

## Bài báo nghiên cứu

# TÍNH TOÁN HỆ SỐ HIỆU CHỈNH TỰ HẤP THỤ PHÂN LẬP VI KHUẨN ENTEROBACTERIACEAE TỪ MẪU BÒ BÍA THU THẬP TẠI THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH VÀ KHẢO SÁT SỰ ĐỀ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA CHÚNG

*Lê Thảo Phương, Nguyễn Thị Hương, Trần Thị Minh Định\**

*Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*

*\*Tác giả liên hệ: Trần Thị Minh Định – Email: [dinhhtm@hcmue.edu.vn](mailto:dinhhtm@hcmue.edu.vn)*

*Ngày nhận bài: 05-3-2024; ngày nhận bài sửa: 02-11-2024; ngày duyệt đăng: 30-12-2024*

## TÓM TẮT

Vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae được xem là chỉ thị mức độ vệ sinh thực phẩm. Hơn nữa, họ Enterobacteriaceae bao gồm một số vi khuẩn quan trọng gây bệnh phát sinh từ thực phẩm. Nghiên cứu này nhằm phân lập vi khuẩn Enterobacteriaceae từ một mẫu bò bía thu tại Thành phố Hồ Chí Minh và khảo sát sự đề kháng kháng sinh của chúng. Tổng cộng 180 chủng vi khuẩn được thu nhận sau khi phân lập trên môi trường Endo agar và sàng lọc trên MacConkey. Dựa vào kết quả thử nghiệm của 6 phản ứng sinh hoá, gồm phản ứng Indole, phản ứng đỏ methyl, phản ứng Voges - Proskauer, khả năng sử dụng citrate, khả năng di động, đặc điểm sinh trưởng trên môi trường Triple Sugar Iron và tài liệu của Bergey (2005), 25/180 chủng vi khuẩn được xác định thuộc họ Enterobacteriaceae, chiếm 13,89%. Trong đó, *Serratia marcescens* chiếm tỉ lệ cao nhất (2,78%), tiếp theo là *Hafnia* (2,22%), *Pseudomonas aeruginosa* (1,67%), *Klebsiella pneumoniae* (1,67%), *Klebsiella oxytoca* (1,67%), *Salmonella Typhi* (1,11%), *Edwardsiella tarda* (0,56%), *Enterobacter cloacae* (0,56%), *Proteus myxofaciens* (0,56%), *Morganella morganii* (0,56%), *Yersinia pestis* (0,56%). Các chủng vi khuẩn này có mức độ đề kháng cao đối với ampicillin (76%); ít đề kháng với gentamicin (8%); không đề kháng với ciprofloxacin (0%). Những kết quả này cho thấy mẫu bò bía thu thập được nhiễm vi khuẩn Enterobacteriaceae tương đối nhiều, tiềm ẩn nguy cơ gây bệnh cho người tiêu dùng.

**Từ khóa:** đề kháng kháng sinh; Enterobacteriaceae; vệ sinh thực phẩm; bò bía

## 1. Giới thiệu

Bò bía là thức ăn đường phố phổ biến ở Thành phố Hồ Chí Minh. Chúng thường gồm có nhiều nguyên liệu khác nhau, bao gồm rau, Lạp xương và ruốc khô. Do thành phần đa

---

*Cite this article as:* Le Thao Phuong, Nguyen Thi Huong, & Tran Thi Minh Dinh (2025). Isolation of Enterobacteriaceae from a popiah sample collected in Ho Chi Minh City and assessment of their antibiotic resistance. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 22(1), 15-26.

dạng và thường được chuẩn bị ngay ở đường phố, bò bía có thể là ổ chứa tiềm năng cho nhiều mầm bệnh truyền qua thực phẩm khác nhau.

Các vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae thường được xem xét như tiêu chí xác định mức độ vệ sinh thực phẩm. Hơn nữa, họ Enterobacteriaceae bao gồm cả những vi khuẩn có khả năng gây bệnh như *Escherichia coli* gây bệnh đường ruột, *Salmonella* spp. gây bệnh thương hàn, *Vibrio cholerae* gây bệnh tả và nhiều loài thuộc họ này còn gây ngộ độc thực phẩm nguy hiểm (Halkman & Halkman, 2014).

Kháng kháng sinh là một mối đe dọa nghiêm trọng đối với việc điều trị hiệu quả các bệnh nhiễm khuẩn, đặc biệt ở các vi sinh vật gây bệnh qua thực phẩm (Vincenti et al., 2018). Các nghiên cứu đầu tiên vào những năm 1980 và 1990 đã phát hiện các vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae sản xuất  $\beta$ -lactamase phổ rộng (ESBL), gây kháng cephalosporin và các kháng sinh  $\beta$ -lactam. Từ những năm 1990 đến nay, tình trạng kháng carbapenem của Enterobacteriaceae gia tăng đáng kể, với một số trường hợp không thể điều trị bằng thuốc kháng khuẩn hiện có (Arafah, 2024). Sự gia tăng tình trạng kháng thuốc ở các vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae làm phức tạp điều trị và gây hậu quả nghiêm trọng hơn, trở thành mối lo ngại toàn cầu về sức khỏe cộng đồng (Lynch III et al., 2021).

