

Đặc điểm kháng kháng sinh và gen độc lực của 7 chủng *Pseudomonas aeruginosa* trong nước đóng chai, đóng bình tại Hà Nội

Phạm Ngọc Hà¹, Vũ Khánh Vân¹, Phạm Văn Quân¹, Ninh Thị Hạnh¹, Nguyễn Hùng Thanh²,
Lý Công Hiếu³, Đỗ Văn Huy⁴, Lê Thị Phương Thảo^{1*}

¹Viện Kiểm nghiệm An toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia, 65 Phạm Thận Duật, phường Phú Diễn, Hà Nội, Việt Nam

²Văn phòng Bộ Khoa học và Công nghệ, 18 Nguyễn Du, phường Cửa Nam, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội, 41A Phú Diễn, phường Phú Diễn, Hà Nội, Việt Nam

⁴Học viện Nông nghiệp Việt Nam, 236 Ngô Xuân Quảng, xã Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 1/10/2025; ngày chuyển phản biện 3/10/2025; ngày nhận phản biện 20/10/2025; ngày chấp nhận đăng 29/10/2025

Tóm tắt:

Pseudomonas aeruginosa là vi khuẩn cơ hội có khả năng kháng kháng sinh cao và mang nhiều yếu tố độc lực, gây nguy cơ đối với sức khỏe cộng đồng khi hiện diện trong nước uống. Nghiên cứu này được thực hiện trên 50 mẫu nước đóng chai và đóng bình tại Hà Nội nhằm xác định tỷ lệ nhiễm, đặc điểm kháng kháng sinh và hồ sơ gen độc lực của *P. aeruginosa*. Kết quả cho thấy, 38% mẫu dương tính với *P. aeruginosa*. Các chủng phân lập thể hiện tỷ lệ kháng cao với cephalosporin thế hệ 3-4 và aminoglycoside, trong khi nhạy với doripenem và piperacillin-tazobactam (100%). Phân tích gen độc lực cho thấy, các chủng mang đồng thời nhiều gen độc lực thuộc hệ thống tiết type II và III (*exoA*, *exoY*, *exoS*, *exoU*) và hệ thống quorum sensing (*lasA*, *lasB*, *rhlAB*, *rhlI*, *lasI*, *lasR*), cho thấy tiềm năng hình thành biofilm và gây bệnh cao. Nghiên cứu này nhấn mạnh sự cần thiết của việc giám sát vi sinh định kỳ và kiểm soát chặt chẽ chất lượng nước uống đóng chai.

Từ khóa: hệ thống cảm ứng quorum, hệ thống tiết type II và III, kháng kháng sinh, *Pseudomonas aeruginosa*.

Chỉ số phân loại: 1.6, 2.10, 3.3

Antimicrobial resistance and virulence gene profiles of seven *Pseudomonas aeruginosa* in bottled and large-volume packaged drinking water in Hanoi

Ngoc Ha Pham¹, Khanh Van Vu¹, Van Quan Pham¹, Thi Hanh Ninh¹, Hung Thanh Nguyen²,
Cong Hieu Ly³, Van Huy Do⁴, Thi Phuong Thao Le^{1*}

¹National Institute for Food Control, 65 Pham Than Duat Street, Phu Dien Ward, Hanoi, Vietnam

²Office of the Ministry of Science and Technology, 18 Nguyen Du Street, Cua Nam Ward, Hanoi, Vietnam

³Hanoi University of Natural Resources and Environment, 41A Phu Dien Street, Phu Dien Ward, Hanoi, Vietnam

⁴Vietnam National University of Agriculture, 236 Ngo Xuan Quang Street, Gia Lam Commune, Hanoi, Vietnam

Received 1 October 2025; revised 20 October 2025; accepted 29 October 2025

Abstract:

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic pathogen with high levels of antimicrobial resistance and multiple virulence factors, posing a potential public health risk when present in drinking water. This study was conducted using 50 bottled and large-volume packaged drinking water samples collected in Hanoi to determine the prevalence, antimicrobial resistance characteristics, and virulence gene profiles of *P. aeruginosa*. The results showed that 38% of the samples were positive for *P. aeruginosa*. The isolates exhibited high resistance rates to third- and fourth-generation cephalosporins and aminoglycosides, whereas all isolates were susceptible to doripenem and piperacillin-tazobactam (100%). Virulence gene analysis showed that the isolates simultaneously carried multiple genes associated with the type III secretion system (*exoA*, *exoY*, *exoS*, and *exoU*) and the quorum-sensing system (*lasA*, *lasB*, *rhlAB*, *rhlI*, *lasI*, and *lasR*), indicating a high potential for biofilm formation and pathogenicity. These findings highlight the need for routine microbiological surveillance and stringent quality control of bottled drinking water.

Keywords: antimicrobial resistance, *Pseudomonas aeruginosa*, quorum-sensing system, type II and III secretion system.

Classification numbers: 1.6, 2.10, 3.3

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

1. Đặt vấn đề

Nước uống đóng chai, đóng bình là một sản phẩm thiết yếu được tiêu thụ rộng rãi trên toàn cầu, đóng vai trò quan trọng trong việc cung cấp nước uống tiện lợi cho người tiêu dùng. Tuy nhiên, trong loại nước uống này, sự hiện diện của các vi sinh vật, đặc biệt là các vi khuẩn gây bệnh có khả năng kháng kháng sinh là một mối nguy cần kiểm soát. Trong số đó, *P. aeruginosa* là một tác nhân gây bệnh cơ hội có ý nghĩa lâm sàng quan trọng, có khả năng chịu nhiệt độ trong khoảng 4-42°C nên nó tồn tại trong nhiều môi trường nước khác nhau [1].

P. aeruginosa là một trực khuẩn Gram âm, hiếu khí, có khả năng sinh tồn trong nhiều môi trường khác nhau nhờ vào sự đa dạng sinh học và khả năng thích nghi cao [2]. Vi khuẩn này có thể gây ra nhiều bệnh nghiêm trọng như nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm trùng máu, nhiễm trùng vết thương và viêm tai giữa. Đặc biệt, sự xuất hiện của *P. aeruginosa* trong nước uống đóng chai không chỉ làm suy giảm chất lượng sản phẩm, mà còn tiềm ẩn nguy cơ ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng, đặc biệt là những đối tượng có hệ miễn dịch suy yếu như trẻ nhỏ, người cao tuổi và người mắc bệnh mãn tính [3].

