Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2024.411

SỰ HIỆN DIỆN MỘT SỐ GENE ĐỘC LỰC VÀ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *Escherichia coli* PHÂN LẬP TẠI CƠ SỞ GIẾT MỔ HEO TỈNH AN GIANG

Nguyễn Khánh Thuận*, Dương Cẩm Linh, Nguyễn Hồ Thanh Tuyền và Bùi Thị Lê Minh
Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): nkthuan@ctu.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 19/02/2024
Sửa bài (Revised): 29/03/2024
Duyệt đăng (Accepted): 27/05/2024

Title: *Prevalence of some pathogenic and antibiotic resistance genes of Escherichia coli isolated from pig slaughterhouses in An Giang province*

Author(s): *Nguyen Khanh Thuan*, Duong Cam Linh, Nguyen Ho Thanh Tuyen and Bui Thi Le Minh*

Affiliation(s): *College of Agriculture, Can Tho University, Viet Nam*

TÓM TẮT

Bằng phương pháp PCR, trong tổng số 52 chủng Escherichia coli được phân lập từ thịt heo và môi trường giết mổ đã xác định sự hiện diện cao của gene stx2 (42,30%), eae (17,31%) nhưng không tìm thấy gene stx1 và hlyA. Đồng thời, chỉ tìm thấy gene mã hóa yếu tố bám dính F18 (5,77%), F41 (1,92%) nhưng không tìm thấy F4 và F5. Các chủng E. coli được kiểm tra sự nhạy cảm với kháng sinh cho thấy các chủng này đã đề kháng rất cao với ampicillin (92,31%), amoxicillin/clavulanic acid (86,54%), streptomycin (82,69%) và colistin (44,23%). Có 90,38% chủng E. coli đề kháng từ 2 đến 6 loại kháng sinh được kiểm tra, và kiểu hình Am + Sm (21,15%) phổ biến nhất. Kết quả phân tích bằng PCR ghi nhận gene blaTEM (92,30%) và aadA1(48,07%) chiếm tỷ lệ cao. Có 96,15% chủng E. coli mang từ 1 đến 3 gene đề kháng kháng sinh, và kiểu ghép gene blaTEM + aadA1 được tìm thấy phổ biến trên các chủng từ thịt tươi và môi trường. Do đó, việc kiểm soát sự vấy nhiễm các chủng E. coli đề kháng kháng sinh tại cơ sở giết mổ là cần thiết để bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

Từ khóa: *An Giang, cơ sở giết mổ, đề kháng kháng sinh, độc lực, E. coli*

ABSTRACT

By PCR method, in a total of 52 Escherichia coli strains isolated from pork and the environment, genes stx2 (42.30%) and eae (17.31%) were detected at a high rate, but genes stx1 and hlyA were not found. Moreover, only genes encoding adhesion factors F18 (5.77%) and F41 (1.92%) were determined, but F4 and F5 were not found. E. coli strains examined for antimicrobial susceptibility showed that these strains were highly resistant to ampicillin (92.31%), amoxicillin/clavulanic acid (86.54%), streptomycin (82.69%), and colistin (44.23%). There were 90.38% of E. coli strains resistant to 2 to 6 tested antibiotic types, and the pattern of Am + Sm (21.15%) was the most common. The results of PCR analysis showed that the genes blaTEM (92.30%) and aadA1 (48.07%) accounted for a high proportion. 96.15% of E. coli strains harbored from 1 to 3 antibiotic resistance genes, and the pattern of blaTEM + aadA1 was commonly recorded in strains from pork and the environment. Therefore, it is necessary to control contamination with antibiotic-resistance E. coli strains in slaughterhouses to protect public health.

Keywords: *An Giang, antibiotic resistance, E. coli, pathogenicity, slaughterhouse*

1. GIỚI THIỆU

Hiện nay, quy trình giết mổ không đảm bảo vệ sinh tại các cơ sở giết mổ đã được xác định là nguồn gốc làm vấy nhiễm vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm cho người tiêu dùng, đặc biệt là vi khuẩn *Escherichia coli*. Nghiên cứu tại Anh đã khẳng định rằng giết mổ là một bước rất quan trọng, quyết định chất lượng thịt và chất lượng của sản phẩm trước khi chế biến hoặc phân phối cho các đơn vị bán hàng, người tiêu dùng (Wei, 2013). Lò mổ không đảm bảo vệ sinh sẽ là nơi lý tưởng cho vi sinh vật phát triển mạnh, phổ biến nhất là *E. coli* (Ly & Nguyen, 2016). Tại đồng bằng sông Cửu Long, nghiên cứu của Luu (2020) về sự lưu hành của vi khuẩn *E. coli* trên heo, môi trường và động vật tại cơ sở giết mổ thị xã Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long cho thấy tỷ lệ nhiễm cao *E. coli* là 45,76%.

Vi khuẩn *E. coli* có thể di truyền ngang các gene mã hoá yếu tố độc lực, các gene độc lực được xem là yếu tố ảnh hưởng đến tính gây bệnh của vi khuẩn *E. coli* (Mohamed et al., 2018). Trong đó, gene *stx1*, *stx2*, *eae* và *hlyA* có liên quan đến độc lực của vi khuẩn *E. coli* gây ra hội chứng tiêu chảy và dung huyết, suy thận trên người (Janben et al., 2001). Nghiên cứu được thực hiện trong chuỗi sản xuất thịt heo tại lò mổ ở Argentina đã tìm thấy gene *stx2* và *eae* với tỉ lệ lần lượt là 50,00% và 12,00% trên các chủng *E. coli* phân lập được (Colello et al., 2016). Ngoài ra, các chủng *E. coli* gây bệnh đều có khả năng sở hữu một hoặc nhiều loại kháng nguyên bám dính. Kháng nguyên bám dính là các yếu tố quan trọng của các chủng *E. coli* gây bệnh đường tiêu hóa. Nhờ các yếu tố bám dính có trên bề mặt như *F4, F5, F6, F17, F18* và *F41*, vi khuẩn *E. coli* mới có khả năng bám và xâm nhiễm vào ruột non của vật chủ để gây bệnh (Murvey, 2002). Trên động vật, khi kiểm tra những con heo bị tiêu chảy sau cai sữa ở miền Bắc nước Ý đã phát hiện 54,80% số chủng *E. coli* dương tính với F4, 33,30% dương tính với F18 và 1,20% dương tính với F6 (Gibellini et al., 2015). Các chủng *E. coli* mang các gene mã hóa yếu tố bám dính này có thể lây truyền và gây bệnh cho con người thông qua nguồn thực phẩm bị nhiễm khuẩn.

