

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF *Escherichia coli* OBTAINED FROM NEM CHUA IN VINH LONG RETAIL MARKETS

Quach Van Cao Thi¹, Nguyen Trung Truc¹, Duong Thi Cam Nhung^{2*}

¹Vinh Long University of Technology Education, ²Thu Dau Mot University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 18/7/2024	This research evaluated the antibiotic sensitivity of <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) obtained from Nem chua in Vinh Long province retail markets. The findings isolated a total of 19 <i>E. coli</i> isolates. The antibiotic susceptibility of <i>E. coli</i> to 14 antibiotics was performed using the disk diffusion method. This investigation illustrated that <i>E. coli</i> strains were most resistant to 10 antibiotics, of which high resistance to two antibiotics are tetracycline (84.21%) and ampicillin (84.21%). Meanwhile, bacterial isolates are susceptible to ampicillin/sulbactam (100%), ceftazidime (94.74%), norfloxacin (89.48%), and ofloxacin (89.48%). Additionally, the bacterial isolates in this observation were multi-resistant to many antibiotics. Among them, strain EC7 is multi-resistant to ten of fourteen tested antibiotics, with a multi-drug resistance index (MAR) of 0.71. Based on 16S rRNA gene sequencing results, isolate EC7 is 100% similar to <i>E. coli</i> strain WCHEC050613 (CP019213.3) on GenBank.
Revised: 17/10/2024	
Published: 18/10/2024	
KEYWORDS	
Antibiotics	
<i>Escherichia coli</i>	
Fermented pork roll	
Multiple drug resistance	
Vinh Long	

SỰ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *Escherichia coli* PHÂN LẬP TỪ NEM CHUA Ở CÁC CHỢ BÁN LẺ CỦA TỈNH VĨNH LONG

Quách Văn Cao Thi¹, Nguyễn Trung Trục¹, Dương Thị Cẩm Nhung^{2*}

¹Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long, ²Trường Đại học Thủ Dầu Một

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 18/7/2024	Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá sự nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) phân lập từ nem chua tại các chợ bán lẻ ở tỉnh Vĩnh Long. Kết quả nghiên cứu đã phân lập được tổng số 19 chủng <i>E. coli</i> . Tính nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn <i>E. coli</i> đối với 14 loại kháng sinh được thực hiện bằng phương pháp đĩa khuếch tán. Kết quả cho thấy các chủng <i>E. coli</i> kháng nhiều nhất là 10 loại kháng sinh, trong đó kháng cao với 2 loại kháng sinh là tetracycline (84,21%) và ampicillin (84,21%). Trong khi đó, vi khuẩn có độ nhạy cao với các kháng sinh ampicillin/sulbactam (100%), ceftazidime (94,74%), norfloxacin (89,48%) và ofloxacin (89,48%). Đặc biệt, các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu đa kháng với nhiều loại kháng sinh. Trong đó, chủng EC7 đa kháng với 10/14 loại kháng sinh thử nghiệm với chỉ số đa kháng thuốc MAR = 0,71. Dựa vào kết quả giải trình tự vùng gen 16S rRNA, chủng EC7 tương đồng 100% với loài <i>E. coli</i> chủng WCHEC050613 (CP019213.3) trên ngân hàng Gen.
Ngày hoàn thiện: 17/10/2024	
Ngày đăng: 18/10/2024	
TỪ KHÓA	
Kháng sinh	
<i>Escherichia coli</i>	
Nem chua	
Đa kháng thuốc	
Vĩnh Long	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.10786>

* Corresponding author. Email: nhungdtc@tdmu.edu.vn

1. Giới thiệu

Tình trạng kháng kháng sinh là một trong những thách thức mà thế giới hiện đang phải đối mặt. Việc giảm mức độ nhạy cảm của vi sinh vật đối với các loại thuốc kháng sinh gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người, động vật và môi trường. Chuỗi sản xuất thực phẩm được cho là một con đường có thể lây truyền vi khuẩn đề kháng kháng sinh sang người [1]. Các báo cáo cho thấy rằng kháng sinh được sử dụng trong động vật sản xuất thực phẩm có thể liên quan trực tiếp đến sự gia tăng khả năng kháng thuốc [2]. *E. coli* thuộc nhóm vi khuẩn gram âm, hiện diện phổ biến trong đường ruột của nhiều động vật, bao gồm động vật máu nóng và con người. Chúng vừa là vi khuẩn gây bệnh vừa là vi khuẩn cộng sinh, được xem là dấu hiệu chính của sự ô nhiễm phân trong vệ sinh thực phẩm. Ngoài ra, vi khuẩn *E. coli* có khả năng thích nghi tốt với các điều kiện môi trường khác nhau do vi khuẩn này có nhiều cơ chế kháng kháng sinh. Do đó, trong các quần thể vi khuẩn kháng thuốc, vi khuẩn *E. coli* đóng một vai trò sinh thái quan trọng và có thể được sử dụng như một chất chỉ thị sinh học về sự đề kháng kháng sinh [3].

