

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG KHÁNG KHÁNG SINH VÀ SẢN SINH MEN EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE (ESBL) CỦA VI KHUẨN *Salmonella* PHÂN LẬP TỪ THỊT LỢN, THỊT GÀ BÀY BÁN TẠI CHỢ TRÊN ĐỊA BÀN SÓC SƠN - HÀ NỘI

Cam Thị Thu Hà, Hoàng Minh Đức*, Phạm Hồng Ngân

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: hoangminhduc@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.08.2023

Ngày chấp nhận đăng: 20.11.2023

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định tỉ lệ kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* và các gen mã hóa men ESBL của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được. Một trăm mẫu thịt (50 mẫu thịt gà và 50 mẫu thịt lợn) được thu thập ngẫu nhiên tại các chợ trên địa bàn huyện Sóc Sơn, thành phố Hà Nội. Kết quả nghiên cứu cho thấy, 41,0% mẫu thịt được phát hiện dương tính với vi khuẩn *Salmonella*, trong đó có 42,0% mẫu thịt gà và 40,0% mẫu thịt lợn. Các chủng *Salmonella* phân lập được có tỉ lệ kháng cao với kháng sinh tetracycline (97,56%), flofenicol (78,05%), ampicillin (63,41%) và tỉ lệ kháng thấp với các kháng sinh ceftazidime (7,32%), ciprofloxacin (7,32%). Mặt khác, tất cả các chủng *Salmonella* phân lập được đều mẫn cảm với kháng sinh meropenem và colistin. Đáng lưu ý, 68,29% các chủng *Salmonella* phân lập là các chủng đa kháng. Có 6/41 (14,63%) chủng *Salmonella* phân lập được có khả năng sản sinh men ESBL, trong đó một chủng mang gen bla_{CTX-M-9}, ba chủng mang gen bla_{TEM}, một chủng mang đồng thời hai gen bla_{CTX-M-1}, bla_{TEM} và một chủng mang đồng thời ba gen thuộc nhóm bla_{CTX-M-1}, bla_{CTX-M-8/25}, bla_{TEM}.

Từ khóa: *Salmonella*, kháng kháng sinh, ESBL, gen.

Antibiotic Resistance and Production of Extended Spectrum β -lactamase (ESBL) of *Salmonella* Isolated from Pork and Chicken Meat in Local Markets of Soc Son District, Ha Noi

ABSTRACT

This study was conducted to identify anti-biotic resistance profile and ESBL- encoding genes of the *Salmonella* isolates from one hundred meat samples (50 chicken and 50 pork samples) randomly collected in local markets in Soc Son district, Ha Noi. The results showed that *Salmonella* were detected in 41.0% samples, of which 42.0% of chicken samples and 40.0% of pork samples were positive for *Salmonella*. The isolates exhibited highly resistance to tetracycline (97.56%), flofenicol (78.05%) and ampicillin (63.41%), but low resistance to ceftazidime (7.32%), ciprofloxacin (7.32%). However, all isolates were susceptible to meropenem and colistin. Notably, 68.29% of *Salmonella* isolates were multi-resitant strains. 6/41 (14.63%) *Salmonella* isolates produced ESBL, in which, one isolate carried bla_{CTX-M-9} gene, three isolates carried bla_{TEM} gene, one isolate carried bla_{CTX-M-1} and bla_{TEM}, and one isolate simultaneously carried bla_{CTX-M-1}, bla_{CTX-M-8/25}, bla_{TEM} gens.

Keywords: *Salmonella*, antibiotic resistance, extended spectrum β -lactamase (ESBL), ESBL encoding genes.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Salmonella là một trong những vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm nguy hiểm hàng đầu đối với sức khỏe toàn cầu (Cheng & cs., 2008). Hàng năm, khoảng 93,8 triệu ca bệnh viêm dạ dày

ruột cấp tính do *Salmonella* gây ra được ghi nhận, trong đó có 155.000 ca tử vong, 85% tổng số ca bệnh là ăn phải thực phẩm nhiễm *Salmonella* như sữa, cá, thịt bò, gà, lợn, chủ yếu là thịt gia cầm và thịt lợn (Majowicz & cs., 2010). Điều đáng lo ngại là sự xuất hiện của các

chủng vi khuẩn *Salmonella* kháng kháng sinh. Trung tâm Kiểm soát và Phòng ngừa dịch bệnh (Centers for Disease Control and Prevention - CDC) đã xếp *Salmonella* kháng kháng sinh là mối đe dọa nghiêm trọng đến sức khỏe cộng đồng (McDermott & cs., 2018).

Trong những năm gần đây, số chủng *Salmonella* kháng kháng sinh phân lập từ vật nuôi, thực phẩm và người ngày càng gia tăng, đặc biệt là các chủng kháng kháng sinh β -lactam thế hệ mới như cephalosporin thế hệ thứ 3 và thứ 4 (EFSA, 2011). Cơ chế kháng kháng sinh của nhóm vi khuẩn này dựa vào khả năng sản sinh các men β -lactam hoạt phổ rộng (ESBLs) và chuyển giao dễ dàng giữa các loài vi khuẩn thông qua plasmid (Wu & cs., 2013; Overdevest & cs., 2011). Hiện tượng kháng kháng sinh này xuất hiện là điều không thể tránh khỏi bởi β -lactam là nhóm kháng sinh được sử dụng phổ biến nhất trong điều trị nhiễm khuẩn ở cả người và vật nuôi. Men ESBL giúp vi khuẩn có khả năng thủy phân nhiều kháng sinh thuộc nhóm β -lactam bao gồm penicillin, cephalosporin thế hệ 2, 3, 4 và monobactam nhưng không giúp vi khuẩn kháng được carbapenems hoặc cephamycins (EFSA, 2012). Điều này sẽ gây khó khăn lớn cho công tác điều trị nhiễm khuẩn trên người và vật nuôi. Nguy cơ càng trở nên trầm trọng hơn do số lượng kháng sinh hiệu quả chống lại vi khuẩn kháng β -lactam còn hạn chế, đặc biệt là trong các trường hợp đa kháng các loại kháng sinh, nhất là với nhóm fluoroquinolone (Liebana & cs., 2013).