Bên cạnh đó, đề kháng kháng sinh trên các chủng vi khuẩn *E. coli* tại các lò mổ hiện nay cũng là vấn đề đáng quan ngại. Theo nghiên cứu về sự đề kháng kháng sinh của *Enterobacteriaceae* trong nước thải tại các lò mổ gia súc, gia cầm ở Đức ghi nhận được tỷ lệ vi khuẩn *E. coli* đa kháng thuốc chiếm 57,00% tại các lò mổ heo (Homeier-Bachmann et al., 2021). Ngoài ra, nghiên cứu của Santos et al. (2022) tại lò mổ heo ở Brazil cũng cho thấy các chủng *E. coli* phân lập được có khả năng kháng 12 trong số 13 loại thuốc kháng sinh được thử nghiệm, trong đó có ampicillin và chloramphenicol (95,20%), amoxicillin (85,80%), streptomycin và tetracycline (80,95%). Tran et al. (2022) ghi nhận các chủng *E. coli* phân lập được trước đây tại lò mổ Châu Thành, An Giang đã đề kháng cao với ampicillin (79,17%), streptomycin (62,50%), amoxicillin/clavulanic acid (54,17%), và 79,17% các chủng *E. coli* phân lập được có thể đa kháng kháng sinh. Các vi khuẩn *E. coli* kháng thuốc tại lò mổ sẽ trở thành nguồn lan truyền đặc tính kháng thuốc ra môi trường và đến người tiêu dùng theo chuỗi phân phối thịt gây ảnh hưởng lớn trong công tác điều trị bệnh trên thú y và cả nhân y (Wolny-Koładka & Lenart-Boron, 2016).

Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định các yếu tố độc lực và đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên thịt và môi trường tại một số cơ sở giết mổ tập trung tỉnh An Giang, nơi đang được đẩy mạnh nâng cấp hệ thống cơ sở giết mổ tại đồng bằng sông Cửu Long. Đồng thời, kết quả cũng cung cấp thông tin cho việc quản lý của cơ quan chức năng và bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

– Xác định sự hiện diện của các gene mã hóa độc lực và yếu tố bám dính trên các chủng *E. coli* phân lập từ thịt heo và môi trường giết mổ.

– Kiểm tra sự nhạy cảm đối với kháng sinh và xác định tỷ lệ hiện diện của các gene mã hoá sự đề kháng kháng sinh trên các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chủng vi khuẩn E. coli dùng trong nghiên cứu

Tổng số 52 chủng vi khuẩn *E. coli* được phân lập từ thịt heo (n=10) và môi trường giết mổ (tay công nhân, nước sử dụng, sàn giết mổ, nước thải) (n=42) tại hai cơ sở giết mổ tập trung thuộc TP. Long Xuyên và huyện Châu Thành, tỉnh An Giang. Các chủng *E. coli* được phân lập tại các cơ sở giết mổ này năm 2021 và được bảo quản tại phòng thí nghiệm An toàn thực phẩm Thú y, Khoa Thú y, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2.2. Phương pháp xác định sự hiện diện của gene mã hóa độc lực và yếu tố bám dính của vi khuẩn E. coli

Tách chiết DNA của vi khuẩn *E. coli* được thực hiện bằng bộ kít ISOLATE II Geneomic DNA kit (Bioline, Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Phương pháp PCR được sử dụng để xác định sự hiện diện của 4 gene mã hóa độc lực (*stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA*) và 4 gene mã hóa yếu tố bám dính (F4, F5, F18, F41) của vi khuẩn *E. coli*.

Trình tự nucleotide của các cặp mồi và trọng lượng phân tử (bp) của các sản phẩm PCR trong nghiên cứu dựa trên các công bố trước đây. Các gene độc lực: *stx1, stx2, eae* (Son et al., 2014) và *hlyA* (Paton & Paton, 1998). Các gene yếu tố bám dính: *F4, F18* (Boerlin et al., 2005), *F5* (Ojeniyi et al., 1994), *F41* (Franck et al., 1998).

Chu trình nhiệt thực hiện phản ứng PCR cho các gene theo hướng dẫn của các tác giả đã công bố. Hỗn hợp của một phản ứng PCR (25,0 µL) sử dụng kit Mastermix 2X (Bioline, Mỹ) bao gồm: mastermix 2X (12,5 µL), mồi xuôi (0,5 µL), mồi ngược (0.5 µL), DNA (2,0 µL), nước cất vô trùng (9,5 µL). Sản phẩm PCR được diện di trên thạch agarose 1,5%, nhuộm với ethidium bromide và chụp hình dưới tia UV để xác định sự hiện diện của gene cần khảo sát.

Đối chứng dương là các chủng *E. coli* được phân lập trước đây trên gia súc và được lưu trữ tại phòng thí nghiệm An toàn thực phẩm Thú y, Khoa Thú y, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2.3. Phương pháp kiểm tra sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn E. coli

Kiểm tra tính nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* bằng phương pháp khuếch tán trên thạch của Kirbry-Bauer (Bauer et al., 1966). Đường kính vòng vô khuẩn theo tiêu chuẩn của CLSI (2020) được sử dụng để đánh giá mức độ nhạy hay đề kháng kháng sinh của vi khuẩn. Nếu kết quả vòng vô khuẩn là trung gian thì được tính là nhạy cảm với kháng sinh đó.

Đĩa kháng sinh chuẩn (Nam Khoa Biotek, Việt Nam) được sử dụng bao gồm: ampicillin 10 µg (Am), streptomycin 10 µg (Sm), amoxicillin/clavulanic acid 20/10 µg (Ac), colistin 10 µg (Co), cefuroxime 30 µg (Cu), ofloxacin 5 µg (Of), doxycycline 30 µg (Dx).

Escherichia coli ATCC 25922 được sử dụng để làm đối chứng trong nghiên cứu này.

2.2.4. Phương pháp xác định gene mã hoá sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn E. coli phân lập được

Phương pháp PCR được sử dụng để xác định sự hiện diện của 4 gene mã hoá sự đề kháng kháng sinh dựa trên kết quả kháng sinh đồ bao gồm nhóm beta-lactam (*blaTEM*), aminoglycoside (*aadA1*), polypeptide-colistin (*mcr-1*) và phenicol (*cat1*).

