

Research Article

Contamination rate and antibiotic resistance profile of *Enterococcus* spp. isolated from pork and chicken in Gia Lam district, Hanoi City

Hoang Minh Duc^{1,2*}, Tran Thi Khanh Hoa^{1,2}, Pham Thuy Linh^{1,2}, Hoang Minh Son^{1,2}

¹Faculty of Veterinary Medicine, Vietnam National University of Agriculture, Hanoi, Vietnam

²Laboratory of Veterinary Microbiology, Center of Excellence in Research and Innovation, Vietnam National University of Agriculture, Hanoi, Vietnam

(Received: 11 Apr 2024; Revised: 07 Jun 2024; Accepted: 08 Jun 2024)

Abstract

Enterococcus spp. has been known to be an opportunistic pathogen and a reservoir for antibiotic resistance genes. Food, especially pork and chicken meat, are considered vectors for transmitting *Enterococcus* spp. from animals to humans. In this study, 60 meat samples (30 pork samples and 30 chicken samples) were randomly collected from local markets in Gia Lam district, Hanoi city to isolate *Enterococcus* spp. The results show that the contamination rate of *Enterococcus* spp. in meat samples was 41.67% (25/60), specifically, 46.67% (14/30) for pork and 36.67% (11/30) for chicken meat. Among 25 *Enterococcus* spp. isolates, *E. faecalis* and *E. faecium* account for 48% and 28%, respectively. Overall, *Enterococcus* spp. strains isolated from pork had a higher resistance rate than those isolated from chicken meat. The isolates exhibited the highest resistance rate to tetracycline (68.42%), followed by erythromycin (52.63%) and streptomycin (47.37%). On the contrary, all of the isolates were susceptible to teicoplanin, vancomycin, tigecycline, and linezolid.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, antibiotic resistance, meat.

* Corresponding author: Hoang Minh Duc (E-mail: hoangminhduc@vnua.edu.vn)

Doi: <https://doi.org/10.47866/2615-9252/vjfc.4349>

Xác định tỷ lệ nhiễm và tính kháng kháng sinh của *Enterococcus* spp. phân lập từ thịt lợn và thịt gà trên địa bàn huyện Gia Lâm, Hà Nội

Hoàng Minh Đức^{1,2*}, Trần Thị Khánh Hoà^{1,2}, Phạm Thuỳ Linh^{1,2}, Hoàng Minh Sơn^{1,2}

¹Khoa thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam

²Phòng nghiên cứu vi sinh vật thú y, Trung tâm nghiên cứu xuất sắc và đổi mới sáng tạo, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam

Tóm tắt

Vi khuẩn *Enterococcus* spp. được biết đến là vi khuẩn cơ hội và là nguồn chứa các gen kháng kháng sinh. Thực phẩm, đặc biệt là thịt lợn và thịt gà, được coi là vector lây truyền *Enterococcus* từ động vật sang người. Trong nghiên cứu này, tổng cộng 60 mẫu thịt (30 mẫu thịt lợn và 30 mẫu thịt gà) được thu thập ngẫu nhiên tại các chợ trên địa bàn huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội để tiến hành phân lập *Enterococcus* spp. Kết quả cho thấy tỷ lệ nhiễm *Enterococcus* spp. trên các mẫu thịt là 41,67% (25/60), cụ thể là 46,67% (14/30) đối với mẫu thịt lợn và 36,67% (11/30) với mẫu thịt gà. Trong số 25 chủng *Enterococcus* spp. phân lập được, *E. faecalis* và *E. faecium* chiếm tỷ lệ lần lượt là 48% và 28%. Nhìn chung, tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *Enterococcus* spp. phân lập từ thịt lợn cao hơn so với các chủng phân lập từ thịt gà. Các chủng phân lập có tỷ lệ kháng cao nhất đối với tetracycline (68,42%), kế tiếp là erythromycin (52,63%) và streptomycin (47,37%). Ngược lại, tất cả các chủng phân lập mẫn cảm với teicoplanin, vancomycin, tigecycline và linezolid.

Từ khóa: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, kháng kháng sinh, thịt.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Enterococcus spp. (*Enterococcus*) là cầu khuẩn Gram dương, sống hội sinh trong đường ruột của người và động vật [1]. Ở môi trường ngoài, chúng được tìm thấy trong thực vật, đất, nước, đặc biệt nhiều nhất trong thực phẩm và các chất thải như phân [2-4]. *Enterococcus* còn được biết đến là lợi khuẩn thường ứng dụng trong bảo quản và lên men thực phẩm [5]. Trước đây, *Enterococcus* được xem là vi khuẩn vô hại trong đường tiêu hóa của con người, tuy nhiên trong những năm gần đây, *Enterococcus* đã nổi lên với vai trò là căn nguyên gây bệnh nghiêm trọng ở người [6]. Trong đó, *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) và *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) được phát hiện thường xuyên nhất và là nguyên nhân hàng đầu gây nhiễm trùng máu, viêm nội tâm mạc, viêm đường tiết niệu, ngoài ra gây suy giảm miễn dịch và nhiễm trùng mô mềm [7, 8].

