

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH THỰC KHUẨN THỂ CÓ KHẢ NĂNG LY GIẢI VI KHUẨN *Escherichia coli* TRÊN THỊT GÀ Ở TỈNH VĨNH LONG

Nguyễn Trung Trục^{1,*}, Quách Văn Cao Thi¹, Huỳnh Thị Diễm Chinh²

¹ Khoa Sinh hóa - Thực phẩm, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long

² Trường THPT Nguyễn Thông, tỉnh Vĩnh Long

*Email: trucnt@vlute.edu.vn

TÓM TẮT

Escherichia coli (*E. coli*) là vi khuẩn thường hiện diện trên thịt gia cầm chưa qua chế biến và là một trong những tác nhân gây ngộ độc thực phẩm phổ biến. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và định danh các chủng thực khuẩn thể (TKT) có khả năng ly giải *E. coli* được thu nhận từ thịt gà bán lẻ tại một số chợ truyền thống thuộc tỉnh Vĩnh Long. Phương pháp vết tan trên thạch hai lớp (double-layer agar plaque assay) được sử dụng để phân lập và xác định phổ ký chủ của các chủng TKT. Kết quả cho thấy, chủng TKT PEBM_45 có khả năng ly giải 17/49 chủng *E. coli* khảo sát (34,69%). Ảnh chụp hiển vi điện tử truyền qua (transmission electron microscopy, TEM) xác định chủng TKT PEBM_45 thuộc bộ *Caudovirales*. Đánh giá hiệu quả ức chế *E. coli* trên thịt gà ở 8°C và 25°C sau 24, 48, 72 giờ cho thấy, các mẫu được xử lý bằng chủng TKT PEBM_45 có mức giảm mật số *E. coli* từ 1,82 - 2,93 log CFU/g hoặc log CFU/g so với đối chứng. Kết quả này chứng minh tiềm năng ứng dụng của thực khuẩn thể PEBM_45 như một tác nhân kiểm soát vi sinh vật nhằm nâng cao an toàn vi sinh cho sản phẩm thịt gia cầm.

Từ khóa: *E. coli*, ngộ độc thực phẩm, thịt gà, thực khuẩn thể, Vĩnh Long.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*) là một trong những tác nhân chủ yếu gây ngộ độc thực phẩm và bệnh tiêu hóa ở người khi tiêu thụ thực phẩm bị ô nhiễm, đặc biệt là các sản phẩm từ thịt gia cầm như thịt gà [1]. Sự lây nhiễm của vi khuẩn *E. coli* trên thịt gà xảy ra do nhiều nguyên nhân: Trong quá trình giết mổ, vận chuyển, bảo quản và bày bán thịt tươi sống, điều kiện vệ sinh không đảm bảo làm tạo điều kiện cho vi khuẩn phát triển và lan truyền [2]. Các nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ vi khuẩn *E. coli* cao trên mẫu thịt gà và thịt lợn tại các chợ truyền thống, trong đó nhiều chủng cho thấy đa kháng kháng sinh, làm tăng nguy cơ bệnh khó điều trị ở người và gia cầm [3].

Hiện nay, tình trạng vi khuẩn *E. coli* kháng kháng sinh đang là thách thức lớn với sức khỏe cộng đồng và ngành chăn nuôi, do việc lạm dụng kháng sinh trong chăn nuôi đã thúc đẩy sự xuất hiện của các chủng kháng thuốc, dẫn đến việc sử dụng phương pháp điều trị truyền thống ngày càng kém hiệu quả [4, 5]. Điều này đặt ra nhu cầu cấp thiết cho các giải pháp an toàn, hiệu quả và thân thiện môi trường nhằm kiểm soát mầm bệnh trên các sản phẩm thịt gia cầm. Trong bối cảnh đó, chủng TKT (bacteriophage) hoặc phage - các virus ký sinh bắt buộc trên vi khuẩn nổi lên như một giải pháp thay thế tiềm năng để kiểm soát vi khuẩn gây bệnh trên thực phẩm [6, 7]. TKT có khả năng tấn

công mục tiêu và tiêu diệt vi khuẩn ký chủ chọn lọc, không ảnh hưởng đến sinh vật khác và không để lại dư lượng hóa học trong thực phẩm [8, 9]. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh hiệu quả của TKT trong việc giảm tải vi khuẩn *E. coli* trên bề mặt thịt gia cầm và các sản phẩm thực phẩm khác [10]. Nghiên cứu của Kafshgari và cs (2025) [11] sử dụng phim mang TKT cố định đã làm giảm đáng kể số lượng vi khuẩn *E. coli* trên thịt gà trong thời gian bảo quản. Tương tự, các nghiên cứu khác cũng cho thấy hiệu quả giảm số lượng vi khuẩn *E. coli* đến hơn 90% khi TKT được áp dụng trực tiếp trên thịt gà đã được ghi nhận, cho thấy tiềm năng ứng dụng hỗn hợp TKT (phage cocktail) để kiểm soát mầm bệnh trong chế biến thịt [12].

Vĩnh Long là một trong những tỉnh ở Đồng bằng sông Cửu Long với sản lượng gia cầm lớn. Đa số ở các chợ truyền thống nguồn thịt gà đều được cung cấp từ các hộ kinh doanh giết mổ thủ công, nhỏ lẻ với điều kiện vệ sinh an không đảm bảo, nên nguy cơ nhiễm khuẩn từ nguồn nước và phân vào thịt gà tại nơi giết mổ hoặc tại nơi buôn bán là rất cao. Ở tỉnh Vĩnh Long, nhiều nghiên cứu cho thấy, vi khuẩn *E. coli* xuất hiện phổ biến trên gà bệnh và thịt gà với tỉ lệ nhiễm tương đối cao tại các cơ sở giết mổ và chợ bán lẻ, gây lo ngại cho sức khỏe cộng đồng [13 - 15]. Hiện nay, các nghiên cứu đã tìm cách sử dụng TKT làm liệu pháp điều trị các bệnh nhiễm khuẩn thay thế cho thuốc kháng sinh với nhiều ưu thế nổi trội. Tuy nhiên,

