

Thực trạng và đặc điểm kháng kháng sinh của *Salmonella* spp. phân lập từ sản phẩm thịt tươi sống tại TP Hồ Chí Minh

Trương Huỳnh Anh Vũ^{1,2*}, Nguyễn Hoàng Khuê Tú³, Chu Văn Hải¹, Huỳnh Yên Hà¹

¹Phòng Vi sinh, Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thí nghiệm TP Hồ Chí Minh

²Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh

³Bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 26/3/2021; ngày chuyển phân biện 30/3/2021; ngày nhận phân biện 26/4/2021; ngày chấp nhận đăng 29/4/2021

Tóm tắt:

Kết quả nghiên cứu trên tổng số 380 mẫu thịt (lợn, bò, gà) tươi sống được lấy ngẫu nhiên tại các chợ truyền thống trên địa bàn TP Hồ Chí Minh cho thấy, tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. là 42,37%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm ở từng nhóm mẫu lần lượt là 50,00% đối với thịt lợn, 49,62% đối với thịt gà và 26,83% đối với thịt bò. Tỷ lệ đề kháng với ít nhất 1 loại kháng sinh ở các chủng *Salmonella* phân lập được là 37,89%, từ 2 đến 5 loại kháng sinh là 22,98% và từ 6 đến 11 loại kháng sinh là 8,70%, chủ yếu đối với các kháng sinh nhóm β -lactams, Tetracyclin, Chloramphenicol, Streptomycin, và Sulfamethoxazol/Trimethoprim. Đặc biệt, có 83,72% chủng *Salmonella* mang gen kháng kháng sinh, chủ yếu có nguồn gốc phân lập từ thịt lợn. Ở các chủng *Salmonella* đề kháng kháng sinh, các gen *sul1*, *cmlA*, *tetA*, *sul2* và *cmlB* được phát hiện với tỷ lệ lần lượt là 27,90, 23,26, 21,74, 9,30 và 5,59%. Ngoài ra, có 58,14% các chủng *Salmonella* được phát hiện mang gen mã hóa ESBL thuộc nhóm TEM và 9,30% chủng mang gen thuộc nhóm CTX. Dữ liệu này chỉ ra rằng, sản phẩm thịt tươi sống là nguồn chứa *Salmonella* đa kháng rất cao. Kết quả của nghiên cứu này cung cấp thêm bằng chứng trực tiếp về tình trạng nhiễm *Salmonella* trong thực phẩm và sự lưu hành các chủng kháng kháng sinh ở TP Hồ Chí Minh. Do vậy, cần thiết lập các chương trình giám sát, kiểm soát *Salmonella* và tình hình sử dụng kháng sinh ở Việt Nam để bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.

Từ khóa: kháng kháng sinh, kháng sinh, *Salmonella*, thịt tươi sống.

Chỉ số phân loại: 2.10

Đặt vấn đề

An toàn thực phẩm là một trong những vấn đề mà từ lâu chúng ta đặc biệt quan tâm, coi đây là yếu tố có ý nghĩa lớn về kinh tế - xã hội, sức khỏe cộng đồng, ảnh hưởng trực tiếp đến mục tiêu phát triển bền vững của quốc gia. Đặc biệt là tình trạng nhiễm khuẩn kháng kháng sinh trong các sản phẩm thịt tươi sống, trong đó có vi khuẩn *Salmonella* spp. Nguyên nhân của hiện trạng này là do việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi và điều trị bệnh chưa được kiểm soát hiệu quả. *Salmonella* là một trong những tác nhân gây ngộ độc thực phẩm phổ biến nhất trên thế giới, với hàng triệu ca nhiễm hàng năm, trong đó có hàng trăm nghìn người đã chết. *Salmonella* có mặt ở khắp mọi nơi, phân bố rất khác nhau tùy theo vị trí địa lý và đều có khả năng gây bệnh cho người và vật nuôi [1]. Nguồn lây nhiễm *Salmonella* chủ yếu thông qua thực phẩm và nguồn nước bị ô nhiễm. Thịt gia cầm, trứng, thịt bò, thịt lợn là những nguồn lây nhiễm phổ biến của loài vi khuẩn này [2]. Hiện nay, *Salmonella* đã và đang trở nên kháng với nhiều loại kháng sinh, bao gồm cả những loại kháng sinh quan trọng được sử dụng trên lâm sàng như ceftriaxone và ciprofloxacin [3, 4]. Việc sử dụng kháng sinh không đúng cách và lạm dụng với nhiều mục đích như kích thích sự tăng trưởng, phòng và điều trị bệnh trong chăn nuôi dẫn đến vi khuẩn *Salmonella* đã phát triển nhiều cơ chế đề kháng

khác nhau, làm xuất hiện và lan truyền rộng rãi các chủng vi khuẩn kháng đa kháng sinh [3, 4]. Để kiểm soát thực trạng này, các cơ quan chức năng, quản lý nhà nước đã và đang thực hiện nhiều giải pháp khác nhau, nhiều văn bản quy phạm pháp luật đã được ban hành, cập nhật để quản lý việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi tốt hơn. Các chương trình theo dõi giám sát mức độ đề kháng kháng sinh của vi khuẩn trong thực phẩm cũng được thực hiện thường xuyên.

