Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Tập 24, Số đặc biệt 1, 2026: 96-106 https://doi.org/10.31817/tckhnnvn.2026.24.SP01.11
vie.vjas.vn

PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* Ở MÈO CÓ BIỂU HIỆN HÔ HẤP TẠI MỘT SỐ CƠ SỞ THÚ Y Ở HÀ NỘI

Vũ Thị Ngọc*, Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Trần Thị Hương Giang, Trương Hà Thái, Đặng Hữu Anh, Nguyễn Văn Giáp, Chu Thị Thanh Hương, Nguyễn Vũ Sơn

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

**Tác giả liên hệ: vtngoc@vnua.edu.vn*

Ngày nhận bài: 10.04.2026 Ngày chấp nhận đăng: 01.10.2026

TÓM TẮT

Nghiên cứu cắt ngang này nhằm phân lập, định danh *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (SEZ), xác định tỷ lệ dương tính và phân tích thăm dò sự khác biệt theo nhóm tuổi, giống ở mèo có biểu hiện hô hấp tại một số cơ sở thú y ở Hà Nội. Từ tháng 1 đến tháng 12 năm 2025, 116 mẫu dịch ngoáy mũi - họng kết hợp của từng cá thể mèo được thu thập bằng phương pháp chọn mẫu có chủ đích để nuôi cấy và định danh kiểu hình. Các chủng nghi ngờ được định danh bằng PCR phát hiện gen *sodA* và *seM*; chủng được xác định phù hợp với SEZ khi *sodA* dương tính và *seM* âm tính. SEZ được phát hiện ở 69/116 cá thể, tương ứng tỷ lệ dương tính 59,48% (95% CI: 50,38-67,97%). Chưa ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm tuổi (P = 0,878) hoặc nhóm giống (P = 0,923). Ba chủng được lựa chọn có mức tương đồng trình tự 100% với nhau trong đoạn 517bp thuộc vùng V1-V3 của gen 16S rRNA và phân cụm sơ bộ với một số trình tự tham chiếu được xếp vào genogroup 1. Kết quả xác nhận sự hiện diện của SEZ trong nhóm mèo khảo sát nhưng không cho phép suy luận vai trò căn nguyên hoặc ngoại suy tỷ lệ lưu hành trong quần thể mèo tại Hà Nội.

Từ khóa: 16S rRNA, gen *sodA*, nhiễm trùng cơ hội, tỷ lệ dương tính.

Isolation and Identification of *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* from Cats with Respiratory Signs at Selected Veterinary Facilities in Hanoi

ABSTRACT

This cross-sectional study aimed to isolate and identify *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (SEZ), determine the SEZ positivity rate, and explore differences among age and breed groups in cats presenting with respiratory signs at selected veterinary facilities in Hanoi. From January to December 2025, combined nasal-oropharyngeal swab samples were collected from 116 individual cats using purposive sampling for bacterial culture and phenotypic identification. Suspected isolates were further identified using PCR assays targeting the *sodA* and *seM* genes; isolates were considered consistent with SEZ when positive for *sodA* and negative for *seM*. SEZ was detected in 69 of 116 cats, corresponding to a positivity rate of 59.48% (95% CI: 50.38-67.97%). No statistically significant differences in SEZ positivity were detected among age groups (P = 0.878) or breed groups (P = 0.923). Three selected isolates exhibited 100% sequence identity to one another across a 517-bp fragment spanning the V1-V3 region of the 16S rRNA gene and provisionally clustered with reference sequences assigned to genogroup 1. These findings confirm the presence of SEZ in the sampled cats but do not establish its etiological role or permit extrapolation of the observed positivity rate to the general cat population in Hanoi.

Keywords: 16S rRNA, *sodA* gene, opportunistic infection, positivity proportion.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng hô hấp ở mèo có thể liên quan đến nhiều tác nhân virus, vi khuẩn hoặc sự đồng nhiễm, trong đó *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, *Mycoplasma* spp. và *Streptococcus canis* thường được xem xét trong chẩn đoán phân biệt (Frymus & cs., 2015;

Britton & cs., 2018). *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (SEZ) là liên cầu khuẩn Gram dương, tan máu β, thuộc nhóm C theo phân loại Lancefield. Vi khuẩn này được ghi nhận như là thành phần hội sinh hoặc tác nhân cơ hội liên quan ở đường hô hấp và đường sinh dục của ngựa, nhưng cũng có khả năng gây bệnh ở nhiều loài động vật khi điều kiện vật chủ và môi trường thuận lợi (Pelkonen & cs., 2013; Rasmussen & cs., 2013; Acke & cs., 2015). Ở mèo, SEZ đã được phát hiện trong các trường hợp bệnh hô hấp và thần kinh, đặc biệt tại các cơ sở cứu hộ hoặc nơi nuôi giữ tập trung (Blum & cs., 2010; Britton & Davies, 2010; Britton & cs., 2018).

Tại Việt Nam, dữ liệu về SEZ ở mèo còn hạn chế, đặc biệt là tỷ lệ dương tính ở mèo có biểu hiện hô hấp và đặc điểm trình tự của các chủng phân lập. Do hội chứng hô hấp ở mèo có căn nguyên phức tạp, việc phân lập SEZ từ đường hô hấp chỉ xác nhận sự hiện diện của vi khuẩn, chưa đủ để xác định vai trò căn nguyên nếu thiếu nhóm đối chứng và thông tin về các tác nhân đồng nhiễm. SEZ cũng có tiềm năng lây truyền từ động vật sang người; một trường hợp bệnh ở người liên quan đến tiếp xúc với mèo có biểu hiện hô hấp đã được báo cáo (Dolapsakis & cs., 2023). Vì vậy, việc xác định sự hiện diện và đặc điểm phân tử của SEZ ở mèo có ý nghĩa đối với giám sát thú y và thực hành an toàn sinh học.

Nghiên cứu nhằm phân lập, định danh SEZ, xác định tỷ lệ dương tính, khảo sát sự khác biệt theo tuổi, giống và mô tả trình tự vùng V1-V3 của gen 16S rRNA ở một số chủng phân lập từ mèo có biểu hiện hô hấp tại Hà Nội.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Tổng số 116 mẫu dịch kết hợp mũi và họng của từng cá thể mèo được thu thập; mỗi mẫu gồm dịch ngoáy mũi và họng của cùng một cá thể mèo tại một số cơ sở thú y và trạm cứu hộ ở Hà Nội từ tháng 1 đến tháng 12 năm 2025.

