

TÌNH HÌNH TỒN DƯ CHẤT TẠO NẠC, KHÁNG SINH VÀ NHIỄM *SALMONELLA* TRONG THỊT HEO VÀ GÀ TIÊU THỤ TẠI THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

ANTIMICROBIAL AND β -AGONIST RESIDUES AND CONTAMINATION OF *SALMONELLA* IN PORK AND CHICKEN CONSUMED IN HO CHI MINH CITY IN 2015

Lê Văn Du¹, Hồ Thị Kim Hoa²

¹Chi Cục Thú y Tp. Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

Email: hoa.hothikim@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Tổng số 80 mẫu thịt heo và 70 mẫu thịt gà được đưa về tiêu thụ ở TP HCM trong 4 tháng cuối 2015 được thu thập để kiểm tra dư lượng các β 2-agonist và một số kháng sinh, sự vấy nhiễm và đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella*. Sulfadimidine được phát hiện trong 14 mẫu thịt heo, trong đó 7 mẫu có hàm lượng từ 103 – 10.330 μ g/kg. Norfloxacin được phát hiện trong 3 mẫu thịt heo. Trong 70 mẫu thịt gà, norfloxacin được phát hiện trong 2 mẫu, enrofloxacin trong 23 mẫu, và florfenicol trong 19 mẫu. *Salmonella* được phát hiện trong 43,75% mẫu thịt heo và 37,24% mẫu thịt gà. Tỷ lệ vấy nhiễm *Salmonella* trên thịt heo giết mổ tại các cơ sở giết mổ (CSGM) ở TP HCM và các tỉnh là như nhau; tỷ lệ vấy nhiễm trên thịt gà giết mổ tại các tỉnh cao hơn tại TP HCM (43,75% so với 31,58%). Mức độ đề kháng một số kháng sinh của 39 gốc *Salmonella* phân lập khá cao. Tỷ lệ đề kháng ampicillin và chloramphenicol cao nhất là 76,92% (30/39 mẫu). Tỷ lệ các gốc *Salmonella* phân lập đề kháng từ 3 kháng sinh trở lên là 58,97%. Kiểu hình đa đề kháng cao nhất là ampicillin, chloramphenicol, và trimethoprim-sulfamethoxazole (41,03%). Gene đề kháng *bla*_{TEM} được phát hiện trong 29 gốc *Salmonella*, và gene *qnrS* – một gene đề kháng quinolone nằm trên plasmid được tìm thấy ở 26 gốc vi khuẩn. Đặc biệt, 21 gốc *Salmonella* mang cả 2 gene *bla*_{TEM} và *qnrS*. So sánh với các đợt kiểm tra trước đây, kết quả cho thấy tình hình tồn dư β 2-agonist và kháng sinh trong thịt có giảm. Tuy nhiên, mức độ vấy nhiễm *Salmonella* vẫn còn cao, đặc biệt tỷ lệ vi khuẩn mang gene đề kháng β -lactam và nhóm quinolone cao và lan rộng ở các địa phương.

Từ khóa: Chất tạo nạc; đề kháng kháng sinh; *Salmonella*; tồn dư; thịt.

ABSTRACT

A total of 80 pork and 70 chicken samples from different city and provinces arrived in HCMC in the last four months of 2015 were collected for examination of residues of β 2-agonists and several antimicrobials, and the presence of *Salmonella*. Phenotypic and genotypic resistance of the isolates were studied. Of 80 pork samples, sulfadimidine was detected in 14 samples, of which seven contained 103.3 - 10.330 μ g/kg. Norfloxacin was detected in three samples. Of 70 chicken samples, norfloxacin was found in two samples, enrofloxacin in 23 samples (32.86%), and florfenicol in 19 (27.14%). *Salmonella* was found in 61 samples (40.67%). It was showed similar incidence of *Salmonella* contamination in pork samples derived from abattoirs in HCMC and in provinces (43.75%), while *Salmonella* contamination in samples of chicken slaughtered in provinces was at higher rates than those processed in HCMC abattoirs (43.75% and 31.58%, respectively). Thirty out of 39 (76.92%) isolates were resistant to ampicillin and chloramphenicol. Ciprofloxacin and cefotaxime resistance was relatively low. 58.97% of salmonella isolates were resistant to 3 or more different antimicrobials. The most frequent co-resistant phenotype observed was to ampicillin, chloramphenicol and trimethoprim-sulfamethoxazole (41.03%). Twenty-nine isolates carried *bla*_{TEM} gene, and 26 isolates carried *qnrS*- a plasmid-mediated quinolone resistant gene. Importantly, 21 (53.85%) isolates were detected carrying both genes. The results showed

reduction in β 2-agonist and antibiotic residues compared to those monitored in previous periods of time. However, contamination of *Salmonella* still remains at high levels and resistance to β -lactam and quinolone groups seems alarmingly spreading throughout different city/provinces.

