

Đánh giá khả năng kháng chất tẩy rửa của vi khuẩn *Salmonella enterica* phân lập từ thịt gà tại Hà Nội

Nguyễn Tuấn Thành¹, Ninh Thị Hạnh¹, Phạm Văn Quân², Nguyễn Hùng Thanh³, Vũ Khánh Vân¹, Nguyễn Thành Trung^{1*}

¹Khoa Vi sinh và Biến đổi gen, Viện Kiểm nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm Quốc gia, 65 Phạm Thiện Duật, phường Mai Dịch, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Khoa Động thực vật Thực nghiệm, Viện Kiểm nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm Quốc gia, 65 Phạm Thiện Duật, phường Mai Dịch, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Văn phòng Bộ Khoa học và Công nghệ, 113 Trần Duy Hưng, phường Trung Hòa, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 28/8/2023; ngày chuyển phản biện 31/8/2023; ngày nhận phản biện 22/9/2023; ngày chấp nhận đăng 26/9/2023

Tóm tắt:

Salmonella enterica là mầm bệnh thực phẩm phổ biến được tìm thấy trong môi trường chế biến, giết mổ gia cầm. Do đó, hiểu biết về khả năng đề kháng chất kháng khuẩn của nhóm vi khuẩn này đóng vai trò thiết yếu để đưa ra phương án kiểm soát mầm bệnh hiệu quả. Tại Việt Nam, nghiên cứu này mở ra một hướng tìm hiểu mới về khả năng đề kháng chất tẩy rửa và sự phân bố của các gen mã hóa cho kiểu hình này trên đối tượng các chủng vi khuẩn *Salmonella*. 119 chủng vi khuẩn *Salmonella* được sử dụng cho thử nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) với 2 hoạt chất BKC (Benzalkonium chloride) và CPC (Cetylpyridinium chloride) theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn phòng thí nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ (CLSI). Đồng thời, nghiên cứu sử dụng chỉ thị sinh học phân tử nhằm phát hiện sự có mặt của 2 gen *qacE* và *qacEΔ* trong hệ gen của các chủng vi khuẩn *Salmonella*. Kết quả cho thấy, MIC của BKC và CPC lần lượt là 12,5-25 và 6,25-12,5 µg/ml. Ngoài ra, sự phân bố rộng rãi của 2 gen *qacE* và *qacEΔ* với tỷ lệ lần lượt là 61% (73/119) và 60% (72/119) cho thấy điểm mới lạ về khả năng đề kháng của vi khuẩn này với 2 hoạt chất tẩy rửa.

Từ khóa: benzalkonium chloride, cetylpyridinium chloride, gen *qacE*, gen *qacEΔ*, kháng chất tẩy rửa, MIC, *Salmonella*.

Chỉ số phân loại: 1.6

1. Giới thiệu

S. enterica, nguyên nhân chính của bệnh salmonellosis, là một trong những mầm bệnh thực phẩm phổ biến trên toàn thế giới. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), lây nhiễm *Salmonella* là nguyên nhân của 600 triệu ca bệnh và 300 triệu ca tử vong mỗi năm [1]. Phơi nhiễm *Salmonella* hình thành nguy cơ tiềm ẩn về sốt cấp tính, đau bụng, tiêu chảy và sự xâm nhập của mầm bệnh kháng kháng sinh là mối nguy lớn đe dọa sức khỏe cộng đồng. Hàng năm, Trung tâm Kiểm soát và Phòng ngừa dịch bệnh Hoa Kỳ (CDC) ước tính có 2 triệu ca bệnh gây ra bởi nhóm vi khuẩn kháng kháng sinh, trong đó *Salmonella* không gây thương hàn có liên quan tới hơn 100.000 ca nhiễm khuẩn kháng thuốc [2]. Hiện tượng kháng thuốc được phát hiện gắn liền với việc sử dụng quá mức kháng sinh trong y học lâm sàng, thú y và chăn nuôi động vật [3]. Từ đó, các chủng vi khuẩn *Salmonella* kháng thuốc khác nhau đã được phân lập từ các sản phẩm có nguồn gốc động vật, đặc biệt là thịt gia cầm và môi trường xung quanh [4, 5]. Nhằm ngăn ngừa và kiểm soát sự gia tăng của vi sinh vật trong môi trường sản xuất, các kế hoạch làm sạch được áp dụng thường xuyên bằng cách sử dụng các loại dung dịch tẩy rửa và khử trùng [6]. Tuy nhiên, việc sử dụng rộng rãi các hóa chất này có thể vô tình chọn lọc ra nhóm vi khuẩn sở hữu đồng thời khả năng kháng kháng sinh và các hợp chất kháng khuẩn khác [7].