Một trong những đặc điểm đáng lo ngại của *P. aeruginosa* là khả năng kháng kháng sinh cao, làm giảm hiệu quả điều trị trong các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn này gây ra. Cơ chế kháng thuốc của *P. aeruginosa* rất phức tạp, bao gồm sự giảm tính thấm màng tế bào đối với kháng sinh, hoạt động của các bơm tống kháng sinh ra ngoài, sản xuất enzyme phân hủy kháng sinh như β -lactamase và sự đột biến làm thay đổi cấu trúc đích của kháng sinh. Sự xuất hiện của các chủng *P. aeruginosa* kháng đa thuốc (MDR) trong nước đóng chai có thể dẫn đến nguy cơ lây nhiễm trong cộng đồng và làm tăng gánh nặng bệnh tật [1]. *P. aeruginosa* biểu hiện khả năng kháng nhiều loại kháng sinh, bao gồm aminoglycoside, quinolone và β -lactam [4]. Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) gần đây đã liệt kê *P. aeruginosa* kháng carbapenem là một trong ba loài vi khuẩn có nhu cầu cấp thiết về việc phát triển các loại kháng sinh mới để điều trị nhiễm trùng [5]. Carbapenem là một nhóm kháng sinh mạnh thường dùng để điều trị các nhiễm trùng do vi khuẩn Gram âm, đặc biệt đáng báo động vì nó giới hạn sự lựa chọn trong điều trị lâm sàng [6].

Ngoài khả năng kháng thuốc, *P. aeruginosa* còn sở hữu nhiều gen độc lực giúp vi khuẩn xâm nhập, bám dính, gây tổn thương mô và né tránh hệ miễn dịch của vật chủ. Các gen này bao gồm nhóm liên quan đến hệ thống tiết type II và III (*exoA*, *exoS*, *exoT*, *exoU*, *exoY*), góp

phần gây tổn thương tế bào vật chủ [7], và nhóm điều hòa hệ thống cảm ứng quorum (*lasA*, *lasB*, *aprA*, *rhlAB*, *rhlI*, *rhlR*, *lasI*, *lasR*), liên quan đến việc sản xuất enzyme ngoại bào, hình thành biofilm và tăng cường khả năng thích nghi trong môi trường [8]. Sự hiện diện đồng thời của các gen này làm gia tăng độc lực và khả năng tồn tại của *P. aeruginosa* trong nước uống, từ đó tiềm ẩn nguy cơ đối với sức khỏe cộng đồng.

Các cơ chế kháng kháng sinh của *P. aeruginosa* có mối liên hệ chặt chẽ với hệ thống gen độc lực [9]. Các gen thuộc hệ thống tiết type III như *exoA*, *exoS*, *exoU*, *exoT* giúp vi khuẩn xâm nhập và phá hủy tế bào vật chủ, đồng thời tạo điều kiện cho việc kích hoạt các đáp ứng stress và điều hòa biểu hiện gen kháng thuốc [10]. Bên cạnh đó, nhóm gen cảm ứng quorum (*lasA*, *lasB*, *rhlI*, *rhlR*, *lasI*, *lasR*) đóng vai trò điều phối sản xuất enzyme ngoại bào và hình thành biofilm, một cấu trúc bảo vệ giúp vi khuẩn bám dính bề mặt và giảm tính thấm của kháng sinh [11]. Sự hình thành biofilm làm tăng đáng kể khả năng kháng thuốc do các tế bào trong biofilm có tốc độ trao đổi chất chậm, lớp ma trận polysaccharide cản trở khuếch tán thuốc, và vi khuẩn có thể trao đổi gen kháng dễ dàng hơn [12]. Do đó, sự phối hợp giữa độc lực và khả năng hình thành biofilm chính là yếu tố trung tâm khiến *P. aeruginosa* trở thành loài vi khuẩn khó kiểm soát trong cả môi trường và lâm sàng.

Tại Việt Nam, kết quả giám sát mối nguy ô nhiễm nước uống đóng chai, đóng bình trên thị trường 5 tỉnh Tây Nguyên từ năm 2017-2018 cho thấy: tình trạng nhiễm vi sinh vật chủ yếu tập trung vào sản phẩm nước uống đóng chai, đóng bình chiếm 41,5% (162/390), chủ yếu nhiễm Coliform và *P. aeruginosa*. Năm 2021 tỷ lệ nhiễm vi sinh vật trong sản phẩm nước uống đóng bình tăng lên rất cao (78,7%), trong đó nhiễm *P. aeruginosa* chiếm 44,7%; nhiễm Coliform tổng số chiếm 53,2% [13]. Tại Quảng Trị, nước uống đóng chai bị nhiễm *P. aeruginosa* có tỷ lệ khá cao so với một số địa phương khác trong cả nước. Kết quả hậu kiểm cho thấy, trong năm 2011 có 13/56 mẫu nước uống đóng chai bị nhiễm *P. aeruginosa*, chiếm tỷ lệ 23,21%; năm 2012, có đến 26,32% mẫu nước nhiễm *P. aeruginosa* (15/57); năm 2013 tỷ lệ này chỉ có 13,33% (8/60); năm 2014 là 22,22% (14/63) [14].

Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định sự hiện diện của *P. aeruginosa* trong các mẫu nước uống đóng chai, đóng bình được thu thập, mô tả hồ sơ kháng kháng sinh và sự có mặt của các gen độc lực ở các chủng được tuyển chọn, đồng thời thảo luận sự đồng hiện diện của độc lực và kháng thuốc ở mức thăm dò. Kết quả

nghiên cứu sẽ cung cấp dữ liệu quan trọng, giúp nâng cao hiệu quả kiểm soát chất lượng nước đóng chai, hỗ trợ việc xây dựng các chiến lược giám sát và phòng ngừa nguy cơ nhiễm khuẩn, từ đó góp phần bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Nghiên cứu được thực hiện theo thiết kế cắt ngang - thăm dò trên 50 mẫu nước uống, gồm 20 mẫu nước uống đóng chai và 30 mẫu nước uống đóng bình, thu thập từ nhiều nguồn khác nhau trên địa bàn TP. Hà Nội trong các tháng 11-12 năm 2024. Các mẫu bao gồm (i) mẫu giám sát định kỳ thu thập tại các cơ sở kinh doanh, đại lý và siêu thị, và (ii) mẫu dịch vụ được lưu trữ tại Viện Kiểm nghiệm An toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia (NIFC), nhằm đảm bảo tính khách quan và đa dạng của nguồn mẫu. Mẫu được bảo quản ở 4-8°C và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 24 giờ kể từ khi lấy.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phát hiện và định lượng các chủng *P. aeruginosa* trong mẫu nước đóng chai và đóng bình