Keywords: Antibiotic; β 2-agonist; residues; resistance; *Salmonella*; meat.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, tình hình an toàn thực phẩm (ATTP) ở Việt Nam trở thành một vấn đề gây lo lắng nghiêm trọng trong xã hội. Đặc biệt là tình trạng thịt/trứng/sữa nhiễm khuẩn, dư lượng kháng sinh, chất kích thích tăng trọng, chất tạo nạc. Hiện trạng này không những có tác động trực tiếp và thường xuyên đến sức khỏe của con người và an sinh xã hội, mà còn ảnh hưởng đến phát triển kinh tế, thương mại, du lịch (Chi cục Thú y TP HCM, 2015). Việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi thú y và trong điều trị bệnh trên người chưa được kiểm soát hiệu quả. Sử dụng kháng sinh không đúng cách và lạm dụng kháng sinh trong chăn nuôi thú y góp phần quan trọng đến tình trạng đề kháng kháng sinh trầm trọng hiện nay trong thú y và nhân y. Các cơ quan chức năng nông nghiệp và y tế đã và đang cố gắng khắc phục tình hình bằng nhiều biện pháp. Nhiều văn bản pháp luật được ban hành hay cập nhật để quản lý việc sử dụng hóa chất, nói chung, và chất tạo nạc β 2-agonist và kháng sinh trong chăn nuôi thú y tốt hơn. Nhiều chương trình theo dõi giám sát các chất tồn dư này trong thực phẩm và mức độ đề kháng kháng sinh của vi khuẩn cũng được thực hiện thường xuyên. Đề tài này đã được thực hiện nhằm: đánh giá (i) mức độ tồn dư các β 2-agonist và một số kháng sinh; (ii) mức độ vấy nhiễm *Salmonella*; và (iii) mức độ đề kháng một số kháng sinh của các gốc *Salmonella* phân lập

được từ các mẫu thịt heo và thịt gà được đưa về tiêu thụ ở Thành phố Hồ Chí Minh (TP HCM) trong năm 2015.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu và cách lấy mẫu

Một trăm năm mươi mẫu thịt, gồm 80 mẫu thịt heo và 70 mẫu thịt gà từ các cơ sở giết mổ (CSGM) ở một số tỉnh thành (Đồng Nai, Long An, Tiền Giang) đưa về TP HCM tiêu thụ được thu thập trong 4 tháng cuối năm 2015. Mẫu được lấy trên các phương tiện vận chuyển tại các chợ trong TP HCM trước khi được phân phối. Các lô hàng đều có giấy chứng nhận kiểm dịch. Việc lấy mẫu được thực hiện theo hướng dẫn QCVN 01 – 04 : 2009/BNNPTNT (Bộ NN và PTNT, 2009).

Kiểm tra dư lượng các β 2-agonist và kháng sinh trong các mẫu thịt

Dư lượng các β 2-agonist (clenbuterol, salbutamol, ractopamine) và kháng sinh nhóm quinolone, nhóm sulfonamide trong thịt heo; dư lượng các kháng sinh nhóm quinolone, tetracycline, và chloramphenicol trên thịt gà được phân tích tại Trung tâm Chất lượng Nông Lâm Thủy sản vùng 4. Phương pháp thực hiện và chỉ tiêu phân tích được thực hiện theo Quyết định số 09/QĐ-QLCL (Cục Quản lý Chất lượng Nông Lâm Thủy sản, 2014) (Bảng 1).

Bảng 1. Các chỉ tiêu phân tích và phương pháp phân tích các dư lượng

Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp xét nghiệm
Nhóm quinolone (enrofloxacin, norfloxacin)	Sắc ký lỏng-khối phổ
Nhóm sulfonamide (sulfadiazine, sulfadimidine)	Sắc ký lỏng hiệu năng cao, đầu dò PDA
Nhóm tetracycline (tetracycline, oxytetracycline, chlortetracycline)	Sắc ký lỏng hiệu năng cao, đầu dò huỳnh quang
Nhóm chloramphenicol	
- Chloramphenicol	ELISA
- Florphenicol	Sắc ký lỏng-khối phổ
Dư lượng nhóm β 2-agonist (clenbuterol, salbutamol, ractopamine)	Sắc ký lỏng-khối phổ

Phân lập *Salmonella* từ các mẫu thịt và kiểm tra đề kháng

Salmonella được phân lập từ các mẫu thịt heo và thịt gà theo TCVN 4829:2005 (ISO 6579:2002), Phương pháp phát hiện *Salmonella* trên đĩa thạch, và được bảo quản trên thạch dinh dưỡng (nutrient agar, NA) ở 4°C để khảo sát khả năng đề kháng kháng sinh. Trước khi tiến hành khảo sát đề kháng, các gốc vi khuẩn được phục hồi trên môi trường X.L.D. (Oxoid, CM0469), và tăng sinh trên môi trường Mueller-Hinton agar (MHA; Oxoid CM0337).

