

SURVEY ON ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *Salmonella* spp. ISOLATED FROM FERMENTED PORK ROLLS VINH LONG PROVINCE

Dang Phi Yen, Quach Van Cao Thi*, Nguyen Trung Truc

Vinh Long University of Technology Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 14/11/2023 Revised: 05/01/2024 Published: 03/02/2024	Antibiotic resistance of bacteria in food is one of the major safety concerns for human health, including antibiotic resistance of <i>Salmonella</i> spp. The study was conducted to investigate the antibiotic resistance of <i>Salmonella</i> spp. bacteria in fermented pork rolls at 10 traditional markets in Vinh Long province. The study isolated 17 bacterial strains, and 16S rRNA gene sequencing results showed that two bacterial strains Sal7, and Sal15 were 100% similar to <i>Salmonella enterica</i> strain LHST_2018, and <i>Salmonella enterica</i> strain SEWLSH-13 respectively. These results showed that the bacteria in the study were sensitive to the antibiotics norfloxacin, ampicillin/sulbactam, and ceftazidime at rates of 100%, 94.12%, and 94.12% respectively. The bacterial strains isolated in the study all showed resistance to tested antibiotics such as ampicillin, gentamicin, doxycycline, ciprofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole, and nalidixic acid. In there, ampicillin is the antibiotic with the highest antibiotic resistance rate, accounting for 88.24%. Among the 100% of the isolates that were resistant to at least one antibiotic, the multidrug resistance MAR index ranges from 0.21 to 0.64.
KEYWORDS Antibiotic resistance Fermented pork rolls Multidrug resistance <i>Salmonella</i> spp. Vinh Long	

KHẢO SÁT SỰ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *Salmonella* spp. PHÂN LẬP TỪ NEM CHUA Ở TỈNH VĨNH LONG

Đặng Phi Yến, Quách Văn Cao Thi*, Nguyễn Trung Trục

Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 14/11/2023 Ngày hoàn thiện: 05/01/2024 Ngày đăng: 03/02/2024	Tình trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn trong thực phẩm đang là một trong những mối lo ngại lớn về an toàn đối với sức khỏe con người, trong đó có tình trạng kháng kháng sinh của <i>Salmonella</i> spp. Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích khảo sát sự kháng kháng sinh của vi khuẩn <i>Salmonella</i> spp. có trong nem chua thu được tại 10 chợ truyền thống trên địa bàn tỉnh Vĩnh Long. Nghiên cứu đã phân lập được 17 chủng vi khuẩn, kết quả giải trình tự đoạn gen 16S rRNA, hai chủng vi khuẩn Sal7 và Sal15 tương đồng 100% với vi khuẩn <i>Salmonella enterica</i> chủng LHST_2018 và <i>Salmonella enterica</i> chủng SEWLSH-13. Kết quả cho thấy vi khuẩn trong nghiên cứu nhạy với các kháng sinh norfloxacin, ampicillin/sulbactam và ceftazidime với tỷ lệ lần lượt là 100%, 94,12% và 94,12%. Các chủng vi khuẩn phân lập trong nghiên cứu biểu hiện tính kháng với các loại kháng sinh thử nghiệm như ampicillin, gentamicin, doxycycline, ciprofloxacin, nalidixic acid và trimethoprim/sulfamethoxazole. Trong đó ampicillin là kháng sinh bị kháng cao nhất, chiếm tỷ lệ 88,24%. Trong số 100% các chủng phân lập đều kháng ít nhất một loại kháng sinh, chỉ số đa kháng thuốc MAR dao động từ 0,21 đến 0,64.
TỪ KHÓA Đa kháng thuốc Kháng kháng sinh Nem chua <i>Salmonella</i> spp. Vĩnh Long	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9197>

* Corresponding author. Email: thiqvc@vlute.edu.vn

1. Giới thiệu

Nem chua là sản phẩm thịt sống lên men truyền thống của Việt Nam [1], được sản xuất chủ yếu theo phương pháp thủ công với nguyên liệu chính là thịt lợn nạc xay nhỏ, được lên men ở nhiệt độ thường trong 1 – 2 ngày [2]. Trong nem chua quá hạn luôn tồn tại các loại vi khuẩn gây bệnh và các kí sinh trùng có hại, tuy bị ức chế không hoạt động được nhưng chúng không chết mà sẽ phát triển khi gặp điều kiện thuận lợi. Thêm vào đó, nhu cầu thịt sống ngày càng tăng làm tăng khả năng ngộ độc thực phẩm do vi khuẩn [3]. Một số nghiên cứu cho thấy trong thịt lợn sống ở Đông Nam Á có chứa các chủng vi khuẩn gây bệnh *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* và *Staphylococcus aureus* là những mầm bệnh chính truyền qua thực phẩm và chúng thường được tìm thấy trong đường ruột và phân của động vật làm thực phẩm [4].

