

KHẢO SÁT CÁC THÔNG SỐ HÓA-LÝ VÀ SỰ HIỆN DIỆN CỦA VI KHUẨN CÓ CHỨA GEN KHÁNG KHÁNG SINH TRONG CÁC MẪU NƯỚC GIẾNG KHOAN TẠI MỘT SỐ XÃ Ở HUYỆN BÌNH ĐẠI, TỈNH BẾN TRE

Lê Quang Duy, Phạm Thị Phương Thùy*

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: thuypptp@huit.edu.vn

Ngày nhận bài: 06/12/2024; Ngày nhận bài sửa: 06/01/2025; Ngày chấp nhận đăng: 26/3/2025

TÓM TẮT

Kháng kháng sinh đã trở thành mối quan tâm toàn cầu đối với sức khỏe của con người. Nhiều nghiên cứu trước đây đã xác định sự hiện diện và tỷ lệ của vi khuẩn và gen kháng kháng sinh trong các mẫu nước sinh hoạt, nước mặt, nước thải, v.v. Tuy nhiên, sự hiện diện của vi khuẩn có chứa gen kháng kháng sinh trong nước giếng khoan vẫn chưa được nghiên cứu nhiều. Trong nghiên cứu này, chất lượng nước giếng khoan tại 7 xã thuộc huyện Bình Đại, tỉnh Bến Tre được đánh giá sơ bộ dựa trên các yếu tố hóa lý và vi sinh vật. Kết quả phân tích hóa lý cho thấy đa số các mẫu nước giếng đều có tính acid ($\text{pH} < 7$) và chỉ có nước giếng ở xã Châu Hưng và xã Phú Thuận đạt tiêu chuẩn nước sinh hoạt theo QCVN 02:2009/BYT với các chỉ tiêu trong khảo sát. Kết quả phân tích vi sinh vật cho thấy tổng số vi khuẩn dị dưỡng hiếu khí trong nước giếng dao động từ $50,0 \pm 2,0$ CFU/L - $142,3 \pm 9,9$ CFU/L. Mẫu nước tại vị trí xã Thới Thuận có tỷ lệ kháng kháng sinh cao nhất, lần lượt là 27,9%, 28,9%, 11,7%, 21,4% và 19,7% tương ứng với các kháng sinh ampicillin, amoxicillin, cefazolin, penicillin G và tetracycline. Ba chủng vi khuẩn đa kháng đã được định danh gồm *Enterobacter cloacae*, *Bacillus cereus* và *Pseudomonas aeruginosa*. Phân tích cho thấy sự hiện diện của gen *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}* và *tet_M* trong các vi khuẩn phân lập được. Kết quả này bước đầu cho thấy có sự hiện diện của vi khuẩn có chứa gen kháng kháng sinh trong nước giếng, từ đó cung cấp thông tin quan trọng cho việc đánh giá tác động của hiện trạng kháng kháng sinh đối với sức khỏe cộng đồng.

Từ khóa: Gen kháng kháng sinh, nước giếng, vi khuẩn dị dưỡng.

1. MỞ ĐẦU

Kháng thuốc kháng sinh đã trở thành mối đe dọa sức khỏe toàn cầu, gây ra nhiều biến chứng nguy hiểm trong điều trị và phòng ngừa các bệnh nhiễm trùng. Năm 2009, có khoảng 13,7 triệu ca tử vong do nhiễm trùng đã được báo cáo, trong đó số ca nhiễm trùng liên quan đến kháng kháng sinh góp phần trực tiếp ước tính là 1,27 triệu ca và gián tiếp vào khoảng 4,95 triệu ca [1]. Các vấn đề kinh tế xã hội đóng vai trò quan trọng đối với tình trạng kháng kháng sinh. Trong đó, các khu vực ít được tiếp cận với nước sạch và cơ sở hạ tầng y tế yếu kém chiếm hơn 90% số ca tử vong liên quan đến kháng kháng sinh [2]. Các nghiên cứu ở Châu Phi và Châu Á đã báo cáo việc sử dụng kháng sinh rộng rãi theo kinh nghiệm cho các bệnh cảm, sốt thông thường, ngay cả khi không cần thiết [3]. Dựa trên sự phân bố rộng rãi của các gen kháng kháng sinh, Việt Nam, Ấn Độ và Brazil là những điểm nóng cho sự phát triển các cơ chế kháng kháng sinh mới [4]. Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) đã đưa Việt Nam vào nhóm các nước có tỷ lệ kháng kháng sinh cao nhất thế giới. Trong khi nhiều quốc gia phát triển chỉ sử dụng kháng sinh thể hệ một vẫn hiệu quả, Việt Nam đã phải dùng tới kháng sinh thế hệ 3 và 4 [5].

Vấn đề ô nhiễm nguồn nước, đặc biệt là sự hiện diện của những loại vi khuẩn kháng kháng sinh làm tăng thêm ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe của con người. Nước ngầm là nguồn nước ngọt chính trên toàn cầu, chiếm 97% lượng nước ngọt có sẵn trên trái đất, trong khi 3% còn lại chủ yếu là nước mặt. Đây được coi là nguồn cung cấp nước quan trọng nhất ở nhiều khu vực trên thế giới [6]. Các phân tích vi sinh vật trong nước ngầm và nước sinh hoạt thường tập trung vào các chỉ thị ô nhiễm phân như *E.coli*, coliform và các vi khuẩn gây bệnh nhằm phát hiện và ngăn ngừa các bệnh truyền nhiễm. Sự hiện

diện của vi khuẩn với một lượng lớn trong nguồn nước sinh hoạt có thể gây ra rủi ro về sức khỏe và rủi ro này sẽ nghiêm trọng hơn khi các vi khuẩn này có khả năng kháng kháng sinh. Vi khuẩn có chứa gen kháng kháng sinh có thể truyền khả năng kháng thuốc kháng sinh đối với các tác nhân gây bệnh ở người, làm tăng nguy cơ nhiễm trùng khó điều trị hơn. Con người có thể tiếp xúc với các chủng kháng kháng sinh này thông qua nước uống, nước sinh hoạt [7], các hoạt động giải trí dưới nước [8], hoặc tiêu thụ cá [9], rau và các loại thực phẩm bị ô nhiễm [10].

Sự xuất hiện của vi khuẩn kháng kháng sinh và gen kháng kháng sinh trong môi trường nước đang trở thành mối quan tâm ngày càng tăng trên toàn cầu. Hàng trăm gen kháng kháng sinh khác nhau mã hóa khả năng kháng nhiều loại kháng sinh đã được tìm thấy trong các vi sinh vật phân bố không chỉ trong nước thải bệnh viện và nước thải chăn nuôi mà còn trong cả nước mặt, nước ngầm và thậm chí là nước uống. Trong số đó, nổi bật là các gen kháng kháng sinh nhóm β -lactam như *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M*, *blaKPC*; các gen kháng tetracycline như *tetM*, *tetW*, *tetO*; các gen kháng sulfonamide như *sul1*, *sul2* đã được tìm thấy trong môi trường nước, đặc biệt là nước mặt [11-13]. Tại Việt Nam, một số nghiên cứu đã báo cáo sự tồn tại dư lượng của 49 loại kháng sinh bao gồm các nhóm β -lactam, sulfonamide, quinolone và tetracycline trong các mẫu nước xung quanh khu vực nuôi trồng thủy sản tại các thành phố Hà Nội, Thái Bình, Cần Thơ [14]. Bên cạnh đó, phân tích metagenomic dựa trên 16S rDNA đã phát hiện gen sinh β -lactamase *blaCTX-M-1* có mặt trong 8/12 mẫu nước mặt ở Đồng bằng sông Cửu Long, từ đó cho thấy hệ thống nước ngọt khu vực này bị ô nhiễm do hoạt động con người [15].

Ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long nói chung và điển hình là tỉnh Bến Tre, vấn đề thiếu nước sinh hoạt ngày càng trở nên căng thẳng hơn. Nguyên nhân của tình trạng thiếu nước sinh hoạt tại Bến Tre là do nước nhiễm mặn cao vào mùa khô, các nhà máy nước không thể có nguồn nước để phục vụ nhu cầu người dân. Trong tình hình đó, nước giếng khoan đã trở thành một nguồn nước thay thế quý báu trong gian đoạn hạn mặn kéo dài [16, 17]. Tuy nhiên, các nguồn nước sinh hoạt nói chung và nước giếng khoan nói riêng ít được nghiên cứu về vấn đề tồn tại của vi khuẩn kháng kháng sinh. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích khảo sát mật độ và tỷ lệ vi khuẩn kháng kháng sinh đối với một số kháng sinh nhóm β -lactam và tetracycline trong các mẫu nước giếng khoan. Các vi khuẩn kháng kháng sinh được định danh và sự hiện diện của các gen quy định tính kháng kháng sinh trong các vi khuẩn này cũng được xác định.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và phương pháp lấy mẫu

Nghiên cứu được thực hiện tại 7 điểm lấy mẫu nước giếng khoan theo trục dọc huyện Bình Đại, phân bố theo 3 vùng sinh thái-nông nghiệp. Vùng trên gồm 3 xã Long Hòa, Châu Hưng và Phú Thuận với hoạt động chính là chăn nuôi và trồng trọt. Vùng giữa bao gồm 2 xã Phú Long và Bình Thới có sự kết hợp đa dạng giữa chăn nuôi, trồng trọt và nuôi trồng thủy sản. Vùng ven biển gồm 2 xã Thới Thuận và Thửa Đức tập trung chủ yếu vào hoạt động nuôi trồng thủy sản. Các mẫu nước được thu thập từ tháng 3 đến tháng 7 năm 2024. Độ sâu của các giếng khoan từ 20-30 mét. Các mẫu nước được thu thập bằng cách bơm hút trực tiếp từ các giếng khoan của các hộ dân. Tọa độ, vị trí và ký hiệu địa điểm được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Vị trí và tọa độ các địa điểm lấy mẫu tại huyện Bình Đại, tỉnh Bến Tre

STT	Ký hiệu địa điểm	Vị trí	Tọa độ
1	LH	Ấp Long An, xã Long Hòa	10°16'05.7"N 106°27'16.5"E
2	CH	Ấp Hưng Nhơn, xã Châu Hưng	10°14'55.2"N 106°28'56.4"E
3	PT	Ấp Phú Thạnh, xã Phú Thuận	10°16'01.4"N 106°29'19.4"E
4	PL	Ấp Giồng Tre, xã Phú Long	10°12'32.5"N 106°36'01.5"E
5	BT	Ấp 4, xã Bình Thới	10°11'55.3"N 106°38'36.2"E
6	TT	Ấp Thới An, xã Thới Thuận	10°04'03.4"N 106°42'46.0"E
7	TĐ	Ấp Thửa Trung, xã Thửa Đức	10°10'17.5"N 106°44'43.6"E

Mẫu nước giếng khoan được lấy vào các chai thủy tinh 500 mL đã được hấp khử trùng. Các mẫu sau khi lấy được chia thành hai phần: (1) phân tích các thông số hóa-lý của nước; (2) phân tích vi sinh

vật. Tất cả các mẫu nước ngay khi lấy được trữ lạnh trên đá trong thùng cách nhiệt và vận chuyển về phòng thí nghiệm và bảo quản ở 4 °C cho đến khi phân tích.

2.2. Phân tích các chỉ tiêu hóa lý

Các chỉ tiêu hóa-lý của mẫu nước giếng được phân tích tại phòng thí nghiệm. Trong đó, pH được xác định bằng máy đo pH Thermo Scientific Orion Star A211 (Indonesia). Độ đục (NTU) được đo bằng máy đo độ đục cầm tay Hanna HI98703 (Italia). Độ cứng (mg/L) được xác định bằng phương pháp chuẩn độ EDTA theo TCVN 6224:1996 [18]. Chỉ số pecmanganat (mg/L) được xác định bằng phương pháp chuẩn độ theo TCVN 6186:1996 [19]. Chỉ tiêu sắt tổng (Fe) (mg/L) được xác định bằng phương pháp trắc phổ theo TCVN 6177:1996 [20].

2.3. Định lượng vi khuẩn hiếu khí dị dưỡng và vi khuẩn kháng kháng sinh

Các kháng sinh được sử dụng trong định lượng vi khuẩn kháng kháng sinh gồm amoxicillin (99,7%), cefazolin (99,5%) do Centrient Pharmaceuticals India Private Limited cung cấp. Kháng sinh ampicillin (95,4%) do Viện Kiểm nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm Quốc gia cung cấp. Kháng sinh penicillin G (100%) do Shandong Lukang Pharmaceutical Co., Ltd cung cấp. Kháng sinh tetracycline (96,5%) do Daffeng Tiansheng Pharmaceutical Co., Ltd cung cấp.

Các mẫu nước được lọc qua màng lọc 0,22 µm trên bộ lọc hút chân không. Sinh khối vi khuẩn được giữ lại trên màng lọc. Các màng lọc được đặt lên môi trường LB (Luria Bertani) và ủ ở 37 °C trong 24 giờ để định lượng tổng số vi khuẩn hiếu khí dị dưỡng trong nước. Đối với khảo sát vi khuẩn kháng kháng sinh thực hiện tương tự như trên nhưng ủ các màng lọc trên môi trường LB có bổ sung các kháng sinh theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn Xét nghiệm Lâm sàng của Mỹ (CLSI) năm 2021 [21] như sau: ampicillin: 9 µg/mL; amoxicillin: 9 µg/mL; cefazolin: 3 µg/mL; penicillin: 9 µg/mL; tetracycline: 5 µg/mL. Mật độ vi khuẩn được biểu thị dưới dạng CFU/L.

2.4. Lựa chọn chủng vi khuẩn kháng kháng sinh để định danh

Để xác định chủng vi khuẩn kháng kháng sinh, các khuẩn lạc vi khuẩn kháng kháng sinh được nhuộm Gram và quan sát hình thái vi khuẩn dưới kính hiển vi. Dựa trên hình thái và đặc điểm Gram, chọn chủng vi khuẩn có tỷ lệ xuất hiện nhiều nhất làm thuần chủng và gửi mẫu phân tích tại Công ty Nam Khoa. Tại đây, quy trình định danh được thực hiện bằng phương pháp giải trình tự gen 16S rRNA. Cụ thể, DNA vi khuẩn được tách chiết và khuếch đại vùng gen 16S rRNA bằng kỹ thuật PCR. Sản phẩm PCR thu được được giải trình tự bằng phương pháp Sanger và so sánh với các dữ liệu trong ngân hàng gen NCBI. Cuối cùng, dựa trên độ tương đồng trình tự, chủng vi khuẩn được xác định đến chi hoặc loài.