Tại Việt Nam, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra sự gia tăng tình trạng đa kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập từ động vật và các sản phẩm từ động vật (Thai & cs., 2012, Nghiem & cs., 2017, Nguyễn Thanh Việt & cs., 2018, Truong & cs., 2021). Tuy nhiên, những nghiên cứu về ESBL được sản sinh từ *Salmonella* còn rất hạn chế và chưa được cập nhật thường xuyên. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích cung cấp thông tin về thực trạng nhiễm vi khuẩn *Salmonella* sản sinh men ESBL trên thịt tại huyện Sóc Sơn, Hà Nội và có thể hỗ trợ các đơn vị liên quan về giám sát vi khuẩn kháng thuốc có nguồn gốc thực phẩm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Mẫu nghiên cứu: Mẫu được thu thập ngẫu nhiên (mỗi quầy thu 1 mẫu) tại 50 quầy thịt gà và 50 quầy thịt lợn thuộc 5 chợ trên địa bàn huyện Sóc Sơn, thành phố Hà Nội.

- Môi trường đặc trưng phân lập, khẳng định vi khuẩn *Salmonella* của hãng Merck - Đức: Rappaport - Vassiliadis, Muller - Kauffmann tetrathionate/novobiocin, Xylose Lysine Deoxycholate, Bismuth Sulfite Agar, Triple Sugar Iron Agar, Simmons Citrate Agar, Methyl Red, Kovac's Indole Reagent, thuốc nhuộm Gram.

- Các kháng sinh bột: ampicillin, cefoxitin, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, meropenem, gentamicin, streptomycin, tetracycline, colistin, florfenicol, azitromycin, ciprofloxacin, nalidixic acid, trimethoprim/sulfamethoxazole của hãng Oxoid (Anh).

- Khoanh giấy kháng sinh cefotaxime (30 μ g), ceftazidime (30 μ g), clavulanic acid (10 μ g) của Công ty Nam Khoa - Việt Nam.

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 2 đến tháng 12/2022.

- Địa điểm phân tích mẫu: Phòng Thí nghiệm Bộ môn Thú y cộng đồng và Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ sinh học thú y, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập mẫu

Quy trình lấy mẫu thịt dựa trên Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 4833 - 1:2002): Mỗi mẫu thịt thu thập 300g, cho vào túi đựng chuyên dụng vô trùng, bảo quản lạnh và vận chuyển ngay về phòng thí nghiệm.

2.2.2. Phân lập vi khuẩn *Salmonella*

Salmonella được phân lập theo TCVN 10780 - 1:2017: 25 gram mẫu thịt được đồng nhất trong 225ml dung dịch đệm peptone, ủ ở 37°C/18h. Sau đó, 1ml dịch tăng sinh được chuyển vào 10ml môi trường Rappaport - Vassiliadis ủ ở 41,5°C/24h và 10ml canh thang Muller-Kauffmann tetrathionate/novobiocin ủ trong 24h ở 37°C. Sau khi ủ, mẫu được ria cấy

trên 2 môi trường thạch chọn lọc Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) và thạch Bismuth Sulfide Agar (BS), ủ ở 37°C trong 24h. Khuẩn lạc *Salmonella* điển hình trên thạch XLD (Khuẩn lạc tâm đen, rìa trong, gọn, mặt lồi bóng) và trên thạch BS (khuẩn lạc đen, lồi tròn, có ánh kim xanh) sẽ được cấy chuyển đồng thời sang thạch Tryptone Soya Agar (TSA) để nhuộm Gram và thử các phản ứng sinh hóa (Indol, Methyl red, Voges proskauer, Cimon citrate, ure, lysine, H₂S, lên men đường lactose, lên men đường glucose) để khẳng định vi khuẩn *Salmonella*.

2.2.3. Xác định khả năng kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella*

Khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* với các loại kháng sinh ampicillin, cefoxitin, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, meropenem, gentamicin, streptomycin, tetracycline, colistin, florfenicol, azitromycin, ciprofloxacin, nalidixic acid, trimethoprim/sulfamethoxazole được xác định bằng phương pháp pha loãng và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng (CLSI, 2020) và Phòng Thí nghiệm và Ủy ban châu Âu về kiểm tra độ nhạy cảm với thuốc (EUCAST, 2015). Cụ thể: vi khuẩn được rìa cấy trên thạch TSA, ủ ở 37°C trong vòng 18-24h. Khuẩn lạc mọc trên TSA được pha loãng bằng nước muối sinh lý 0,9% để đạt được nồng độ khoảng 10⁸ CFU/ml. Huyền dịch tiếp tục được pha loãng bằng môi trường lỏng Mueller Hinton để đạt được nồng độ 10⁶ CFU/ml. Đưa dịch pha loãng vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng có chứa kháng sinh ở các nồng độ khác nhau trong vòng 15 phút ngay sau khi pha loãng. Ủ đĩa 96 giếng ở 37°C trong vòng 16-24h. Sau ủ, quan sát độ đục của dung dịch trong các giếng, nồng độ thấp nhất trong dãy pha loãng có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn được ghi nhận là nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum Inhibitory Concentration; MIC).

