gia cầm không đảm bảo là nguy cơ lây nhiễm vi khuẩn sang người và các loại thịt gia súc khác (Pearce và cs, 2003). Sử dụng thịt gia súc và gia cầm tái sống, chưa nấu kỹ có nguy cơ bị nhiễm vi khuẩn *Campylobacter* spp. (Carrique Mas và cs, 2013). Các chủng vi khuẩn *Campylobacter* spp. gây bệnh ở người thường gặp là *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* (EFSA, 2015).

Tại Việt Nam, những nghiên cứu về vi khuẩn *Campylobacter* chưa nhiều. Một số công bố về tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Campylobacter* spp. ở người cho thấy: tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Campylobacter* spp. ở trẻ em bị tiêu chảy là 2-4%, ở người lớn dưới 1% (Bodhidatta và cs, 2007; My và cs, 2013; Trang và cs, 2007). Nghiên cứu phân lập các vi khuẩn gây tiêu chảy trẻ em ở các vùng nông thôn cho thấy 31% là vi khuẩn *Campylobacter* trên tổng số các vi khuẩn phân lập được (Isenbarger và cs, 2001). Công bố về tỷ lệ vi khuẩn *Campylobacter* ở các sản phẩm thịt cho thấy: tỷ lệ nhiễm *Campylobacter* ở thịt vịt và thịt gà là 23,9-53,7% (Carrique Mas và cs, 2006), tỷ lệ nhiễm *Campylobacter* ở thân thịt gà là 35,1% (Bao và cs, 2006).

Hiện tại những hiểu biết về cơ chế gây bệnh của vi khuẩn *Campylobacter*, đặc biệt là các nghiên cứu sinh học phân tử về *Campylobacter*, chưa được đầy đủ. Một lượng lớn các gen có vai trò quan trọng trong việc gây bệnh của vi khuẩn *Campylobacter* đã được xác định (Parkhill, 2000; Bang và cs, 2003; Hänel và cs, 2007; Müller và cs, 2006), gồm có các gen *flaA*, *flaB*, *flhA*, *fliM*

điều khiển hoạt động của flagella; gen *ciaB*, *iamA* thực hiện chức năng bám dính và xâm nhập vào tế bào biểu mô; gen *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* sản sinh ra các độc tố. Tuy nhiên, các nghiên cứu như vậy thường đơn lẻ và chưa có nghiên cứu nào giám định một cách hệ thống về những nhóm gen gây bệnh của vi khuẩn *Campylobacter*. Trên cơ sở nghiên cứu về các gen gây bệnh quan trọng, các gen gây bệnh được xếp thành 6 nhóm: gen điều khiển hoạt động flagella, gen thực hiện chức năng bám dính, gen thực hiện chức năng xâm nhập, gen sản sinh độc tố, gen bài tiết độc tố, gen thực hiện chức năng sinh tổng hợp lipooligosaccharide. Vì vậy, đề tài này đã được tiến hành nhằm xác định sự có mặt của các gen gây bệnh ở vi khuẩn chịu nhiệt *Campylobacter* phân lập từ thịt lợn và thịt gà tại Việt Nam.

II. MỤC TIÊU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mục tiêu

Xác định sự có mặt của các gen gây bệnh của các chủng vi khuẩn *Campylobacter* spp. phân lập được từ thịt lợn và thịt gà tại Việt Nam.

2.2. Nội dung nghiên cứu

2.2.1. Phân lập và xác định chủng vi khuẩn *Campylobacter*

Các chủng vi khuẩn *Campylobacter* được phân lập từ 100 mẫu thịt gà và 50 mẫu thịt lợn. Các mẫu thịt gà và thịt lợn trên được lấy từ 2 lò mổ tại Hà Nội, sau đó bảo quản và chuyển đến phòng thí nghiệm bộ môn Vệ sinh thú y (Viện Thú y) để tiến hành phân lập theo tiêu chuẩn ISO 10272-1.