Kiểu hình đề kháng của các gốc *Salmonella* được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán trên thạch (disk diffusion method). Các kháng sinh được dùng trong khảo sát thuộc các nhóm kháng sinh được Cơ quan FDA (Food and Drug Administration, Hoa Kỳ) hướng dẫn nên kiểm tra thường xuyên và báo cáo đối với các vi khuẩn *Salmonella* và *Shigella* phân lập từ các nguồn khác nhau. Phương pháp thực hiện và đọc kết quả được thực hiện theo hướng dẫn của cơ quan này (Clinical Laboratory Standards Institute, 2015). Vi khuẩn *Escherichia coli* ATCC 25922 được dùng làm đối chứng.

Sự hiện diện một số gene đề kháng β -lactamase phổ biến ở vi khuẩn Gram âm và một số gene đề kháng quinolone nằm trên plasmid (plasmid-mediated quinolone resistance, PMQR) được kiểm tra trên các gốc *Salmonella* được phân lập. DNA của vi khuẩn bằng kỹ thuật boiling lysis như sau. Vi khuẩn trên thạch MHA được cho vào nước (Nuclease Free Water, NFW) và đánh tan (vortex); huyền dịch được ly tâm (6.000 vòng/phút; 10 phút); phần cặn được làm tan trong NFW và được để trong nước 96°C trong 15 phút, sau đó được chuyển để trong đá lạnh 15 - 30 phút. Các huyền dịch được ly tâm 16.000 vòng/phút, 20 phút và phần nước trong

chứa DNA được chuyển sang ống Eppendorf sạch, được giữ ở 4 - 8°C để dùng cho các phản ứng PCR.

Hai phản ứng multiplex PCR (m-PCR) được thực hiện. m-PCR1 kiểm tra sự hiện diện một số gene mã hóa enzyme β -lactamase phổ biến là TEM, SHV, và OXA. Quy trình nhiệt của phản ứng là: tiền biến tính ở 95°C/10 phút; 35 chu kỳ: biến tính ở 95°C/1 phút, bắt cặp ở 55°C/1 phút, kéo dài ở 72°C/1 phút; lần kéo dài cuối cùng ở 72°C/10 phút. Các gốc vi khuẩn Gram âm phân lập từ các nghiên cứu trước đây có chứa các gene này được dùng làm đối chứng dương (Hồ Thị Kim Hoa và ctv, 2013; Lê Hữu Ngọc và ctv, 2016). Phản ứng m-PCR2 nhằm kiểm tra ba gene *qnrA*, *qnrB*, và *qnrS* mã hóa các đoạn pentapeptide lặp lại (pentapeptide repeat family) có vai trò bảo vệ các enzyme DNA gyrase và topoisomerase IV đề kháng quinolone. Các gene này nằm trên plasmid (PMQR gene). Quy trình nhiệt của phản ứng m-PCR2 là: tiền biến tính ở 95°C/10 phút; 35 chu kỳ: biến tính ở 95°C/1 phút, bắt cặp ở 54°C/1 phút, kéo dài ở 72°C/1 phút; lần kéo dài cuối cùng ở 72°C/10 phút. Đối chứng dương là các gốc vi khuẩn có mang các gene *qnrA*, *qnrB*, và *qnrS* (Phòng Thí nghiệm vi sinh vật và kiểm nghiệm thú sản, Khoa Chăn nuôi Thú y, Đại học Nông Lâm TP HCM) đã được kiểm tra bằng cách xác định chuỗi nucleotide của các sản phẩm PCR và phân tích đồng dạng di truyền bằng phần mềm BLAST (Basic Local Alignment Search Tool; của NCBI, National Center for Biotechnology Information - Trung tâm Quốc gia về Thông tin Công nghệ Sinh học của Mỹ; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast>). GoTaq@Green Master Mix (Promega, M1123) được sử dụng cho cả hai phản ứng. Các primer được dùng trong nội dung này được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Các primer được sử dụng trong hai phản ứng m-PCR

Gene mục tiêu	Tên primer	Chuỗi nucleotide (5' – 3')	Độ dài sản phẩm (bp)
m-PCR1, kiểm tra các gene mã hóa TEM, SHV và OXA-1-like (Dallenne và cs, 2010)			
Các biến chủng của bla_{TEM1} và bla_{TEM2}	MultiTSO-T-F	CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC	800
	MultiTSO-T-R	CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC	
Các biến chủng của bla_{SHV}	MultiTSO-S-F	AGCCGCTTGAGCAAATTAAC	713
	MultiTSO-S-R	ATCCCGCAGATAAATCACCAC	
bla_{OXA-1} , bla_{OXA-4} , bla_{OXA-30}	MultiTSO-O-F	GGCACCAGATTCAACTTTCAAG	564
	MultiTSO-O-R	GACCCCAAGTTTCCTGTAAGTG	
m-PCR2 kiểm tra các gene $qnrA$, $qnrB$, và $qnrS$ (Cattoir và cs, 2007)			
	QnrAm-F	AGAGGATTTCTCACGCCAGG	580
	QnrAm-R	TGCCAGGCACAGATCTTGAC	
	QnrBm-F	GGMATHGAAATTCGCCACTG	264
	QnrBm-R	TTTGCGYGYCGCCAGTCGAA	
	QnrSm-F	GCAAGTTCATTGAACAGGGT	428
	QnrSm-R	TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG	