250 ml mẫu nước đóng chai, đóng bình được lọc qua màng lọc cellulose nitrate có kích thước lỗ 0,45 µm (Merck). Sau khi lọc, màng lọc được chuyển lên môi trường thạch *Pseudomonas* cơ bản và thạch *Pseudomonas* bổ sung ceftazidime (1 µg/ml) để sàng lọc chủng *Pseudomonas* kháng kháng sinh. Các đĩa được ủ trong tủ ấm ở 37°C trong 24 giờ. Các khuẩn lạc có hình thái điển hình như tròn, nhẵn bóng, phát huỳnh quang xanh lá dưới ánh sáng UV (254 nm) được nhuộm Gram để xác nhận hình thái dưới kính hiển vi và lưu trữ ở -80°C.

2.2.2. Phân lập và định danh các chủng *P. aeruginosa* trong mẫu nước đóng chai và đóng bình

Để định danh, các khuẩn lạc này được ria phân lập trên thạch Tryptone Soya Agar (TSA, Merck), ủ trong 24 giờ ở 37°C và định danh bằng công nghệ MALDI-TOF Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight trên hệ thống VITEK® MS (BioMérieux SA, Marcy l'Etoile, Pháp). Sử dụng que cấy dùng một lần để lấy một phần của một khuẩn lạc phát triển trên thạch TSA, sau đó tán đều lên một giếng của đĩa mục tiêu VITEK Kirby-Bauer. Theo khuyến cáo của nhà sản xuất, chủng *E. coli* ATCC 8739 được sử dụng làm chủng đối chứng trong quá trình chạy [15]. Sau khi khẳng định các chủng *P. aeruginosa* phân lập được từ các mẫu nước uống đóng chai và đóng bình, chúng được khảo sát khả năng kháng kháng sinh.

2.2.3. Đánh giá đặc điểm kháng kháng sinh của các chủng *P. aeruginosa* trong mẫu nước đóng chai và đóng bình

Khả năng kháng kháng sinh của 7 chủng *P. aeruginosa* được tuyển chọn trong nghiên cứu này được điều tra bằng phương pháp khuếch tán đĩa Kirby-Bauer [16]. *P. aeruginosa* được nuôi tăng sinh trong 10 ml môi trường BHI vô trùng cho đến khi mật độ tế bào tương đương với độ đục 0,5 McFarland, xấp xỉ $1,5 \times 10^8$ CFU/ml tế bào vi khuẩn. Tăm bông vô trùng được sử dụng để ria huyền phù vi khuẩn trên thạch Mueller-Hinton. Tổng cộng 13 loại kháng sinh đã được thử nghiệm theo CLSI M45 về thử nghiệm độ nhạy kháng sinh đối với các vi khuẩn ít gặp hoặc khó nuôi cấy, bao gồm aztreonam, piperacillin, piperacillin-tazobactam, ceftazidime, cefepime, imipenem, meropenem, doripenem, ciprofloxacin, gentamicin, tobramycin, amikacin và netilmicin. Các đĩa được đặt trên bề mặt môi trường cách đều nhau bằng kẹp vô trùng và ủ ở 37°C trong 18 giờ. Kết quả xét nghiệm độ nhạy với kháng sinh được xác định bằng đường kính của vùng ức chế, chính là vùng trong suốt xung quanh đĩa kháng sinh [17]. Nếu không xuất hiện vùng trong suốt xung quanh đĩa kháng sinh hoặc độ trong không rõ ràng thì chủng thu thập được có khả năng kháng lại kháng sinh đó. Các giá trị này sau đó được nhập vào phần mềm Microsoft Excel và phân loại thành ba nhóm: kháng thuốc (vùng ức chế $\leq$ giới hạn CLSI), trung gian (vùng ức chế nằm giữa ngưỡng nhạy cảm và kháng), và nhạy cảm (vùng ức chế $\geq$ giới hạn CLSI). Biểu đồ cột được tạo ra để minh họa tỷ lệ phần trăm các chủng kháng, trung gian hoặc nhạy cảm với từng loại kháng sinh.

2.2.4. Phát hiện gen độc lực của các chủng *P. aeruginosa* trong mẫu nước đóng chai và đóng bình

Phương pháp tách chiết DNA: Các chủng *P. aeruginosa* phân lập từ mẫu nước đóng chai và đóng bình được ria lại trên môi trường thạch *Pseudomonas* cơ bản, nuôi tăng sinh trong môi trường canh thang BHI (Brain Heart Infusion broth), ủ 18-24 giờ ở 37°C. DNA tổng số của *P. aeruginosa* được tách chiết theo quy trình dành cho vi khuẩn Gram âm của bộ kit GeneJET Genomic DNA Purification (Thermo Fisher, C5042). Nồng độ DNA tổng số của các chủng *P. aeruginosa* được định lượng bằng máy nanodrop tại bước sóng 260 nm. Dung dịch chứa DNA được bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho đến khi sử dụng.

Phản ứng PCR: Các cặp mồi được sử dụng trong nghiên cứu này để phát hiện các gen độc lực của các chủng *P. aeruginosa* trong mẫu nước đóng chai và đóng bình được liệt kê trong bảng 1.

Bảng 1. Các cặp mồi được sử dụng để phát hiện gen độc lực của *P. aeruginosa*.