Các hợp chất chứa gốc amoni bậc bốn (QAC) là chất khử trùng cation được sử dụng để làm sạch khu vực chế biến và sản xuất nhằm đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm [8, 9]. Mặc dù cơ chế kháng khuẩn của các hợp chất này vẫn chưa được làm rõ, một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, chúng có thể sửa đổi các đặc tính bề mặt phi sinh học, giảm bám dính và từ đó ngăn ngừa sự gắn kết của vi khuẩn [6]. Các QAC

hoạt động bề mặt như BKC và CPC là thành phần phổ biến của dung dịch tẩy rửa, dung dịch khử trùng áp dụng trong các lò mổ và xưởng sản xuất [10, 11]. Tuy nhiên, một số vi khuẩn như *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* và *Staphylococcus aureus* phân lập từ thịt gà hoặc thịt lợn đã cho thấy khả năng đề kháng đối với các hợp chất này [12]. Cho đến nay, các trường hợp *Salmonella* kháng BKC và CPC đã được báo cáo và một trong những cơ chế chính của tình trạng này là sự tồn tại của *Salmonella* mang gen kháng chất tẩy rửa [13]. Trong đó, *qacE* và *qacEΔ* là 2 gen phổ biến được tìm thấy trong nhóm này; chúng thuộc họ gen SMR và nằm trong vùng bảo tồn đầu 3' trên một số integron của vi khuẩn gram âm như *Salmonella* [14-16]. Sự biểu hiện các gen này ở *Salmonella* được chứng minh trong chỉ số MIC cao tương đồng với khả năng đề kháng chất tẩy rửa. Hiện nay tại Việt Nam, các nghiên cứu về khả năng kháng QAC và sự phân bố của gen liên quan trên đối tượng vi khuẩn *Salmonella* còn rất hạn chế. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm kiểm tra sự phân bố của 2 gen *qacE*, *qacEΔ* và mối tương quan của chúng với khả năng kháng QAC ở các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ các sản phẩm gia cầm bán lẻ.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Chuẩn bị chủng, môi trường và điều kiện nuôi cấy

Tổng cộng 119 chủng vi khuẩn *Salmonella* trong nghiên cứu này được tiếp nối sử dụng từ nghiên cứu trước đó của T. Wassenaar và cs (2015) [17]. Vi khuẩn được phân lập và bảo quản trong dịch tăng sinh Brain heart infusion - BKC BHI (Merck, Đức) có chứa 15% (v/v) glycerol và cất trữ ở điều kiện nhiệt độ -80°C. Chủng vi khuẩn từ các ống bảo quản được cấy ria lên đĩa thạch Xylose lysine deoxycholate - BKC XLD (Merck, Đức) và ủ qua đêm ở 37°C. Dịch khuẩn sử dụng trong thử nghiệm kháng chất tẩy rửa

*Tác giả liên hệ: Email: trungnt@nifc.gov.vn

Disinfectant resistance of *Salmonella enterica* isolated from retail chicken in Hanoi, Vietnam

Tuan Thanh Nguyen¹, Thi Hanh Ninh¹, Van Quan Pham²,
Hung Thanh Nguyen³, Khanh Van Vu¹,
Thanh Trung Nguyen^{1*}

¹Department of Microbiology and Genetic Modification,
National Institute for Food Safety and Hygiene Testing,
65 Pham Than Duat, Mai Dich Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

²Department of Experimental Flora and Fauna,
National Institute for Food Safety and Hygiene Testing,
65 Pham Than Duat, Mai Dich Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

³Office of the Ministry of Science and Technology,
113 Tran Duy Hung, Trung Hoa Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 28 August 2023; revised 22 September 2023; accepted 26 September 2023

Abstract:

Salmonella enterica is the most common foodborne pathogen found in poultry processing and slaughterhouses; therefore, understanding the resistance of this bacteria group is critical for effective pathogen control. This research in Vietnam provides a new field for studying resistance to biocides and disinfectants, along with the distribution of genes coding for this characteristic in *Salmonella* species members. According to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines, 119 strains of *Salmonella* bacteria underwent testing for minimum inhibitory concentration (MIC) with two compounds, BKC (benzalkonium chloride) and CPC (cetylpyridinium chloride). Moreover, these *Salmonella* strains were further characterised based on the genes responsible for disinfectant resistance. The results showed that the MICs of BKC and CPC were between 12.5-25 and 6.25-12.5 µg/ml, respectively. Furthermore, the presence of two genes, *qacE* and *qacEΔ*, discovered in 61% (73/119) and 60% (72/119) of the strains, indicates the wide spread of disinfectant resistance genes is a novelty in the resistance of this bacteria group.

Keywords: benzalkonium chloride, cetylpyridinium chloride, disinfectant resistance, minimum inhibitory concentration, *qacE* gene, *qacEΔ* gene, *Salmonella*.

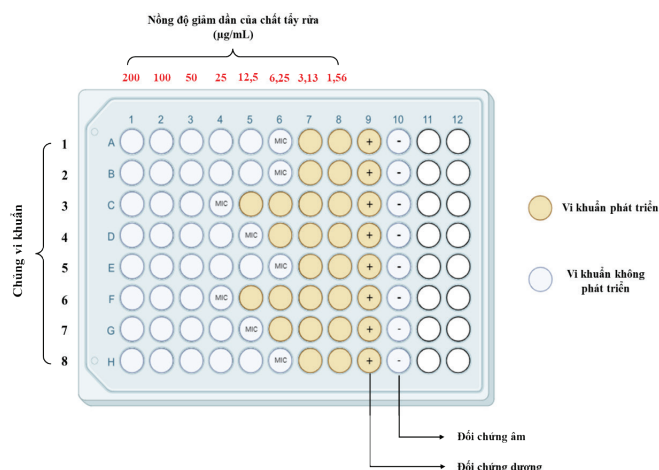
Classification number: 1.6

được chuẩn bị bằng cách ủ một khuẩn lạc thu được trên đĩa XLD vào dịch tăng sinh TSB và ủ ở nhiệt độ 37°C trong 18-24 giờ.