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Dư lượng các β 2-agonist và kháng sinh trong các mẫu thịt

Không phát hiện tồn dư clenbuterol và ractopamine trong các mẫu thịt heo. Có 2 mẫu có salbutamol với hàm lượng (0,2 ppb và 0,8 ppb) không vượt quá quy định tại Thông tư số 01/2016/TT-BNNPTNT do Bộ NN và PTNN ban hành (Bộ NN và PTNT, 2016). Kết quả này khả quan hơn so với các kết quả kiểm tra, giám sát của Chi cục Thú y TP HCM giai đoạn 2011 – 2015. Trong giai đoạn này, 4,59% mẫu nước tiểu (57 trong 1.242) của heo chuẩn bị xuất chuồng tại các hộ chăn nuôi ở TP HCM và 10,89% mẫu nước tiểu (151 trong 1.386 mẫu) của heo tại các CSGM có β 2-agonist vượt mức

quy định, trong đó có 1,08% mẫu dương tính với ractopamine. Riêng trong năm 2015, có 2 trong số 159 (1,26%) mẫu thịt có dư lượng salbutamol vượt mức giới hạn cho phép (> 10 ppb – LC/MS) (Chi cục Thú y TP HCM, 2015).

Không phát hiện sulfadiazine và enrofloxacin trong 80 mẫu thịt heo khảo sát (Bảng 3). Sulfadimidine được tìm thấy trong 14 mẫu (17,5%) với hàm lượng từ 2 – 10.330 μ g/kg, trong đó có 7 mẫu có dư lượng từ 103,3 – 10.330 μ g/kg, vượt mức giới hạn quy định tại Thông tư số 24/2013/TT-BYT của Bộ Y tế (MRL = 100 μ g/kg). Norfloxacin được tìm thấy trong 3 mẫu (3,75%) với hàm lượng từ 1,8 – 28,7 μ g/kg. Việt Nam không có quy chuẩn về dư lượng kháng sinh này trong thịt động vật trên cạn.

Bảng 3. Kết quả khảo sát tồn dư các kháng sinh trong các mẫu thịt

Kháng sinh	Số mẫu phát hiện tồn dư		Hàm lượng tồn dư ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	MRL ^(a)	Số mẫu vượt MRL
Thịt heo (n=80)					
Sulfadiazine	0	0	0	(b)	(b)
Sulfadimidine	14	17,5%	2 – 10330	100	7
Enrofloxacin	0	0	0	(b)	(b)
Norfloxacin	3	3,75%	1,8 - 28,7	(b)	(b)
Thịt gà (n=70)					
Enrofloxacin	23	32,86%	1,7 - 67,8	(b)	(b)
Norfloxacin	2	2,86%	3,2 - 4,3	(b)	(b)
Tetracycline	1	1,43%	2,7	200	0
Oxytetracycline	0	0	0	200	0
Chlortetracycline	1	1,43%	43,1	200	0
Chloramphenicol	0	0	0	(b)	(b)
Florfenicol	19	27,14%	0,11 - 1,3	(b)	(b)

^(a) MRL: Maximum residue limits (giới hạn tồn dư tối đa), theo Thông tư số 24/2013/TT-BYT (Bộ Y tế, 2013)

^(b) Việt Nam không có quy chuẩn về dư lượng các kháng sinh này trong thịt

Không phát hiện oxytetracycline và chloramphenicol trong mẫu thịt gà kiểm tra (Bảng 3). Tetracycline và chlortetracycline được tìm thấy trong 1 mẫu với mức không vượt mức giới hạn của Bộ Y tế (Thông tư số 24/2013/TT-BYT). Enrofloxacin, norfloxacin, và florfenicol cũng được tìm thấy. Đặc biệt trong gần 1/3 số mẫu thịt gà có phát hiện enrofloxacin (32,86%) và 27,14% có florfenicol. Bộ Y tế và Bộ NNPTNT không có quy định về dư lượng enrofloxacin, norfloxacin, và florfenicol trong thịt. Theo quy định của Liên minh Châu Âu (EU, 2009), hàm lượng enrofloxacin và florfenicol trong các mẫu thịt gà chưa vượt mức MRL (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ trong cơ đối với thịt gà; 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ trong cơ đối với thịt heo).