2.5. Phát hiện gen kháng kháng sinh bằng kỹ thuật PCR

Sự hiện diện của các gen kháng kháng sinh khác nhau được xác định bằng kỹ thuật PCR với các cặp mồi của các gen mã hóa enzyme β -lactamase như *blaSHV*, *blaTEM*, *blaCTX-M* và gene *tetM* mã hóa protein bảo vệ ribosome, kháng lại tetracycline. Các đoạn mồi được tổng hợp và cung cấp bởi Phù Sa Genomics. Trình tự các mồi được trình bày ở Bảng 2. Các khuẩn lạc vi khuẩn kháng kháng sinh từ thí nghiệm trên được cấy rìa sang môi trường LB có bổ sung các loại kháng sinh tương ứng và ủ ở 37 °C trong 24 giờ. Khuẩn lạc đơn vi khuẩn phát triển riêng rẽ được chọn để thực hiện phản ứng PCR. Sinh khối khuẩn lạc vi khuẩn được hòa với 20 µL nước DEPC (do Công ty TNHH ABT cung cấp) để tạo huyền phù. Dịch huyền phù vi khuẩn được ủ ở 100 °C trong 8 phút, spin 5 giây, vortex 15 giây, cuối cùng spin 30 giây và phần dịch nổi được thu nhận để làm mẫu DNA cho phản ứng PCR. Các phản ứng PCR được thực hiện trên máy PCR (Thermo Science Arktik 5020, Hoa Kỳ) cho từng cặp mồi với thể tích 50 µL theo trình tự nhiệt độ và thời gian như sau: Khởi động 95 °C trong 5 phút, lặp lại 35 lần mỗi chu kỳ gồm các bước sau: biến tính ở 95 °C trong 30 giây; gắn mồi ở 60 °C trong 30 giây; kéo dài chuỗi ở 72 °C trong 1 phút và hoàn tất ở 72 °C trong 5 phút. Các phản ứng PCR với nước DEPC thay cho DNA khuôn mẫu được dùng làm đối chứng âm.

Sản phẩm phản ứng PCR được phân tích bằng kỹ thuật điện di DNA trên gel. Mỗi 3 µL sản phẩm PCR được trộn với 1 µL 6X Loading buffer (Phù Sa Genomics) và tra vào các giếng đã được chuẩn bị trên bản gel 1,5% agarose với 0,005% thuốc nhuộm DNA Safe dye (Phù Sa Genomics). Quá trình điện di được thực hiện ở hiệu điện thế 100 V trong 35 phút trên bộ điện di ngang (Mupid Exu, Nhật Bản) và chụp gel dưới tia UV bước sóng 320 nm.

Bảng 2. Trình tự primer sử dụng trong phản ứng PCR

Gen mục tiêu	Primer	Trình tự 5'-3'	Chiều dài đoạn khuếch đại (bp)	Tài liệu tham khảo
<i>bla_{SHV}</i>	SHV-F	TTCGCCTGTGTATTATCTCC	807	[22]
	SHV-R	TTTGCTGATTTTCGCTCGG		
<i>bla_{CTX-M}</i>	CTXM-F	CGATGTGCAGTACCAGTAA	585	
	CTXM-R	AGTGACCAGAATCAGCGG		
<i>bla_{TEM}</i>	TEM-F	GCKGCCAACTTACTTCTGACAACG	247	[23]
	TEM-R	CTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTA		
<i>tet_M</i>	tetM-F	GTG GAC AAA GGT ACA ACG AG	406	[24]
	tetM-R	CGG TAA AGT TCG TCA CAC AC		

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần. Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019 và phương pháp thống kê ANOVA được xử lý bởi phần mềm SPSS 20.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chất lượng nước giếng khoan

3.1.1. Các chỉ tiêu hóa lý của nước

Ở các hộ dân, nước được bơm trực tiếp từ giếng và sử dụng ngay cho mục đích sinh hoạt, tưới cây hoặc trừ trong bể chứa mà không qua bất kỳ quy trình xử lý nào. Bảng 3 trình bày kết quả khảo sát một số thông số hóa lý của các mẫu nước giếng khoan được sử dụng trong nghiên cứu.

Bảng 3. Kết quả khảo sát các chỉ số hóa lý của các mẫu nước ngầm

Mẫu	pH	Độ đục (NTU)	Độ cứng (mg/L)	Chỉ số pecmanganat (mg/L)	Sắt tổng ¹ (mg/L)
LH	6,0	0,7	373	0,51	<0,1
CH	6,7	0,7	293	0,74	KPH
PT	6,6	1,5	337	1,05	KPH
PL	5,9	1,3	383	0,64	KPH
BT	5,4	0,8	447	1,15	KPH
TT	5,6	2,6	477	2,27	KPH
TĐ	6,2	4,8	513	5,43	KPH

Chú thích: ¹Giới hạn định lượng của phương pháp: LOQ = 0,1 mg/L. Giới hạn phát hiện của phương pháp: LOD = 0,03 mg/L.

Kết quả cho thấy có 6/7 mẫu nước có độ pH nằm trong phạm vi giới hạn cho phép về mức chất lượng của nước ngầm theo QCVN 09-MT:2015/BTNMT - Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước dưới đất trong khoảng pH từ 5,5-8,5. Riêng mẫu BT thuộc khu vực xã Bình Thới, huyện Bình Đại có độ pH 5,4, dưới ngưỡng giá trị giới hạn chất lượng cho nước ngầm. So với QCVN 02:2009/BYT - Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước sinh hoạt quy định giá trị pH dùng cho nước sinh hoạt là 6,0-8,5 [25] thì có 3/7 mẫu không đạt (các mẫu PL, BT, TT thuộc các xã Phú Long, Bình Thới và Thới Thuận).

Theo QCVN 09-MT:2015/BTNMT về chất lượng nước ngầm thì không có quy định về chỉ tiêu độ đục của nước giếng khoan [26]. Tuy nhiên, do định hướng sử dụng của các hộ gia đình là dùng cho mục đích sinh hoạt nên có thể tham chiếu theo QCVN 02:2009/BYT về chất lượng nước dùng cho mục đích sinh hoạt [25]. Theo đó, giá trị độ đục cho phép là ≤ 5 NTU. Kết quả khảo sát tất cả các mẫu nước giếng có độ đục dao động từ 0,7-4,8 NTU, nhỏ hơn độ đục nguồn cấp nước sinh hoạt theo QCVN 02:2009/BYT. Mặt khác, khi so sánh các kết quả độ đục này với tiêu chuẩn chất lượng nước cấp của huyện Bình Đại đạt các tiêu chuẩn theo QCVN 01:2009/BYT thì có 2/7 mẫu không đạt do có độ đục lớn hơn 2 NTU [27].

Trong các vị trí khảo sát, độ cứng các mẫu nước dao động từ 293-513 mg/L. Có 2/7 mẫu đạt độ cứng theo tiêu chuẩn nước sinh hoạt dựa trên QCVN 02:2009/BYT (≤ 350 mg/L) (vị trí xã Châu Hưng và Phú Thuận). Độ cứng ở mẫu nước thuộc khu vực xã Thừa Đức vượt ngưỡng giới hạn từ 1,1- 1,5 lần. Xã Thừa Đức là một xã ven biển của huyện Bình Đại với hơn 1.657 ha đất nuôi trồng thủy sản và làm muối. Bên cạnh đó, Thừa Đức cũng là khu vực chịu ảnh hưởng nặng nề của xâm nhập mặn hàng năm, từ đó dẫn đến việc có nhiều ion kim loại hòa tan và ngấm vào mạch nước ngầm dẫn đến độ cứng tăng cao [28-30].