Nghiên cứu này đặt vấn đề đánh giá: (i) mức độ vấy nhiễm và (ii) thực trạng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập từ sản phẩm thịt tươi sống tại các chợ truyền thống trên địa bàn TP Hồ Chí Minh. Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần hoàn thiện các dẫn liệu khoa học về tình hình vấy nhiễm và đặc điểm kháng kháng sinh của *Salmonella* spp. phân lập từ sản phẩm thịt tươi sống, bổ sung bằng chứng khoa học cho các quyết định cấp nhà nước về quản lý và nâng cao ý thức sử dụng kháng sinh có hiệu quả tại Việt Nam nói chung và TP Hồ Chí Minh nói riêng.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Các chủng *Salmonella* spp. phân lập từ thịt tươi sống tại các chợ truyền thống trên địa bàn TP Hồ Chí Minh.

*Tác giả liên hệ: Email: truonghuynhanhvu@yahoo.com

Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from raw meats at traditional markets in Ho Chi Minh city

Huynh Anh Vu Truong^{1,2*}, Hoang Khue Tu Nguyen³,
Van Hai Chu¹, Yen Ha Huynh¹

¹Microbiology Laboratory, Center of Analytical Services and Experimentation HCMC (CASE)

²Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University HCMC

³School of Biotechnology, International University, Vietnam National University HCMC

Received 26 March 2021; accepted 29 April 2021

Abstract:

The study's results on a total of 380 fresh samples of raw meat (pork, beef, chicken) randomly collected at conventional markets of districts in Ho Chi Minh city showed that the prevalence of *Salmonella* spp. is 42.37%. The prevalence of *Salmonella* in pork, chicken, and beef were 50.00%, 49.62%, and 26.83%, respectively. The proportion of *Salmonella* strains that resisted at least 1 antibiotic was 37.89%, from 2 to 5 antibiotics was 22.98%, and from 6 to 11 antibiotics occupied 8.70%, mainly for β -lactams, Tetracyclin, Chloramphenicol, Streptomycin, and Sulfamethoxazole/Trimethoprim antibiotics. In particular, up to 83.72% of the *Salmonella* strains carry antibiotic resistance genes (mainly isolated from pork). In antibiotic-resistant *Salmonella* strains, the *sul1*, *cmlA*, *tetA*, *sul2*, *cmlB* genes were detected with the rates of 27.90, 23.26, 21.74, 9.30, and 5.59%, respectively. *Salmonella* strains carrying genes encoding ESBL in the TEM group were 58.14% and 9.30% in the CTX group. This data provided more direct evidence of *Salmonella* contamination in food and the prevalence of antibiotic-resistant strains in Ho Chi Minh city. Therefore, there is an urgent need to establish programs to monitor and control *Salmonella* and the use of antibiotics in Vietnam to protect the health of consumers.

Keywords: antibiotic, multi-drug resistance, retail meat, *Salmonella*.

Classification number: 2.10

Phương pháp

Cỡ mẫu nghiên cứu: nghiên cứu sử dụng công thức tính cỡ mẫu sau:

$$n = \frac{z^2(p.q)}{e^2}$$

Trong đó: z là giá trị phân phối tương ứng với độ tin cậy 95%, z=1,96; p là tỷ lệ % ước tính của thực phẩm không đạt chỉ tiêu vi sinh của một

nghiên cứu trước đó, p=0,4 (với tỷ lệ thực phẩm không đạt chỉ tiêu vi sinh là 43,75%) [5]; e là mức chính xác mong muốn, e=0,05; q là ước tính tỷ lệ % của tổng thể, q=1-p. Theo công thức trên, cỡ mẫu cần cho nghiên cứu phải lớn hơn hoặc bằng 376 mẫu.

Phương pháp lấy và bảo quản mẫu: tổng số 380 mẫu thịt (lợn: 126, bò: 123, gà: 131) tươi sống đã được lấy ngẫu nhiên tại các chợ truyền thống thuộc các quận trên địa bàn TP Hồ Chí Minh vào khoảng thời gian 8-9 giờ sáng trong suốt 12 tháng (9/2019-9/2020). Lượng mẫu được lấy phục vụ nghiên cứu khoảng 150-1.500 g/mẫu [6]. Mẫu được chuyển đến phòng thí nghiệm không quá 12 giờ sau khi lấy và được tiến hành phân tích ngay.