So sánh với kết quả kiểm tra giám sát của Chi cục Thú y TP HCM giai đoạn 2011 – 2015, tình trạng tồn dư tetracycline trong thịt gà tiêu thụ tại TP HCM có vẻ có thay đổi tích cực. Năm 2012 có 68/553 (12,3%) mẫu thịt có tetracycline vượt mức giới hạn cho phép; năm 2013, có 24/94 mẫu (25,53%); năm 2014, phát hiện 7/300 mẫu

(2,33%); và năm 2015 phát hiện 37/159 mẫu (23,27%) (Chi cục Thú y TP HCM, 2015). Dư lượng enrofloxacin trong khảo sát này thấp hơn đáng kể so với kết quả khảo sát các mẫu thịt gà ở 19 tỉnh miền Bắc trong cùng năm (2015) của Chử Văn Tuất và ctv (2016). Trong khảo sát của các tác giả này, 19/66 mẫu thịt gà có dư lượng enrofloxacin với hàm lượng cao từ 128,7 – 1161,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ và 1,5% mẫu thịt gà có chloramphenicol.

Tỉ lệ nhiễm vi khuẩn *Salmonella* spp. trong các mẫu thịt

Trong tổng số 150 mẫu thịt kiểm tra, 40,67% có nhiễm *Salmonella* spp. (Bảng 4). Tỉ lệ nhiễm vi khuẩn này trên thịt heo là 43,75% và trên thịt gà là 37,14%. Kết quả này cao hơn kết quả khảo sát các mẫu thịt được lấy tại các CSGM tại Tp. HCM năm 2014 với tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. trên thịt heo là và trên thịt gà là 31,6%. Tuy nhiên, kết quả khảo sát lần này thấp hơn kết quả tỉ lệ nhiễm *Salmonella* trên thịt heo và gà bán tại các chợ (thịt heo, 43,3%; thịt gà, 41,6%) (Nguyễn Thanh Long, 2015).

Bảng 4. Tỷ lệ mẫu thịt vấy nhiễm *Salmonella* spp.

	Cơ sở giết mổ	Số mẫu kiểm tra (n)	Số mẫu nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)
Thịt heo	Thành phố	48	21	43,75
	Tỉnh	32	14	43,75
	Tổng số mẫu	80	35	<u>43,75</u>
Thịt gà	Thành phố	38	12	31,58
	Tỉnh	32	14	43,75
	Tổng số mẫu	70	26	<u>37,14</u>
Tổng số mẫu thịt heo/gà		150	61	<u>40,67</u>

Kết quả cho thấy không có khác biệt đáng kể về tỷ lệ mẫu thịt heo nhiễm *Salmonella* giữa nguồn thịt từ các CSGM tại TP. HCM và từ các tỉnh được đưa về TP. HCM tiêu thụ. Trong khi đó, tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên các mẫu thịt gà giết từ các CSGM ở TP. HCM thấp hơn so với thịt gà từ các tỉnh đưa về. Qua những lần kiểm tra khảo sát trong những năm gần đây, Chi cục Thú y TP. HCM đã tăng cường chấn chỉnh điều kiện vệ sinh tại các CSGM, vệ sinh các dụng cụ, trang thiết bị, quy trình giết mổ; chú trọng chất lượng vệ sinh nước rửa thịt, nước đá làm mát thịt và có sự kiểm tra, giám sát của Cục quản lý chất lượng nông lâm sản, thủy sản. Điều này có lẽ đã giúp giảm nguy cơ vấy nhiễm vi sinh vật lên quày thịt tại các CSGM.

Nguyên nhân dẫn đến tình trạng vấy nhiễm khuẩn quày thịt tại các CSGM có thể kể đến: điều kiện vệ sinh cơ sở, dụng cụ, trang thiết bị, trong quá trình giết mổ chưa đảm bảo, nước chảo trung heo, bồn rửa thịt gà dơ không được thay nước thường xuyên, quy trình giết mổ không đúng kỹ thuật sẽ làm vi khuẩn nhiễm vào thịt, tăng nguy cơ nhiễm chéo giữa các lần trên cùng dây chuyền giết mổ. Nguồn nước và nước đá sử dụng trong giết mổ không đảm bảo vệ sinh cũng là nguồn nhiễm vi khuẩn. Việc giết mổ quá công suất, công nhân không được trang bị bảo hộ lao động (găng tay, khẩu trang, tạo dề, ...), một công nhân thực hiện qua lại giữa công đoạn dơ và công

đoạn sạch, hệ thống nước thải, chất thải ứ đọng, quày thịt treo chạm sàn, ... Những vấn đề này có thể xảy ra ở các CSGM, đặc biệt đối với những cơ sở nhỏ, giết mổ thủ công. Trong quá trình vận chuyển từ CSGM ra đến chợ, phương tiện vận chuyển, dụng cụ, bảo hộ lao động, công nhân khâu vắc kém vệ sinh tiếp xúc quày thịt kết hợp với điều kiện nhiệt độ bảo quản trong quá trình vận chuyển không phù hợp làm gia tăng lượng vi khuẩn trên quày thịt.

