

TRƯỜNG ĐẠI HỌC NGUYỄN TẤT THÀNH  
KHOA KỸ THUẬT THỰC PHẨM VÀ MÔI TRƯỜNG



KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

**KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN PHẢN ỨNG  
POLYMERASE SPIRAL REACTION  
CHO VIỆC CHUẨN ĐOÁN NHANH  
VI KHUẨN *Staphylococcus aureus*  
TRONG THỰC PHẨM**

NGUYỄN VĂN LONG

Tp.HCM, tháng 10 năm 2023

TRƯỜNG ĐẠI HỌC NGUYỄN TẤT THÀNH  
KHOA KỸ THUẬT THỰC PHẨM VÀ MÔI TRƯỜNG



KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

**KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN PHẢN ỨNG  
POLYMERASE SPIRAL REACTION  
CHO VIỆC CHUẨN ĐOÁN NHANH  
VI KHUẨN *Staphylococcus aureus*  
TRONG THỰC PHẨM**

NGUYỄN VĂN LONG

TS. VŨ QUANG HIẾU

Tp.HCM, tháng 10 năm 2023

**CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NGUYỄN TẤT THÀNH**

Cán bộ hướng dẫn:



TS. Vũ Quang Hiếu

Cán bộ chấm phản biện: *(ghi tên và ký duyệt)*

TS. Vũ Thị Kim Ngọc

Khóa luận được bảo vệ tại HỘI ĐỒNG CHẤM BẢO VỆ LUẬN VĂN ĐẠI HỌC  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NGUYỄN TẤT THÀNH, Ngày 25 tháng 09 năm 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NGUYỄN TẤT THÀNH  
KHOA KỸ THUẬT THỰC PHẨM & MÔI TRƯỜNG  
BỘ MÔN: CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM  
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

## NHIỆM VỤ LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP

HỌ VÀ TÊN: NGUYỄN VĂN LONG

MSSV: 1900000094

NGÀNH: CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

LỚP: 19DTP1A

Tên Khóa luận:

Tiếng Việt: KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN PHẢN ỨNG POLYMERASE SPIRAL REACTION CHO VIỆC CHUẨN ĐOÁN NHANH VI KHUẨN *Staphylococcus aureus* TRONG THỰC PHẨM.

Tiếng Anh: DEVELOPING THE POLYMERASE SPIRAL REACTION TO DETECT THE PRESENCE OF *Staphylococcus aureus* IN FOOD.

Nhiệm vụ Khóa luận:

1. Thiết kế môi trường trên vùng gen *spa* của vi khuẩn *S. aureus* cho phản ứng PSR.
2. Khảo sát các điều kiện phản ứng tối ưu về thời gian, nhiệt độ.
3. Khảo sát độ nhạy và độ đặc hiệu của phản ứng PSR.
4. Phát hiện nhanh vi khuẩn *S. aureus* gây bệnh trên thực phẩm.
5. So sánh đối chiếu phương pháp vi sinh truyền thống.

Ngày giao Khóa luận: 22/02/2023

Ngày hoàn thành nhiệm vụ: 18/09/2023

Họ tên cán bộ hướng dẫn: TS. Vũ Quang Hiếu

Nội dung và yêu cầu KLTN đã được Hội Đồng chuyên ngành thông qua.

Tp. HCM, ngày 25 tháng 09 năm 2023

TRƯỞNG BỘ MÔN

CÁN BỘ HƯỚNG DẪN

ThS. Đặng Thanh Thủy

TS. Vũ Quang Hiếu

TRƯỞNG/PHÓ KHOA

## LỜI CẢM ƠN

Lời nói đầu tiên em xin gửi lời cảm ơn đến Quý Thầy Cô trong Khoa Kỹ thuật Thực phẩm và Môi trường của Trường Đại học Nguyễn Tất Thành đã tận tình giảng dạy và hỗ trợ em trong suốt 4 năm học tập tại trường. Qua đó giúp cho em có được hành trang tiến đến thành công trong công việc sau này.

Em xin gửi lời cảm ơn chân thành đến TS. Vũ Quang Hiếu và Ths Trần Hồng Diễm đã hướng dẫn và hỗ trợ tận tình cho em trong suốt thời gian thực hiện khóa luận tốt nghiệp, nhờ sự giúp đỡ và giải đáp mọi thắc mắc về đề tài mà em có thể hoàn thiện được bài khóa luận của mình một cách tốt nhất. Em cũng cảm ơn anh Phúc tại Viện kỹ thuật Công nghệ cao Đại học Nguyễn Tất Thành và bạn Đặng Triệu Vy tại Khoa Công nghệ Sinh học đã hướng dẫn tận tình trong suốt quá trình em làm thực nghiệm. Đồng thời em gửi lời cảm ơn đến các Thầy/Cô và Anh/Chị ở Khoa Công nghệ Sinh học và Viện kỹ thuật Công nghệ cao Đại học Nguyễn Tất Thành đã tạo điều kiện cho em hoàn thành khóa luận.