Trong chuỗi sản xuất thực phẩm, thịt và các sản phẩm từ thịt có thể bị nhiễm bẩn ở tất cả các giai đoạn, từ lò mổ đến giai đoạn chế biến. Người tiêu dùng có thể tiếp xúc với *E. coli* kháng thuốc trong quá trình thao tác và chuẩn bị thịt, do đó dẫn đến tình trạng kháng kháng sinh lan rộng. Nghiên cứu của Trương Quốc Triều và cộng sự (2021) cho thấy có 90,59% tỷ lệ thịt heo tươi nhiễm *E. coli* tại một số chợ ở thành phố Buôn Ma Thuột, trong đó có 42,35% mẫu vượt giới hạn cho phép [4]. Huỳnh Ngọc Thanh Tâm và cộng sự (2019) báo cáo 100% mẫu thịt heo nhiễm *E. coli* và *Coliforms* ở các chợ của thành phố Cần Thơ [5]. Trong khi đó, nghiên cứu của Trần Thị Lệ Triệu và cộng sự (2022) cho thấy mẫu thịt heo và môi trường tại cơ sở giết mổ ở tỉnh An Giang nhiễm *E. coli* với tỉ lệ 86,21%. Ngoài ra, các chủng *E. coli* phân lập đã kháng cao với ampicillin (79,17%), streptomycin (62,50%) và amoxicillin/clavulanic acid (54,17%) [6]. Nghiên cứu của Huỳnh Thị Ái Xuyên và cộng sự (2018) cho thấy các chủng *E. coli* kháng cao với các kháng sinh như trimethoprim/sulfamethoxazole (95,33%), ampicillin (92,52%) và streptomycin (62,62%) [7].

Sự nhiễm chéo của môi trường thực phẩm, thịt không được nấu chín kỹ và thịt sống được sử dụng ngày càng nhiều làm trầm trọng thêm hiện tượng này [3]. Nem chua là sản phẩm lên men từ thịt sống, được sản xuất theo phương pháp truyền thống với nguồn nguyên liệu chính là thịt nạc lợn và lên men ở nhiệt độ thường từ 1 - 2 ngày [8]. Ở thành phố Hồ Chí Minh, báo cáo của Bộ Y tế cho thấy khoảng 90% mẫu các loại giò, nem chua, lòng lợn chín bị nhiễm *E. coli* [9]. Cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào về tình trạng nhiễm *E. coli* trong sản phẩm nem chua ở tỉnh Vĩnh Long cũng như tính nhạy cảm kháng sinh của chúng. Do đó, nghiên cứu: “Sự kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* phân lập từ nem chua ở các chợ bán lẻ của tỉnh Vĩnh Long” được thực hiện.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương pháp thu mẫu

Nem chua (40 mẫu) được thu từ 10 chợ bán lẻ ở 6 huyện/thành phố gồm: thành phố (TP) Vĩnh Long, Trà Ôn, thị xã (TX) Bình Minh và Vũng Liêm, tỉnh Vĩnh Long. Tất cả các mẫu nem chua đều được lên men tự nhiên, chưa nấu chín và gói trong lá chuối. Mẫu nem chua được lấy ở cùng giai đoạn lên men, sau khoảng 24 đến 72 giờ. Mẫu được thu ở nhiệt độ môi trường, chuyển về phòng thí nghiệm và được phân tích ngay.

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1. Phương pháp phân lập vi khuẩn *Escherichia coli* trong nem chua

Vi khuẩn *E. coli* được phân lập theo TCVN 5155-1990. Đầu tiên, mẫu (10 gam) được đồng nhất với 90 mL Buffered Peptone Water (BPW) và ủ trong 24 giờ ở 37°C. Dịch tăng sinh sau đó được cấy trên môi trường MacConkey Agar Purple w/BCP (Himedia, Ấn Độ) và ủ ở 37°C. Các khuẩn

lạc điển hình của vi khuẩn *E. coli* (màu vàng) trên môi trường MacConkey Agar (CMA, Himedia, Ấn Độ) được chọn và cấy thuần lại trên môi trường CMA. Các chủng vi khuẩn phân lập được định danh sơ bộ dựa vào đặc điểm hình thái khuẩn lạc và xác định một số đặc tính sinh hóa nhuộm gram, hoạt tính catalase và oxidase [10].

