

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Thành Trung

**NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH VÀ PHÂN TÍCH
MỘT SỐ GEN CHỨC NĂNG TRONG *Salmonella* spp.
PHÂN LẬP TỪ THỊT GIA CẦM BẰNG KỸ THUẬT
GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ VI SINH VẬT HỌC

Hà Nội – 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Nguyễn Thành Trung

**NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH VÀ PHÂN TÍCH
MỘT SỐ GEN CHỨC NĂNG TRONG *Salmonella* spp.
PHÂN LẬP TỪ THỊT GIA CÀM BẰNG KỸ THUẬT
GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ VI SINH VẬT HỌC

Mã số: 9 42 01 07

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS.TS. Phạm Xuân Đà
2. TS. Trần Thị Thanh Huyền

Hà Nội – 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: "*Nghiên cứu xác định và phân tích một số gen chức năng trong Salmonella spp. phân lập từ thịt gia cầm bằng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới*" là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của tập thể hướng dẫn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày 10 tháng 11 năm 2023

Tác giả luận án

(Ký và ghi rõ họ tên)



Nguyễn Thành Trung

LỜI CẢM ƠN

Luận án Tiến sĩ được thực hiện tại Khoa Vi sinh và Biến đổi gen, Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia dưới sự hướng dẫn của PGS. TS. Phạm Xuân Đà - nguyên Viện Trưởng Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia và TS. Trần Thị Thanh Huyền - nguyên cán bộ Viện Công nghệ sinh học, Học Viện Khoa học và Công nghệ, Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Trước tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Phạm Xuân Đà và TS. Trần Thị Thanh Huyền đã tạo điều kiện giúp đỡ, hướng dẫn cho tôi trong quá trình thực hiện nghiên cứu, công bố các kết quả nghiên cứu và hoàn thành Luận án Tiến sĩ.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến Lãnh đạo Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia, tập thể cán bộ Khoa Vi sinh và Biến đổi gen của Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia đã tạo mọi điều kiện thuận lợi, hỗ trợ tôi trong suốt quá trình thực hiện Luận án tiến sĩ.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới TS. Vũ Trung Nghĩa - Viện Karolinska, Solna, Stockholm, Thụy Điển, TS. Trần Trung Nam - Viện Công nghệ sinh học, TS. Nguyễn Huy Hoàng-Viện nghiên cứu hệ gen, đã tận tình giúp đỡ tôi trong quá trình phân tích dữ liệu và công bố kết quả nghiên cứu của Luận án.

Qua đây, tôi cũng xin gửi lời cảm ơn đến Ban Lãnh đạo, phòng Đào tạo, các phòng chức năng, các giảng viên của Học Viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo mọi điều kiện thuận lợi, truyền đạt kiến thức, kinh nghiệm cho tôi để luận án được hoàn thành.

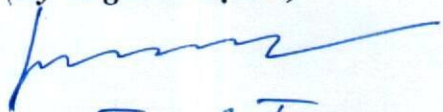
Cuối cùng và vô cùng quan trọng, tôi xin được gửi lời cảm ơn sâu sắc đến gia đình thân yêu của tôi, cảm ơn bạn bè những người đã luôn sát cánh bên tôi, chia sẻ và tạo động lực cho tôi trong suốt quá trình thực hiện Luận án.

Một lần nữa, tôi xin chân thành cảm ơn!

Hà Nội, ngày 10 tháng 11 năm 2023

Tác giả luận án

(Ký và ghi rõ họ tên)


Nguyễn Thành Trung

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT.....	vi
DANH MỤC CÁC BẢNG	vi
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ	vii
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	5
1.1. Đặc điểm sinh học của <i>Salmonella</i>	5
1.1.1. Một số đặc điểm chung của <i>Salmonella</i>	5
1.1.2. Đặc điểm hình thái	6
1.1.3. Tính chất nuôi cấy	7
1.1.4. Sức đề kháng của <i>Salmonella</i>	8
1.1.5. Phân loại của <i>Salmonella</i>	8
1.1.6. Khả năng gây bệnh của <i>Salmonella</i>	9
1.1.7. Cấu trúc hệ gen của <i>Salmonella</i>	10
1.1.8. Plasmid	12
1.2. Tình hình nhiễm, kháng kháng sinh, kháng chất tẩy rửa ở <i>Salmonella</i> .	13
1.2.1. Tình hình nhiễm và kháng kháng sinh trên thế giới.....	13
1.2.2. Tình hình nhiễm và kháng kháng sinh tại Việt Nam	20
1.2.3. Tình hình kháng chất tẩy rửa ở <i>Salmonella</i>	21
1.3. Cơ chế kháng và các họ gen liên quan đến tính kháng ở <i>Salmonella</i>.....	23
1.3.1 Cơ chế kháng kháng sinh ở <i>Salmonella</i> và họ kháng sinh Beta lactam	23
1.3.2. Gen độc lực, đảo SPI ở <i>Salmonella</i>	28
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG	
PHÁP NGHIÊN CỨU.....	33
2.1. Đối tượng, địa điểm, thời gian nghiên cứu.....	33
2.1.1. Đối tượng.....	33
2.1.2. Địa điểm	33
2.1.3. Thời gian thực hiện	33

2.2. Môi trường, hóa chất, dụng cụ thí nghiệm	33
2.2.1. Môi trường nuôi cấy	33
2.2.2. Chủng chuẩn.....	34
2.2.3. Kháng huyết thanh <i>Salmonella</i>	34
2.2.4. Kháng sinh.....	34
2.2.5. Dụng cụ, trang thiết bị máy móc phòng thí nghiệm.	34
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	36
2.3.1. Phương pháp lấy mẫu.....	36
2.3.2. Phương pháp phân lập và khẳng định <i>Salmonella</i> spp.....	39
2.3.3. Kỹ thuật MALDI – TOF định danh vi sinh vật.....	40
2.3.4. Phương pháp xác định khả năng miễn cảm với kháng sinh	41
2.3.5. Xác định <i>Salmonella</i> sinh enzym β -lactamase.....	43
2.3.6. Giải trình tự hệ gen của các chủng <i>Salmonella</i> đã được phân lập	44
2.3.7. Phân tích kết quả giải trình tự hệ gen các chủng <i>Salmonella</i>	49
2.3.8. Phương pháp xác định MIC của chất tẩy rửa và gen mã hóa khả năng kháng chất tẩy rửa	51
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....	53
3.1. Xác định tỉ lệ nhiễm <i>Salmonella</i> spp. trong thịt gia cầm (gà, vịt và ngan) thu thập tại các chợ ở Hà Nội.....	53
3.2. Đánh giá mức độ kháng kháng sinh, chất tẩy rửa của các chủng <i>Salmonella</i> spp. được phân lập từ thịt gà, vịt và ngan.....	58
3.2.1. Sự nhạy cảm kháng kháng sinh của các chủng <i>Salmonella</i> phân lập từ gà ...	69
3.2.2. Sự nhạy cảm kháng sinh của các chủng <i>Salmonella</i> phân lập từ vịt.....	69
3.2.3. Sự nhạy cảm kháng sinh của các chủng <i>Salmonella</i> phân lập từ ngan	69
3.2.4. Kiểu hình kháng kháng sinh của <i>Salmonella</i> phân lập từ gà, vịt và ngan	70
3.2.5. Đánh giá khả năng kháng chất tẩy rửa bề mặt của một số chủng <i>Salmonella</i> spp. đa kháng kháng sinh	73
3.3. Kết quả phân tích gen kháng kháng sinh từ một số chủng <i>Salmonella</i> phân lập	84
3.3.1. Đặc điểm hệ gen <i>Salmonella</i>	84
3.3.2. Kết quả xác định tuýp huyết thanh và MLST	88

3.3.3. Kết quả gen kháng kháng sinh	92
3.3.4. Nhóm gen liên kết	103
3.3.5. Kết quả phân tích hệ gen về đơn vị sao chép của plasmid, gen độc và các SPI	111
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	120
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ	121
TÀI LIỆU THAM KHẢO	122
PHỤ LỤC	147

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Viết đầy đủ	Tên tiếng việt
AM	Ampicillin	Kháng sinh ampicillin
AMR	Antimicrobial resistance	kháng thuốc kháng sinh
BGS	Brilliant green Sulfa agar	Thạch BGS
BHI	Brain heart Infusion Broth	Canh thang não tim
BKC	Benzalkonium chloride	
BPW	Buffered Peptone Water	Đệm pepton
C	Chloramphenicol	Kháng sinh chloramphenicol
C63PI	The pathogenicity island of centisome 63	Đảo gây bệnh C63
CAZ	Ceftazidime	Kháng sinh ceftazidime
CDC	Centers for Disease Control and Prevention	Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa dịch bệnh
CI	Confidence interval	Khoảng tin cậy
CIP	Ciprofloxacin	Kháng sinh ciprofloxacin
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute	Viện Tiêu chuẩn xét nghiệm y học
Contig	Contiguous	Một tập hợp các đoạn ADN được cắt từ một trình tự và có các trình tự phủ vào nhau

CPC	Cetylpyridinium chloride	
CRE	Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae	Vi khuẩn đường ruột kháng kháng sinh Carbapenem
CRO	Ceftriaxone	Kháng sinh Ceftriaxone
CS54	Centisome 54	Nhân CS54
CTX	Cefotaxime	Kháng sinh Cefotaxime
CXM	Cefuroxime	Kháng sinh Cefuroxime
DNA	Deoxyribonucleic Acid	Axit đêôxiribônuclêic
EFSA	The European Food Safety Authority	Cơ quan An toàn thực phẩm Châu Âu
ERY	Erythromycin	Kháng sinh Erythromycin
ESBL	Extended spectrum beta lactamase	Beta-lactamase phổ mở rộng
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing	Ủy ban Châu Âu về Thử nghiệm tính nhạy cảm với Kháng sinh
FOX	Cefoxitin	Kháng sinh Cefoxitin
FSIS	The Food Safety and Inspection Service	Cơ quan Thanh tra và An toàn Thực phẩm
GI	Genomic Island	Đảo gen
GN	Gentamycin	Kháng sinh gentamycin

HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point Systems	Hệ thống phân tích mối nguy và kiểm soát điểm tới hạn
I	Intermediate	Trung gian
KSD		Kháng sinh đồ
LCS	Longest Contig Size	Độ dài contig dài nhất
LIA	Lysine Ion agar	Thạch Lysin sắt
LPS	Lipopolysaccharide	Lớp lipopolysaccharid
NARMS	National Antimicrobial Resistance Monitoring System	Hệ thống giám sát kháng kháng sinh quốc gia
MD	Multidrug	Đa kháng thuốc
MDR	Multidrug Resistance	Đa kháng kháng sinh
MIC	Minimum inhibitory concentration	Nồng độ ức chế thấp nhất
MLST	Multilocus sequence typing	Định tuýp dựa vào trình tự của nhiều locus gen
NARMS	The National Antimicrobial Resistance Monitoring System	Hệ thống giám sát kháng kháng sinh ở Mỹ
OMP	Outer Membrane Protein	Protein màng ngoài
PBP	Penicillin-binding protein	Protein gắn penicillin
PLAD	Provincial-level administrative divisions	Cục Quản lý cấp tỉnh về thực phẩm của Trung quốc

ppm	Parts per million	Đơn vị đo nồng độ: phần triệu
QAC	Quaternary ammonium compounds	Chất tẩy rửa chứa gốc Ammonium bậc 4
R	Resistance	Đề kháng
RNA	Ribonucleic Acid	Axit ribônuclêic
RV	Rappaport Vassiliadis Broth	Canh thanh RV
S	Susceptible	Nhạy cảm
SCS	Shortest Contig Size	Độ dài contig ngắn nhất
SGI	Salmonella gene island	Đảo gen Salmonella
SPI	<i>Salmonella</i> pathogenic island	Đảo mầm bệnh của <i>Salmonella</i>
ST	Sequence type	Định tuýp bằng giải trình tự
STR	Streptomycin	Kháng sinh streptomycin
SXT	Sulfamethoxazol/trimetoprim	Kháng sinh sulfamethoxazol/trimetoprim
TE	Tetracycline	Kháng sinh tetracycline
TSA	Tryptone soya agar	Thạch TSA
TSI	Triple Sugar Ion agar	Thạch ba đường sắt
TT broth	Tetrathionate Broth	Canh thanh TT

USDA	The United States Department of Agriculture	Bộ nông nghiệp Mỹ
USDA MLG	The United States Department of Agriculture Microbiology Laboratory Guidebook	Bộ Nông nghiệp Mỹ - Sách hướng dẫn phòng thí nghiệm vi sinh
wgMLST	Whole genome MLST	MLST dựa vào trình tự của hệ gen
WGS	Whole genome sequence	Giải trình tự thể hệ mới
XLD	Xylose Lysine Deoxycholate agar	Thạch XLD