Phân lập và xác định *Salmonella* spp.: phương pháp phân lập *Salmonella* spp. được thực hiện theo tiêu chuẩn ISO 6579-1:2017 [7], bao gồm các bước: (i) chuẩn bị mẫu thử và tăng sinh sơ bộ: đồng nhất khoảng 25 g mẫu thử với 225 ml Buffer Pepton Water-BPW (Merck/1.07228) ở 37°C trong 18±2 giờ; (ii) tăng sinh chọn lọc: cấy dịch tăng sinh sang canh thang Rappaport Vassiliadis medium with soya-RV (Merck/1.07700) ở 41,5°C trong 24±3 giờ và canh thang Kauffmann tetrathionate novobiocin-MKTTn (Merck/1.05878) ở 37°C trong 24±3 giờ; (iii) phân lập: cấy dịch tăng sinh chọn lọc lên môi trường thạch chọn lọc Xylose Lysine Deoxycholate agar-XLD (Merck/1.05287) và Mannitol Lysine Crystal Violet Brilliant Green agar-MLCB (Oxoid/CM0783) ở 37°C trong 24±3 giờ; (iv) khẳng định: các khuẩn lạc nghi ngờ *Salmonella* spp. được khẳng định bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi *invA*.

Đánh giá khả năng kháng kháng sinh của *Salmonella* spp.: mỗi chủng *Salmonella* spp. được lấy 3-5 khuẩn lạc thuần khiết từ thạch Nutrient Agar (Merck/1.05450) để thực hiện đánh giá khả năng nhạy cảm kháng sinh bằng phương pháp Kirby-Bauer trên Muller Hinton Agar (Oxoid/CM0337). Dựa vào đường kính vùng ức chế theo hướng dẫn [8] để phiên giải kết quả mức độ nhạy cảm kháng sinh (R/I/S) của *Salmonella*.

Các kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu này được lựa chọn theo [9]. Các đĩa kháng sinh vô khuẩn (Oxoid, Anh) có đường kính 6 mm được tẩm dung dịch kháng sinh với nồng độ tương ứng như sau: ampicillin (AM, 10 µg/ml), amoxicillin/acid clavulanic (AMC, 30 µg/ml), ceftazidime (CAZ, 30 µg/ml), chloramphenicol (C, 30 µg/ml), ciprofloxacin (CIP, 5 µg/ml), ofloxacin (OFX, 5 µg/ml), gentamicin (CN, 10 µg/ml), streptomycin (STR, 10 µg/ml), nalidixic acid (NA, 30 µg/ml), tetracycline (TE, 30 µg/ml) và sulfamethoxazole/trimethoprim (SXT, 30 µg/ml).

Ly trích ADN: dùng que cấy tròn lấy một vòng khuẩn lạc trên thạch Nutrient Agar (Merck/1.05450) cho vào Eppendorf chứa sẵn 1 ml nước cất vô trùng. Quy trình ly trích DNA được thực hiện theo bộ kit AccuRive pDNA Prep Kit (KT Biotech).

Khẳng định *Salmonella* spp. bằng kỹ thuật PCR: gen *invA* (invasion) được khuếch đại dựa trên trình tự các cặp mồi đặc hiệu tương ứng được trình bày ở bảng 1. Thành phần hỗn hợp phản ứng PCR thực hiện theo TCVN 8342:2010 [10], chương trình khuếch đại trên máy Mastercycler (Eppendorf) như sau: 95°C/5 phút (1 chu kỳ); 95°C/60 giây; 54°C/45 giây và 72°C/60 giây (35 chu kỳ); 72°C/10 phút (1 chu kỳ).

Bảng 1. Trình tự primer sử dụng cho phản ứng PCR.

Gen mục tiêu	Primer	Trình tự 5'-3'	Kích thước (bp)	Tham khảo
InvA	InvA1	TTGTTACGGCTAATTTGACCA	520	[10]
	InvA2	CTGACTGCTACCTTGGCTGATG		
Gen kháng β-lactam	blaTEM	GGTCGCCGCATACACTATTCTC TTTATCCGCCTCCATCCAGTC	372	[11]
	blaSHV	CCAGCAGGATCTGGTGGACTAC CCGGGAAGCGCCTCAT	231	
	blaCTX	CCCATGGTTAAAAAACAACCTGC CAGCGCTTTTGGCCGTCTAAG	950	
	Gen kháng Chloramphenicol	cmlA	CGCCACGGTGTGTGTGTAT GCGACCTGCGTAAATGTCAC	
cmlB	ACTCGGATGGACATGTA ACGGACTGCGGAATCCATAG	840		
Gen kháng Tetracycline	tetA	GGCCTCAATTCCTGACG AAGCAGGATGAGCCTGTGC	372	[13]
	tetB	GAGACGCAATCGAATTCGG TTTAGTGGCTATTCTTCCTGCC	228	
Gen kháng Sulfamethoxazole	sul1	TCACCGAGGACTCCTTCTTC CAGTCCGCCTCAGCAATATC	331	[12]
	sul2	CCTGTTTCGTCGACACAGA GAAGCGCAGCCGAATTCAT	435	

Phát hiện gen kháng kháng sinh bằng kỹ thuật multiplex PCR: các gen blaTEM, blaSHV, blaCTX mã hóa kháng kháng sinh nhóm β-lactam; gen cmlA, cmlB mã hóa kháng chloramphenicol; gen tetA, tetB mã hóa kháng tetracycline và gen sul1, sul2 mã hóa kháng sulfamethoxazole được xác định dựa trên việc sử dụng các cặp mồi đặc hiệu tương ứng cho từng gen kháng kháng sinh (bảng 1).