Kháng kháng sinh là vấn đề đáng lo ngại đối với sức khỏe động vật và con người. Việc sử dụng kháng sinh trong điều trị *Enterococcus* trở nên kém hiệu quả hơn khi vi khuẩn này đã hình thành khả năng kháng với nhiều loại kháng sinh. Theo WHO (2017), *Enterococcus* là một trong 12 mầm bệnh gây ra mối đe dọa lớn nhất đối với sức khỏe con người trên toàn

cầu và nằm trong danh sách mầm bệnh ưu tiên nghiên cứu, bởi sự phát triển nhanh chóng các cơ chế kháng kháng sinh và mức độ lây nhiễm từ động vật sang người đáng báo động [9]. *Enterococcus* có khả năng kháng tự nhiên với một số kháng sinh thuộc nhóm β -lactam, aminoglycosides, tuy nhiên lại rất mẫn cảm với nhóm glycopeptides và lincosamides [2-3]. Bên cạnh các cơ chế kháng nội tại, *Enterococcus* có khả năng thu nhận nhiều loại gen kháng kháng sinh, điều này tạo ra một loạt cơ chế kháng thuốc đa dạng cho *Enterococcus*, từ đó tiềm ẩn nguy cơ hình thành các chủng đa kháng [6, 10]. Vi khuẩn *Enterococcus* có thể truyền gen kháng kháng sinh trong cùng loài hoặc sang các vi khuẩn khác trong đường ruột của người và động vật, kể cả trong môi trường và thực phẩm; làm gia tăng và phổ biến tình trạng kháng kháng sinh trong cộng đồng [11, 12].

Enterococcus đóng vai trò là vi khuẩn chỉ điểm vệ sinh để đánh giá mức độ ô nhiễm phân động vật trong thực phẩm [13]. *Enterococcus* thường được tìm thấy trên thực phẩm có nguồn gốc động vật, tuy nhiên, phần lớn do hạn chế về khâu giám sát và vệ sinh trong quá trình giết mổ dẫn đến tạp nhiễm. Tại Hoa Kỳ, trong một cuộc khảo sát từ năm 2002 đến năm 2014 đã phát hiện 92% mẫu thịt bán lẻ nhiễm *Enterococcus*, trong đó chủ yếu là *E. faecium* và *E. faecalis* [7]. Đáng chú ý, *Enterococcus* mang khả năng đa kháng đã được phát hiện trên thực phẩm và động vật làm thực phẩm tại Trung Quốc, Hàn Quốc và một số nước trong khu vực Đông Nam Á (Thái Lan, Malaysia, Indonesia) [14-16]. Chính vì vậy, thực phẩm được cho là vector truyền *Enterococcus* kháng kháng sinh sang người [17]. Bên cạnh đó, sự tồn tại phổ biến trong môi trường tự nhiên và khả năng các chất khử trùng của *Enterococcus* đã và đang gây khó khăn cho việc giám sát và phòng ngừa nhiễm khuẩn vi khuẩn này [6]. Vì những lý do nêu trên, vi khuẩn *Enterococcus* đã được xếp vào nhóm ưu tiên giám sát chủ động trong kế hoạch hành động quốc gia phòng, chống kháng kháng sinh trong lĩnh vực nông nghiệp giai đoạn 2021-2025 [18].

Tại Việt Nam, các nghiên cứu trước đây chỉ tập trung xác định tính mẫn cảm với kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh, tuy nhiên trong những năm gần đây vi sinh vật hội sinh đang được quan tâm nghiên cứu do luôn phải chịu sự tác động của kháng sinh. Mặc dù *Enterococcus* là một trong những vi sinh vật hội sinh cư trú trong đường ruột động vật và con người nhưng dữ liệu về tình trạng kháng kháng sinh của cầu khuẩn đường ruột tại Việt Nam đang còn rất ít [1]. Do đó, nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định tỷ lệ nhiễm, khả năng kháng kháng sinh của các chủng *Enterococcus* phân lập từ thịt lợn và thịt gà. Kết quả của nghiên cứu này sẽ cung cấp bằng chứng khoa học về mối nguy lây lan vi khuẩn kháng kháng sinh trong cộng đồng thông qua thực phẩm có nguồn gốc động vật.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Môi trường và hóa chất chuyên dùng để phân lập, định danh, xác định tính mẫn cảm với kháng sinh của *Enterococcus*. Các loại kháng sinh bột được sử dụng bao gồm: ampicillin, erythromycin, gentamicin, streptomycin vancomycin, teicoplanin, tigecycline, linezolid, chloramphenicol, tetracycline.

Mẫu nghiên cứu: 60 mẫu thịt (30 mẫu thịt lợn và 30 mẫu thịt gà) được thu thập tại các chợ trên địa bàn huyện Gia Lâm, Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Lấy mẫu

Thu thập ngẫu nhiên 60 mẫu thịt (30 mẫu thịt lợn và 30 mẫu thịt gà) tại các chợ trên địa bàn huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội từ tháng 2 năm 2022 đến tháng 6 năm 2022. Mẫu được thu thập theo TCVN 4833-1:2002, mẫu được đựng trong các túi vô trùng, ghi đầy đủ thông tin, bảo quản lạnh và 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 tích trong vòng 24 giờ [19].

2.2.2. Phân lập vi khuẩn *Enterococcus* từ mẫu thịt lợn và thịt gà

Enterococcus được phân lập theo phương pháp được mô tả bởi Pesavento và cộng sự (2014), cụ thể như sau: 25 g mẫu thịt được cắt nhỏ và đồng nhất với 225 mL dung dịch đệm Buffered Pepton Water (BPW) bằng máy đập mẫu với tốc độ 230 rpm trong vòng 2 phút. Nước thịt sau đó được ria trên môi trường thạch chọn lọc Slanetz-Bartley (Oxoid, Anh) và ủ ở 37°C trong 24 giờ. Sau ủ, lựa chọn 3-5 khuẩn lạc *Enterococcus* điển hình (nhỏ li ti màu hồng hoặc đỏ sẫm, rìa màu trắng) cấy chuyển sang môi trường thạch Tryptone Soya Agar (TSA; Oxoid, Anh), ủ ở 37°C trong 24 giờ. Tiếp tục lựa chọn khuẩn lạc *Enterococcus* điển hình trên TSA (3-5 khuẩn lạc có hình thái tròn, dẹt, màu trắng sữa) để tiến hành kiểm tra đặc tính sinh hóa và nhuộm Gram. Các chủng *Enterococcus* hình cầu, bắt màu Gram dương, catalase âm tính được bảo quản trong glycerol 20% ở -86°C [17].