- Môi trường, hóa chất sử dụng phân lập vi khuẩn SEZ: Blood Agar Base (HiMedia Ấn Độ); Brain Heart Infusion - BHI (Himelia); Máu cừu (Namkhoabiotek); Oxidase (Namkhoabiotek); bộ Kit nhuộm Gram (Namkhoabiotek).

- Sinh phẩm hóa chất dùng cho phản ứng PCR định danh SEZ: kit tách chiết ADN 78 (MagPurix Bacterial DNA Extraction Kit, Zinexts Life Sciences), kit PCR (GoTaq green master mix, Promega, M7122), Agarose-Invitrogen. Hóa chất, sinh phẩm dùng phân tích kết quả của phản ứng PCR: đệm TAE buffer 50X (Công ty TNHH Giải pháp y sinh ABT, DD-035); UltraPure agarose (Invitrogen, 16500500); 100bp DNA ladder (Invitrogen, 15628019); RedSafe nucleic acid staining solution (iNtRON, 21141)). Các cặp mồi phát hiện SEZ, *S. equi* subsp. *equi* (SEE) và khuếch đại đoạn gen dùng cho giải trình tự được cung cấp bởi Công ty Cổ phần Phù Sa Genomics (Bảng 1).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu và phương pháp lấy mẫu

Nghiên cứu áp dụng thiết kế cắt ngang và chọn mẫu có chủ đích trên đối tượng mèo có biểu hiện hô hấp tại một số cơ sở thú y, trạm cứu hộ ở Hà Nội từ tháng 1 đến tháng 12 năm 2025. Mèo được đưa vào nghiên cứu khi thuộc bất kỳ độ tuổi hoặc nhóm giống nào và có ít nhất một trong ba biểu hiện tại thời điểm khám: hắt hơi, khó thở hoặc chảy dịch mũi. Tiêu chí lâm sàng này tạo nên một nhóm khảo sát không đồng nhất về kiểu hình và không tương đương với chẩn đoán xác định bệnh đường hô hấp. Mèo được loại nếu chủ nuôi hoặc hồ sơ khám ghi nhận đã sử dụng kháng sinh toàn thân hoặc tại chỗ trong 14 ngày trước lấy mẫu. Yếu tố lâm sàng khác (mức độ bệnh, tình trạng đồng nhiễm virus) không được thu thập đồng nhất nên không dùng làm biến phân tích hay tiêu chuẩn loại trừ. Nghiên cứu không thiết lập khung chọn mẫu ngẫu nhiên và không ghi nhận đầy đủ số mèo được tiếp cận nhưng không đủ tiêu chuẩn; vì vậy kết quả chỉ áp dụng cho nhóm 116 mèo được lấy mẫu. Mỗi cá thể cung cấp một mẫu gộp dịch ngoáy mũi - họng. Dịch mũi và họng từ mỗi cá thể được thu

thập và kết hợp chung vào một ống chứa mẫu vô trùng duy nhất đại diện cho cá thể đó, bảo quản ở 2-8°C, vận chuyển lạnh về phòng thí nghiệm và nuôi cấy trong vòng 12 giờ.

2.2.2. Phương pháp phân lập SEZ

Quy trình nuôi cấy và phân lập được thực hiện dựa trên phương pháp của Blum & cs. (2010). Mẫu swab được nuôi cấy trực tiếp trên môi trường thạch máu (Blood Agar) bổ sung 5% máu cừu vô trùng, ủ ở nhiệt độ 37°C trong điều kiện hiếu khí trong thời gian 24-48 giờ. Các khuẩn lạc nghi ngờ có đặc điểm hình thái điển hình (kích thước nhỏ, màu trắng đến xám nhạt, dạng nhầy hoặc không nhầy). Các chủng vi khuẩn được xác định sơ bộ là *Streptococcus* nhóm C dựa trên hình thái cầu khuẩn Gram dương xếp chuỗi, dung huyết beta, không sinh nha bào và âm tính với catalase, oxidase; sau đó được cấy thuần trên BHI. Chủng thuần được bảo quản trong BHI bổ sung 20% glycerol vô trùng ở -70°C. Việc định danh phân tử sử dụng PCR mục tiêu sodAkết hợp seM như mô tả dưới đây.

2.2.3. Giám định SEZ bằng phương pháp PCR

ADN của các chủng nghi ngờ được tách bằng kit tách chiết ADN (MagPurix Bacterial DNA Extraction Kit, Zinexts Life Sciences) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. AND thu được được bảo quản trong Elution Buffer và bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng. PCR xác nhận SEZ sử dụng cặp mồi SodA-F/SodA-R theo Alber & cs. (2004). Để loại trừ *Streptococcus equi* subsp. *equi* (SEE), các chủng đồng thời được kiểm tra với cặp mồi SeM- F/SeM-R đặc hiệu cho gen seM theo Timoney & Artiushin (1997). Danh sách mồi được trìnhbày ở bảng 1.

Phản ứng PCR để khuếch đại ADN của SEZ sử dụng Kit Gotaq Green Master Mix (Lot 0000475256, Promega, Mỹ). Thành phần của mỗi phản ứng PCR có tổng thể tích 25µl gồm 12,5µl GoTaq Green Master Mix 2×, 1µl mồi xuôi (10µM), 1µl mồi ngược (10µM), 5µl ADN khuôn và 5,5µl nước không chứa nuclease. Chương trình nhiệt gồm biến tính ban đầu ở 95°C trong 2 phút; 35 chu kỳ gồm 95°C trong 30 giây, 59°C trong 30 giây và 72°C trong 40 giây; kéo dài ở 72°C trong 7 phút. Mỗi lần chạy có đối chứng dương và đối chứng âm. Sản phẩm được điện di trên gel agarose 1% trong đệm TBE 0,5X và quan sát dưới UV. Chủng được xác định là SEZ khi có sản phẩm sodA khoảng 235bp và không có sản phẩm seM khoảng 679bp.