Quy trình thực hiện phản ứng PCR tương tự như phương pháp xác định sự hiện diện của gene độc lực và yếu tố bám dính đã được trình bày ở mục 2.2.2.

Trình tự nucleotide của các cặp mồi và trọng lượng phân tử (bp) của các sản phẩm PCR trong nghiên cứu dựa trên các công bố trước đây: *blaTEM* (Jouini et al., 2007), *aadA1* (Randall et al., 2004), *mcr-1* (Liu et al., 2016) và *cat1* (Hung et al., 2006).

Đối chứng dương là các chủng *E. coli* được phân lập trước đây trên gia súc và được lưu trữ tại phòng thí nghiệm An toàn thực phẩm Thú y, Khoa Thú y, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsolf Excel 2020. Phân tích thống kê bằng phép thử Pearson Chi-square Test của phần mềm Minitab 17, ở mức ý nghĩa 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự hiện diện của gene mã hóa độc lực và yếu tố bám dính trên vi khuẩn *E. coli* phân lập từ thịt heo và môi trường giết mổ

Kết quả khảo sát (Bảng 1) cho thấy chỉ có sự hiện diện của gene *stx2* (42,30%) và gene *eae* (17,31%), không tìm thấy sự hiện diện của gene *stx1*, *hlyA* và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê (P<0,05). Nguyên nhân có thể do nguồn heo được giết mổ, cũng như điều kiện vệ sinh tại các lò mổ là nguồn vấy nhiễm các chủng vi khuẩn *E. coli* mang các gene độc lực *stx2* và *eae* trong môi trường giết mổ. Arancia et al. (2019) đã phân lập các chủng *E. coli* sản sinh độc tố Shiga trong các mẫu manh tràng của heo tại lò mổ ở Ý, kết quả cho thấy 17,95% mẫu dương tính với *stx2*, 20,08% dương tính với gene *eae*. Nghiên cứu của Bardasi et al. (2017) đã ghi nhận *E. coli* sản sinh độc tố Shiga trên heo giết mổ và các sản phẩm thịt heo tại Ý trong những năm 2015-2016, kết quả cho thấy *E. coli* vấy nhiễm trên mẫu thịt tươi có 4,70% dương tính với *stx2*, 8,00% dương tính với *stx2* và *eae*. Tại Việt Nam, Nguyen et al. (2016) thực hiện phản ứng real-time PCR HRM để phát hiện gene độc lực của vi khuẩn *E. coli* sinh độc tố Shiga từ thực phẩm tại thành phố Hồ Chí Minh, và đã ghi nhận sự sự hiện diện của gene *stx2* (10,00%), *eae* (6,67%). Nghiên cứu này cũng ghi nhận mặc dù mối liên hệ giữa sự hiện diện của các gene độc lực trên vi khuẩn *E. coli* phân lập từ sản phẩm thịt heo và các trường hợp bệnh ở người chưa được xác định chính xác, nhưng đây là mối nguy hiểm cho sức khỏe con người cần được kiểm soát.

Bảng 1 cũng cho thấy tỷ lệ hiện diện của gene độc lực *stx2* và *eae* trên *E. coli* được phân lập từ thịt heo và môi trường không có sự khác biệt (P>0,05). Như vậy, thịt và môi trường giết mổ đều có thể bị vấy nhiễm các chủng *E. coli* mang gene mã hóa độc tố do sự vấy nhiễm từ nguồn heo được giết mổ. Heo mang *E. coli* sản sinh độc tố Shiga ở trực tràng và thải ra theo phân (Remfry et al., 2020), nên trong quá trình giết mổ vi khuẩn có thể vấy nhiễm từ phân ra môi trường và các sản phẩm thịt heo. Loukiadis et al. (2006) tiến hành nghiên cứu sự hiện diện của *E. coli* mang gene độc tố Shiga (*stx*) và Intimin (*eae*) từ nước thải của các lò mổ ở Pháp thu được kết quả là 25,00% của tất cả các mẫu chứa ít nhất một chủng *E. coli* mang gen *eae*, *stx1* và *stx2*. Nghiên cứu Collelo et al. (2016) đã khảo sát vi khuẩn *E. coli* sản sinh độc tố Shiga trong suốt chuỗi sản xuất thịt heo ở Argentina, kết quả cho thấy khi giết mổ, đã phát hiện 50% số chủng phân lập trên mẫu thịt và môi trường dương tính với *stx2*. Mặt khác, độc tố stx2 là một trong các độc tố gây tiêu chảy nghiêm trọng và có thể dẫn đến hội chứng tan huyết và suy thận (Hemolytic uremic syndrome, HUS) trên người mắc bệnh (Armstrong et al., 1996). Những kết quả này đưa ra cảnh báo về nguy cơ tiềm ẩn của các chủng *E. coli* mang gene độc lực trong thịt heo và môi trường giết mổ, cần được quản lý và kiểm soát chặt chẽ để đảm bảo an toàn thực phẩm cho người tiêu dùng.

Bảng 1. Kết quả kiểm tra tỷ lệ hiện diện gene độc lực *eae, stx2* của vi khuẩn *E. coli* trên thịt heo và môi trường tại cơ sở giết mổ*

Đối tượng khảo sát	Số chủng khảo sát	Gene *eae*		Gene *stx2*	
		Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
Thịt heo	10	1	10,00	3	30,00
Môi trường	42	8	19,05	19	45,24
			P>0,05		*P>0,05*
Tổng	52	9	17,31	22	42,30

**Không tìm thấy gene stx1 và hlyA trên các chủng E. coli phân lập được*

Bảng 2. Kết quả kiểm tra sự hiện diện các yếu tố bám dính của vi khuẩn *E. coli* phân lập tại cơ sở giết mổ (n=52)

Yếu tố bám dính	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
F4	0	0,00
F5	0	0,00
F18	3	5,77
F41	1	1,92
		P>0,05