2.2. MIC của dung dịch tẩy rửa

MIC của 2 hợp chất QAC, BKC và CPC được xác định trên đĩa polystyrene 96 giếng sử dụng phương pháp pha loãng vi cấp theo hướng dẫn của CLSI. Đầu tiên, khuẩn lạc thuần chủng được tăng sinh trong dịch TSB ở điều kiện nhiệt độ 37°C trong 18-24 giờ để thu được số lượng tế bào khoảng 10⁹ CFU/ml. Dịch tăng sinh *Salmonella* sau đó được đưa về nồng độ 10⁶ CFU/ml trước khi thực hiện các bước thí nghiệm tiếp theo.

Khi hoàn thành quá trình chuẩn bị dịch khuẩn, 200 µl chất tẩy rửa QAC được thêm vào các giếng thứ nhất của mỗi hàng; cùng lúc, các giếng tiếp theo của cùng một hàng được bổ sung 100 µl TSB. Dung dịch kháng khuẩn sau đó được pha loãng 2 lần thông qua việc chuyển 100 µl thể tích QAC ở giếng đầu tiên sang các giếng tiếp theo; quá trình được tiếp tục sao cho nồng độ cuối cùng của QAC giảm dần từ 200 µg/ml ở giếng thứ nhất và 1,56 µg/ml ở giếng cuối cùng. Đối chứng dương của thí nghiệm bao gồm 100 µl dịch nuôi cấy khuẩn và 100 µl TSB; đối chứng âm biểu hiện tác động giữa TSB và chất tẩy rửa, có chứa 100 µl thể tích QAC bổ sung 100 µl TSB. Địa thí nghiệm sau đó được ủ ở 37°C trong 24 giờ để xác định sự phát triển của vi khuẩn thông qua quan sát độ đục. Trong nghiên cứu này, MIC được xác định là nồng độ thấp nhất của chất kháng khuẩn có khả năng ức chế sự phát triển của *Salmonella* (hình 1).



Hình 1. Thử nghiệm MIC của chất tẩy rửa.

2.3. Phản ứng khuếch đại gen PCR

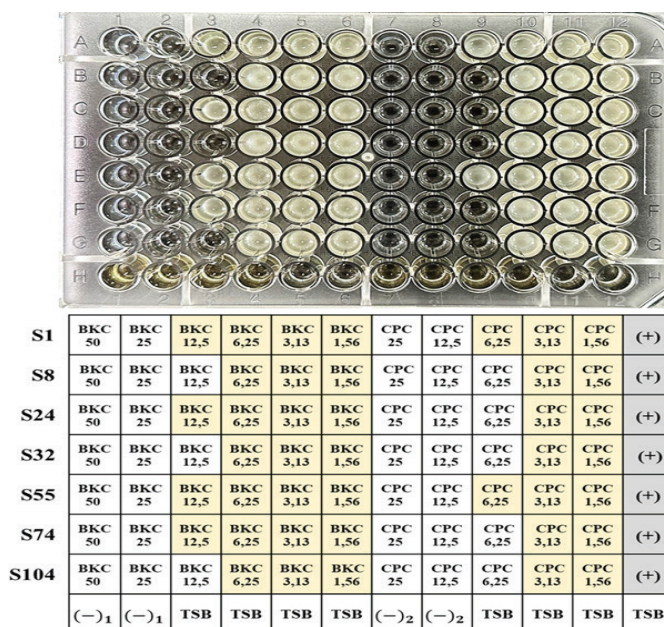
DNA hệ gen được chiết xuất từ dịch tăng sinh của khuẩn lạc phân lập sử dụng PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Thermofisher Scientific) theo hướng dẫn của nhà cung cấp. Cặp mồi sử dụng cho phản ứng khuếch đại gen đích *qacE* và *qacEΔ* được tham khảo từ nghiên cứu của T. Obe và cs (2021) [18], bao gồm: *qacE*-For (5'-AGCCCCATACCTACAAAG-3') và *qacE*-Rev (5'-AGCTTGCCCTTCCGC-3'); *qacEΔ*-For (5'-AAGTAATCGCAACATCCG-3') và *qacEΔ*-Rev (5'-ATAAGCAACACCGACAGG-3'). Thể tích cuối cho phản ứng PCR là 25 µl, bao gồm 3 µl (80-120 ng) khung DNA, 6,5 µl nước nuclease-free, 12,5 µl 2x Promega GoTaq master mix (M7122, Promega, Madison, WI) và 1,5 µl mỗi mồi F/R (10 mM). Chu trình nhiệt đối với gen *qacE* và *qacEΔ* bao gồm giai đoạn biến tính ban đầu ở 95°C trong 5 phút và 30 chu kỳ lặp lại 3 giai đoạn: biến tính trong 30 giây ở 95°C, gắn mồi trong 30 giây ở 56°C, kéo dài trong 30 giây ở 72°C và kéo dài cuối cùng trong 10 phút ở 72°C. Sản phẩm khuếch đại PCR được tiến hành điện di trong 47 phút ở 110 V trên gel agarose 2,0% (w/v) có chứa thuốc nhuộm Redsafe (INTRON, Biotechnology, code:21141). Thang chuẩn sử dụng trong quá trình phân tích kết quả điện di là GeneRuler 50 bp DNA Ladder (Thermofisher Scientific).