Salmonella spp. thuộc họ *Enterobacteriaceae*, là vi khuẩn gram âm, hình que, không lên men lactose, không hình thành bào tử [5]. *Salmonella* spp. được xem là mầm bệnh chính lây truyền qua thực phẩm chính, có thể gây ra một số bệnh do thực phẩm và thường liên quan đến việc tiêu thụ thịt [6]. Thịt lợn và các sản phẩm thịt lợn bị ô nhiễm là nguồn lây nhiễm *Salmonella* spp. chính ở người của nhiều quốc gia [7]. Nghiên cứu của Nguyễn Xuân Hoà (2015) cho thấy tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. ở thịt lợn xuất khẩu là 2,94%, trong khi lò mổ tiêu thụ nội địa là 20,59% [8]. Trên 50% mẫu thịt lợn tươi sống được lấy ngẫu nhiên tại các chợ truyền thống trên địa bàn thành phố Hồ Chí Minh cho kết quả nhiễm *Salmonella* spp. [9].

Kháng kháng sinh (KKS) là tình trạng một chất kháng sinh không có khả năng hoặc giảm khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh [10]. Sự xuất hiện của tình trạng KKS là một trong những mối đe dọa sức khỏe của con người lớn nhất trên toàn cầu [11], đặc biệt là tình trạng KKS của vi khuẩn *Salmonella* spp. [12]. Chuỗi sản xuất thực phẩm đã được xác định là một con đường có thể lây truyền vi khuẩn KKS sang người [13]. Việc tiếp xúc lâu dài với kháng sinh đã gây mối đe dọa đối với an toàn thực phẩm và sức khỏe con người [14]. Nghiên cứu trước đây cho thấy, đã tìm thấy một lượng lớn *Salmonella* spp. kháng với các kháng sinh nhóm β -lactams, chloramphenicol, tetracyclin và streptomycin, đây là những kháng sinh rất quan trọng trong điều trị bệnh nhiễm khuẩn *Salmonella* spp. [9]. Tuy nhiên, cho đến nay, việc nghiên cứu tính nhạy cảm với thuốc kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập trên nem chua ở tỉnh Vĩnh Long vẫn chưa được thực hiện. Kết quả của nghiên cứu này nhằm cung cấp thông tin về tính nhạy với các loại kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* spp., qua đó góp phần hạn chế khả năng lây lan của các vi sinh vật KKS.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Thu mẫu và phân lập vi khuẩn

Mẫu nem chua bán lẻ được thu từ 10 chợ truyền thống trên địa bàn tỉnh Vĩnh Long. Tất cả các mẫu nem chua đều được lên men tự nhiên, là loại ăn liền, chưa nấu chín, gói trong lá chuối và trưng bày ở điều kiện nhiệt độ môi trường hoặc tủ lạnh. Mẫu nem chua được lấy ở cùng giai đoạn lên men, tức là sau khoảng 48 đến 72 giờ lên men, bắt đầu được bán trên thị trường. Các thông tin về cỡ mẫu, nơi lấy mẫu và điều kiện bảo quản được ghi lại. Các mẫu được giữ trong nước đá và vận chuyển ngay đến phòng thí nghiệm để thử nghiệm.

2.2. Phương pháp phân lập vi khuẩn

Vi khuẩn *Salmonella* spp. được phân lập theo TCVN 10780-1:2017 (ISO 6579-1:2017). Khuẩn lạc điển hình của vi khuẩn *Salmonella* spp. cấy lên môi trường (*Salmonella* Shigella agar) SS agar bằng kỹ thuật cấy vạch [15], ủ ở 37°C trong 24 giờ. Các dòng vi khuẩn phân lập được mô tả đặc điểm khuẩn lạc, xác định hình thái tế bào bằng phương pháp nhuộm gram, kiểm tra một số đặc tính sinh hóa như thử nghiệm catalase, oxidase để xác định chủng vi khuẩn [16].

2.3. Phương pháp thực hiện kháng sinh đồ

Các chủng vi khuẩn phân lập được kiểm tra tính đề kháng với 14 loại kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán đĩa của Kirby-Bauer và cộng sự (1966) [17], gồm: ampicillin (AMP, 10 µg/mL), ampicillin/sulbactam (SAM, 20 µg/mL), ceftazidime (CAZ, 30 µg/mL), chloramphenicol (C, 30 µg/mL), ciprofloxacin (CIP, 5 µg/mL), doxycycline (DO, 30 µg/mL), gentamicin (CN, 10 µg/mL), levofloxacin (LEV, 5 µg/mL), nalidixic acid (NA, 30 µg/mL), norfloxacin (NOR, 10 µg/mL), ofloxacin (OFX, 5 µg/mL), streptomycin (STR, 10 µg/mL), tetracycline (TE, 30 µg/mL), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT, 25 µg/mL) (Oxoid, Anh). Chủng vi khuẩn *S. enteritidis* ATCC 10376 được dùng làm chủng tham chiếu. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả xác định mức độ nhạy cảm, nhạy cảm trung gian và đề kháng của vi khuẩn đối với kháng sinh dựa theo tiêu chuẩn Viện Tiêu chuẩn Xét nghiệm Lâm sàng (CLSI, 2020) [18].

Chỉ số đa kháng thuốc (Multiple Antibiotic Resistance Index, MAR) được tính toán dựa trên công thức: $MAR = R/E$ [19], trong đó: R = tổng số kháng sinh vi khuẩn kháng; E = tổng số kháng sinh sử dụng thực hiện kháng sinh đồ. Giá trị $MAR > 0,2$ cho thấy kháng sinh được sử dụng thường xuyên, còn giá trị $MAR \leq 0,2$ cho thấy kháng sinh ít hoặc không bao giờ được sử dụng [20].