DANH MỤC CÁC BẢNG

<i>Bảng 1.1.</i>	Tỷ lệ nhiễm <i>Salmonella</i> spp. trong các sản phẩm thịt gà và gia cầm ở một số nước Châu Á	14
<i>Bảng 1.2.</i>	Sự phân bố các tuýp huyết thanh <i>Salmonella</i> ở gia cầm.....	16
<i>Bảng 1.3.</i>	Sự phân bố kháng kháng sinh ở gia cầm các nước châu Á	17
<i>Bảng 1.4.</i>	Kiểu hình và gen liên quan kháng kháng sinh của plasmid IncA/C trong các tuýp huyết thanh <i>Salmonella</i>	30
<i>Bảng 2.1.</i>	Kế hoạch mua mẫu	36
<i>Bảng 2.2.</i>	Danh sách chợ	37
<i>Bảng 2.3.</i>	Kháng sinh và điểm đọc kháng sinh đồ.....	42
<i>Bảng 2.4.</i>	Vi khuẩn sinh enzyme ESBL	44
<i>Bảng 2.5.</i>	Vi khuẩn sinh enzyme AmpC β -lactamase	44
<i>Bảng 2.6.</i>	Hóa chất của Qubit kit.....	45
<i>Bảng 3.1.</i>	Kết quả phân tích <i>Salmonella</i> trong thịt gà, vịt và ngan theo quận tại thành phố Hà Nội năm 2019.....	54
<i>Bảng 3.2.</i>	Bảng kết quả độ nhạy kháng sinh.....	62
<i>Bảng 3.3.</i>	Kết quả phân tích tính kháng chất tẩy rửa.....	75
<i>Bảng 3.4.</i>	Kiểu hình kháng kháng sinh của các chủng giải trình tự hệ gen.....	84
<i>Bảng 3.5.</i>	Đặc điểm trình tự của hệ gen.....	85
<i>Bảng 3.6.</i>	Bảng tổng hợp các phân nhóm gen	86
<i>Bảng 3.7.</i>	Bảng phân bố tuýp huyết thanh và phân nhóm của 26 chủng <i>Salmonella</i>	88
<i>Bảng 3.8.</i>	Tỉ lệ các tuýp huyết thanh	91
<i>Bảng 3.9.</i>	Phân bố các gen kháng kháng sinh của chủng giải trình tự	93
<i>Bảng 3.10.</i>	Sự phân bố của các nhóm gen kháng kháng sinh trên cùng contig.....	103
<i>Bảng 3.11.</i>	Sự phân bố Plasmid đơn vị sao chép, SPI và VFs trong 26 chủng <i>Salmonella</i> giải trình tự	111

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1.1.	<i>Salmonella</i> spp.....	6
Hình 1.2.	Biểu diễn vòng tròn của hệ gen <i>S. Typhi</i> ..	10
Hình 1.3.	Dữ liệu BLAST của 35 hệ gen <i>S. Enterica</i> .	11
Hình 1.4.	Các cơ chế kháng kháng sinh ở <i>Salmonella</i> spp.	24
Hình 1.5.	So sánh các plasmid trong các chủng CTX-M-65.....	29
Hình 2.1.	Nguyên lý cơ bản định danh vi khuẩn bằng hệ thống VITEK MS	41
Hình 2.2.	Các bước giải trình tự hệ gen sử dụng hệ thống Illumina Miseq	49
Hình 2.3.	Sơ đồ phân tích hệ gen <i>Salmonella</i>	49
Hình 2.4.	Sơ đồ nghiên cứu tổng quát trong luận án.....	52
Hình 3.1.	Tỉ lệ nhiễm <i>Salmonella</i> trên gia cầm gồm: gà, vịt và ngan năm 2019....	55
Hình 3.2.	Kháng sinh đồ trên chủng đối chiếu chủng <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	59
Hình 3.3.	Kháng sinh đồ trên chủng S018 kháng hoàn toàn kháng sinh cefazolin, cefutoxime, cetriaxone, cefotaxime, ceftazidime và nhạy cảm với cefoxitin.	60
Hình 3.4.	Kháng sinh đồ trên S035 chủng <i>Salmonella</i>	60
Hình 3.5.	Sự nhạy cảm từng loại kháng sinh của chủng <i>Salmonella</i> phân lập từ gà ..	65
Hình 3.6.	Sự nhạy cảm từng loại kháng sinh của chủng <i>Salmonella</i> phân lập từ vịt..	66
Hình 3.7.	Sự nhạy cảm từng loại kháng sinh của chủng <i>Salmonella</i> phân lập từ ngan	67
Hình 3.8.	Sự nhạy cảm từng loại kháng sinh của chủng <i>Salmonella</i> phân lập từ gà, vịt và ngan	68
Hình 3.9.	Kết quả PCR phát hiện gen <i>quaE</i> trên 10 chủng <i>Salmonella</i>	74
Hình 3.10.	Kết quả PCR phát hiện gen <i>quaEdelta</i> trên 16 chủng <i>Salmonella</i>	74
Hình 3.11.	Cây phát sinh chủng loại <i>Salmonella</i>	90
Hình 3.12.	Tỉ lệ các tuýp huyết thanh kháng kháng sinh	91
Hình 3.13.	Plasmid IncA/C	114
Hình 3.14.	Plasmid InHI2.....	115

1 MỞ ĐẦU

Salmonella được Tổ chức Y tế thế giới -WHO coi là một trong những mầm bệnh nguy hiểm hàng đầu đối với sức khỏe cộng đồng. Hàng năm, tại Mỹ có khoảng 40 người chết và 8.000 trường hợp bị bệnh do nhiễm *Salmonella* [1]. Tại Châu Âu, báo cáo của Cơ quan An toàn thực phẩm Châu Âu (EFSA) cho thấy có khoảng 100.000 trường hợp bị bệnh do nhiễm *Salmonella* mỗi năm, đồng thời có khoảng 700 đến 1.500 các vụ ngộ độc xảy ra trong giai đoạn năm 2016 đến năm 2018 [2]. Chi *Salmonella* bao gồm hai loài *Salmonella enterica* và *Salmonella bongori*. Loài *S. enterica* là tác nhân phổ biến nhất gây ngộ độc thực phẩm trên người. *S. enterica* được chia thành 6 phân loài với hơn 2600 tuýp huyết thanh được ghi nhận cho tới nay. Hầu hết các vụ ngộ độc do *Salmonella* đều thuộc các tuýp huyết thanh thuộc phân loài *S. enterica* [3]. Tính đến thời điểm hiện tại, có 1531 tuýp huyết thanh được xác định thuộc phân loài *S. enterica*, trong đó hai tuýp huyết thanh *S. enterica* subsp. Typhimurium và *S. enterica* subsp. Enteritidis được phân lập trong hầu hết các trường hợp nhiễm khuẩn *Salmonella* [3].

Theo thống kê trước đây, tỉ lệ các mẫu thực phẩm nhiễm *Salmonella* qua đường ăn uống lên tới 95% [4]. Một phần nguyên nhân là các nhóm sản phẩm thực phẩm có khả năng bị nhiễm khuẩn *Salmonella* rất đa dạng, từ thực phẩm tươi sống tới thực phẩm chế biến, đồ ăn liền, thức ăn đóng hộp, Theo CDC Hoa Kỳ (Centers for Disease Control and Prevention – CDC), thịt gia cầm và trứng là nguồn chính bị nhiễm *Salmonella*, chiếm trên 50% số mẫu thực phẩm nhiễm *Salmonella* tại Hoa Kỳ [5]. Hiện nay, nước ta chưa có chương trình giám sát *Salmonella* trên gia cầm ở quy mô quốc gia. Các nghiên cứu chỉ mang tính chất nhỏ lẻ, thực hiện tại các vùng, miền và chưa có tính phản ánh đại diện. Các dữ liệu giám sát an toàn thực phẩm ở quy mô nhỏ cho thấy 48,7% mẫu gà thu thập được ở nhiều thành phố trên cả nước [6] và 49,62% mẫu gà ở thành phố Hồ Chí Minh bị dương tính với khuẩn *Salmonella* [7].

Các nhà khoa học cho đến nay vẫn chưa hiểu hoàn toàn thấu đáo về cơ chế lây truyền của *Salmonella* kháng kháng sinh giữa người, động vật và các yếu tố môi trường. Sự lây nhiễm của *Salmonella* kháng kháng sinh giữa con người, động vật hay môi trường được nghiên cứu trong nhiều công trình từ trước đây sử dụng các phương

pháp sinh học phân tử như điện di gel trường xung [8] hay multi-locus sequence typing (MLST) [9]. Tuy nhiên, các phương pháp trên vẫn tồn tại những hạn chế về khả năng phân biệt các khuẩn lạc hay các chủng *Salmonella* có quan hệ gần gũi, đặc biệt trong các trường hợp điều tra ngộ độc hay phân biệt các tuýp huyết thanh có nguồn gốc gần nhau. Nhằm khắc phục điểm yếu đó, một phương pháp nghiên cứu hiện đại và ưu việt hơn hẳn là giải trình tự hệ gen (whole genome sequencing – WGS) được đưa vào sử dụng trong các nghiên cứu dịch tễ học phân tử của các vi sinh vật gây bệnh mang gen kháng kháng sinh [10]. Một nghiên cứu ứng dụng WGS tại Đan Mạch báo cáo kết quả sử dụng các phương pháp single nucleotide polymorphisms (SNP), pangenome, k-mer và cây phát sinh loài cho hiệu quả cao hơn trong việc phân loại chủng và đánh giá tương quan giữa các chủng phân lập được ở các vụ ngộ độc thực phẩm gây ra do *S. Typhimurium* [11]. Ở Việt Nam, việc ứng dụng WGS cho các nghiên cứu chuyên sâu nhằm phân tuýp huyết thanh và phân tích chức năng các gen liên quan đến kháng kháng sinh, gen độc lực, sự tồn tại các plasmid và các đảo SPI của các chủng vi sinh gây bệnh, đặc biệt là các nghiên cứu đánh giá về *Salmonella* trong nước còn chưa phổ biến [12]. Xuất phát từ những luận giải trên, luận án được thực hiện với tên đề tài “*Nghiên cứu xác định và phân tích một số gen chức năng trong Salmonella spp. phân lập từ thịt gia cầm bằng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới*” đã được thực hiện với mục tiêu và nội dung nghiên cứu cụ thể như sau:

MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

Đánh giá tỉ lệ nhiễm, mức độ kháng kháng sinh, kháng chất tẩy rửa của *Salmonella* spp. phân lập từ thịt gia cầm (gà, vịt và ngan) thu thập tại thành phố Hà Nội;

Phân tích, đánh giá các gen liên quan đến tính kháng kháng sinh, yếu tố di truyền vận động, yếu tố gây độc của các chủng *Salmonella* spp.

NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

1. Xác định tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. trong thịt gia cầm (gà, vịt và ngan) thu thập tại các chợ ở thành phố Hà Nội năm 2019;

2. Đánh giá mức độ kháng kháng sinh, kháng chất tẩy rửa của các chủng *Salmonella* spp. được phân lập từ thịt gia cầm (gà, vịt và ngan);

3. Xác định các gen kháng kháng sinh, yếu tố gây độc, sự tồn tại các plasmid của một số chủng *Salmonella* spp. đa kháng kháng sinh nhờ kỹ thuật phân tích hệ gen.

PHẠM VI NGHIÊN CỨU

Luận án nghiên cứu về các chủng *Salmonella* spp. lưu hành trong 182 mẫu thịt gia cầm (gà, vịt và ngan) được thu thập tại 70 chợ tại thành phố Hà Nội.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Xác định được tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. từ mẫu thịt vịt, thịt ngan; và xác định được mối liên quan giữa sự có mặt gen kháng kháng sinh, kháng chất tẩy rửa của các chủng *Salmonella* phân lập từ gia cầm (gà, vịt và ngan) tại thành phố Hà Nội năm 2019

2. Xác định được yếu tố di truyền vận động IVSs3, ISEc57, ISEc59, IS102, IS26 mang một số gen kháng kháng sinh floR, *qnrS1*, *bla*_{CTX-M-55}, *bla*_{CTX-M-65}, *aac* (3), *aac* (4).