2.2.3. Phương pháp định danh vi khuẩn *Enterococcus* bằng kỹ thuật PCR

Phương pháp PCR được sử dụng để xác định loài *E. faecalis* và *E. faecium* từ các chủng *Enterococcus* spp. phân lập được với thông tin cập mới theo nghiên cứu của Jackson và cộng sự (2004) được thể hiện ở Bảng 1 [20]. DNA của các chủng *Enterococcus* spp. được tách chiết bằng bộ kit Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification (Thermo Fisher Scientific, Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Thành phần phản ứng: Mỗi tube PCR chứa 25 µL dung dịch bao gồm 5 µL DNA mẫu và 20 µL master mix (1,6 X MgCl₂; 0,4 mM dNTPs; 10 pmol mỗi primer; 2,5U Taq polymerase; nước khử nuclease).

Chu trình nhiệt của phản ứng: Giai đoạn biến tính ban đầu ở 95°C trong 2 phút; 30 chu kỳ khuếch đại với giai đoạn biến tính ở 95°C trong 30 giây, giai đoạn gắn môi ở 55°C trong 1 phút, giai đoạn kéo dài ở 72°C trong (thiếu) phút; giai đoạn kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 7 phút.

Điện di và đọc kết quả: Sản phẩm PCR được thêm 1 µL loading dyes, sau đó điện di trên gel agarose 2% (bổ sung ethidium bromide) trong dung dịch đệm Tris-acetat-EDTA (TAE) 1X ở 75V, 300A, 60 phút. Kết quả được đọc dưới tia UV bằng máy chụp GelDoc BIORAD (Biorad, Mỹ) và sự hiện diện của các băng sáng được đối chiếu với thang chuẩn DNA.

Bảng 1. Thông tin các cặp primer dùng cho phản ứng PCR

Tên loài	Primer	Trình tự primer (5' - 3')	Kích thước (bp)
<i>E. faecalis</i>	FL1-F	ACTTATGTGACTAACTTAACC	360 bp
	FL2-R	TAATGGTGAATCTTGGTTTGG	
<i>E. faecium</i>	FM1-F	GAAAAACAATAGAAGAATTAT	215 bp
	FM2-R	TGCTTTTTTGAATTCTTCTTAA	

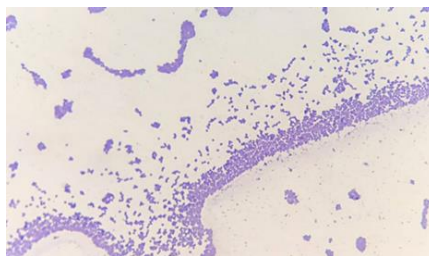
2.2.4. Xác định tính miễn cảm với kháng sinh của các chủng *Enterococcus*

Tính miễn cảm với kháng sinh của các chủng *Enterococcus* được kiểm tra bằng phương pháp pha loãng trong canh thang (Broth dilution) theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn Lâm sàng và Phòng thí nghiệm (CLSI) [21]. Tóm tắt như sau: pha loãng khuẩn lạc *Enterococcus* bằng nước muối sinh lý 0,9% để đạt nồng độ 10^8 CFU/mL (tương đương 0,5 McFarland), sau đó tiếp tục pha loãng dung dịch bằng môi trường Mueller Hinton Broth để đạt nồng độ 10^6 CFU/mL. Dung dịch pha loãng được đưa vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng có chứa kháng sinh ở các nồng độ khác nhau tùy vào loại kháng sinh (0,25-2048 mg/L), ủ đĩa 96 giếng ở 37°C trong vòng 16-24 giờ. Đọc kết quả dựa trên khả năng phát triển của vi khuẩn trong môi trường Mueller Hinton Borth (MHB) có chứa kháng sinh ở các nồng độ khác nhau. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC - Minimal inhibitory concentration) của các kháng sinh được xác định theo hướng dẫn của CLSI [21] và Tổ chức Nông Lương Liên Hợp Quốc (FAO) [22]. Các loại kháng sinh thử nghiệm, bao gồm: ampicillin, erythromycin, gentamicin, streptomycin, vancomycin, teicoplanin, tigecycline, linezolid, chloramphenicol, và tetracycline. *E. faecalis* ATCC 29212 được sử dụng làm chủng đối chứng.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm *Enterococcus* trên thịt lợn và thịt gà

Trong tổng số 60 mẫu thịt (30 mẫu thịt lợn và 30 mẫu thịt gà) thu thập từ các chợ trên địa bàn huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội có 25 (41,67%) mẫu được xác định dương tính với *Enterococcus*. Cụ thể, kết quả thể hiện ở Bảng 2 cho thấy phát hiện 46,67% mẫu thịt lợn và 36,67% mẫu thịt gà nhiễm *Enterococcus*.



Hình 1. Vi khuẩn *Enterococcus* dưới kính hiển vi sau khi nhuộm Gram

Nhìn chung, tỷ lệ nhiễm *Enterococcus* trên mẫu thịt lợn cao hơn so với mẫu thịt gà. Tương đồng với kết quả nghiên cứu của Kročko và cộng sự (2007), sự hiện diện của *Enterococcus* được ghi nhận ở 64% mẫu thịt lợn và 13% mẫu thịt gà [4]. Tuy nhiên, McGowan và cộng sự (2006) báo cáo rằng tỷ lệ nhiễm *Enterococcus* trên thịt gà rất cao (95,4%), trong khi tỷ lệ nhiễm trên thịt lợn chỉ 68,2% [23].