chưa có nghiên cứu nào được công bố về việc phân lập các TKT ly giải *E. coli* trên thịt gà bán lẻ ở một số chợ truyền thống ở tỉnh Vĩnh Long. Do đó, việc phân lập các dòng TKT bản địa và đánh giá khả năng ly giải vi khuẩn *E. coli* phân lập từ thịt gà ở tỉnh Vĩnh Long là cần thiết để phát triển biện pháp sinh học phù hợp với điều kiện sản xuất và tiêu thụ tại địa phương. Kết quả nghiên cứu này không chỉ cung cấp các dòng TKT có khả năng kiểm soát *E. coli* một cách hiệu quả, mà còn đóng góp vào chiến lược an toàn thực phẩm bền vững và giảm phụ thuộc vào kháng sinh trong ngành chăn nuôi để giảm thiểu mầm bệnh trên thịt gà, từ đó bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng và tăng giá trị sản phẩm nông sản địa phương.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, 49 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ các mẫu thịt gà bán tại các chợ truyền thống ở tỉnh Vĩnh Long [15] được sử dụng để phân lập và khảo sát phổ ký chủ của TKT *E. coli*. Bên cạnh đó, các cơ quan của gà: Cơ, da và gan dùng để phân lập TKT được thu thập từ các hộ bán lẻ tại các chợ bán lẻ truyền thống ở tỉnh Vĩnh Long.

2.2. Phương pháp thu mẫu

Nghiên cứu thực hiện thu mẫu ở phường Long Châu, Bình Minh và các xã Long Hồ, Tam Bình, Cái Nhum, Tân Quới của tỉnh Vĩnh Long. Tại mỗi xã/phường, chọn ngẫu nhiên 1 chợ truyền thống bán lẻ thịt gà tươi. Ở mỗi chợ, chọn ngẫu nhiên 3 sạp bán thịt gà, ở mỗi sạp chọn ngẫu nhiên 3 mẫu gà tươi gồm: Cơ, da và gan. Mẫu được thu bằng cách cắt tại các mặt cắt khác nhau của các phần cơ, da, gan mỗi phần cắt từ 3 - 4 vị trí, mỗi vị trí cắt khoảng 50 g. Các mẫu mô sau khi cắt được gộp lại thành một mẫu (450 - 800 g/chợ). Như vậy, tổng số mẫu thu được trong nghiên cứu là 18 mẫu. Các mẫu sau đó được cho vào túi đựng mẫu vô trùng, trữ lạnh và chuyển về phòng thí nghiệm.

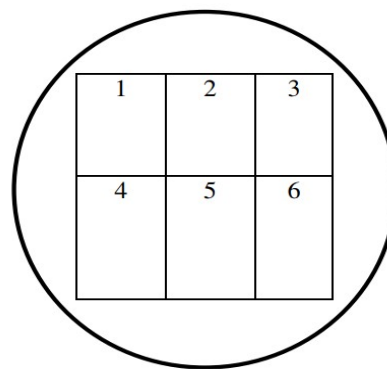
2.3. Phương pháp phân lập TKT *E. coli*

Phương pháp vết tan (plaque) bằng thạch hai lớp (double layer agar - plaque assay method) được sử dụng để phân lập TKT [16]. Đầu tiên, cho vào bình tam giác hỗn hợp như sau: 100 mL môi trường LB lỏng (Luria Bertani broth medium), 10 mL CaCl_2 1M, 50 g mẫu gà (cơ, da, gan), 100 μL dung dịch tăng sinh vi khuẩn *E. coli* chủng EP2_4 (được phân lập trong nghiên cứu [15] với mật số 108 CFU/mL (được chuẩn bị bằng phương pháp so sánh độ đục của dịch huyền phù vi khuẩn với ống chuẩn McFarland 0,5), ủ qua đêm ở 37°C. Sau đó, hút 2 mL dung dịch trong bình tam giác cho vào ống nghiệm và cho vào mỗi ống nghiệm dung dịch chloroform 0,5%, lắc nhẹ trong

30 phút. Tiếp theo, tiến hành ly tâm với vận tốc 6.000 vòng/phút trong 5 phút ở 4°C. Kế đến, hút dịch trong sau khi ly tâm pha loãng đến độ pha loãng 10^{-6} lần với dung dịch đệm SM (Sodium chloride-Magnesium sulfate buffer) để trải đĩa kép (lớp thứ nhất là môi trường TSA (Tryptone soya agar), lớp thứ 2 gồm: 4 mL môi trường LB 0,4% agar, 200 μL dung dịch tăng sinh vi khuẩn *E. coli*, 100 μL dung dịch TKT thuần. Cuối cùng, các đĩa môi trường được ủ qua đêm ở 37°C và quan sát sự hình thành vết tan.

Tách lần lượt các chủng TKT có đường kính vết tan giống nhau (vùng trung tâm nơi các chủng TKT làm tan vi khuẩn) cho vào 5 mL môi trường TSA lỏng, 50 μL CaCl_2 1M và 250 μL dịch tăng sinh vi khuẩn *E. coli*, ủ ở 37°C trong 6 giờ để tăng sinh mật số TKT. Sau đó, cho vào dung dịch chloroform 0,5% lắc nhẹ và đợi 30 phút và ly tâm với vận tốc 6.000 vòng/phút trong 5 phút ở 4°C. Hút dịch trong sau khi ly tâm pha loãng đến độ pha loãng 10^{-6} với dung dịch đệm SM để trải đĩa kép (lớp thứ nhất là môi trường TSA, lớp thứ 2 gồm: 4 mL môi trường LB 0,4% agar 40°C, 200 μL dung dịch tăng sinh vi khuẩn *E. coli*, 100 μL dung dịch TKT thuần), ủ qua đêm ở 37°C và quan sát sự hình thành vết tan. Các bước phân lập được lặp lại nhiều lần cho đến khi thu được các vết tan cùng đặc điểm và kích thước.