2.2.4. Phương pháp phát hiện các chủng *Salmonella* sản sinh men ESBL

Các chủng *Salmonella* kháng cefotaxime hoặc ceftazidime, đồng thời kháng cefepime được lựa chọn đem kiểm tra khả năng sản sinh

men ESBL bằng phương pháp kết hợp (Synergy test) theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và Phòng thí nghiệm (CLSI, 2020).

2.2.5. Phương pháp phát hiện các gen mã hóa ESBL của vi khuẩn *Salmonella*

Các gen mã hóa ESBL của các chủng *Salmonella* được phát hiện bằng phản ứng Multiplex PCR. DNA của các chủng *Salmonella* được tách chiết bằng DNeasy tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Một số gen kháng kháng sinh mã hoá men ESBL kiểm tra: bla_{CTX-M-1}, bla_{CTX-M-2}, bla_{CTX-M-8/25}, bla_{CTX-M-9}, bla_{SHV} và bla_{TEM}.

Thông tin các cặp mồi dùng cho phản ứng PCR phát hiện gen mã hóa ESBL của các chủng *Salmonella* được thể hiện ở bảng 1.

Chu trình nhiệt của phản ứng PCR phát hiện gen mã hóa ESBL: giai đoạn biến tính ở 95°C/5 phút, 25 chu kỳ với giai đoạn biến tính 95°C/30 giây, giai đoạn gắn mồi 60°C/90 giây, giai đoạn kéo dài 72°C/90 giây, cuối cùng là giai đoạn kết thúc ở 68°C trong 10 phút.

2.2.6. Thu thập, xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp, tính toán và vẽ đồ thị bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2021. Phân tích số liệu bằng phép thử Chi-Square trong phần mềm Minitab 16 để so sánh sự sai khác.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Salmonella* trên thịt tại Sóc Sơn, Hà Nội

Trong tổng số 100 mẫu thịt gà và thịt lợn thu thập tại các chợ truyền thống thuộc huyện Sóc Sơn có 41 (41,0%) mẫu phát hiện được vi khuẩn *Salmonella*. Trong đó, vi khuẩn *Salmonella* được phát hiện trong 21/50 (42,0%) mẫu thịt gà và 20/50 (40,0%) mẫu thịt lợn. Tuy nhiên không có sự sai khác giữa tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Salmonella* trên thịt gà và thịt lợn tại huyện Sóc Sơn, Hà Nội (P > 0,05). Trong số 5 chợ tiến hành lấy mẫu thịt kiểm tra, chợ Sóc Sơn và Chợ Chấu có tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Salmonella* cao nhất 11/20 mẫu, chiếm tỷ lệ 55,0%.

Nghiên cứu khả năng kháng kháng sinh và sản sinh men extended spectrum β -lactamase (esbl) của vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ thịt lợn, thịt gà bày bán tại chợ trên địa bàn Sóc Sơn - Hà Nội

Bảng 1. Thông tin các cặp mồi phát hiện gen mã hóa men ESB� (Le & cs., 2015)

Gen mục tiêu	Primer	Trình tự primer	Sản phẩm (bp)
bla _{TEM}	TEM-410F	GGTCGCCGCATACACTATTCTC	372
	TEM-781R	TTTATCCGCCTCCATCCAGTC	
bla _{SHV}	SHV-287F	CCAGCAGGATCTGGTGGACTAC	231
	SHV-517R	CCGGGAAGCGCCTCAT	
bla _{CTX-M-1}	CTXM1-115F	GAATTAGAGCGGCAGTCGGG	588
	CTXM1-702R	CACAACCCAGGAAGCAGGC	
bla _{CTX-M-2}	CTXM2-39F	GATGGCGACGCTACCCC	107
	CTXM2-145R	CAAGCCGACCTCCCGAAC	
bla _{CTX-M-9}	CTXM9-16F	GTGCAACGGATGATGTTTCGC	475
	CTXM9-490R	GAAACGTCTCATCGCCGATC	
bla _{CTX-M-8/25}	CTXM8g25g-533F	GCGACCCGCGCGATAC	186
	CTXM8g25g-718R	TGCCGTTTTATCCCCG	

Bảng 2. Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* từ mẫu thịt tại huyện Sóc Sơn

Chợ	Thịt gà		Thịt lợn		Tổng	
	n	Dương tính n (%)	n	Dương tính n (%)	n	Dương tính n (%)
Chợ Sóc Sơn	10	6 (60,0)	10	5 (50,0)	20	11 (55,0)
Chợ Phù Lỗ	10	2 (20,0)	10	2 (20,0)	20	4 (20,0)
Chợ Chấu	10	6 (60,0)	10	5 (50,0)	20	11 (55,0)
Chợ nông thôn xã Tân Minh	10	4 (40,0)	10	4 (40,0)	20	8 (40,0)
Chợ nông sản	10	3 (30,0)	10	4 (40,0)	20	7 (35,0)
Tổng	50	21 (42,0)	50	20 (40,0)	100	41 (41,0)

Vi khuẩn *Salmonella* là mầm bệnh gây ngộ độc thực phẩm nguy hiểm. Tổ chức Nông lương thế giới (FAO, 1992) và TCVN 2002 đã quy định: trong 25 gram thực phẩm có nguồn gốc động vật không được phép có mặt của vi khuẩn *Salmonella*. Chỉ cần một lượng nhỏ vi khuẩn *Salmonella* trong thực phẩm cũng có thể khuếch tán rộng rãi, gây bệnh cho con người và động vật. Vì vậy, yêu cầu vệ sinh an toàn thực phẩm đối với vi khuẩn *Salmonella* rất nghiêm ngặt. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, phát hiện tỉ lệ nhiễm khuẩn *Salmonella* trên thịt gà và thịt lợn trên địa bàn huyện Sóc Sơn, thành phố Hà Nội tương đối cao, lần lượt là 42,0% và 40,0%.