Kết quả phân tích chỉ số pecmanganat trong các mẫu nước giếng khảo sát cho thấy có 6/7 mẫu giếng dùng cho mục đích sinh hoạt có chỉ số pecmanganat dao động từ 0,51- 2,27 mg/L, nằm trong giới hạn cho phép theo QCVN 02:2009/BYT về tiêu chuẩn nước sinh hoạt (≤ 4 mg/L). Mẫu nước ở khu vực xã ven biển Thừa Đức có chỉ số pecmanganat cao (5,43 mg/L) vượt ngưỡng cho phép của QCVN 02:2009/BYT về chất lượng nước sinh hoạt. Nước giếng khoan và nước sinh hoạt thường được đánh giá hàm lượng chất hữu cơ qua chỉ số pecmanganat. Chỉ số pecmanganat cao có thể dẫn đến sự phát triển của các vi sinh vật, tạo ra các lớp phủ rêu hoặc cặn bẩn trong bể chứa, từ đó tạo điều kiện cho sự tăng trưởng của các vi sinh vật có hại [31].

Kết quả phân tích định lượng hàm lượng sắt tổng số cho thấy tất cả 7/7 mẫu đều có nồng độ sắt dưới ngưỡng định lượng của phương pháp ($< 0,1$ mg/L).

Trong một nghiên cứu đánh giá về diễn biến chất lượng nước ngầm dùng cho mục đích sinh hoạt trên địa bàn tỉnh An Giang trong giai đoạn từ 2006-2016, kết quả cho thấy pH nước giếng tại các điểm quan trắc dao động từ $6,6 \pm 0,1$ – $7,1 \pm 0,2$, độ cứng từ $197 \pm 130,59$ mg/L – 1272 ± 681 mg/L, hàm lượng sắt tổng số cao nhất là $2,16 \pm 3,36$ mg/L tại trạm Thoại Sơn, trong khi tổng sắt ở các trạm quan trắc khác tương đối thấp, lần lượt là $0,07 \pm 0,07$ mg/L và $0,07 \pm 0,05$ mg/L [32]. So với kết quả của nghiên cứu này, có thể thấy độ pH của các mẫu nước giếng được khảo sát tại huyện Bình Đại có xu hướng thấp hơn, thiên về hướng acid. Về độ cứng, kết quả trong nghiên cứu này dao động trong khoảng từ 293 mg/L đến 573 mg/L, thấp hơn so với độ cứng một số mẫu nước giếng tại An Giang. Kết quả chỉ tiêu sắt tổng tại các xã thuộc huyện Bình Đại được ghi nhận là dưới 0,1 mg/L hoặc không phát hiện. Như vậy, có thể nói hàm lượng sắt trong nước giếng khoan ở cả 2 khu vực này đều thấp và đáp ứng yêu cầu về chất lượng nước theo QCVN 09-MT:2015/BTNMT. Tuy nhiên, ở An Giang có sự biến động hàm lượng sắt giữa các vị trí trong khi ở các xã trên địa bàn huyện Bình Đại thì khá đồng nhất, đa số các mẫu ở mức dưới ngưỡng phát hiện.

3.1.2. Tổng số vi khuẩn hiếu khí dị đường trong nước giếng khoan

Trong nghiên cứu này, tổng số vi khuẩn dị đường hiếu khí trong các mẫu nước được kiểm tra bằng phương pháp nuôi cấy các màng lọc có chứa sinh khối vi khuẩn trên môi trường LB. Bảng 4 cho thấy số lượng trung bình của tổng số vi khuẩn dị đường hiếu khí ở 7 vị trí được khảo sát.

Bảng 4. Mật độ vi khuẩn hiếu khí dị đường trong các mẫu nước giếng khoan

Mẫu	Mật độ vi khuẩn (CFU/L)
LH	$78,0^{bc} \pm 6,2$
CH	$64,3^{ab} \pm 15,9$
PT	$72,3^{bc} \pm 13,6$
PL	$84,0^c \pm 7,9$
BT	$50,0^a \pm 2,0$
TT	$127,0^d \pm 10,4$
TĐ	$142,3^d \pm 9,9$

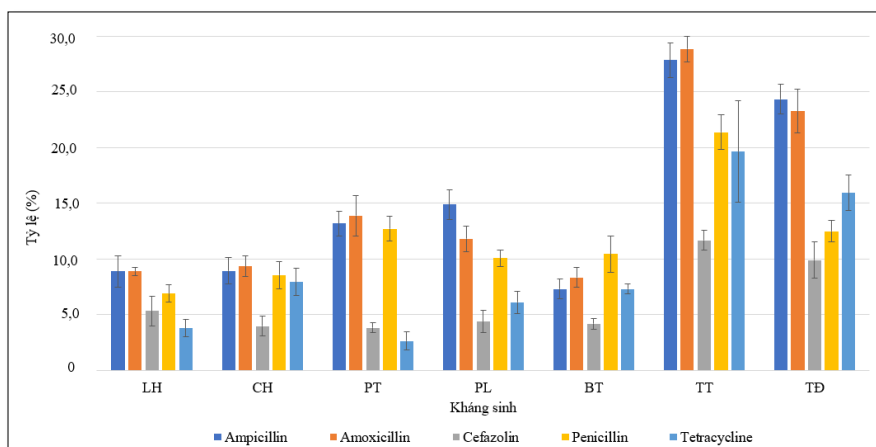
Chú thích: các ký tự “abcd” thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số liệu, ($p < 0,05$).

Số lượng vi khuẩn hiếu khí dị đường dao động lớn, từ $50,0 \pm 2,0$ CFU/L ở mẫu BT (xã Bình Thới) đến $142,3 \pm 9,9$ CFU/L ở mẫu TĐ (xã Thừa Đức). Các mẫu LH (xã Long Hòa), CH (xã Châu Hưng) và PT (xã Phú Thuận) có số lượng vi khuẩn tương đối gần nhau, lần lượt là $78,0 \pm 6,2$ CFU/L; $64,3 \pm 15,9$ CFU/L và $72,3 \pm 13,6$ CFU/L. Hai vị trí xã Thới Thuận (TT) và xã Thừa Đức (TĐ), không chỉ ghi nhận chỉ số pecmanganat cao hơn đáng kể so với các vị trí khác, mà mật độ vi khuẩn hiếu khí dị đường cũng tăng cao tương ứng. Hiện tượng này có thể được giải thích bởi vai trò của chỉ số pecmanganat như một

chỉ thị về mức độ ô nhiễm chất hữu cơ trong nước-yếu tố quan trọng cho sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật [31].

3.2. Sự hiện diện của vi khuẩn kháng kháng sinh trong các mẫu nước giếng khoan

Kết quả khảo sát sự hiện diện của vi khuẩn kháng kháng sinh trong các mẫu nước giếng khoan được trình bày ở Hình 1.



Hình 1. Biểu đồ tỷ lệ vi khuẩn kháng kháng sinh trong nước giếng khoan theo từng vị trí (LH, CH, PT, PL, BT, TT, TĐ ký hiệu cho các mẫu lấy ở các xã Long Hòa, Châu Hưng, Phú Thuận, Phú Long, Bình Thới, Thới Thuận, Thừa Đức)

Kết quả ở Hình 1 cho thấy vi khuẩn kháng kháng sinh được phát hiện có mặt trong tất cả các mẫu nước, thể hiện sự phổ biến của tình trạng vi khuẩn kháng kháng sinh ở các vùng khảo sát. Mẫu nước TT (xã Thới Thuận) ghi nhận tỷ lệ vi khuẩn kháng kháng sinh cao nhất ở cả 5 loại kháng sinh như sau: ampicillin 27,9%, amoxicillin 28,9%, cefazolin 11,7%, penicillin G 21,4% và tetracycline 19,7%. Các mẫu nước ở các vị trí xã Long Hòa, Châu Hưng, Phú Thuận có tỷ lệ kháng kháng sinh thấp hơn đáng kể so các mẫu ở Thới Thuận và Thừa Đức. Ampicillin có tỷ lệ kháng dao động từ 7,3% (xã Bình Thới) đến 29,7% (xã Thới Thuận), amoxicillin có mức kháng cao hơn với tỷ lệ cao nhất tại xã Thới Thuận (28,9%) và thấp nhất ở xã Bình Thới (8,4%). Cefazolin có tỷ lệ kháng thấp hơn các loại kháng sinh khác, trung bình từ 3,8% (xã Phú Thuận) đến 11,7% (xã Thới Thuận). Penicillin thể hiện sự tương đồng với ampicillin và amoxicillin với tỷ lệ kháng cao nhất trên 20% ở các mẫu thuộc xã Thới Thuận (21,4%). Tetracycline có tỷ lệ kháng dao động từ 2,6% đến 7,3% tương ứng với các mẫu ở xã Long Hòa, xã Phú Long và tăng cao ở vị trí xã Thới Thuận (19,7%) và vị trí xã Thừa Đức (15,9%).