3. Kết quả

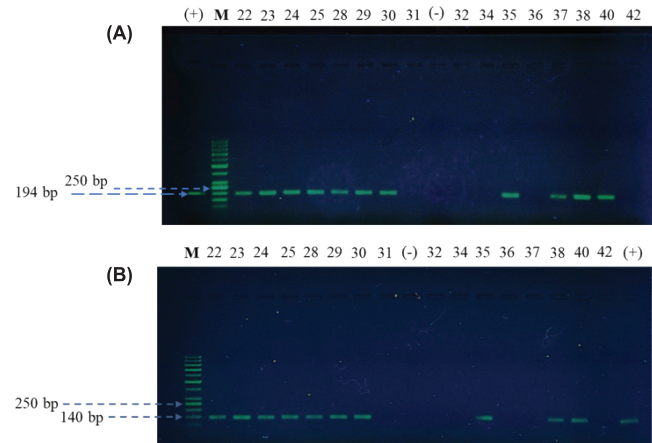
Tham khảo nghiên cứu của T. Obe và cs (2021) [18], chúng tôi phân chia các chủng vi khuẩn *Salmonella* thành 3 nhóm dựa trên khả năng chống chịu với hợp chất QAC: giá trị MIC 3,13-6,25 µg/ml là chủng nhạy cảm với chất tẩy rửa; giá trị MIC 6,25-12,5 µg/ml là chủng có khả năng chống chịu trung bình; giá trị MIC 12,5-25 µg/ml là các chủng có khả năng đề kháng. Theo kết quả được ghi nhận ở bảng 1, đối với dung dịch tẩy rửa BKC, tất cả các chủng vi khuẩn *Salmonella* thuộc nghiên cứu cho giá trị MIC dao động 12,5-25 µg/ml, tương ứng với khả năng chống chịu trung bình tới đề kháng. Các chủng chống chịu trung bình chiếm tỷ lệ 46% (55/119) trong quần thể vi khuẩn ban đầu, trong đó kết quả thử nghiệm của toàn bộ 55 chủng đều được ghi nhận ở nồng độ 12,5 µg/ml. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cho thấy 54% (64/119) các chủng vi khuẩn *Salmonella* thể hiện khả năng đề kháng với hợp chất này. Trong số 64 chủng vi khuẩn này, ước tính giá trị MIC của 58 chủng được ghi nhận tại nồng độ 25 µg/ml và giá trị MIC của 6 chủng còn lại thu được tại nồng độ 18,75 µg/ml. Đối với CPC, không có chủng vi khuẩn nào trong nghiên cứu này cho thấy khả năng đề kháng thông qua thử nghiệm MIC của dung dịch tẩy rửa. Các chủng có khả năng chống chịu trung bình và nhạy cảm chiếm lần lượt 49% (58/119) và 51% (61/119) với mỗi mức độ kháng. Với 58 chủng vi khuẩn *Salmonella* có khả năng chống chịu trung bình với CPC, 55 trong số đó có giá trị MIC tại nồng độ 12,5 µg/ml và 3 chủng có giá trị MIC là 9,38 µg/ml. Ngoài ra, toàn bộ các chủng vi khuẩn *Salmonella* nhạy cảm với CPC cho giá trị MIC tại nồng độ 6,25 µg/ml (hình 2).

Bảng 1. Tỷ lệ chống chịu dung dịch tẩy rửa bề mặt của *Salmonella* spp.

Chất tẩy rửa	Tỷ lệ (%) (n=119)		
	Đề kháng (MIC: 12,5-25 µg/ml)	Trung bình (MIC: 6,25-12,5 µg/ml)	Nhạy cảm (MIC: 3,13-6,25 µg/ml)
BKC	54% (64)	46% (55)	0% (00)
CPC	0% (00)	49% (58)	51% (61)



Hình 2. Thử nghiệm đĩa 96 giếng về khả năng kháng chất tẩy rửa của một số chủng vi khuẩn *Salmonella*.



Hình 3. Ảnh điện di sản phẩm PCR trên gel 2,0% agarose của một số chủng vi khuẩn *Salmonella*. (A) Gen *qacE* (194 bp); (B) Gen *qacEΔ* (140 bp). 22-42: sản phẩm DNA được khuếch đại; M: thang chuẩn.

Sản phẩm tách chiết DNA từ 119 chủng vi khuẩn *Salmonella* được tiến hành phản ứng khuếch đại gen (PCR). Khuếch đại đoạn gen đích sử dụng 2 cặp mồi (*qacE*-For/Rev và *qacEΔ*-For/Rev) để phát hiện lần lượt gen quy định khả năng đề kháng QAC bao gồm *qacE* và *qacEΔ*. Kết quả cho thấy, mỗi giếng của bản điện di hiển thị một băng sắc nét tương ứng với độ lớn của gen *qacE* (194 bp) và *qacEΔ* (140 bp) (hình 3). Sự xuất hiện của các băng này chứng tỏ quá trình tách chiết DNA và phản ứng PCR diễn ra thành công, khuếch đại được đoạn gen đích ở 119 chủng vi khuẩn *Salmonella*. Ngoài ra, dựa vào kết quả điện di, nghiên cứu cho thấy sự xuất hiện của những chủng mang đồng thời cả 2 gen chiếm tỷ lệ cao trong tổng số các chủng thuộc nghiên cứu này.

Bảng 2. Tỷ lệ các chủng vi khuẩn *Salmonella* mang gen kháng chất tẩy rửa.