Cảm ơn gia đình đã ủng hộ và tạo điều kiện cho em có cơ hội được học tập cũng như rèn luyện bản thân trong môi trường tràn đầy sự nhiệt huyết, năng động và sáng tạo tại Khoa Kỹ thuật Thực phẩm và Môi trường của Trường Đại học Nguyễn Tất Thành.

Cuối cùng em xin cảm ơn đến tập thể lớp 19DTP1A đã cùng đồng hành giúp đỡ và chia sẻ mọi vấn đề về học tập trong suốt thời gian học tại trường.

Xin chân thành cảm ơn!

Tp. HCM, ngày 25 tháng 09 năm 2023

SINH VIÊN



Nguyễn Văn Long

## LỜI CAM KẾT

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu “Khảo sát điều kiện phản ứng polymerase spiral reaction cho việc chuẩn đoán nhanh vi khuẩn *staphylococcus aureus* trong thực phẩm” được thực hiện bởi cá nhân tôi dưới sự hướng dẫn của TS. Vũ Quang Hiếu và ThS. Trần Hồng Diễm. Tất cả số liệu và kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận văn là chưa từng được công bố trên bất kỳ công trình khoa học ở hiện tại, không sao chép của bất kỳ nguồn nào và hoàn toàn trung thực. Toàn bộ chi phí vật tư nghiên cứu đề tài được cung cấp bởi TS. Vũ Quang Hiếu. Những nội dung được nêu ở trên hoàn toàn đúng sự thật, tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm về đề tài của mình và chấp nhận những hình thức xử lý đúng theo quy định.

Tp. HCM, ngày 25 tháng 09 năm 2023

SINH VIÊN



Nguyễn Văn Long

## TÓM TẮT

*Nghiên cứu được thiết kế để khảo sát khả năng phát hiện nhiễm khuẩn S. aureus trong thực phẩm bằng phương pháp khuếch đại đẳng nhiệt PSR. Qua nghiên cứu, xác định được trình tự môi thiết kế để phát hiện gen spa, một gen đặc trưng của vi khuẩn S. aureus. Theo đó, điều kiện để phản ứng tối ưu để phát hiện sự hiện diện của S. aureus là 63°C, trong thời gian 50 phút. Bộ môi được thiết kế có giới hạn phát hiện S. aureus là 1 cfu/phản ứng, và không phản ứng chéo loài. Khi thực hiện phản ứng trên các mẫu thực phẩm (35 mẫu), kết quả cho thấy sự tương đồng cao giữa phương pháp vi sinh và phản ứng PSR với độ tin cậy lên đến 100%. Qua đó cho thấy phương pháp PSR có quy trình đơn giản cho ra kết quả nhanh chóng với độ tinh cậy cao có thể ứng dụng phát hiện nhiễm khuẩn S. aureus trên thực phẩm.*

## ABSTRACT

*The study was designed to investigate the ability to detect S. aureus contamination in food using the PSR isothermal amplification method. Through research, the sequence of primers designed to detect the spa gene, a characteristic gene of S. aureus bacteria, was determined. Accordingly, the optimal reaction condition to detect the presence of S. aureus is 63°C, within 50 minutes. The primer set was designed to have a detection limit of 1 cfu/reaction for S. aureus, and is not cross-species reactive. When performing the reaction on food samples (35 samples), the results showed high similarity between the microbiological method and the PSR reaction with a reliability of up to 100%. Thereby, it shows that the PSR method has a simple process that produces quick results with high reliability and can be applied to detect S. aureus infection on food.*