Ý NGHĨA KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN CỦA LUẬN ÁN

1. Ý nghĩa khoa học:

- Cung cấp được dữ liệu khoa học về tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. trên từng đối tượng gia cầm: gà, vịt và ngan tại thành phố Hà Nội năm 2019;
- Cung cấp đặc điểm kháng kháng sinh về kiểu hình và kiểu gen các chủng *Salmonella* spp. phân lập từ gia cầm (gà, vịt và ngan) tại thành phố Hà Nội;
- Cung cấp dữ liệu về khả năng kháng với chất tẩy rửa có hoạt tính hoạt động bề mặt;
- Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học cho các nghiên cứu về đánh giá nguy cơ các chủng *Salmonella* spp. trong gia cầm nói riêng và các vi khuẩn truyền qua thực phẩm nói chung.

2. Ý nghĩa thực tiễn:

- Luận án đã đánh giá được tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. trên gà, vịt và ngan nguyên con tại thành phố Hà Nội và mức độ kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* spp. lưu hành trong gia cầm về cả kiểu hình và kiểu gen.
- Hơn nữa, kết quả của nghiên cứu giúp hiểu rõ hơn về việc kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* spp. để từ đó góp phần nâng cao nhận thức, cách thức sử dụng kháng sinh và chất tẩy rửa trong chăn nuôi gia cầm, đồng thời hỗ trợ tích cực công tác đảm bảo an toàn thực phẩm nói chung.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Đặc điểm sinh học của *Salmonella*

1.1.1. Một số đặc điểm chung của *Salmonella*

Các loài *Salmonella* gây bệnh là vấn đề nghiêm trọng của ngành công nghiệp thực phẩm vì chúng có thể tồn tại và phát triển ở điều kiện sống khá khắc nghiệt từ 6 °C đến 43 °C, giá trị pH từ 4,0 đến 9,5 và giá trị hoạt độ nước thấp tới 0,94 [13]. Do vậy, việc xử lý chúng là không dễ dàng. Chi *Salmonella* bao gồm hai loài *Salmonella enterica* và *Salmonella bongori*. Loài *S. enterica* là tác nhân phổ biến nhất gây ngộ độc thực phẩm trên người và động vật. *S. enterica* là một vi khuẩn kỵ khí tùy ý, Gram âm, hình que, không sinh bào tử [14]. Phân động vật là nguồn chứa *S. Enterica* phổ biến nhất, dẫn đến ô nhiễm nước và cây trồng [15].

Công thức kháng nguyên được sử dụng để phân loại *S. enterica*, tuy nhiên, các chủng thường được gọi bằng tên tuýp huyết thanh. Có sáu phân loài của *S. enterica* gồm *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* IIIb, *houtenae* (IV) và *indica* (IV). *S. bongori* trước đây được gọi là phân loài V, nhưng hiện được coi là một loài [16]. Phân loài *S. enterica subenterica* (I) chứa phần lớn các tuýp huyết thanh là mầm bệnh ở người [17]. *Salmonella* spp. lây nhiễm sang người thông qua các phương thức khác nhau, chẳng hạn như tiếp xúc với động vật mang mầm bệnh và tiêu thụ thực phẩm hoặc nước bị ô nhiễm. Ước tính 94% ca nhiễm *S. enterica* không thương hàn ở Hoa Kỳ là do thực phẩm [18]. Salmonellosis biểu hiện các triệu chứng viêm dạ dày ruột điển hình và thời gian ủ bệnh có thể từ 6 đến 48 giờ [16]. Liều lây nhiễm chưa được thiết lập, nhưng bệnh nói chung là tự khỏi. Nhiễm khuẩn *Salmonella* xâm lấn có thể xảy ra, đặc biệt ở những người có nguy cơ cao như trẻ em, người bị suy giảm miễn dịch và người già. Điều trị bằng kháng sinh đối với bệnh nhiễm khuẩn *Salmonella* chỉ dành cho những trường hợp nặng hoặc những trường hợp dễ bị biến chứng [19].

Theo Quinn và cộng sự, *Salmonella enterica* gồm 6 phân loài, mỗi phân loài có khả năng sử dụng một loại đường nhất định và thường không thay đổi. Phân loài *S. enterica* subsp. *enterica* phần lớn tồn tại và gây bệnh cho động vật đẳng nhiệt. Chúng lên men và sinh ra khí trên môi trường chứa đường Glucoza, Mannit, Mantoza,

Galactosa, Dulcitol, Arabonoza hay Sorbitol. Tuy nhiên trong phân loài *S. enterica* hầu hết không lên men Lactoza hay Saccaroza. Đa số các vi khuẩn giống *Salmonella* không hóa lỏng gelatin, không phân giải urê, không sản sinh Indol (indol âm tính).



Hình 1.1. *Salmonella* spp. [20]

1.1.2. Đặc điểm hình thái

Theo Bergeys Manual [21], *Salmonella* là những hình que, hai bao đầu tròn, kích thước khoảng 0,4-0,6 μm x 1,0-3,0 μm , Gram âm, không hình thành bào tử. Đa số các chủng *Salmonella* có khoảng 7-12 chiếc lông roi xung quanh thân trừ tuýp huyết thành *S. Gallinarum-pullorum* không có lông roi. Lông roi giúp chúng chuyển động (di động) trong môi trường sống. Lông roi có cấu trúc dạng tròn, dài, điểm gốc từ màng tế bào chất. Với cấu trúc từ các sợi protein hình xoắn nên các lông roi thực hiện được việc co giãn và di động. Lông roi có tính kháng nguyên đặc trưng, chúng có nhóm gen mã hóa đặc trưng quy định. Hơn nữa, bao quanh thân ngoài của *Salmonella* có các lông dạng nhỏ hơn, còn gọi là Fimbriae hay Pili -lông nhung. Lông nhung với kích thước khoảng 0,01- 0,03 x 1,0 μm , có khoảng 250 - 400 lông nhung/01

vi khuẩn, chúng vươn thẳng ra xung quanh bề mặt tế bào. Lông nhung là dạng protein và có tính kháng nguyên đặc trưng - kháng nguyên Vi [22]. Fimbriae giúp tế bào vi khuẩn có khả năng bám dính lên bề mặt (adhesion) thành ruột (biểu mô ruột) và xâm nhập vào lớp niêm mạc.

1.1.3. Tính chất nuôi cấy

Theo ISO 6579 và USDA MLG, *Salmonella* là vi khuẩn hiếu khí tùy tiện, do vậy chúng dễ dàng nuôi trong phòng thí nghiệm. Chúng có thể sinh trưởng ở khoảng nhiệt độ rộng từ 06 °C đến 43 °C, khoảng nhiệt độ tối ưu phân lập là 35 - 37 °C. Thực hiện cấy ở 43 °C giúp loại trừ các vi khuẩn nhiều (vi khuẩn nền) trong khi các chủng *Salmonella* vẫn phát triển tốt. *Salmonella* sinh trưởng trong dải pH từ 6 đến 9, pH tối ưu cho sự phát triển là 7,6. Khi tăng sinh vi khuẩn trong canh thang đệm peptone (Buffered Peptone Water) và canh thang Rappaport Vassiliadis, canh thang tăng sinh sẽ vẫn đục do sự phát triển của vi khuẩn nhẹ, thời gian nuôi cấy khoảng 18 đến 24 giờ toàn bộ huyền phù sẽ đục đều, trên bề mặt canh thang đệm peptone có lớp màng mỏng, phần đáy ống nghiệm RV có cặn. Hiện nay, trên thị trường có rất nhiều loại môi trường tăng sinh (canh thang tăng sinh) chọn lọc được các nhà khoa học sử dụng trong nghiên cứu và phân lập *Salmonella* từ mẫu như môi trường thạch BGS, thạch XLT4 và thạch MacConkey. Hình thái các chủng *Salmonella* khoảng 24h/35 °C: khuẩn lạc dạng tròn, lồi, bóng (dạng S), với màu hồng trên thạch BGS, màu đỏ với tâm đen trên XLT4. Trên thạch XLT4 hoặc thạch XLD hoặc thạch SS hoặc thạch HE sẽ hình thành khuẩn lạc tâm đen do hình thành H₂S. Trên thạch phát màu (CHROM agar) của hãng Merck/Oxoid/3M, các chủng *Salmonella* nuôi tại điều kiện 24h/37 °C có hình thái khuẩn dạng S với màu tím hồng. Khi thử nghiệm hóa sinh sử dụng thạch ba đường TSI -Triple Sugar Iron, chủng *Salmonella* điển hình (thuộc *S. enterica*) hình thành môi trường bazơ trên phần nghiêng của thạch hình thành màu đỏ (pH=7,3), phần đáy của ống nghiệm hình thành màu vàng do môi trường chuyển trạng thái acid (pH=6,8) vì vi khuẩn chỉ sử dụng đường làm cơ chất lên men (lên men đường glucose). Dọc theo que cấy và khuếch tán ở giữa ống nghiệm có màu đen do việc sinh ra H₂S. Nếu tiếp tục nuôi cấy thì phần màu đen sẽ khuếch tán toàn bộ ống thạch thì việc quan sát màu do sự lên men hình thành acid sẽ không rõ màu vàng hoặc màu vàng bị mờ đi, thậm chí làm mất màu

vàng.

1.1.4. Sức đề kháng của *Salmonella*

Salmonella không thể tồn tại ở nhiệt độ cao cũng như chất tẩy rửa mạnh. Tại điều kiện 50 °C duy trì trong một giờ hoặc 70 °C duy trì trong 20 phút, 100 °C duy trì 2 phút hoặc dưới điều kiện ánh sáng mặt trời chiếu thẳng trong 05 giờ vi khuẩn có thể bị tiêu diệt. Các chất tẩy rửa thông thường có khả năng loại bỏ vi khuẩn: dung dịch hỗn hợp Phenol 5% và Formon (tỉ lệ 1:500) sẽ loại được vi khuẩn trong 15- 20 phút. Tuy nhiên, các chủng *Salmonella* có thể sống sót lâu dài trong điều kiện lạnh, vi khuẩn có thể sống sót trong bột thịt tới 08 tháng [23]. Một điều đặc biệt, trong các dạng nước tĩnh (nước tù đọng không lưu thông), hoặc trên cánh đồng trồng cỏ với điều kiện ẩm và không bị chiếu sáng trực tiếp tuýp huyết thanh *S. Typhimurium* có thể sống sót trên bảy tháng. Trong thân động vật chết, các chủng *Salmonella* có tồn tại trên một trăm ngày, đối với thịt ướp muối chúng có thể tồn tại từ 6 - 8 tháng [24].

1.1.5. Phân loại của *Salmonella*

Theo sơ đồ phân loại của White–Kauffmann–Le Minor, *Salmonella* bao gồm hơn 2600 tuýp huyết thanh, trong đó hầu hết (khoảng 1600 tuýp huyết thanh) trong số chúng thuộc phân loài *enterica* [25]. Mặc dù nhiều tuýp huyết thanh (hơn 200) đã được xác định là tác nhân có khả năng gây bệnh ở người, nhưng *Salmonella* Enteritidis (*S. Enteritidis*) và *Salmonella* Typhimurium (*S. Typhimurium*) là hai tuýp huyết thanh phổ biến nhất gây bệnh nhiễm khuẩn *Salmonella* ở người [26].

Khóa phân loại *Salmonella* đã trải qua nhiều lần sửa đổi. Ban đầu, chi *Salmonella* được chia ra nhiều loài, mỗi loài là một tuýp huyết thanh, có cấu trúc và công thức kháng nguyên bề mặt O, H khác nhau. Cách gọi tên này do Kauffmann đề xuất năm 1952. Theo đó, tên loài được viết nghiêng, ví dụ *S. Typhi*. Nhược điểm của khóa phân loại này là không tập hợp được các vi khuẩn có đặc điểm hóa sinh, khả năng nhiễm bệnh giống nhau vào cùng một nhóm. Vì thế, nhiều thuật ngữ dùng để phân loại *Salmonella* chính xác hơn đã được đề xuất dựa vào đặc điểm gây bệnh trên lâm sàng, đặc điểm sinh hóa và mối liên quan ở cấp độ phân tử, lai phân tử ADN-ADN. WHO và CDC của Mỹ sau nhiều lần đã đi đến việc định tuýp huyết thanh *Salmonella* như sau: Chi *Salmonella* được chia thành hai loại là *Salmonella enterica*

và *Salmonella bongori*. *S. enterica* được phân thành 6 dưới loài đó là *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houerae*, *indica*, được đánh với số La mã: I, II, IIIa, IIIb, IV và VI. Do dưới loài có nhiều tuýp huyết thanh khác nhau nên dưới loài này phân loại đến tuýp huyết thanh. Về mặt di truyền, các tuýp huyết thanh trong cùng loài có sự khác biệt vùng gen tiền hóa là 3,8-4,6% nhưng sự khác biệt về axit amin thấp hơn, từ 0,7 đến 1,3%. Có thể các tuýp huyết thanh được tiến hóa từ một tổ tiên, trong quá trình sống, chúng thu nhận các gen từ cá thể khác và hình thành nên sự khác biệt và tiến hóa thành các tuýp huyết thanh mới. Nhằm phân biệt mỗi tuýp huyết thanh không phải là một loài riêng biệt người ta đặt viết tên của tuýp huyết thanh có chữ cái đầu viết hoa và không viết nghiêng.