2.2.2. Phương pháp xác định tính nhạy cảm kháng sinh của các chủng *E. coli*

Tính nhạy cảm kháng sinh của các chủng *E. coli* được xác định theo Kirby-Bauer và cộng sự (1966) [11]. Các kháng sinh được sử dụng trong nghiên cứu gồm: ampicillin/sulbactam (SAM, 20 µg/mL), ampicillin (AMP, 10 µg/mL), chloramphenicol (C, 30 µg/mL), ceftazidime (CAZ, 30 µg/mL), ciprofloxacin (CIP, 5 µg/mL), gentamicin (CN, 10 µg/mL), doxycycline (DO, 30 µg/mL), levofloxacin (LEV, 5 µg/mL), nalidixic acid (NA, 30 µg/mL), ofloxacin (OFX, 5 µg/mL), norfloxacin (NOR, 10 µg/mL), streptomycin (STR, 10 µg/mL), tetracycline (TE, 30 µg/mL) và sulfamethox/trimethoprim (SXT, 25 µg/mL).

Chuẩn bị dung dịch vi khuẩn *E. coli*: Khuẩn lạc vi khuẩn được cho vào nước muối sinh lý NaCl 0,85% đạt mật số khoảng 10^8 CFU/mL (so sánh độ đục với ống chuẩn McFarland 0,5). Dung dịch vi khuẩn (100 µL) trải đều lên đĩa thạch chứa môi trường MHA (Himedia, Ấn Độ). Sau đó, các đĩa kháng sinh được đặt vào đĩa và ủ ở 37°C. Sau 24 - 48 giờ, các vòng vô khuẩn được đo đường kính (mm). Tính kháng kháng sinh, nhạy cảm và nhạy cảm trung gian của vi khuẩn *E. coli* đối với các loại kháng sinh được xác định theo tiêu chuẩn CLSI (2020) [12].

2.2.3. Phương pháp xác định chỉ số đa kháng thuốc của các chủng vi khuẩn *E. coli*

Chỉ số đa kháng (MAR) của mỗi chủng vi khuẩn được xác định dựa trên công thức của Krumperman (1983) [13] như sau: $MAR = X/Y$, với X = tổng số kháng sinh vi khuẩn kháng; Y = tổng số kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu. Giá trị $MAR \leq 0,2$ cho thấy kháng sinh ít hoặc không bao giờ được sử dụng, trong khi $MAR > 0,2$ cho thấy kháng sinh được sử dụng thường xuyên.

2.2.4. Định danh chủng vi khuẩn *Escherichia coli* bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen

Các chủng vi khuẩn phân lập được tăng sinh trong môi trường LB lỏng (Himedia, Ấn Độ) và ủ ở nhiệt độ phòng ở vận tốc 110 vòng/phút với thời gian 24 giờ. Sau đó, DNA vi khuẩn được ly trích theo phương pháp của More và cộng sự (2004) có hiệu chỉnh và bổ sung [14]. Đoạn gen 16S rRNA của vi khuẩn được khuếch đại bằng PCR với cặp mồi 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' và 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' [15]. Thể tích của phản ứng PCR được thực hiện là 25 µL, bao gồm: PCR Buffer (10X); $MgCl_2$ (1,5 mM); dNTPs (200 µM); mồi 27F (20 pmol); mồi 1492R (20 pmol); *Taq* DNA polymerase (2,5 UI); DNA mẫu (40 ng); thêm nước cất hai lần (BiH_2O) cho đủ 25 µL. Sản phẩm PCR (1.500 bp) được điện di trên gel agarose 1,5% và được gửi giải trình tự ở Công ty TNHH DNA SEQUENCING (Tp. Cần Thơ).