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm *Enterococcus* trên thịt lợn và thịt gà

Loại mẫu	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Thịt lợn	30	14	46,67
Thịt gà	30	11	36,67
Tổng	60	25	41,67

Enterococcus thường cư trú trong đường tiêu hóa của động vật, do đó sự xuất hiện của các chủng này trên thịt phần lớn là tạp nhiễm từ phân trong quá trình giết mổ. Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy tình trạng vấy nhiễm vi khuẩn vào thân thịt động vật trong quá trình giết mổ vẫn thường xuyên diễn ra tại các quốc gia đang phát triển [24, 25]. Mặt khác, *Enterococcus* là tác nhân gây nhiễm trùng cơ hội phổ biến ở người. Sự hiện diện *Enterococcus* trong thực phẩm là mối nguy tiềm ẩn đối với sức khỏe cộng đồng [1]. Do đó, giữa các khâu trong quá trình cung cấp thực phẩm cần được giám sát chặt chẽ để từng bước hạn chế tối đa các nguy cơ lây nhiễm vi khuẩn [26]. Điều này bao gồm việc kiểm soát và theo dõi mọi khía cạnh từ việc sản xuất, giết mổ, vận chuyển, bảo quản đến tiêu thụ. Các sản phẩm thực phẩm phải được kiểm nghiệm, đáp ứng các tiêu chuẩn về vệ sinh và an toàn thực phẩm, giảm thiểu rủi ro lây nhiễm vi khuẩn và bảo vệ sức khỏe của người tiêu dùng.

3.2. Kết quả định danh các chủng *Enterococcus* phân lập được bằng phương pháp PCR

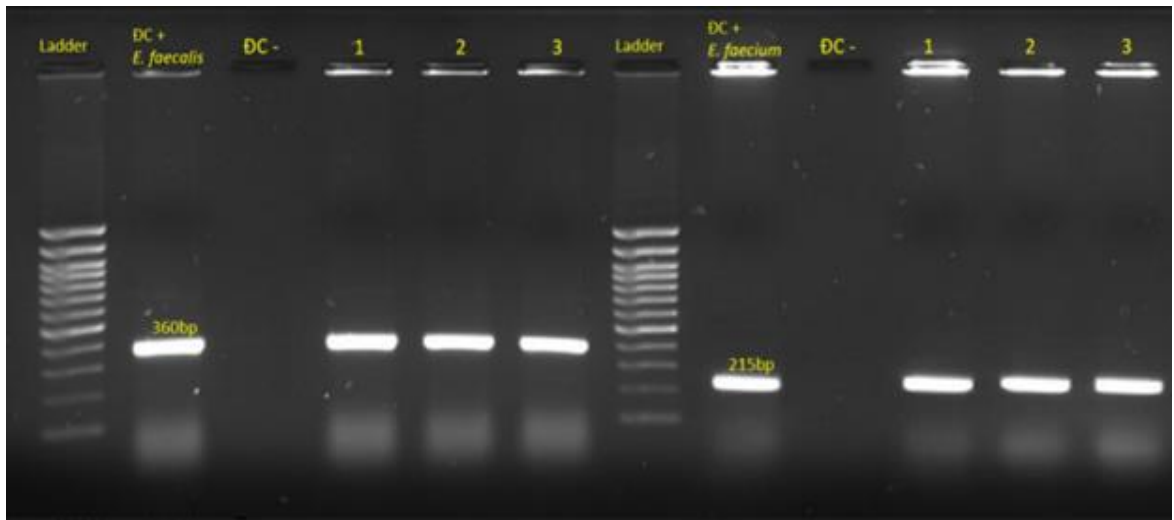
Tiến hành định danh 25 chủng *Enterococcus* phân lập được bằng phương pháp PCR. Kết quả ở Bảng 3 cho thấy vi khuẩn *E. faecalis* và *E. faecium* chiếm tỷ lệ lần lượt là 48% và 28% trong tổng số các chủng *Enterococcus* phân lập được. Kết quả này tương đồng với kết quả của các nghiên cứu trước, khi cho rằng *Enterococcus* thường xuyên hiện diện trong nhiều loại thực phẩm, trong đó *E. faecalis* và *E. faecium* là 2 loài chiếm ưu thế nhất [27], đồng thời *E. faecalis* được phát hiện phổ biến hơn *E. faecium* trong thực phẩm có nguồn gốc động vật. Theo một nghiên cứu được thực hiện tại Hoa Kỳ, tỷ lệ phân lập *Enterococcus* từ thịt gà bán lẻ, thịt gà tây, sườn lợn lần lượt là 95,0%; 94,4% và 85,8%. Trong đó, *E. faecalis* chiếm tỷ lệ cao nhất với 64,0% và *E. faecium* chiếm 28,6% [7]. Nghiên cứu của Peters và cộng sự (2003) tại Đức báo cáo rằng *E. faecalis* được phát hiện phổ biến nhất chiếm 72%, trong khi đó *E. faecium* chỉ chiếm 13% trong các mẫu thịt băm, xúc xích, giăm bông và pho mát [28]. Một nghiên cứu khác tại Ý, Pesavento và cộng sự (2014) phát hiện 28,6% mẫu thịt gia cầm và 44,3% mẫu thịt lợn nhiễm *Enterococcus*, trong đó, *E. faecium* chiếm ưu thế nhất, tiếp theo là *E. faecalis* [17].