Tên của tuýp huyết thanh *Salmonella* còn được đặt theo công thức kháng nguyên O, H và Vi. Theo cách này, số la mã đầu tiên ký hiệu cho dưới loài, sau dấu cách là công thức kháng nguyên O sau đó đến dấu “.” và đến pha 1, hoặc pha 2 của kháng nguyên H, cuối cùng là kháng nguyên Vi. Dấu gạch ngang (“-”) chỉ là kháng nguyên không có. Ví dụ *S. Chameleon* được viết dưới dạng *S. IV 16:z4,z32:-. S. Enteritidis: I 9,12:gm:-*.

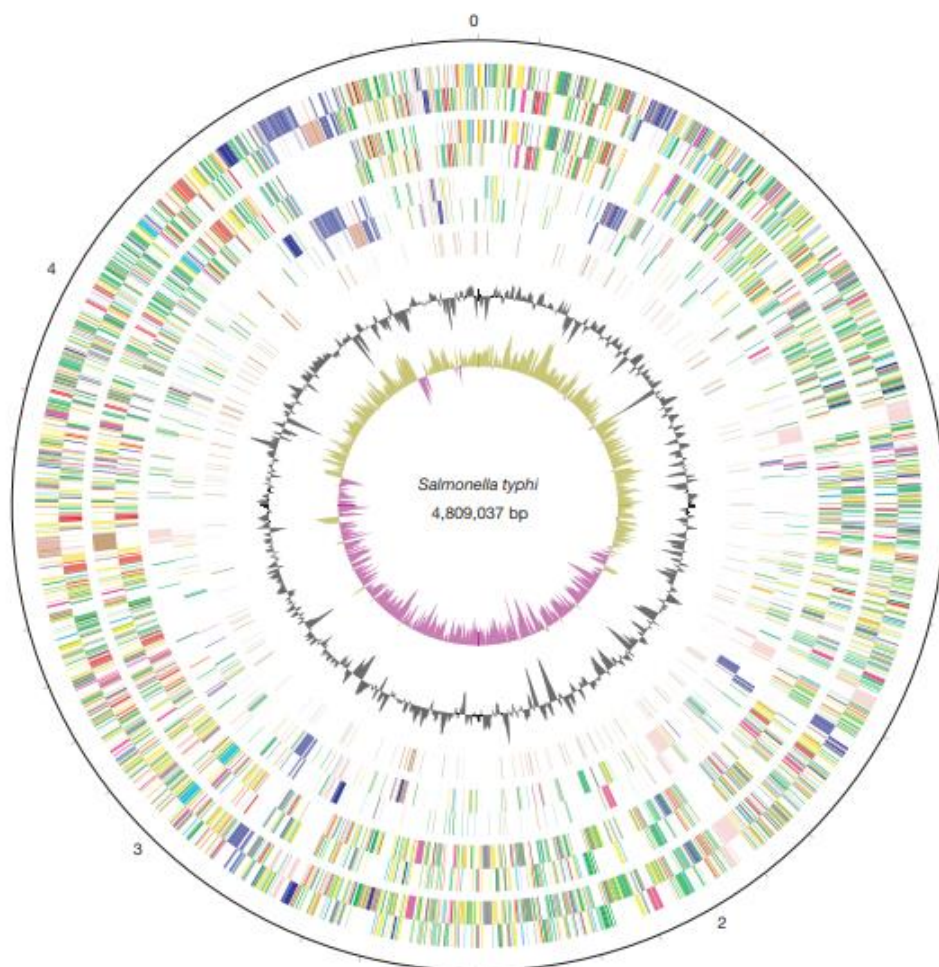
1.1.6. Khả năng gây bệnh của *Salmonella*

Bệnh nhiễm khuẩn Salmonellosis là một bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn *Salmonella* gây ra, là một trong những bệnh lây truyền qua thực phẩm phổ biến và phân bố rộng rãi nhất, với hàng chục triệu trường hợp mắc bệnh ở người trên toàn thế giới mỗi năm [27]. Một số tuýp huyết thanh *Salmonella* gây bệnh đặc trưng cho người như tuýp huyết thanh Typhi, Paratyphi A, B và C. Trong khi đó, một số tuýp huyết thanh có khả năng gây bệnh Salmonellosis trên cả người và động vật (chúng nhiễm vào thức ăn cho người và động vật). Một số tuýp chỉ gây bệnh trên động vật như tuýp Typhisuis. Khi con người tiêu hóa các thực phẩm và nước uống bị nhiễm *Salmonella*, chúng xâm nhập thông qua đường tiêu hóa gây các triệu chứng như sốt, giảm nhịp tim, huyết áp, hoặc mang các dấu hiệu bệnh thương hàn rất điển hình. Tại Hoa Kỳ, có hơn 1,35 triệu ca nhiễm khuẩn *Salmonella* mỗi năm khiến hơn 26.500 ca nhập viện và 420 ca tử vong [28]. Ước tính các ca nhiễm *Salmonella* kháng thuốc do *Salmonella* không thương hàn và *Salmonella* tuýp huyết thanh Typhi gây ra là khoảng 216.600 và các ca tử vong liên quan đến *Salmonella* kháng thuốc là gần 75 ca mỗi năm [29].

Salmonella không gây bệnh thương hàn đã cho thấy khả năng kháng 3% đối với cả ciprofloxacin và ceftriaxone (kháng sinh chủ yếu được sử dụng để điều trị nhiễm trùng *Salmonella*) và 5% kháng với năm loại thuốc trở lên.

1.1.7. Cấu trúc hệ gen của *Salmonella*

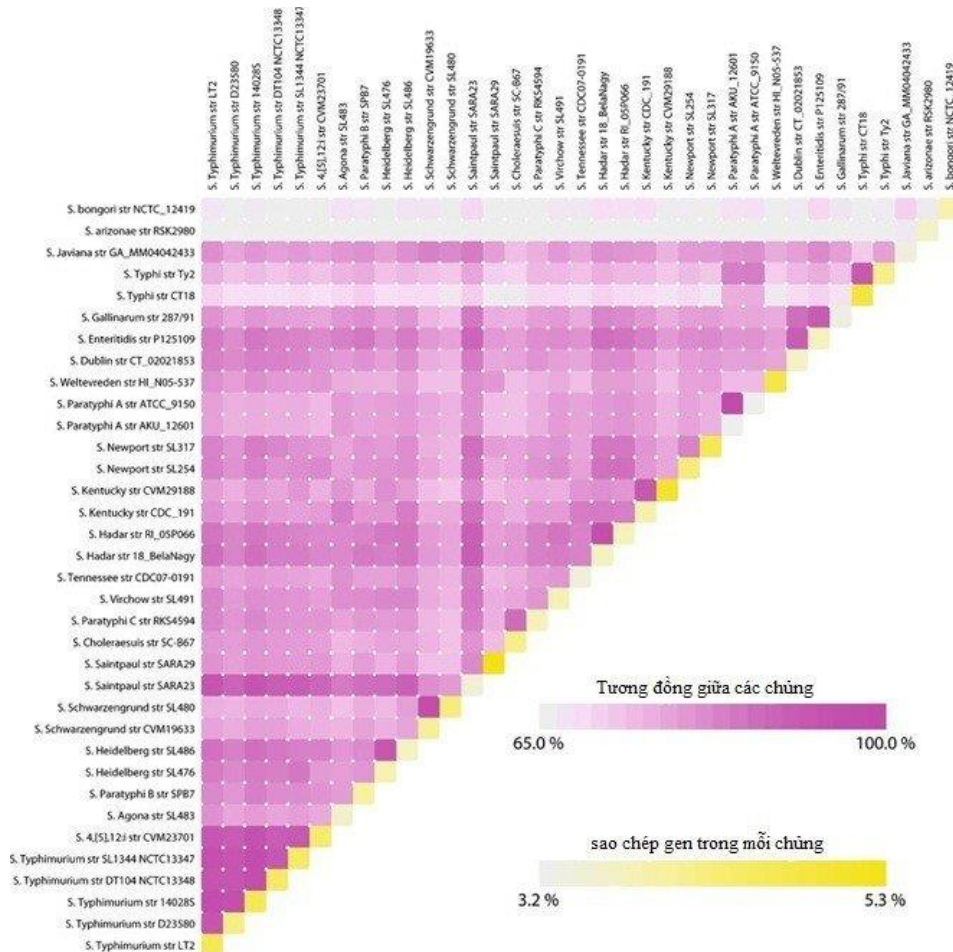
Kích thước toàn bộ hệ gen của loài *Salmonella* dao động khoảng 3,39 Mb đến 5,59 Mb chứa khoảng 3.969 đến 9.898 gen. Bên cạnh đó, *Salmonella* còn có 1 tới 2 plasmid tồn tại trong hệ gen với các kích thước khác nhau (từ 2 – 200 kb) [30].



Hình 1.2. Biểu diễn vòng tròn của hệ gen *S. Typhi*. Vòng bên ngoài được đánh dấu bằng megabase. Vòng tròn có phạm vi từ 1 (vòng tròn bên ngoài) đến 9 (vòng tròn bên trong). Vòng 1 và 2, các gen trên mạch xuôi và mạch ngược; vòng 3 và 4, gen được bảo tồn ở *E. coli*; vòng tròn 5 và 6, các gen đặc hiệu của *S. Typhi* so với *E.coli*; circle 7, pseudogenes; circle 8, hàm lượng G+C; circle 9, độ lệch GC ((G - C/G + C); màu kaki biểu thị các giá trị >1; màu tím <1).

Tất cả các gen được mã hóa màu theo chức năng: xanh đậm, khả năng gây bệnh/thích ứng; màu đen, chuyển hóa năng lượng; màu đỏ, chuyển thông tin; màu xanh đậm, cấu trúc màng/bề mặt; màu lục lam, sự xuống cấp của các đại phân tử; màu tím, suy thoái của các phân tử nhỏ; chuyển hóa màu vàng, trung tâm/trung gian; màu xanh nhạt, bộ điều chỉnh; các yếu tố màu hồng, thể thực khuẩn/IS; màu da cam, được bảo tồn theo giả thuyết; xanh nhạt, chưa rõ chức năng; nâu, pseudogenes [31].

Khi đánh giá trình tự hệ gen của *Salmonella* cho thấy trình tự DNA của chủng vi khuẩn này mang tính bảo thủ cao và chỉ có một số vùng đặc biệt có sự biến đổi trong hệ gen. Sự tích lũy các gen trong quá trình tiến hóa của chúng do các nhóm gen thuộc SPI, các yếu tố di truyền vận động, các plasmid rất phong phú và thường biến đổi giữa các tuýp huyết thanh [32] (Hình 1.3).



Hình 1.3. Dữ liệu BLAST của 35 hệ gen *S. Enterica*: số lượng họ gen được tìm thấy chung giữa các chủng *Salmonella* và mức độ sao chép gen trong mỗi loại bằng cách so sánh BLAST tất cả theo cặp ở cấp độ axit amin [32].

Trong nhiều thập kỷ, các nhà khoa học đã nghiên cứu sự tương đồng trong hệ gen giữa vi khuẩn *Salmonella* và *Escherichia coli*. Hệ gen của hai chủng vi khuẩn này có nhiều điểm tương đồng [33], tuy nhiên hệ gen của *Salmonella* có chứa các yếu tố gây độc (virulence factor – VF). Sự khác biệt giữa hệ gen của hai chủng vi khuẩn này nằm ở số lượng các gen giả có thể lên tới 200 gen. Trong số những gen giả phát hiện được trong hệ gen của *Salmonella*, một phần lớn là gen không hoạt động, một phần có liên quan tới các gen giữ nhà (housekeeping genes) và một phần hiện đang được giả định có liên quan tới những yếu tố gây độc, các gen sinh độc tố của vi khuẩn [31]. Các gen giả này có nguồn gốc từ việc dịch chuyển khung dịch mã khiến các gen bị bất hoạt, hay từ các yếu tố di truyền chuyển vị, hoặc các đoạn gen chuyển ngang từ thực khuẩn thể [30], [31].