2.4. Khảo sát phổ ký chủ của các chủng TKT *E. coli* phân lập được



Hình 1. Minh họa thí nghiệm đánh giá phổ ký chủ của TKT *E. coli*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên và sử dụng phương pháp nhỏ giọt trên bề mặt hai lớp agar (double layer agar - drop method) [16]. Đĩa petri chứa môi trường thạch TSA được kẻ và đánh số như minh họa ở hình 1 (mỗi đĩa petri là 1 chủng vi khuẩn *E. coli* và mỗi ô tương ứng với 1 chủng TKT). Cho vào đĩa hỗn hợp gồm 4 mL môi trường LB 0,4% agar 40°C và 200 μL huyền phù từng dòng vi khuẩn *E. coli* với mật số 108 CFU/mL với từng thí nghiệm và phơi đĩa 15 - 20 phút. Dùng micropipette hút 5 - 10 μL huyền phù từng dòng TKT nhỏ vào các ô tương ứng.

Đĩa petri được ủ trong tủ ủ ở 37°C, sau 24 giờ tiến hành quan sát hình thành vết tan và chọn 1 - 2 chủng TKT có khả năng tạo nhiều vết tan trên đĩa nhất. Tổng số chủng *E. coli* được sử dụng trong thử nghiệm phổ ký chủ trong nghiên cứu là 49.

2.5. Định danh các chủng TKT ký sinh trên vi khuẩn *E. coli*

Chủng TKT sau khi được tuyển chọn sẽ được gửi chụp qua kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

2.6. Đánh giá khả năng kiểm soát vi khuẩn *E. coli* của các chủng TKT phân lập được trên thịt gà

Sử dụng chủng TKT đã được khảo sát phổ ký chủ (chủng có khả năng ly giải nhiều chủng vi khuẩn *E. coli* nhất) để tiến hành thí nghiệm đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn ở điều kiện trong ống nghiệm và trên thịt gà [17] có hiệu chỉnh.

Thí nghiệm thực hiện trong ống nghiệm: Cho vào ống nghiệm hỗn hợp: 5 mL môi trường LB lỏng, 3 mL dịch sinh khối vi khuẩn *E. coli* ở nồng độ 10⁵ CFU/mL trong thời gian 30 phút. Cho 3 mL dịch sinh khối TKT *E. coli* tương ứng ở nồng độ 10⁸ PFU/mL vào ống nghiệm đã chuẩn bị như trên. Sau đó, mẫu được ủ ở nhiệt độ 8°C (tương ứng nhiệt độ trong ngăn mát tủ lạnh) và ở nhiệt độ 25°C (tương ứng nhiệt độ phòng thí nghiệm). Sau thời gian ủ 24, 48, 72 giờ, tiến hành trải mẫu lên đĩa môi trường MacConKey và đếm mật số vi khuẩn. Các bước tiến hành tương tự ở nghiệm thức đối chứng và dung dịch đệm SM 3 mL được sử dụng thay cho dịch TKT. Cuối cùng, tiến

hành thu thập số liệu, phân tích kết quả và đánh giá khả năng ly giải vi khuẩn của TKT ở điều kiện phù hợp. Mỗi nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

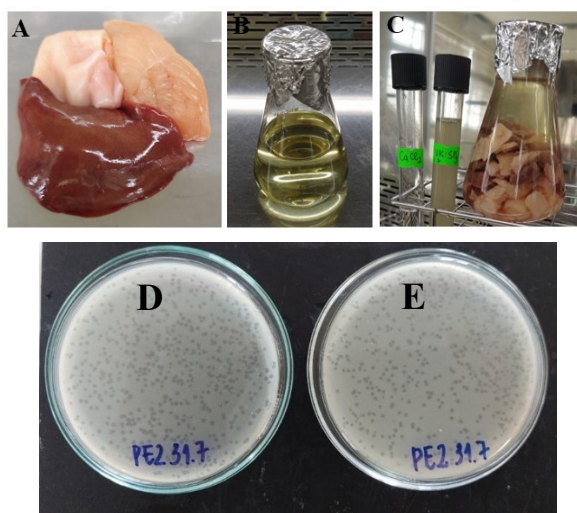
Thí nghiệm thực hiện trên thịt gà: Chuẩn bị hỗn hợp: Ưc gà 2 cm² (100 g) đã được tiệt trùng + 3 mL dịch huyền phù vi khuẩn *E. coli* ở nồng độ 10⁵ CFU/mL trong thời gian 30 phút (hoặc cho đến khi mẫu khô). Cho 3 mL dung dịch TKT *E. coli* ở nồng độ 10⁸ PFU/mL, ủ ở nhiệt độ 8°C và 25°C. Sau thời gian ủ ở 24, 48, 72 giờ, tiến hành thu mẫu thịt gà (10 g), đồng nhất trong 90 mL nước muối sinh lý và 100 µL mẫu được trải lên đĩa môi trường MacConKey, ủ 24 giờ ở 37°C và đếm mật số vi khuẩn. Các bước được tiến hành tương tự ở nghiệm thức đối chứng và dung dịch đệm SM 3 mL được sử dụng thay cho dịch TKT. Sau cùng, tiến hành thu thập số liệu và đánh giá khả năng ly giải vi khuẩn của TKT ở điều kiện phù hợp. Mỗi nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu của nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm Excel 2019 và Minitab 2020. Phương sai (ANOVA) một nhân tố được phân tích riêng và so sánh giá trị trung bình bằng phương pháp kiểm định Tukey để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$) ở nhiệt độ 8°C và 25°C.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập các chủng TKT *E. coli*



Hình 2. Kết quả phân lập TKT *E. coli*

Ghi chú: Mẫu nghiên cứu được sử dụng để phân lập TKT. A: Mẫu cơ, gan và da gà; B: Môi trường LB lỏng; C: Mẫu gà phân lập TKT *E. coli* được bổ sung môi trường làm giàu (LB, CaCl₂, vi khuẩn); D và E: Vết tan của TKT phân lập.