Kết quả nghiên cứu này có sự sai khác so với kết quả nghiên cứu của một số tác giả đã công bố trước đây. Nguyễn Thanh Việt & cs. (2017), cho biết tỉ lệ nhiễm vi khuẩn *Salmonella* trong các mẫu thịt gà, thịt lợn và thịt bò tại các chợ bán lẻ trên địa bàn Hà Nội lần lượt là

36,7%; 30,0% và 16,7%. Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Anh Đào & cs. (2017), 69,7% mẫu thịt gà; 65,3% mẫu thịt lợn; 58,3% mẫu thịt bò, nhiễm vi khuẩn *Salmonella*. Một nghiên cứu khác của Trương Huỳnh Anh Vũ & cs. (2021) cho kết quả tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. trên thịt lợn, thịt gà, thịt bò lần lượt là 50%, 49,62% và 26,83%. Tại một số nước đang phát triển khác, sự lưu hành của *Salmonella* trong các mẫu thịt chiếm một tỉ lệ cao: tại Yangon, Myanmar 97,9% tổng số mẫu thịt gà nhiễm *Salmonella* (Moe & cs., 2017), tại Campuchia tỉ lệ nhiễm *Salmonella* trên thịt gà và thịt lợn là 42,1% (Rortana & cs., 2021) và tại Malaysia 40,4% mẫu thịt gà phân lập được vi khuẩn *Salmonella* (Shafini & cs., 2017). Tuy nhiên tại một số nước phát triển, tỉ lệ nhiễm vi khuẩn *Salmonella* trên thịt được công bố ở mức rất thấp. Ở Mỹ, theo nghiên cứu của Zhao & cs. (2001), sự lưu hành của vi khuẩn *Salmonella*

trên thịt gà là 4,2%; trên gà tây là 2,6%; thịt lợn là 3,3% và trên thịt bò là 1,9%. Năm 2021, cũng tại Mỹ, nghiên cứu của Broadway & cs. (2021) cho biết tỉ lệ nhiễm *Salmonella* trên thịt lợn xay là 1,39%. Ở Alberta, Canada, tỉ lệ lưu hành ở thịt gà là 40,0%; gà tây là 27,0%; thịt lợn 2,0% và 0% ở thịt bò (Aslam & cs., 2012). Sự chênh lệch giữa kết quả trong nghiên cứu này so với các nghiên cứu trong và ngoài nước trước đó có thể do sự khác biệt về thực trạng vệ sinh giết mổ, buôn bán giữa các địa điểm lấy mẫu, số lượng mẫu, phương pháp lấy mẫu, quy trình phát hiện và độ chính xác trong quá trình thực hiện kiểm tra.

3.2. Kết quả nghiên cứu khả năng kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập được

Kết quả kiểm tra khả năng kháng kháng sinh của 41 chủng *Salmonella* phân lập được với 15 loại kháng sinh theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và phòng thí nghiệm (CLSI, 2020) được trình bày ở bảng 3.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, vi khuẩn *Salmonella* phân lập được có tỉ lệ kháng cao đối với các kháng sinh tetracycline (97,56%), flofenicol (78,05%), ampicillin (63,41%), tỉ lệ kháng thấp với các kháng sinh cefepime (17,07%), azithromycin (14,63%), ceftazidime (7,32%), ciprofloxacin (7,32%). Đặc biệt, không phát hiện chủng *Salmonella* nào kháng lại kháng sinh meropenem và colistin.

Trong nghiên cứu này, tất cả các chủng *Salmonella* phân lập được kháng ít nhất với 1 kháng sinh và có tỉ lệ kháng cao đối với các nhóm penicillins, tetracyclins, phenicols; kháng thấp với các kháng sinh thuộc nhóm cephalosporins, macrolides, fluoroquinolones. Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thanh Việt & cs. (2017), các chủng *Salmonella* phân lập từ thịt lợn, thịt gà và thịt bò kháng cao với streptomycin và tetracycline (44,0%), chloramphenicol (32,0%), ampicillin và sulfamethoxazole/trimethoprim (28,0%). Bên cạnh đó, chỉ có 4% số chủng *Salmonella* kháng với ciprofloxacin. Đặc biệt, tất cả các chủng đều mẫn cảm với ceftazidime. Cùng nghiên cứu tại Hà Nội, nghiên cứu của Trần Thị Nhật & cs. (2019), cho thấy vi khuẩn *Salmonella* phân lập

từ thịt gà và thịt lợn kháng cao với các kháng sinh sulfonamide (79,2%), ampicillin (68,8%), tetracycline (67,7%), trimethoprim (57,3%), chloramphenicol (53,1%) và 100% chủng mẫn cảm với ceftazidime. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sự tương đồng về khả năng kháng cao kháng sinh tetracycline và ampicillin với các nghiên cứu trước đó và thấy được xu hướng kháng kháng sinh tetracycline ngày càng tăng rõ rệt. Tuy nhiên, trong kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thanh Việt và Trần Thị Nhật, 100% chủng mẫn cảm với ceftazidime thì trong nghiên cứu của chúng tôi 7,32% các chủng *Salmonella* phân lập được lại kháng lại ceftazidime.