Bảng 3. Kết quả PCR định danh các chủng *Enterococcus* phân lập được

Loại mẫu	Số chủng <i>Enterococcus</i> phân lập	<i>E. faecium</i> (n,%)	<i>E. faecalis</i> (n,%)	Số chủng cho kết quả PCR âm tính
Thịt lợn	14	4 (28,57)	8 (57,14)	2 (14,29)
Thịt gà	11	3 (27,28)	4 (36,36)	4 (36,36)
Tổng	25	7 (28,00)	12 (48,00)	6 (24)

Ghi chú: n = số chủng dương tính

Kết quả của các nghiên cứu trên chỉ ra rằng tỷ lệ nhiễm *Enterococcus* trên thân thịt tại các khu vực có sự khác biệt, điều này phản ánh tình trạng kiểm soát vệ sinh an toàn thực phẩm trong các khâu giết mổ và bảo quản khác nhau.



Hình 2. Kết quả PCR định danh vi khuẩn *Enterococcus*. Giếng 1: Ladder; Giếng 2: Đối chứng dương (ĐC +) *E. faecalis*; Giếng 3: Đối chứng âm (ĐC -); Giếng 4-6: Các chủng *E. faecalis* phân lập; Giếng 7: Ladder; Giếng 8: Đối chứng dương (ĐC +) *E. faecium*; Giếng 9: Đối chứng âm (ĐC -); Giếng 10-12: Các chủng *E. faecium* phân lập

3.3. Kết quả xác định tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. faecium* và *E. faecalis* phân lập

Sự gia tăng tần suất phát hiện các chủng *Enterococcus*, đặc biệt *E. faecalis* và *E. faecium* có khả năng kháng kháng sinh trên thực phẩm là vấn đề đáng báo động, bởi các chủng này có thể truyền lây từ động vật sang người thông qua chuỗi thức ăn [14, 29]. Mặc dù, *Enterococcus* thường sống vô hại trong đường ruột của động vật và con người, nhưng khi vi khuẩn này di chuyển sang cơ quan khác và cơ thể suy giảm miễn dịch chúng có thể gây ra nhiễm trùng nghiêm trọng. Ngoài ra, các chủng gây bệnh kháng kháng sinh làm ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị bằng các liệu pháp kháng sinh [30]. Trên thế giới, đã xảy ra nhiều trường hợp mắc các bệnh nhiễm trùng do *Enterococcus* gây ra, đặc biệt là các chủng đa kháng, nguyên nhân chủ yếu là do tiêu thụ thực phẩm nhiễm *Enterococcus*. Tại Hoa Kỳ, mỗi năm có khoảng 800 nghìn trường hợp nhiễm *Enterococcus* với chi phí điều trị ước tính lên đến 500 triệu USD [31]. Mặt khác, *Enterococcus* mang đặc tính “probiotic” được ứng dụng trong sản xuất chế phẩm sinh học và thường được sử dụng trực tiếp trên người thông qua các loại thực phẩm lên men không qua xử lý nhiệt, vì vậy *Enterococcus* kháng kháng sinh có thể dễ dàng xâm nhập và lây lan trong cộng đồng [5].

Bảng 4. Tỷ lệ kháng của các chủng *E. faecium* và *E. faecalis* phân lập từ thịt gà và thịt lợn

Loại kháng sinh	<i>E. faecium</i>			<i>E. faecalis</i>			Tổng (N=19) (n, %)
	Thịt gà (N=3) (n, %)	Thịt lợn (N=4) (n, %)	Tổng (N=7) (n, %)	Thịt gà (N=4) (n, %)	Thịt lợn (N=8) (n, %)	Tổng (n=12) (n, %)	
Erythromycin	1 (33,33)	2 (50,00)	3 (42,86)	2 (50,00)	5 (62,50)	7 (58,33)	10 (52,63)
Ampicillin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (12,50)	1 (8,33)	1 (5,26)
Chloramphenicol	1 (33,33)	0 (0)	1 (14,29)	2 (50,00)	2 (25,00)	4 (33,33)	5 (26,32)
Tetracycline	2 (66,67)	2 (50,00)	4 (57,14)	3 (75,00)	6 (75,00)	9 (75,00)	13 (68,42)
Gentamicin	1 (33,33)	1 (25,00)	2 (28,57)	1 (25,00)	3 (37,50)	4 (33,33)	6 (31,58)
Streptomycin	0 (0)	2 (50,00)	2 (28,57)	2 (50,00)	5 (62,50)	7 (58,33)	9 (47,37)

Chú thích: N = tổng số kiểm tra, n = số chủng kháng

Bảng 5. Phân bố nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các kháng sinh đối với vi khuẩn *E. faecalis* và *E. faecium* phân lập được

Kháng sinh	MIC breakpoint (µg/mL)	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) (µg/mL)										Số chủng kháng	Tỷ lệ kháng (%)	
		≤0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	≥128			
Erythromycin	≥ 8	3	4	1		1	9	1					10	52,63
Ampicillin	≥ 16	1	6	9	2			1					1	5,26
Teicoplanin	≥ 32	9	6	2	2								0	-
Vancomycin	≥ 32	1	3	5	4	6							0	-
Tigecycline	> 0.5	18	1										0	-
Linezolid	≥ 8	2	1	5	10	1							0	-
Chloramphenicol	≥ 32			1	1	4	7	1	5				5	26,32
Tetracycline	≥ 16	1	1	2	1	1		1	1	8	3		13	68,42

Kháng sinh	MIC breakpoint (µg/mL)	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) (µg/mL)							Số chủng kháng	Tỷ lệ kháng (%)
		≤64	128	256	512	1024	2048			
Gentamicin	>128	10	3	2	1	2	1		6	31,58
Streptomycin	<i>E. faecalis</i> (>512)	1	2	1	1	7			7	58,33
	<i>E. faecium</i> (>128)	4	1	2					2	28,57