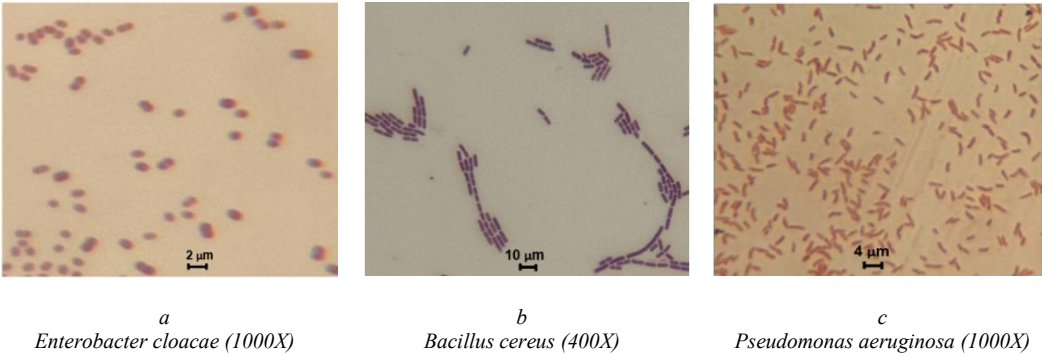
Nhìn chung, số lượng vi khuẩn kháng kháng sinh trong nước giếng tăng dần từ xã Long Hòa đến xã Thừa Đức. Riêng nước giếng ở xã Bình Thới có mật độ vi khuẩn kháng các loại kháng sinh như ampicillin, amoxicillin, cefazolin và tetracycline thấp nhất trong 7 vị trí. Các vị trí xã Long Hòa, Châu Hưng và Phú Thuận thuộc khu vực vùng trên của huyện Bình Đại, hoạt động kinh tế chủ yếu của khu vực này là chăn nuôi gia súc, gia cầm kết hợp với trồng dừa, lúa nước và các loại cây ăn trái bưởi, nhãn... Đối với các vị trí xã Phú Long, Thới Thuận, Thừa Đức, hoạt động sản xuất chính là trồng trọt, chăn nuôi gia súc và kết hợp nuôi trồng thủy sản. Trong đó, hoạt động nuôi trồng thủy sản như tôm càng xanh, tôm sú và tôm thẻ chân trắng là chủ đạo. Nghiên cứu của Miranda và cộng sự năm 2013 về cơ chế kháng thuốc kháng sinh trong môi trường nuôi cá vây đã dự báo tần suất cao của vi khuẩn kháng kháng sinh tại các địa điểm gần khu vực nuôi trồng thủy sản. Bên cạnh đó, tác giả cũng chứng minh rằng kháng sinh biến đổi trong một cơ sở nuôi trồng thủy sản có khả năng gây ra áp lực chọn lọc và làm tăng tần suất kháng thuốc cho các vi khuẩn trong môi trường khác, đặc biệt là tầng nước ngầm bên dưới [33]. Điều này có thể là lý do cho sự gia tăng mật độ vi khuẩn kháng kháng sinh ở các khu vực này.

3.3. Định danh vi khuẩn kháng kháng sinh

Trong quá trình nghiên cứu vi khuẩn kháng kháng sinh tại ba xã khác nhau, chúng tôi đã phân lập được ba chủng vi khuẩn có tần suất xuất hiện cao và đặc biệt thể hiện khả năng kháng lại toàn bộ 5 loại kháng sinh thử nghiệm. Tại xã Long Hòa, chúng tôi phân lập được chủng vi khuẩn đầu tiên với đặc điểm là trực khuẩn Gram âm, kích thước 0,6 - 1,0 x 1,2 - 3,0 μm , tế bào thường xuất hiện đơn lẻ hoặc

theo cặp khi quan sát dưới kính hiển vi (Hình 2a). Tại xã Bình Thới, chủng thứ hai được phân lập với đặc điểm là trực khuẩn Gram dương hình que, kích thước 1,0 - 1,2 x 3,0 - 5,0 μm , xuất hiện đơn lẻ hoặc tạo thành chuỗi ngắn (Hình 2b). Chủng thứ ba được phân lập từ xã Thừa Đức, là trực khuẩn Gram âm có dạng thẳng hoặc hơi cong với kích thước 0,5 - 1,0 x 1,5 - 5,0 μm (Hình 2c).

Để xác định chính xác ba chủng vi khuẩn này, các mẫu đã được gửi đến Công ty Nam Khoa để thực hiện giải trình tự gen 16S rRNA. Kết quả so sánh trình tự với ngân hàng dữ liệu NCBI đã xác nhận: chủng phân lập từ xã Long Hòa là *Enterobacter cloacae* với độ tương đồng 99,86%, chủng từ xã Bình Thới là *Bacillus cereus* với độ tương đồng hoàn toàn 100%, và chủng từ xã Thừa Đức là *Pseudomonas aeruginosa* với độ tương đồng 99,23%.



Hình 2. Hình ảnh các chủng vi khuẩn đa kháng dưới kính hiển vi

3.4. Phát hiện gen kháng kháng sinh

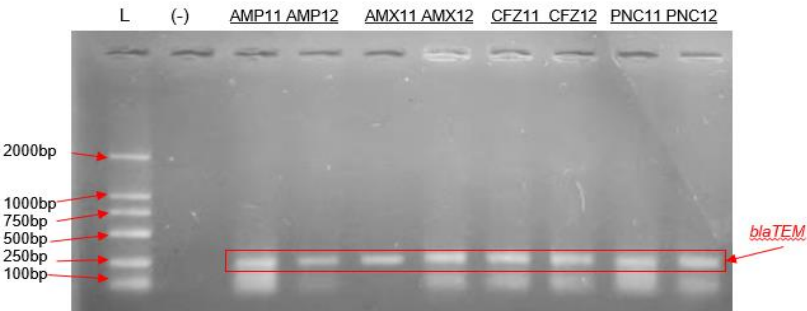
3.4.1. Phát hiện gen kháng kháng sinh trong vi khuẩn kháng kháng sinh

Ở mỗi vị trí khảo sát, 2 khuẩn lạc kháng kháng sinh trên mỗi loại kháng sinh được chọn và tiến hành nuôi cấy, làm thuần, chọn những khuẩn lạc đơn và tiến hành phản ứng PCR với các cặp mồi của các gen quy định tính kháng β -lactam (*bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}*) và tetracycline (*tet_M*). Kết quả được thể hiện ở Bảng 5 và Hình 3-5.