Nghiên cứu này nhằm mục đích điều tra sự hiện diện của Enterobacteriaceae trong mẫu bò bía được thu thập tại Thành phố Hồ Chí Minh và đánh giá sự đề kháng kháng sinh của các chủng phân lập được. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp thêm dữ liệu khoa học về nguy cơ vi sinh tiềm ẩn liên quan đến việc tiêu thụ thức ăn đường phố ở Thành phố Hồ Chí Minh.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các chủng vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae được phân lập từ 01 mẫu bò bía được mua ở đường An Dương Vương, Phường 4, Quận 5, Thành phố Hồ Chí Minh vào tháng 10 năm 2023.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp phân lập vi khuẩn

Mẫu bò bía được mua từ hàng quán vỉa hè ở Quận 5 Thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu được đựng trong túi nilon vô trùng, bảo quản lạnh ở 4°C, vận chuyển về phòng thí nghiệm Sinh hoá – Vi sinh Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh và được sử dụng để phân lập trong vòng 24 giờ.

Quy trình phân lập vi khuẩn Enterobacteriaceae trên môi trường Endo agar được thực hiện theo tài liệu đã công bố (Mladenović et al., 2018). Đầu tiên, 10 g mẫu được cho vào 90mL nước cất vô trùng, lắc đều để tạo dịch huyền phù có nồng độ  $10^{-1}$  và tiếp tục được pha loãng thành nồng độ  $10^{-2}$  và  $10^{-3}$ . Tiếp theo, 0,1 mL dịch pha loãng ở mỗi nồng độ được trải đều khắp bề mặt thạch môi trường Endo agar. Các đĩa này được ủ ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ cho đến khi xuất hiện khuẩn lạc.

Mật độ vi khuẩn nhiễm trong mẫu bò bía được xác định nhờ công thức sau:

$$A = \frac{N}{n1 \times V \times f1 + n2 \times V \times f2 + n3 \times V \times f3 + n4 \times V \times f4}$$

Trong đó: A: Số lượng vi khuẩn có trong 1g mẫu; N: Tổng số khuẩn lạc đếm được; n1, n2, n3: Số lượng đĩa cấy với độ pha loãng thứ 1, 2, 3; V: Thể tích mẫu cấy vào từng đĩa (mL); f1, f2, f3: Độ pha loãng.

### 2.2.2. Phương pháp khảo sát các phản ứng sinh hoá

- *Phản ứng indole*

Vi khuẩn được cấy vào ống nghiệm chứa 5 mL môi trường Tryptophan và ủ ở 35°C (± 2°C) trong vòng 24-48 giờ. Sau đó, 3-5 giọt thuốc thử Kovac's được thêm vào mỗi ống nghiệm. Phản ứng indole (+) sẽ xuất hiện vòng màu đỏ phía trên dung dịch nuôi cấy. Phản ứng (-) cho thấy không có sự thay đổi màu sắc. Môi trường Tryptophan được sử dụng làm đối chứng âm (Aryal, 2015).

- *Phản ứng đỏ methyl*

Vi khuẩn được cấy vào ống nghiệm chứa 5 mL môi trường MR – VP và ủ ở 35°C (± 2°C) trong vòng 24 giờ. Sau đó, 2,5 mL dung dịch nuôi cấy được chuyển vào ống nghiệm vô trùng mới và 5 giọt thuốc thử đỏ methyl được thêm vào mỗi ống nghiệm. Kết quả dương tính, sau khi thêm thuốc thử, môi trường nuôi cấy chuyển sang màu đỏ do acid được tạo ra làm giảm độ pH môi trường. Kết quả âm tính, môi trường nuôi cấy không đổi màu. Môi trường MR-VP được sử dụng làm đối chứng âm (Salwan et al., 2023).

- *Phản ứng Voges - Proskauer*

Trong phản ứng này, 2,5 mL dung dịch nuôi cấy chưa sử dụng từ phản ứng đỏ methyl được chuyển vào ống nghiệm vô trùng mới. Tiếp theo, 0,6 mL α - naphthol 5% và 0,2 mL KOH 40% được thêm vào ống nghiệm. Sau đó, ống nghiệm được lắc 1 phút để tiếp xúc với oxi trong không khí. Ống nghiệm được để yên ít nhất 30 phút và đọc kết quả trong vòng 1 giờ. Kết quả dương tính, môi trường nuôi cấy chuyển sang màu đỏ. Kết quả âm tính, môi trường nuôi cấy không có sự đổi màu. Môi trường MR-VP được sử dụng làm đối chứng âm (Salwan et al., 2023).

- *Khả năng sử dụng citrate*

Vi khuẩn được cấy và nuôi từ 18 - 24 giờ trên ống thạch nghiêng chứa môi trường Simmons citrate và ủ ở 35°C (± 2°C) trong vòng 18-24 giờ; sau đó, quan sát màu của môi trường nuôi cấy. Kết quả dương tính có sự chuyển màu từ xanh lục sang xanh lam. Kết quả âm tính, môi trường nuôi cấy không đổi màu (Salwan et al., 2023).

- *Khả năng di động*

Vi khuẩn được cấy trong các ống nghiệm chứa môi trường Sulfide Indole Motility (SIM) và được ủ ở 37°C trong 24 - 48 giờ. Kết quả dương tính: vi khuẩn di động rời khỏi đường cấy phân tán vào môi trường và làm đục môi trường; tạo thành những nhánh mờ như rễ phụ tỏa ra. Kết quả âm tính: vi khuẩn chỉ phát triển dọc theo đường cấy, môi trường xung quanh vẫn trong. Nếu âm tính ủ tiếp ở 21-25°C, tối đa đến 5 ngày (Shields & Cathcart, 2011).