2.2.2. Xác định các gen gây bệnh của vi khuẩn *Campylobacter*

- Gen điều khiển hoạt động flagella (flagella gens): *flaA*, *flaB*, *flhA*, *fliM*, *fliY*.

- Gen thực hiện chức năng bám dính (invasion gens): *ciaB*, *iamA*, *virB11*.

- Gen thực hiện chức năng xâm nhập (colonization gens): *cadF*, *docA*, *docB*, *docC*.

- Gen sinh ra độc tố (toxin gens production): *cdtA*, *cdtB*, *cdtC*.

- Gen bài tiết độc tố (secretory gens): *secD*, *secF*.

- Gen thực hiện chức năng sinh tổng hợp lipooligosaccharide (LOS gens): *pglB*, *Cje1278*, *Cje1280*, *Cj1434c*, *Cj1138*, *Cj1438c*, *Cj1440c*, *CgtB*, *Cj1136*.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp tách chiết DNA

DNA của các chủng vi khuẩn được tách chiết theo hướng dẫn của bộ KIT cung cấp bởi hãng Roche GmbH, Mannheim, Đức. DNA sau tách

chiết được kiểm tra số lượng theo hướng dẫn của hãng Fisher GmbH, Schwerte, Đức và được bảo quản ở -20°C.

2.3.2. Phương pháp xác định chủng *Campylobacter jejuni* và *Campylobacter coli*

Xác định chủng *C. jejuni* và *C. coli* được thực hiện theo phương pháp multiplex-PCR (m-PCR). Cặp mồi (primers) được sử dụng trong multiplex-PCR là *mapA* để khuếch đại đoạn gen có độ dài 589bp (*C. jejuni*) và *ceuE* để khuếch đại đoạn gen có độ dài 462bp (*C. coli*).

Gen đích	Trình tự	Kích thước sản phẩm	Loài
16S rRNA	ATC TAA TGG CTT AAC CAT TAAAC GGA CGG TAA CTA GTT TAG TAT	857 bp	<i>Campylobacter</i>
<i>mapA</i>	CTA TTT TAT TTT TGA GTG CTT GTG GCT TTA TTT GCC ATT TGT TTT ATT A	589 bp	<i>Campylobacter jejuni</i>
<i>ceuE</i>	TGA TTT TAT TAT TTG TAG CAG CG AAT TGA AAA TTG CTC CAA CTA TG	462 bp	<i>Campylobacter coli</i>
16S rRNA	ATT TAG AGT GCT CAC CCG AAG GGG AAA CTG GTAATC TAG AGT GG	522 bp	<i>Campylobacter lari</i>

Phản ứng PCR được thực hiện trong ống eppendorff 50µl bao gồm: 5µl buffer 10x Tag (Jena Bioscience GmbH, Jena, Germany), 2µl dNTP mix (2mM, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Germany), 2µl mỗi xuôi, 2µl mỗi ngược, 0,2µl Taq DNA polymerase (Jena Bioscience GmbH). Quy trình của phản ứng PCR được thực hiện như sau: chu kỳ đầu tiên thực hiện ở 96°C trong 1 phút, 35 chu kỳ tiếp sau được thực hiện ở 95°C trong 1 phút (denaturation DNA), 59°C trong 90s (annealing), 72°C trong 60s (elongation). Phản ứng PCR được tiến hành trên máy TRO Thermoblock (Biometra, Göttingen, Đức).

2.3.3. Phương pháp giám định các gen gây bệnh

Các gen gây bệnh được xác định dựa trên độ dài tương ứng của đoạn gen. Sử dụng phương pháp PCR với các cặp mồi chuyên dụng để khuếch đại các gen gây bệnh. Trình tự thực hiện và chu trình nhiệt độ của PCR được thực hiện theo hướng dẫn (Tuan Nguyen và cs, 2016). Các đoạn gen gây bệnh sau khi được khuếch đại bằng PCR sẽ được đọc kết quả bằng cách chạy điện di trên thạch agarose

gel 1,5% được nhuộm với Ethidium Bromide. Kết quả thu được là các file ảnh được chụp với máy chụp ảnh nền tối Bio Imaging System (Syngen, Cambridge, UK).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập và xác định chủng vi khuẩn *Campylobacter*

3.1.1. Kết quả phân lập

Kết quả phân lập vi khuẩn *Campylobacter* được trình bày qua bảng 1.