Bảng 4 và Bảng 5 trình bày kết quả kiểm tra tính miễn cảm với 10 loại kháng sinh của các chủng vi khuẩn *E. faecium* và *E. faecalis* phân lập được trong nghiên cứu này. Các chủng *E. faecium* phân lập được có tỷ lệ kháng cao nhất với tetracycline (57,14%), erythromycin (42,86%), tiếp theo là gentamicin và streptomycin (đồng tỷ lệ là 28,57%), kháng thấp nhất với chloramphenicol (14,29%). Ngược lại, tất cả các chủng *E. faecium* miễn cảm với ampicillin, teicoplanin, vancomycin, tigecycline, và linezolid. Nhìn chung, tỷ lệ kháng các loại kháng sinh của các chủng *E. faecium* phân lập từ thịt gà và thịt lợn không cho thấy sự khác biệt đáng kể. Tuy nhiên, khả năng kháng chloramphenicol chỉ được ghi nhận ở chủng *E. faecium* phân lập từ thịt gà, trong khi đó chỉ phát hiện chủng *E. faecium* kháng streptomycin có nguồn gốc từ thịt lợn. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với các báo cáo trước đây. Nghiên cứu thực hiện tại Hàn Quốc trên động vật làm thực phẩm từ năm 2010-2019 cho thấy các chủng *E. faecium* phân lập được có tỷ lệ kháng cao nhất với erythromycin (45,59%), tetracyclin (41,07%), tiếp theo là streptomycin (21,66%), chloramphenicol (12,88%), kháng thấp nhất với ampicillin (5,77%), tigecycline (5,67%), linezolid (2,62%), gentamicin (1,54%) và miễn cảm với vancomycin [14]. Kết quả nghiên cứu của Jung và cộng sự (2020) cũng ghi nhận khả năng kháng cao với erythromycin (80%) của các chủng *E. faecium* [32].

E. faecalis là loài phổ biến và có khả năng gây bệnh nhiều nhất thuộc chi *Enterococcus*, do đó tính miễn cảm với kháng sinh của các chủng này đang được quan tâm nghiên cứu [33]. Trong nghiên cứu này, các chủng *E. faecalis* phân lập được có khả năng kháng cao với tetracycline (75%), tiếp theo là erythromycin và streptomycin (đồng tỷ lệ là 58,33%), gentamicin và chloramphenicol (đồng tỷ lệ là 33,33%), cuối cùng là ampicillin (8,33%). Tuy nhiên, không phát hiện chủng *E. faecalis* kháng vancomycin, teicoplanin, tigecycline, và linezolid. Đặc biệt các chủng *E. faecalis* phân lập từ thịt lợn có tỷ lệ kháng với các loại kháng sinh thử nghiệm trong nghiên cứu cao hơn so với các chủng phân lập từ thịt gà. Điều này cho thấy sự khác biệt về khả năng kháng kháng sinh của các chủng *E. faecalis* phân lập từ các loại thịt động vật, nguyên nhân có thể do quy trình sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi lợn và gà để phòng và điều trị bệnh có sự khác nhau. Trong số các chủng *Enterococcus* được kiểm tra, tỷ lệ kháng cao nhất đối với các loại kháng sinh, bao gồm tetracycline (75%), erythromycin (62,5%), streptomycin (62,5%), gentamicin (37,5%), chloramphenicol (25%), ampicillin (12,5%) được ghi nhận ở các chủng *E. faecalis* phân lập từ lợn. Kết quả trong nghiên cứu này có phần tương đồng với báo cáo của Pesavento và cộng sự (2014) cho thấy các chủng *E. faecalis* có tỷ lệ kháng tetracycline, erythromycin, vancomycin lần lượt là 83,3%; 30% và 3,33% [17].

Kết quả thu được ở Bảng 4 cũng chỉ ra rằng *E. faecalis* có tỷ lệ kháng kháng sinh cao hơn so với *E. faecium*. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đây của Kim và cộng sự (2021) tại Hàn Quốc báo cáo tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *E. faecalis* cao hơn *E. faecium* [14].

Aminoglycoside là nhóm kháng sinh thường được sử dụng trong điều trị các bệnh do *Enterococcus*. Tuy nhiên, gần đây *Enterococcus* có khả năng kháng với hầu hết kháng sinh thuộc nhóm aminoglycosides nhờ sản xuất enzyme aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase

loại Ii [AAC (6')-Ii] [30]. Do đó không quá bất ngờ khi trong nghiên cứu này đã ghi nhận một số chủng *E. faecalis* và *E. faecium* kháng gentamicin và streptomycin. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Kuch và cộng sự (2012) khi công bố vi khuẩn *Enterococcus* thường có tỷ lệ kháng cao với gentamicin nhưng kháng thấp với ampicillin và vancomycin [34]. Bên cạnh đó, erythromycin thuộc nhóm marcolides được coi là một loại thuốc kháng khuẩn quan trọng đối với con người, vì vậy sự gia tăng và phổ biến các chủng *Enterococcus* có khả năng kháng cao đối với erythromycin sẽ mang lại rủi ro cao với sức khỏe cộng đồng [32]. Mặc dù tetracycline không thường xuyên được sử dụng trong điều trị bệnh do *Enterococcus*, nhưng lại được dùng phổ biến để phòng các bệnh nhiễm khuẩn ở vật nuôi trong nhiều thập kỷ qua, dẫn đến tỷ lệ kháng tetracycline ở mức cao được ghi nhận ở các chủng *E. faecalis* và *E. faecium* phân lập được trong nghiên cứu này.