1.1.8. Plasmid

Plasmid là các phân tử ADN mạch kép, thường ở dạng vòng. Plasmid có khả năng tự sao chép và có thể truyền giữa các loài vi khuẩn khác nhau. Plasmid thường chứa các gen hay nhóm gen mang lại một ưu thế chọn lọc nào đó cho vật chủ vi khuẩn, ví dụ như có các gen kháng thuốc hoặc độc lực. Đặc điểm này giúp các loại plasmid dễ dàng truyền giữa các vi khuẩn từ các nguồn khác nhau và khu vực địa lý khác nhau. Việc thu nhận các plasmid mang gen kháng thuốc hoặc độc lực có thể làm thay đổi đáng kể tỷ lệ xuất hiện của các dòng vi khuẩn độc lực hoặc đa kháng thuốc. Sự xuất hiện các dòng vi khuẩn như vậy ngày càng đa dạng và phức tạp cả về kiểu cách và mức độ. Chính vì vậy, ngoài các nghiên cứu dịch tễ học phân tử của các dòng vi khuẩn khác nhau thì cần mở rộng hơn nữa nghiên cứu chuyên sâu về dịch tễ học phân tử các plasmid có thể truyền giữa các dòng vi khuẩn. Đối với mục đích này, hệ thống phân tích plasmid được cho là vô cùng cần thiết.

Kể từ năm 2005, các nhà khoa học đã thiết lập được một sơ đồ phân tích đơn vị sao chép dựa trên kỹ thuật PCR để hướng tới phản ứng multiplex PCR của đơn vị sao chép từ các họ plasmid chính xuất hiện trong thành viên họ *Enterobacteriaceae*[34]. Phương pháp này ban đầu phát triển để phát hiện các đơn vị sao chép của plasmid thuộc 18 nhóm không tương thích (Inc) của các loài *Enterobacteriaceae* [35]. Gần đây, các đơn vị sao chép mới và các loại plasmid được

xác định bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới, điều này đã mở rộng PBRT đến khả năng nhận dạng thành công 25 đơn vị sao chép khác nhau [36]–[38]. Về mặt lâm sàng, không phải tất cả các họ plasmid đều xuất hiện với tần suất như nhau ở các chủng vi khuẩn đường ruột. Đối với các plasmid thường xuyên xuất hiện, sơ đồ phân tích dựa trên trình tự đã được đưa ra để xác định các plasmid scaffold liên quan. IncF, IncI1, IncN, IncHI2 và IncHI1 là các plasmid hiện đang được phân loại dựa trên MLST (pMLSTL <http://pubmlst.org/plasmid/>) [36]–[39]. Để trích xuất thông tin có liên quan từ một lượng lớn dữ liệu được tạo ra, một công cụ tin sinh học trực tuyến dễ sử dụng là ResFinder - một nguồn trực tuyến mở để xác định các gen kháng kháng sinh trong dữ liệu giải trình tự thế hệ tiếp theo và dự đoán các kiểu hình từ các kiểu gen [40].

1.2. Tình hình nhiễm, kháng kháng sinh, kháng chất tẩy rửa ở *Salmonella*

1.2.1. Tình hình nhiễm và kháng kháng sinh trên thế giới

Salmonella là một mầm bệnh quan trọng gây ra các bệnh truyền nhiễm ở động vật và người. Hàng năm, nhiễm khuẩn *Salmonella* không chỉ làm giảm năng suất sản xuất, gây chết gia cầm mà còn làm ô nhiễm chuỗi thức ăn của con người, dẫn đến thiệt hại kinh tế nghiêm trọng trong ngành chăn nuôi gia cầm, cũng như là vấn đề sức khỏe cộng đồng nghiêm trọng. Theo CDC (Mỹ) hàng năm xảy ra khoảng 1,35 triệu ca nhiễm *Salmonella*, 26.500 ca nhập viện và 420 người chết [41]. Mặc dù nhiều biện pháp phòng ngừa và kiểm soát khác nhau đã được thực hiện, bao gồm các chương trình sử dụng vắc-xin và kháng sinh đã được thực hiện thì nhiễm khuẩn *Salmonella* vẫn là một trong những vấn đề quan trọng nhất trên toàn thế giới. Nghiên cứu thấy sự lưu hành của *Salmonella* trên thịt gia cầm không giảm đi theo thời gian mà chỉ khác nhau giữa các quốc gia trên toàn thế giới.

Theo nghiên cứu của Abdi và cộng sự thực hiện tại Nam Ethiopia từ năm 2014 - 2015, 270 mẫu từ các nguồn khác nhau bao gồm tấm bông lỗ hậu môn của gà (n = 244), tấm bông của tay người (n = 9) và chất độn chuồng (n = 17) được thu thập từ ba trung tâm nhân giống gà, cho thấy tỉ lệ nhiễm *Salmonella* là 16,7% [42]. Một nghiên cứu do Raji và cộng sự thực hiện cho thấy tỉ lệ mẫu dương tính với *Salmonella* là 8,6% (n=500) [43]. Báo cáo của Zhisiri và cộng sự ghi nhận tỉ lệ nhiễm *Salmonella*

trên thịt gà là 51% (n=200) [44]. Nghiên cứu thực hiện tại Trung Quốc bởi Wang và cộng sự cho thấy 17,6% (n=420) mẫu thu thập tại nông trại và lò mổ gia cầm nhiễm *Salmonella enterica* [45].

Theo nghiên cứu của Tingting Cao và cộng sự thực hiện tại sáu tỉnh của Trung quốc năm 2019 với kết quả: tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trong mẫu gà là 10,5%, lợn là 24,4%, vịt là 23,3% và sữa là 29,4%; các chủng *Salmonella* kháng ampicillin cao (59,60%) [46].

Một số nghiên cứu độc lập khác nhau đã được thực hiện trên toàn thế giới đánh giá tỉ lệ nhiễm *Salmonella* trong thực phẩm ở các nước thuộc Đông Nam Á và châu Á. Đánh giá tỉ lệ nhiễm các tuýp huyết thanh *Salmonella* và *Salmonella* spp. ở gà, các sản phẩm gia cầm là điều cần thiết để đảm bảo an toàn thực phẩm khi chúng được tiêu thụ rộng rãi trên toàn thế giới. Sự phân bố của các tuýp huyết thanh *Salmonella* trong các sản phẩm tương ứng từ các quốc gia châu Á khác nhau, bao gồm: Campuchia, Trung Quốc, Iran, Nhật Bản, Malaysia, Myanmar, Singapore, Hàn Quốc và Thái Lan. Trong bối cảnh tăng trưởng kinh tế nhanh chóng ở châu Á, đặc biệt ở Trung Quốc, các nhà phân tích chỉ ra rằng lượng tiêu thụ thịt gà của châu Á trong sẽ gia tăng trong tương lai [47] nên việc lây nhiễm *Salmonella* càng cần được chú ý hơn nữa. Nhiều tuýp *Salmonella* khác nhau có thể lây nhiễm cho gia cầm thông qua lây truyền dọc, ngang và lây nhiễm chéo [48]. Bảng 1.1 cho thấy mức tỉ lệ nhiễm *Salmonella* được tìm thấy trong các mẫu được chọn từ các quốc gia châu Á khác nhau.

Bảng 1.1. Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. trong các sản phẩm thịt gà và gia cầm ở một số nước Châu Á

Nước	Số lượng mẫu	Số mẫu dương tính	Tỉ lệ phần trăm dương tính (%)	Nguồn tài liệu
Campuchia	187	78	41,7	[49]
Trung Quốc	1152	601	52,2	[50]
Iran	452	111	24,6	[51]
Nhật Bản	821	164	20,0	[52]
Malaysia	191	79	41,4	[53], [54]

Nước	Số lượng mẫu	Số mẫu dương tính	Tỉ lệ phần trăm dương tính (%)	Nguồn tài liệu
Myanmar	141	138	97,9	[55]
Singapore	270	52	18,1	[56]
Hàn Quốc	330	65	19,7	[57], [58]
Thái Lan	195	79	40,5	[49]

Dựa trên các nghiên cứu, tỷ lệ nhiễm *Salmonella* cao được quan sát thấy ở các nước đang phát triển như Myanmar, Campuchia, Thái Lan và Malaysia. Tỷ lệ mắc bệnh khác nhau ở mỗi quốc gia có thể là do sự khác biệt trong quản lý vệ sinh, nỗ lực của Chính phủ, kỹ thuật phân tích của các phòng thí nghiệm, quy định quản lý, thu thập mẫu, thu thập dữ liệu và báo cáo v.v.[52]. Các nhà nghiên cứu cũng ghi nhận rằng thịt gà bán lẻ tại Yangon, Myanmar có 97,9% nhiễm khuẩn *Salmonella* [55]. Thực hành vệ sinh kém và điều kiện chưa đảm bảo vệ sinh tại các quầy hàng trong chợ là nguyên nhân chính dẫn đến tỷ lệ ô nhiễm cao này. Ngoài ra, tốc độ luân chuyển thịt gà chậm, nhiệt độ bảo quản không phù hợp và đồ dùng không được khử trùng có thể góp phần làm cho vi khuẩn *Salmonella* gây bệnh phát triển trong thịt gà. Singapore có tỷ lệ nhiễm khuẩn *Salmonella* thấp nhất trong số các quốc gia được nghiên cứu nhờ những nỗ lực của Chính phủ nhằm đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm [56].

Mức độ nhiễm *Salmonella* trong thịt gà và các sản phẩm gia cầm cũng khác nhau tùy thuộc vào loại cửa hàng gia cầm (siêu thị và chợ thực phẩm tươi sống). Nhìn chung, tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trong các mẫu thực phẩm tươi sống ở chợ cao hơn so với các mẫu thực phẩm từ siêu thị, dao động từ 25,0 đến 53,9%.

Salmonella rất dễ lây lan giữa các mẫu thịt gà, các sản phẩm gia cầm và có thể lây lan mầm bệnh trong toàn bộ chuỗi sản xuất nông sản. Việc xác định các tuýp *Salmonella* đã trở thành một vấn đề sức khỏe cộng đồng quan trọng vì chúng có thể liên quan đến các bệnh khác nhau [59]. Do đó, việc xác định các tuýp *Salmonella* trong các mẫu gia cầm là rất quan trọng để đánh giá dịch bệnh và giám sát dịch tễ học. Trong các công trình nghiên cứu khác nhau, sự phân bố của tuýp *Salmonella* là khác nhau. Như đã trình bày trong Bảng 1.2., mỗi quốc gia có các tuýp *Salmonella* khác nhau. Iwabuchi phát hiện ra rằng *S. Infantis* là tuýp *Salmonella* phổ biến nhất ở

Nhật Bản (81, n = 452; 17,9%) [52], trong khi Shafini báo cáo rằng tuýp *Salmonella* phổ biến nhất ở Malaysia là *S. Enteritidis* (25, n = 62, 39,7%) [54]. Ngược lại, một nghiên cứu khác của Abatcha từ Malaysia cho thấy *S. Corvallis* là tuýp huyết thanh phổ biến nhất ở gà (7, n = 17; 41%) [53]. Lee cũng phát hiện ra rằng *S. Typhimurium* (12, n = 18, 66,7%) là tuýp huyết thanh phổ biến nhất ở Hàn Quốc. [60]. Thompson là tuýp chiếm ưu thế ở Iran và *S. Albany* ở Myanmar [51], [55]. Tại Nhật Bản, có 27 tuýp được phát hiện, 24 ở Myanmar, 11 ở Singapore, 8 ở Malaysia, 5 ở Iran và Hàn Quốc, 11 ở Singapore và 8 ở Malaysia. Tỷ lệ nhiễm khuẩn *Salmonella* rất khác nhau do địa lý, phương pháp lấy mẫu, loại mẫu và phương pháp phân lập phát hiện *Salmonella* [61].