Kết quả bảng 1 cho thấy: 20 chủng (13,33%) vi khuẩn *Campylobacter* spp. đã được phân lập từ 100 mẫu thịt gà và 50 mẫu thịt lợn, trong đó có 15 chủng vi khuẩn *Campylobacter* phân lập được từ các mẫu thịt gà (15,00%) và 5 chủng phân lập được từ các mẫu thịt lợn (10,00%). Thịt bày bán tại các chợ nhỏ lẻ được xem là nguồn dự trữ mầm bệnh chủ yếu lây truyền vi khuẩn *Campylobacter*. Theo Lưu Quỳnh Hương và cs (2006), gần 30% thịt gà ở trường học, căng

tin bệnh viện và một số chợ nhỏ lẻ tại Hà Nội đã phát hiện thấy vi khuẩn *Campylobacter*. Tại Việt Nam, ở các chợ nhỏ lẻ, việc giết mổ gia súc, gia cầm chưa thực hiện theo quy trình giết

mổ và chưa có khu giết mổ chuyên biệt. Do vậy, thịt và các sản phẩm thịt có nguy cơ cao bị lây nhiễm chéo vi khuẩn *Campylobacter* giữa thịt lợn và thịt gà.

Bảng 1. Kết quả phân lập vi khuẩn *Campylobacter* spp. từ các mẫu thịt lợn và thịt gà

Nguồn gốc mẫu	Số lượng mẫu (n)	Kết quả nuôi cấy phân lập (5% O ₂ , 10% CO ₂ , 85% N ₂ , 37°C 48 h)		Tỷ lệ (%)
		Muller Hinton	mCCDA	
Thịt gà	100	15	15	15,00
Thịt lợn	50	5	5	10,00
Tính chung	150	20	20	13,33

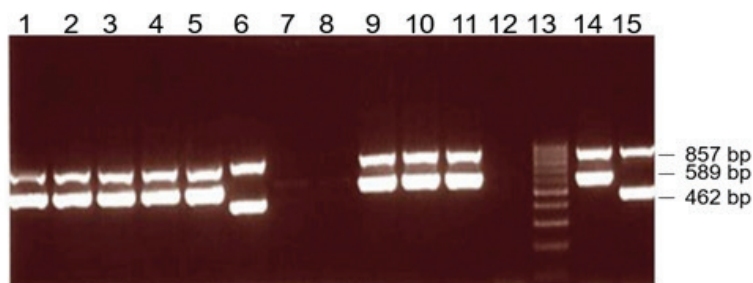
Từ kết quả phân lập trên đây, tiếp tục tiến hành xác định các chủng vi khuẩn *Campylobacter* gây bệnh dựa trên phản ứng multiplex PCR.

3.1.2. Kết quả xác định chủng bằng mPCR

Hai mươi chủng vi khuẩn *Campylobacter* đã được nuôi cấy phục hồi trên môi trường đặc hiệu Muller Hilton (agar) và mCCDA (agar) tại

Phòng thí nghiệm tham chiếu *Campylobacter*, Viện nghiên cứu bệnh lây truyền giữa động vật và người, Jena, CHLB Đức. Tại đây, chúng tôi tiến hành tách chiết DNA và phân lập định danh chủng bằng phương pháp multiplex PCR (mPCR).