Các kết quả khảo sát (Bảng 2) cho thấy sự hiện diện của gene *F18* chiếm tỷ lệ 5,77% và gene *F41* chiếm tỷ lệ 1,92%, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê (P>0,05). Tuy nhiên, không tìm thấy sự hiện diện của *F4* và *F5* trên các chủng *E. coli* được phân lập. Nguyên nhân có thể do sự khác biệt về nguồn gốc heo được đem đến tại các lò mổ, ngoài ra, heo khoẻ cũng có thể mang các chủng vi khuẩn *E. coli* có yếu tố bám dính nguy hiểm nhưng không có biểu hiện bệnh. Nghiên cứu của Toledo et al. (2012) đã phân lập *E. coli* từ 10 trang trại heo khác nhau ở Mexico cho kết quả có 68,20% chủng dương tính ít nhất với một gene yếu tố bám dính, trong đó *F6* (12,00%), *F17* (9,00%), *F18* (9,00%), *F5* (8,00%), *F4* (3,00%). Tại Việt Nam, vẫn chưa có nhiều công bố về sự hiện diện của các gene mã hóa yếu tố bám dính trên *E. coli* phân lập từ thực phẩm, con người. Một số nghiên cứu trên heo tại đồng bằng sông Cửu Long đã ghi nhận các yếu tố bám dính đóng vai trò quan trọng trong khả năng gây bệnh của *E. coli* trên vật chủ. Nguyen et al. (2014) đã ghi nhận sự lưu hành của các kháng nguyên bám dính trên vi khuẩn *E. coli* từ heo bị tiêu chảy như sau *F4* (15,56%), *F5* (8,89%), *F6* (5,56%), *F18* (17,78%). Huynh & Ly (2018) khảo sát các chủng *E. coli* phổ biến gây bệnh phù thũng trên heo sau cai sữa tại tỉnh Kiên Giang đã ghi nhận *F18* (55,14%) cao hơn *F4* (9,34%), và có 15,89% chủng *E. coli* mang cả *F4* và *F18*. Do đó, cần kiểm soát vệ sinh giết mổ nhằm tránh phát tán các chủng mang các yếu tố có khả năng gây bệnh ra môi trường và lây truyền sang người.

Qua kết quả khảo sát kiểu hình gene của các chủng vi khuẩn *E. coli* trong nghiên cứu (Bảng 3) cho thấy sự xuất hiện của 3 kiểu hình ghép gene độc lực và yếu tố bám dính, chiếm tỷ lệ thấp (7,69%). Trong đó, kiểu hình *F18* + *stx2* + *eae* (3,85%) được ghi nhận trên 2/4 chủng mang kiểu hình ghép gene mã hóa yếu tố bám dính và độc lực. Các nghiên cứu trước đây đã khẳng định đặc điểm độc lực của vi khuẩn được kiểm soát bởi các yếu tố di truyền có thể chuyển giao qua plasmid (Fairbrother & Nadeau, 2006; Lee & Edlin, 1985). Yếu tố bám dính được

xem là yếu tố quan trọng trong việc gây bệnh của các chủng vi khuẩn *E. coli* sinh độc tố đường ruột, cho phép chúng bám vào tế bào ruột non và gây bệnh (Donnenberg & Nataro, 1995). Do đó, việc một chủng *E. coli* mang cả gene độc lực và yếu tố bám dính sẽ làm tăng khả năng gây bệnh của vi khuẩn.

Bảng 3. Tỷ lệ các kiểu hình ghép gene mã hoá yếu tố bám dính và gene độc lực trên vi khuẩn *E. coli* được phân lập tại cơ sở giết mổ (n=52)

Số lượng gene	Kiểu hình gene	Số chủng	Tỷ lệ (%)
2	*F18 + stx2*	1	1,92
3	*F41 + stx2 + eae*	1	1,92
	F18 + stx2 + eae	2	3,85
Tổng		4	7,69

3.2. Kết quả khảo sát sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập trên thịt và môi trường giết mổ tại các cơ sở giết mổ tỉnh An Giang

Qua khảo sát sự đề kháng kháng sinh của 52 chủng *E. coli* phân lập tại hai cơ sở giết tập trung cho thấy vi khuẩn *E. coli* đề kháng cao với 4/7 loại kháng sinh (Bảng 4). Vi khuẩn phân lập được đề kháng cao với ampicillin (92,31%), streptomycin (82,69%), amoxcillin/clavulanic acid (86,54%) và colistin (44,23%). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Truong et al. (2017) ghi nhận các chủng *E. coli* phân lập được từ các cơ sở giết mổ heo ở Hà Nội đề kháng 100,00% với kháng sinh ampicillin. Sudarwanto et al. (2017) cũng xác định được các chủng *E. coli* phân lập từ các cơ sở giết mổ heo từ môi trường lò mổ Bogor, Indonesia đề kháng 100,00% với kháng sinh streptomycin. Giải thích cho sự đề kháng cao với một số loại kháng sinh có thể do nhiều nguyên nhân như môi trường giết mổ có thể là nơi tồn trữ và phát tán các chủng *E. coli* đề kháng có nguồn gốc từ phân và chất chứa đường tiêu hóa do công tác vệ sinh sát trùng và xử lý các phụ phẩm sau giết mổ chưa đảm bảo quy định thú y. Từ đó dẫn đến sự vấy nhiễm chéo giữa các chủng vi khuẩn đề kháng kháng sinh trong môi trường giết mổ hoặc do heo được nhập từ nhiều nguồn khác nhau đã có sự hiện diện các chủng *E. coli* đề kháng (Tran et al., 2022). Ngoài ra, côn trùng trong lò mổ như ruồi, kiến, gián cũng có thể là nguồn tồn trữ và phát tán các chủng *E. coli* đề kháng trong quá trình giết mổ. Ahmad et al. (2011) đã khẳng định các côn trùng như ruồi nhà và gián đóng vai trò quan trọng trong việc phát tán vi khuẩn đề kháng kháng sinh. Từ kết quả trên, cần lưu ý việc vệ sinh sát trùng môi trường giết mổ và cần phải tuân theo đúng quy trình giết mổ của thú y để tránh hiện tượng xuất hiện và phát tán các chủng đa kháng thuốc tại các cơ sở giết mổ.