2.2.4. Giải trình tự gen và phân tích một số đặc tính sinh học phân tử

Các chủng đại diện có sản phẩm PCR rõ, chất lượng ADN đạt yêu cầu được lựa chọn để gửi giải trình tự một phần gen 16S rRNA. Cặp mồi V2-F/V2-R được sử dụng để khuếch đại đoạn gen có kích thước khoảng 560bp bao phủ vùng V1-V3 theo Bentley & Leigh (1995). Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được gửi giải trình tự hai chiều tại First Base Laboratories, Malaysia.

Trình tự nucleotide được phân tích bằng phần mềm Bioedit (Hall, 1999), so sánh các trình tự tham chiếu trên ngân hàng GenBank. Cây phát sinh chủng loại dựa trên trình tự một phần của gen 16S rRNA được xây dựng bằng phần mềm MEGA X (Kumar & cs., 2018) theo phương pháp Neighbor-Joining với 1.000 lần lặp bootstrap. Do chỉ phân tích đoạn 517bp thuộc vùng V1-V3, kết quả chỉ được dùng để mô tả mức tương đồng và sự phân cụm sơ bộ với các trình tự tham chiếu, bao gồm những trình tự được Baverud & cs. (2007) mô tả thuộc genogroup 1. Kết quả không được dùng để phân loại genogroup một cách khẳng định, truy xuất nguồn gốc hoặc suy luận quan hệ dịch tễ ở mức chủng.

2.2.5. Xử lý số liệu

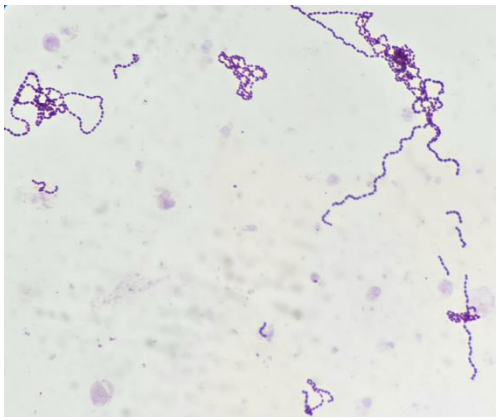
Dữ liệu thu thập được tổng hợp vào Microsoft Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm IBM SPSS STatistics (phiên bản 27). Tỷ lệ dương tính với *S. equi* subsp. *zooepidemicus* (SEZ) được biểu diễn dưới dạng phần trăm (%). Khoảng tin cậy 95% (95% CI) cho tỷ lệ dương tính được ước tính bằng phương pháp khoảng điểm số Wilson.

Bảng 1. Danh sách mồi PCR sử dụng trong bài báo

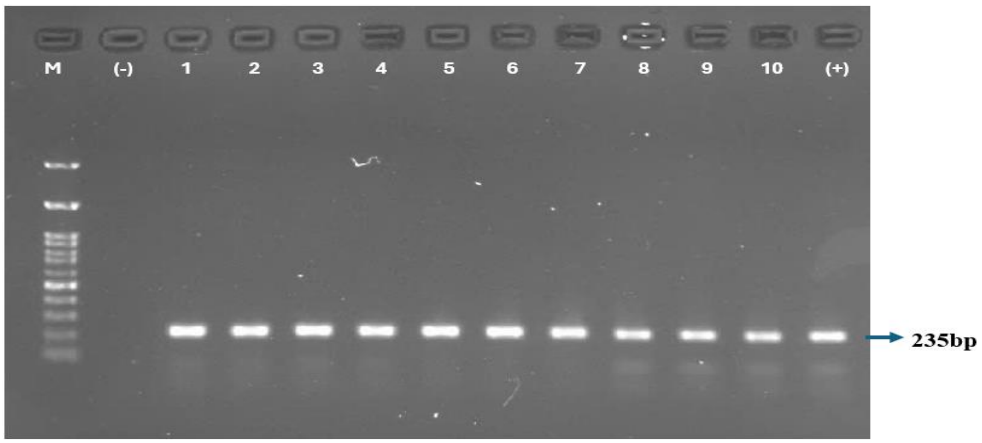
Mục đích	Tên mồi	Trình tự (5' - 3')	Kích thước (bp)	Tài liệu tham khảo
Phát hiện SEZ	SodA-F	CAGCATTCCTGCTGACATTCGTCAGG	235	Alber & cs. (2004)
	SodA-R	CTGACCAGCTTATTCACAAACCAGCC		
Phát hiện SEE	SeM-F	TGCATAAAGAAGTTCCTGTC	679	Timoney & Artiushin (1997)
	SeM-R	GATTCGGTAAGAGCTTGACG		
Giải trình tự gen	V2-F	GAGAGTTTGATCCTGGCTCAGCA	560	Bentley & Leigh (1995)
	V2-R	TTACCGCGGCTGCTGGCACGT		



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc của SEZ trên thạch máu



Hình 2. Hình thái của vi khuẩn SEZ khi nhuộm Gram



Ghi chú: M: Thang ADN chuẩn 100bp; (-): Đối chứng âm; 1-10: Là mẫu xét nghiệm; (+): Đối chứng dương, sản phẩm mục tiêu khoảng 235bp.

Hình 3. Hình ảnh minh họa sản phẩm PCR giám định SEZ của một số chủng đại diện

Sự khác biệt về tỷ lệ dương tính SEZ giữa các nhóm tuổi và nhóm giống được đánh giá qua hai bước: (i) Kiểm định Chi-bình phương Pearson (hoặc kiểm định chính xác Fisher) để so sánh tỷ lệ giữa các nhóm. Để đo lường mức độ liên kết giữa các biến định danh định tính, chỉ số thống kê Cramer's V được sử dụng, trong đó giá trị Cramer's V tiến gần về 0 biểu thị mối liên quan rất yếu hoặc không có liên quan. (ii) Phân tích hồi quy logistic đơn biến để ước

tính tỷ số chênh (Odds Ratio - OR) và khoảng tin cậy 95% (95% CI). Nhóm tham chiếu được thiết lập là mèo dưới 1 tuổi (đối với yếu tố tuổi) và mèo nội (đối với yếu tố giống). Trong phân tích hồi quy đơn biến nếu biến độc lập nào đạt giá trị P <0,2 sẽ được đưa vào phân tích hồi quy đa biến. Mức ý nghĩa thống kê cho tất cả các phép kiểm định hai phía được xác định tại P <0,05.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả phân lập và giám định SEZ

Trên môi trường thạch máu, các khuẩn lạc nghi ngờ có màu trắng đến trắng xám, tròn, nhỏ, bao quanh khuẩn lạc có vòng tan máu hoàn toàn (dung huyết β) (Hình 1), được chọn lọc và tiến hành nhuộm Gram cho thấy những đặc điểm hình thái tế bào đặc trưng dưới kính hiển vi: tế bào hình cầu, Gram dương, bắt màu tím và liên kết với nhau tạo thành các chuỗi dài, mảnh, uốn lượn đặc trưng của giống liên cầu khuẩn (Hình 2). Các chủng nghi ngờ catalase âm tính và oxidase âm tính được lựa chọn để xác nhận bằng PCR.