Kết quả định danh các chủng vi khuẩn *Campylobacter* được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Định danh phân lập *C. jejuni* và *C. coli* bằng phương pháp mPCR
(1-11: DNA của các chủng vi khuẩn; 12: ĐC âm, 13: DNA ladder 100bp, 14: ĐC dương - *C. jejuni*, 15: ĐC dương - *C. coli*)

Kết quả cho thấy: Trong tổng số các chủng vi khuẩn *Campylobacter* spp. phân lập được, có 8 chủng là *C. jejuni* vì có độ dài DNA ở mức 589bp (so với đối chứng) và 1 chủng là *C. coli* vì có độ dài DNA ở mức 462bp (so với đối chứng). Có 2 chủng không phải là *Campylobacter* vì cho kết quả âm tính.

Như vậy, việc xác định các chủng loài vi khuẩn *Campylobacter* và phân biệt *C. jejuni* và *C. coli* đã được thực hiện nhờ phản ứng multiplex PCR

(mPCR). Phản ứng mPCR này không chỉ cho kết quả nhanh mà còn có thể phân biệt và xác định được chính xác các chủng loài vi khuẩn đồng thời trong cùng một lần chạy PCR.

3.2. Kết quả giám định các gen gây bệnh của các chủng *Campylobacter* phân lập được

Cơ chế gây bệnh của vi khuẩn *Campylobacter jejuni* và *Campylobacter coli* được xác định bởi sự có mặt của các gen gây bệnh. Tuy nhiên, hiểu biết về cơ

chế gây bệnh ở vi khuẩn này vẫn còn nhiều hạn chế. Vì vậy, xác định sự có mặt của các gen gây bệnh của vi khuẩn *Campylobacter* rất cần thiết và có nhiều ý nghĩa.

Kết quả giám định sự có mặt của các gen gây bệnh của các chủng *Campylobacter* spp. được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả giám định các gen gây bệnh của các chủng vi khuẩn *Campylobacter* spp. phân lập được

Ký hiệu chủng vi khuẩn	09CS 0040 a)	09CS 0043 a)	09CS 0046 a)	09CS 0047 a)	09CS 0049 a)	09CS 0067 a)	09CS 0066 b)	09CS 0068 b)	09CS 0051 a)
Loài	Cj ^{c)}	Cj ^{c)}	Cj ^{c)}	Cj ^{c)}	Cj ^{c)}	Cj ^{c)}	Cj ^{c)}	Cj ^{c)}	Cc ^{d)}
Nhóm gen điều khiển hoạt động flagella (flagella genes)									
<i>flaA</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>flaB</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>flhA</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>fliM</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>fliY</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nhóm gen thực hiện chức năng bám dính (invasion genes)									
<i>ciaB</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>iamA</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>virB11</i>	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Nhóm gen thực hiện chức năng xâm nhập (colonization genes)									
<i>cadF</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>docA</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>docB</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>docC</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Nhóm gen sinh ra độc tố (toxin genes production)									
<i>cdtA</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>cdtB</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>cdtC</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nhóm gen thực hiện chức năng sinh tổng hợp lipooligosaccharide (LOS genes):									
<i>pglB</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cje1278	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cje1280	-	-	-	+	-	+	-	-	-
Cj1434c	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cj1138	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cj1438c	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cj1440c	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>cgfB</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Cj1136	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nhóm gen bài tiết độc tố (secretory genes)									
<i>secD</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>secF</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+

^{a)}Chủng vi khuẩn phân lập từ thịt gà; ^{b)}Chủng vi khuẩn phân lập từ thịt lợn; ^{c)} Cj – *Campylobacter jejuni*; ^{d)} Cc – *Campylobacter coli*