Bảng 4. Sự đề kháng đối với kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập tại các cơ sở giết mổ

Tên kháng sinh	Ký hiệu	Nhạy		Kháng	
		Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Ampicillin	Am	4	7,69	48	92,31
Amoxicillin/clav.acid*	Ac	7	13,46	45	86,54
Streptomycin	Sm	9	17,31	43	82,69
Colistin	Co	29	55,77	23	44,23
Cefuroxime	Cu	42	80,77	10	19,23
Ofloxacin	Of	47	90,38	5	9,62
Doxycycline	Dx	49	94,23	3	5,77

**Amoxicillin/clavulanic acid*

Kết quả kháng sinh đồ cho thấy vi khuẩn *E. coli* không chỉ đề kháng với một kháng sinh đơn lẻ và đã bắt đầu hình thành các kiểu hình đa kháng với các loại kháng sinh khác nhau, kết quả được thể hiện qua Bảng 5. Trong tổng số 52 chủng *E. coli*, kết quả có 47/52 chủng đề kháng từ 2 - 6 loại kháng sinh với 14 kiểu hình, chiếm tỷ lệ cao (90,38%). Trong đó, kiểu hình Am+Sm (21,15%) và Am+Ac+Sm (15,38%) xuất hiện nhiều nhất, và tương ứng với sự đề kháng đồng thời ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid và streptomycin. Nguyên nhân có thể do vi khuẩn phát triển tính đề kháng với thuốc kháng sinh thông qua đột biến hoặc thông qua việc thu nhận các gene kháng thuốc từ nhiều nguồn khác nhau (Liu & Pop, 2009). Sự xuất hiện nhiều kiểu hình đề kháng có thể do sự tích tụ các gene mã hóa sự đề kháng kháng sinh, trên nhiễm sắc thể của vi khuẩn hoặc plasmid (Yamamoto et al., 2013). Do đó vi khuẩn có thể trao đổi, truyền gene kháng kháng sinh cho nhau trong quá trình tích lũy trong môi trường giết mổ hoặc trên heo được chăn nuôi tại các nguồn khác nhau. Từ đó, các kiểu hình đa kháng kháng sinh được hình thành, cùng với việc vệ sinh trong lò mổ ko đảm bảo dẫn đến sự tồn đọng

và vấy nhiễm các chủng đa kháng trong môi trường giết mổ. Nghiên cứu của Hyo et al. (2011) cho thấy các chủng *E. coli* phân lập được tại các lò mổ ở Hàn quốc đề kháng cao với tetracycline (87,11%) và chloramphenicol (66,24%); trong đó kiểu hình tetracycline- sulfamethoxazole/trimethoprim - kanamycin - chloramphenicol là phổ biến nhất (22,81%), tiếp theo kiểu hình là tetracycline - trimethoprim/sulfamethoxazole - chloramphenicol (11,21%). Ngoài ra, nghiên cứu của Ramos et al. (2013) tại lò mổ ở Bồ Đào Nha cũng ghi nhận tỷ lệ đề kháng của *E. coli* trên heo đối với kháng sinh ampicillin, streptomycin, tetracycline và trimethoprim đạt 97,00% và kiểu hình trimethoprim/sulfamethoxazole là phổ biến nhất. Do đó, việc tăng cường giám sát và kiểm soát sự phát tán của vi khuẩn đề kháng thuốc kháng sinh trong chuỗi thực phẩm từ cơ sở chăn nuôi, cơ sở giết mổ đến người tiêu dùng thực sự là cần thiết.

Bảng 5. Các kiểu hình kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập được tại các cơ sở giết mổ

Số kháng sinh đề kháng	Kiểu hình đa kháng	Số chủng kháng	Tỷ lệ (%)
2	Am+Sm	11	21,15
3	Am+Co+Cu	4	7,69
	Am+Ac+Sm	8	15,38
	Am+Co+Sm	2	3,85
	Am+Dx+Co	2	3,85
4	Am+Ac+Sm+Cu	2	3,85
	Am+Ac+Co+Cu	2	3,85
	Am+Ac+Co+Sm	3	5,77
	Am+Ac+Of+Sm	2	3,85
	Am+Of+Co+Sm	4	7,69
	Am+Ac+Dx+Co	1	1,92
5	Am+Ac+Co+Sm+Cu	4	7,69
	Am+Ac+Of+Sm+Cu	1	1,92
6	Am+Ac+Dx+Co+Sm+Cu	1	1,92
Tổng		47	90,38

Am: ampicillin; Sm: streptomycin; Of: Ofloxacin; Cu: cefuroxime; Co: colistin; Dx: doxycycline; Ac: amoxicillin/clavulanic acid

3.3. Kết quả tỷ lệ hiện diện của một số gene đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* tại các cơ sở giết mổ

Dựa trên kết quả kháng sinh đồ, 4 gene mã hóa đề kháng kháng sinh tương ứng với các loại kháng sinh có biểu hiện đề kháng nhiều nhất bao gồm *blaTEM*, *aadA1*, *mcr-1* và *cat1* (Bảng 6). Qua kiểm tra cho thấy có sự hiện diện của 4/4 gene đề kháng trên các chủng *E. coli* phân lập được và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Trong đó, gene bla_{TEM} chiếm tỷ lệ cao nhất (92,30%), kế đến là gene *aadA1* (48,07%) và thấp nhất là gene *cat1* (7,69%). Ngoài ra tỷ lệ hiện diện của gene *mcr-1* cũng chiếm tỷ lệ khá cao (11,54%). Điều này có thể là do xuất phát từ các chủng *E. coli* mang gene đề kháng và tồn tại trong môi trường giết mổ một thời gian dài, trong quá trình giết mổ có sự tiếp xúc với môi trường giết mổ và vấy nhiễm vào thân thịt (Poirel et al., 2018). Bên cạnh đó, sự biểu hiện của các gene đề kháng kháng sinh còn phụ thuộc vào các yếu tố môi trường tác động, áp lực sử dụng kháng sinh. Một số gene kháng kháng sinh được xem như gene kháng thuốc thầm lặng thường không biểu hiện hoặc biểu hiện ở mức độ thấp, ngay cả khi tiếp xúc với kháng sinh (Stasiak et al., 2021). Gene *blaTEM* cũng được phát hiện trên *E. coli* với tỷ lệ 90,20% tại lò mổ heo ở Hàn Quốc (Lee et al., 2014). Nghiên cứu của Savin et al. (2020) từ mẫu nước thải tại lò mổ heo và gia cầm ở Đức xác định được các chủng *E. coli* mang kiểu gene *blaTEM* phổ biến (11,60%) nhưng không phát hiện được gene đề kháng *mcr-1*. Nghiên cứu của Jaja et al. (2020) từ ba lò mổ ở Nam Phi cho thấy tỷ lệ *E. coli* mang gene *aadA* chiếm 31,90% và *blaTEM* chiếm 13,30% được tìm thấy trên thịt heo, thịt bò và sản phẩm thịt. Vì vậy, cần quan tâm kiểm soát các chủng *E. coli* đề kháng kháng sinh tại các cơ sở giết mổ nhằm hạn chế phát tán các chủng đề kháng kháng sinh ra môi trường.