Trên thế giới, nghiên cứu tại Bangladesh của Parvin & cs. (2020) cho thấy *Salmonella* phân lập từ thịt gà đông lạnh kháng cao với kháng sinh sulfamethoxazole-trimethoprim (89,2%), tetracycline (86,5%), nalidixic acid (83,8%), ampicillin (63,5%), ciprofloxacin (37,8%). Điều đáng lo ngại là trong nghiên cứu này đã công bố sự kháng với các nhóm cephalosporins thế hệ 3, thế hệ 4 và carbapenems: ceftazidime (1,4%), cefotaxime (4,1%), cefepime (1,4%), meropenem (13,5%). Trong khi đó, kết quả nghiên cứu của chúng tôi 100% các chủng *Salmonella* phân lập được mẫn cảm với meropenem. Một nghiên cứu khác tại Trung Quốc năm 2019 cho biết vi khuẩn *Salmonella* có tỉ lệ kháng cao với các kháng sinh tetracycline (65,6%), ampicillin (45,4%), streptomycin (40,4%), sulfamethoxazole/trimethoprim (40,8%) và nalidixic acid (35,8%), và kháng thấp với kháng sinh cefoxitin (7,3%), cefotaxime (4,6%), ceftazidime (11%) và cefepime (6,4%) (Yang & cs., 2019). Kết quả nghiên cứu trên tương đồng với kết quả của chúng tôi về tỉ lệ kháng các kháng sinh tetracycline, ampicillin, streptomycin, sulfamethoxazole/trimethoprim và nalidixic acid. Tuy nhiên, tỉ lệ kháng kháng sinh cefoxitin, cefotaxime, ceftazidime và cefepime dao động ở mức thấp hơn. Từ các kết quả nghiên cứu cho thấy sự xuất hiện của các chủng đồng kháng kháng sinh thuộc các nhóm cephalosporin, quinolones và fluoroquinolones ngày càng gia tăng, tình trạng này ảnh hưởng rất nghiêm trọng đến hiệu quả điều trị nhiễm khuẩn (Angulo & cs., 2000).

Bảng 3. Khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ thịt

Nhóm kháng sinh	Kháng sinh	Thịt gà (n = 21)	Thịt lợn (n = 20)	Tổng (n = 41)
		Kháng n (%)	Kháng n (%)	Kháng n (%)
Penicillins	Ampicillin	14 (66,67)	12 (60,0)	26 (63,41)
Cephalosporins thế hệ 2	Cefoxitin	3 (14,29)	4 (20,0)	7 (17,07)
Cephalosporins thế hệ 3	Cefotaxime	5 (23,81)	2 (10,0)	7 (17,07)
	Ceftazidime	2 (9,52)	1 (5,0)	3 (7,32)
Cephalosporins thế hệ 4	Cefepime	4 (19,05)	3 (15,0)	7 (17,07)
Carbapenems	Meropenem	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Aminoglycosides	Gentamicin	4 (19,05)	6 (30,0)	10 (24,39)
	Streptomycin	7 (33,33)	7 (35,0)	14 (34,15)
Tetracyclins	Tetracycline	20 (95,24)	20 (100)	40 (97,56)
Polypeptid	Colistin	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Phenicols	Florfenicol	17 (80,95)	15 (75,0)	32 (78,05)
Macrolides	Azithromycin	4 (19,05)	2 (10,0)	6 (14,63)
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin	1 (4,76)	2 (10,0)	3 (7,32)
Quinolones	Nalidixic acid	9 (42,86)	9 (45,0)	18 (43,90)
Sulfonamides	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	8 (38,10)	8 (40,0)	16 (39,02)

Kết quả ở bảng 4 cho thấy kiểu hình kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập được trong nghiên cứu này rất đa dạng, với 26 kiểu hình kháng khác nhau được ghi nhận. Trong đó kiểu hình kháng “Tet-Flo” là phổ biến nhất, biểu hiện ở sáu chủng với tỉ lệ 14,63%. Tiếp theo là kiểu hình “Tet” biểu hiện ở bốn chủng chiếm tỉ lệ 9,76%. Các kiểu hình kháng khác chỉ được ghi nhận ở một đến hai chủng kiểm tra. Nguyên nhân có thể do dung lượng mẫu ít, phạm vi nghiên cứu nhỏ nên chưa tìm được sự tương đồng hoặc sự phổ biến của các kiểu hình kháng kháng sinh cụ thể.

Đa kháng kháng sinh là khả năng kháng ít nhất 3 loại kháng sinh thuộc 3 nhóm kháng sinh khác nhau (Magiorakos & cs., 2012). Sự xuất hiện tình trạng đa kháng ở các vi khuẩn gây bệnh đã trở thành mối đe dọa lớn với sức khỏe cộng đồng vì có rất ít hoặc thậm chí không có kháng sinh sẵn để điều trị các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn này gây ra (Magiorakos & cs., 2012). Trong nghiên cứu này, 68,29% chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được là các chủng đa kháng, trong đó có 34,15% các chủng phân lập kháng 3-5 kháng sinh; 21,95% các chủng phân lập kháng 6-8

kháng sinh và 12,19% các chủng phân lập kháng 9-11 kháng sinh. Nghiên cứu của tác giả Trương Huỳnh Anh Vũ & cs. (2021) cho biết tỉ lệ *Salmonella* đa kháng phân lập từ thịt tươi sống là 26,71%. Một nghiên cứu khác của Trần Thị Nhật & cs. (2019) cho thấy 69,8% chủng *Salmonella* phân lập từ thịt lợn và 76,7% chủng *Salmonella* phân lập từ thịt gà là các chủng đa kháng. Mức độ đa kháng kháng sinh thường biến động phụ thuộc vào quốc gia hoặc khu vực. Tại Alberta, Canada, tỷ lệ đa kháng thuốc được phát hiện ở 26,24% chủng *Salmonella* phân lập từ thịt (Aslam & cs., 2012). Theo nghiên cứu của Moe & cs. (2017), 52,2% chủng *Samonella* phân lập được từ thịt gà tại các cửa hàng bán lẻ đa kháng kháng sinh.