2.4. Định danh chủng vi khuẩn bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen

Chủng vi khuẩn đa kháng thuốc được định danh chủng bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen. Gen 16S rRNA được khuếch đại bằng PCR sử dụng cặp primer 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') và 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') [21].

Sản phẩm PCR sẽ được gửi giải trình tự ở công ty Macrogen, Hàn Quốc để xác định loài vi khuẩn. Kết quả giải trình tự vùng gen 16S rRNA của vi khuẩn được so sánh với các trình tự trong ngân hàng dữ liệu của NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) bằng công cụ BLASTn.

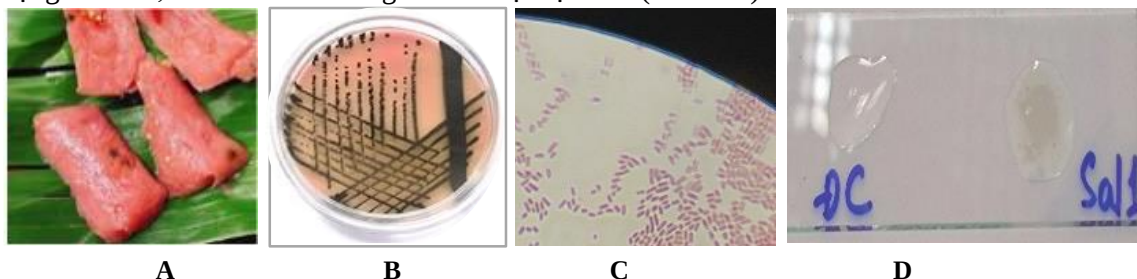
2.5. Xử lý số liệu

Số liệu trong nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Độ tương đồng trình tự các chủng vi khuẩn được so sánh với các trình tự trên ngân hàng dữ liệu NCBI bằng chương trình BLASTn. Cây phả hệ (phylogenetic tree) được xây dựng bằng phần mềm MEGA11 dựa trên thuật toán Neighbour-joining với giá trị bootstrap là 1.000 lần lặp lại.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* spp.

Tổng số 17 chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. được phân lập trên môi trường SS Agar thu được từ 40 mẫu nem chua tại các chợ truyền thống thuộc tỉnh Vĩnh Long. Kết quả quan sát cho thấy khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn phân lập trên môi trường SS Agar có kích thước khuẩn lạc dao động từ 1 – 1,5 mm sau 24 – 36 giờ ủ ở nhiệt độ 37°C (Hình 1B).



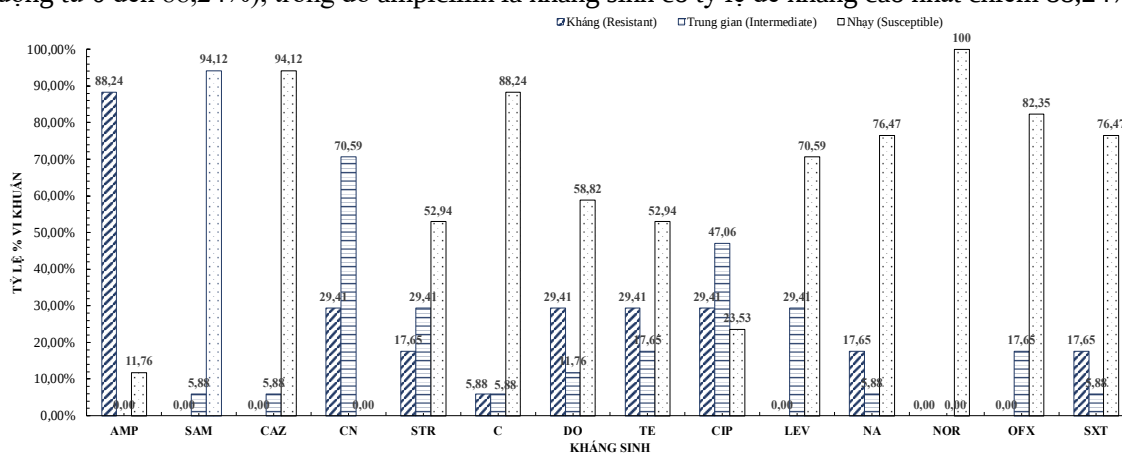
Hình 1. Đặc điểm sinh hóa của vi khuẩn *Salmonella* spp.

A. Nem chua; B. Khuẩn lạc *Salmonella* spp. trên môi trường SS Agar;
C. Kết quả nhuộm Gram; D. Kiểm tra hoạt tính catalase của vi khuẩn *Salmonella* spp.

Hầu hết khuẩn lạc *Salmonella* spp. đều không màu, trong suốt, có tâm màu đen do không lên men lactose, có độ nổi lồi, bìa nguyên, tròn nhỏ li ti. Hình dạng khuẩn lạc trên môi trường SS Agar tương đồng với nghiên cứu của Yanestria và cộng sự (2019) cho thấy *Salmonella* spp. phân lập từ cá măng (*Chanos chanos*) tạo ra các khuẩn lạc trong suốt hoặc không màu với tâm có màu đen ở giữa [22]. Kết quả kiểm tra cho thấy tất cả các chủng vi khuẩn đều có khả năng di động, không hình thành bào tử, Gram âm và có hình que, riêng lẻ hoặc xếp thành đôi (Hình 1C). Tất cả các chủng vi khuẩn phân lập đều cho phản ứng catalase dương tính (Hình 1D) và oxidase âm tính.