- *Khả năng sử dụng nguồn carbohydrate qua xét nghiệm TSI*

Vi khuẩn được cấy và ủ trong ống môi trường Triple Sugar Iron (TSI) ở nhiệt độ 35°C, từ 18-24 giờ để đánh giá khả năng lên men đường và sản xuất khí. Kết quả quan sát được ở hai phần của ống nghiệm: phần đáy (phản ánh khả năng lên men glucose) và mặt nghiêng (phản ánh khả năng lên men lactose và sucrose). Các kiểu hình A/A (lên men glucose và cả lactose/sucrose), K/A (chỉ lên men glucose), K/K (không lên men đường) kết hợp với sự có mặt của khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> và H<sub>2</sub>S giúp phân biệt các nhóm vi khuẩn khác nhau (Aryal, 2019).

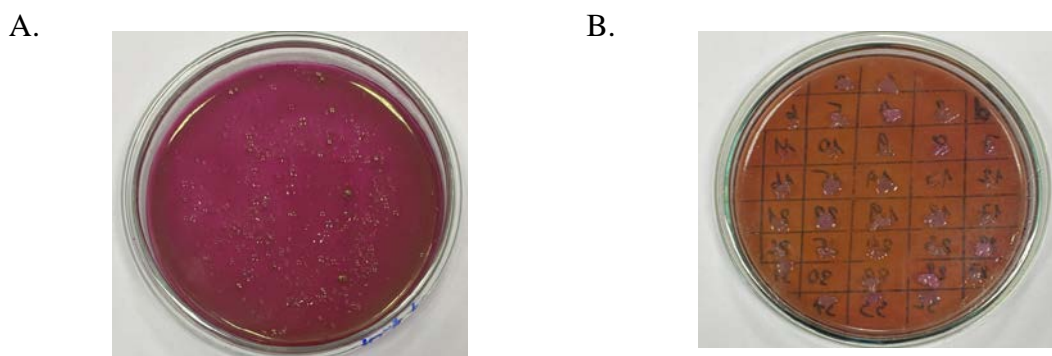
- *Khảo sát sự đề kháng kháng sinh theo phương pháp Kirby - Bauer*

Huyền dịch vi khuẩn có độ đục tương đương 0,5 McFarland được trải đều trên bề mặt môi trường Mueller Hinton Agar (MHA). Sau đó, các khoanh giấy kháng sinh được đặt lên bề mặt thạch. Đĩa thạch được để ở nhiệt độ phòng 30 phút cho kháng sinh khuếch tán đều, rồi ủ ở 35°C (± 2°C) trong vòng 20 - 24 giờ (Jan, 2009). Đường kính vùng ức chế được đo và so sánh với tài liệu của Viện Tiêu chuẩn Phòng thí nghiệm và Lâm sàng (CLSI) năm 2021 để xác định vi khuẩn Nhạy cảm (S), Trung gian (I) hay Đề kháng (R). Đối với ampicillin, >17 mm: S, 14-16 mm: I, ≤ 13 mm: R; với gentamicin, ≥ 15 mm: S; 13-14 mm: I; ≤ 12 mm: R; với ciprofloxacin, ≥ 26 mm: S, 22-25 mm: I; ≤ 21 mm: R (CLSI, 2021).

### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Kết quả phân lập

Môi trường Endo agar là môi trường chọn lọc, cho phép sự phát triển của vi khuẩn Gram âm, trong khi nó ức chế sự phát triển của các vi khuẩn Gram dương do sự có mặt của sodium sulfite và basic fuchsin. Do đó, môi trường Endo agar được sử dụng để phân lập vi khuẩn từ mẫu bò bía. Tuy nhiên, ngoài Enterobacteriaceae các vi khuẩn Gram âm khác và nấm men cũng có thể mọc trên môi trường Endo agar (Aryal, 2022). Vì vậy, các khuẩn lạc mọc trên môi trường Endo agar tiếp tục được sàng lọc bằng cách cấy chấm điểm trên môi trường MacConkey. Kết quả phân lập được thể hiện ở Hình 1.



**Hình 1.** Kết quả phân lập vi khuẩn trên môi trường Endo agar (A) và cấy chấm điểm trên MacConkey agar (B)

Kết quả từ 01 mẫu bò bía, chúng tôi thu nhận được tổng cộng 180 khuẩn lạc vi khuẩn. Mật độ vi khuẩn Gram âm nhiễm trong mẫu bò bía được xác định là  $1,6 \times 10^2$  CFU/g.

Họ Enterobacteriaceae thuộc Lãnh giới (Domain) Bacteria, Ngành Proteobacteria; Lớp Gammaproteobacteria; Bộ Enterobacteriales. Họ này gồm hơn 30 chi và 120 loài (Rock &