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Phần mềm Microsoft Office Excel 2016 được sử dụng để nhập và xử lý số liệu. Độ tương đồng của chủng vi khuẩn phân lập với các vi khuẩn trên cơ sở dữ liệu NCBI được so sánh bằng công cụ BLASTn.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn *E. coli* trên nem chua tại tỉnh Vĩnh Long

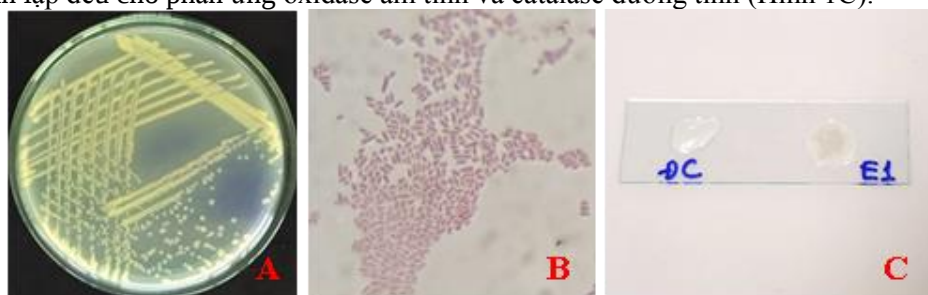
Kết quả đã phân lập được 19 chủng vi khuẩn *E. coli* từ 40 mẫu nem chua thu từ các chợ bán lẻ của tỉnh Vĩnh Long (Bảng 1). Kết quả quan sát cho thấy các chủng *E. coli* phát triển và làm đổi màu môi trường CMA do sản sinh acid từ lactose sau 24 giờ nuôi cấy. Các chủng *E. coli* phân lập thường có hình dạng là các khối lỏng màu vàng trên môi trường CMA (Hình 1A) với đường kính từ 1 đến 2 mm. Hình dạng khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu đa dạng với hình dạng phổ biến là khuẩn lạc hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên hoặc khuẩn lạc hình

tròn, bề mặt trơn lồi, bìa chia thùy (Bảng 1). Trong đó, chủng vi khuẩn *E. coli* có dạng khuẩn lạc hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên chiếm tỷ lệ cao nhất (57,89%).

Bảng 1. Các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ nem chua thu ở các chợ bán lẻ của tỉnh Vĩnh Long

Ký hiệu	Vị trí thu mẫu	Đặc điểm hình thái khuẩn lạc
EC1	Chợ Trà Ôn, huyện Trà Ôn	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC2	Chợ Trà Ôn, huyện Trà Ôn	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC3	Chợ Trà Ôn, huyện Trà Ôn	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC4	Chợ Bình Minh, TX. Bình Minh	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC5	Chợ Bình Minh, TX. Bình Minh	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC6	Chợ Bình Minh, TX. Bình Minh	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC7	Chợ Bình Minh, TX. Bình Minh	Hình tròn, bề mặt trơn lồi, bìa chia thùy
EC8	Chợ Bình Minh, TX. Bình Minh	Hình tròn, bề mặt trơn lồi, bìa chia thùy
EC9	Chợ Vĩnh Long, Tp. Vĩnh Long	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC10	Chợ Vĩnh Long, Tp. Vĩnh Long	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC11	Chợ Vĩnh Long, Tp. Vĩnh Long	Hình tròn, bề mặt trơn lồi bìa chia thùy
EC12	Chợ Vĩnh Long, Tp. Vĩnh Long	Hình tròn, bề mặt trơn lồi, bìa chia thùy
EC13	Chợ Tân An Luông, huyện Vũng Liêm	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC14	Chợ Tân An Luông, huyện Vũng Liêm	Hình tròn, bề mặt trơn lồi, bìa chia thùy
EC15	Chợ Tân An Luông, huyện Vũng Liêm	Hình tròn, bề mặt trơn lồi bìa chia thùy
EC16	Chợ Hiếu Phụng, huyện Vũng Liêm	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC17	Chợ Hiếu Phụng, huyện Vũng Liêm	Hình tròn, bề mặt trơn lồi, bìa chia thùy
EC18	Chợ Hiếu Phụng, huyện Vũng Liêm	Hình tròn, bóng ướt, bề mặt trơn lồi, bìa nguyên
EC19	Chợ Hiếu Phụng, huyện Vũng Liêm	Hình tròn, bề mặt trơn lồi, bìa chia thùy

Kết quả kiểm tra đặc điểm sinh hóa cho thấy tất cả các chủng *E. coli* phân lập là vi khuẩn Gram âm và có hình que ngắn (Hình 1B), di động và không sinh bào tử. Ngoài ra, tất cả các chủng vi khuẩn phân lập đều cho phản ứng oxidase âm tính và catalase dương tính (Hình 1C).