Tất cả những nguyên nhân trên đã được ghi nhận qua các đợt phối hợp của Chi cục Thú y TP HCM và Cơ quan Thú y Vùng VI kiểm tra các CSGM từ các tỉnh có đưa thịt về TP. HCM tiêu thụ, cũng như việc thường xuyên chấn chỉnh của Chi cục Thú y TP. HCM tại các CSGM trên địa bàn TP HCM (Chi cục Thú y Tp. HCM, 2015).

Sự đề kháng một số kháng sinh của các gốc *Salmonella* phân lập

Có 39 gốc *Salmonella* phân lập từ các mẫu thịt (24 gốc trên thịt heo và 15 gốc trên thịt gà) được phục hồi để kiểm tra kiểu hình và kiểu gene đề kháng. Kết quả kiểu hình đề kháng một số nhóm kháng sinh của các gốc vi khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên thạch được trình bày trong Bảng 5. Nhìn chung, tình hình đề kháng kháng sinh của vi khuẩn phân lập từ gà có vẻ cao hơn vi khuẩn từ heo.

Bảng 5. Đề kháng kháng sinh của các gốc *Salmonella*

	Thịt heo (n=24)		Thịt gà (n=15)		Chung (n=39)	
	Số gốc đề kháng	%	Số gốc đề kháng	%	Số gốc đề kháng	%
Kháng sinh						
Ampicillin (AMP)	17	70,83	13	86,67	30	76,92
Chloramphenicol (CAP)	19	79,17	11	73,33	30	76,92
Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)	16	66,67	9	60,00	25	64,10
Ciprofloxacin (CIP)	0	0	9	60,00	9	23,08
Cefotaxime (CTX)	0	0	1	6,67	1	2,56
Số kháng sinh đề kháng						
Đề kháng 1 kháng sinh	6	25,00	0	0	6	15,38
Đề kháng trên 1 kháng sinh	16	66,67	14	93,33	30	76,92
<i>Đề kháng 2 kháng sinh</i>	2	8,33	5	33,33	7	17,95
<i>Đề kháng 3 kháng sinh</i>	14	58,33	3	20,00	17	43,59
<i>Đề kháng 4 kháng sinh</i>	0	0	6	40,00	6	15,38
<i>Đề kháng 5 kháng sinh</i>	0	0	0	0	0	0
Kiểu hình đề kháng						
AMP	3	12,50	0	0	3	7,69
CAP	3	12,50	0	0	3	7,69
AMP + CAP	0	0	1	6,67	1	2,56
AMP + SXT	0	0	1	6,67	1	2,56
AMP + CIP	0	0	2	13,33	2	5,13
CAP + SXT	2	8,33	0	0	2	5,13
CAP + CIP	0	0	1	6,67	1	2,56
AMP + CAP + SXT	14	58,33	2	13,33	16	41,03
AMP + CAP + CIP	0	0	1	6,67	1	2,56
AMP + CAP + SXT + CIP	0	0	5	33,33	5	12,82
AMP + CAP + SXT + CTX	0	0	1	6,67	1	2,56

Kết quả cho thấy tất cả 36 trong số 39 gốc *Salmonella* đề kháng với ít nhất một loại kháng sinh kiểm tra, 66,67% gốc vi khuẩn từ thịt heo và 93,33% gốc vi khuẩn từ thịt gà. Đặc biệt, có 23 gốc vi khuẩn đề kháng 3 và 4 loại kháng sinh khác nhau. Tỷ lệ vi khuẩn đề kháng với ampicillin và chloramphenicol là cao nhất (76,92%). Vi khuẩn phân lập từ thịt heo đề kháng nhiều nhất với chloramphenicol (79,17%), ampicillin (70,83%), và trimethoprim-sulfamethoxazole (66,67%); không đề kháng ciprofloxacin và cefotaxime – một kháng sinh cephalosporin thế hệ thứ 3. Trong khi đó, tỷ lệ đề kháng ciprofloxacin của các gốc vi khuẩn phân lập từ

thịt gà khá cao (60%). Kiểu hình đa đề kháng có tỷ lệ cao nhất là ampicillin + chloramphenicol + trimethoprim-sulfamethoxazole (41,03%). Kết quả này có thể phản ánh tình hình sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi định hướng kháng sinh đề kháng.

Kiểu gene đề kháng β -lactamase và quinolone của các *Salmonella* phân lập

Các kháng sinh nhóm β -lactam hiện nay là những kháng sinh được sử dụng nhiều nhất trong nhân y và thú y. Các kháng sinh β -lactam và quinolone thuộc nhóm các kháng sinh tối quan trọng dùng cho người (critically important

antimicrobials; WHO, 2017). Trong phạm vi nghiên cứu này hai phản ứng m-PCR được thực hiện trên các gốc *Salmonella* được kiểm tra sự hiện diện một số gene đề kháng nhóm β -lactam (bla_{TEM} , bla_{SHV} và bla_{OXA}) và một số gene đề

kháng quinolone nằm trên plasmid – PMQR (plasmid-mediated quinone resistance) ($qnrA$, $qnrB$ và $qnrS$). Kết quả được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6. Tỷ lệ gốc *Salmonella* có gene đề kháng kháng sinh