# MỞ ĐẦU

## 1. Đặt vấn đề

Ngộ độc thực phẩm đã và đang là mối quan tâm hàng đầu tại Việt Nam cũng như các nước trên thế giới. Theo thống kê từ Cục An toàn thực phẩm (Bộ Y tế), mỗi năm Việt Nam có khoảng 250 – 500 vụ ngộ độc thực phẩm với 7.000 – 10.000 nạn nhân và 100 – 200 ca tử vong. Trong năm 2020, toàn quốc ghi nhận 139 vụ ngộ độc thực phẩm làm 3.094 người mắc và 30 trường hợp tử vong, tăng cả số vụ và số ca mắc so với năm trước. Tại Việt Nam, ngộ độc thực phẩm do vi sinh vật chiếm 33 – 49% trong các nguyên nhân gây ngộ độc, chủ yếu do các chủng *Salmonella*, *E. coli*, *C. perfringens*, *C. botulinum* và *S. aureus*... Trong số các vi khuẩn này, *Staphylococcus aureus* là nguyên nhân hàng đầu gây nhiễm trùng bệnh viện, nó cũng thường xuyên gây ngộ độc thực phẩm trên toàn thế giới. Hầu hết các dòng *S. aureus* có thể tổng hợp enterotoxin – độc tố ruột – là nguyên nhân chính gây ngộ độc thực phẩm. Người ăn thức ăn hoặc uống phải nước nhiễm *Staphylococcus* có thể bị ói mửa, sốt, đau bụng, tiêu chảy... Ngoài ra, *S. aureus* thuộc loại vi khuẩn cơ hội, gặp người có hệ thống miễn dịch suy yếu, chúng có thể gây rất nhiều bệnh nhiễm trùng khác nhau, từ nhiễm trùng bề mặt da đến các bệnh xâm lấn nghiêm trọng và gây tử vong.

Việc xét nghiệm xác định vi sinh vật gây bệnh trong thực phẩm ở nước ta hiện nay hầu hết dựa trên phương pháp nuôi cấy vi sinh truyền thống với quy trình phức tạp, cần có kỹ thuật viên có kinh nghiệm, phòng thí nghiệm nhiều cấp độ và quá trình chẩn đoán tốn nhiều thời gian. Ngoài phương pháp nuôi cấy vi sinh truyền thống, PCR cũng được xem là tiêu chuẩn uy tín trong chẩn đoán vi sinh thực phẩm. Tuy nhiên, việc thực hiện các phản ứng khuếch đại PCR đòi hỏi những thiết bị chuyên dụng đặt tại phòng thí nghiệm, gây hạn chế cho việc sử dụng tại thực địa.

Phương pháp khuếch đại đẳng nhiệt Polymerase spiral amplification (PSR) là một trong những phương pháp khuếch đại gene mục tiêu đẳng nhiệt được phát triển từ năm 2015. PSR thừa hưởng đặc tính của PCR truyền thống về độ nhạy và đặc hiệu, nhưng lại không cần sử dụng máy luân nhiệt đắt tiền trong phòng thí nghiệm (Liu et al., 2015). Từ những thực tế trên, chúng tôi phát triển một phương pháp mới để phát hiện nhanh,

chính xác *S. aureus* trong các mẫu thực phẩm khác nhau bằng ứng dụng kỹ thuật khuếch đại đẳng nhiệt PSR.

## **2. Mục tiêu nghiên cứu**

Khảo sát các điều kiện tối ưu phương pháp PSR cho việc phát hiện nhanh vi khuẩn *Staphylococcus aureus* trong thực phẩm. Chứng minh các ưu điểm của phương pháp PSR so với các phương pháp truyền thống, qua đó trở thành tiền đề cho các nghiên cứu sau này về phát triển phương pháp PSR trong việc chuẩn đoán các vi khuẩn trong thực phẩm.

## **3. Nội dung nghiên cứu**

- Nuôi cấy và phân lập chủng *S. aureus* có trên thực phẩm ở các chợ địa phương tại Thành Phố Hồ Chí Minh.
- Thiết kế và kiểm tra môi PSR đặc hiệu phát hiện vi khuẩn *S. aureus*.
- Khảo sát các điều kiện tối ưu cho phản ứng PSR.
- Khảo sát giới hạn phát hiện và tính đặc hiệu của bộ môi PSR đã thiết kế.
- Khảo sát khả năng của phương pháp PSR phát hiện trực tiếp vi khuẩn *S. aureus* trong thực phẩm.
- So sánh đối chiếu với phương pháp nuôi cấy vi sinh truyền thống.

## **4. Phạm vi nghiên cứu**

Nghiên cứu thực hiện nuôi cấy vi sinh truyền thống để phân lập vi khuẩn *S. aureus* có trong thực phẩm ở các chợ tại Tp. HCM. Phương pháp PSR được khảo sát các điều kiện tối ưu của phản ứng và giới hạn phát hiện, tính đặc hiệu phù hợp với điều kiện có ở khoa CNSH và Viện kỹ thuật Công nghệ cao, trường Đại học Nguyễn Tất Thành.