Hình 1. Đặc điểm sinh hóa của vi khuẩn *E. coli*

A. Khuẩn lạc vi khuẩn *E. coli* phân lập trên môi trường CMA; B. Kết quả nhuộm gram vi khuẩn;
C. Kết quả kiểm tra hoạt tính catalase

3.2. Tính nhạy cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập

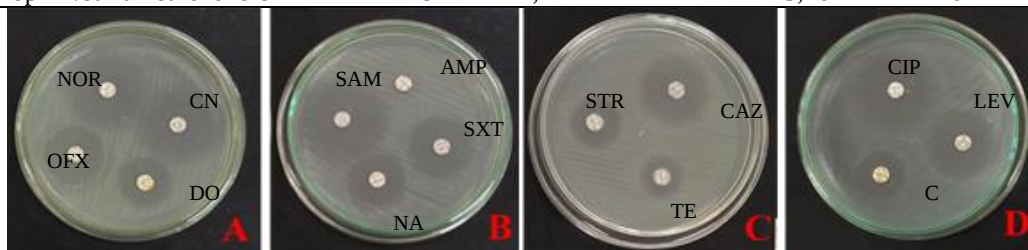
Kết quả khảo sát tính nhạy cảm kháng sinh ở Bảng 2 và Hình 2 cho thấy, các chủng *E. coli* phân lập từ nem chua có độ nhạy cao với ampicillin/sulbactam (100%), ceftazidime (94,74%), norfloxacin (89,48%), ofloxacin (89,48%) và levofloxacin (73,69%). Kết quả này có thể là do các loại kháng sinh này ít được sử dụng trong chăn nuôi heo tại khu vực khảo sát hoặc do kháng sinh được sử dụng đúng khuyến cáo.

Trong đó, các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu kháng cao với các kháng sinh ampicillin, tetracycline, chloramphenicol, doxycycline và streptomycin (Hình 2A, B, C&D). Vi khuẩn kháng cao nhất với 2 loại kháng sinh là tetracycline (84,21%) và ampicillin (84,21%). Kết quả này phù hợp với báo cáo của Kim và cộng sự (2018), tỷ lệ kháng cao nhất được ghi nhận đối với vi khuẩn *E. coli* có nguồn gốc từ các sản phẩm thịt và rau thương mại là tetracycline (52,8%), tiếp theo là ampicillin (41,6%) [16]. Nghiên cứu của Lee và cộng sự (2023) cũng chỉ ra rằng các chủng *E. coli* phân lập từ các sản phẩm thịt bán lẻ thể hiện tần suất kháng tetracycline tổng thể cao nhất (43,81%) và tiếp theo

là ampicillin (20,95%) [17]. Tỷ lệ đề kháng cao nhất đối với tetracycline phù hợp với thực tế liên quan đến số lượng lớn tetracycline được sử dụng cho mục đích thú y. Theo báo cáo của Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) năm 2018, tetracycline là loại kháng sinh được bán nhiều nhất, chiếm 66% (4.389 tấn) [18]. Đồng thời, penicillin là kháng sinh được sử dụng phổ biến (chiếm 40,5%) tổng doanh số thuốc kháng sinh [19], tỷ lệ kháng ampicillin cao cho thấy nguy cơ tiềm ẩn của vi khuẩn *E. coli* gây ô nhiễm thực phẩm ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng.

Bảng 2. Tính nhạy cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ nem chua

Kháng sinh	Nhạy		Trung gian		Kháng	
	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Ampicillin	3	15,79	0	0,00	16	84,21
Ampicillin/Sulbactam	19	100,00	0	0,00	0	0,00
Ceftazidime	18	94,74	1	5,26	0	0,00
Chloramphenicol	5	26,31	2	10,53	12	63,16
Ciprofloxacin	8	42,11	4	21,05	7	36,84
Doxycycline	4	21,05	3	15,79	12	63,16
Gentamicin	1	5,26	11	57,90	7	36,84
Levofloxacin	14	73,69	4	21,05	1	5,26
Nalidixic acid	9	47,37	4	21,05	6	31,58
Norfloxacin	17	89,48	2	10,52	0	0,00
Ofloxacin	17	89,48	1	5,26	1	5,26
Streptomycin	1	5,26	6	31,58	12	63,16
Tetracycline	2	10,53	1	5,26	16	84,21
Trimethoprim/sulfamethoxazole	8	42,11	1	5,26	10	52,63



Hình 2. Kết quả thực hiện kháng sinh đồ vi khuẩn *E. coli*

A. Tính nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* đối với norfloxacin (NOR), doxycycline (DO), gentamicin (CN) và ofloxacin (OFX); B. Tính nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* đối với ampicillin (AMP), ampicillin/sulbactam (SAM), nalidixic acid (NA) và sulfamethox/ trimethoprim (SXT); C. Tính nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* đối với ceftazidime (CAZ), streptomycin (STR) và tetracycline (TE); D. Tính nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* đối với ciprofloxacin (CIP), chloramphenicol (C) và levofloxacin (LEV)