3.2. Kết quả thực hiện kháng sinh đồ của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp.

Kết quả khảo sát tính KKS của vi khuẩn *Salmonella* spp. được thể hiện ở hình 2. Hình 2 cho thấy vi khuẩn *Salmonella* spp. còn nhạy cảm cao với các loại kháng sinh thử nghiệm. Kết quả thử nghiệm cho thấy có 11/14 kháng sinh vẫn còn tính nhạy trên 50% đối với các chủng vi khuẩn phân lập (tỷ lệ 78,57%), trong đó cao nhất là norfloxacin (100%), tiếp theo ampicillin/sulbactam (94,12%), ceftazidime (94,12%), chloramphenicol (88,24%) và ofloxacin (82,35%). Các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập kháng với các loại kháng sinh theo các mức độ khác nhau (dao động từ 0 đến 88,24%), trong đó ampicillin là kháng sinh có tỷ lệ đề kháng cao nhất chiếm 88,24%.



Hình 2. Tỷ lệ (%) các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. nhạy cảm với các kháng sinh

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

Nghiên cứu đã xác định được 9 kiểu hình đa kháng khác nhau từ 11 chủng *Salmonella* spp. đa kháng với 14 loại kháng sinh được kiểm tra (Bảng 1). Kết quả phân tích cho thấy có kiểu hình đa kháng phổ biến nhất của vi khuẩn là AMP-CIP, chiếm tỷ lệ 27,27%. Kết quả khảo sát sự MDR cho thấy có 64,71% chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. trong nghiên cứu đa kháng thuốc. Trong đó, vi khuẩn kháng thấp nhất là 2 loại và nhiều nhất là 9 loại kháng sinh. Tỷ lệ MDR các chủng vi khuẩn phân lập đa kháng cao nhất với 2 loại kháng sinh (45,45%), tiếp theo là đa kháng với 3 và 4 loại kháng sinh (18,18%) và thấp nhất là đa kháng 6 và 9 loại kháng sinh (9,09%) (Bảng 1).

Bảng 1. Các kiểu hình đa kháng của vi khuẩn *Salmonella* spp.

Kiểu hình kháng	Số kháng sinh	Số chủng vi khuẩn đa kháng	Tỷ lệ đa kháng thuốc (%)
AMP-CIP	2	3	27,27
AMP-DO	2	1	9,09
AMP-CN	2	1	9,09
CN-NA-TE	3	1	9,09
CN-STR-TE	3	1	9,09
AMP-DO-CN-TE	4	1	9,09

AMP-DO-NA-TE	4	1	9,09
AMP-CIP-DO-STR-TE-SXT	6	1	9,09
AMP-C-CIP-DO-CN-NA-STR-TE-SXT	9	1	9,09

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

Ampicillin là kháng sinh thuộc nhóm β -lactam có tác dụng kháng khuẩn trên cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm, đây là kháng sinh hàng đầu được sử dụng để điều trị bệnh nhiễm khuẩn *Salmonella* spp. [23]. Các chủng vi khuẩn phân lập kháng với ampicillin ở mức cao nhất trong tất cả các loại kháng sinh thử nghiệm (88,24%). Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Guo và cộng sự (2023) cho thấy ampicillin là kháng sinh bị kháng cao với các chủng *Salmonella* spp. được phân lập từ động vật làm thực phẩm [24]. Tuy nhiên, tỷ lệ vi khuẩn kháng ampicillin thấp hơn nghiên cứu của Tian và cộng sự (2021) [6], nhóm các tác giả ghi nhận tỷ lệ kháng ampicillin của vi khuẩn *Salmonella* spp. trên thịt lợn là 96,9%. Khả năng kháng ampicillin của *Salmonella* spp. do gen *bla*_{TEM-1B} quy định, đây là β -lactam chiếm ưu thế trong hầu hết các kiểu huyết thanh của *Salmonella* spp. trên toàn thế giới [25]. Gen *bla* được tìm thấy có khả năng kiểm soát thuốc kháng sinh nhóm β -lactam bằng cách thủy phân vòng β -lactam, dẫn đến bất hoạt kháng sinh [25].

Nhóm aminoglycoside được sử dụng là gentamicin (29,41%) và streptomycin (17,65%). Tính KKS của chủng *Salmonella* spp. trong nghiên cứu này nhìn chung thấp hơn so với kết quả đã công bố của Trần Quang Vui và cộng sự (2017), 100% chủng *Salmonella* spp. đều kháng với streptomycin và gentamicin [26]. Đồng thời, tính KKS của vi khuẩn *Salmonella* spp. trong nghiên cứu của tác giả cho kết quả khác với các nghiên cứu đã công bố. Hầu hết trong các nghiên cứu có liên quan đến nhóm aminoglycosides, kháng sinh streptomycin thường có tỷ lệ kháng cao hơn so với các loại kháng sinh còn lại cùng nhóm, tỷ lệ kháng streptomycin (84,44%) kháng *Samonella* spp. cao hơn gấp đôi gentamicin (33,33%) trong nghiên cứu của Nguyễn Văn Minh Hoàng và cộng sự (2015) [27]. Khả năng kháng aminoglycoside của vi khuẩn do chứa gen kháng *aad* hoặc *strA/B* [28]. Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Hoài Thu và cộng sự (2017), chủng *S. typhimurium* cho thấy sự biểu hiện mạnh nhất của gen chỉ thị kháng streptomycin là *avrA* (80,5%) và gentamycin (*aadA*) là 77,67% [29].