Kết quả phân lập cho thấy, tất cả 18 mẫu thịt gà (mỗi mẫu tương ứng với cơ, da và gan thu ở 6 phường/xã của tỉnh Vĩnh Long) đều có sự xuất hiện

của TKT với các vết tan có sự đa dạng về kích thước từ 1 - 5 mm trên đĩa thạch hai lớp, trong đó có 18/18 mẫu chứa vi khuẩn *E. coli* đều có sự xuất hiện của

TKT ở lần đầu khảo sát. Trong số các chủng TKT phân lập được, chọn ngẫu nhiên 3 chủng TKT *E. coli* làm thuần cho đến khi quan sát được các vết tan rõ ràng, kích thước đồng đều (Hình 2) và lưu trữ để sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả nghiên cứu của Williamson và cs (2005) [18] đã kết luận rằng, TKT có thể tìm thấy ở bất kỳ môi trường nào có chứa ký chủ thích hợp. Vi khuẩn *E. coli* thường xuất hiện ở những môi trường hay thực phẩm bị ô nhiễm như: Nước sông, suối, nước thải sinh hoạt, thực phẩm tươi sống, nước thải từ các nhà máy chế biến thực phẩm, lò mổ và trang trại. Vì vậy, đây chính là nguồn cung cấp dồi dào để phân lập TKT *E.*

coli. Kết quả nghiên cứu này đã phát hiện TKT hiện diện trên thịt gà tươi sống, tương tự như kết quả nghiên cứu của Duc và cs (2020) [19], đã phân lập được 10 chủng TKT ly giải *E. coli* O157:H7 từ các sản phẩm thịt gà; Lukman và cs (2020) [20] đã phân lập được 6 chủng TKT *E.coli* từ nội tạng gà và bò.

3.2. Kết quả khảo sát phổ ký chủ của TKT *E. coli* phân lập được

Kết quả khảo sát phổ ký chủ của 3 chủng TKT *E. coli* đại diện phân lập từ thịt gà được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Phổ ký chủ của các chủng TKT *E. coli* phân lập

TT	Chủng vi khuẩn	TKT PEP4_12	TKT PETB_38	TKT PEBM_45
1	EP1_1	-	-	-
2	EP1_2	-	-	-
3	EP1_3	-	-	-
4	EP2_4	-	-	+
5	EP2_5	-	-	+
6	EP2_6	-	-	+
7	EP3_7	-	-	-
8	EP3_8	-	-	+
9	EP3_9	-	+	-
10	EP4_10	-	-	-
11	EP4_11	-	-	-
12	EP4_12	+	+	-
13	EP5_13	-	-	-
14	EP5_14	-	-	-
15	EP8_15	-	-	+
16	EP8_16	-	+	+
17	EP8_17	-	+	+
18	EP8_18	-	+	+
19	EP9_19	-	-	-
20	EP9_20	-	-	-
21	EP9_21	-	-	-
22	ETH_22	-	-	-
23	ETH_23	-	-	-
24	ETH_24	-	-	-
25	ETH_25	-	-	-
26	ETA_26	-	-	+
27	ETA_27	+	-	+

TT	Chủng vi khuẩn	TKT PEP4_12	TKT PETB_38	TKT PEBM_45
28	ETA_28	-	-	-
29	ETN_29	-	-	-
30	ETN_30	-	-	-
31	ETN_31	-	-	-
32	ETO_32	-	-	+
33	ETO_33	-	-	-
34	ETB_34	-	+	-
35	ETB_35	-	-	+
36	ETB_36	-	-	+
37	ETB_37	-	+	-
38	ETB_38	-	+	+
39	ELH_39	-	-	-
40	ELH_40	-	-	+
41	EMT_41	-	-	-
42	EMT_42	-	-	-
43	EMT_43	-	-	+
44	EBM_44	-	-	-
45	EBM_45	-	-	+
46	EBM_46	-	-	-
47	EVL_47	-	-	-
48	EVL_48	-	-	-
49	EVL_49	-	-	-

Ghi chú: +: TKT ly giải vi khuẩn; -: TKT không ly giải vi khuẩn.

Bảng 1 cho thấy, chủng TKT PEBM_45 có khả năng ly giải 17/49 (34,69%), PETB_38 ly giải 8/49 (16,33%) chủng vi khuẩn *E. coli*, trong đó chủng TKT PEBM_45 có khả năng ký sinh nhiều chủng vi khuẩn hơn nên có tiềm năng để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo, còn lại PEP4_12 ly giải 2/49 (4,08%) chủng vi khuẩn *E. Coli*, đã cho thấy tính đặc hiệu cao hơn các chủng TKT khảo sát.

Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận khả năng ly giải đa dạng của TKT đối với *E. coli*. Nghiên cứu của Korf và cs (2019) [21] đã phân lập 50 TKT từ các nguồn môi trường khác nhau và ghi nhận khả năng ly giải 18,18 - 55% trên 64 chủng *E. coli*; Alexyuk và cs (2022) [22] đã phân lập 6 TKT từ nước thải tại Kazakhstan, mỗi chủng có thể ly giải 3 - 6 trong tổng số 9 chủng *E. coli* khảo sát. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu của Litt và Jaroni (2017) [23] cho thấy, 7 TKT phân lập từ môi trường chăn nuôi bò thịt có khả năng ly giải 50/55 chủng *E. coli* O157:H7; trong khi đó, Lu và Breidt (2015) [24] báo cáo TKT Φ241 có thể ly giải 46/69 chủng *E. coli* O157:H7. Các TKT có phổ vật chủ rộng

được đánh giá có tiềm năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như: Công nghiệp, nông nghiệp, môi trường và y học, đặc biệt như một tác nhân kháng khuẩn tự nhiên thay thế kháng sinh, kể cả đối với các chủng vi khuẩn đa kháng thuốc [20]. Ngoài ra, việc sử dụng cocktail phage, TKT biến đổi gen hoặc TKT kết hợp vật liệu nano cũng được nghiên cứu nhằm tăng hiệu quả kiểm soát vi khuẩn gây hại [25]. Mặc dù tỷ lệ ly giải trong nghiên cứu này thấp hơn so với một số báo cáo trước, chủng TKT PEBM_45 vẫn thể hiện hoạt tính ly giải nổi trội so với các chủng khảo sát khác, cho thấy tiềm năng cho các nghiên cứu tiếp theo và ứng dụng trong bảo quản thực phẩm.