3.3. Sự đa kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ nem chua

Kết quả cho thấy các chủng vi khuẩn phân lập trên nem chua ở các chợ bán lẻ của tỉnh Vĩnh Long đa kháng từ 3 - 10 loại kháng sinh với 19 kiểu hình đa kháng khác nhau (Bảng 3). Trong đó, vi khuẩn đa kháng 5 và 6 loại kháng sinh khác nhau là cao nhất chiếm tỷ lệ 21,05% với 4 kiểu hình đa kháng, tiếp theo là đa kháng 7 loại kháng sinh với 3 kiểu hình đa kháng chiếm 15,79% (Bảng 2). Kết quả này có thể do sự phối hợp nhiều kháng sinh cùng lúc trong quá trình điều trị của người nuôi heo. Bên cạnh đó, hiện tượng đa kháng trở nên phổ biến ở vi khuẩn là do các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh có thể trao đổi các gen kháng kháng sinh với nhau trong môi trường [20]. Sự xuất hiện các kiểu hình đa kháng của các chủng *E. coli* phân lập nem chua trong nghiên cứu cho thấy nguy cơ gây bệnh của các chủng này cũng như việc điều trị bệnh cho động vật và con người sẽ ngày càng khó khăn và phức tạp hơn.

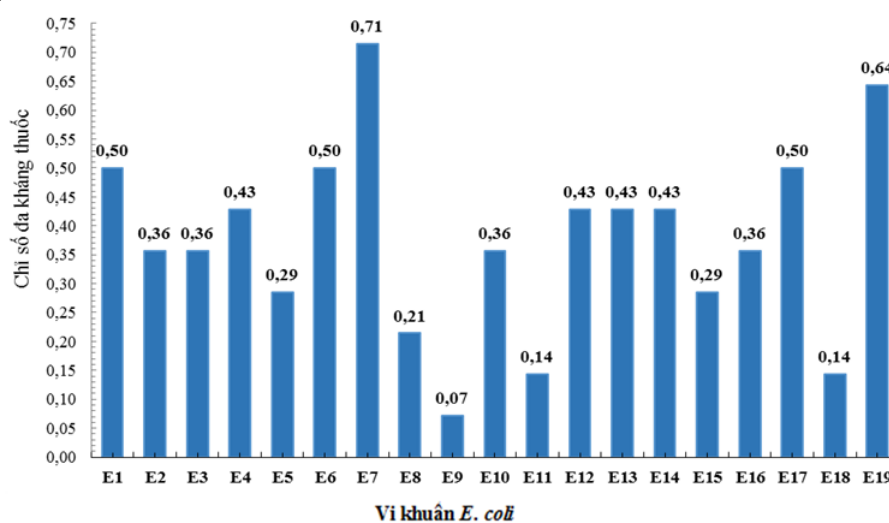
Bảng 3. Sự đa kháng kháng sinh của vi khuẩn của *E. coli* trên nem chua

Kiểu hình đa kháng	Số kiểu đa kháng	Số chủng kháng	Tỷ lệ (%)	Tỷ lệ chung (%)
AMP-DO-TE	1	1	5,26	5,26
C-DO-TE-SXT	2	1	5,26	10,52
CIP-CN-STR-TE		1	5,26	
AMP-C-CIP-TE-SXT	4	1	5,26	21,05
AMP-C-DO-STR-TE		1	5,26	
AMP-C-STR-TE-SXT		1	5,26	
AMP-DO-NA-STR-TE		1	5,26	
AMP-C-CIP-DO-CN-TE	4	1	5,26	21,05
AMP-C-CIP-DO-STR-TE		1	5,26	
AMP-C-DO-STR-TE-SXT		1	5,26	
AMP-C-NA-STR-TE-SXT		1	5,26	
AMP-C-CIP-DO-STR-TE-SXT	3	1	5,26	15,79
AMP-C-DO-LEV-STR-TE-SXT		1	5,26	
AMP-DO-CN-NA-TE-SXT	1	1	5,26	5,26
AMP-C-CIP-CN-NA-STR-TE-SXT		1	5,26	
AMP-C-CIP-DO-CN-NA-OFX-STR-TE - SXT	1	1	5,26	5,26
	19	19	100	100

Chú thích: ampicillin (AMP), ampicillin/sulbactam (SAM), ceftazidime (CAZ), chloramphenicol (C), ciprofloxacin (CIP), doxycycline (DO), gentamicin (CN), levofloxacin (LEV), nalidixic acid (NA), norfloxacin (NOR), ofloxacin (OFX), streptomycin (STR), tetracycline (TE), sulfamethox/ trimethoprim (SXT)