Nghiên cứu này cho thấy các chủng vi khuẩn *E. faecalis* và *E. faecium* thể hiện tính mẫn cảm cao với các kháng sinh thuộc nhóm glycopeptides (teicoplanin, vancomycin), glycyclines (tigecycline), oxazolidinones (linezolid). Điều này chứng tỏ các kháng sinh thuộc nhóm Glycopeptide vẫn sẽ là một trong các lựa chọn hàng đầu trong điều trị nhiễm trùng do *Enterococcus* [35]. Các chủng *E. faecalis* và *E. faecium* phân lập được trong nghiên cứu này mẫn cảm hoàn toàn với Tigecycline có thể do kháng sinh này là kháng sinh thế hệ mới có nguồn gốc từ tetracycline nhưng phổ tác dụng và hoạt tính mạnh hơn, thường được sử dụng trong điều trị các trường hợp nhiễm trùng do vi khuẩn đã kháng tetracycline [36]. Trong khi đó, linezolid là lựa chọn cuối cùng trong điều trị các bệnh do vi khuẩn Gram dương đa kháng kháng sinh [37] do đó kháng sinh này ít được sử dụng trong chăn nuôi nhằm mục đích phòng bệnh và kích thích sinh trưởng, điều đó có thể lý giải tại sao không ghi nhận các chủng *E. faecalis* và *E. faecium* kháng linezolid trong nghiên cứu này.

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm *Enterococcus* trên các sản phẩm thịt tươi (thịt lợn và thịt gà) tại các chợ trên địa bàn huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội đang ở mức báo động (41,67%). Trong đó 46,67% (14/30) mẫu thịt lợn và 36,67% (11/30) mẫu thịt gà cho kết quả dương tính. Tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *Enterococcus* phân lập từ thịt lợn cao hơn so với các chủng phân lập từ thịt gà. Các chủng *E. faecalis* và *E. faecium* có tỷ lệ kháng cao nhất đối với tetracycline (75% và 57,14%), kế tiếp là erythromycin (58,33% và 42,86%) và mẫn cảm với teicoplanin, vancomycin, tigecycline và linezolid. Các chủng *E. faecalis* có tỷ lệ kháng các loại kháng sinh trong thử nghiệm cao hơn các chủng *E. faecium*. Kết quả nghiên cứu này cho thấy giám sát kháng kháng sinh với vi khuẩn *Enterococcus* trên thực phẩm có nguồn gốc động vật là hết sức cần thiết nhằm kịp thời đưa ra các biện pháp can thiệp để làm giảm nguy cơ truyền lây vi khuẩn *Enterococcus* kháng kháng sinh sang người thông qua chuỗi thức ăn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. A. M. Hammerum, "Enterococci of animal origin and their significance for public health," *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 18, no. 7, pp. 619-25, 2012.

- [2]. F. Lebreton, R. J. L. Willems, and M. S. Gilmore, *Enterococcus Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization*, 2014.
- [3]. L. E. Hancock, B. E. Murray, and J. Sillanpää, “Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection,” *Enterococcal Cell Wall Components and Structures*, 2014.
- [4]. M. Kročko, M. Čanigová, and V. Ducková, “Occurrence, Isolation and antibiotic resistance of *Enterococcus* species isolated from raw pork, beef, and poultry,” *Journal of Food and Nutrition Research*, vol. 46, no. 2, pp. 91-95, 2007.
- [5]. E. J. Im, H. H. Y. Lee, M. Kim, and M. K. Kim, “Evaluation of Enterococcal Probiotic Usage and Review of Potential Health Benefits, Safety, and Risk of Antibiotic-Resistant Strain Emergence,” *Antibiotics*, vol. 12, no. 8, pp. 1327, 2023.
- [6]. S. Mehraj and Z. A. Parry, “Enterococcus Unleashed: Decoding the Rise of a Formidable Pathogenic Force,” *Acta Scientific Microbiology*, vol. 7, no. 3, 2024.
- [7]. G. H. Tyson, E. Nyirabahizi, E. Crarey, et al., “Prevalence and antimicrobial resistance of enterococci isolated from retail meats in the United States, 2002 to 2014,” *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 84, no. 1, e01902-17, 2018.
- [8]. C. Torres, C. A. Alonso, L. Ruiz-Ripa, et al., “Antimicrobial Resistance in *Enterococcus* spp. of animal origin,” *Microbiology Spectrum*, vol. 6, no. 4, 2018.
- [9]. WHO, WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed, 2017. [Online]. Available: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
- [10]. M. Heidary, A. D. Khosravi, S. Khoshnood, et al., “Daptomycin,” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 73, no. 1, pp. 1-7, 2018.
- [11]. E. Charpentier and P. Courvalin, “Antibiotic resistance in *Listeria* spp.,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 43, no. 9, pp. 2103–2108, 1999.
- [12]. M. Sparo, L. Urbizu, M.V. Solana, et al., “High-level resistance to gentamicin: Genetic transfer between *Enterococcus faecalis* isolated from food of animal origin and human microbiota,” *Letters in Applied Microbiology*, vol. 54, no. 2, pp. 119-125, 2012.
- [13]. M. S. Gilmore, D. B. Clewell, P. Courvalin, et al., *The Enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance*. Washington, DC, USA: ASM Press, 2002.
- [14]. M. H. Kim, D. C. Moon, S.-J. Kim, et al., “Nationwide surveillance on antimicrobial resistance profiles of *enterococcus faecium* and *enterococcus faecalis* isolated from healthy food animals in South Korea, 2010 to 2019,” *Microorganisms*, vol. 9, no. 5, 925, 2021.
- [15]. Y. Liu, K. Liu, J. Lai, C. Wu, J. Shen, and Y. Wang, “Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus* species of food animal origin from Beijing and Shandong Province, China,” *Journal of Applied Microbiology*, vol. 114, no. 2, pp. 555-63, 2013.
- [16]. D. S. Daniel, S. M. Lee, G. A. Dykes, and S. Rahman, “Public health risks of multiple-drug-resistant *Enterococcus* spp. in Southeast Asia,” *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 81, no. 18, pp. 6090-6097, 2015.