Tên mồi	Trình tự (5'-3')	Gen	Nhiệt độ (°C)	Chiều dài (bp)	Tài liệu tham khảo
exoUF	ATGCATATCCAATCGTTG	exoU	57	2000	[18]
exoUR	TCATGTGAACCTCTTATT				
exoSF	GCGAGGTCAGCAGAGTATCG	exoS	58	118	[19]
exoSR	TTCGGCGTCACTGTGGAT				
exoYF	CGGATTCTATGGCAGGGAGG	exoY	59	289	[19]
exoYR	GCCCTTGATGCACTCGACCA				
exoTF	AATCGCCGTCCTCACTGCATGCG	exoT	60	152	[19]
exoTR	TGTTCCGCCGAGGTACTGCTC				
exoAF	GACAACGCCCTCAGCATCACCAGC	exoA	72	396	[20]
exoAR	CGCTGGCCCATTCGCTCCAGCGCT				
lasAF	CGCCATCCAACCTGATGCAAT	lasA	60	514	[21]
lasAR	AGGCCGGGGTTGTACAACGGA				
lasBF	TTCTACCCGAAGGACTGATAC	lasB	52	153	[22]
lasBR	AACACCCATGATCGCAAC				
aprAF	ACCCTGTCCTATTCTGTTCC	aprA	52	140	[22]
aprAR	GATTGCAGCGACAACCTTGG				
rhIABF	TCATGGAATTGTGACAACCGC	rhIAB	52	151	[22]
rhIABR	ATACGGCAAAATCATGGCAAC				
rhIIF	CTTGTCATGATCGAATTGCTC	rhII	50	625	[23]
rhIIR	ACGGCTGACGACCTCACAC				
rhIRF	CAATGAGGAATGACGGAGGC	rhIR	50	730	[23]
rhIRR	GCTTCAGATGAGGCCAGC				
lasIF	ATGATCGTACAAATTGGTCGGC	lasI	50	605	[23]
lasIR	GTCATGAAACGCCAGTCG				
lasRF	CGGGTATCGTACTAGTGCATCA	lasR	60	1100	[18]
lasRR	GACGGGAAAGCCAGGAACTT				

Hỗn hợp PCR (25 µl) gồm: 12,5 µl PCR Master Mix 2× (Thermo Scientific, chứa 0,05 U/µl Taq DNA polymerase, đệm phản ứng, MgCl₂ 4 mM và dNTP 0,4 mM), 1 µl mồi xuôi (10 pmol), 1 µl mồi ngược (10 pmol), 3 µl DNA khuôn và 7,5 µl H₂O khử ion vô trùng. Chu trình PCR được tối ưu theo kích thước sản phẩm khuếch đại. Phản ứng bắt đầu bằng biến tính ban đầu ở 95°C trong 5 phút, tiếp theo 35 chu kỳ gồm: 94°C 30 giây, gắn mồi ở nhiệt độ thích hợp (bảng 1) trong 20-30 giây, và kéo dài ở 72°C theo nguyên tắc khoảng 1 phút/1 kb (≤600 bp: 30-45 giây, 600-1200 bp: 60-90 giây, ~2000 bp: 120 giây). Cuối cùng, phản ứng được kéo dài hoàn thiện ở 72°C trong 10 phút. Đối với các gen có kích thước amplicon lớn như *exoU* (~2.000 bp) và *lasR* (~1.100 bp), thời gian kéo dài được điều chỉnh tương ứng (90-120 giây) nhằm đảm bảo khuếch đại đầy đủ toàn bộ vùng mã hóa, theo khuyến cáo của S.M.C. Petit và cs (2013) [18].

Gel agarose 1,5% được chuẩn bị trong đệm TAE 1X (Tris-base 40 mM, axit axetic 10 mM và EDTA 1 mM, pH 8) có bổ sung thêm nhuộm Redsafe (iNtRON Biotechnology) với tỷ lệ 2 µl dung dịch nhuộm: 100 ml gel. Sản phẩm PCR được trộn với loading dye 6X (Thermo Scientific). Quá trình điện di trong đệm TAE 1X và được thực hiện với hiệu điện thế ổn định 110 V trong 50 phút. Bản gel sau khi điện di được soi dưới đèn UV để quan sát và chụp ảnh. Chủng được lưu giữ tại -80°C cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.5. Phân tích thống kê

Để so sánh sự khác biệt về số lượng khuẩn lạc phát triển trên hai loại môi trường (thạch *Pseudomonas* cơ bản và thạch *Pseudomonas* bổ sung ceftazidime), kiểm định phi tham số Wilcoxon signed-rank test một phía được sử dụng. Phân tích được thực hiện bằng Excel và đối chiếu với bảng giá trị tới hạn Wilcoxon tại mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Tỷ lệ nhiễm *P. aeruginosa* trong mẫu nước đóng chai và đóng bình

Kết quả phân tích 50 mẫu nước uống đóng chai và đóng bình cho thấy 38% mẫu (19/50) nhiễm *P. aeruginosa* với nồng độ dao động từ $4,0 \times 10^0$ đến $5,4 \times 10^2$

vi khuẩn/250 ml, vượt quá giới hạn quy định của Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với nước khoáng thiên nhiên và nước uống đóng chai QCVN 6-1:2010/BYT (0 vi khuẩn/250 ml). Theo quy trình sàng lọc song song, mỗi mẫu được nuôi đồng thời trên thạch *Pseudomonas* cơ bản và thạch *Pseudomonas* bổ sung ceftazidime (1 µg/ml) (bảng 2).

Kết quả bảng 2 cho thấy, số lượng vi khuẩn giảm mạnh khi nuôi cấy trên môi trường thạch *Pseudomonas* bổ sung ceftazidime (1 µg/ml). Kiểm định Wilcoxon signed-rank test một phía xác nhận sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p \approx 2.437 \times 10^{-5} < 0,05$) cho thấy, ceftazidime có hiệu quả ức chế đáng kể đối với phần lớn chủng *P.*

Bảng 2. Kết quả phát hiện *P. aeruginosa* trong mẫu nước đóng chai và đóng bình khi nuôi trên các môi trường thạch *Pseudomonas* cơ bản và thạch *Pseudomonas* bổ sung ceftazidime (1 µg/ml).