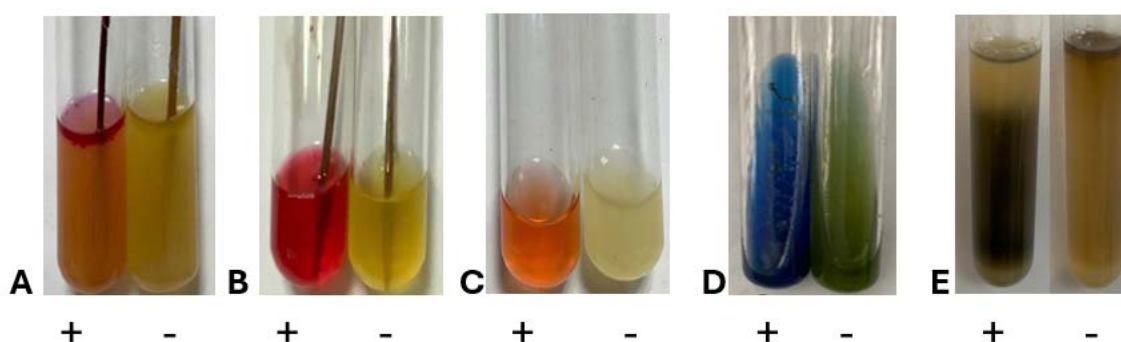
Donnenberg, 2014). Do đó, các phản ứng sinh hoá sử dụng để phân loại Enterobacteriaceae (Imhoff, 2005) được thực hiện để xác định được thành phần các loài vi khuẩn phân lập được.

### 3.2. Kết quả các phản ứng sinh hoá

Dựa vào khoá phân loại của Bergey (2005), 6 phản ứng sinh hoá gồm phản ứng indole, phản ứng đỏ methyl, phản ứng Voges – Proskauer, khả năng sử dụng citrate, khả năng di động (Hình 2), đặc điểm sinh trưởng trên môi trường TSI (Hình 3) được thực hiện để để xác định được thành phần các loài vi khuẩn.

#### 3.2.1. Phản ứng indole

Phản ứng indole sử dụng để xác định khả năng tạo ra indole từ sự phân hủy amino acid tryptophan nhờ enzyme tryptophanase.



**Hình 2. Kết quả một số phản ứng sinh hoá**

A: phản ứng indole, B: phản ứng đỏ methyl, C: phản ứng Voges – Proskauer, D: khả năng sử dụng citrate, E: khả năng di động; +: phản ứng dương tính, -: phản ứng âm tính

Kết quả cho thấy có 14/180 chủng vi khuẩn có phản ứng indole dương tính, chiếm 7,78%; 166/180 chủng vi khuẩn có phản ứng indole âm tính (Hình 2A), chiếm 92,22%.

#### 3.2.2. Phản ứng đỏ methyl

Phản ứng đỏ methyl được sử dụng để xác định khả năng vi khuẩn sản xuất và duy trì các sản phẩm cuối cùng có tính acid ổn định từ quá trình lên men glucose. Một số vi khuẩn có khả năng chuyển đổi glucose thành một số loại acid ổn định như lactic acid, acetic acid hoặc formic acid, làm giảm độ pH xuống 4,5 hoặc thấp hơn, được biểu thị bằng sự thay đổi màu của đỏ methyl từ vàng sang đỏ (phản ứng dương tính). Kết quả cho thấy có 13/180 chủng vi khuẩn cho kết quả phản ứng đỏ methyl dương tính, chiếm 7,22%; 167/180 chủng vi khuẩn cho kết quả âm tính (Hình 2B), chiếm 92,78%.

#### 3.2.3. Phản ứng Voges - Proskauer

Phản ứng Voges - Proskauer xác định khả năng của vi khuẩn tạo sản phẩm cuối mang tính trung tính là acetoin (Salwan et al., 2023). Kết quả cho thấy có 126/180 chủng vi khuẩn cho kết quả phản ứng Voges - Proskauer âm tính, chiếm 70%, 54/180 chủng vi khuẩn, kết quả dương tính, chiếm 30% (Hình 2C).

#### 3.2.3. Khả năng sử dụng citrate

Môi trường Simmons citrate được sử dụng để kiểm tra khả năng sử dụng citrate làm nguồn

năng lượng của vi sinh vật. Vi khuẩn sử dụng citrate, muối ammonium bị phá vỡ tạo thành ammoniac, do đó tăng tính kiềm. Sự chuyển đổi pH dẫn tới chuyển chất chỉ thị bromthymol blue trong môi trường từ xanh lá thành xanh da trời khi pH trên 7,6. Kết quả cho thấy có 20/180 chủng vi khuẩn không sinh trưởng được và không làm đổi màu môi trường nuôi cấy, cho kết quả âm tính, chiếm 11,11%; 160/180 chủng vi khuẩn sinh trưởng được và làm đổi màu môi trường nuôi cấy, cho kết quả dương tính, chiếm 88,89% (Hình 2D).

#### 3.2.4. Khả năng di động

Kết quả thí nghiệm kiểm tra khả năng di động của các chủng vi khuẩn cho thấy có 92/180 chủng vi khuẩn di động trong môi trường nuôi cấy, chiếm 51,11%; 88/180 chủng vi khuẩn không di động trong môi trường nuôi cấy, chiếm 48,89% (Hình 2E).

#### 3.2.5. Đặc điểm sinh trưởng trên môi trường TSI

Triple Sugar Iron (TSI) Agar là môi trường nuôi cấy được sử dụng để định danh vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae. Môi trường TSI chứa ba loại carbohydrate gồm glucose, lactose và sucrose. Vi khuẩn lên men đường tạo ra acid, biểu hiện bằng sự thay đổi màu sắc của môi trường. Nếu vi khuẩn lên men glucose nhưng không lên men lactose hoặc sucrose, mặt nghiêng sẽ trở thành màu đỏ và phần gốc vẫn màu vàng (K/A). Nếu vi khuẩn lên men glucose và lên men lactose hoặc sucrose, sản phẩm lên men được hình thành trên mặt nghiêng sẽ trung hòa amine kiềm chuyển mặt nghiêng thành acid (A/A).