Qua kiểm tra kiểu hình ghép gene đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được trong nghiên cứu, có sự xuất hiện của 9 kiểu hình gene đa kháng và 50/52 chủng mang các kiểu hình ghép gene đề kháng kháng sinh với tỷ lệ cao (96,15%). Đa số các kiểu hình ghép gene có sự hiện diện chủ yếu của gene *blaTEM* và *aadA1* (Bảng 7). Trong các kiểu hình ghép gene, kiểu hình

blaTEM+aadA1 xuất hiện phổ biến nhất trên thịt heo và môi trường giết mổ với tỷ lệ lần lượt là 70,00% và 30,95%. Nguyên nhân do sự hiện diện cao của các gene đề kháng *blaTEM* và gene *aadA1* trên các chủng *E. coli* phân lập được tại cơ sở giết mổ dẫn đến hầu hết các kiểu hình ghép gene đa kháng có sự hiện diện 2 gene này chiếm tỷ lệ cao nhất trong tất cả các kiểu hình ghép. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả kiểu hình đa kháng của các chủng *E. coli* đã kiểm tra, cho thấy sự đề kháng cao đồng thời Am+Sm (Bảng 5). Mặt khác, đa số các gene kháng kháng sinh nằm trên plasmid và có khả năng truyền ngang cho các vi khuẩn khác làm tăng khả năng đề kháng với kháng sinh của vi khuẩn (Poirel et al., 2018). Nghiên cứu của Sacher-Pirklbauer et al. (2021) cũng xác định được kiểu hình ghép gene đề kháng *blaTEM+aadA1* trên thịt heo, thịt gà và thịt bò chiếm tỷ lệ cao 26,92%. Nghiên cứu này cho thấy sự hiện diện của nhiều chủng *E. coli* mang gene mã hóa đề kháng kháng sinh trong môi trường giết mổ cao hơn trên thịt tươi. Điều này cho thấy môi trường giết mổ có thể là một nguồn tồn chứa và vấy nhiễm các chủng *E. coli* đa kháng sang thịt tươi và môi trường sống xung quanh, tiềm ẩn nguy hiểm đối với sức khỏe người tiêu dùng và cộng đồng. Vì vậy, việc có biện pháp kiểm soát sự lưu hành của các chủng *E. coli* đa kháng kháng sinh trong môi trường giết mổ và trong chuỗi thực phẩm là cần thiết nhằm bảo vệ sức khỏe con người.

Bảng 6. Kết quả kiểm tra sự hiện diện của một số gene đề kháng kháng sinh trên các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được (n = 52)

Kháng sinh	Gene	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
β-lactam	bla_{TEM}	48	92,30
Aminoglycoside	*aadA1*	25	48,07
Phenicol	*cat1*	4	7,69
Colistin	*mcr-1*	6	11,54
		(P = 0,001)	

Bảng 7. Các kiểu ghép gene đề kháng kháng sinh được của vi khuẩn *E. coli* được phân lập trên thịt heo và môi trường tại các cơ sở giết mổ

Đối tượng	Số gene đa kháng	Kiểu hình ghép gene	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Thịt heo (n=10)	1	*blaTEM*	3	30,00
	2	*blaTEM+aadA1*	7	70,00
Môi trường (n=42)	1	*blaTEM*	17	40,48
		aadA1	1	2,38
		mcr-1	1	2,38
	2	*blaTEM+cat1*	1	2,38
		blaTEM+aadA1	13	30,95
		blaTEM+mcr-1	2	4,76
	3	*blaTEM+cat1+mcr-1*	1	2,38
		blaTEM+aadA1+mcr-1	2	4,76
		blaTEM+cat1+aadA1	2	4,76
	Tổng		50	96,15

4. KẾT LUẬN

Vi khuẩn *E. coli* phân lập trên thịt và môi trường tại một số cơ sở giết mổ heo tỉnh An Giang mang các gene độc lực nguy hiểm (*stx2*, *eae*) có thể gây ngộ độc thực phẩm nghiêm trọng cho người tiêu dùng. Đồng thời, các chủng này mang các yếu tố bám dính phổ biến đặc trưng cho vi khuẩn *E. coli* gây bệnh đường tiêu hóa (*F18*, *F41*). Ngoài ra, các chủng *E. coli* có sự đề kháng rất cao với nhiều loại kháng sinh vẫn đang được sử dụng phổ biến trong thú y và nhân y như ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, streptomycin và colistin. Vi khuẩn *E. coli* không chỉ biểu hiện sự đề kháng kháng sinh mà còn mang các gene mã hóa sự đề kháng kháng sinh với tỷ lệ cao, nhất là với nhóm beta-lactam (*blaTEM*). Vì vậy, cần có biện pháp quản lý chặt chẽ sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* mang độc lực và đề kháng kháng sinh từ trang trại đến cơ sở giết mổ, nhằm hạn chế sự hình thành và phát tán của các chủng này ra cộng đồng, bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

Ahmad, A., Ghosh, A., Schal, C., & Zurek, L. (2011). Insects in confined swine operations carry a large antibiotic resistant and potentially virulent enterococcal community. *BMC Microbiology, 11,* 1-13. https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-23

Arancia, S., Iurescia, M., Lorenzetti, S., Stravino, F., Buccella, C., Caprioli, A., Franco, A., Battisti, A., Morabito, S., & Tozzoli, R. (2019). Detection and isolation of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains in caecal samples from pigs at slaughter in Italy. *Veterinary Medicine and Science*, *5*(3), 462-469. https://doi.org/10.1002/vms3.175

Armstrong, G.L., Hollingsworth, J., & Morris Jr, J.G. (1996). Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiologic Reviews, 18*(1), 29-51. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a017914

Bardasi, L., Taddei, R., Fiocchi, I., Pelliconi, M. F., Ramini, M., Toschi, E., & Merialdi, G. (2017). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in slaughtered pigs and pork products. *Italian Journal of Food Safety, 6*(2), 79-82. https://doi.org/10.4081/ijfs.2017.6584

Bauer, A. W, Kirby, W. M. M, Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, *45*, 493–496. PMID: 5325707

Boerlin, P., Travis, R., Gyles, C. L., Reid-Smith, R., Heather Lim, N. J., Nicholson, V., McEwen, S. A., Friendship, R., & Archambault, M. (2005). Antimicrobial Resistance and Virulence Genes of Escherichia coli Isolates from Swine in Ontario. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(11), 6753-6761. https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.6753-6761.2005

CLSI. (2020). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 30th ed*. M100-S24. Clinical and Laboratory Standards Institute, 34(1), 226.