Thành phần phản ứng m-PCR gồm 2 UI AmpliTaq Gold; 0,2 mM dNTP; 1,5 mM MgCl₂; buffer 1X; 0,5 μl mỗi đoạn mồi (nồng độ 0,625 μM); 5 μl DNA khuôn mẫu và nước cất khử ion vừa đủ thể tích 25 μl.

Chương trình khuếch đại trên máy Mastercycler (Eppendorf) như sau:

- Đối với các gen kháng β-lactam: 95°C/02 phút; 95°C/30 giây; 25 chu kỳ (60°C/90 giây và 72°C/90 giây); 68°C/10 phút.

- Đối với các gen kháng chloramphenicol: 95°C/10 phút; 30 chu kỳ (95°C/30 giây, 55°C/01 phút, 72°C/01 phút); 72°C/07 phút.

- Đối với các gen kháng tetracycline: 94°C/01 phút; 30 chu kỳ (94°C/01 phút, 55°C/01 phút, 72°C/02 phút); 72°C/10 phút.

- Đối với các gen kháng sulfamethoxazole: 95°C/10 phút; 30 chu kỳ (95°C/30 giây, 55°C/01 phút, 72°C/01 phút); 72°C/7 phút.

Điện di và đọc kết quả: sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% có chứa 1 μg/ml ethidium bromide trong TBE. Thang ladder (GenetBio/Hàn quốc) cũng được điện di đồng thời. Thời gian điện di là 35-40 phút ở 100 V và 100 mA. Chụp hình gel bằng máy Ingenius/Anh.

Kết quả

Phân lập và xác định các chủng Salmonella spp.

Salmonella spp. trong các mẫu thịt tươi sống tại các chợ được phân lập theo ISO 6579-1:2017 và khẳng định bằng kỹ thuật PCR. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ mẫu thịt tươi sống nhiễm Salmonella.

Mẫu	Tổng số mẫu	Dương tính		Âm tính	
		Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Thịt lợn	126	63	50,00	63	50,00
Thịt bò	123	33	26,83	90	73,17
Thịt gà	131	65	49,62	66	50,38
Tổng số	380	161	42,37	219	57,63

Bảng 2 cho thấy, trong số 380 mẫu được thu thập, phát hiện 161 mẫu nhiễm Salmonella spp., chiếm tỷ lệ 42,37% (161/380). Mẫu thịt lợn và thịt gà có mức độ nhiễm Salmonella tương đương nhau với tỷ lệ lần lượt là 50,00% (63/126) và 49,62% (65/131), mẫu thịt bò có tỷ lệ nhiễm thấp nhất với 26,83% (33/123).

Tỷ lệ nhạy cảm kháng sinh của các chủng Salmonella spp.

Mức độ đề kháng của 161 chủng Salmonella spp. phân lập được với 11 loại kháng sinh thử nghiệm được trình bày trong bảng 3. Từ đó cho thấy tỷ lệ đề kháng với ít nhất 1 loại kháng sinh của Salmonella spp. chiếm 37,89% (61/161), kháng từ 2 đến 5 loại kháng sinh 22,98% (37/161) và từ 6 đến 11 loại kháng sinh 8,70% (14/161).

Bảng 3. Mức độ kháng kháng sinh của Salmonella spp.

Số lượng kháng sinh	Tỷ lệ (%) (n=161)		
	Đề kháng	Trung gian	Nhạy cảm
Ít nhất 01 kháng sinh	37,89% (61)	29,19% (47)	57,14% (92)
Từ 02-05 kháng sinh	22,98% (37)	5,59% (09)	11,80% (19)
Từ 06-11 kháng sinh	8,70% (14)	0% (00)	34,78% (56)

Kết quả khảo sát tình hình kháng kháng sinh của các chủng Salmonella phân lập từ các nhóm mẫu khác nhau (bảng 4) cho thấy tỷ lệ kháng TE là cao nhất với 31,68%, thấp nhất là AMC với 1,86%, tỷ lệ kháng đối với các kháng sinh còn lại lần lượt là AM (22,98%), C (22,36%), SXT, STR (21,74%), NA (10,56%), GN (6,21%), CIP (4,97%), OFX (3,73%) và CAZ (3,11%).

Bảng 4. Mức độ kháng từng loại kháng sinh của Salmonella spp.