Nghiên cứu đối với các kháng sinh nhóm quinolone cho thấy vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập có tính kháng thấp với các loại kháng sinh thử nghiệm là ofloxacin (0%), norfloxacin (0%), levofloxacin (0%), nalidixic acid (17,65%) và ciprofloxacin (29,41%). Đồng thời, 100% chủng vi khuẩn phân lập vẫn còn tính nhạy với norfloxacin. Theo nghiên cứu của Castro-Vargas và cộng sự (2020) [30], *Salmonella* spp. có thể kháng thuốc kháng sinh bằng cách bảo vệ vị trí mục tiêu của thuốc kháng sinh, vị trí này có thể là enzyme hoặc cấu trúc tế bào cụ thể. Ngoài ra, vi khuẩn *Salmonella* spp. có thể phát triển các điểm đột biến trong vùng xác định tính kháng quinolone của các gen topoisomerase (*parC* và *parE*) và các gen gyrase DNA (*gyrA* và *gyrB*) [30].

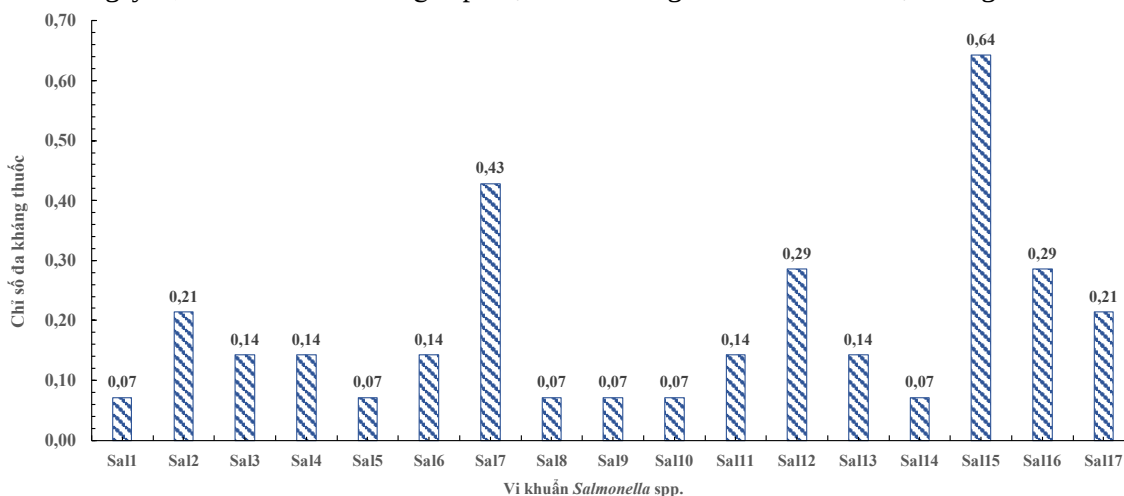
Nhóm kháng sinh tetracycline được sử dụng khá lâu, phổ biến và đã bị đề kháng. Cả 2 loại kháng sinh trong nghiên cứu (doxycycline và tetracycline) đều có tỷ lệ kháng là 29,41%. Kết quả khảo sát tỷ lệ kháng KKS của Nguyễn Văn Minh Hoàng và cộng sự (2015) cho thấy có 21/48 chủng *Salmonella* spp. kháng tetracycline [27]. Kết quả này thấp hơn nghiên cứu của Hồ Xuân Yến và cộng sự (2019), tỷ lệ kháng tetracycline và doxycycline lần lượt là 90% và 85% [31]. Khả năng kháng tetracycline của chủng vi khuẩn phân lập kháng do chứa gen *tetA* và *tetB*, giúp vi khuẩn loại bỏ tetracycline khỏi tế bào của chúng [32]. Nghiên cứu của Trương Huỳnh Anh Vũ và cộng sự (2021), đối với gen *tetA* mã hóa kháng tetracycline có tỷ lệ phát hiện 13/14 (92,86%) [9].

Mức độ đề kháng đối với chất ức chế tổng hợp nhóm acid folic đối với chloramphenicol là 5,88% và trimethoprim/sulfamethoxazole là 17,65%. Mặc dù tính kháng chloramphenicol của vi khuẩn *Salmonella* spp. không cao, nhưng kháng sinh này đã nằm trong danh sách kháng sinh cấm

sử dụng trong sản xuất, kinh doanh, do đó việc xuất hiện tính kháng ở mức 5,88% của kháng sinh này có thể liên quan đến việc sử dụng thuốc bừa bãi, không rõ nguồn gốc. Theo Tang và cộng sự (2022), có 57,18% chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập có chứa gen *floR* mã hóa khả năng kháng phenicol [33]. Nghiên cứu của Nguyễn Thanh Việt và cộng sự (2018) cho thấy có 33,3% tỷ lệ *Salmonella* spp. phân lập từ thịt lợn kháng trimethoprim/sulfamethoxazole [34], do đó trimethoprim/sulfamethoxazole cũng có thể được sử dụng thường xuyên để điều trị nhiễm bệnh do vi khuẩn Gram âm [35].