Bảng 1.2. Sự phân bố các tuýp huyết thanh *Salmonella* ở gia cầm

Vùng/nước	Loại mẫu	Tuýp huyết thanh <i>Salmonella</i> (n)	Tài liệu
Iran			
Mansoura	Thịt gà	Thompson, Enteritidis, Typhimurium, Hadar, chưa rõ	[51]
	Gan	Thompson, Enteritidis, Typhimurium, Newport, chưa rõ	
	Tim	Thompson, Enteritidis (4), Typhimurium (2), Newport (5)	
Nhật Bản			
Hokkaido		Infantis (39), Nigeria (26), Wien (24), Limete (10), Uppsala (10), Canada (9), Adime (5), Abony (4), Brezany (4), Lomita (4), S, Rissen (4), Reading (3), Derby (3), Tripoli (3), Eko (2), Montevideo (2), Stanley (2), UN (16)	[52]
Aichi, Gifu, Mie	Thịt gà	Infantis (42), Kalamu (35), Manhattan (25), Uppsala (24), Canada (13), Schwarzengrund (11), Stanleyville (11), Eko (6), Finaghy (5), Brezany (2)	
Miyazaki, Oita, Saga		Schwarzengrund (32), Stanleyville (26), Kalamu (21), Manhattan (8), Canada (6), Uppsala (5), Brezany (4), Eko (4), Finaghy (2)	
Malaysia			
Selangor, Negeri Sembilan	Thịt gà	Enteritidis (20), Hadar (14), Gallinarum (6), Dublin (5), Stanley (4), Anatum (1), Choleraesuis (1), Typhimurium (1)	[54]
	Gà băm viên	Enteritidis (4), Hadar (1), Dublin (1), Stanley (1)	
	Sản phẩm thịt gà	Enteritidis (1), Stanley (1), Anatum (1)	

Vùng/nước	Loại mẫu	Tuýp huyết thanh <i>Salmonella</i> (n)	Tài liệu
Myanmar			
Yangon	Thịt gà	Albany (53), Kentucky (15), Braenderup (14), Indiana (11), Virchow (5), Brunei (5), Weltevreden (4), Derby (3), Typhimurium (3), Enteritidis (3), Wagenia (3), Diogoye (2), Bareilly (2), Lexington (2), Stanley (2), Agona (2), Hindmarsh (2), Cerro (1), Yoruba (1), Mbandaka (1), Newport (1), Stuttgart (1), Paris (1), Apeyeme (1)	[55]
Singapore	Thịt gà tươi và đông lạnh	Saintpaul (17), Brancaster (11), Albany (6), Stanley (5), Agona (4), Typhimurium (3), Gaminara (2), Bovismorbificans (1), Give (1), Newport (1), Weltevreden (1)	[56]
Hàn Quốc			
Jeonla, Chungcheong, Gyeongsang, Gyeonggi	Thịt gà nguyên con	Typhimurium (12), Hadar (2), Rissen (2), Virchow (1), Bareilly (1)	[57]
<i>Ghi chú: n là số lượng chủng</i>			

Trong khi đó, một loạt các nghiên cứu về sự nhạy cảm kháng sinh ở *Salmonella* có nguồn gốc từ gia cầm đã được tiến hành ở nhiều quốc gia khác nhau. Sự nhạy cảm kháng sinh của các chủng *Salmonella* có nguồn gốc gà và các sản phẩm gia cầm ở Ai Cập, Iran, Nhật Bản, Malaysia, Myanmar, Singapore và Hàn Quốc, như thể hiện trong Bảng 1.3. Ngoại trừ nghiên cứu được thực hiện ở Nhật Bản, tất cả các nghiên cứu đều sử dụng thử khoan giấy kháng sinh để đánh giá khả năng kháng kháng sinh của *Salmonella* spp. được phân lập từ thịt gà và các sản phẩm gia cầm. Nhìn chung, các chủng *Salmonella* tại mỗi quốc gia đã thể hiện cường độ kháng thuốc kháng sinh khác nhau.

Bảng 1.3. Sự phân bố kháng kháng sinh ở gia cầm các nước châu Á

Nước	Số lượng mẫu (vật chủ)	Phương pháp	Kháng kháng sinh (n; %)	Nguồn tài liệu
Iran	111 (Thịt gà và lòng gà)	Khoanh giấy	AMC (6; 5,4%); AMP (13; 11,7%); CHL (4; 3,6%); KAN (41; 36,9%); NA (103; 92,8%); STR (63; 56,8%); TET (90; 81,1%); TMP (76; 68,5%); SXT (68; 61,3%)	[51]
Nhật bản	452 (thịt gà)	Pha loãng thạch	AMP (81; 17,9%); BCM (222; 49,1%); CFZ (26; 5,8%); CTF (9; 2,0%); CST (13; 2,9%); DSM (313; 69,2%); GEN	[52]

Nước	Số lượng mẫu (vật chủ)	Phương pháp	Kháng kháng sinh (n; %)	Nguồn tài liệu
			(2; 0,4%); KAN (180; 39,8%); NA (72; 15,9%); OXY (72,6%); TMP (217; 48,0%)	
Malaysia	11 (thịt gà)	Khoanh giấy	AMX (3; 27,3%); AMP (8; 72,7%); CFP (3; 27,3%); CIP (3; 27,3%); ERY (11; 100,0%); NA (1; 19,1%); PEN (11; 100,0%); STR (1; 9,1%); VAN (1; 9,1%)	[62]
Myanmar	138 (thịt gà nguyên con)	Khoanh giấy	AMC (24; 17,4%); AMP (65; 47,1%); CRO (5; 9,6%); CHL (32; 61,5%); CIP (13; 9,4%); GEN (11; 8,0%); LIS (8; 5,8%); NOR (1; 0,7%); STR (68; 49,3%); TET (75; 54,3%); TOB (12; 8,7%); SXT (97; 70,3)	[55]
Singapore	52 (thịt gà)	Khoanh giấy	AMC (8; 15,4%); AMP (41; 78,8%); CRO (5; 9,6%); CHL (32; 61,5%); CIP (2; 3,8%); GEN (12; 23,1%); NA (16; 30,8%); TET (32; 61,5%); SXT (29; 55,8%)	[56]
Hàn Quốc	18 (thịt gà)	Khoanh giấy	AMP (1; 5,6%); CFZ (1; 5,6%); CTX (1; 5,6%); CAZ (1; 5,6%); NA (7; 38,9%); STR (32; 61,5%); SXT (29; 55,8%)	[57]
<i>Ghi chú: n là số lượng chủng kháng kháng sinh</i>				

Theo các nghiên cứu trong Bảng 1.3., *Salmonella* spp. kháng ampicillin (AMP) đã được quan sát thấy ở tất cả các quốc gia được nghiên cứu (Iran là 11,7%; Nhật Bản là 17,9%; Malaysia là 72,7%; Myanmar là 47,1; Singapore là 78,8%; Hàn Quốc là 5,6%). Điều này cho thấy rằng AMP được sử dụng như một loại kháng sinh chính trong ngành chăn nuôi gia cầm ở các quốc gia này [56], [62].

Ngoài AMP, kháng axit nalidixic (NA) đã được tìm thấy ở tất cả các quốc gia được nghiên cứu ngoại trừ Myanmar. Đã có báo cáo rằng tỷ lệ kháng NA cao của chủng *Salmonella* ở Iran là do việc lạm dụng NA để thúc đẩy tăng trưởng và điều trị bệnh nhiễm khuẩn *Salmonella* [51].

Erythromycin (ERY) thuộc nhóm macrolid, tác dụng phổ rộng. Sự chuyển vị của gen kháng ERY từ một plasmid không tiếp hợp sang một plasmid tiếp hợp đã góp phần gia tăng mức độ kháng thuốc mạnh của vi sinh. Kết quả là nó có thể truyền từ vi khuẩn này sang vi khuẩn khác [61], [63]. Thung phát hiện ra rằng *Salmonella* hoàn toàn kháng ERY. Điều này có thể được giải thích là do sử dụng sai ERY, gây ra hiện tượng kháng thuốc [62]. Do đó, ERY không còn được khuyến khích sử dụng trong ngành chăn nuôi như là trong ngành chăn nuôi gà.

Theo nghiên cứu của Anuradha Jeewantha Punchihewage-Don và cộng sự thấy tỷ lệ nhiễm khuẩn *Salmonella* đã giảm xuống còn khoảng 6% trong vòng 14 năm từ 11,5% và 9,7% tương ứng ở gà tây và thịt gà xay bán lẻ [64]. *Salmonella* kháng đa thuốc (MDR) từ gà tây xay bán lẻ (36%) cao hơn so với gà bán lẻ (20%). Các chủng *Salmonella* đa kháng từ gà tây (46,7%) có khả năng kháng ít nhất 3 loại kháng sinh cao hơn so với gà (14,6%) được lấy mẫu qua manh tràng [65]. *Salmonella* đã thể hiện khả năng kháng nhiều loại kháng sinh trong mọi nhóm/phân nhóm kháng sinh bao gồm aminoglycoside, aminopenicillins, β -lactam, cephalosporin (thế hệ thứ ba) cephamycin, phenicols và tetracycline [66]. Kháng đa thuốc (MDR) trong số các chủng *Salmonella* phân lập ở người vẫn cao từ năm 2008 đến 2014 ở mức 9,3%.

Các tuýp huyết thanh *Salmonella* chiếm ưu thế được phân lập từ thịt gà là Kentucky, Enteritidis, Typhimurium, Infantis và Heidelberg [67]; [67]; [68]. Các tuýp huyết thanh chiếm ưu thế được thu thập từ gà tây là Reading, Kentucky, Agona, Hadar và Ouakam [68]. Các tít huyết thanh phổ biến nhất của *Salmonella* gây nhiễm trùng ở người là Enteritidis, Typhimurium, Newport, I4,[5],12:i:-, Javiana và Heidelberg. Bất kể nguồn gốc (thông thường hay hữu cơ), *S. Heidelberg* có khả năng kháng hai hoặc nhiều loại kháng sinh cao hơn [69].

Ceftriaxone là nhóm Cephalosporin thế hệ 3, có phổ rộng trên nhiều vi khuẩn Gram âm và thường được sử dụng để điều trị bệnh nhiễm khuẩn *Salmonella*. 11,1% các chủng *Salmonella* phân lập ở gà tây và 8,7% các chủng *Salmonella* phân lập ở gà đã kháng lại ceftriaxone vào năm năm 2014 [70]. Các tít huyết thanh phổ biến nhất của *Salmonella* kháng ceftriaxone là Typhimurium, Newport, Dublin, Heidelberg và I4,[5],12:i:- [71]. Báo cáo về các mối đe dọa kháng thuốc kháng sinh ở Hoa Kỳ năm 2019 cho thấy tình trạng kháng ceftriaxone ở vi khuẩn *Salmonella* không thương hàn đang gia tăng và đạt gần 10% đối với ciprofloxacin vào năm 2017 [72]. Ceftriaxone được tìm thấy trong nhóm kháng sinh Extended-Spectrum Cephalosporins (ESC). ESC là kháng sinh nhóm β -lactam can thiệp vào quá trình chuyển hóa tổng hợp thành tế bào [70]. Vi khuẩn đã thích nghi và phát triển khả năng kháng lại beta-lactam bằng cách tổng hợp beta-lactamase, enzym này sẽ tách vòng beta-lactam và làm bất hoạt kháng sinh [73]. Các gen β -lactamase phổ biến liên quan đến tính kháng của *Salmonella* là *bla*TEM, *bla*SHV, *bla*CMY, *bla*CTX-M và *bla*OXA-1. Các gen

*bla*CMY và *bla*CMY-2 thường được phục hồi từ các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ người. Các tuýp huyết thanh của *Salmonella* Newport, Heidelberg và Typhimurium có liên quan đến tính dương tính với *bla*CMY.

Ciprofloxacin là một loại kháng sinh quan trọng được sử dụng để điều trị các trường hợp nhiễm khuẩn *Salmonella* nặng, tỷ lệ kháng thuốc đã giảm xuống dưới 2% kể từ năm 1997 trong thịt bán lẻ [74]. Mặc dù hiếm gặp, nhưng đã có trường hợp ghi nhận các chủng kháng ciprofloxacin, một phần của nhóm kháng sinh fluoroquinolone [74]. Mặc dù không vượt quá 4%, nhưng tỷ lệ kháng axit nalidixic ở người đã tăng từ 0,4% năm 1996 lên 3,5% vào năm 2014 [71]. Đây có thể là một nguyên nhân gây lo ngại vì axit nalidixic (một quinolone đơn giản) là một chỉ số tương quan với đột biến đầu tiên trong hai đột biến kháng hoàn toàn ciprofloxacin [64]. Vi khuẩn có được khả năng kháng axit nalidixic nhờ chuyển gen thông qua plasmid. Plasmid mã hóa khả năng kháng quinolone có thể chuyển thông qua gen *qnr*. Sản phẩm gen *qnr* bảo vệ trực tiếp DNA gyrase khỏi sự ức chế quinolone.