- [17]. G. Pesavento, C. Calonico, B. Ducci, A. Magnanini, and A. Lo Nostro, “Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. isolated from retail cheese, ready-to-eat salads, ham, and raw meat,” *Food Microbiology*, vol. 41, pp. 1-7, 2014.
- [18]. Ministry of Agriculture and Rural Development, National action plan on preventing and combating antibiotic resistance in the agricultural sector for the period 2021-2025, 2021. [Online]. Available: <https://nhachannuoi.vn/ke-hoach-hanh-dong-quoc-gia-ve-phong-chong-khang-khang-sinh-trong-linh-vuc-nong-nghiep-giai-doan-2021-2025/> (in Vietnamese).
- [19]. TCVN 4833-1:2002, “Meat and meat products – Sampling and preparation of test samples – Part 1: Sampling,” 2002 (in Vietnamese).
- [20]. C. R. Jackson, P. J. Fedorka-Cray, and J. B. Barrett, “Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci,” *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 42, no. 8, pp. 3558-65, 2004.
- [21]. FAO, Monitoring and surveillance of antimicrobial resistance in bacteria from healthy food animals intended for consumption, 2019. [Online]. Available: <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/ca6897en>.
- [22]. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Thirty Informational Supplement M100, 2020.
- [23]. L. L. McGowan, C. R. Jackson, J. B. Barrett, L. M. Hiott, and P. J. Fedorka-Cray, “Prevalence and antimicrobial resistance of enterococci isolated from retail fruits, vegetables, and meats,” *Journal of Food Protection*, vol. 69, no. 12, pp. 2976-82, 2006.
- [24]. J. Wambui, T. Tasara, P. M. Kamau Njage, and R. Stephan, “Species distribution and antimicrobial profiles of *Enterococcus* spp. Isolates from kenyan small and medium enterprise slaughterhouses,” *Journal of Food Protection*, vol. 81, no. 9, pp. 1445-1449, 2018.
- [25]. K. Klaharn, D. Pichpol, T. Meeyam, T. Harintharanon, P. Lohaankul, and V. Punyapornwithaya, “Bacterial contamination of chicken meat in slaughterhouses and the associated risk factors: A nationwide study in Thailand,” *PLoS One*, vol. 17, no. 6, e0269416, 2022.
- [26]. Tran Thi Nhat, Truong Thi Quy Duong, Truong Thi Huong Giang, Vu Kim Hue, and Dang Thi Thanh Son, “Prevalence and antibiotic-resistance of *Salmonella* isolated from pork, chicken meat in Ha Noi, Bac Ninh, and Nghe An,” *Veterinary Sciences and Techniques*, vol. 5, no. XXVI, pp. 30–37, 2019.
- [27]. V. Furtula, C. R. Jackson, E. G. Farrell, J. B. Barrett, L. M. Hiott, and P. A. Chambers, “Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. isolated from environmental samples in an area of intensive poultry production,” *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 10, no. 3, pp. 1020-1036, 2013.
- [28]. J. Peters, K. Mac, H. Wichmann-Schauer, G. Klein, and L. Ellerbroek, “Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany,” *International Journal of Food Microbiology*, vol. 88, no. 2-3, pp. 311-314, 2003.

- [29]. G. H. Tyson, E. Nyirabahizi, E. Crarey, et al., “Prevalence and antimicrobial resistance of enterococci isolated from retail meats in the United States, 2002 to 2014,” *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 84, no. 1, e01902-17, 2018.
- [30]. W. R. Miller, J. M. Munita, and C. A. Arias, “Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci,” *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, vol. 12, no. 10, pp. 1221-36, 2014.
- [31]. V. Furtula, C. R. Jackson, E. G. Farrell, J. B. Barrett, L. M. Hiott, and P. A. Chambers, “Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. isolated from environmental samples in an area of intensive poultry production,” *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 10, no. 3, pp. 1020-1036, 2013.
- [32]. H. Jung and M. Koo, “Diversity of *Enterococcus faecium* in Processed Pork Meat Products in Korea,” *Foods*, vol. 9, no. 1283, pp. 1–14, 2020.
- [33]. O. Nilsson, “Vancomycin-resistant enterococci in farm animals – occurrence and importance,” *Infection Ecology & Epidemiology*, vol. 2, no. 1, 2012.
- [34]. A. Kuch, R. J. L. Willems, G. Werner, et al., “Insight into antimicrobial susceptibility and population structure of contemporary human *Enterococcus faecalis* isolates from Europe,” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 67, no. 3, pp. 551-558, 2012.
- [35]. D. Zeng, D. Debabov, T. L. Hartsell, et al., “Approved glycopeptide antibacterial drugs: Mechanism of action and resistance,” *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, vol. 6, no. 12, a026989, 2016.
- [36]. G. G. Zhanel, K. Homenuik, K. Nichol, et al., “The Glycylcyclines: A Comparative Review with the Tetracyclines,” *Drugs*, vol. 64, no. 1, pp. 63-88, 2004.
- [37]. J. K. Bender, V. Cattoir, K. Hegstad, et al., “Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature,” *Drug Resistance Updates*, vol. 40, pp. 25-39, 2018.