3.3. Kết quả định danh chủng TKT *E. coli* phân lập được

Hình thái chủng TKT PEBM_45 được xác định bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (Hình 3), cho thấy chủng TKT PEBM_45 thuộc bộ *Caudovirales* với đầu thon dài, đuôi ngắn với kích thước 48,49 × 123,69 nm và đuôi ngắn nên khả năng PEBM_45 thuộc họ *Podoviridae* [24]. Các nghiên cứu trước đây

cho thấy, hình thái TKT qua ảnh chụp TEM cho được xác định là TKT *E. coli* thuộc bộ *Caudovirales*, họ *Podoviridae* tương tự với TKT PEBM_45 trong nghiên cứu này [21]. Một số báo cáo phân tích về ảnh

TEM của TKT khác cũng đã xác định hình thái TKT *E. coli* nhưng thuộc họ *Siphoviridae* [26 - 28] và họ *Myoviridae* [21, 26, 27, 29 - 32].



Hình 3. Hình thái TKT PEBM_45 được chụp TEM (khung tỷ lệ 100 nm)

3.4. Kết quả đánh giá khả năng kiểm soát vi khuẩn *E. coli* của chủng TKT phân lập được

Chủng TKT PEBM_45 đại diện được tuyển chọn để khảo sát khả năng kiểm soát vi khuẩn *E. coli* phân lập từ thịt gà, kết quả được trình bày trong bảng 3 và 4.

Bảng 3. Khả năng phân giải vi khuẩn *E. coli* của TKT PEBM_45 trong môi trường LB

Nghiệm thức	Mật số vi khuẩn (log CFU/mL)			
	0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ
NT_1	5,23 ± 00 ^{ns}	6,46 ± 0,53 ^{bc}	6,60 ± 0,86 ^{bc}	6,24 ± 0,88 ^{bc}
NT_2	5,23 ± 00 ^{ns}	3,18 ± 0,0 ^e	3,52 ± 0,44 ^{de}	3,74 ± 0,49 ^{de}
NT_3	5,23 ± 00 ^{ns}	7,86 ± 0,57 ^{ab}	8,84 ± 0,50 ^a	9,15 ± 1,16 ^a
NT_4	5,23 ± 00 ^{ns}	2,36 ± 0,36 ^e	2,70 ± 0,47 ^e	2,94 ± 0,05 ^e

Ghi chú: NT_1 (đối chứng 8°C), NT_2 (bổ sung TKT PEBM_45, 8°C), NT_3 (đối chứng 25°C), NT_4 (bổ sung TKT PEBM_45, 25°C). Các giá trị trong bảng (trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại), trong cùng một cột, các chữ cái theo sau các số khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ns: Khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 4. Khả năng phân giải vi khuẩn *E. coli* của TKT PEBM_45 trong môi trường thịt gà

Nghiệm thức	Mật số vi khuẩn (Log CFU/g)			
	0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ
NT_5	5,23 ± 00 ^{ns}	6,65 ± 0,93 ^{bc}	6,68 ± 0,54 ^{bc}	6,74 ± 1,15 ^{bc}
NT_6	5,23 ± 00 ^{ns}	3,58 ± 0,65 ^e	3,70 ± 0,72 ^{de}	3,81 ± 0,46 ^{de}
NT_7	5,23 ± 00 ^{ns}	8,30 ± 1,02 ^{ab}	9,21 ± 0,96 ^a	9,72 ± 0,61 ^a
NT_8	5,23 ± 00 ^{ns}	2,33 ± 0,17 ^e	2,69 ± 0,44 ^e	2,71 ± 0,46 ^e

Ghi chú: NT_5 (đối chứng 8°C), NT_6 (bổ sung TKT PEBM_45, 8°C), NT_7 (đối chứng 25°C), NT_8 (bổ sung TKT PEBM_45, 25°C). Các giá trị trong bảng (trung bình ± độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại), trong cùng một cột, các chữ cái theo sau các số khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ns: Khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3 và 4 đã cho thấy sự tương đồng kết quả ở 2 điều kiện môi trường thí nghiệm (môi trường LB và thịt gà). Trong đó, ở tất cả các nghiệm thức khi có bổ sung TKT PEBM₄₅ đều ghi nhận được mật số vi khuẩn *E. coli* EBM₄₅ khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung TKT PEBM₄₅. Nghiệm thức có bổ sung TKT PEBM₄₅ có mật số vi khuẩn *E. coli* PEBM₄₅ giảm, nghiệm thức không bổ sung TKT PEBM₄₅ có mật số vi khuẩn *E. coli* PEBM₄₅ tăng so với ban đầu (5,23 log CFU/mL hoặc 5,23 log CFU/g). Khi có bổ sung TKT PEBM₄₅ ở điều kiện nhiệt độ 8°C sau 24, 48, 72 giờ khảo sát, mật số vi khuẩn *E. coli* PEBM₄₅ giảm lần lượt là 2,05; 1,71; 1,49 log CFU/mL (môi trường LB) và 2,87; 2,53; 2,29 log CFU/g (môi trường thịt gà); ở điều kiện nhiệt độ 25°C sau 24, 48, 72 giờ khảo sát, mật số vi khuẩn *E. coli* EBM₄₅ giảm lần lượt là 1,65; 1,53; 1,42 log CFU/mL (môi trường LB) và 2,9; 2,54; 2,52 log CFU/g (môi trường thịt gà). Như vậy, trong thí nghiệm này, ở nhiệt độ 25°C TKT PEBM₄₅ kiểm soát mật số vi khuẩn tốt hơn ở nhiệt độ 8°C, tuy nhiên sau 72 giờ mật số vi khuẩn có tăng nhưng không đáng kể.