1.2.2. Tình hình nhiễm và kháng kháng sinh tại Việt Nam

Việc lây nhiễm *Salmonella* trên các đối tượng thực phẩm tại Việt Nam rất phổ biến. Trong nghiên cứu của Ngô Hoàng Tuấn Hải và cộng sự trên các mẫu thịt lợn thu thập trong khu vực quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội đã xác định được tỷ lệ nhiễm *Salmonella* tại các cửa hàng kinh doanh thịt lợn truyền thống là 70,7% [75]. Con số này ở các cửa hàng hiện đại, quầy hàng dịch vụ ăn uống lần lượt là 58% và 80,5%. Trong một nghiên cứu về *Salmonella* thực hiện việc giám sát tỉ lệ nhiễm từ các mẫu thu thập trong chuỗi chế biến thịt lợn ở Thừa Thiên Huế, tác giả Takeshi và cộng sự thấy tỷ lệ dương tính *Salmonella* spp. của thịt lợn bán lẻ tại các chợ là 32,8% [76]. Tác giả Nguyễn Thị Anh Đào vào năm 2021 công bố tỉ lệ nhiễm *Salmonella* được phát hiện trong 75% mẫu nước sông, 57,1% mẫu nước tưới, 17,5% mẫu rau và 2,5% mẫu nước đá [77], một nghiên cứu khác của tác giả này năm 2016 chỉ ra tỉ lệ nhiễm *Salmonella* cao được phát hiện trong các mẫu thịt lợn (69,7%), gia cầm (65,3%), thịt bò (58,3%), tôm (49,1%) và các mẫu cá nước ngọt (36,6%) [78]. Một nghiên cứu khác [79] thực hiện với 341 trang trại gia cầm và lợn (117 trang trại gà, 118 vịt, 104 trang trại lợn) thuộc vùng Đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam với tổng số 1349 mẫu, trong đó 739 chủng *Salmonella* đã được phân lập. Nghiên cứu đã chỉ

ra tỷ lệ phổ biến của *Salmonella* ở cấp trang trại là 73%, trong đó tỉ lệ dương tính cao nhất tương ứng với trang trại vịt (94,3%), tiếp theo là trang trại lợn (91,3%) và trại gà (64,7%). Bên cạnh đó kết quả nghiên cứu cũng cho thấy mức độ phổ biến cao nhất của *Salmonella* trong các mẫu từ trang trại vịt (69,9%), tiếp theo là lợn (65,4%) và gà (32,0%) [79].

Mức độ nhạy cảm kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập được trên thực phẩm những năm gần đây tại Việt Nam cũng gây chú ý và đáng lo ngại. Khảo sát trong các trang trại chăn nuôi gia cầm tại vùng Đồng bằng Sông Cửu Long cho thấy các kháng sinh polypeptide, tetracycline, penicillin và aminoglycoside là những loại kháng sinh được sử dụng bởi hầu hết các trang trại, trong khi penicillin, lincosamide, quinolone và sulphonamide/trimethoprim là những hợp chất được sử dụng nhiều nhất [80]. Việc sử dụng kháng sinh phổ biến trong chăn nuôi và chưa được kiểm soát nghiêm ngặt tại Việt Nam dẫn tới tình trạng vi khuẩn kháng kháng sinh tăng và lây lan trên các khu vực, các trang trại chăn nuôi [81]. Trong nhiều nghiên cứu trên đối tượng thịt, hải sản lưu hành trên thị trường bán lẻ trong nước ghi nhận tỉ lệ các chủng *Salmonella* phân lập được có khả năng kháng kháng sinh lên chiếm 59-89% [77]–[79], [82]. Các kháng sinh phổ rộng như tetracycline, trimethoprim–sulfamethoxazole, chloramphenicol và ampicillin là những nhóm kháng sinh có tỉ lệ kháng cao nhất được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu. [77], [83], [84]. Đặc biệt trong nghiên cứu của Holohan và cộng sự vào năm 2002 thấy gen *mcr* liên quan đến tính kháng kháng sinh colistin cũng được tìm thấy trong 18/65 chủng *Salmonella* phân lập [82].

1.2.3. Tình hình kháng chất tẩy rửa ở *Salmonella*

Nhằm ngăn ngừa và kiểm soát sự gia tăng của vi sinh vật trong môi trường sản xuất, các kế hoạch làm sạch được áp dụng thường xuyên bằng cách sử dụng các loại dung dịch tẩy rửa và khử trùng [85]. Tuy nhiên, việc sử dụng rộng rãi các hóa chất này có thể vô tình chọn lọc ra nhóm vi khuẩn sở hữu đồng thời khả năng kháng kháng sinh và các hợp chất kháng khuẩn khác [86]. Nhóm các chất tẩy rửa bao gồm các hợp chất amoni bậc bốn (QAC) đã được sử dụng trong các trang trại, môi trường và sản xuất là Benzalkonium chloride (BKC) và cetylpyridinium chloride (CPC) [87],

[88]. Cho đến nay, các trường hợp *Salmonella* kháng BKC và CPC đã được báo cáo và một trong những cơ chế chính của tình trạng này là sự tồn tại của *Salmonella* mang gen kháng chất tẩy rửa [89]. Trong đó, *qacE* và *qacEΔ* là hai gen phổ biến được tìm thấy trong nhóm này; chúng thuộc họ gen SMR và nằm trong vùng bảo tồn đầu 3' trên một số integron của vi khuẩn Gram âm như *Salmonella* [90], [91]. Sự biểu hiện các gen này ở *Salmonella* được chứng minh trong chỉ số MIC cao tương đồng với khả năng đề kháng chất tẩy rửa. Hiện nay tại Việt Nam, các nghiên cứu về khả năng kháng QAC và sự phân bố của gen liên quan trên đối tượng vi khuẩn *Salmonella* còn rất hạn chế. Vì vậy, luận án đã tiến hành nghiên cứu này nhằm kiểm tra sự phân bố của hai gen *qacE-qacEΔ* và mối tương quan của chúng với khả năng kháng QAC ở các chủng *Salmonella* phân lập từ các sản phẩm gia cầm bán lẻ.

Benzalkonium chloride (BKC) là một QAC dạng cation, hoạt động bề mặt, thường được sử dụng làm chất tẩy rửa trang trại trong sản xuất nông nghiệp. Cho đến nay, tính kháng BKC đã được báo cáo ở nhiều loại vi khuẩn khác nhau, ví dụ, *Listeria monocytogenes* [92] và *Staphylococcus* spp. [93] và một trong những cơ chế chính tạo nên tính kháng đó là thu nhận các gen kháng thuốc [94]. *qacE* và *qacEΔ1* là những gen quy định khả năng kháng QAC và thuốc nhuộm như ethidium bromide. *qacEΔ1* là một phiên bản đột biến của *qacE*, dường như có một phần chức năng như một chất vận chuyển đa thuốc [95] và được phân bố rộng trong nhiều vi khuẩn Gram âm do vị trí của nó trên vùng 3' được bảo tồn của các integron loại 1 [96]. Trong những thập kỷ qua, tình trạng kháng BKC với giá trị MIC của BKC là $>30 \mu\text{g/mL}$ và $\geq 20 \mu\text{g/mL}$; giá trị MIC ở nhiều chủng vi khuẩn phân lập từ nhà máy chế biến thực phẩm được xác định [97].

Hoạt tính kháng khuẩn của cetylpyridinium chloride (CPC) lần đầu tiên được mô tả trong nghiên cứu của Wm[98]. C. Lee Huyck là người đầu tiên chứng minh tác dụng ngăn ngừa vi khuẩn hoặc diệt khuẩn của CPC trong khoang miệng bằng cách đo độ pH giảm trong nước bọt sau khi nhai kẹo cao su có đường [99]. Trong thực hành nha khoa lâm sàng, CPC chủ yếu được sử dụng như một thành phần kháng khuẩn trong các sản phẩm không kê đơn như nước súc miệng và kem đánh răng, được bán trên thị trường để giảm tích tụ mảng bám [100], [101], [102]. Hơn nữa, sự kết hợp của CPC với các chất sát trùng khác như CHX hoặc hỗn hợp nhiều QAC trong những năm gần đây để tăng khả năng hoạt động kháng khuẩn khi sử dụng trong nước súc miệng [101].

Các integron loại 1 là các integron được tìm thấy thường xuyên nhất và được coi là tác nhân chính gây ra tình trạng kháng nhiều loại thuốc ở vi khuẩn Gram âm [103], [104]. Các integron bao gồm hai phân đoạn được bảo tồn (5' CS và 3' CS) được phân biệt bằng một vùng biến đổi thường chứa một hoặc nhiều phần mang gen. 5' CS chứa gen tích hợp (*intI1*), vị trí tích hợp (*attI1*) và bộ khởi động (*Pant*) [103]. 3' CS thường bao gồm *qacEdelta*, *sul1* mã hóa khả năng kháng sulphonamide và ORF5 chưa rõ chức năng [96]. Các băng gen được tìm thấy trong các vùng biến đổi là di động và thường mã hóa cho tính kháng kháng sinh.

Các gen liên quan tính kháng kháng sinh và QAC đều được mang trên các integron loại 1, điều này làm dấy lên mối lo ngại rằng khả năng kháng phối nhiễm QAC có thể đồng chọn kháng kháng sinh bằng cách chọn các integron loại 1. Điều này tạo ra một ổ chứa vi khuẩn kháng kháng sinh tiềm tàng trong môi trường có QAC bao gồm cả các trang trại chăn nuôi. Những lo ngại cụ thể này đã được làm rõ bởi một nghiên cứu về các chủng vi khuẩn phân lập từ môi trường xung quanh bị ô nhiễm QAC cho thấy mối liên hệ giữa việc tăng tần số integron loại 1 và tăng khả năng kháng QAC [105]. Tuy nhiên, sự phổ biến của các gen *qacE/qacEΔ1* và mối tương quan của chúng với các integron loại 1 và khả năng kháng kháng sinh ở các chủng *Salmonella* từ các trang trại nơi QAC được sử dụng rộng rãi đã không được báo cáo.

1.3. Cơ chế kháng và các họ gen liên quan đến tính kháng ở *Salmonella*

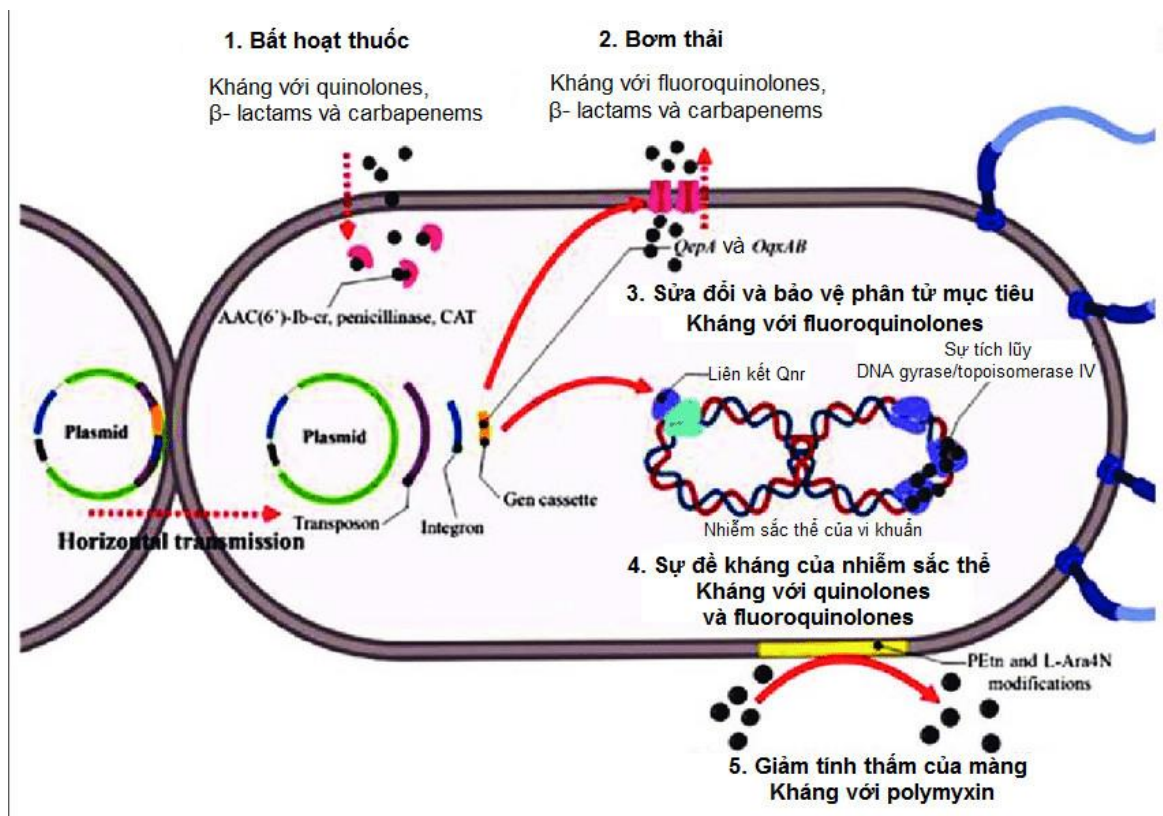
1.3.1 Cơ chế kháng kháng sinh ở *Salmonella* và họ kháng sinh Beta lactam

Hiện nay, tình trạng kháng kháng sinh ngày một phổ biến và ảnh hưởng rất lớn đến quá trình điều trị. Nguyên nhân chính của thực trạng này là việc lạm dụng kháng sinh dẫn đến sự tích tụ dư lượng thuốc trong môi trường. Từ đó, nhiều chủng vi khuẩn được phát hiện cho thấy khả năng thích nghi và kháng thuốc, là nguyên nhân chính của mầm bệnh liên quan đến tính kháng kháng sinh nguy hại trực tiếp ảnh hưởng đến sức khỏe người dân, gánh nặng kinh tế.