Kết quả cho thấy có 15/180 chủng vi khuẩn phần nghiêng mang tính acid/phần đáy mang tính acid (A/A), sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, chiếm 8,33%; 1/180 chủng vi khuẩn A/A, không sinh khí, chiếm 0,56%; 76/180 chủng vi khuẩn phần nghiêng mang tính kiềm/phần đáy mang tính acid (K/A), sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, chiếm 42,22%; 9/180 chủng vi khuẩn K/A, không sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, chiếm 5%; có 27/180 chủng vi khuẩn K/A, sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, sản xuất H<sub>2</sub>S, chiếm 15,56%; có 26/180 chủng vi khuẩn phần nghiêng mang tính kiềm/phần đáy mang tính kiềm (K/K), không sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, chiếm 14,44%; có 1/180 chủng vi khuẩn K/K, không sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, sản xuất H<sub>2</sub>S, chiếm 0,56%; có 9/180 chủng vi khuẩn K/K, sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, chiếm 5%; có 5/180 chủng vi khuẩn K/K, sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, sản xuất H<sub>2</sub>S, chiếm 2,78%. Trong đó, 11/180 chủng vi khuẩn không sinh trưởng được trên môi trường TSI.



**Hình 3.** Kết quả sinh trưởng trên môi trường TSI của một số chủng vi khuẩn  
A: đối chứng âm, B: AA, sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, C: KA, sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, D: sinh khí H<sub>2</sub>S, CO<sub>2</sub> và H<sub>2</sub>, E: KK, sinh khí CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>

**Bảng 1. Kết quả khảo sát các đặc sinh hóa của các chủng vi khuẩn**

STT	Kí hiệu chủng	Lên men lactose	Phản ứng sinh hóa					Di động	Urea	Tên chi/loài
			Indole	MR	VP	Citrate	TSI			
1	A8	+	-	-	+	+	AA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
2	B1	+	-	-	+	+	AA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
3	B2	+	+	-	+	+	AA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	-	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>
4	C25	+	-	-	+	-	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	+	-	<i>Hafnia</i>
5	C34	+	-	-	+	-	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	+	+	<i>Hafnia</i>
6	D7	+	-	-	+	+	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , có	-	-	<i>Yersinia pestis</i>
7	D9	-	-	-	-	+	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	+	-	<i>Serratia marcesens</i>
8	D11	+	-	-	+	-	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	+	+	<i>Hafnia</i>
9	D16	-	-	-	-	+	KK, không sinh khí	+	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
10	D17	-	-	-	+	+	KA, không sinh khí	+	+	<i>Serratia marcesens</i>
11	D18	-	-	-	+	+	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	+	-	<i>Serratia marcesens</i>
12	D19	-	-	+	+	+	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , có H <sub>2</sub> S	+	+	<i>Hafnia</i>
13	D25	-	+	+	-	-	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , có H <sub>2</sub> S	+	-	<i>Edwardsiella tarda</i>
14	D33	+	+	-	+	+	AA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	-	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>
15	D34	-	-	-	-	+	KK, không sinh khí	+	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
16	E10	+	+	+	-	-	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	+	+	<i>Morganella morganii</i>
17	E26	-	-	-	+	+	AA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	-	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
18	E31	+	-	-	+	+	KK, không sinh khí	+	+	<i>Serratia marcesens</i>
19	F9	-	-	-	-	+	KK, không sinh khí	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
20	F10	+	-	-	+	+	KK, không sinh khí	+	+	<i>Serratia marcesens</i>
21	F16	+	-	+	-	+	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , có H <sub>2</sub> S	+	+	<i>Salmonella Typhi</i>
22	F18	+	-	-	+	+	AA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	+	-	<i>Enterobacter cloacae</i>
23	F20	+	+	-	+	+	AA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	-	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>
24	F21	+	-	+	+	+	AA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	+	-	<i>Proteus myxofaciens</i>
25	F25	+	-	+	-	+	KA, sinh khí CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , có H <sub>2</sub> S	+	-	<i>Salmonella Typhi</i>

(+): phản ứng dương tính, (-): phản ứng âm tính



Dựa vào kết quả của các phản ứng sinh hoá và tài liệu phân loại vi khuẩn của Bergey (2005), 25/180 chủng vi khuẩn (13,89%) có thể được phân loại thành chi hoặc loài khác nhau (Bảng 1), còn lại 155/180 chủng chưa được phân loại (86,11%). Trong số các chủng được phân loại, 3 chủng A8, B1, E26 là *Klebsiella pneumoniae*; 3 chủng B2, D33, F20 là *Klebsiella oxytoca*; 4 chủng C25, C34, D11, D19 là *Hafnia* sp.; 1 chủng D7 là *Yersinia pestis*; 5 chủng D9, E31, F10, D17, D18 là *Serratia marcesens*; 3 chủng D16, D34, F9 là *Pseudomonas aeruginosa*; 1 chủng D25 là *Edwardsiella tarda*; 2 chủng F16, F25 là *Salmonella* Typhi; 1 chủng F18 là *Enterobacter cloacae*; 1 chủng F21 là *Proteus myxofaciens*; 1 chủng E10 là *Morganelia morganii* (Bảng 1).