PCR với cặp mồi SodA-F/SodA-R ghi nhận 69/116 mẫu có chủng phân lập tạo sản phẩm khoảng 235bp (Hình 3). Không phát hiện sản phẩm seM khoảng 679bp ở các chủng sodA dương tính được kiểm tra. Theo quy trình định danh áp dụng trong nghiên cứu, sự kết hợp giữa đặc điểm nuôi cấy, kiểu hình, sodA dương tính và seM âm tính phù hợp với việc định danh các chủng phân lập là SEZ; kết quả seM âm tính chỉ áp dụng cho các chủng được kiểm tra và không loại trừ sự hiện diện của SEE trong toàn bộ quần thể mèo.

3.2. Tỷ lệ dương tính với SEZ và mối liên quan với tuổi, giống của mèo

Trong tổng số 116 mẫu gộp dịch ngoáy mũi - họng của mèo có biểu hiện hô hấp được lấy mẫu có chủ đích, 69 mẫu xác định dương tính với SEZ bằng phương pháp PCR định danh gen *sodA* và loại trừ *S. equi* subsp. *equi* (SEE). Tỷ lệ dương tính trong nhóm khảo sát là 59,48% (69/116; 95% CI: 50,38-67,97%). Con số này không được diễn giải là tỷ lệ lưu hành trong quần thể mèo Hà Nội.

Kết quả phân tích mối liên quan giữa tỷ lệ dương tính SEZ với các yếu tố dịch tễ (nhóm tuổi và giống mèo) được chi tiết tại bảng 2. Tỷ lệ dương tính dao động từ 56,76% đến 62,22% giữa các nhóm tuổi. Cụ thể, tỷ lệ SEZ dương tính được ghi nhận ở nhóm mèo 1-5 năm tuổi, đạt 62,22% (95% CI = 47,63-74,89%), tiếp theo là nhóm trên 5 năm tuổi với 58,82% (95% CI: 42,22-73,63%) và nhóm dưới 1 năm tuổi với 56,76% (95% CI = 40,91-71,33%). Tuy nhiên chưa ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa ba nhóm tuổi (χ^2 = 0,260; P = 0,878). Chỉ số thống kê Cramér's V = 0,047 cho thấy mức độ liên quan giữa nhóm tuổi và kết quả xét nghiệm rất yếu trong quần thể nghiên cứu.

Bảng 2. Tỷ lệ dương tính với SEZ và kết quả hồi quy logistic đơn biến theo tuổi, giống mèo

Yếu tố	Nhóm	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương	Tỷ lệ % (95% CI)	Giá trị p, χ^2, Cramér's V	OR (95% CI)	P (hồi quy)
Tuổi	< 1 năm	37	21	56,76 (40,91-71,33)	P = 0,878	1,00 (tham chiếu)	-
	1-5 năm	45	28	62,22 (47,63-74,89)	χ^2 = 0,260	1,26 (0,52-3,05)	0,616
	> 5 năm	34	20	58,82 (42,22-73,63)	Cramér's V = 0,047	1,09 (0,42-2,80)	0,860
Giống	Mèo nội	25	14	56,00 (37,07-73,33)	P = 0, 923	1,00 (tham chiếu)	-
	Mèo lai	48	29	60,42 (46,31-72,98)	χ^2 = 0, 160	1,20 (0,45-3,19)	0,716
	Mèo ngoại	43	26	60,47 (45,58-73,63)	Cramér's V = 0,037	1,20 (0,44-3,26)	0,718
Tổng		116	69	59,48 (50,38-67,97)	-	-	-

Ghi chú: 95% CI: khoảng tin cậy 95%; χ^2 (Chi-square): Giá trị thống kê kiểm định Chi-bình phương về tính độc lập; Cramér's V: Hệ số đo lường độ mạnh của mối liên hệ giữa các biến định danh. OR: tỷ số chênh; P (P-value): mức ý nghĩa thống kê (kết quả có ý nghĩa khi (P <0,05); nhóm tham chiếu: mèo dưới 1 năm và mèo nội.

SEZ được phát hiện ở cả ba nhóm giống mèo, với tỷ lệ dương tính tương đối đồng đều giữa các nhóm, dao động từ 56,00% đến 60,47%. Nhóm mèo ngoại có tỷ lệ dương tính là 60,47% (95% CI: 45,58-73,63%), mèo lai là 60,42% (95% CI: 46,31-72,98%) và mèo nội là 56,00% (14/25; 95% CI: 37,07-73,33%). Tuy nhiên, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ nhiễm SEZ giữa các giống mèo khảo sát (χ^2=0,160; P = 0,923, hệ số Cramér's V = 0,037).

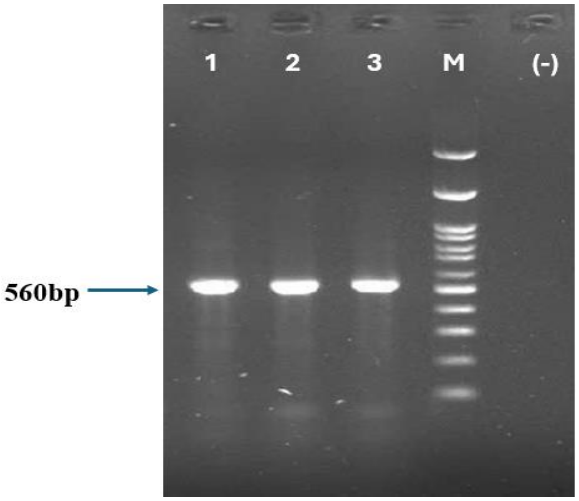
Kết quả phân tích hồi quy đơn biến ở bảng 2 cho thấy, so với nhóm mèo tham chiếu dưới 1 năm tuổi, mèo thuộc nhóm 1-5 năm tuổi có tỷ số số chênh dương tính với SEZ ước tính cao gấp 1,26 lần (OR = 1,26; 95% CI: 0,52-3,05; P = 0,616), trong khi mèo trên 5 năm tuổi có tỷ số chênh cao gấp 1,09 lần. Do tất cả các khoảng tin cậy 95% đều bao gồm giá trị 1 và trị số P >0,05, các mối liên quan đơn biến này đều không có ý nghĩa thống kê. Do đó, chưa có đủ bằng chứng để khẳng định nhóm tuổi có liên quan với tỷ lệ SEZ dương tính.