3.3. Chỉ số đa kháng thuốc của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp.

Chỉ số MAR của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. được thể hiện ở Hình 3. Kết quả nghiên cứu cho thấy chủng Sal15 có chỉ số đa kháng cao nhất (MAR = 0,64), kế tiếp là chủng Sal7 (MAR = 0,43) và thấp nhất là các chủng Sal1, Sal5, Sal8, Sal9, Sal10, Sal14 (MAR = 0,07). Kết quả khảo sát cho thấy chỉ có 35,29% các chủng vi khuẩn đa kháng có chỉ số MAR lớn hơn 0,2 (dao động từ 0,21 đến 0,64). Các chủng *Salmonella* spp. có chỉ số MAR > 0,2, có thể có nguồn gốc từ môi trường nơi thuốc kháng sinh được sử dụng quá mức. Như vậy, chỉ số MAR của các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu tương tự với kết quả nghiên cứu trước đây của Soubeiga và cộng sự (2022), chỉ số MAR dao động từ 0,06 đến 0,53 [23]. Chỉ số MAR được tìm thấy trong nghiên cứu hiện tại thấp hơn so với các nghiên cứu của Siddique và cộng sự (2021), dao động từ 0,62 đến 0,91 [36]. Sự xuất hiện nhanh chóng của tình trạng KKS có thể là do áp lực chọn lọc của kháng sinh thông qua các phản ứng tiến hóa do chọn lọc tự nhiên. Tính KKS và đa kháng thuốc của vi khuẩn đã và đang diễn ra một cách phức tạp, dẫn đến khó khăn trong việc lựa chọn kháng sinh để điều trị bệnh do vi khuẩn gây ra, vi khuẩn có khả năng tiếp nhận và đề kháng nhanh với nhiều loại kháng sinh.



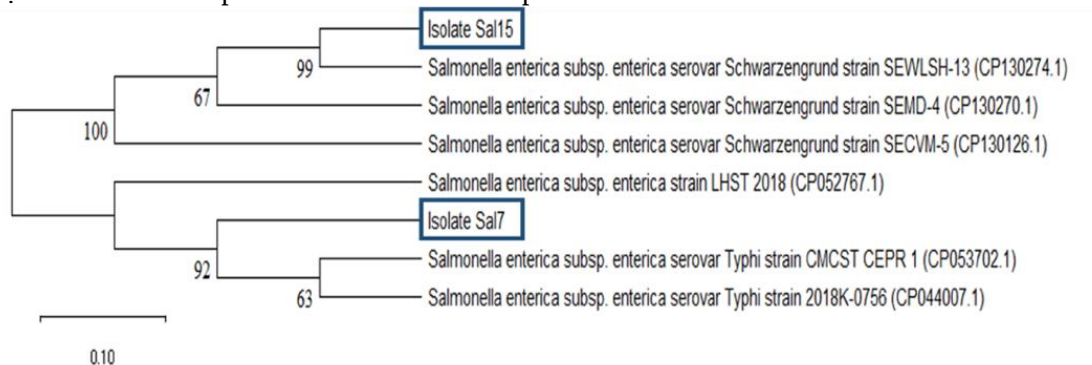
Hình 3. Chỉ số đa kháng thuốc của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp.

3.4. Kết quả định danh vi khuẩn *Salmonella* spp. đa kháng thuốc

Hai chủng vi khuẩn Sal7 và Sal15 có chỉ số đa kháng thuốc cao nhất được chọn để giải trình tự. Kết quả giải trình tự cho thấy chủng Sal7 tương đồng 100% với *S. enterica* subsp. *enterica* strain LHST_2018 (CP052767.1), *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi strain CMCST_CEPR_1 (CP053702.1) và *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi strain 2018K-0756 (CP044007.1) (Hình 4). Trong khi đó, chủng Sal15 tương đồng 100% với loài *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Schwarzengrund strain SEWLSH-13 (CP130274.1), *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Schwarzengrund strain SEMD-4 (CP130270.1) và *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Schwarzengrund strain SECV5 (CP130126.1) (Hình 4).

Kết quả xây dựng cây phả hệ cho thấy hai chủng Sal7 và Sal15 phân bố ở hai nhóm khác nhau. Chủng Sal7 có mối quan hệ gần với loài *S. enterica* subsp. *enterica* strain LHST_2018

(CP052767.1), trong khi chủng Sal15 có mối quan hệ gần với loài *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Schwarzengrund strain SEWLSH-13 (CP130274.1) và *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Schwarzengrund strain SEMD-4 (CP130270.1). Như vậy, dựa vào kết quả kiểm tra đặc điểm sinh hoá cho thấy các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập đều có khả năng di động, Gram âm và có hình que. Đồng thời, kết quả định danh giải trình tự hai chủng vi khuẩn được nhận diện đều thuộc chi *Salmonella* phân loài *S. enterica* subsp. *Enterica*.