TT	Kết quả phát hiện <i>P. aeruginosa</i> (CFU/250 ml)	
	Nuôi trên thạch <i>Pseudomonas</i> cơ bản	Nuôi trên thạch <i>Pseudomonas</i> bổ sung ceftazidime (1 µg/ml)
1	$1,4 \times 10^2$	0
2	$4,0 \times 10^1$	0
3	$4,0 \times 10^0$	0
4	$5,0 \times 10^0$	0
5	$5,6 \times 10^1$	0
6	$4,2 \times 10^2$	0
7	$5,0 \times 10^0$	0
8	$5,4 \times 10^2$	0
9	$6,0 \times 10^1$	0
10	$9,0 \times 10^0$	0
11	$9,6 \times 10^1$	$4,0 \times 10^0$
12	$4,5 \times 10^2$	$1,0 \times 10^1$
13	$3,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^0$
14	$6,2 \times 10^1$	0
15	$4,2 \times 10^1$	0
16	$1,5 \times 10^1$	0
17	$9,0 \times 10^0$	0
18	$2,0 \times 10^2$	0
19	$9,6 \times 10^1$	$2,0 \times 10^0$

aeruginosa trong mẫu nước. Trong số 19 mẫu phát hiện *P. aeruginosa* trên môi trường thạch *Pseudomonas*, trên môi trường thạch *Pseudomonas* bổ sung ceftazidime có 15/19 mẫu không phát hiện *P. aeruginosa*, 4/19 mẫu vẫn phát hiện *P. aeruginosa* chứng tỏ có sự hiện diện của các chủng kháng ceftazidime thuộc nhóm cephalosporin thế hệ ba, kháng sinh quan trọng trong điều trị lâm sàng là vấn đề đáng quan tâm. Do số mẫu hạn chế, chưa đủ cơ sở suy rộng xu hướng theo nhóm sản phẩm hoặc xác định nguyên nhân ô nhiễm, từ 4 mẫu này, 07 khuẩn lạc điển hình được lựa chọn ngẫu nhiên để phân lập, định danh và đánh giá hồ sơ kháng kháng sinh.

3.2. Kết quả định danh MALDI-TOF từ mẫu nước đóng chai và đóng bình

7 khuẩn lạc có khả năng phát triển trên môi trường thạch *Pseudomonas* có bổ sung ceftazidime (1 µg/ml) đã được phân lập và định danh bằng công nghệ phổ khối MALDI-TOF. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

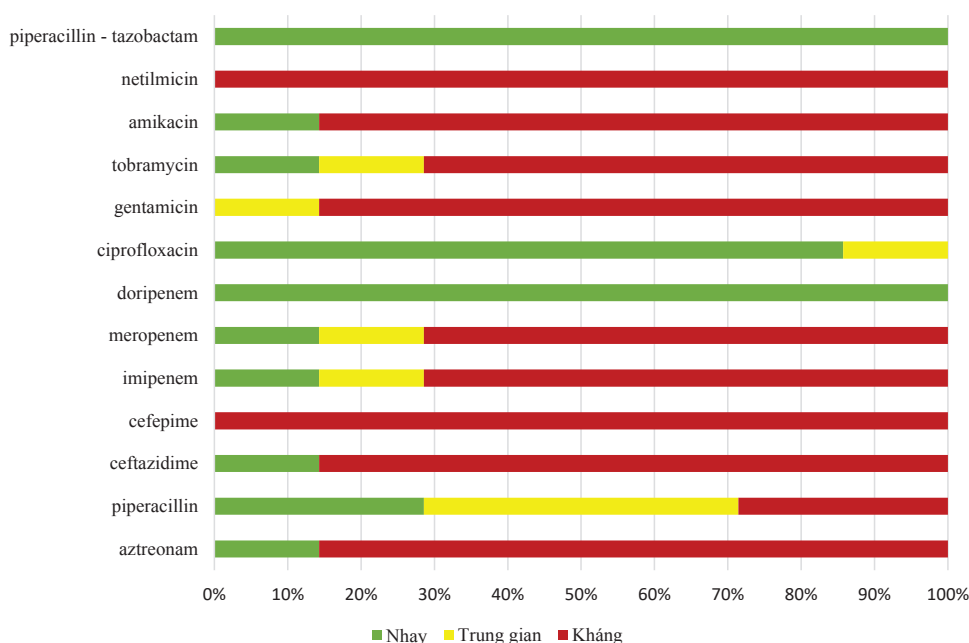
Bảng 3. Kết quả định danh các khuẩn lạc phân lập được từ 4 mẫu nước đóng bình phát hiện *P. aeruginosa* trên môi trường thạch *Pseudomonas* bổ sung ceftazidime.

Mã chủng	Tên loài	Độ tin cậy (%)
01	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,9
02	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,9
03	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,9
04	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,9
05	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,9
06	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,9
07	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,9

Kết quả định danh bằng MS MALDI-TOF cho thấy, cả 7 khuẩn lạc đều đạt điểm số $> 2,0$ với độ tin cậy 99,9% (bảng 3), cho phép xác định chính xác ở cấp độ loài là *P. aeruginosa* (07/07, 100%).

3.3. Hồ sơ kháng kháng sinh của các chủng *P. aeruginosa* phân lập từ mẫu nước đóng chai và đóng bình

Hồ sơ kháng kháng sinh của 7 chủng *P. aeruginosa* phân lập từ mẫu nước đóng chai và đóng bình cho thấy, mức độ kháng thuốc tương đối cao, đặc biệt đối với các kháng sinh thuộc nhóm β -lactam và aminoglycoside (hình 1).



Hình 1. Hồ sơ kháng sinh của *P. aeruginosa* dựa trên đường kính vùng ức chế (mm). Đồ: kháng thuốc, vàng: trung gian, xanh lá cây: nhạy cảm.

Trong 7 chủng *P. aeruginosa* được tuyển chọn, toàn bộ chủng kháng cefepime và netilmicin (7/7; 100%); 6/7 chủng (85,7%) kháng aztreonam, ceftazidime, gentamicin và amikacin; 5/7 chủng (71,4%) kháng imipenem, meropenem và tobramycin; 2/7 chủng (28,6%) kháng piperacillin. Đối với ciprofloxacin, 6/7 chủng nhạy cảm và 1/7 chủng có mức đáp ứng trung gian, không ghi nhận chủng kháng. Piperacillin-tazobactam và doripenem duy trì hoạt tính tốt trên toàn bộ các chủng khảo sát. Nhìn chung, các chủng biểu hiện mức kháng cao đối với cephalosporin thế hệ 3-4, aminoglycoside và một số carbapenem, trong khi mức độ nhạy cảm với ciprofloxacin, doripenem và piperacillin-tazobactam vẫn được bảo tồn. Việc tuyển chọn các chủng có khả năng phát triển trên môi trường bổ sung ceftazidime có thể góp phần giải thích tỷ lệ kháng β -lactam tương đối cao trong nhóm chủng khảo sát. Vì vậy, kết quả kháng sinh đồ chủ yếu phản ánh đặc điểm của các chủng được tuyển chọn theo tiêu chí này. Về cơ chế, kháng cefepime ở *P. aeruginosa* có thể liên quan đến tăng biểu hiện AmpC, sự hiện diện của β -lactamase phổ mở rộng, giảm tính thấm màng hoặc tăng hoạt động của các bơm tống thuốc. Kháng meropenem thường liên quan đến suy giảm hoặc mất porin OprD, tăng hoạt động bơm tống thuốc và sự hiện diện của carbapenemase; trong khi kháng amikacin có

thể liên quan đến các enzyme biến đổi aminoglycoside, hệ MexXY-OprM hoặc methylase 16S rRNA [5]. Tuy nhiên, do nghiên cứu chưa khảo sát các dấu ấn kháng thuốc hoặc biểu hiện của các cơ chế này, nguyên nhân của kiểu hình kháng chưa thể được xác định.