Gen	Tỷ lệ (%) (n=119)					
	BKC			CPC		
	Đề kháng	Trung bình	Nhạy cảm	Đề kháng	Trung bình	Nhạy cảm
<i>qacE/qacEΔ</i> (n=73)	41% (49)	20% (24)	0% (00)	0% (00)	42% (50)	19% (23)
Ø (n=46)	13% (15)	26% (31)	0% (00)	0% (00)	7% (8)	32% (38)

Kết quả thí nghiệm cho thấy, hệ gen của phần lớn các chủng vi khuẩn *Salmonella* có chứa 2 gen *qacE* và *qacEΔ*, trong đó các chủng mang gen *qacE* chiếm 61% (73/119), gen *qacEΔ* được tìm thấy trong 60% (72/119) các chủng vi khuẩn ban đầu và 39% (46/119) các chủng không chứa đồng thời cả 2 gen trên (bảng 2). Với các chủng vi khuẩn *Salmonella* mang gen *qacE/qacEΔ*, 41% (49/119) các chủng đề kháng với dung dịch BKC và 20% (24/119) các chủng có tính chống chịu trung bình với dung dịch này. Kết quả nghiên cứu cho thấy sự khác biệt trong khả năng chống chịu của *Salmonella* đối với dung dịch tẩy rửa bề mặt CPC. Trong các chủng mang gen *qacE/qacEΔ*, 42% (50/119) các chủng thể hiện khả năng chống chịu trung bình và 19% (23/119) số chủng nhạy cảm đối với CPC. Tuy nhiên, kết quả không ghi nhận bất kỳ chủng nào có khả năng đề kháng với hoạt chất này. 46 chủng vi khuẩn *Salmonella* không mang gen *qacE/qacEΔ* thể hiện tính chống chịu trung bình tới đề kháng BKC với tỷ lệ lần lượt là 26% (31/119) và 13% (15/119). Tuy nhiên, phần lớn các chủng không mang gen chỉ thể hiện mức độ nhạy cảm đối với dung dịch

CPC. Từ đây, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ thịt gia cầm tại Hà Nội có khả năng đề kháng cao đối với dung dịch tẩy rửa BKC và dung dịch CPC đạt hiệu quả tốt hơn trong việc ức chế sự phát triển của vi khuẩn.

4. Bàn luận

Hóa chất tẩy rửa đóng vai trò quan trọng để kiểm soát sự phân tán của vi khuẩn trong môi trường giết mổ, chế biến và sản xuất thịt gia cầm. Hiệu quả sử dụng loại hóa chất này phụ thuộc vào các yếu tố như nồng độ, trạng thái của vi khuẩn và sự có mặt của các chất hữu cơ ảnh hưởng đến khả năng kháng khuẩn [19]. Trong các yếu tố kể trên, nồng độ dung dịch tẩy rửa có ảnh hưởng nhiều nhất đến khả năng tiêu diệt vi khuẩn. Do đó, việc lạm dụng quá mức hóa chất ở nồng độ dưới mức ức chế được coi là nguyên nhân tiềm ẩn chọn lọc ra nhóm vi khuẩn kháng thuốc gây nguy hiểm cho sức khỏe cộng đồng. Xác định MIC của hóa chất tẩy rửa giúp đưa ra kế hoạch vệ sinh hiệu quả, đóng vai trò cốt lõi trong việc kiểm soát sự phát triển của vi khuẩn.

Kết quả thử nghiệm MIC của 2 dung dịch QAC đối với các chủng vi khuẩn *Salmonella* trong nghiên cứu này cho thấy sự tương đồng với các nghiên cứu trước đó của T. Obe và cs (2021) [18] và R. Chuanchuen và cs (2007) [20]. Theo đó, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ cao hơn các chủng có khả năng đề kháng BKC với 54% (64/119). Nghiên cứu của T. Obe và cs (2021) [18] trên 25 chủng vi khuẩn *Salmonella* công bố tỷ lệ 36% (9/25) các chủng có khả năng đề kháng BKC với chỉ số MIC 12,55-25,10 µg/ml, khả năng chống chịu trung bình/nhạy cảm được tìm thấy ở 32% (8/25) các chủng còn lại. Thông qua phương pháp pha loãng đĩa thạch, nghiên cứu của R. Chuanchuen và cs (2007) [20] trên 125 chủng vi khuẩn *Salmonella* thử nghiệm cho thấy sự phân bố dày đặc các chủng đề kháng BKC. Trong đó, 89% (108/122) các chủng có chỉ số MIC nằm trong khoảng 32-256 µg/ml và phần lớn các chủng có giá trị MIC với dung dịch BKC là 64 µg/ml. Đối với dung dịch CPC, tất cả các chủng vi khuẩn thuộc nghiên cứu này cho thấy khả năng chống chịu trung bình đến yếu đối với hợp chất này. Theo đó, 51% (61/119) các chủng vi khuẩn *Salmonella* bị ức chế phát triển khi sử dụng CPC với nồng độ 3,13-6,25 µg/ml và tỷ lệ tương tự 49% (58/119) các chủng bị ức chế ở nồng độ 6,26-12,5 µg/ml của dung dịch. Kết quả cho thấy, sự khác biệt so với nghiên cứu của S.B. Humayoun và cs (2018) [21] khi cho thấy chủng vi khuẩn *Salmonella* serovar Heidelberg phân lập từ thịt gà tây có khả năng đề kháng dung dịch CPC ở nồng độ 80 µg/ml. Sự khác biệt này bắt nguồn từ ứng dụng của hợp chất CPC tại các quốc gia thường không giống nhau. Tại Hoa Kỳ, CPC đã được sử dụng trong nhiều sản phẩm vệ sinh răng miệng từ rất lâu trước khi được phép sử dụng trên thực phẩm (chế biến gia cầm sống). Việc áp dụng CPC vào quá trình làm sạch bề mặt làm suy giảm khả năng lây nhiễm *Salmonella* trong thịt gia cầm [11, 22]. Tuy nhiên quá trình áp dụng lâu dài có thể là nguyên nhân dẫn tới khả năng đề kháng cao của vi khuẩn đối với hợp chất này [20]. Tại Việt Nam, thành phần phổ biến của hóa chất tẩy rửa công nghiệp thường là BKC do loại hợp chất này có tính hiệu quả kháng khuẩn tốt hơn CPC [23]. CPC xuất hiện chủ yếu trong các sản phẩm kem đánh răng, nước súc họng, hoặc các sản phẩm như xịt họng, xịt hơi thở hay xịt mũi. Từ sự chênh lệch trong phạm vi áp dụng, các chủng vi khuẩn *Salmonella* thuộc nghiên cứu này cho thấy khả năng đề kháng CPC thấp hơn nhiều so với các chủng được phân lập từ mẫu bề mặt xử lý với hóa chất tẩy rửa. Từ đó, giới hạn trong việc áp dụng thực tế CPC vào trong môi trường chế biến, giết mổ gia cầm tại Việt Nam được cho là nguyên nhân lý giải về khả năng ức chế mạnh của CPC đối với *Salmonella*.