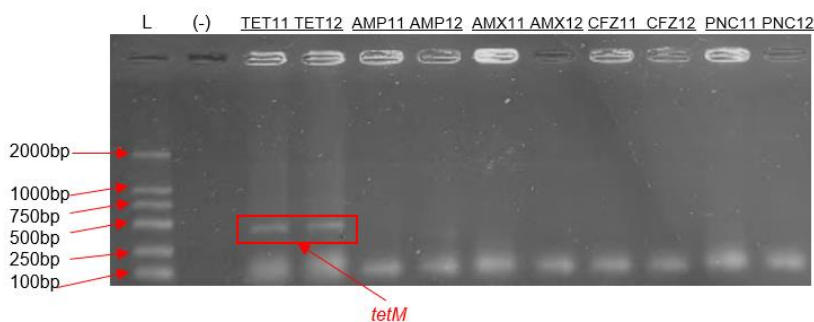
Bảng 5. Kết quả phát hiện gen kháng kháng sinh ở các vi khuẩn từ 7 vị trí khảo sát bằng kỹ thuật PCR khuẩn lạc

Khuẩn lạc vi khuẩn kháng kháng sinh ở các vị trí lấy mẫu							
Gen kháng kháng sinh	LH	CH	PT	PL	BT	TT	TĐ
<i>bla_{SHV}</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>bla_{CTX-M}</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>bla_{TEM}</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>tet_M</i>	+	+	+	+	+	+	+

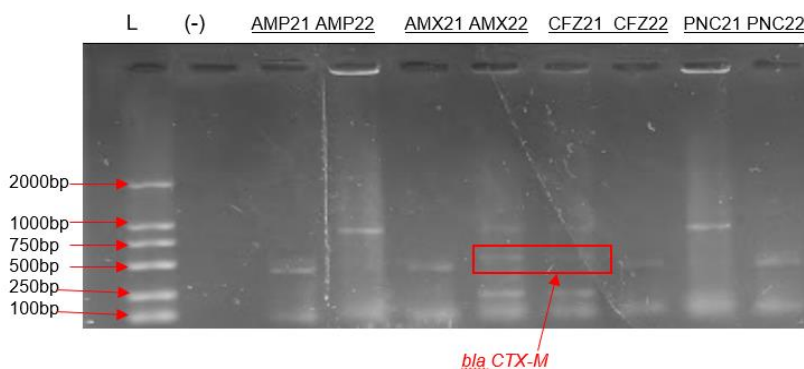
Chú thích: “+”: phát hiện, “-”: không phát hiện.



Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm PCR với cặp mồi *bla_{TEM}* (247bp)



Hình 4. Kết quả điện di sản phẩm PCR với cặp mồi *tetM* (406bp) và *blaSHV* (807bp)



Hình 5. Kết quả điện di sản phẩm PCR với cặp mồi *blaCTX-M* (585bp)

Chú thích: L: thang ladder 100bp; “-”: Đối chứng âm; AMP, AMX, CFZ, PNC, TET: ký hiệu khuẩn lạc kháng ampicillin, amoxicillin, cefazolin, penicillin, tetracycline, AMP11 tương ứng cho khuẩn lạc kháng ampicillin ở vị trí 1, khuẩn lạc số 1.

Kết quả các thí nghiệm phát hiện gen kháng kháng sinh bằng kỹ thuật PCR cho thấy hầu hết các mẫu đều cho kết quả dương tính với các gen *blaTEM*, *blaCTX-M* và *tetM*. Gen kháng kháng sinh mã hóa protein giúp cho vi khuẩn có khả năng kháng lại tác dụng thông thường của kháng sinh, do đó, sự hiện diện của các gen này trong vi khuẩn giúp chúng có thể sống sót trong môi trường có chất kháng khuẩn. Gene *tetM* có nhiệm vụ mã hóa protein bảo vệ ribosome, ngăn cản sự ức chế tetracycline lên quá trình dịch mã ở vi khuẩn [34]. Tất cả các các khuẩn lạc kháng tetracycline được chọn khảo sát đều có mặt gen *tetM*. Các gen quy định tính kháng kháng sinh nhóm β -lactam như *blaCTX-M* và *blaTEM* mã hóa các β -lactamase có khả năng thủy phân phổ rộng hầu hết các kháng sinh β -lactam. Gen *blaTEM* phát hiện ở cả 7 vị trí với kích thước đoạn khuếch đại khoảng 247 bp. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Xi và cộng sự (2009) về chiều dài đoạn khuếch đại cho thấy sản phẩm khuếch đại có độ tin cậy cao [23]. Gen *blaCTX-M* (585 bp) phát hiện ở 6/7 vị trí, trừ xã Long Hòa, gen *blaSHV* (807 bp) không phát hiện ở bất kỳ vị trí nào.

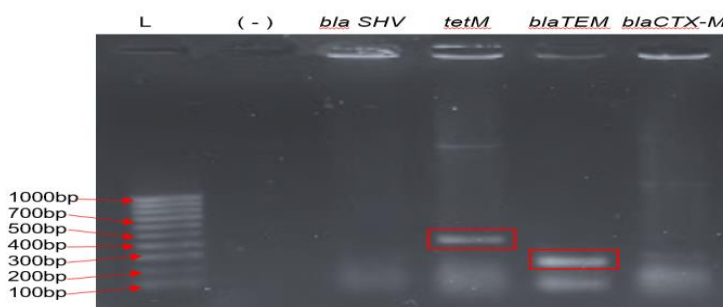
3.4.2. Phát hiện gen kháng kháng sinh trong các chủng đa kháng

Nghiên cứu đã tiến hành ly trích và khuếch đại DNA của các chủng vi khuẩn kháng tất cả 5 loại kháng sinh với các cặp primer *blaSHV*, *blaCTX-M*, *blaTEM* và *tetM*. Kết quả được thể hiện ở Bảng 6 và Hình 6-8.

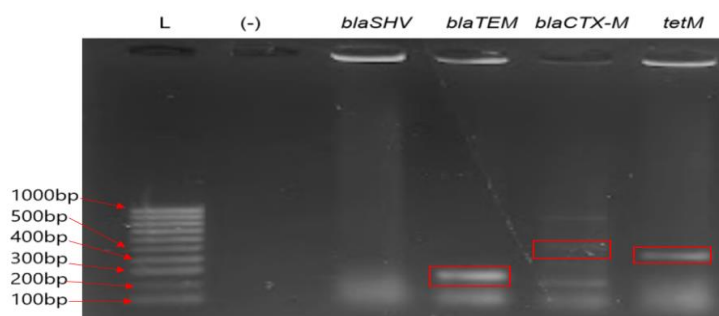
Bảng 6. Kết quả PCR phát hiện gen kháng kháng sinh trong các chủng đa kháng

Vi khuẩn	<i>blaSHV</i>	<i>blaCTX-M</i>	<i>blaTEM</i>	<i>tetM</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	+	+

Chú thích: “+”: phát hiện; “-”: không phát hiện



Hình 6. Kết quả điện di trên gel sản phẩm PCR khuẩn lạc vi khuẩn *Enterobacter cloacae*



Hình 7. Kết quả điện di trên gel sản phẩm PCR khuẩn lạc vi khuẩn *Bacillus cereus*



Hình 8. Kết quả điện di trên gel sản phẩm PCR khuẩn lạc vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*