So với các nghiên cứu trên chủng môi trường, tỷ lệ kháng trong nghiên cứu này cao hơn mức được ghi nhận tại Cộng hòa Séc, nơi tỷ lệ kháng meropenem, gentamicin và ceftazidime lần lượt là 27,2, 28,8 và 11,5% [24]. Tại Ghana, tỷ lệ kháng aztreonam của *P. aeruginosa* trong nước uống

là 48%, trong khi tỷ lệ kháng ciprofloxacin chỉ ở mức 4,9% [25]. Ngược lại, L. Wei và cs (2020) [26] ghi nhận toàn bộ 132 chủng *P. aeruginosa* phân lập từ nước uống tại Trung Quốc đều nhạy cảm với 14 kháng sinh được khảo sát. Sự khác biệt giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến nguồn mẫu, quy trình xử lý nước, chiến lược phân lập và tuyển chọn chủng, tiêu chuẩn diễn giải cũng như bối cảnh địa lý. Các nghiên cứu lâm sàng trong khu vực cung cấp thêm bằng chứng về sự lưu hành của nhiều cơ chế kháng ở *P. aeruginosa*. Tại Thái Lan, tỷ lệ kháng amikacin, gentamicin và tobramycin lần lượt đạt 92, 95 và 96%, đồng thời các enzyme biến đổi aminoglycoside và hệ MexXY được phát hiện phổ biến [27]. Tại Việt Nam, các biến thể *blaIMP*, *blaDIM*, *blaKPC* và dòng ST235 mang *blaIMP*-26 đã được ghi nhận ở các chủng kháng carbapenem [28, 29]. Do số chủng được khảo sát còn hạn chế (n=7) và được tuyển chọn sau bước sàng lọc ceftazidime, các tỷ lệ kháng trên đây chỉ có giá trị mô tả trong nhóm chủng nghiên cứu, việc so sánh với các nghiên cứu khác nhằm đặt kết quả trong bối cảnh tham khảo. Đồng thời, do khác biệt về nguồn phân lập, các dữ liệu lâm sàng này chủ yếu có giá trị tham khảo về phổ cơ chế kháng và không thể được ngoại suy trực tiếp cho các chủng nước uống trong nghiên cứu hiện tại. Sự đồng

thời xuất hiện kiểu hình kháng với nhiều nhóm kháng sinh cho thấy việc giám sát liên tục và nghiên cứu sâu hơn về cơ chế kháng kháng sinh là cần thiết để đảm bảo hiệu quả điều trị và an toàn sức khỏe cộng đồng. Các chủng này tiếp tục được phân tích nhằm phát hiện sự hiện diện của các gen độc lực liên quan đến khả năng xâm nhập, gây tổn thương mô và hình thành biofilm.

3.4. Phát hiện gen độc lực của *P. aeruginosa* trong mẫu nước đóng chai và đóng bình

Kết quả heatmap (hình 2) cho thấy mỗi chủng phát hiện 10-12/13 gen độc lực. Các gen *exoA*, *exoY*, *lasA*, *lasB*, *aprA*, *rhlAB*, *rhlI* và *rhlR* hiện diện ở 7/7 chủng, trong khi *exoU*, *exoS*, *exoT*, *lasI* và *lasR* phân bố không đồng đều. Điều này cho thấy các chủng phân lập mang đồng thời nhiều yếu tố liên quan đến hệ thống tiết type II và III, enzyme ngoại bào và quorum sensing.

Nhóm chức năng	Gen	01	02	03	04	05	06	07	Số chủng dương tính	Tỷ lệ (%)
Hệ thống tiết type III	<i>exoU</i>	-	-	-	-	+	-	+	2	28,6%
	<i>exoT</i>	+	+	-	+	+	+	+	6	85,7%
	<i>exoY</i>	+	+	+	+	+	+	+	7	100,0%
	<i>exoA</i>	+	+	+	+	+	+	+	7	100,0%
	<i>exoS</i>	+	+	-	+	-	-	+	4	57,1%
Enzyme ngoại bào	<i>lasA</i>	+	+	+	+	+	+	+	7	100,0%
	<i>lasB</i>	+	+	+	+	+	+	+	7	100,0%
	<i>aprA</i>	+	+	+	+	+	+	+	7	100,0%
Quorum sensing/ biofilm	<i>rhlAB</i>	+	+	+	+	+	+	+	7	100,0%
	<i>rhlI</i>	+	+	+	+	+	+	+	7	100,0%
	<i>rhlR</i>	+	+	+	+	+	+	+	7	100,0%
	<i>lasI</i>	+	-	+	+	+	+	+	6	85,7%
	<i>lasR</i>	+	+	+	+	+	-	-	5	71,4%
Tổng số gen phát hiện/chủng		12	11	10	12	12	10	12	10-12/13 gen/chủng	

Hình 2. Heatmap biểu diễn sự phân bố các gen độc lực ở 7 chủng *P. aeruginosa* phân lập trong nghiên cứu. +: dương tính, -: âm tính.

Đối với các gen liên quan đến hệ thống tiết, *exoA* thuộc hệ thống tiết type II và III được phát hiện ở 7/7 chủng (100%); trong khi các gen mã hóa protein hiệu ứng của hệ thống tiết type II và III gồm *exoU*, *exoS*, *exoT*

và *exoY* được phát hiện lần lượt ở 2/7 (28,6%), 4/7 (57,1%), 6/7 (85,7%) và 7/7 chủng (100%). Tỷ lệ *exoU* trong nghiên cứu này thấp hơn mức 56 và 58,9% được báo cáo lần lượt tại Iran và Ai Cập [30], nhưng tương đương với tỷ lệ 27,6% ở các chủng phân lập từ nước sông tại Tây Ban Nha [31]. Tỷ lệ *exoS* (57,1%) cũng gần với các mức 58,9% tại Ba Lan và 51,2% tại Iran [32]. Đáng chú ý, chủng 07 đồng thời phát hiện *exoU* và *exoS*, kết quả này cho thấy sự đa dạng của hồ sơ gen hệ thống tiết type III giữa các chủng, nhưng cần được xác nhận thêm bằng giải trình tự sản phẩm khuếch đại hoặc phân tích hệ gen trước khi suy luận về kiểu độc lực.