Các nghiên cứu trước đó cũng chỉ ra rằng, *qacE* và *qacEA* là 2 gen chịu trách nhiệm chính cho khả năng kháng các hợp chất có chứa QAC. Cho đến nay, chỉ dựa vào khả năng liên kết và trao đổi vật chất di truyền của vi sinh vật, các gen này đã được lan truyền rộng rãi giữa các nhóm vi khuẩn trong thử nghiệm lâm sàng và trong môi trường [24]. Tuy nhiên, những nghiên cứu về sự phổ biến và tác dụng của 2 gen trên đối tượng vi khuẩn *Salmonella* còn gặp nhiều hạn chế tại các quốc gia như Việt Nam, nơi mà gia cầm là mặt hàng tiêu thụ phổ biến. Nghiên cứu được thực hiện này của chúng tôi đã cho thấy khả năng phân bố của 2 gen *qacE* và *qacEA* trong quần thể vi khuẩn *Salmonella* ban đầu. Trong đó, 61% (73/119) các chủng được tìm thấy dương tính với gen *qacE/qacEA*, 39% (46/119) các chủng âm tính với cả 2 gen, nhưng cho kết quả đa dạng trong thử nghiệm MIC với chất tẩy rửa QAC đã mở ra những điểm mới lạ về khả năng đề kháng của nhóm vi khuẩn này. Đối với các chủng mang gen, tỷ lệ phân bố gen *qacE* (61%, 73/119) cho thấy sự tương đồng với gen *qacEA* (60%, 72/119); tỷ lệ tương đồng này giữa 2 gen đã được công bố trong nghiên cứu trước đó của T. Obe và cs (2021) [18] với tỷ lệ *qacE*, *qacEA* lần lượt là 68% (17/25) và 76% (19/25). Bên cạnh đó, công bố của nhóm nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ trung bình mang gen *qacE/qacEA* là 72% (18/25), cao hơn rất nhiều so với tỷ lệ đề kháng BKC là 36% (9/25). Sự chênh lệch giữa tỷ lệ mang gen và khả năng đề kháng chất tẩy rửa là điểm tương đồng được tìm thấy trong nhiều công bố; ví dụ nhóm nghiên cứu của R. Chuanchuen và cs (2007) [20] cho thấy tỷ lệ cao trong đề kháng BKC 89% (108/122) chênh lệch lớn so với tỷ lệ các chủng vi khuẩn *Salmonella* mang gen là 27% (33/122). Nghiên cứu của chúng tôi đồng thời thể hiện sự chênh lệch này khi các chủng mang gen *qacE/qacEA* chiếm tỷ lệ 61% (73/119) bên cạnh khả năng đề kháng BKC được tìm thấy trong 41% (49/119) các chủng *Salmonella*. Đặc điểm chung của những nghiên cứu trên là không thể quan sát được mối tương quan giữa giá trị MIC cao đối với dung dịch BKC và sự hiện diện của *qacE/qacEA* trên đối tượng là *Salmonella* cũng như nhóm vi khuẩn gram âm khác [14, 10].