Hình 4. Sơ đồ cây phả hệ di truyền giữa các chủng *Salmonella* spp. dựa trên trình tự gen 16S rRNA

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 17 chủng vi khuẩn, giải trình tự đoạn gen 16S rRNA của hai chủng vi khuẩn Sal7 và Sal15 tương đồng với vi khuẩn *Salmonella enterica* chủng LHST_2018 và *Salmonella enterica* chủng SEWLSH-13 với độ tương đồng đều là 100%. Các chủng vi khuẩn phân lập trong nghiên cứu biểu hiện tính kháng với các loại kháng sinh thử nghiệm như ampicillin, gentamicin, doxycycline, ciprofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole và nalidixic acid, trong đó ampicillin là kháng sinh có tỷ lệ đề kháng cao nhất chiếm 88,24%. Tuy nhiên, 100% các chủng vi khuẩn phân lập vẫn còn nhạy với kháng sinh norfloxacin và 94,12% nhạy với ampicillin/sulbactam và ceftazidime. Đặc biệt, có 78,57% vi khuẩn đa kháng thuốc từ 2 nhóm kháng sinh trở lên.

Lời cảm ơn

Nhóm nghiên cứu xin cảm ơn Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long đã hỗ trợ cung cấp phòng thí nghiệm và các thiết bị để thực hiện đề tài. Cảm ơn các tiểu thương đã hỗ trợ cung cấp mẫu thực phẩm để nhóm thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] T. H. N. Duong, T. H. Mai, B. H. Lu, T. X. M. Ly and T. Q. H. Bui, "Isolation and selection of lactic acid bacteria strains Nem Chua from meat with potential application as seed bacteria in Nem Chua production," (in Vietnamese), *Can Tho University Science Journal*, vol. 59, no. 3, pp. 86-93, 2023.
- [2] T. M. Le, T. N. Do, M. H. Le, T. M. K. Chan, and V. Q. Van, "Survey on safety and hygiene of Nem chua in Hanoi," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Science Technology*, vol. 50, no. 2, pp. 231-231, 2012.
- [3] M. Rega, I. Carmosino, P. Bonilauri, V. Frascolla, A. Vismarra, and C. Bacci, "Prevalence of ESβL, AmpC and Colistin-Resistant *E. coli* in Meat: A Comparison between Pork and Wild Boar," *Microorganisms*, vol. 9, no. 2, pp. 1-11, 2021.
- [4] T. N. Nguyen, T. B. V. Nguyen, V. C. Nguyen *et al.*, "Antimicrobial residues and resistance against critically important antimicrobials in non-typhoidal *Salmonella* from meat sold at wet markets and supermarkets in Vietnam," (in Vietnamese), *International Journal of Food Microbiology*, vol. 266, pp. 301-309, 2018.
- [5] S. Ali and A. F. Alsayeqh, "Review of major meat-borne zoonotic bacterial pathogens," *Frontiers in Public Health*, vol. 10, 2022, Art. no. 1045599.

- [6] Y. Tian, D. Gu, F. Wang *et al.*, "Prevalence and Characteristics of *Salmonella* spp. from a Pig Farm in Shanghai, China," *Foodborne pathogens and disease*, vol. 18, no. 7, pp. 477-488, 2021.
- [7] H. Song and A. Zhu, "Isolation and Identification of *Salmonella* in Pork," *Methods in molecular biology*, vol. 2182, pp. 197-203, 2021.
- [8] X. H. Nguyen, "Assessing the level of bacterial contamination in pork from animal import-export companies and slaughterhouses for domestic consumption," (in Vietnamese), *Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development*, vol. 108, no. 9, 2015. [Abstract]. Available: ProQuest, <https://jos.hueuni.edu.vn/>. [Accessed November 1, 2023].
- [9] H. A. V. Truong, V. H. Chu, Y. H. Huynh, and H. K. T. Nguyen, "Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from raw meats at traditional markets in Ho Chi Minh city," (in Vietnamese), *Journal of Science and Technology Viet Nam*, vol. 63, no. 8, pp. 55-59, 2021.
- [10] EFSA, "The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2019-2020," *EFSA Journal, European Food Safety Authority*, vol. 20, no. 3, 2022, Art. no. e07209.
- [11] P. Leekitcharoenphon, M. H. K. Johansson, P. Munk *et al.*, "Genomic evolution of antimicrobial resistance in *Escherichia coli*," *Scientific reports*, vol. 11, no. 1, 2021, Art. no. 15108.
- [12] J. Hur, C. Jawale, and J. H. Lee, "Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review," *Food Research International*, vol. 45, no. 2, pp. 819-830, 2012.
- [13] 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, Switzerland)*, vol. 12, no. 2, pp. 1-14, 2023.
- [14] J. Campos, J. Mourão, L. Peixe, and P. Antunes, "Non-typhoidal *Salmonella* in the Pig Production Chain: A Comprehensive Analysis of Its Impact on Human Health," *Pathogens (Basel, Switzerland)*, vol. 8, no. 1, pp. 1-28, 2019.
- [15] M. Cheesbrough, *Medical laboratory manual for tropical countries*, 14 Bevills Close, Doddington, Cambridgeshire, PE15 OTT., 1981.
- [16] F. Sharmin and M. Rahman, "Isolation and characterization of protease producing *Bacillus* strain FS-1," *Agricultural Engineering International: The CIGR Ejournal*, vol. 9, pp. 1-10, 2007.
- [17] A. W. Bauer, W. M. Kirby, J. C. Sherris, and M. Turck, "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method," *Technical bulletin of the Registry of Medical Technologists. American Society of Clinical Pathologists. Registry of Medical Technologists*, vol. 36, no. 3, pp. 49-52, 1966.
- [18] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (M100)," *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 2020. [Online]. Available: <http://em100.edaptivedocs.net/dashboard.aspx>. [Accessed Sept. 22, 2023].
- [19] M. H. G. Kanaan and M. T. Abdulwahid, "Prevalence rate, antibiotic resistance and biotyping of thermotolerant *Campylobacter* isolated from poultry products vended in Wasit markets," *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, vol. 7, no. 3, pp. 905-917, 2019.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] S. M. Yanestria, R. P. Rahmانيar, F. J. Wibisono, and M. H. Effendi, "Detection of *invA* gene of *Salmonella* from milkfish (*Chanos chanos*) at Sidoarjo wet fish market, Indonesia, using polymerase chain reaction technique," *Veterinary world*, vol. 12, no. 1, pp. 170-175, 2019.
- [23] A. P. Soubeiga, D. S. Kpoda, M. K. A. Compaoré *et al.*, "Molecular Characterization and the Antimicrobial Resistance Profile of *Salmonella* spp. Isolated from Ready-to-Eat Foods in Ouagadougou, Burkina Faso," *International Journal of Microbiology*, vol. 2022, 2022, Art. no. 9640828.
- [24] L. Guo, T. Xiao, L. Wu *et al.*, "Comprehensive profiling of serotypes, antimicrobial resistance and virulence of *Salmonella* isolates from food animals in China, 2015-2021," *Frontiers in microbiology*, vol. 14, 2023, Art. no. 1133241.