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng, việc áp dụng các TKT lên bề mặt thực phẩm bị ô nhiễm sẽ làm giảm số lượng vi khuẩn và đảm bảo an toàn thực phẩm [33, 34]. Kết quả nghiên cứu này cũng đã cho thấy sự tương đồng với kết quả của các nghiên cứu khác trong lĩnh vực thực phẩm. Nghiên cứu của Minh và cs (2016) [35] đã sử dụng hỗn hợp TKT PBL66-CL1, PBL116-CS6 ở 25°C và 5°C sau 6 giờ trong môi trường ống nghiệm đã làm giảm đáng kể số lượng vi khuẩn sống sót là 5,06 và 1,33 log CFU/mL và tương tự khi xử lý trên các mẫu thịt gà sống thì số lượng vi khuẩn *E. coli* (EBL116) cũng giảm lần lượt là 2,02 và 1,67 log CFU/cm². Kết quả nghiên cứu của Son và cs (2018) [36] cũng đã xác định TKT PE37 có khả năng làm giảm đáng kể số lượng vi khuẩn *E. coli* O157:H7 (STEC O157:H7) sau 6 giờ ủ ở 25 và 8°C, lần lượt là 4,9 và 2,6 log CFU/mL (môi trường nuôi cấy vi khuẩn thương mại); trên thịt bò sống bị nhiễm *E. coli* O157:H7 (STEC O157:H7) giảm 2,3 và 0,9 log CFU/cm²; trên thịt bò sống nhiễm cả 2 loại vi khuẩn *E. coli* O157:H7 (STEC O157:H7) và *E. coli* sinh *beta*-lactamase phổ rộng (ESBLEC) giảm là 1,4 và 1,0 log CFU/cm². Kết quả nghiên cứu của Dewanggana và cs (2022) [37] đã chứng minh, TKT DW-EC *E. coli* được phân lập từ thực phẩm truyền thống của Indonesia đã làm giảm đáng kể mật số vi khuẩn *E. coli* trong các mẫu thực phẩm ở thời gian ủ 1 và 6 ngày lần lượt là: Ở thịt gà (80,93%; 87,29%), cá (63,78%; 87,89%), dưa chuột (61,42%; 71,88%), cà chua (56,24%; 74,51%) và rau diếp (46,88%; 43,38%).

Như vậy, kết quả khảo sát cho đều thấy được hiệu quả làm giảm mật số vi khuẩn của TKT trên thịt gà, trong đó ở nhiệt độ 25°C (mật số giảm dao động từ 1,90 - 2,93 log CFU/mL) kiểm soát tốt hơn ở nhiệt độ ở nhiệt độ 8°C (mật số giảm dao động từ 1,82 - 2,87 log CFU/mL). Sau thời gian dài 48 giờ, 72 giờ mật số vi khuẩn vẫn duy trì giảm hoặc có trường hợp tăng so với ở thời điểm 24 giờ, nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3 và 4), tương tự như kết quả nghiên cứu của Tomat và cs (2014) [38]. Nhiệt độ ảnh hưởng đến hoạt động của vật chủ TKT và cũng có thể ảnh hưởng đến độ ổn định hoặc động học sao chép của TKT, ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau khả năng ly giải vi khuẩn của TKT cũng khác nhau và thực tế cũng đã có nhiều nghiên cứu chứng minh tính ổn định của các TKT khác nhau đối với yếu tố nhiệt và cho kết quả tương tự [37, 40].

4. KẾT LUẬN

Đã phân lập được các chủng TKT *E. coli* từ thịt gà bán lẻ ở các chợ truyền thống của tỉnh Vĩnh Long. Chủng TKT PEBM₄₅ trong nghiên cứu được xác định thuộc bộ *Caudovirales* qua ảnh chụp TEM, trong đó chủng TKT PEBM₄₅ có khả năng ly giải 17/49 (34,69%) chủng vi khuẩn *E. coli*. Chủng TKT PEBM₄₅ cho thấy hiệu quả kiểm soát vi khuẩn *E. coli* trên thịt gà sau thời gian 24, 48, 72 giờ với mật số vi khuẩn *E. coli* ở các nghiệm thức có bổ sung TKT đều giảm đáng kể giảm từ 1,82 - 2,93 log CFU/mL so với nghiệm thức đối chứng ở nhiệt độ 8°C và 25°C. Tuy nhiên, cần tiếp tục các khảo sát về yếu tố môi trường ảnh hưởng đến TKT và nghiên cứu đặc điểm hệ gen của các chủng TKT khác nhau để cung cấp dữ liệu cho việc sản xuất các chế phẩm TKT nhằm kiểm soát thực phẩm nhiễm khuẩn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Risalvato, J., Sewid, A. H., Eda, S., Gerhold, R. W., Wu, J. J. (2025). Strategic detection of *Escherichia coli* in the poultry industry: Food safety challenges, one health approaches, and advances in biosensor technologies. *Biosensors* (MDPI), 15(7): 1 - 31.
2. Enver, K., Senita, I., Sabina, O., Saud, H., Almir, T., Nermina, D., Samir, M. (2021). Microbiological contamination of fresh chicken meat in the retail stores. *Food and Nutrition Sciences*, 12(1): 64 - 72.
3. Cam Thị Thu Hà, Hoàng Minh Đức và Hoàng Minh Sơn (2025). Khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* kháng colistin phân lập từ thịt lợn ở chợ bán lẻ. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 23(12): 1582 - 1591.