	Tổng số gốc vi khuẩn (n=39)		Số gốc phân lập từ thịt heo (n=24)		Số gốc phân lập từ thịt gà (n=15)	
Số gốc VK có gene đề kháng	34	87,18 %	20	83,33 %	14	93,33 %
Số gốc VK có gene bla_{TEM}	29	74,36 %	16	66,67 %	13	86,67 %
Số gốc VK có gene $qnrS$	26	66,67 %	17	70,83 %	9	60,00 %
Số gốc VK chỉ có bla_{TEM}	8	20,51 %	3	12,50 %	5	33,33 %
Số gốc VK chỉ có $qnrS$	5	12,82 %	4	16,67 %	1	6,67 %
Số gốc VK có cả bla_{TEM} và $qnrS$	21	53,85 %	13	54,17 %	8	53,33 %

Trong số các gene bla kiểm tra mã hóa các β -lactamase TEM, SHV, và OXA chỉ có gene bla_{TEM} được phát hiện. Tương tự, trong số các PMQR gene chỉ có $qnrS$ được phát hiện. Kết quả cho thấy tỷ lệ số gốc vi khuẩn mang gene đề kháng khá cao. Có 87,18% gốc vi khuẩn có

mang gene đề kháng và 53,85% có cả hai nhóm gene bla_{TEM} và $qnrS$. Các gốc *Salmonella* mang gene đề kháng được phân lập từ các mẫu thịt có nguồn gốc rải rác hết các tỉnh Đồng Nai, Long An, Tiền Giang và TP. HCM (Bảng 7).

Bảng 7. Nguồn gốc *Salmonella* có gene đề kháng kháng sinh

	Tổng số gốc vi khuẩn (n=39)	Tp Hồ Chí Minh	Đồng Nai	Long An	Tiền Giang
Số gốc VK có gene đề kháng	34	15	7	8	4
Số gốc VK có gene bla_{TEM}	29	13	6	7	3
Số gốc VK có gene $qnrS$	26	12	3	8	3
Số gốc VK chỉ có bla_{TEM}	8	3	4	0	1
Số gốc VK chỉ có $qnrS$	5	2	1	1	1
Số gốc VK có cả bla_{TEM} và $qnrS$	21	10	2	7	2

Đôi chiếu với kết quả kiểu hình đề kháng, trong số 10 gốc *Salmonella* không có gene bla_{TEM} có 9 gốc vi khuẩn có kiểu hình nhạy với ampicillin và tất cả đều nhạy với cefotaxime. Trong khi đó, tất cả 29 gốc *Salmonella* có bla_{TEM} đều đề kháng ampicillin. Có 28 trong số 29 gốc *Salmonella* gene bla_{TEM} và nhạy đối với cefotaxime. Cefotaxime là kháng sinh cephalosporin thế hệ thứ 3. Các β -lactamase thủy phân nhóm kháng sinh này phần lớn thuộc nhóm CTX-M, mã hóa bởi gene bla_{CTX-M} – không được khảo sát trong nghiên cứu này.

Trong số 26 gốc *Salmonella* có gene $qnrS$, có 9 gốc nhạy với ciprofloxacin – fluoroquinolone

duy nhất khảo sát trong nghiên cứu, 12 gốc đề kháng trung gian, và 5 đề kháng với kháng sinh này. Có 4 gốc *Salmonella* không có các PMQR gene kiểm tra (không có cả 3 gene) nhưng đề kháng đối với ciprofloxacin. Có lẽ các vi khuẩn mang gene đề kháng quinolone thuộc nhóm khác. Ở các vi khuẩn Gram âm, quinolone chủ yếu tác động lên DNA gyrase, sau đó là topoisomerase IV, ngăn cản sự sao mã của vi khuẩn (Moudgal và Kaatz, 2009). Các PMQR bảo vệ vị trí tác động của ciprofloxacin trên DNA gyrase và topoisomerase IV giúp vi khuẩn tránh tác động của kháng sinh này (Strahilevitz và ctv, 2009). Mặc dù chỉ giảm sự nhạy cảm của vi khuẩn với thuốc (low-level quinolone resistance), các

PMQR có thể làm tăng áp lực chọn lọc dẫn đến các đột biến đề kháng quinolone (đột biến gene mã hóa DNA gyrase và topoisomerase IV) làm tăng mức độ đề kháng kháng sinh nhóm này. *qnrS* và các PMQR gene nằm trên plasmid, nên có thể được truyền giữa các vi khuẩn với nhau, là nguyên nhân chủ yếu trong việc phát tán lan rộng đề kháng quinolone (Moudgal và Kaatz, 2009).