Để lý giải hiện tượng này, các nghiên cứu trước đó đã chứng minh nhiều yếu tố góp phần vào khả năng ức chế vi khuẩn kém hiệu quả của chất kháng khuẩn, cho phép mầm bệnh từ thực phẩm tồn tại sau quá trình vệ sinh [25]. Một số yếu tố bao gồm sự có mặt của các bơm hút đẩy trên cấu trúc màng tế bào và sự hình thành màng sinh học ở các chủng vi khuẩn *Salmonella*. Để có thể tồn tại, *S. enterica* biểu hiện quá mức các gen mã hóa bơm hút đẩy, bao gồm *AcrA* và *TolC* có khả năng tác động lên một loạt các hợp chất không giống nhau về mặt hóa học, bao gồm chất diệt khuẩn và chất kháng sinh [26-28]. Ngoài ra, những thay đổi trong thành tế bào dẫn đến sự suy giảm khả năng thâm thấu cũng có thể là nguyên nhân gây ra tình trạng kháng này trong các nhóm vi khuẩn. Hơn nữa, các nghiên cứu trước đó đã chỉ ra khả năng hình thành màng sinh học của *S. enterica* trên các bề mặt tiếp xúc khác nhau khiến việc loại bỏ chúng khó khăn hơn so với các tế bào tự do không liên kết [29, 30]. Trong màng sinh học, các tế bào vi khuẩn được bao bọc trong một ma trận chất nền tự sản xuất có thể đóng vai trò bảo vệ cơ học và hóa học, chống lại điều kiện môi trường khắc nghiệt xung quanh. Bề mặt nhựa và thép không gỉ thường phổ biến trong các dây chuyền sản xuất, lò mổ và khu vực chế biến gia cầm là vị trí vi khuẩn *Salmonella* có thể bám vào và phát tín hiệu hình thành màng sinh học [18]. Vì vậy, hiểu biết khả năng hình thành màng sinh học của các chủng vi khuẩn *Salmonella* là đặc biệt cần thiết để kiểm soát sự phơi nhiễm *Salmonella* từ thịt gia cầm và các sản phẩm liên quan.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được khả năng đề kháng chất tẩy rửa QAC của các chủng *Salmonella* phân lập từ thịt gà tại Hà Nội. Dựa vào thử nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu, chỉ số MIC của 2 hoạt chất BKC và CPC lần lượt là 12,5-25 và 6,25-12,5 µg/ml. Ngoài ra, sự phân bố rộng rãi của gen *qacE* và *qacEΔ* chịu trách nhiệm chính cho khả năng kháng hợp chất QAC đã được tìm thấy trong lần lượt 61% (73/119) và 60% (72/119) các chủng thuộc nghiên cứu. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, nhóm tác giả không thể quan sát được mối tương quan giữa giá trị MIC cao của hợp chất QAC và sự hiện diện của gen *qacE/qacEΔ* trên đối tượng các chủng *Salmonella*. Hiện tượng này được giải thích thông qua những nghiên cứu về sự xuất hiện của bơm hút đẩy trên cấu trúc màng tế bào và sự hình thành màng sinh học ở các chủng vi khuẩn *Salmonella* để chống lại điều kiện khắc nghiệt môi trường xung quanh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] G. Wu, Q. Yang, M. Long, et al. (2015), "Evaluation of agar dilution and broth microdilution methods to determine the disinfectant susceptibility", *The Journal of Antibiotics*, **68**(11), pp.661-665, DOI: 10.1038/ja.2015.51.
- [2] CDC (2019), *Antibiotic Resistance Threats in The United States*, <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>, accessed 5 May 2020.
- [3] K.A.G. Karatzas, L.P. Randall, M. Webber, et al. (2008), "Phenotypic and proteomic characterization of multiply antibiotic-resistant variants of *Salmonella enterica* serovar typhimurium selected following exposure to disinfectants", *Applied and Environmental Microbiology*, **74**(5), pp.1508-1516, DOI: 10.1128/AEM.01931-07.
- [4] H. Nidaullah, N. Abirami, A.K. Shamila-Syuhada, et al. (2017), "Prevalence of *Salmonella* in poultry processing environments in wet markets in Penang and Perlis, Malaysia", *Vet. World*, **10**(3), pp.286-292, DOI: 10.14202/2Fvetworld.2017.286-292.
- [5] M. Simoes, M.O. Pereira, M.J. Vieira (2005), "Effect of mechanical stress on biofilms challenged by different chemicals", *Water Research*, **39**(20), pp.5142-5152, DOI: 10.1016/j.watres.2005.09.028.
- [6] M. Simões, L.C. Simões, I. Machado, et al. (2006), "Control of flow-generated biofilms with surfactants: Evidence of resistance and recovery", *Food and Bioprocess Processing*, **84**(4), pp.338-345, DOI: 10.1025/fbp06022.
- [7] R. Chuanchuen, S. Khemtong, P. Padungtod (2007), "Occurrence of *qacE/qacEΔ* genes and their correlation with class I integrons in *Salmonella enterica* isolates from poultry and swine", *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, **38**(5), pp.855-862.
- [8] L.L. Lerma, N. Benomar, A. Gálvez, et al. (2013), "Prevalence of bacteria resistant to antibiotics and/or biocides on meat processing plant surfaces throughout meat chain production", *International Journal of Food Microbiology*, **161**(2), pp.97-106, DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.028.
- [9] T.T. Nguyen, H.V. Le, H.V.T. Hai, et al. (2023), "Whole-genome analysis of antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* isolated from duck carcasses in Hanoi, Vietnam", *Current Issues in Molecular Biology*, **45**(3), pp.2213-2229, DOI: 10.3390/cimb45030143.
- [10] R.O. Saucedo-Alderete, J.D. Eifert, R.R. Boyer, et al. (2018a), "Cetylpyridinium chloride direct spray treatments reduce *Salmonella* on cantaloupe rough surfaces", *Journal of Food Safety*, **38**(4), DOI: 10.1111/jfs.12471.