Kết quả cho thấy đối với cả 3 chủng đều không phát hiện sự có mặt của gen *bla_{SHV}*. *Enterobacter cloacae* thể hiện tính đa kháng với các kháng sinh nhóm β -lactam nhưng không phát hiện sự có mặt của gen *bla_{CTX-M}*. Khi sử dụng cặp primer *bla_{TEM}* thì phát hiện sự có mặt của gen này ở tất cả các khuẩn lạc trên các môi trường có kháng sinh khác nhau. Ở chủng *Bacillus cereus*, 100% khuẩn lạc phát hiện sự có mặt của gen *bla_{TEM}* và gen *bla_{CTX-M}* trên các môi trường có bổ sung kháng sinh nhóm β -lactam. Chủng *Pseudomonas aeruginosa* tương tự như *E. cloacae* thể hiện tính đa kháng với các kháng sinh nhóm β -lactam nhưng chỉ phát hiện sự có mặt của gen *bla_{TEM}*. Gen *tet_M* quy định tính kháng tetracycline được phát hiện ở tất cả các khuẩn lạc của cả 3 chủng trong thử nghiệm. Các kết quả trên đã cho thấy mức độ hiện diện với tần suất cao của các gen kháng kháng sinh như *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}* và *tet_M* trong các vi khuẩn từ các mẫu nước ngầm. Trong nhóm các gen kháng β -lactam, gen *bla_{TEM}* có tần suất xuất hiện cao nhất, có thể được xem là gen chiếm ưu thế ở khu vực này, tiếp đến là gen *bla_{CTX-M}*. Kết quả này cũng phù hợp với một số nghiên cứu gần đây về các gen mã hóa các enzyme beta-lactamase làm bất hoạt kháng sinh nhóm beta-lactam - ESBLs (Extended- spectrum beta-lactamases) trong môi trường nước với nhận định *bla_{TEM}* là một trong những gen ESBL phổ biến nhất trong các mẫu nước cũng như trong các vi khuẩn phân lập từ môi trường nước [35-37].

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy chất lượng nước giếng khoan tại 7 xã thuộc huyện Bình Đại, tỉnh Bến Tre đang đối mặt với những thách thức đáng quan ngại. Đa số các mẫu nước có tính acid ($\text{pH} < 7$) và chỉ có nước giếng ở 2/7 xã đạt tiêu chuẩn nước sinh hoạt theo QCVN 02:2009/BYT. Đặc biệt, sự hiện diện của vi khuẩn kháng kháng sinh được phát hiện tại tất cả các điểm khảo sát, với tỷ lệ kháng cao nhất được ghi nhận tại xã Thới Thuận. Ba chủng vi khuẩn đa kháng được định danh là *Enterobacter cloacae*, *Bacillus cereus* và *Pseudomonas aeruginosa* thể hiện khả năng kháng lại toàn bộ 5 loại kháng sinh thử nghiệm. Sự phát hiện các gen *blaTEM*, *blaCTX-M* và *tetM* tại tất cả các vị trí nghiên cứu phản ánh mức độ lan rộng đáng báo động của các yếu tố kháng kháng sinh trong môi trường nước ngầm. Những phát hiện này không chỉ cảnh báo về nguy cơ ô nhiễm vi sinh vật kháng thuốc trong nguồn nước sinh hoạt mà còn đặt ra yêu cầu cấp thiết về việc giám sát và kiểm soát chặt chẽ chất lượng nước giếng khoan tại địa phương, nhằm đảm bảo an toàn sức khỏe cho cộng đồng.

Để thu được dữ liệu mang tính toàn diện và khách quan hơn, phạm vi khảo sát cần được mở rộng với mẫu nước ở các xã khác trong huyện, đồng thời tăng thêm số lượng các vị trí lấy mẫu trong từng xã. Ngoài ra, việc thực hiện khảo sát trong cả hai mùa mưa và mùa khô, hoặc trong thời điểm diễn ra các hiện tượng thời tiết đặc biệt như hạn mặn sẽ giúp đánh giá chính xác hơn sự biến động và chất lượng nước theo điều kiện khí hậu và môi trường khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] C. J. L. Murray, K. S. Ikuta, F. Sharara, L. Swetschinski, G. R. Aguilar, A. Gray, M. Naghavi et al., “Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis,” *The Lancet*, vol. 399, pp. 629–655, 2022. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
- [2] G. Maki and M. Zervos, “Health care–acquired infections in low- and middle-income countries and the role of infection prevention and control,” *Infectious Disease Clinics of North America*, vol. 35, pp. 827–839, 2021. doi: 10.1016/j.idc.2021.04.014.
- [3] M. Semret and L.-P. Haraoui, “Antimicrobial resistance in the tropics,” *Infectious Disease Clinics of North America*, vol. 33, pp. 231–245, 2019. doi: 10.1016/j.idc.2018.10.009.
- [4] R. S. Hendriksen, P. Munk, P. Njage, B. van Bunnik, L. McNally, O. Lukjancenko, and F. M. Aarestrup, “Global monitoring of antimicrobial resistance based on metagenomics analyses of urban sewage,” *Nature Communications*, vol. 10, p. 1124, 2019. doi: 10.1038/s41467-019-08853-3.
- [5] D. Torumkuney, S. Kundu, G. V. Vu, H. A. Nguyen, H. V. Pham, P. Kamble, N. T. H. Lan, and N. Keles, “Country data on AMR in Vietnam in the context of community-acquired respiratory tract infections,” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 77, pp. i26–i34, 2022. doi: 10.1093/jac/dkac214.
- [6] S. M. Zainab, M. Junaid, N. Xu, and R. N. Malik, “Antibiotics and antibiotic resistant genes (ARGs) in groundwater: A global review on dissemination, sources, interactions, environmental and human health risks,” *Water Research*, vol. 187, p. 116455, 2020. doi: 10.1016/j.watres.2020.116455.
- [7] E. Sanganyado and W. Gwenzi, “Antibiotic resistance in drinking water systems: Occurrence, removal, and human health risks,” *Science of the Total Environment*, vol. 669, pp. 785–797, 2019. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.03.162.
- [8] M. Amarasiri, D. Sano, and S. Suzuki, “Understanding human health risks caused by antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in water environments: Current knowledge and questions to be answered” *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, vol. 50, pp. 2016–2059, 2019. doi: 10.1080/10643389.2019.1692611.
- [9] M. M. M. Zaky, S. M. E. Toubar, and A. S. El-Shafey, “Antibiotic-resistant bacteria in water and fish: A risk to human health,” *International Journal of Celiac Disease*, vol. 9, pp. 77–81, 2021. doi: 10.12691/ijcd-9-2-2.
- [10] V. K. Sharma, N. Johnson, L. Cizmas, T. J. McDonald, and H. Kim, “A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes,” *Chemosphere*, vol. 150, pp. 702–714, 2016. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.12.084.