Kháng sinh	Thịt lợn (n=63)		Thịt bò (n=33)		Thịt gà (n=65)		Chung (n=161)	
	Số chủng đề kháng	%	Số chủng đề kháng	%	Số chủng đề kháng	%	Số chủng đề kháng	%
AMC	02	3,17	00	00	01	1,54	03	1,86
AM	14	22,22	04	12,12	19	29,23	37	22,98
CAZ	02	3,17	00	00	03	4,62	05	3,11
C	12	19,05	02	6,06	22	33,85	36	22,36
NA	05	7,94	01	3,03	11	16,92	17	10,56
CIP	04	6,35	01	3,03	03	4,62	08	4,97
OFX	02	3,17	01	3,03	03	4,62	06	3,73
GN	03	4,76	01	3,03	06	9,23	10	6,21
STR	09	14,29	06	18,18	20	30,77	35	21,74
TE	21	33,30	07	21,21	23	35,38	51	31,68
SXT	12	19,05	03	9,09	20	30,77	35	21,74

Chú thích: AMC (Amoxicillin/Clavunic acid), AM (Ampicillin), CAZ (Ceftazidime), C (Chloramphenicol), NA (Nalidixic acid), CIP (Ciprofloxacin), OFX (Ofloxacin), GN (Gentamycin), STR (Streptomycin), TE (Tetracycline), SXT (Sulfamethoxazol/Trimethoprim).

Xét về nguồn gốc phân lập thì các chủng *Salmonella* phân lập từ thịt gà có tỷ lệ kháng với từng loại kháng sinh cao hơn các nguồn khác. Đối với TE thì các chủng *Salmonella* phân lập từ thịt gà có tỷ lệ kháng là 35,38%, cao hơn từ thịt lợn (33,30%). Tương ứng, các chủng khác từ thịt gà so với thịt lợn như sau: SXT có tỷ lệ 30,77% so với 19,05%, STR 30,77% so với 14,29%, C có tỷ lệ 33,85% so với 19,05%, AM có tỷ lệ 29,23% so với 22,22%. *Salmonella* spp. phân lập từ thịt bò nhạy cảm hoàn toàn với AMC và CAZ và có tỷ lệ đề kháng thấp nhất so với các chủng phân lập từ thịt gà và thịt lợn (bảng 4).

Kết quả phát hiện gen đề kháng của các chủng *Salmonella* spp. đa kháng

Trong số 43 chủng *Salmonella* spp. có kiểu hình đa kháng phân lập được phát hiện, có 36/43 chủng mang gen đề kháng (bảng 5). Tỷ lệ phát hiện các gen đề kháng *sul1* (27,90%), *cmlA* (23,26%), *tetA* (21,74%), *sul2* (9,30%), *cmlB* (5,59%). Đối chiếu với kết quả của nhóm tác giả Hoàng Hoài Phương và cộng sự (2008) khi phát hiện gen kháng kháng sinh của 11 chủng *Salmonella* spp. phân lập từ thực phẩm có sự khác biệt với kết quả nghiên cứu của chúng tôi, theo đó *blaTEM* (90,9%), *sul2* (72,7%), *tetA*, *tetB* và *sul1* cùng là 63,6%, *cmlA* (45,5%) [11].

Bảng 5. Tỷ lệ các *Salmonella* spp. mang gene kháng kháng sinh.

	Thịt lợn (n=14)	Thịt gà (n=25)	Thịt bò (n=04)	Tổng (n=43)
	Số chủng, n (%)	Số chủng, n (%)	Số chủng, n (%)	Số chủng, n (%)
<i>bla/cml/tet/sul</i>	13 (92,86)	21 (84,00)	02 (50,00)	36 (83,72)
<i>blaTEM</i>	11 (78,57)	12 (48,00)	02 (50,00)	25 (58,14)
<i>blaSHV</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>blaCTX</i>	01 (7,14)	03 (12,00)	0 (0)	04 (9,30)
<i>cmlA</i>	05 (35,71)	04 (16,00)	01 (25,00)	10 (23,26)
<i>cmlB</i>	05 (35,71)	04 (16,00)	0 (0)	09 (5,59)
<i>tetA</i>	13 (92,86)	20 (80,00)	02 (50,00)	35 (21,74)
<i>tetB</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>sul1</i>	01 (7,14)	08 (32,00)	0 (0)	12 (27,90)
<i>sul2</i>	01 (7,14)	02 (8,00)	01 (25,00)	04 (9,30)
<i>blaTEM/CTX</i>	01 (7,14)	01 (4,00)	0 (0)	02 (4,65)
<i>blaTEM-cmlA</i>	05 (35,71)	04 (16,00)	01 (25,00)	10 (23,26)
<i>blaTEM-cmlB</i>	05 (35,71)	03 (12,00)	0 (0)	08 (18,60)
<i>blaTEM-cmlA-cmlB</i>	05 (35,71)	03 (12,00)	0 (0)	08 (18,60)
<i>blaTEM-tetA</i>	11 (78,57)	12 (48,00)	02 (50,00)	25 (58,14)
<i>blaCTX-tetA</i>	01 (7,14)	03 (12,00)	0 (0)	04 (9,30)
<i>blaTEM/CTX-tetA</i>	01 (7,14)	01 (4,00)	0 (0)	01 (2,33)
<i>blaTEM-sul1</i>	01 (7,14)	0 (00)	0 (00)	01 (2,33)
<i>blaTEM-sul2</i>	01 (7,14)	02 (8,00)	0 (00)	03 (6,98)
<i>blaCTX-sul1</i>	0 (00)	02 (8,00)	0 (00)	02 (4,65)