3.4. Chỉ số đa kháng của các chủng vi khuẩn *E. coli*

Kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ số đa kháng MAR của các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu dao động từ 0,07 đến 0,71, trong đó chủng EC7 có chỉ số đa kháng thuốc cao nhất (MAR = 0,71), kế tiếp là chủng EC19 (MAR = 0,64), 3 chủng EC1, EC6 và EC17 có chỉ số kháng đa thuốc bằng nhau (MAR = 0,50) và thấp nhất là EC9 (MAR = 0,07). Kết quả tương tự với nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Nam Kha và cộng sự (2019) cho thấy các chủng *E. coli* phân lập từ ao nuôi cá tra có chỉ số đa kháng dao động từ 0,4 đến 0,73 [21]. Trong nghiên cứu này, kết quả khảo sát cho thấy hơn 80% các chủng vi khuẩn có chỉ số MAR lớn hơn 0,2 (dao động từ 0,21 - 0,83) (Hình 3). Kết quả này cho thấy các chủng vi khuẩn được phân lập từ nơi có việc sử dụng kháng sinh thường xuyên trong chăn nuôi.

**Hình 3.** Chỉ số đa kháng thuốc của các chủng vi khuẩn phân lập

3.5. Định danh vi khuẩn phân lập bằng phương pháp giải trình tự gen 16S rRNA

Kết quả PCR cho thấy đoạn gen 16S rRNA của chủng EC7 (chủng có chỉ số đa kháng thuốc cao nhất) được khuếch đại với sự xuất hiện vạch DNA ở vị trí 1.500 bp. Kết quả giải trình tự cho thấy chủng EC7 tương đồng 98,46% với vi khuẩn *E. coli* chủng WCHEC050613 (CP019213.3) trên ngân hàng Gen (Hình 4).

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☐	Escherichia coli strain WCHEC050613 chromosome, complete genome	Escherichia coli	1485	10400	99%	0.0	98.46%	4669790	CP019213.3
☐	Escherichia coli strain NCTC11105 genome assembly, chromosome 1	Escherichia coli	1485	10186	99%	0.0	98.46%	4692802	LR134157.1
☐	Escherichia coli strain 203740 chromosome, complete genome	Escherichia coli	1485	10284	99%	0.0	98.46%	4922099	CP025913.1
☐	Escherichia coli strain 99-3165 chromosome, complete genome	Escherichia coli	1485	10195	99%	0.0	98.46%	4703465	CP029981.1

Hình 4. Kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA chủng EC7 với *E. coli* chủng WCHEC050613 trên ngân hàng Gen

4. Kết luận

Nghiên cứu cho thấy có sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* trên nem chua ở các chợ bán lẻ của tỉnh Vĩnh Long. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy các chủng *E. coli* phân lập nhạy cao với kháng sinh ampicillin/sulbactam và kháng sinh ceftazidime. Tuy nhiên, các chủng *E. coli* phân lập đã kháng nhiều loại kháng sinh, trong đó vi khuẩn kháng cao nhất 2 loại ampicillin và tetracycline với tỷ lệ 84,21%. Đặc biệt, các chủng vi khuẩn với chỉ số đa kháng MAR dao động từ 0,07 - 0,71, trong đó chủng EC7 có chỉ số đa kháng thuốc cao nhất (MAR = 0,71). Kết quả giải trình tự vùng gen 16S rRNA của chủng EC7 có sự tương đồng cao nhất với vi khuẩn *E. coli* chủng WCHEC050613 (CP019213.3).