Kết quả bảng 2 cho thấy: Các gen *flaA*, *flaB*, *flhA* và *fliM* được tìm thấy ở tất cả các chủng *C. jejuni* và *C. coli* phân lập được, còn gen *fliY* đã không được tìm thấy ở chủng vi khuẩn nào. Gen *iamA* - gen có vai trò trong hoạt động bám dính và xâm nhập vào tế bào biểu mô tìm thấy ở tất cả các chủng *C. jejuni*, trong khi gen *ciaB* lại không thấy xuất hiện ở *C. jejuni* (09CS0049) và *C. coli* (09CS0051). Gen *virB11* chỉ được tìm thấy ở 2 chủng *C. jejuni* (09CS0043 và 09CS0047). Tất cả các chủng *C. jejuni* đều mang các gen *cadF* (gen màng ngoài protein), *docA* (gen mã hóa enzyme peroxidase), *docB* (gen mã hóa methyl-accepting chemotaxis protein). Tuy nhiên, phát hiện thấy gen *docC* (một loại gen mã hóa methyl-accepting chemotaxis protein) có mặt ở 3 chủng *C. jejuni* trong tổng số 9 chủng. Gen sản sinh độc tố *cdtA*, *cdtB* và *cdtC* có mặt ở tất cả các chủng phân lập được. Đây cũng chính là các gen sản sinh ra độc tố sung phòng - một trong những độc tố nguy hiểm của vi khuẩn *Campylobacter*.

Gen tổng hợp lipooligosaccharid là các gen đặc trưng của các chủng vi khuẩn *Campylobacter* phân lập được ở Việt Nam. Gen *pglB*, gen mã hóa enzyme vận chuyển oligosaccharyl, được tìm thấy ở tất cả các chủng. Các gen *Cje1278*, *Cje1280*, *Cj1434c*, *Cj1138*, *Cj1438c*, *Cj1440c*, *Cj1136*, *cgtB* là gen mã hóa enzyme vận chuyển phân tử đường galactose và rất hiếm khi được tìm thấy ở các chủng *Campylobacter* spp.

Sự có mặt của những gen gây bệnh của vi khuẩn *Campylobacter* spp. phân lập được tại Việt Nam có thể là những đặc điểm sinh học phân tử đặc trưng về khả năng gây bệnh của các chủng vi khuẩn *Campylobacter* spp. phân lập được ở Việt Nam.

IV. KẾT LUẬN

- Đã xác định được gen độc lực của 8 chủng vi khuẩn *C. jejuni* và 1 chủng *C. coli* từ 20 chủng vi khuẩn *Campylobacter* được phân lập từ 150 mẫu thịt gà và thịt lợn.

- Có 4 gen gen điều khiển hoạt động của flagella (*flaA*, *flaB*, *flhA*, *fliM*), 2 gen thực hiện chức năng xâm nhập (*cadF*, *docB*), 4 gen sản sinh ra độc tố (*cdtA*, *cdtB*, *secD*, *secF*) và 1 gen thực hiện chức năng sinh tổng

hợp lipooligosaccharide (*pglB*).

- Có sự sai khác gen *ciaB* (22.2 %), *Cje1280* (77.8 %), *docC* (66.7 %) và *cgtB* (55.6 %), trong đó gen *iamA*, *cdtC* chỉ phát hiện thấy ở các chủng vi khuẩn *C. jejuni* mà không thấy ở chủng *C. coli*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alos BM. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. *Clin Infect Dis*. 2001; 32: 1201-6.
2. Ketley JM. Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiology*. 1997; 143:5-21.
3. Hafez HM. Bacterial contaminations and risks from poultry meat and eggs. *Arch Geflüglk*. 2003; 67:146-52.
4. ESFA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. *EFSA J*. 2015; 12:3547.
5. Weijtens MJ, van der Plas J, Bijker PG, Urlings HA, Koster D, van Logtestijn JG, et al. The transmission of *Campylobacter* in piggeries; an epidemiological study. *J Appl Microbiol*. 1997; 83:693-8.
6. Pearce RA, Wallace FM, Call JE, Dudley RL, Oser A, Yoder L, et al. Prevalence of *Campylobacter* within a swine slaughter and processing facility. *J Food Prot*. 2003; 66:1550-6.
7. Carrique-Mas JJ, Bryant JE. A review of foodborne bacterial and parasitic zoonoses in Viet Nam. *EcoHealth*. 2013; 10:465-89.
8. Bodhidatta L, Lan NT, Hien BT, Lai NV, Srijan A, Serichantalergs O, et al. Rotavirus disease in young children from Ha Noi, Viet Nam. *Pediatr Infect Dis J*. 2007; 26:325-8.
9. My PV, Thompson C, Phuc HL, Tuyet PT, Vinh H, Hoang NV, et al. Endemic norovirus infections in children, Ho Chi Minh City, Viet Nam, 2009-2010. *Emerg Infect Dis*. 2013; 19:977-80.