Xét theo nguồn gốc phân lập thì các *Salmonella* nguồn gốc từ thịt lợn có tỷ lệ phát hiện gen đề kháng (13/14, 92,86%) cao hơn các chủng có nguồn gốc từ thịt gà (21/25, 84,00%) và thịt bò (2/4, 50,00%). Các gen mã hóa kháng TE được phát hiện cao nhất trong số

các gen đề kháng khác. Đối với gen *tetA*, các chủng *Salmonella* phân lập từ thịt lợn có tỷ lệ phát hiện 13/14 (92,86%) cao hơn từ nguồn thịt gà 20/25 (80,00%) và thịt bò 2/4 (50,00%). Ở tất cả các nguồn phân lập, chúng tôi không phát hiện gen *tetB*. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ xuất hiện gen *cmlA* 05/14 (35,71%) và *cmlB* 04/25 (16,00%) mã hóa kháng C ở các chủng *Salmonella* phân lập từ thịt lợn và thịt gà tương đương nhau, xét kiểu hình đề kháng hoàn toàn phù hợp, chứng tỏ chúng có vai trò trong việc đề kháng với C ở các mẫu thịt tươi sống. Tỷ lệ phát hiện gen *sul1*, *sul2* mã hóa kháng kháng sinh SXT thấp hơn so với các gen đề kháng khác trong nghiên cứu này. Gen *sul2* phát hiện ở tất cả các chủng *Salmonella* với tỷ lệ 9,30% (4/43), ngược lại gen *sul1* chỉ phát hiện ở các chủng *Salmonella* có nguồn gốc phân lập từ thịt gà 32,00% (8/25) và thịt lợn 7,14% (1/14) (bảng 5).

Đặc điểm kiểu gen mã hóa ESBL của các chủng *Salmonella* spp.

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, có 25/43 (58,14%) chủng *Salmonella* mang gen mã hóa ESBL thuộc nhóm TEM và 4/43 (9,30%) chủng mang gen thuộc nhóm CTX. Không phát hiện trường hợp nào mang các gen thuộc nhóm SHV. Kiểu gen TEM phát hiện ở *Salmonella* sinh ESBL phân lập từ thịt lợn cao hơn thịt bò và thịt gà lần lượt là (11/14, 78,57%), (2/4, 50,00%), (12/25, 48,00%). Trong khi đó, kiểu gen CTX chỉ phát hiện ở *Salmonella* sinh ESBL phân lập từ thịt gà (3/25, 12,00%), thịt lợn (1/14, 7,14%).

Bảng 6. Phân bố kiểu gen mã hóa ESBL ở các chủng *Salmonella* spp.

	Kiểu gen mã hóa ESBL, n (%)		
	<i>blaTEM</i> , n (%)	<i>blaCTX</i> , n (%)	<i>blaSHV</i> , n (%)
Thịt lợn (n=14)	11 (78,57)	01 (7,14)	0 (0)
Thịt gà (n=25)	12 (48,00)	03 (12,00)	0 (0)
Thịt bò (n=04)	02 (50,00)	0 (0)	0 (0)
Tổng (n=43)	25 (58,14)	04 (9,30)	0 (0)

Đối chiếu với kiểu hình kháng CAZ (bảng 4) của các chủng *Salmonella* thì có 4/5 chủng có phát hiện gen *blaCTX* với tỷ lệ 80,00%. CAZ là kháng sinh thuộc nhóm cephalosporin thế hệ thứ 3. Các β -lactamase thủy phân nhóm kháng sinh này phần lớn thuộc nhóm CTX, mã hóa bởi gene *blaCTX*, điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Bàn luận

Kết quả phân lập và xác định *Salmonella* spp. của chúng tôi có phần khác biệt so với một vài nghiên cứu khác. Theo đó, Đỗ Ngọc Thủy và cộng sự (2006) công bố rằng trong thịt tươi tại các chợ trên địa bàn Hà Nội, tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. là 30%, trong đó thịt gà chiếm 47,1%, thịt lợn 27,3% và thịt bò 19% [12]. Nhóm tác giả thuộc Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh đã lấy ngẫu nhiên 1.150 mẫu thực phẩm thịt lợn, gà, bò tươi sống tại các chợ trên địa bàn thành phố. Kết quả, tỷ lệ thịt động vật tươi sống bày bán tại các chợ nhiễm khuẩn *Salmonella* spp. chiếm tới 32,26% (Trần Thị Thùy Giang và cộng sự, 2014 [13]). Tại TP Hồ Chí Minh, kết quả khảo sát của chúng tôi có phần cao hơn so với báo cáo của Lê Văn Du và cộng sự (2017) cho biết, *Salmonella* được phát hiện trong mẫu thịt lợn (43,75%) và mẫu thịt gà (37,24%) [5].