So với nhóm mèo nội làm tham chiếu, mèo lai có tỷ số chênh dương tính cao gấp 1,20 lần và mèo ngoại cũng có tỷ số số chênh cao gấp 1,20 lần. Các kết quả này đều không đạt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa α = 0,05. Vì vậy, chưa ghi nhận bằng chứng thống kê về mối liên quan giữa giống và tình trạng SEZ dương tính. Các kết quả này chỉ phản ánh xu hướng trong mẫu nghiên cứu, chưa đủ cơ sở để khẳng định tuổi hoặc giống có liên quan với tình trạng SEZ dương tính.

Dựa trên tiêu chí sàng lọc đầu vào được thiết lập trong phần phương pháp phân tích (Mục 2.2.5), chỉ những biến số độc lập đạt mức ý nghĩa P <0,20 ở bước phân tích đơn biến mới được xem xét đưa vào mô hình hồi quy logistic đa biến. Trong nghiên cứu này, cả hai yếu tố dịch tễ khảo sát là nhóm tuổi (P ≥0,616) và giống mèo (P ≥0,716) đều có trị số p-value đơn biến rất lớn, vượt xa ngưỡng sàng lọc thống kê cho phép. Do đó, nghiên cứu không tiến hành xây dựng mô hình hồi quy logistic đa biến.

3.3. Đặc điểm trình tự một phần gen 16S rRNA của các chủng SEZ đại diện

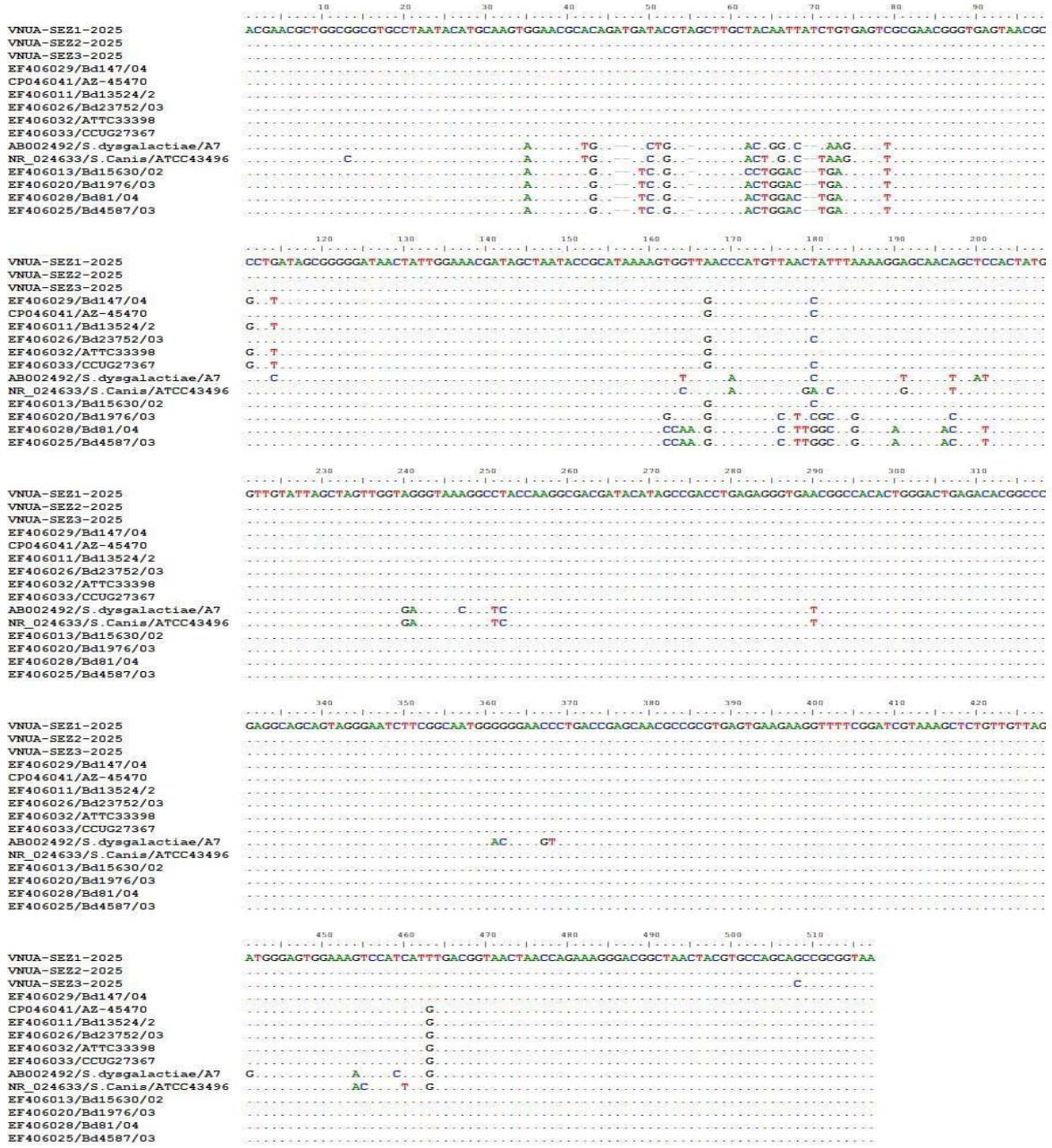
Trong số các mẫu dương tính, sản phẩm PCR đặc hiệu và rõ nhất, có kích thước 560bp đặc hiệu một phần gen 16S rRNA sử dụng cặp mồi đặc hiệu V2-F/V2-R đã được lựa chọn để giải trình. Kết quả ghi nhận có ba chủng giải trình tự thành công đạt chất lượng cao, tín hiệu rõ ràng và không bị nhiễu, đạt chất lượng phân tích di truyền (ký hiệu là VNUA-SEZ1, VNUA-SEZ2, VNUA-SEZ3). Các trình tự này được sử dụng để phân tích và so sánh với trình tự một phần gen 16S rRNA của các chủng SEZ tham chiếu khác trên ngân hàng GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/).