Colello, R., Cáceres, M.E., Ruiz, M.J., Sanz, M., Etcheverría, A.I., & Padola, N. L. (2016). From farm to table: Follow-Up of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* throughout the pork production chain in Argentina. *Frontiers in Microbiology, 7*, 172896. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00093.

Donnenberg, M. S., & Nataro, J. P. (1995). Methods for studying adhesion of diarrheagenic *Escherichia coli*. *Methods in enzymology*, *253*, 324–336. https://doi.org/10.1016/s0076-6879(95)53028-2.

Fairbrother, J. M., & Nadeau, E. (2006). *Escherichia coli*: on-farm contamination of animals. *Revue Scientifique et Technique*, *25*(2), 555-69.

Franck, S. M., Bosworth, B. T., & Moon, H. W. (1998). Multiplex PCR for enterotoxigenic, attaching and effacing, and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from calves. *Journal of Clinical Microbiology*, *36*(6), 1795-1797. https://doi.org/10.1128%2Fjcm.36.6.1795-1797.1998

Gibellini, M., Bonilauri, P., Gherpelli, Y., Giovanardi, D., Marzani, K., Torri, D., Dottori, M., Ferro, P., Scandurra, S., Maioli, G., Hidalgo A., & Luppi A. (2015). Prevalence of virulence factors associated with post weaning diarrhoea (PWD) in pigs in Italy. *In*: *Atti della Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini, XLI Meeting Annuale, Montichiari, Italia, 19-20 Marzo 2015* (pp. 199-208). Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini (SIPAS).

Homeier-Bachmann, T., Heiden, S. E., Lübcke, P.K., Bachmann, L., Bohnert, J.A., Zimmermann, D., & Schaufler, K. (2021). Antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae* in wastewater of abattoirs. *Antibiotics, 10*(5), 568. https://doi.org/10.3390/antibiotics10050568

Hung, V. K., Holoda E., Pilipcinec E., Blanco M., Blanco J. E., Mora A., Dahbi G., Lopez C., Gonzalez E.A., & Blanco J. (2006). Serotypes, virulence genes, and PFGE profiles of *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhea in Slovakia. *BMC Veterinary Research, 20*, 2-10. https://doi.org/10.1186%2F1746-6148-2-10

Huynh, X. T. A., & Ly, K. T. L. (2018). Isolation of *Escherichia coli* caused edema disease in post-weaning pigs in Kien Giang province. *CTU Journal of Science*, *54*(CĐ Nông nghiệp), 23-32. *(in Vietnamese)*. https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2018.062

Hyo, B. K., Hyun, B., SooJin, L., Yang Ho, J., Suk Chan, J., Aeran, K., & Nong, H. C. (2011). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* isolated from pigs at slaughterhouses in Korea. *African Journal of Microbiology Research, 5*(7), 823–830. https://doi.org/10.5897/ajmr10.850.

Jaja, I. F., Oguttu, J., Jaja, C. J. I., & Green, E. (2020). Prevalence and distribution of antimicrobial resistance determinants of *Escherichia coli* isolates obtained from meat in South Africa. *PLOS ONE, 15*(5), e0216914. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216914.

Janben, T., Schwarz, C., Preikschat, P., Voss, M., Philipp, H.C., & Wieler, L.H. (2001). Virulence-associated genes in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from internal organs of poultry having died from colibacillosis. *International Journal of Medical Microbiology, 291*(5), 371-378. https://doi.org/ 10.1078/1438-4221-00143.

Jouini, A., Vinué, L., Slama, K.B., Saenz, Y., Klibi, N., Hammami, S., Boudabous, A., & Torres, C. (2007). Characterization of CTX-M and SHV extended-spectrum β-lactamases and associated resistance genes in *Escherichia coli* strains of food samples in Tunisia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *60*(5), 1137-1141. https://doi.org/10.1093/jac/dkm316

Lee, M., Shin, E., & Lee, Y. (2014). Antimicrobial resistance and integron profiles in multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates from pigs. *Foodborne Pathogens and Disease, 11*(12), 988–997. https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1795.

Lee, S. W., & Edlin, G. (1985). Expression of tetracycline resistance in pBR322 derivatives reduces the reproductive fitness of plasmid-containing *Escherichia coli. Gene, 39*(2-3), 173–180. https://doi.org/10.1016/0378-1119(85)90311-7

Liu, B., & Pop, M. (2009). ARDB antibiotic resistance genes database. *Nucleic Acids Research, 37*(1), 443-447. https://doi.org/10.1093/nar/gkn656

Liu, F., Hu, Y., Lin, I.Y.C., Gao, G.F., & Zhu, B. (2016). Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. *The Lancet Infectious Diseases, 16*(2), 146–147. https://doi.org/10.1016/s1473-3099(15)00533-2.

Loukiadis, E., Kerouredan, M., Beutin, L., Oswald, E., & Brugere, H. (2006). Characterization of Shiga toxin gene (*stx*)-positive and intimin gene (*eae*)-positive *Escherichia coli* isolates from wastewater of slaughterhouses in France. *Applied and Environmental Microbiology, 72*(5), 3245–3251. https://doi.org/ 10.1128%2FAEM.72.5.3245-3251.2006.

Luu, T. M. (2020). Survey on the circulation and antibiotic resistance of *Escherichia coli* in pigs, environment and animals at slaughterhouse in Binh Minh town, Vinh Long province (Ungraduate thesis). Can Tho University. *(in Vietnamese).*

Ly, K. T. L., & Nguyen, T.T. (2016). Study on the variation of quality of pork at markets and supermarkets. *CTU Journal of Science (CĐ Nông nghiệp), 11*(2), 61-68 *(in Vietnamese).* https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2016.045

Mohamed, L., Ge, Z., Yuehua, L., Yubin, G., Rachid, K., Mustapha, O., Junwei, W., & Karine, O. (2018). Virulence traits of avian pathogenic (APEC) and fecal (AFEC) *E. coli* isolated from broiler chickens in Algeria. *Tropical animal health and production, 50*(3), 547-553. https://doi.org/10.1007/s11250-017-1467-5

Murvey, M. A. (2002). Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cellular Microbiology, 4*(5), 257-271. https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2002.00193.x

Nguyen, C. T. H., Ha, T. T., & Ly, K. T. L. (2014). Distribution of virulent genes of Enterotoxigenic *Escherichia coli* strains from diarrheal piglets in the Mekong Delta, Vietnam. *CTU Journal of Science, 33*, 68-77 *(in Vietnamese)*. https://ctujsvn.ctu.edu.vn/index.php/ctujsvn/article/view/198.