- [11] M. Simmons, D.L. Fletcher, J.A. Cason, et al. (2003), "Recovery of *Salmonella* from retail broilers by a whole-carcass enrichment procedure", *Journal of Food Protection*, **66**(3), pp.446-450, DOI: 10.4315/0362-028X-66.3.446.
- [12] X. Zogaj, M. Nimtz, M. Rohde, et al. (2001), "The multicellular morphotypes of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* produce cellulose as the second component of the extracellular matrix", *Molecular Microbiology*, **39**(6), pp.1452-1463, DOI: 10.1046/j.1365-2958.2001.02337.x.
- [13] G. McDonnell, A.D. Russell (1999), "Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance", *Clinical Microbiology Reviews*, **12**(1), pp.147-179, DOI: 10.1128/cmr.12.1.147.
- [14] D. Kücken, H.H. Feucht, P.M. Kaulfers (2000), "Association of *qacE* and *qacEΔ* with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of gram-negative bacteria", *FEMS Microbiology Letters*, **183**(1), pp.95-98, DOI: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb08939.x.
- [15] D. Li, T. Yu, Y. Zhang, et al. (2010), "Antibiotic resistance characteristics of environmental bacteria from an oxytetracycline production wastewater treatment plant and the receiving river", *Applied and Environmental Microbiology*, **76**(11), pp.3444-3451, DOI: 10.1128/AEM.02964-09.
- [16] I.T. Paulsen, T.G. Littlejohn, P. Rådström, et al. (1993), "The 3' conserved segment of integrons contains a gene associated with multidrug resistance to antiseptics and disinfectants", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **37**(4), pp.761-768, DOI: 10.1128/aac.37.4.761.
- [17] T. Wassenaar, D. Ussery, L. Nielsen, et al. (2015), "Review and phylogenetic analysis of *qac* genes that reduce susceptibility to quaternary ammonium compounds in *Staphylococcus species*", *European Journal of Microbiology & Immunology*, **5**(1), pp.44-61, DOI: 10.1556/eujmi-d-14-00038.
- [18] T. Obe, R. Nannapaneni, W. Schilling, et al. (2021), "Antimicrobial tolerance, biofilm formation, and molecular characterization of *Salmonella* isolates from poultry processing equipment", *Journal of Applied Poultry Research*, **30**(4), DOI: 10.1016/j.japr.2021.100195.
- [19] J. Li, S. Xie, S. Ahmed, et al. (2017), "Antimicrobial activity and resistance: influencing factors", *Frontiers in Pharmacology*, **8**, DOI: 10.3389/fphar.2017.00364.
- [20] R. Chuanchuen, S. Khemtong, P. Padungtod (2007), "Occurrence of *qacE/qacEΔ* genes and their correlation with class I integrons in *Salmonella enterica* isolates from poultry and swine", *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, **38**(5), pp.855-862.
- [21] S.B. Humayoun, L.M. Hiott, S.K. Gupta, et al. (2018), "An assay for determining the susceptibility of *Salmonella* isolates to commercial and household biocides", *PLOS ONE*, **13**(12), DOI: 10.1371/journal.pone.0209072.
- [22] J.W. Kim, M.F. Slavik (1996), "Cetylpyridinium chloride (CPC) treatment on poultry skin to reduce attached *Salmonella*", *Journal of Food Protection*, **59**(3), pp.322-327, DOI: 10.4315/0362-028X-59.3.322.
- [23] A. Dimkov, E. Gjorgievska, J.W. Nicholson (2016), "Antibacterial effects of conventional glass ionomer cement", *Bratislavske Lekarske Listy*, **117**(1), pp.31-35.
- [24] World Health Organization (2016), *Salmonella (non-typhoidal)*, [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)), accessed 5 May 2019.
- [25] J.F. Frank (2001), "Microbial attachment to food and food contact surfaces", *Advances in Food and Nutrition Research*, **43**, pp.319-370, DOI: 10.1016/S1043-4526(01)43008-7.
- [26] S. Baucheron, S. Tyler, D. Boyd, et al. (2004), "AcrAB-TolC directs efflux-mediated multidrug resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48**(10), pp.3729-3735, DOI: 10.1128/aac.48.10.3729-3735.2004.
- [27] S.B. Levy (2002), "Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance", *Journal of Applied Microbiology*, **92**(s1), pp.65S-71S, DOI: 10.1046/j.1365-2672.92.s1.4.x.
- [28] A. Olliver, M. Vallé, E. Chaslus-Dancla, et al. (2005), "Overexpression of the multidrug efflux operon *acrEF* by insertional activation with *IS1* or *IS10* elements in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT204 *acrB* mutants selected with fluoroquinolones", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **49**(1), pp.289-301, DOI: 10.1128/aac.49.1.289-301.2005.
- [29] A.M. Paz-Méndez, A. Lamas, B. Vázquez, et al. (2017), "Effect of food residues in biofilm formation on stainless steel and polystyrene surfaces by *Salmonella enterica* strains isolated from poultry houses", *Foods*, **6**(12), DOI: 10.3390/foods6120106.
- [30] L.P. Randall, S.W. Cooles, L.J.V. Piddock, et al. (2004a), "Effect of triclosan or a phenolic farm disinfectant on the selection of antibiotic-resistant *Salmonella enterica*", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **54**(3), pp.621-627, DOI: 10.1093/jac/dkh376.