Phân tích tỷ lệ lưu hành các chủng *Salmonella* spp. kháng kháng sinh, kết quả cho thấy có 43/161 (26,71%) chủng *Salmonella* spp. phân lập có kiểu hình đa kháng kháng sinh. Trong đó tỷ lệ vi khuẩn *Salmonella* spp. đa kháng phân lập ở thịt gà 25/65 (38,46%) cao hơn so với thịt lợn 14/63 (22,22%) và thịt bò 4/33 (12,12%). Điều này, có sự khác biệt với kết quả của Trần Thị Thùy Nga và cộng sự (2019) cho thấy có 153/334 (45,8%) chủng *Salmonella* phân lập được từ sản phẩm thịt tươi sống tại khu vực miền Trung có kiểu hình đa kháng kháng sinh. Trong đó tỷ lệ vi khuẩn *Salmonella* đa kháng phân lập ở thịt gà (63,2%) cao hơn so với thịt lợn (47,5%) và thịt bò (34,6%) [14].

Mức độ kháng từng loại kháng sinh của *Salmonella* spp. cũng có sự khác biệt đáng kể so với nghiên cứu của Trương Hà Thái và cộng sự (2017) trên 241 chủng *Salmonella* phân lập từ đối tượng thịt lợn và thịt gia cầm tại các tỉnh miền Bắc. Theo đó, nhóm tác giả này phát hiện *Salmonella* kháng với SXT (34,0%), TET (58,5%), AMP (39,8%) và STR (47,3%) [15]. Tại khu vực phía Nam, nhóm tác giả Hoàng Hoài Phương và cộng sự (2008) cũng phát hiện các chủng *Salmonella* spp. phân lập từ thực phẩm tại TP Hồ Chí Minh đề kháng với SXT (37,5%), AMP (37,5%), CIP (12,5%) và GEN (5%) [11]. Tại khu vực miền Trung, Trần Thị Thùy Nga và cộng sự (2019) khảo sát tình hình kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập từ các sản phẩm thịt tươi sống tại khu vực miền Trung với tỷ lệ SXT (50,6%), TET (45,8%), AMP (41,6%) và STR (24%) [14].

Đặc điểm của các chủng *Salmonella* có khả năng sinh ESBL mang đồng thời cùng lúc 2 gen *bla*TEM/CTX là rất thấp 2/43 (4,65%), chủ yếu các chủng có nguồn gốc phân lập từ thịt lợn và thịt gà. Tuy nhiên, các chủng *Salmonella* có khả năng sinh ESBL mang gen kháng TE chiếm tỷ lệ 25/43 (58,14%) cao hơn các gen đề kháng khác, phần lớn các chủng có nguồn phân lập từ thịt lợn 11/14 (78,57%). Kể đến là các chủng sinh ESBL mang gen kháng C 10/43 (23,26%), các chủng có nguồn phân lập từ thịt lợn có tỷ lệ 35,71% (5/14) cao hơn thịt bò 1/4 (25,00%) và thịt gà 4/25 (16,00%). Sau cùng, các chủng sinh ESBL mang gen kháng SXT là thấp nhất với tỷ lệ 6,98% (3/43).

Kết luận

Mức độ vấy nhiễm *Salmonella* spp. từ thịt tươi sống là 42,37%. Khả năng kháng kháng sinh của *Salmonella* với 1 loại kháng sinh (37,89%), từ 2 đến 5 loại kháng sinh (22,98%) và từ 6 đến 11 loại kháng sinh (8,70%). Tỷ lệ *Salmonella* đa kháng là 26,71%. Kháng sinh có tỷ lệ kháng cao nhất là TE với 31,68% và thấp nhất là AMC với 1,86%. Phát hiện 83,72% chủng mang gen kháng kháng sinh và 58,14% chủng mang gen mã hóa ESBL thuộc nhóm TEM và 4/43 (9,30%) chủng mang gen thuộc nhóm CTX. Không phát hiện các gen thuộc nhóm SHV.