Đối với nhóm enzyme ngoại bào và quorum sensing, các gen *lasA*, *lasB*, *aprA*, *rhlAB*, *rhlI* và *rhlR* được phát hiện ở tất cả các chủng, trong khi *lasI* và *lasR* được phát hiện lần lượt ở 6/7 và 5/7 chủng. Kết quả này cho thấy, các thành phần di truyền của mạng lưới quorum sensing *Las/Rhl* hiện diện phổ biến trong nhóm chủng khảo sát, phù hợp với vai trò của hệ thống này trong điều hòa enzyme ngoại bào và hình thành biofilm [8, 11]. Tuy vậy, việc không phát hiện *lasR* ở các chủng 06 và 07 không đồng nghĩa với mất hoàn toàn khả năng hình thành biofilm, ngược lại, sự hiện diện của các gen quorum sensing cũng không đủ để khẳng định chủng tạo biofilm mạnh, do kiểu hình này còn phụ thuộc vào tính toàn vẹn và mức biểu hiện của gen, sự phối hợp giữa nhiều hệ thống điều hòa và điều kiện môi trường.

Khi đối chiếu với kết quả kháng sinh đồ, các chủng trong nghiên cứu vừa mang nhiều gen độc lực, vừa biểu hiện mức kháng cao với một số nhóm kháng sinh, đặc biệt là cephalosporin và aminoglycoside. Sự đồng hiện diện này có ý nghĩa cảnh báo vì các chủng tồn tại trong nước uống có thể đồng thời mang đặc điểm hỗ trợ thích nghi, gây bệnh và giảm nhạy cảm với kháng sinh, biofilm, nếu được hình thành, còn có thể góp phần làm giảm khả năng thẩm thấu và tăng khả năng tồn lưu trong hệ thống sản xuất, chiết rót hoặc bình chứa [12]. Tuy nhiên, với chỉ 7 chủng được lựa chọn sau bước sàng lọc trên môi trường bổ sung ceftazidime, nghiên cứu hiện mới cho phép mô tả sự đồng hiện diện, chưa đủ cơ sở thống kê để kết luận *exoU* liên quan đến mức kháng mạnh hơn, *exoS* liên quan đến ciprofloxacin hoặc *lasR* liên quan trực tiếp đến kiểu hình biofilm.

4. Kết luận

Nghiên cứu cho thấy, 38% trong các mẫu nước đóng chai được nghiên cứu phát hiện nhiễm *P. aeruginosa*, trong đó các chủng phân lập thể hiện hồ sơ kháng thuốc đa dạng và đáng lo ngại. Tất cả các chủng đều kháng cefepime (100%), phần lớn kháng aminoglycoside (amikacin và gentamicin, 85,7%), nhưng vẫn còn nhạy cảm với piperacillin-tazobactam và doripenem (100%). Về mặt độc lực, các chủng mang đồng thời nhiều gen quan trọng như *exoA*, *exoY*, *lasA*, *lasB*, *exoS* (57,1%) và *exoU* (28,6%). Kết quả này cung cấp thêm dữ liệu khoa học về đặc điểm kháng kháng sinh và gen độc lực của *P. aeruginosa* trong nước uống đóng chai, đóng bình, góp phần nhấn mạnh sự cần thiết của việc duy trì giám sát vi sinh định kỳ, kiểm soát điều kiện sản xuất và bảo đảm chất lượng sản phẩm theo quy định hiện hành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] D. Vukić Lušić, N. Maestro, N. Maestro, et al. (2021), "Occurrence of *P. aeruginosa* in water intended for human consumption and in swimming pool water", *Environments*, **8**(12), DOI: 10.3390/environments8120132.

[2] T.D. Sousa, M. Hebraud, M.L.N.E. Dapkevicius, et al. (2021), "Genomic and metabolic characteristics of the pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*", *Int. J. Mol. Sci.*, **22**(23), DOI: 10.3390/ijms222312892.

[3] X. Li, N. Gu, T.Y. Huang, et al. (2022), "*Pseudomonas aeruginosa*: A typical biofilm forming pathogen and an emerging but underestimated pathogen in food processing", *Front. Microbiol.*, **13**, DOI: 10.3389/fmicb.2022.1114199.

[4] P. Pachori, R. Gothalwal, P. Gandhi (2019), "Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review", *Genes Dis.*, **6**(2), pp.109-119, DOI: 10.1016/j.gendis.2019.04.001.

[5] Z. Pang, R. Raudonis, B.R. Glick, et al. (2019), "Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and alternative therapeutic strategies", *Biotechnol. Adv.*, **37**(1), pp.177-192, DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.013.

[6] G. Mancuso, S.D. Gaetano, A. Midiri, et al. (2023), "The challenge of overcoming antibiotic resistance in carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: 'Attack on titan'", *Microorganisms*, **11**(8), DOI: 10.3390/microorganisms11081912.

[7] C.G. Nolasco-Romero, F.J. Perez-Galbarro, R.N.J. Juarez, et al. (2024), "The *exoS*, *exoT*, *exoU* and *exoY* virulotypes of the type 3 secretion system in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* as a death risk factor in pediatric patients", *Pathogens*, **13**(12), DOI: 10.3390/pathogens13121030.

[8] J. Lee, L. Zhang (2015), "The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*", *Protein Cell*, **6**(1), pp.26-41, DOI: 10.1007/s13238-014-0100-x.

[9] H. Wei, Y. Fu, W. Qin, et al. (2025), "The relationship between virulence and drug resistance genes in *Pseudomonas aeruginosa* and antibiotic resistance: A targeted next-generation sequencing approach", *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **15**, DOI: 10.3389/fcimb.2025.1563741.

[10] T. Wu, Z. Zhang, T. Li, et al. (2024), "The type III secretion system facilitates systemic infections of *Pseudomonas aeruginosa* in the clinic", *Microbiol. Spectr.*, **12**(1), DOI: 10.1128/spectrum.02224-23.