Ghi chú: Giếng 1, 2, 3 lần lượt là các chủng VNUA-SEZ1-2025, VNUA-SEZ2-2025, VNUA-SEZ3-2025; Giếng M: Thang ADN; Giếng (-): Đối chứng âm.

Hình 4. Kết quả PCR vùng V1-V3 của gen 16S rRNA (kích thước 560bp)

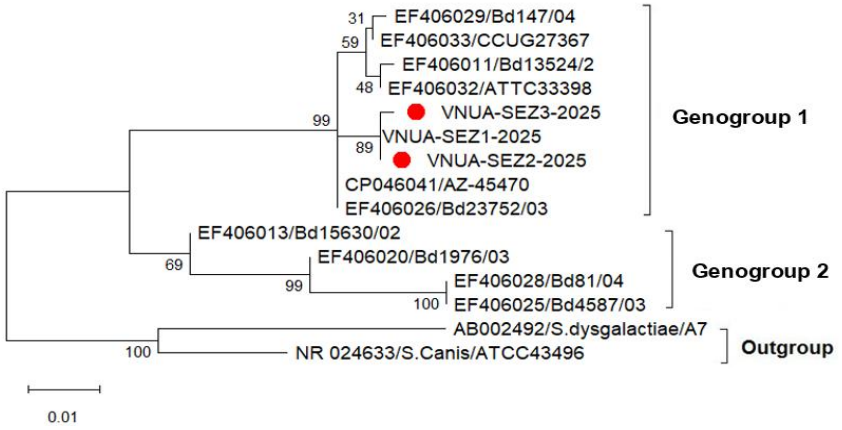
Sau khi sử dụng phần mềm xử lý BioEdit, chúng tôi thu được đoạn gen có trình tự 517bp. Kết quả giải trình tự gen cho thấy 3 chủng VNUA-SEZ1-2025, VNUA-SEZ2-2025, VNUA-SEZ3-2025 có tỷ lệ tương đồng nucleotide (nt) đạt 100% (Bảng 3). So sánh với các chủng tham chiếu khác trên thế giới, các chủng trong nghiên này có mức độ tương đồng tỷ lệ nt cao nhất (99,4%) với 3 chủng EF406026, EF406011 và CP046041 (phân lập tại Mỹ năm 2019). Ba vị trí sai khác được ghi nhận tại nucleotide ở các vị trí nt 167 (G↔A), nt 180 (C↔T), nt 463 (G↔T) (Hình 5, Bảng 3) khi so sánh với nhóm trình tự tham chiếu gần nhất. Tỷ lệ tương đồng nt của các chủng trong nghiên cứu với 3 chủng khác cùng nhóm gen EF406029, EF406032, EF406033 có tỷ lệ tương đồng từ 99,0%-99,2%.



Hình 5. Kết quả giải trình tự vùng V1-V3 của gen 16S rRNA của 3 chủng nghiên cứu và các trình tự tham chiếu

Bảng 3. Mức độ tương đồng (%) về trình tự nucleotide vùng V1-V3 gen 16S của các chủng SEZ trong nghiên cứu này với các trình tự *Streptococcus* tham chiếu

Chủng	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
VNUA-SEZ1-2025															
VNUA-SEZ2-2025	100,0														
VNUA-SEZ3-2025	100,0	100,0													
EF406029/Bd147/04	99,2	99,2	99,2												
CP046041/AZ-45470	99,4	99,4	99,4	99,4											
EF406011/Bd13524/2	99,4	99,4	99,4	99,4	99,2										
EF406026/Bd23752/03	99,4	99,4	99,4	99,4	100,0	99,2									
EF406032/ATTC33398	99,2	99,2	99,2	99,6	99,4	99,8	99,4								
EF406033/CCUG27367	99,0	99,0	99,0	99,8	99,6	99,6	99,6	99,8							
AB002492/S.dysgalactiae/A7	91,2	91,2	91,2	91,1	91,4	91,2	91,4	91,1	91,2						
NR_024633/S.Canis/ATCC43496	92,4	92,4	92,4	91,8	92,4	92,2	92,4	92,0	92,0	95,1					
EF406013/Bd15630/02	95,5	95,5	95,5	95,5	95,7	94,9	95,7	95,1	95,3	93,3	94,7				
EF406020/Bd1976/03	94,1	94,1	94,1	94,1	94,3	93,6	94,3	93,8	94,0	92,3	94,1	98,4			
EF406028/Bd81/04	92,8	92,8	92,8	92,6	92,8	92,2	92,8	92,4	92,4	91,4	93,1	96,8	98,2		
EF406025/Bd4587/03	92,8	92,8	92,8	92,6	92,8	92,2	92,8	92,4	92,4	91,4	93,1	96,8	98,2	100,0	



Ghi chú: Chủng SEZ trong nghiên cứu này được đánh dấu đỏ.

Hình 6. Cây phát sinh chủng loại của SEZ dựa vào vùng V1-V3 của gen 16S rRNA

Để đánh giá tỷ lệ sai khác nt với một số chủng *Streptococcus* thuộc nhóm khác, trình tự nt của các chủng SEZ trong nghiên cứu này đã được so sánh với chủng AB002492 (S.dysgalactiae) với tỷ lệ sai khác nt là 8,8% và chủng NR024633 (S.canis) với tỷ lệ sai khác nt là 7,6% (Bảng 3).