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] M. Rega, L. Andriani, A. Poeta, S. Bonardi, M. Conter, and C. Bacci, "The Pork Food Chain as a Route of Transmission of Antimicrobial Resistant *Escherichia coli*: A Farm-to-Fork Perspective," *Antibiotics (Basel)*, vol. 12, no. 2, p. 376, 2023.
- [2] C. Xu, L. Kong, H. Gao, X. Cheng, and X. Wang, "A Review of Current Bacterial Resistance to Antibiotics in Food Animals," *Frontiers in Microbiology*, vol. 13, 2022, Art. no. 822689.
- [3] M. Rega, I. Carmosino, P. Bonilauri, V. Frascolla, A. Vismarra, and C. Bacci, "Prevalence of ES β L, AmpC and Colistin-Resistant *E. coli* in Meat: A Comparison between Pork and Wild Boar," *Microorganisms*, vol. 9, no. 2, p. 214, 2021.
- [4] Q. T. Tuong, T. T. H. Do, T. K. H. Nguyen, and T. T. Truong, "Survey on infection and antibiotic resistance rates of *Escherichia coli* in pork and chicken meat at some markets in Buon Ma Thuot city in 2021," (in Vietnamese), *Vietnam Journal Food Control*, vol. 5, no. 3, pp. 279-290, 2022.
- [5] N. T. T. Huynh, T. M. T. Nguyen, T. M. T. Nguyen, T. M. T. Nguyen, T. T. P. Dinh, and T. T. S. Phan, "Examination of the infection level of disease-causing organisms in pork and influential factors in the *Escherichia coli* resistance of garlic (*Allium sativum* L.)," (in Vietnamese), *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development*, vol. 55, pp. 185-192, 2019.
- [6] T. L. T. Tran, K. T. Nguyen, V. T. Nguyen, T. K. Lam, and T. L. K. Ly, "The contamination and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from pork and environments at the slaughterhouses in Chau Thanh district, An Giang province," (in Vietnamese), *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development*, vol. 58, no. 1, pp. 189-196, 2022.
- [7] T. A. X. Huynh and T. L. K. Ly, "Isolation of *Escherichia coli* caused edema disease in post-weaning pigs in Kien Giang province," (in Vietnamese), *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development*, vol. 54, pp. 23-32, 2018.
- [8] T. M. Le, T. N. Do, M. H. Le, T. M. K. Tran, and V. Q. Van, "Evaluation of hygiene and safety status of nem chua production in Hanoi," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Science Technology*, vol. 50, no. 2, pp. 231-231, 2012.
- [9] N. H. Tu, "Part II: Current status of food hygiene and safety," 2016. [Online]. Available: <https://thanhtra.com.vn/xa-hoi/doi-song/Ky-II-Thuc-trang-ve-sinh-an-toan-thuc-pham-107312.html>. [Accessed June 19, 2024].

-
- [10] F. Sharmin. and M. Rahman, "Isolation and Characterization of Protease Producing Bacillus strain FS-1". *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. Manuscript FP 06 009. Vol. IX. April, 2007
- [11] A. W. Bauer, W. M. Kirby, J. C. Sherris, and M. Turck, "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method," *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 45, no. 4, pp. 493-496, 1966.
- [12] CLSI, "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (M100)," 2020. [Online]. Available: <http://em100.edaptivedocs.net/dashboard.aspx>. [Accessed June 09, 2024].
- [13] P. H. Krumperman, "Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 46, no. 1, pp. 165-70, 1983.
- [14] E. Moore, A. Arnscheidt, A. Kruger, C. Strompl, and M. Mau, "Simplified protocols for preparation of genomic DNA from bacterial cultures," *Molecular microbial ecology manual*, vol. 1, no. 1, pp. 3-18, 2004.
- [15] W. G. Weisburg, S. M. Barns, D. A. Pelletier, and D. J. Lane, "16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study," *Journal of Bacteriology*, vol. 173, no. 2, pp. 697-703, 1991.
- [16] H. J. Kim, T. Oh, and S. Y. Baek, "Multidrug Resistance, Biofilm Formation, and Virulence of *Escherichia coli* Isolates from Commercial Meat and Vegetable Products," *Foodborne Pathogens and Disease*, Sep 5 2018.
- [17] K. Y. Lee, K. Lavelle, A. Huang, E. R. Atwill, M. Pitesky, and X. Li, "Assessment of Prevalence and Diversity of Antimicrobial Resistant *Escherichia coli* from Retail Meats in Southern California," *Antibiotics (Basel)*, vol. 12, no. 4, p.782, 2023.
- [18] FDA, "Summary Report on Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-Producing Animals," 2018. [Online]. Available: <https://www.fda.gov/media/133411/download>. [Accessed Feb. 29, 2024].
- [19] X. Zhang, Y. Cui, C. Liu, K. Zuo, and Y. Tang, "Antibiotic Sales in Primary Care in Hubei Province, China: An Analysis of 2012-2017 Procurement Records," *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 16, no. 18, pp. 3376, 2019.
- [20] S. R. Partridge, S. M. Kwong, N. Firth, and S. O. Jensen, "Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance," *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 31, no. 4, pp. e00088-17, 2018.
- [21] H. N. K. Nguyen and N. D. H. Truyen, "Antibiotic resistance of *E. coli* isolated from whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) collected from wet markets and supermarkets in Ho Chi Minh city and their transferability," (in Vietnamese), *The Journal of Agriculture Development*, vol. 18, no. 2, pp. 97-104, 2019.