4. 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): 1 - 27.
5. Faridah, H. D., Dewi, E. K., Effendi, M. H., Plumeriastuti, H. (2020). A review of antimicrobial resistance (AMR) of *Escherichia coli* on livestock and animal products: Public health importance. *Journal of Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(11): 1210 - 1218.
6. Hyla, K., Dusza, I., Skaradzińska, A. (2022). Recent advances in the application of bacteriophages against common foodborne pathogens. *Antibiotics (MDPI)*, 11(11): 1 - 23.
7. Kinanti, A. S., Prihanto, A. A., Jatmiko, Y. D., Kobun, R., Xia, W., Felicia, L. (2024). Harnessing bacteriophages: A promising approach to combat foodborne pathogen biofilms. *International Journal of Agriculture and Biosciences*, 13(4): 656 - 668.
8. Rogovski, P., Cadamuro, R. D., Silva, D. R., Souza, D. E. B., Bonatto, C., Viancelli, A., Michelin, W., Elmahdy, E. M., Treichel, H., Rodríguez-Lázaro, D., Fongaro, G. (2021). Uses of bacteriophages as bacterial control tools and environmental safety indicators. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1 - 11.
9. Nhung, T. T. T., Verma, S., Ponne, S., Meghwanshi, G. K., Schön, T., Kumar, R. (2025). Bacteriophage-based strategies for biocontrol and treatment of infectious diseases. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 27, 2924 - 2932.
10. Moreno, D. S., Kuczkowski, M., Korzeniowski, P., Grzymajlo, K., Wozniak-Biel, A., Sliwka, P., Rywińska, A., Kuzminska-Bajor, M. (2025). Application of UPWr_E124 phage cocktail for effective reduction of avian pathogenic *Escherichia coli* in mice and broiler chickens. *Veterinary Microbiology*, 302, 110398.
11. Kafshgari, S. F., Maghsoudlou, Y., Meymand, M. J. A. (2025). Biocontrol of *Escherichia coli* in chicken fillet by immobilizing *E. coli* phage on modified cellulose acetate film using plasma. *Food Science and Biotechnology*, 34(2): 447 - 455.
12. Poojari, K., Akhila, D. S., Mohan Raj, J. R., Santhosh, K. S., Kenjar, A., Ashwath, P. (2022). Biocontrol of *Escherichia coli* and *Salmonella* in poultry meat using phage cocktail. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 23(3): 270 - 274.
13. Bùi Thị Lê Minh, Lưu Hữu Mạnh và Nguyễn Nhựt Xuân Dung (2016). Kết quả khảo sát *Escherichia coli* sinh beta-lactamase phổ rộng trên gà tại một số cơ sở giết mổ ở tỉnh Vĩnh Long. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 2, 1 - 5.
14. Bùi Thị Lê Minh, Lưu Hữu Mạnh và Nguyễn Nhựt Xuân Dung (2018). Tình hình nhiễm *Escherichia coli* sinh beta-lactamase phổ rộng trên người chăn nuôi gà ở đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 54, 1 - 5.
15. Nguyen, P. T., Quach, V. C. T. (2025). Antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* originated from raw chicken meat in Vinh Long province's retail markets. *Veterinary Integrative Sciences*, 23(2): 1 - 14.
16. Kropinski, A. M., Mazzocco, A., Waddell, T. E., Lingohr, E., Johnson, R. P. (2009). Enumeration of bacteriophages by double agar overlay plaque assay. *Methods in Molecular Biology*, 501, 69 - 76.
17. O'Flynn, G., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Coffey, A. (2004). Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(6): 3417 - 3424.
18. Williamson, K. E., Radosevich, M., Wommack, K. E. (2005). Abundance and diversity of viruses in six Delaware soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(6): 3119 - 3125.
19. Duc, H. M., Son, H. M., Yi, H. P. S., Sato, J., Ngan, P. H., Masuda, Y., Honjoh, K., Miyamoto, T. (2020). Isolation, characterization and application of a polyvalent phage capable of controlling *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 in different food matrices. *Food Research International*, 131, 108977.
20. Lukman, C., Yonathan, C., Magdalena, S., Waturangi, D. E. (2020). Isolation and characterization of pathogenic *Escherichia coli* bacteriophages from chicken and beef offal. *BMC Research Notes*, 13(8): 1 - 7.
21. Korf, I. H. E., Meier-Kolthoff, J. P., Adriaenssens, E. M., Kropinski, A. M., Nimtz, M., Rohde, M., Raaij, M. J., Wittmann, J. (2019). Still something to discover: Novel insights into *Escherichia coli* phage diversity and taxonomy. *Viruses (MDPI)*, 11(454): 1 - 30.
22. Alexyuk, P., Bogoyavlenskiy, A., Alexyuk, M., Akanova, K., Moldakhanov, Y., Berezin, V. (2022). Isolation and characterization of lytic bacteriophages active against clinical strains of *E. coli*

and development of a phage antimicrobial cocktail. *Viruses (MDPI)*, 14(11): 1 - 23.

23. Litt, P. K., Jaroni, D. (2017). Isolation and physiomorphological characterization of *Escherichia coli* O157:H7-infecting bacteriophages recovered from beef cattle operations. *International Journal of Microbiology*, 1 - 12. DOI: 10.1155/2017/7013236

24. Lu, Z., Breidt, F. (2015). *Escherichia coli* O157:H7 bacteriophage Φ 241 isolated from industrial cucumber fermentation at high acidity and salinity. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1 - 10.

25. Abdelsattar, A. S., Safwat, A., Nofal, R., Elsayed, A., Makky, S., El-Shibiny, A. (2021). Isolation and characterization of bacteriophage ZCSE6 against *Salmonella* spp.: Phage application in milk. *Biologics (MDPI)*, 1(2): 164 - 176.