[11] A.A. Elnegery, W.K. Mowafy, T.A. Zahra, et al. (2021), "Study of quorum-sensing LasR and RhlR genes and their dependent virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from infected burn wounds", *Access Microbiol.*, **3**(3), DOI: 10.1099/acmi.0.000211.

[12] P. Shree, C.K. Singh, K.K. Sodhi, et al. (2023), "Biofilms: Understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics", *Med. Microecol.*, **16**, DOI: 10.1016/j.medmic.2023.100084.

[13] N.V. Thuan, V.C. Chinh, T.T. Quoc, et al. (2024), "The state of food safety and hygiene in bottled water production facilities in the five provinces of the Central Highlands region in 2023", *Vietnam Journal of Food Control*, **7**(3), pp.369-377, DOI: 10.47866/2615-9252/vjfc.4364.

[14] H.S. Bien (2025), "The current situation and causes of *Pseudomonas Aeruginosa* contamination in bottled drinking water", <https://antoanthucpham.quangtri.gov.vn/Tin-tuc-su-kien/Thuc-trang-nguyen-nhan-nhiem-Pseudomonas-Aeruginosa-trong-nuoc-uong-dong-chaiThuc-trang-nguyen-nhan-nhiem-Pseudomonas-Aeruginosa-trong-nuoc-uong-dong-chai-629.html>, accessed 2 June 2025 (in Vietnamese).

[15] N.A.E. Fahim, G.A.E.W. Ismail, M.B. Abdelaleem, et al. (2022), "Identification, characterization and antibiotic susceptibility testing for *Bacillus* species", *Iran. J. Microbiol.*, **14**(4), DOI: 10.18502/ijm.v14i4.10234.

[16] A.W. Bauer, W.M. Kirby, J.C. Sherris, et al. (1966), "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method", *Am. J. Clin. Pathol.*, **45**(4), pp.493-496.

[17] J.J. Biemer (1973), "Antimicrobial susceptibility testing by the Kirby-Bauer disc diffusion method", *Ann. Clin. Lab. Sci.*, **3**(2), pp.135-140.

[18] S.M.C. Petit, R. Lavenir, C.C. Dupuich, et al. (2013), "Lagooning of wastewaters favors dissemination of clinically relevant *Pseudomonas aeruginosa*", *Res. Microbiol.*, **164**(8), pp.856-866, DOI: 10.1016/j.resmic.2013.06.007.

[19] T. Ajayi, L.R. Allmond, T. Sawa, et al. (2003), "Single-nucleotide-polymorphism mapping of the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion toxins for development of a diagnostic multiplex PCR system", *J. Clin. Microbiol.*, **41**(8), pp.3526-3531, DOI: 10.1128/JCM.41.8.3526-3531.2003.

- [20] A.A. Khan, C.E. Cerniglia (1994), "Detection of *Pseudomonas aeruginosa* from clinical and environmental samples by amplification of the exotoxin A gene using PCR", *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**(10), pp.3739-3745, DOI: 10.1128/aem.60.10.3739-3745.1994.
- [21] J.A. Lomholt, K. Poulsen, M. Kilian (2001), "Epidemic population structure of *Pseudomonas aeruginosa*: Evidence for a clone that is pathogenic to the eye and that has a distinct combination of virulence factors", *Infect. Immun.*, **69**(10), pp.6284-6295, DOI: 10.1128/IAI.69.10.6284-6295.2001.
- [22] H. Zhu, R. Bandara, T.C.R. Conibear, et al. (2004), "*Pseudomonas aeruginosa* with LasI Quorum-sensing deficiency during corneal infection", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **45**(6), pp.1897-1903, DOI: 10.1167/iovs.03-0980.
- [23] J.A. Schaber, N.L. Carty, N.A. McDonald, et al. (2004), "Analysis of quorum sensing-deficient clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*", *J. Med. Microbiol.*, **53**(9), pp.841-853, DOI: 10.1099/jmm.0.45617-0.
- [24] N. Roulová, P. Mot'ková, I. Brožková, et al. (2022), "Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospital wastewater in the Czech Republic", *J. Water Health*, **20**(4), pp.692-701, DOI: 10.2166/wh.2022.101.
- [25] H. Ahmed, M. Zolfo, A. Williams, et al. (2022), "Antibiotic-resistant bacteria in drinking water from the greater accra region, Ghana: A cross-sectional study, December 2021 - March 2022", *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **19**(19), DOI: 10.3390/ijerph191912300.
- [26] L. Wei, Q. Wu, J. Zhang, et al. (2020), "Prevalence, virulence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from drinking water in China", *Frontiers in Microbiology*, **11**, DOI: 10.3389/fmicb.2020.544653.
- [27] K. Poonsuk, C. Tribuddharat, R. Chuanchuen (2013), "Aminoglycoside resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from non-cystic fibrosis patients in Thailand", *Can. J. Microbiol.*, **59**(1), pp.51-56, DOI: 10.1139/cjm-2012-0465.
- [28] H.A. Tran, T.N.B. Vu, S.T. Trinh, et al. (2021), "Resistance mechanisms and genetic relatedness among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from three major hospitals in Hanoi, Vietnam (2011-15)", *JAC-Antimicrob. Resist.*, **3**(3), DOI: 10.1093/jacamr/dlab103.
- [29] T. Tada, P.H. Nhung, T.M. Akiyama, et al. (2016), "Multidrug-resistant sequence type 235 *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates producing imp-26 with increased carbapenem-hydrolyzing activities in Vietnam", *Antimicrob. Agents Chemother.*, **60**(11), pp.6853-6858, DOI: 10.1128/aac.01177-16.
- [30] N.A. Hassuna, S.A. Mandour, E.S. Mohamed (2020), "Virulence constitution of multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in upper Egypt", *Infect. Drug Resist.*, **13**, pp.587-595, DOI: 10.2147/IDR.S233694.
- [31] B.R. Bezares, C. Casado, T. Cenicerros, et al. (2024), "*Pseudomonas aeruginosa* from river water: Antimicrobial resistance, virulence and molecular typing", *FEMS Microbiol. Ecol.*, **100**(5), DOI: 10.1093/femsec/fiae028.
- [32] S.A. Bazghandi, M. Arzanlou, H. Peeridogaheh, et al. (2021), "Prevalence of virulence genes and drug resistance profiles of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens", *Jundishapur Journal of Microbiology*, **14**(8), DOI: 10.5812/jjm.118452.