Như vậy, trong số 180 khuẩn lạc có đặc điểm đặc trưng của vi khuẩn họ Enterobacteriaceae phân lập được từ bò bía, 3/180 là *Klebsiella pneumoniae*, chiếm 1,67%; 4/180 là *Hafnia* spp., chiếm 2,22%; 1/180 là *Yersinia pestis*, chiếm 0,56%; 5/180 là *Serratia marcesens*, chiếm 2,78%; 3/180 là *Pseudomonas aeruginosa*, chiếm 1,67%; 1/180 là *Edwardsiella tarda*, chiếm 0,56%; 2/180 là *Salmonella* Typhi, chiếm 1,11%; 1/180 là *Enterobacter cloacae*, chiếm 0,56%; 1/180 là *Morganelia morganii*, chiếm 0,56%.

Các chủng vi khuẩn được phân lập từ bò bía thể hiện sự đa dạng về số loài vi khuẩn. Tổng cộng 9 chi vi khuẩn khác nhau được phát hiện trong mẫu bò bía; trong đó *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* và *S. marcesens* chiếm tỉ lệ cao nhất. Một số loài vi khuẩn như *K. pneumoniae*, *S. marcesens*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* Typhi và *E. cloacae* có thể gây bệnh cho người.

Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng *K. pneumoniae* có thể hiện diện trong một tỉ lệ đáng kể các mẫu thức ăn đường phố. Nghiên cứu từ nhiều quốc gia khác nhau, bao gồm Malaysia, Ấn Độ và Indonesia, báo cáo tỉ lệ ô nhiễm dao động từ 22% đến 32%. Sự hiện diện của *K. pneumoniae* trong thức ăn đường phố rất đáng lo ngại vì nó có thể gây ra nhiều bệnh khác nhau (Giri et al., 2021; Budiarto et al., 2020).

*P. aeruginosa* có khả năng trao đổi chất linh hoạt, tốc độ sinh trưởng nhanh, khả năng thích nghi cao và khả năng phát triển ở nhiệt độ thấp nên *P. aeruginosa* đang nổi lên như một tác nhân gây nhiễm khuẩn thực phẩm đáng lưu ý (Li et al., 2023).

*Salmonella* spp. là những nguyên nhân phổ biến nhất gây bùng phát dịch bệnh do thực phẩm ở người. Chúng là những mối nguy hiểm từ thực phẩm gây ra gánh nặng hàng năm cao nhất và số ca tử vong lớn nhất trên toàn cầu (Truong Huynh Anh Vu et al., 2021).

Các chủng được định danh tiếp tục được sử dụng để kiểm tra sự đề kháng với 3 loại kháng sinh là ampicillin, ciprofloxacin và gentamicin.

### 3.3. Sự đề kháng kháng sinh

Ampicillin thuộc nhóm penicillin, là một loại kháng sinh phổ rộng, có hiệu quả chống lại nhiều loại vi khuẩn. Gentamicin là kháng sinh thuộc nhóm aminoglycoside, là nhóm kháng sinh an toàn và hiệu quả nên được xếp vào danh sách thuốc thiết yếu của Tổ chức Y tế Thế giới. Ciprofloxacin là kháng sinh flouoroquinolone thế hệ 2, có phổ kháng



khuẩn rộng và được chỉ định trong nhiều bệnh nhiễm khuẩn. Do đó, các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu này được khảo sát sự đề kháng đối với ampicillin, gentamicin và ciprofloxacin. Kết quả khảo sát sự đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn được thể hiện trong Bảng 2.

**Bảng 2.** Kết quả khảo sát sự đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn

STT	Kí hiệu chủng	Tên vi khuẩn	Ampicillin		Gentamicin		Ciprofloxacin	
			Đường kính vòng vô khuẩn (mm)	Sự đề kháng	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)	Sự đề kháng	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)	Sự đề kháng
1	A8	<i>K. pneumoniae</i>	6 ± 2	R	25 ± 2	S	33 ± 2	S
2	B1	<i>K. pneumoniae</i>	20 ± 2	S	25 ± 2	S	45 ± 2	S
3	B2	<i>K. pneumoniae</i>	7 ± 1	R	20 ± 1	S	40 ± 3	S
4	C25	<i>K. pneumoniae</i>	7 ± 3	R	30 ± 3	S	40 ± 3	S
5	C34	<i>Enterobacter cloacae</i>	8 ± 2	R	23 ± 2	S	45 ± 1	S
6	D7	<i>Yersinia pestis</i>	25 ± 2	S	17 ± 2	S	35 ± 2	S
7	D9	<i>Serratia marcesens</i>	7 ± 1	R	25 ± 1	S	45 ± 2	S
8	D11	<i>Hafnia</i>	6 ± 1	R	18 ± 1	S	40 ± 1	S
9	D16	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 ± 2	R	25 ± 2	S	50 ± 2	S
10	D17	<i>S. marcesens</i>	8 ± 2	R	10 ± 1	R	30 ± 2	S
11	D18	<i>S. marcesens</i>	7 ± 1	R	17 ± 2	S	25 ± 2	S
12	D19	<i>Hafnia</i>	25 ± 1	S	10 ± 1	R	28 ± 2	S
13	D25	<i>Edwardsiella tarda</i>	40 ± 2	S	15 ± 1	S	35 ± 2	S
14	D33	<i>K. oxytoca</i>	6 ± 2	R	15 ± 1	S	37 ± 1	S
15	D34	<i>P. aeruginosa</i>	7 ± 2	R	16 ± 1	S	35 ± 2	S
16	E10	<i>Morganelia morganii</i>	15 ± 1	I	28 ± 2	S	47 ± 2	S
17	E26	<i>K. pneumoniae</i>	6 ± 1	R	20 ± 1	S	38 ± 2	S
18	E31	<i>S. marcesens</i>	10 ± 2	R	25 ± 1	S	35 ± 1	S
19	F9	<i>P. aeruginosa</i>	7 ± 2	R	25 ± 1	S	38 ± 2	S
20	F10	<i>S. marcesens</i>	7 ± 1	R	19 ± 1	S	25 ± 2	I
21	F16	<i>Salmonella</i> Typhi	8 ± 2	R	25 ± 2	S	40 ± 1	S
22	F18	<i>E. cloacae</i>	20 ± 1	S	25 ± 1	S	35 ± 1	S
23	F20	<i>K. oxytoca</i>	7 ± 2	R	25 ± 1	S	30 ± 1	S
24	F21	<i>Proteus myxofaciens</i>	8 ± 2	R	23 ± 1	S	35 ± 1	S
25	F25	<i>Salmonella</i> Typhi	7 ± 2	R	36 ± 1	S	40 ± 1	S