10. Trang DT, Hien BTT, Molbak K, Cam PD, Dalsgaard A. Epidemiology and aetiology of diarrhoeal diseases in adults engaged in wastewater-fed agriculture and agriculture in Ha Noi, Viet Nam. *Trop Med Int Health*. 2007; 12 (Suppl.2): 23-33.
 11. Isenbarger DW, Hien BTT, Ha TT, Bodhidatta L, Pang LW et al. Prospective study of the incidence of diarrhoea and prevalence of bacterial pathogens in a cohort of Viet Namese children along the Red River. *Epidemiol Infect*. 2001; 127:229-36.
 12. Carrique-Mas JJ, Bryant JE, Cuong NV, Hoang NV, Campell J, Hoang NV, et al. An epidemiological investigation of *Campylobacter* in pig and poultry farms in the Mekong Delta of Viet Nam. *Epidemiology and economics*. 2006. www. Sciquest.org.nz.
 13. Bao VN, Fries R, Zessin KH, Kyule MN, Pinthong R, Baumann MPO. *Salmonella* and *Campylobacter* in broiler carcasses in Viet Nam. In: Proceedings of the 11th international symposium veterinary epidemiology and economics. 2006. www. Sciquest.org.nz.
 14. Parkhill J, Wren BW, Mungall K, Ketley JM, Churcher C, Basham D, et al. The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. *Nature*. 2000; 403:665-8.
 15. Bang DD, Nielsen EM, Scheutz F, Pedersen K, Handberg K, Madsen M. PCR detection of seven virulence and toxin genes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from Danish pigs and cattle and cytotoxic distending toxin production of the isolates. *J Appl Microbiol*. 2003; 94:1003-14.
 16. Hänel I, Borrmann E, Müller J, Alter T. Relationships between bacterial genotypes and in vitro virulence properties of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from turkeys. *J Appl Microbiol*. 2007; 102:433-41.
 17. Müller J, Schulze F, Müller W, Hänel I. PCR detection of virulence-associated genes in *Campylobacter jejuni* strains with differential ability to invade Caco-2 cells and to colonize the chick gut. *Vet Microbiol*. 2006; 113:123-9.
 18. International Standards Organization: [ISO] 10272-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs - horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1: detection method. 2006.
 19. El-Adawy H, Hotzel H, Tomaso H, Neubauer H, Hafez HM. Elucidation of colonization time and prevalence of thermophilic *Campylobacter* species during turkey rearing using multiplex polymerase chain reaction. *Poult Sci*. 2012; 91:454-9.
 20. Müller J, Schulze F, Müller W, Hänel I. PCR detection of virulence-associated genes in *Campylobacter jejuni* strains with differential ability to invade Caco-2 cells and to colonize the chick gut. *Vet Microbiol*. 2006; 113:123-9.
 21. Müller J, Meyer B, Hänel I, Hotzel H. Comparison of lipooligosaccharide biosynthesis genes of *Campylobacter jejuni* strains with varying abilities to colonize the chicken gut and to invade Caco-2 cells. *J Med Microbiol*. 2007; 56:1589-94.
 22. Luu Quynh Huong, Tran Thi Hanh, Phung Dac Cam, Nguyen Thi Be. Study on the Prevalence of *Campylobacter* spp. from Chicken Meat in Ha Noi, Viet Nam. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006; 1081:273-5.
- Ngày nhận 5-12-2018
 Ngày phản biện 13-3-2019
 Ngày đăng 1-5-2019