- [25] T. Eguale, J. Birungi, D. Asrat *et al.*, "Genetic markers associated with resistance to beta-lactam and quinolone antimicrobials in non-typhoidal *Salmonella* isolates from humans and animals in central Ethiopia," *Antimicrobial resistance and infection control*, vol. 6, p. 13, 2017.
- [26] Q. V. Tran, V. L. Ho, and X. H. Nguyen "Biological characteristics of *Salmonella* in infected ducks raised in hoai nhon district, binh dinh province," *Hue University Journal of Science: Agriculture Rural Development*, vol. 126, no. 3A, pp. 99-106, 2017.
- [27] V. M. H. Nguyen, T. V. Nguyen, J. I. Campbell, S. Baker, C. T. Nguyen, and T. P. T. Phan, "Prevalence and antibiotic resistance pattern of *Salmonella* spp. isolated from farms at Dak Lak province," *Science Technology*, vol. 18, no. T5-2015, pp. 85-94, 2015.
- [28] M. S. Ramirez and M. E. Tolmasky, "Aminoglycoside modifying enzymes," *Drug Resistance Updates*, vol. 13, no. 6, pp. 151-71, 2010.
- [29] T. H. T. Nguyen, T. V. Nguyen, T. N. Q. Nguyen, N. M. Nghiem and T. B. T. Vo, "Evaluation of antibiotic resistance genes expression in food poisoning *Salmonella typhimurium* isolated from retail pork in Ha Noi," *Academia Journal of Biology*, vol. 39, no. 2, pp. 210-218, 2017.
- [30] R. E. Castro-Vargas, M. P. Herrera-Sánchez, R. Rodríguez-Hernández, and I. S. Rondón-Barragán, "Antibiotic resistance in *Salmonella* spp. isolated from poultry: A global overview," *Veterinary world*, vol. 13, no. 10, pp. 2070-2084, 2020.
- [31] X. Y. Ho, K. T. Nguyen, and T. L. K. Ly, "Survey of *Salmonella* spp. on chickens and the environment in some farming households in Vinh Long province," (in Vietnamese), *Can Tho University Science Journal*, vol. 55, no. 6, pp. 1-6, 2019.
- [32] S. Guo, M. Y. F. Tay, K. T. Aung *et al.*, "Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolated from ready-to-eat food in Singapore using disk diffusion, broth microdilution and whole genome sequencing methods," *Food Control*, vol. 99, pp. 89-97, 2019.
- [33] B. Tang, M. Elbediwi, R. B. Nambiar, H. Yang, J. Lin, and M. Yue, "Genomic Characterization of Antimicrobial-Resistant *Salmonella enterica* in Duck, Chicken, and Pig Farms and Retail Markets in Eastern China," *Microbiology spectrum*, vol. 10, no. 5, 2022, Art. no. e0125722.
- [34] T. V. Nguyen, N. M. Nghiem, and T. B. T. Vo "Determination of antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from pork, beef, and chicken meat at the retail markets in Hanoi," *Vietnam Journal of Biotechnology*, vol. 16, no. 3, pp. 553-564, 2018.
- [35] P. H. Serrano, *Responsible use of antibiotics in aquaculture*. Food & Agriculture Org., 2005.
- [36] A. Siddique, S. Azim, A. Ali *et al.*, "Antimicrobial Resistance Profiling of Biofilm Forming Non Typhoidal *Salmonella enterica* Isolates from Poultry and Its Associated Food Products from Pakistan," *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, vol. 10, no. 7, pp. 1-14, 2021.