Kết quả khảo sát cho thấy 19/25 chủng phân lập được đề kháng với kháng sinh ampicillin, 1/25 chủng phân lập được cho kết quả trung gian với kháng sinh ampicillin, 5 chủng nhạy cảm với ampicillin; 23/25 chủng phân lập được nhạy cảm với gentamicin, 2/25 chủng phân lập được đề kháng với kháng sinh gentamicin, 24/25 chủng nhạy cảm với kháng sinh ciprofloxacin, 1/25 chủng đề kháng trung gian với ciprofloxacin. Như vậy, tỉ lệ đề kháng ampicillin là 76%; gentamicin là 8%; ciprofloxacin là 0%.

#### 4. Kết luận

Tổng cộng 180 chủng vi khuẩn có đặc điểm đặc trưng của vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae được phân lập từ một mẫu bò bía mua ở quận 5 Thành phố Hồ Chí Minh. Dựa vào khoá phân loại của Bergey (2005) và 6 phản ứng sinh hóa gồm phản ứng indole, phản ứng đỏ methyl, phản ứng Voges - Proskauer, khả năng sử dụng citrate, khả năng di động và đặc điểm sinh trưởng trên môi trường TSI, 25/180 (13,89%) chủng vi khuẩn được xác định thuộc họ Enterobacteriaceae, 155/180 chủng chưa được phân loại (86,11%). Các chủng được phân loại gồm *K. pneumoniae* (1,67%); *Hafnia* spp. (2,22%); *Y. pestis* (0,56%); *S. marcescens* (2,78%); *P. aeruginosa* (1,67%); *E. tarda* (0,56%); *Salmonella* Typhi (1,11%); *E. cloacae* (0,56%); *M. morgani* (0,56%). Các chủng vi khuẩn này có mức độ đề kháng cao đối với ampicillin (76% đề kháng, 4% trung gian, 20% nhạy cảm); ít đề kháng gentamicin (8% đề kháng, 92% nhạy cảm); không đề kháng với ciprofloxacin (4% trung gian, 96% nhạy cảm). Những kết quả này cho thấy mẫu bò bía thu thập được nhiễm vi khuẩn Enterobacteriaceae tương đối nhiều, tiềm ẩn nguy cơ gây bệnh cho người tiêu dùng.

Tuy nhiên, nghiên cứu này chỉ thực hiện trên một mẫu bò bía duy nhất, để có kết luận chính xác hơn về tình trạng nhiễm vi khuẩn Enterobacteriaceae của bò bía, cần thực hiện nghiên cứu trên số lượng mẫu lớn hơn. Thêm vào đó, các chủng vi khuẩn phân lập được trong đề tài chỉ mới được định danh dựa vào kết quả của các thử nghiệm sinh hoá, để có kết quả định danh chắc chắn hơn, cần kết hợp các phương pháp định danh hiện đại khác.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Arafah, A. A. (2024). Antibiotic Resistance Trends Among Enterobacteriaceae in Saudi Arabia: A Systematic Review. *Cureus*, 16(3), e56614. <https://doi.org/10.7759/cureus.56614>
- Aryal, S. (2015, September 6). *Indole Test- Principle, Reagents, Procedure, Result Interpretation and Limitations*. Microbiology Info.Com. <https://microbiologyinfo.com/indole-test-principle-reagents-procedure-result-interpretation-and-limitations/>
- Aryal, S. (2019, April 26). *The Triple Sugar Iron (TSI) Test—Procedure, Uses and Interpretation*. Microbiology Info.Com. <https://microbiologyinfo.com/triple-sugar-iron-tsi-test/>
- Aryal, S. (2022, January 3). *Endo Agar- Composition, Principle, Preparation, Results, Uses*. Microbe Notes. <https://microbenotes.com/endo-agar/>
- Budiarso, T. Y., Prihatmo, G., Restiani, R., & Pakpahan, S. (2020). Isolation and identification of *Klebsiella pneumoniae* in street foods and drinks in Yogyakarta, Indonesia. *Malaysian Applied Biology*, 49(3), 117-122. <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v49i3.1554>