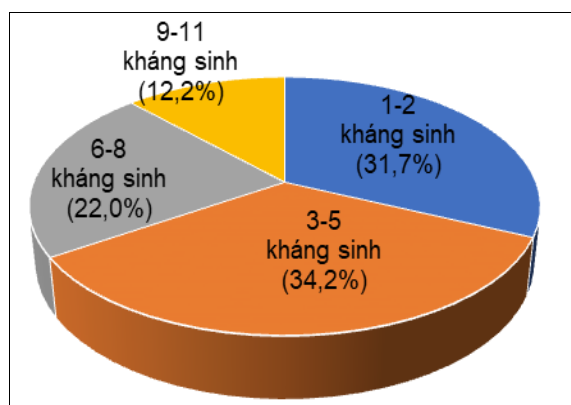
3.3. Kết quả xác định vi khuẩn *Salmonella* sản sinh men ESBL

Dựa vào kết quả kháng kháng sinh tại bảng 3, sáu chủng *Salmonella* giả định được lựa chọn kiểm tra khả năng sản sinh men ESBL bằng phản ứng kết hợp, kết quả chỉ ra rằng 100% số chủng kiểm tra có khả năng sản sinh men ESBL, trong đó có hai chủng phân lập từ thịt lợn và bốn chủng phân lập từ thịt gà.

Bảng 4. Kiểu hình kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập

Kiểu hình kháng	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Tet	4	9,76
Amp	1	2,44
Tet-Flo	6	14,63
Str-Tet	2	4,88
Amp-Tet-Sxt	1	2,44
Amp-Tet-Flo	2	4,88
Tet-Nal-Sxt	1	2,44
Tet-Flo-Nal	2	4,88
Amp-Fox-Tet-Flo	2	4,88
Amp-Tet-Flo-Sxt	1	2,44
Amp-Str-Tet-Flo	1	2,44
Amp-Fox-Tet-Flo-Nal	1	2,44
Amp-Str-Tet-Flo-Sxt	1	2,44
Amp-Tet-Flo-Azm-Sxt	2	4,88
Amp-Fox-Gen-Tet-Flo-Nal	1	2,44
Amp-Fox-Str-Tet-Flo-Nal	1	2,44
Amp-Gen-Tet-Flo-Nal-Sxt	1	2,44
Amp-Str-Tet-Flo-Azm-Nal-Sxt	1	2,44
Amp-Gen-Str-Tet-Flo-Azm-Nal-Sxt	2	4,88
Amp-Fep-Str-Tet-Flo-Cip-Nal-Sxt	1	2,44
Amp-Ctx-Caz-Str-Tet-Flo-Nal-Sxt	1	2,44
Amp-Ctx-Fep-Gen-Tet-Flo-Cip-Nal	1	2,44
Amp-Ctx-Fep-Gen-Str-Tet-Flo-Nal-Sxt	2	4,88
Amp-Ctx-Fox-Fep-Gen-Str-Tet-Flo-Nal	1	2,44
Amp-Ctx-Fep-Caz-Gen-Str-Tet-Flo-Cip-Nal-Sxt	1	2,44
Amp-Ctx-Fox-Fep-Caz-Gen-Tet-Flo-Azm-Nal-Sxt	1	2,44

Ghi chú: Amp: Ampicillin, Fox: Cefoxitin, Ctx: Cefotaxime, Caz: Ceftazidime, Fep: Cefepime, Gen: Gentamicin, Str: Streptomycin, Tet: Tetracycline, Flo: Florfenicol, Azm: Azitromycin, Cip: Ciprofloxacin, Nal: Nalidixic acid, Sxt: Trimethoprim/Sulfamethoxazole.

**Hình 1. Kết quả đa kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập**



Hình 2. Phản ứng kết hợp của vi khuẩn *Salmonella*

Bảng 5. Kiểu gen mã hóa ESBL của vi khuẩn *Salmonella* (n = 6)

Kiểu hình	Kiểu gen	Số chủng (+)	Tỉ lệ (%)
Amp-Ctx-Fep-Gen-Str-Tet-Flo-Nal-Sxt	bla _{CTX-M-9}	1	16,67
Amp-Ctx-Fox-Fep-Caz-Gen-Tet-Flo-Azm-Nal-Sxt	bla _{TEM}	3	50,0
Amp-Ctx-Fep-Gen-Tet-Flo-Cip-Nal	bla _{TEM}		
Amp-Ctx-Fep-Gen-Str-Tet-Flo-Nal-Sxt	bla _{TEM}		
Amp-Ctx-Fox-Fep-Gen-Str-Tet-Flo-Nal	bla _{CTX-M-1} , bla _{TEM}	1	16,67
Amp-Ctx-Fep-Caz-Gen-Str-Tet-Flo-Cip-Nal-Sxt	bla _{CTX-M-1} , bla _{CTX-M-8/25} , bla _{TEM}	1	16,67

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, trong sáu chủng vi khuẩn kiểm tra có một chủng mang gen mã hóa ESBL thuộc nhóm bla_{CTX-M-9} (16,67%) với kiểu hình kháng kháng sinh Amp-Ctx-Fep-Gen-Str-Tet-Flo-Nal-Sxt, ba chủng mang gen thuộc nhóm bla_{TEM} (50,0%) với các kiểu hình kháng kháng sinh Amp-Ctx-Fox-Fep-Caz-Gen-Tet-Flo-Azm-Nal-Sxt, Amp-Ctx-Fep-Gen-Tet-Flo-Cip-Nal, Amp-Ctx-Fep-Gen-Str-Tet-Flo-Nal-Sxt, một chủng mang đồng thời gen bla_{CTX-M-1}, bla_{TEM} (16,67%) với kiểu hình kháng kháng sinh Amp-Ctx-Fox-Fep-Gen-Str-Tet-Flo-Nal, một chủng mang đồng thời ba gen thuộc nhóm bla_{CTX-M-1}, bla_{CTX-M-8/25}, bla_{TEM} (16,67%) với kiểu hình kháng kháng sinh Amp-Ctx-Fep-Caz-Gen-Str-Tet-Flo-Cip-Nal-Sxt. Không phát hiện trường hợp nào mang gen bla_{CTX-M-2}, bla_{SHV}.