Nguyen, T. Q., Ngo, S. K., Nguyen, Q. Đ., & Nguyen, C.H. (2016). Application of real-time polymerase chain reaction coupled with high-resolution melting analysis for detection of stx1, stx2, eae, EHXA genes. *Ho Chi Minh City Journal of Medicine, 20*(5), 374-380 *(in Vietnamese)*.

Ojeniyi, B., Ahrens, P., & Meyling, A. (1994). Detection of fimbrial and toxin genes in *Escherichia coli* and their prevalence in piglets with diarrhoea. The application of colony hybridization assay, polymerase chain reaction and phenotypic assays. *Zentralbl Veterinarmed B, 41*, 49-59. https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1994.tb00205.x

Paton, J. C., & Paton, A. W. (1998). Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing Escherichia coli infections. *Clinical Microbiology Reviews*, *11*(3), 450-479. https://doi.org/10.1128%2Fcmr.11.3.450

Poirel, L., Madec, J.Y., Lupo, A., Schink, A.K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum, 6*(4). https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017

Ramos, S., Silva, N., Caniça, M., Capelo-Martinez, J.L., Brito, F., Igrejas, G., & Poeta, P. (2013). High prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from animals at slaughter: a food safety risk. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 93*(3), 517-526. https://doi.org/10.1002/jsfa.5814

Randall, L. P., Cooles, S. W., Osborn, M. K., Piddock, L. J. V., & Woodward, M. J. (2004). Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five

serotypes of *Salmonella enterica* isolated from humans and animals in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53*(2), 208-216. https://doi.org/10.1093/jac/dkh070

Remfry, S.E., Amachawadi, R.G., Shi, X., Bai, J., Woodworth, J.C., Tokach, M.D., Dritz, S.S., Goodband, R.D., DeRouchey, J.M., & Nagaraja, T.G. (2020). Polymerase chain reaction-based prevalence of serogroups of *Escherichia coli* known to carry Shiga Toxin genes in feces of finisher pigs. *Foodborne Pathogens and Disease, 17*(12), 782-791. https://doi.org/10.1089/fpd.2020.2814

Sacher-Pirklbauer, A., Klein-Jöbstl, D., Sofka, D., Blanc-Potard, A.B., & Hilbert, F. (2021). Phylogenetic groups and antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* from different meat species. *Antibiotics (Basel), 10*(12), 1543. https://doi.org/10.3390/antibiotics10121543

Santos, R. L. D., Davanzo, E. F. A., Palma, J. M., Castro, V. H. D. L., Costa, H. M. B. D., Dallago, B. S. L., Perecmanis, S., & Santana, A.P. (2022). Molecular characterization and biofilm-formation analysis of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., and *Escherichia coli* isolated from Brazilian swine slaughterhouses. *PLoS One, 17*(9), e0274636. https://doi.org/ 10.1371/journal.pone.0274636.

Savin, M., Bierbaum, G., Hammerl, J.A., Heinemann, C., Parcina, M., Sib, E., & Kreyenschmidt, J. (2020). Antibiotic-resistant bacteria and antimicrobial residues in wastewater and process water from German pig slaughterhouses and their receiving municipal wastewater treatment plants. *Science of The Total Environment*, *727*, 138788. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.1387.

Son, I., Binet, R., Maounounen - Laasri, A., Lin, A., Hammack, T.S, & ASE, J.A., (2014). Detection of five Shiga toxin-producing *Escherichia coli* genes with multiplex PCR. *Food Microbiology, 40*, 30-40. https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.11.016

Stasiak, M., Mackiw, E., Kowalska, J., Kucharek, K., & Postupolski, J. (2021). Silent genes: antimicrobial resistance and antibiotic production. *Polish Journal of Microbiology, 70*(4), 421-429. https://doi.org/10.33073/pjm-2021-040

Sudarwanto, M. B., Lukman, D. W., Purnawarman, T., Latif, H., Pisestyani, H., & Sukmawinata, E. (2017). Multidrug resistance extended spectrum β-lactamase and AmpC producing *Escherichia coli* isolated from the environment of Bogor Slaughterhouse, Indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 7*(8), 708-711. https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.07.012.

Toledo, A., Gomez, D., Cruz, C., Carreon, R., Lopez, J., Giono, S., & Castro, A.M. (2012). Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from piglets in the suckling and weaning period in Mexico. *Journal of Medical Microbiology, 61*(1), 148–156. https://doi.org/10.1099/jmm.0.031302-0

Tran, T. T. L., Nguyen, T. K., Nguyen, T. V., Lam, K. T., & Ly, K. T. L. (2022). The contamination and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from pork and environments at the slaughterhouses in Chau Thanh district, An Giang province. *CTU Journal of Science, 58*(1), 189-196 *(in Vietnamese)*. https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2022.021

Truong, D. T. Q., Pham, N. T., Ngo, T. C., Dang, S. T. T., Tran, N. T., & Truong, G. T. H. (2017). Antibiotic resistance and gene producing β–lactamaza of ESBL producing *E. coli* isolated from pig slaughterhouses in Ha Noi City. *Journal of Veterinary Science and Technology, 24*(3), 31-38 *(in Vietnamese).*

Wei, S. H. (2013). *Escherichia coli* contamination of pork carcasses in UK slaughterhouses (Ph.D. thesis). University of Nottingham, The UK.

Wolny-Koładka, K., & Lenart-Boroń, A. (2016). Phenotypic and molecular assessment of drug resistance profile and genetic diversity of waterborne *Escherichia coli*. *Water, Air, and Soil Pollution, 227*, 146. https://doi.org/10.1007/s11270-016-2833-z

Yamamoto, S., Iwabuchi, E., Hasegawa, M., Esakim, H., Muramatsu, M., Hirayama, N., & Hirai, K. (2013). Prevalence and molecular epidemiological characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates from Japanese black beef cattle. *Journal of Food Protection, 76*(3), 394-404. https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-12-273