Từ kết quả nghiên cứu này có thể thấy rằng, vi khuẩn *Salmonella* có nguồn gốc phân lập từ thịt tươi sống bán lẻ tại các chợ truyền thống trên địa bàn TP Hồ Chí Minh có tỷ lệ đa kháng, mang gen kháng kháng sinh ở mức khá cao, đặc biệt là các chủng sinh ESBL mang gen mã hóa đề kháng. Đây là cơ sở khoa học phục vụ cho công tác giám sát vi khuẩn kháng thuốc lan truyền thông qua chuỗi thực phẩm. Kết quả của nghiên cứu này cung cấp thêm bằng chứng trực tiếp về tình trạng nhiễm *Salmonella* trong thực phẩm và sự lưu hành các chủng kháng kháng sinh ở TP Hồ Chí Minh.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ về kinh phí từ nhiệm vụ khoa học công nghệ thuộc Hợp đồng số 70/2019/HĐ-QPTKHCN của Sở Khoa học và Công nghệ TP Hồ Chí Minh. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S.K. Eng, P. Pusparajah, N.S. Ab Mutalib, H.L. Ser, K.G. Chan, L.H. Lee (2015), "Salmonella: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance", *Front Life Sci.*, **8(3)**, pp.284-293.
- [2] Nguyễn Thanh Việt, Nghiêm Ngọc Minh, Võ Thị Bích Thủy (2018), "Nghiên cứu đặc điểm kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ mẫu thịt lợn, thịt bò và thịt gà tại các chợ bán lẻ tại Hà Nội", *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, **16(3)**, tr.553-564.
- [3] Nguyễn Đắc Trung (2004), "Đặc điểm kháng kháng sinh và cơ chế truyền gen kháng thuốc ở các chủng *Salmonella typhi* phân lập tại Việt Nam", *Tạp chí Khoa học Công nghệ*, **89(01/2)**, tr.157-161.
- [4] V.T.N. Divek, V. Kumar, K.J. Anup (2018), "Antibiotic resistant *Salmonella* in the food supply and the potential role of antibiotic alternatives for control", *Foods*, **7(167)**, pp.1-24.
- [5] Lê Văn Du, Hồ Thị Kim Hoa (2017), "Tình hình tồn dư chất tạo nạc, kháng sinh và nhiễm *Salmonella* trong thịt lợn và gà tiêu thụ tại TP Hồ Chí Minh", *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp*, **5**, tr.46-55.
- [6] Bộ Y tế (2011), *Thông tư 14/2011/TT-BYT ngày 1/4/2011 hướng dẫn chung về lấy mẫu thực phẩm phục vụ thanh tra, kiểm tra chất lượng, vệ sinh an toàn thực phẩm*.
- [7] ISO 6579-1:2017, Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* - part 1: Detection of *Salmonella* spp.
- [8] <http://file.qums.ac.ir/repository/mmr/CLSI-2018-M100-S28.pdf>.
- [9] Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2017), *Quyết định 2625/QĐ-BNN-TY ngày 21/6/2017 về Kế hoạch hành động quốc gia về quản lý sử dụng kháng sinh và phòng chống kháng kháng sinh trong chăn nuôi và nuôi trồng thủy sản giai đoạn 2017-2020*.
- [10] Bộ Khoa học và Công nghệ (2010), *TCVN 8342:2010: Thủy sản và sản phẩm thủy sản - Phát hiện Salmonella bằng kỹ thuật phân tử chuỗi polymeraza (PCR)*.
- [11] Hoàng Hoài Phương, Nguyễn Thị Kê, Phạm Hùng Văn, Nguyễn Đỗ Phúc, Nguyễn Thị Anh Đào và Trần Thị Ngọc Phương (2008), "Khảo sát gen kháng kháng sinh của một số vi khuẩn gây bệnh phân lập từ thực phẩm", *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, **12(4)**, pp.283-290.
- [12] Đỗ Ngọc Thúy, Cù Hữu Phú, Văn Thị Hương, Đào Thị Hào, Nguyễn Xuân Huyền, Nguyễn Bạch Huệ (2006), "Đánh giá tình hình nhiễm một số loại vi khuẩn gây bệnh trong thịt lợn tươi trên địa bàn Hà Nội", *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, **3(8)**, tr.48-54.
- [13] Trần Thị Thùy Giang, Nguyễn Thị Nguyệt, Nguyễn Văn Trí, Nguyễn Thị Lê, Vương Xuân Vân, Ông Nguyễn Đức Ninh, Phạm Minh Thu, Cao Hữu Nghĩa (2014), "Khảo sát độ nhiễm khuẩn và khả năng kháng kháng sinh của *E. coli* phân lập từ thực phẩm tại Viện Pasteur", *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh*, **61**, tr.164-172.
- [14] Trần Thị Thùy Nga, Lê Quốc Phong, Nguyễn Thị Ngọc Duyên, Đào Thị Vân Khánh, Viên Quang Mai, Lê Xuân Huy, Đỗ Thái Hùng (2019), "Thực trạng kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập từ sản phẩm thịt tươi sống tại khu vực miền Trung", *Tạp chí Y học Dự phòng*, **29(11)**, tr.272-279.
- [15] Trương Hà Thái, Phạm Hồng Ngân, Chu Thị Thanh Hương (2017), "Khả năng kháng kháng sinh của *E. coli* và *Salmonella* phân lập từ trứng gia cầm bán tại một số chợ trên địa bàn TP Hà Nội", *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, **15(6)**, tr.770-775.