Nghiên cứu của Trương Huỳnh Anh Vũ & cs. (2021) về đặc điểm kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập từ sản phẩm tươi sống tại thành phố Hồ Chí Minh, cũng không phát hiện được chủng vi khuẩn *Salmonella* nào mang gen bla_{SHV}. Tuy nhiên, kết quả của nghiên cứu này lại chỉ ra rằng 25/43

(58,14%) chủng *Salmonella* phân lập mang gen mã hóa ESBL thuộc nhóm bla_{TEM} và 4/43 (9,3%) chủng mang gen thuộc nhóm bla_{CTX}. Trong một nghiên cứu khác cũng tại thành phố Hồ Chí Minh, có 2 chủng vi khuẩn có khả năng sản sinh bla_{CTX-M-1}, bla_{TEM} (Nguyen & cs., 2016). Từ các kết quả nghiên cứu trên cho thấy, vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ thịt tươi sống tại Việt Nam phần lớn mang gen mã hóa ESBL thuộc nhóm bla_{TEM} và bla_{CTX} trong đó nhóm bla_{TEM} chiếm tỉ lệ cao. Trên thế giới, gen kháng β -lactam của vi khuẩn *Salmonella* cũng có sự biến động giữa các quốc gia. Tại Thái Lan, *Salmonella* phân lập từ thịt gà, thịt lợn thu thập tại chợ phát hiện mang gen bla_{TEM}, bla_{CTX-M} and bla_{CMY-2}, trong khi đó tại Campuchia chỉ phát hiện được gen bla_{TEM}, bla_{CTX-M} (Trongjit & cs., 2017). Một nghiên cứu khác tại Trung Quốc cho biết vi khuẩn *Salmonella* mang 4 gen kháng β -lactam, bao gồm bla_{CTX-M-65}, bla_{TEM-1}, bla_{OXA-1}, and bla_{NDM-1} (Wang & cs., 2017). Ở Ba Lan lại phát hiện sự hiện diện của gen bla_{SHV}, bla_{PSE-1}, bla_{TEM}, nhưng không phát hiện gen bla_{CTX-M} trên vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ thịt lợn, thịt bò, thịt gà (Plawińska & cs., 2022).

4. KẾT LUẬN

Tỉ lệ nhiễm khuẩn *Salmonella* trên thịt gà và thịt lợn trên địa bàn huyện Sóc Sơn, thành phố Hà Nội ở mức cao (41,0%); Các chủng *Salmonella* phân lập được có tỉ lệ kháng cao với các kháng sinh tetracycline (97,56%), flofenicol (78,05%), ampicillin (63,41%); Tỉ lệ kháng thấp với các kháng sinh ceftazidime (7,32%), ciprofloxacin (7,32%); Đặc biệt đáng lưu ý, 68,29% các chủng *Salmonella* phân lập là các chủng đa kháng kháng sinh; Trong số các chủng *Salmonella* phân lập, phát hiện 6 chủng *Salmonella* sản sinh men ESBL với các kiểu gen bla_{CTX-M-1}, bla_{CTX-M-8/25}, bla_{CTX-M-9}, bla_{TEM}; Không phát hiện chủng nào chứa gen bla_{CTX-M-2}, bla_{SHV}.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Angulo F.J., Johnson K.R., Tauxe R.V. & Cohen M.L. (2000). Origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella*: Implications for the use of fluoroquinolones in food animals. *Microbial Drug Resistance*. 6(1).
- Aslam M., Checkley S., Avery B., Chalmers G., Bohaychuk V., Gensler G., Reid-Smith R. & Boerlin P. (2012). Phenotypic and genetic characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella* serovars isolated from retail meats in Alberta, Canada. *Food Microbiology*. 32(1): 110-117.
- Broadway P.R., Chance Brooks J., Mollenkopf D.F., Alexandra Calle M., Loneragan G.H., Miller M.F., Carroll J.A., Sanchez N.C.B. & Wittum T.E. (2021). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella* Serovars Isolated from U.S. Retail Ground Pork. *Foodborne Pathogens and Disease*. 18(3): 219-227.
- Cheng C.-M., Lin W., Thien Van K., Phan L., Tran N.N. & Farmer D. (2008). Rapid Detection of *Salmonella* in Foods Using Real-Time PCR. *Journal of Food Protection*. 71(12).
- CLSI (2020). M100Ed30 | Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition. In Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.
- EFSA (2011). Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal*.
- EFSA (2012). The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2010. *EFSA Journal*.
- Le Q.P., Ueda S., Nguyen T.N.H., Dao T.V.K., Van Hoang T.A., Tran T.T.N., Hirai I., Nakayama T., Kawahara R., Do T.H., Vien Q.M. & Yamamoto Y. (2015). Characteristics of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Retail Meats and Shrimp at a Local Market in Vietnam. *Foodborne Pathogens and Disease*. 12(8): 719-725.
- Liebana E., Carattoli A., Coque T.M., Hasman H., Magiorakos A.P., Mevius D., Peixe L., Poirel L., Schuepbach-Regula G., Torneke K., Torren-Edo J., Torres C. & Threlfall J. (2013). Public health risks of enterobacterial isolates producing extended-spectrum β -lactamases or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals: An EU perspective of epidemiology, analytical methods, risk factors, and control options. *Clinical Infectious Diseases*.
- Magiorakos A.-P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., Harbarth S., Hindler J.F., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist B., Paterson D.L., Rice L.B., Stelling J., Struelens M.J., Vatopoulos A., Weber J.T. & Monnet D.L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*. 18(3): 268-281.
- Majowicz S.E., Musto J., Scallan E., Angulo F.J., Kirk M., O'Brien S.J., Jones T.F., Fazil A., Hoekstra R.M. & Studies I.C. on E.D. 'Burden of I. (2010). The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 50(6): 882-889.
- McDermott P.F. Zhao S. & Tate H. (2018). Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal *Salmonella*. *Microbiology Spectrum*. 6(4).
- Moe A.Z., Paulsen P., Pichpol D., Fries R., Irsigler H., Baumann M.P.O. & Oo K.N. (2017). Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Isolates from Chicken Carcasses in Retail Markets in Yangon, Myanmar. *Journal of Food Protection*. 80(6): 947-951.
- Nghiem M.N., Nguyen V.T., Nguyen T.T.H., Nguyen T.D. & Vo T.T.B. (2017). Antimicrobial resistance gene expression associated with multidrug resistant *Salmonella* spp. isolated from retail meat in Hanoi, Vietnam. *International Microbiology: The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*. 20(2): 85-93.
- Nguyen D.T.A., Kanki M., Nguyen P. Do, Le H.T., Ngo P.T., Tran D.N.M., Le N.H., Dang C. Van, Kawai T., Kawahara R., Yonogi S., Hirai Y., Jinnai M., Yamasaki S., Kumeda Y. & Yamamoto