Trong nghiên cứu này, cây phát sinh chủng loại cũng đã được xây dựng dựa trên trình tự nucleotide một phần (vùng biến đổi V1-V3) của gen 16S rRNA của các chủng SEZ và các loài nhóm ngoài (*Streptococcus* spp.) để xác định mối quan hệ di truyền của ba chủng VNUA-SEZ1-2025, VNUA-SEZ2-2025 và VNUA-SEZ3-2025 với các chủng tham chiếu trên ngân hàng GenBank. Theo phân loại của Båverud & cs. (2007), vi khuẩn SEZ được chia thành hai nhóm di truyền chính là genogroup 1 và genogroup 2. Kết quả phân tích cây phả hệ cho thấy, cả ba chủng SEZ phân lập tại Hà Nội đều nằm trên cùng một nhánh và phân cụm với CP046041, EF406011, EF406026 cùng một số trình tự tham chiếu khác (Hình 6). Có thể mô tả đây là sự phân cụm sơ bộ với nhóm trình tự được Båverud & cs. (2007) ký hiệu là genogroup 1; đoạn gen ngắn không đủ để gán genogroup một cách khẳng định hoặc suy luận nguồn gốc, quan hệ phả hệ gần nhất và lịch sử truyền lây. Hai trình tự *S. canis* (NR_024633) và *S. dysgalactiae* (AB002492) được dùng làm nhóm ngoài và nằm ở các nhánh tách biệt trong cây phát sinh chủng loại.

4. THẢO LUẬN

SEZ được xác định ở 59,48% số mèo có biểu hiện hô hấp trong nhóm được lấy mẫu. Kết quả cho thấy vi khuẩn được phát hiện với tần suất khá cao trong nhóm khảo sát, tuy nhiên không đủ cơ sở để chứng minh mối quan hệ nhân quả đối với hội chứng hô hấp. Tại các trạm cứu hộ và phòng khám nơi đô thị (như Hà Nội), mật độ nuôi nhốt cao và stress vận chuyển thường là tác nhân khởi phát các bệnh lý hô hấp phức tạp. SEZ vốn có thể mang tính hội sinh hoặc cơ hội. Đồng nhiễm với các virus hô hấp có thể là một giả thuyết góp phần giải thích tỷ lệ phát hiện SEZ; tuy nhiên, nghiên cứu không xét nghiệm FHV-1, FCV hoặc các tác nhân đồng nhiễm nên không thể kiểm chứng giả thuyết này. Acke & cs. (2015) khảo sát trên nhóm động vật khỏe mạnh, trong khi Blum & cs. (2010) mô tả một ổ dịch hô hấp nặng ở mèo; sự khác biệt về quần thể mục tiêu, thiết kế nghiên cứu và phương pháp xét nghiệm không cho phép thực hiện việc so sánh trực tiếp tỷ lệ phát hiện giữa các công bố. Britton & cs. (2018) ứng dụng kỹ thuật MLST trên các chủng phân lập từ mèo mắc bệnh hô hấp và thần kinh nặng tại các trạm cứu hộ ở Canada và Israel, đồng thời cũng ghi nhận trường hợp mang trùng không biểu hiện lâm sàng. Phát hiện này vừa minh họa giá trị của phương pháp định typ phân tử độ phân giải cao trong điều tra ổ dịch, vừa nhấn mạnh nguyên

tắc rằng việc phân lập đơn thuần SEZ là chưa đủ để khẳng định vai trò gây bệnh ở cấp độ từng cá thể.

Thiết kế cắt ngang, chọn mẫu có chủ đích tại một số cơ sở và không có nhóm mèo khỏe mạnh đối chứng giới hạn khả năng ngoại suy. Nghiên cứu cũng không định lượng tải lượng vi khuẩn và không sàng lọc đồng thời FHV-1, FCV, *Mycoplasma* spp., *Bordetella bronchiseptica* hoặc các tác nhân khác. Vì vậy, không thể phân biệt chắc chắn tình trạng mang vi khuẩn, hiện diện cơ hội, đồng nhiễm hay vai trò căn nguyên của SEZ. Việc sử dụng mẫu kết hợp dịch mũi và họng từ mỗi cá thể có thể tăng khả năng phát hiện vi khuẩn trên từng các thể nhưng không cho phép xác định vị trí giải phẫu nơi vi khuẩn hiện diện. Ngoài ra, nghiên cứu không có sổ tuyển chọn đầy đủ về tổng số mèo được tiếp cận và số trường hợp bị loại, nên chưa đánh giá được mức độ sai lệch chọn mẫu giữa các cơ sở.

Tiêu chí loại các trường hợp có khai báo sử dụng kháng sinh trong 14 ngày trước lấy mẫu có thể hạn chế một phần khả năng giảm phân lập do dùng thuốc gần thời điểm lấy mẫu. Tuy nhiên, thông tin chủ yếu dựa trên khai báo của chủ nuôi hoặc hồ sơ khám và không được chuẩn hóa đầy đủ về loại thuốc, liều, đường dùng và thời điểm sử dụng. Do đó, tiêu chí này không loại bỏ hoàn toàn sai lệch phân loại và không cho phép khẳng định tỷ lệ dương tính phản ánh chính xác trạng thái nhiễm tự nhiên.

Trong phạm vi cỡ mẫu và cách phân nhóm của nghiên cứu, chưa phát hiện bằng chứng thống kê về sự khác biệt tỷ lệ dương tính SEZ theo tuổi hoặc nhóm giống. Các khoảng tin cậy 95% của OR đều bao gồm 1 và tương đối rộng. Do nghiên cứu không tính cỡ mẫu trước và số cá thể trong từng phân nhóm còn hạn chế, chưa thể loại trừ khả năng quy mô mẫu hiện tại chưa đủ để phát hiện những khác biệt thực sự. Kết quả không cho phép suy luận SEZ có khả năng gây bệnh như nhau ở mọi nhóm mèo hoặc mô tả cơ chế xâm nhập, cơ hội hay bùng phát. Các nghiên cứu tiếp theo cần cỡ mẫu lớn hơn, nhóm đối chứng và thông tin chi tiết về nguồn tiếp nhận, thời gian lưu trú, mức độ bệnh, tiếp xúc động vật và đồng nhiễm.