KẾT LUẬN

Tình hình tồn dư các β 2-agonist và kháng sinh có giảm so với các kết quả kiểm tra, giám sát của Chi cục Thú y TP HCM trước đây. Đây là một dấu hiệu tích cực và phản ánh việc quản lý chặt chẽ và nghiêm ngặt của các cơ quan chức năng có thể làm giảm tình hình sử dụng các hóa chất này trong chăn nuôi. Tỷ lệ mẫu thịt heo và gà vấy nhiễm vi khuẩn *Salmonella* còn khá cao, có vẻ không có cải thiện so với các khảo sát ở các năm trước đó. Do đó, vệ sinh các CSGM cần được cải thiện hơn nữa, đặc biệt là các CSGM gia cầm ở tỉnh. Kết quả khảo sát đề kháng kháng sinh cho thấy tình hình đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ các mẫu thịt heo và gà nghiêm trọng, có lan rộng ở các tỉnh/thành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Khoa học và Công nghệ, (2005). TCVN 4829:2005 (ISO 6579:2002). *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện Salmonella trên đĩa thạch*, Hà Nội.
- Bộ NN và PTNT, (2016). Thông tư số 01/2016/TT-BNNPTNT: *Sửa đổi, bổ sung một số điều của Thông tư số 57/2012/TT-BNNPTNT ngày 07/11/2012 quy định việc kiểm tra, giám sát và xử lý vi phạm các chất cấm thuộc nhóm Beta-agonist trong chăn nuôi*. Hà Nội.
- Bộ NN và PTNT, (2009). QCVN 01 - 04: 2009/BNNPTNT: *Kỹ thuật lấy và bảo quản mẫu thịt tươi từ các CSGM và kinh doanh thịt để kiểm tra vi sinh vật*, Hà Nội.
- Bộ Y tế, (2013). Thông tư số 24/2013/TT-BYT: *Ban hành “Quy định mức giới hạn tối đa dư lượng thuốc thú y trong thực phẩm”*, Hà Nội.
- Chi cục Thú y TP HCM, (2015). Báo cáo số 1108/BC-CCTY: *Kết quả công tác an toàn thực phẩm nguồn gốc động vật giai đoạn 2011 – 2015 và đề xuất kế hoạch giai đoạn 2016 – 2020*, Thành phố Hồ Chí Minh.
- Chữ Văn Tuất, Trần Thị Mai Thảo, Vũ Dũng Minh, Phạm Thị Trang, Khúc Thị San, Trần Thị Hà, Nguyễn Trường Linh, Nguyễn Thị Kim Chung, Đỗ Văn Tĩnh, và Nguyễn Thị Thu Hằng, (2016). Nghiên cứu tồn dư một số kháng sinh và beta-agonist trong thịt tươi (lợn, gà) và nước tiểu lợn tại lò mổ ở một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. *Khoa học kỹ thuật thú y* – Tập XXIII – Số 5 – 2016.
- Clinical Laboratory Standards Institute, (2015). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement, M100-S25, 2015. ISBN 1-56238-989-0.
- Cục Quản lý Chất lượng Nông Lâm Thủy sản, (2014). Quyết định số 09/QĐ-QLCL, Chi định đối với phòng thử nghiệm chất lượng nông lâm thủy sản thực phẩm, ngày 09/01/2014, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.
- EU, (2009). Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin, 22 December 2009. 2010R0037 — EN — 12.12.2010 — 002.001.
- Hồ Thị Kim Hoa, Huỳnh Thị Xuân Thắm, Cao Nhật Dung, và Lê Hữu Ngọc. (2013). Phát hiện sự hiện diện một số gen nhóm β -lactamase phổ rộng ở vi khuẩn trong nước thải chăn nuôi. *Tạp chí KHKT Thú y XX*, Số 3/2013: 54-61.
- Lê Hữu Ngọc, Đỗ Thanh Thảo, Trần Hoàng My, và Hồ Thị Kim Hoa, (2016). Sự hiện diện một số gene đề kháng beta-lactam trong sữa bò tươi ở Tp Hồ Chí Minh. *Tạp chí KHKT Thú y XXIII*, Số 2/2016: 52-57.
- Moudgal V. V. and Kaatz G. W. (2009). Chapter 16 - Fluoroquinolone Resistance in Bacteria. In: Mayers D. L. (Ed.), *Antimicrobial Drug Resistance, Volume 1, Mechanisms of Drug Resistance*. Human Press. Pages 195 – 2006.

- Nguyễn Thanh Long, (2015). *Xác định sự hiện diện một số serotype và gene độc lực của vi khuẩn Salmonella phân lập từ thịt tươi trên địa bàn Thành phố Hồ Chí Minh*. Luận văn Thạc sỹ Công nghệ sinh học. Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.
- Strahilevitz J, Jacoby G. A., Hooper D. C., and Robicsek A. (2009). Plasmid-Mediated Quinolone Resistance: a Multifaceted Threat. *Clinical Microbiological Review* 22(4): 664 – 689.
- WHO (World Health Organization), (2017). *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine, 5th Revision 2017*, Geneva, Switzerland. ISBN 978-92-4-151222-0.