- [11] X.-X. Zhang, T. Zhang, and H. H. P. Fang, “Antibiotic resistance genes in water environment,” *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 82, pp. 397–414, 2009. doi: 10.1007/s00253-008-1829-z.
- [12] F. Baquero, J.-L. Martínez, and R. Cantón, “Antibiotics and antibiotic resistance in water environments,” *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 19, pp. 260–265, 2008. doi: 10.1016/j.copbio.2008.05.006.
- [13] R. I. Mackie, S. Koike, I. Krapac, J. Chee-Sanford, S. Maxwell, and R. I. Aminov, “Tetracycline residues and tetracycline resistance genes in groundwater impacted by swine production facilities,” *Animal Biotechnology*, vol. 17, pp. 157–176, 2006. doi: 10.1080/10495390600956953.
- [14] K. Harada, “Antibiotic residue in environmental water in Vietnam,” *Yakugaku Zasshi*, vol. 138, pp. 271–275, 2018. doi: 10.1248/yakushi.17-00177-1.
- [15] T. Nakayama, T. T. T. Hoa, K. Harada, M. Warisaya, M. Asayama, A. Hinenoya, J. W. Lee et al., “Water metagenomic analysis reveals low bacterial diversity and the presence of antimicrobial residues and resistance genes in a river containing wastewater from backyard aquacultures in the Mekong Delta, Vietnam,” *Environmental Pollution*, vol. 222, pp. 294–306, 2017. doi: 10.1016/j.envpol.2016.12.041.
- [16] Công Trí, “Bến Tre tập trung các nguồn lực giải quyết nước sạch cho người dân,” *Báo Ảnh Dân tộc và Miền núi*, ngày 05/6/2020. [Online]. Available: <https://dantocmiennui.baotintuc.vn/ben-tre-tap-trung-cac-nguon-luc-giai-quyet-nuoc-sach-cho-nguoi-dan-post288830.html>
- [17] B. Thanh, “Bến Tre: Đảm bảo an ninh nguồn nước, nguồn cấp nước ngọt thích ứng với BĐKH,” *Tài nguyên & Môi trường*, 2021. [Online]. Available: <https://baotainguyenvmoitruong.vn/>
- [18] TCVN 6224:1996 (ISO 6059:1984), Water quality – Determination of the sum of calcium and magnesium – EDTA titrimetric method, 1996.
- [19] TCVN 6186:1996 (ISO 8467:1993), Water quality – Determination of permanganate index, 1996.
- [20] TCVN 6177:1996 (ISO 6332:1988), Water quality – Determination of iron by spectrometric method using 1,10-phenanthroline, 1996.
- [21] CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, 31st ed., 2021.
- [22] R. Li, J. Lai, Y. Wang, S. Liu, Y. Li, K. Liu, J. Shen, and C. Wu, “Prevalence and characterization of *Salmonella* species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province, China,” *International Journal of Food Microbiology*, vol. 163, pp. 14–18, 2013. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.020.
- [23] C. Xi, Y. Zhang, C. F. Marrs, W. Ye, C. Simon, B. Foxman, and J. Nriagu, “Prevalence of antibiotic resistance in drinking water treatment and distribution systems,” *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 75, pp. 5714–5718, 2009. doi: 10.1128/AEM.00382-09.
- [24] C.-M. Zhang, C. Du, H. Xu, Y.-H. Miao, Y.-Y. Cheng, H. Tang, J.-H. Zhou, and X.-C. Wang, “Occurrence of tetracycline-resistant fecal coliforms and their resistance genes in an urban river impacted by municipal wastewater treatment plant discharges,” *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, vol. 50, pp. 744–749, 2015. doi: 10.1080/10934529.2015.1011995.
- [25] QCVN 02:2009/BYT, National technical regulation on domestic water quality, 2009.
- [26] QCVN 09-MT:2015/BTNMT, National technical regulation on groundwater quality, 2015.
- [27] QCVN 01:2009/BYT, National technical regulation on drinking water quality, 2009.
- [28] Q. K. Ha, T. D. T. Ngoc, P. L. Vo, H. Q. Nguyen, and D. H. Dang, “Groundwater in Southern Vietnam: Understanding geochemical processes to better preserve the critical water resource,” *Science of The Total Environment*, vol. 807, Art. no. 151345, 2022. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.151345.
- [29] D. A. Tran, M. Tsujimura, L. P. Vo, V. T. Nguyen, D. Kambuku, and T. D. Dang, “Hydrogeochemical characteristics of a multi-layered coastal aquifer system in the Mekong Delta, Vietnam,” *Environmental Geochemistry and Health*, vol. 42, pp. 661–680, 2020. doi: 10.1007/s10653-019-00400-9.

- [30] H. Xiao, Y. Tang, H. Li, L. Zhang, T. Ngo-Duc, D. Chen, and Q. Tang, "Saltwater intrusion into groundwater systems in the Mekong Delta and links to global change," *Advances in Climate Change Research*, vol. 12, pp. 342–352, 2021. doi: 10.1016/j.accre.2021.04.005.
- [31] L. A. Trung, "Đánh giá sự thay đổi chỉ số pecmanganat trong nước sinh hoạt lưu trữ tại hộ gia đình," *Tạp chí Khoa học Tài nguyên và Môi trường*, vol. 30, pp. 41–46, 2020.
- [32] K. A. Phan and T. G. Nguyen, "Groundwater quality and human health risk assessment related to groundwater consumption in An Giang province, Viet Nam," *Journal of Vietnamese Environment*, vol. 10, pp. 85–91, 2018. doi: 10.13141/jve.vol10.no2.pp85-91.
- [33] C. D. Miranda, A. Tello, and P. L. Keen, "Mechanisms of antimicrobial resistance in finfish aquaculture environments," *Frontiers in Microbiology*, vol. 4, p. 233, 2013. doi: 10.3389/fmicb.2013.00233.
- [34] A. Ribera, J. Ruiz, and J. Vila, "Presence of the Tet M determinant in a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 47, pp. 2310–2312, 2003. doi: 10.1128/AAC.47.7.2310-2312.2003.
- [35] O. Thakali, S. Tandukar, J. P. Brooks, S. P. Sherchan, J. B. Sherchand, and E. Haramoto, "The occurrence of antibiotic resistance genes in an urban river in Nepal," *Water*, vol. 12, 2020. doi: 10.3390/w12020450.
- [36] E. Marti, J. Jofre, and J. L. Balcazar, "Prevalence of antibiotic resistance genes and bacterial community composition in a river influenced by a wastewater treatment plant," *PLoS One*, vol. 8, e78906, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0078906.
- [37] T. Truong, T. L. Hoang, L. T. Tran, T. P. T. Pham, and T.-H. Le, "Prevalence of antibiotic resistance genes in the Saigon river impacted by anthropogenic activities," *Water*, vol. 13, 2021. doi: 10.3390/w13162234.

ABSTRACT

PHYSIOCHEMICAL PARAMETERS AND OCCURRENCE OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA WITH ANTIBIOTIC-RESISTANT GENES IN WELL WATER AROUND BINH DAI DISTRICT – BEN TRE PROVINCE

Le Quang Duy, Phạm Thị Phương Thủy*

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

*Email: thuyptp@huit.edu.vn

Antibiotic resistance has become a global concern for human health. Many previous studies have identified the presence and prevalence of antibiotic-resistant bacteria and genes in domestic water, surface water, wastewater, and other water sources. However, the presence of bacteria containing antibiotic resistance genes in well water has not been extensively investigated. In this study, the quality of well water from 7 communes in Binh Dai district, Ben Tre province was preliminarily evaluated based on physicochemical and microbiological parameters. Physicochemical analysis revealed that most well water samples were acidic ($\text{pH} < 7$), and only well water in Chau Hung and Phu Thuan communes met domestic water standards according to QCVN 02:2009/BYT for the parameters in survey. Microbiological analysis showed that the total aerobic heterotrophic bacteria in well water ranged from 50.0 ± 2.0 CFU/L to 142.3 ± 9.9 CFU/L. Water samples from Thoi Thuan commune showed the highest antibiotic resistance rates of 27.9%, 28.9%, 11.7%, 21.4%, and 19.7% for ampicillin, amoxicillin, cefazolin, penicillin G, and tetracycline, respectively. Three multidrug-resistant bacterial strains were identified as *Enterobacter cloacae*, *Bacillus cereus*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Analysis revealed the presence of *bla*TEM, *bla*CTX-M, and *tet*M genes in the isolated bacteria. These preliminary results demonstrated the presence of bacteria harboring antibiotic resistance genes in well water, thereby providing important information for assessing the impact of antibiotic resistance status on public and human health.

Keywords: Antibiotic resistant gene, well water, heterotrophic bacteria.