Mặc dù ba chủng đại diện thể hiện sự đồng nhất tuyệt đối (100%) về trình tự trong đoạn 517bp thuộc vùng V1-V3 của gen 16S rRNA, nhưng kết quả này không chứng minh ba chủng đồng nhất ở cấp độ bộ gen hoặc có ý nghĩa lâm sàng đặc biệt. Sự phân cụm gần một số trình tự tham chiếu chỉ phản ánh mức tương đồng trong đoạn 16S rRNA được khảo sát; không thể suy luận nguồn gốc địa lý, quan hệ dịch tễ hay đặc điểm độc lực. Nghiên cứu của Britton & cs. (2018) đã chứng minh vai trò ưu việt của MLST trong việc phân tách các dòng clonal type khi điều tra SEZ ở mèo. Vì vậy, MLST, giải trình tự toàn bộ hệ gen và khảo sát gen độc lực là cần thiết nếu muốn phân tích dịch tễ phân tử hoặc mối liên quan giữa kiểu gen và biểu hiện lâm sàng.

Nghiên cứu của Dolapsakis & cs. (2023) đã ghi nhận một trường hợp bệnh nghiêm trọng như nhiễm khuẩn huyết và viêm mô tế bào ở người có tiền sử tiếp xúc với mèo mắc bệnh hô hấp (Dolapsakis & cs., 2023). Tuy nhiên, nghiên cứu hiện tại không tiến hành lấy mẫu trên người, không đánh giá phơi nhiễm, không so sánh cấu trúc hệ gen giữa chủng phân lập từ mèo và người, cũng như không thực hiện truy vết dịch tễ học tiếp xúc. Vì vậy, kết quả nghiên cứu không có cơ sở để định lượng mức độ rủi ro truyền lây thực tế tại các cơ sở khảo sát. Những phát hiện này chỉ đóng vai trò là cơ sở khoa học để khuyến cáo về thực hành an toàn sinh học, trong bối cảnh SEZ đã được công nhận có tiềm năng lây truyền từ động vật sang người. Việc tuân thủ nghiêm ngặt các trang thiết bị bảo hộ cá nhân phù hợp, vệ sinh tay thường xuyên và quản lý chặt chẽ dịch tiết đường hô hấp là những biện pháp thận trọng phù hợp nhằm giảm thiểu tối đa nguy cơ phơi nhiễm nghề nghiệp.

5. KẾT LUẬN

Trong 116 mèo có biểu hiện hô hấp được lấy mẫu có chủ đích tại một số cơ sở thú y và trạm cứu hộ ở Hà Nội, 69 cá thể có chủng phân lập được định danh phù hợp với *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, tương ứng tỷ lệ dương tính 59,48% (95% CI: 50,38-67,97%). Chưa ghi nhận bằng chứng thống kê về sự khác biệt theo

nhóm tuổi hoặc nhóm giống. Ba chủng được giải trình tự có mức tương đồng 100% với nhau trong đoạn 517bp thuộc vùng V1-V3 của gen 16S rRNA và phân cụm với một số trình tự tham chiếu được xếp vào genogroup 1. Do chọn mẫu có chủ đích, không có nhóm đối chứng và chỉ phân tích một đoạn ngắn của gen 16S rRNA, kết quả không cho phép suy luận về vai trò căn nguyên, tỷ lệ lưu hành trong quần thể, nguồn gốc chủng hoặc nguy cơ truyền lây sang người. Những phát hiện này cung cấp dữ liệu nền tảng ban đầu cho các nghiên cứu tiếp theo có thiết kế nhóm đối chứng và định typ phân tử độ phân giải cao hơn, đồng thời khuyến cáo thận trọng về thực hành an toàn sinh học khi tiếp xúc với mèo bệnh và dịch tiết đường hô hấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Acke E., Midwinter A., Lawrence K., Gordon S., Moore S., Rasiah I., Steward K., French N. & Waller A. (2015). Prevalence of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* and *S. equi* subsp. zooepidemicus in a sample of healthy dogs, cats and horses. New Zealand veterinary journal. 63(5): 265-271.

Alber J., El-Sayed A., Lämmler C., Hassan A., Weiss R. & Zschöck M. (2004). Multiplex polymerase chain reaction for identification and differentiation of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* and *Streptococcus equi* subsp. *equi*. Journal of Veterinary Medicine, Series B. 51(10): 455-458.

Båverud V., Johansson S. K. & Aspan A. (2007). Real-time PCR for detection and differentiation of *Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. Veterinary Microbiology. 124(3-4): 219-229.

Bentley R. W. & Leigh J. A. (1995). Development of PCR-based hybridization protocol for identification of streptococcal species. J Clin Microbiol. 33(5): 1296-301.

Blum S., Elad D., Zukin N., Lysnyansky I., Weisblith L., Perl S., Netanel O. & David D. (2010). Outbreak of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* infections in cats. Veterinary microbiology. 144(1-2): 236-239.

Britton A. & Davies J. (2010). Rhinitis and meningitis in two shelter cats caused by *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus*. Journal of Comparative Pathology. 143(1): 70-74.

Britton A.P., Blum S.E., Legge C., Sojonky K. & Zabek E.N. (2018). Multi-locus sequence typing of *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* strains isolated from cats. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 30(1): 126-129.

Dolapsakis C., Charalampidis C., Kkirgia M. & Kollia P. (2023). First case of zoonotic transmission of *Streptococcus equi* subspecies zooepidemicus from cat to human. Cureus. 15(10): e46306.

Frymus T., Addie D. D., Boucraut-Baralon C., Egberink H., Gruffydd-Jones T., Hartmann K., Horzinek M. C., Hosie M. J., Lloret A. & Lutz H. (2015). Streptococcal infections in cats: ABCD guidelines on prevention and management. Journal of feline medicine and surgery. 17(7): 620-625.

Hall T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic acids symposium series. Oxford. 95-98.

Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C. & Tamura K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Molecular biology and evolution. 35(6): 1547-1549.

Pelkonen S., Lindahl S. B., Suomala P., Karhukorpi J., Vuorinen S., Koivula I., Väisänen T., Pentikäinen J., Autio T. & Tuuminen T. (2013). Transmission of *Streptococcus equi* subspecies zooepidemicus infection from horses to humans. Emerging infectious diseases. 19(7): 1041.

Rasmussen C. D., Haugaard M. M., Petersen M. R., Nielsen J. M., Pedersen H. G. & Bojesen A. M. (2013). *Streptococcus equi* subsp. zooepidemicus isolates from equine infectious endometritis belong to a distinct genetic group. Veterinary Research. 44(1): 26.

Timoney J. F. & Artiushin S. C. (1997). Detection of *Streptococcus equi* in equine nasal swabs and washes by DNA amplification. Vet Rec. 141(17): 446-7.