- Y. (2016). Prevalence, antibiotic resistance, and extended-spectrum and AmpC β -lactamase productivity of *Salmonella* isolates from raw meat and seafood samples in Ho Chi Minh City, Vietnam. *International Journal of Food Microbiology*. 236: 115-122.
- 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): 553-564.
- Overdeest I., Willemsen I., Rijnsburger M., Eustace A., Xu L., Hawkey P., Heck M., Savelkoul, P., Vandenbroucke-Grauls C., van der Zwaluw K., Huijsdens X. & Kluytmans J. (2011). Extended-spectrum β -lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*.
- Parvin M.S., Hasan M.M., Ali M.Y., Chowdhury E.H., Rahman M.T. & Islam M.T. (2020). Prevalence and Multidrug Resistance Pattern of *Salmonella* Carrying Extended-Spectrum β -Lactamase in Frozen Chicken Meat in Bangladesh. *Journal of Food Protection*. 83(12): 2107-2121.
- Plawińska-czarnak J., Wódz K., Kizerwetter-świda M., Bogdan J., Kwieciński P., Nowak T., Strzałkowska Z. & Anusz K. (2022). Multi-Drug Resistance to *Salmonella* spp. When Isolated from Raw Meat Products. *Antibiotics*. 11(7): 876.
- Rortana C., Nguyen-Viet H., Tum S., Unger F., Boqvist S., Dang-Xuan S., Koam S., Grace D., Osbjør K., Heng T., Sarim S., Phirum O., Sophia R. & Lindahl J.F. (2021). Prevalence of *Salmonella* spp. And *Staphylococcus aureus* in chicken meat and pork from Cambodian markets. *Pathogens*. 10(5).
- Shafini A.B., Son R., Mahyudin N.A., Rukayadi Y. & Tuan Zainazor T.C. (2017). Prevalence of *Salmonella* spp. in chicken and beef from retail outlets in Malaysia. *International Food Research Journal*. 24(1): 437-449.
- Thai T.H., Hirai T., Lan N.T. & Yamaguchi R. (2012). Antibiotic resistance profiles of *Salmonella* serovars isolated from retail pork and chicken meat in North Vietnam. *International Journal of Food Microbiology*. 156(2).
- Trongjit S., Angkititrakul S., Tuttle R.E., Pongseree J., Padungtod P. & Chuanchuen R. (2017). Prevalence and antimicrobial resistance in *Salmonella* enterica isolated from broiler chickens, pigs and meat products in Thailand - Cambodia border provinces. *Microbiology and Immunology*.
- Truong H.A.V., Nguyen H.K.T., Chu V.H. & Huynh Y.H. (2021). Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from raw meats at traditional markets in Ho Chi Minh city. *Ministry of Science and Technology, Vietnam*. 63(8): 55-59.
- Wang W., Peng Z., Baloch Z., Hu Y., Xu J., Zhang W., Fanning S. & Li F. (2017). Genomic characterization of an extensively-drug resistance *Salmonella* enterica serotype Indiana strain harboring bla_{NDM-1} gene isolated from a chicken carcass in China. *Microbiological Research*. 204: 48-54.
- Wu G., Day M.J., Mafura M.T., Nunez-Garcia J., Fenner J.J., Sharma M., van Essen-Zandbergen A., Rodríguez I., Dierikx C., Kadlec K., Schink A.K., Wain J., Helmuth R., Guerra B., Schwarz S., Threlfall J., Woodward M.J., Woodford N., Coldham N. & Mevius D. (2013). Comparative Analysis of ESBL-Positive *Escherichia coli* Isolates from Animals and Humans from the UK, The Netherlands and Germany. *PLoS ONE*.
- Yang X., Wu Q., Zhang J., Huang J., Chen L., Wu S., Zeng H., Wang J., Chen M., Wu H., Gu Q. & Wei X. (2019). Prevalence, bacterial load, and antimicrobial resistance of *Salmonella* serovars isolated from retail meat and meat products in China. *Frontiers in Microbiology*: 10(SEP): 1-9.
- Zhao C., Ge B., De Villena J., Sudler R., Yeh E., Zhao S., White D.G., Wagner D. & Meng J. (2001). Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* Serovars in Retail Chicken, Turkey, Pork, and Beef from the Greater Washington, D.C., Area. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(12): 5431-5436.