26. Sjahriani, T., Wasito, E. B., Tyasningsih, W. (2021). Isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 lytic bacteriophage from environment sewage. *International Journal of Food Science*, 4, 1 - 11. DOI:10.1155/2021/7383121.

27. Zhao, P., Meng, X. (2023). Characterization of antibacterial activity of lytic bacteriophage PE-1 for biological control of *Escherichia coli* K88 *in vitro*. *Food Science of Animal Products*, 1, 1 - 7.

28. Pereira, C., Moreirinha, C., Lewicka, M., Almeida, P., Clemente, C., Romalde, J. L., Nunes, M. L., Almeida, A. (2017). Characterization and *in vitro* evaluation of new bacteriophages for the biocontrol of *Escherichia coli*. *Virus Research*, 227, 171 - 182.

29. Hua, Y., An, X., Pei, G., Li, S., Wang, W., Xu, X., Fan, H., Fan, H., Huang, Y., Zhang, Z., Mi, Z., Chen, J., Li, J., Zhang, F., Tong, Y. (2014). Characterization of the morphology and genome of an *Escherichia coli* podovirus. *Archives of Virology*, 159(12): 3249 - 3256.

30. Baig, A., Colom, J., Barrow, P., Schouler, C., Moodley, A., Lavigne, R., Atterbury, R. (2017). Biology and genomics of an historic therapeutic *Escherichia coli* bacteriophage collection. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1 - 11.

31. Peng, Q., Yuan, Y. (2018). Characterization of a newly isolated phage infecting pathogenic *Escherichia coli* and analysis of its mosaic structural genes. *Scientific Reports*, 8, 1 - 10.

32. Esmat, M. M., Abdelhamid, A. G., Abo-ELmaaty, S. A., Nasr-Eldin, M. A., Hassan, M. G., Khattab, A. A., Esmael, A. (2017). Antibiotics and

phage sensitivity as interventions for controlling *Escherichia coli* isolated from clinical specimens. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11(4): 1749 - 1755.

33. Liao, Y. T., Salvador, A., Harden, L. A., Liu, F., Lavenburg, V. M., Li, W., Wu, C. H. (2019). Characterization of a lytic bacteriophage as an antimicrobial agent for biocontrol of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O145 strains. *Antibiotics*, 8(74): 1 - 19.

34. Jamal, M., Hussain, T., Das, C. R., Andleeb, S. (2015). Isolation and characterization of a Myoviridae MJ1 bacteriophage against multi-drug resistant *Escherichia coli* 3. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8(11): 1 - 8.

35. Minh, D. H., Minh, S. H., Honjoh, K., Miyamoto, T. (2016). Isolation and bio-control of extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* contamination in raw chicken meat by using lytic bacteriophages. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 339 - 346.

36. Son, H. M., Duc, H. M., Masuda, Y., Honjoh, K., Miyamoto, T. (2018). Application of bacteriophages in simultaneously controlling *Escherichia coli* O157:H7 and extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(23): 10259 - 10271.

37. Dewanggana, M. N., Evangeline, C., Ketty, M. D., Waturangi, D. E., Magdalena, S. (2022). Isolation, characterization, molecular analysis and application of bacteriophage DW-EC to control enterotoxigenic *Escherichia coli* on various foods. *Scientific Reports*, 12(495): 1 - 10.

38. Tomat, D., Quiberoni, A., Mercanti, D., Balagué, C. (2014). Hard surfaces decontamination of enteropathogenic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* using bacteriophages. *Food Research International*, 57, 123 - 129.

39. Li, C., Yuan, X., Li, N., Wang, J., Yu, S., Zeng, H., Zhang, J., Wu, Q., Ding, Y. (2020). Isolation and characterization of *Bacillus cereus* phage vB_{BceP}-DLc1 reveals the largest member of the Φ 29-like phages. *Microorganisms*, 8(11): 1 - 22.

40. Ji, X., Zhang, C., Fang, Y., Zhang, Q., Lin, L., Tang, B., Wei, Y. (2015). Isolation and characterization of glacier VMY22, a novel lytic cold-active bacteriophage of *Bacillus cereus*. *Virologica Sinica*, 30(1): 52 - 58.

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIOPHAGES CAPABLE OF LYSING
Escherichia coli FROM CHICKEN MEAT IN VINH LONG PROVINCE**

Nguyen Trung Truc¹, Quach Van Cao Thi¹, Huynh Thi Diem Chinh²

¹*Faculty of Biochemistry and Food Technology, Vinh Long University of Technology Education*

²*Nguyen Thong High School, Vinh Long province*

Abstract

Escherichia coli (*E. coli*) is commonly found on raw poultry meat and is a major causative agent of foodborne illnesses. This study aimed to isolate and characterize bacteriophages capable of lysing *E. coli* strains recovered from retail chicken meat sold at traditional markets in Vinh Long province. Using the double-layer agar plaque assay, we isolated phages and determined their host range against 49 *E. coli* strains. Among them, phage PEBM_45 exhibited the broadest lytic activity, lysing 17 isolates (34.69%). Transmission electron microscopy revealed that PEBM_45 belongs to the order *Caudovirales*. Evaluation of its antibacterial efficacy on chicken meat stored at 8°C and 25°C for 24, 48, 72 hours showed that treatments supplemented with PEBM_45 achieved reductions of 1.82 - 2.93 log CFU/mL or log CFU/g in *E. coli* counts compared with the untreated control. These findings highlight the potential of phage PEBM_45 as a promising biocontrol agent for enhancing the microbial safety of poultry products.

Keywords: *E. coli*, food poisoning, chicken meat, bacteriophage, Vinh Long.

Ngày nhận bài: 9/01/2026

Ngày chuyển phản biện: 16/01/2026

Ngày thông qua phản biện: 25/02/2026

Ngày duyệt đăng: 6/3/2026