- CLSI. (2021). *M100-Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 31st Edition*. CLSI.
- Giri, S., Kudva, V., Shetty, K., & Shetty, V. (2021). Prevalence and Characterization of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Ready-to-Eat Street Foods. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(7), 850. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070850>
- Halkman, H. B. D., & Halkman, A. K. (2014). Indicator Organisms. In C. A. Batt & M. L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)* (pp. 358-363). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00396-7>
- Haryani, Y., Noorzaleha, A. S., Fatimah, A. B., Noorjahan, B. A., Patrick, G. B., Shamsinar, A. T., Laila, R. A. S., & Son, R. (2007). Incidence of *Klebsiella pneumoniae* in street foods sold in Malaysia and their characterization by antibiotic resistance, plasmid profiling, and RAPD-PCR analysis. *Food Control*, 18(7), 847-853. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.04.009>
- Imhoff, J. F. (2005). "Enterobacteriales." In D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley, G. M. Garrity, D. R. Boone, P. De Vos, M. Goodfellow, F. A. Rainey, & K.-H. Schleifer (Eds.), *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume Two The Proteobacteria Part B The Gammaproteobacteria* (pp. 587-850). Springer US. [https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7\\_13](https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7_13)
- Jan, H. (2009). *Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol*. ASM.Org. <https://asm.org:443/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>
- Krieg, N. R., & Padgett, P. J. (2011). 3—Phenotypic and Physiological Characterization Methods. In F. Rainey & A. Oren (Eds.), *Methods in Microbiology* (Vol. 38, pp. 15-60). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387730-7.00003-6>
- Li, X., Gu, N., Huang, T. Y., Zhong, F., & Peng, G. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: A typical biofilm forming pathogen and an emerging but underestimated pathogen in food processing. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1114199. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1114199>
- Lynch III, J. P., Clark, N. M., & Zhanel, G. G. (2021). Escalating antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae: Focus on carbapenemases. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 22(11), 1455-1474. <https://doi.org/10.1080/14656566.2021.1904891>
- Mladenović, K. G., Muruzović, M. Ž., Žugić Petrović, T., Stefanović, O. D., & Čomić, L. R. (2018). Isolation and identification of Enterobacteriaceae from traditional Serbian cheese and their physiological characteristics. *Journal of Food Safety*, 38(1), e12387. <https://doi.org/10.1111/jfs.12387>
- Rock, C., & Donnenberg, M. S. (2014). Human Pathogenic Enterobacteriaceae. In *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00136-7>
- Salwan, R., Rana, A., & Sharma, V. (2023). Chapter 8—Basic experiments in microbial biochemistry. In R. Salwan & V. Sharma (Eds.), *Laboratory Methods in Microbiology and Molecular Biology* (pp. 87-104). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95078-7.00011-5>
- Shields, P., & Cathcart, L. (2011, November 1). *Motility Test Medium Protocol* [American Society for Microbiology]. Motility Test Medium Protocol. <https://asm.org:443/Protocols/Motility-Test-Medium-Protocol>

- Truong, H. A. V., Chu, V. H., Huynh, Y. H., & Nguyen, H. K. T. (2021). Antibiotic Resistance in Salmonella Isolated from Ho Chi Minh City (Vietnam) and Difference of Sulfonamide Resistance Gene Existence in Serovars. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(4), 2244-2251. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.4.46>
- Vincenti, S., Raponi, M., Sezzatini, R., Giubbini, G., & Laurenti, P. (2018). Enterobacteriaceae Antibiotic Resistance in Ready-to-Eat Foods Collected from Hospital and Community Canteens: Analysis of Prevalence. *Journal of Food Protection*, 81(3), 424-429. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-317>

---

## ISOLATION OF ENTEROBACTERIACEAE FROM A POPIAH SAMPLE COLLECTED IN HO CHI MINH CITY AND ASSESSMENT OF THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE

*Le Thao Phuong, Nguyen Thi Huong, Tran Thi Minh Dinh* \*

*Ho Chi Minh City University of Education, Vietnam*

\*Corresponding author: Tran Thi Minh Dinh – Email: [dinhhtm@hcmue.edu.vn](mailto:dinhhtm@hcmue.edu.vn)

Received: March 05, 2024; Revised: November 02, 2024; Accepted: December 30, 2024

### ABSTRACT

Members of the Enterobacteriaceae family are commonly used as indicators of food hygiene and include several important foodborne pathogens. This study aimed to isolate Enterobacteriaceae from a popiah sample collected in Ho Chi Minh City and investigate their antibiotic resistance status. Bacterial isolation was performed using Endo agar and MacConkey agar, yielding 180 strains. Identification was conducted through six biochemical tests (indole, methyl red, Voges-Proskauer, citrate utilization, motility, and Triple Sugar Iron) and reference to Bergey's Manual (2005), confirming that 25 of 180 strains (13.89%) belonged to the Enterobacteriaceae family. *Serratia marcescens* was the most prevalent species (2.78%), followed by *Hafnia* (2.22%), *Pseudomonas aeruginosa* (1.67%), *Klebsiella pneumoniae* (1.67%), *Klebsiella oxytoca* (1.67%), *Salmonella Typhi* (1.11%), *Edwardsiella tarda* (0.56%), *Enterobacter cloacae* (0.56%), *Proteus myxofaciens* (0.56%), *Morganella morganii* (0.56%), and *Yersinia pestis* (0.56%). Antibiotic susceptibility testing revealed high resistance to ampicillin (76%), moderate resistance to gentamicin (8%), and no resistance to ciprofloxacin (0%). These findings suggest that the popiah sample was relatively contaminated with Enterobacteriaceae bacteria, posing a potential risk of infection to consumers.

**Keywords:** Antibiotic resistance; Enterobacteriaceae; food hygiene; popiah