Trải qua quá trình tiến hóa lâu đời, *Salmonella* đã tích lũy được số lượng lớn các cơ chế trao đổi chất và tự vệ có thể biểu hiện để chống lại các tác động khác nhau từ bên ngoài, bao gồm cả kháng sinh [106]. Tuy nhiên cơ chế kháng kháng sinh có thể đạt được bằng cách đột biến ở các loci nhiễm sắc thể khác nhau là một phần của

hệ gen lõi chẳng hạn như đảo gen. Ngoài ra, khả năng này có thể có được thông qua các gen kháng ngoại sinh được mang bởi các yếu tố di truyền di động theo chiều ngang phổ biến giữa các vi khuẩn [107]–[109].

Vi khuẩn kháng thuốc có thể chống lại tác dụng của nhiều loại thuốc kháng sinh khác nhau, tuy nhiên, cơ chế kháng thuốc của chúng được chia thành bốn loại chính bao gồm: (1) hạn chế sự hấp thu thuốc; (2) sửa đổi phân tử mục tiêu của kháng sinh; (3) làm bất hoạt thuốc; (4) bơm thải kháng sinh ra khỏi tế bào. Dựa vào cấu trúc khác nhau giữa vi khuẩn Gram âm/dương, cơ chế kháng thuốc của chúng cũng cho thấy sự khác biệt khi cả bốn cơ chế đều được tìm thấy ở vi khuẩn Gram âm. Trong khi đó, chỉ có cơ chế (2) và (3) được tìm thấy ở vi khuẩn Gram dương khi không thể hạn chế sự hấp thu thuốc (không có màng ngoài LPS) và không cho thấy khả năng phù hợp với các cơ chế bơm thải kháng sinh [110], [111].



Hình 1.4. Các cơ chế kháng kháng sinh ở *Salmonella* spp. [112]

Đối với các loại kháng sinh nhắm vào quá trình tổng hợp axit nucleic (fluoroquinolones), cơ chế kháng thuốc thông qua sửa đổi DNA gyrase (vi khuẩn Gram âm - ví dụ: *gyrA*) hoặc topoisomerase IV (vi khuẩn Gram dương - ví dụ *gla*) để thay đổi trong cấu trúc của chúng, điều này làm giảm hoặc loại bỏ hoàn toàn khả năng

năng liên kết thuốc kháng sinh của các thành phần trên [113], [114].

Các đảo gen là các vị trí có tính bảo tồn được tìm thấy ở các vùng phụ trong hệ gen của *Salmonella*. Chúng được coi là nền tảng cho sự tiến hóa của chi này khi mang lại một số lợi thế về đặc tính cho vật chủ thông qua độc lực và các gen kháng đa thuốc (MD) [115]. Đảo gen 1 (đảo gen *Salmonella* SGI-1) chứa các gen liên quan đến MD với streptomycin, spectinomycin, sulfonamides, chloramphenicol, florfenicol, tetracycline và kháng sinh β -lactam. Ngoài ra, các gen này còn được mang trong các yếu tố di động như integron loại 1 được tìm thấy ở cụm kháng kháng sinh nằm ở đầu 3' của đảo [116], [117]. Theo đó, kể từ năm 1980, SGI-1 có liên quan đến chủng đa kháng DT 104 được phân lập nhiều từ người và các loài động vật trong sản xuất thực phẩm ở hầu hết các nơi trên thế giới [118].

Theo nghiên cứu của Heuer và cộng sự, sức đề kháng của các chủng *Salmonella* có được thông qua các yếu tố vận động như plasmid, chiếm tỷ lệ truyền gen cao và có lợi cho sự sống sót của vi khuẩn chủ [119]. Những plasmid này thường mã hóa cho cả hai yếu tố độc lực và tính MD tương tự như các đặc điểm trên đảo gen, tuy nhiên, plasmid còn có thể được chuyển gen theo chiều ngang và mang nhiều yếu tố di động khác như transposon và integron. Do vậy, sự xuất hiện của những plasmid này đã làm tăng sự đa dạng kiểu hình, mang lại nhiều lợi thế về thể chất trong quá trình thay đổi môi trường và tạo ra cơ hội rộng mở cho nhóm tế bào vật chủ [116], [120]. Hiện nay, plasmid được phân loại theo các nhóm không tương thích (Inc) dựa trên mức độ liên quan giữa các plasmid khác nhau trong cùng một loại vi khuẩn [121]. Một số loại đơn vị sao chép phổ biến như IncC và IncA có liên quan đến tính kháng MD, ngoài ra, sự hiện diện của β -lactamase phổ rộng có trong *Salmonella* phân lập từ thực phẩm đã và đang là căn nguyên cho các đợt bùng phát bệnh [117], [121], [122].

Integron là hệ thống tái tổ hợp tự nhiên tạo thành một trong những cơ chế hiệu quả nhất để tích lũy kháng kháng sinh. Cấu trúc của chúng kết hợp một số khung đọc mở dưới dạng các băng gen mã hóa nhiều đặc điểm liên quan đến tính kháng thuốc [116], [123]. Yếu tố di động này bao gồm ba phần chính: một gen mã hóa integrase (intI), một vị trí tái tổ hợp chính (attI) và một chất thúc đẩy phiên mã các gen bắt được (Pc) [124]. Integron rất quan trọng chủ yếu vì chúng chịu trách nhiệm về MD;

nghiên cứu của Rodríguez (2012) cho thấy một số yếu tố quyết định tính kháng thuốc ưu tiên liên kết với integron và đồng thời bao gồm những chất chịu trách nhiệm kháng streptomycin, trimethoprim, sulfafurazole và một số aminoglycoside [120]. Integron loại 1 có sự xuất hiện phổ biến về các nghiên cứu mặt lâm sàng và trong thực phẩm có nguồn gốc động vật và đặc biệt, chúng có mối liên quan mật thiết đến sự hiện diện của MD. Mặc dù bản thân các integron không phải là yếu tố di động, tuy nhiên chúng có thể được liên kết với các phần tử transposon có khả năng chuyển từ đơn vị sao chép này sang một đơn vị sao chép khác. Ngoài ra, transposon thường được tìm thấy trên plasmid, điều này đồng nghĩa với sự tăng cường hơn nữa quá trình lây lan của các cassettes gen kháng kháng sinh [124]. Dựa vào khả năng liên kết này của integron với các yếu tố di động và gen kháng thuốc, Cambrey đã có những kết luận liên quan đến sự phân tán nhanh chóng của chúng giữa các nhóm vi khuẩn khác nhau khi được tìm thấy trong cùng môi trường có phát hiện kháng sinh [125].

Kháng kháng sinh họ β -lactam

β -lactam là một trong những nhóm kháng sinh được quan trọng nhất hiện nay. Kháng sinh thuộc nhóm này đều có chung một cấu trúc lõi, cụ thể bao gồm một vòng β -lactam bốn cạnh. Theo nhiều nghiên cứu, đề kháng β -lactam xảy ra thông qua ba cơ chế chính bao gồm : (1) ngăn chặn sự tương tác giữa PBP mục tiêu và kháng sinh bằng cách điều chỉnh khả năng liên kết với PBP (thực hiện qua sự thay đổi các PBP hiện có hoặc thu nhận các PBP khác); (2) sự hiện diện của bơm dòng chảy có thể xả thải thuốc β -lactam ra khỏi tế bào; (3) thủy phân β -lactam bằng phản ứng sử dụng enzym β -lactamase [126], [127]

Các β -lactamase (ban đầu được gọi là penicilinase và cephalosporinase) bất hoạt thuốc β -lactam bằng cách thủy phân mở vòng tại một vị trí cụ thể trong cấu trúc vòng β -lactam, từ đây giảm khả năng liên kết với các protein PBP mục tiêu. Ngoài ra, các β -lactamase được biết đến có tính lan truyền rộng rãi và có thể bất hoạt bất kỳ loại thuốc β -lactam nào hiện nay. Chính vì vậy, sản xuất β -lactamase là cơ chế đề kháng phổ biến được sử dụng chính bởi vi khuẩn Gram âm với β -lactam, đồng thời là cơ chế kháng kháng sinh quan trọng nhất đối với các loại thuốc penicillin và cephalosporin [128], [129]

Các enzym β -lactamase được phân loại dựa trên cấu trúc phân tử và/hoặc đặc điểm chức năng của chúng. Về mặt cấu trúc, chúng được xếp vào bốn lớp chính bao gồm A, B, C hoặc D. Trong đó, có ba nhóm chức năng dựa trên tính đặc hiệu của cơ chất: cephalosporinase, serine β -lactamase và β -lactamase metallo (phụ thuộc vào kẽm). Các enzym này cũng có thể được biết đến bởi họ enzym của chúng; ví dụ: họ TEM (được đặt tên theo bệnh nhân đầu tiên), họ SHV (biến thể sulphydryl) và họ CTX (ưu tiên thủy phân cefotaxime). Vi khuẩn Gram âm có thể sản xuất β -lactamase từ cả bốn nhóm cấu trúc tuy nhiên các β -lactamase được tìm thấy trong vi khuẩn Gram dương chủ yếu từ lớp A, với một số từ lớp B [130]–[133]

B-lactamase đầu tiên được phát hiện từ *E. coli* và nằm trên nhiễm sắc thể bởi gen ampC (kháng ampicillin). Tuy rằng gen này được biểu hiện một cách tổng thể ở mức độ thấp, nhiều nghiên cứu cho thấy các đột biến có thể dẫn đến sự biểu hiện quá mức của gen. Các β -lactamase của AmpC cho thấy hiệu quả cao nhất đối với penicilin và một số cephalosporin thế hệ đầu tiên. Ngoài ra, có một số lượng lớn β -lactamase được sinh ra từ plasmid mang nhiều loại gen *bla* (gen β -lactamase). Nếu các β -lactamase này đề kháng với cephalosporin thế hệ sau, chúng được chỉ định là ESBL và bao gồm các thành viên của họ enzym TEM, SHV, CTX-M và OXA. Trong những nhóm kể trên, CTX-Ms là nhóm lớn nhất thường được tìm thấy ở *E. coli*, đặc biệt là các chủng phân lập UTI. Từ đó, ta có thể thấy vi khuẩn sản xuất ESBL cũng có thể đề kháng với nhiều nhóm kháng sinh, nhưng thường chúng sẽ nhạy cảm nhất với các chất ức chế β -lactamase. Các chất ức chế này có cấu trúc tương tự như β -lactamase, tuy nhiên chúng chỉ có khả năng kháng khuẩn yếu khi hoạt động một mình, khi hoạt động cùng β -lactam chúng sẽ thể hiện chức năng rõ rệt hơn. Do vậy, các cặp thuốc kháng sinh/thuốc ức chế β -lactamase thường được sử dụng bao gồm amoxicillin/axit clavulanic, ampicillin/sulbactam và piperacillin/tazobactam [126], [131], [133]–[136].

Ngày nay, người ta nhấn mạnh rất nhiều vào việc phát triển nghiên cứu phối hợp thuốc ức chế β -lactamase để có thể đạt hiệu quả tốt hơn, đặc biệt là trong công cuộc chống lại các chủng CRE. Một sự kết hợp kháng sinh/thuốc ức chế β -lactamase mới là ceftolozane/tazobactam, được sử dụng chủ yếu để chống lại *P. aeruginosa* và đồng thời cho thấy hứa hẹn có tác dụng trên các chủng vi khuẩn Gram âm sản xuất

ESBL. Ngoài ra, hiện nay còn tồn tại các chất ức chế β -lactamase mới không có cấu trúc tương tự như thuốc β -lactam. Kháng sinh đầu tiên trong nhóm này được phê duyệt sử dụng là avibactam sử dụng với ceftazidime chống lại vi khuẩn Gram âm. Ngoài ra, avibactam còn đang được thử nghiệm để sử dụng với aztreonam chống lại CREs. Một chất ức chế β -lactamase khác có cấu trúc không giống β -lactam là vaborbactam. Nó đã được phê duyệt để sử dụng với meropenem vào năm 2017 để chống lại vi khuẩn Gram âm gây nhiễm trùng đường tiết niệu phức tạp. Thật không may, cho đến nay chưa có loại thuốc kết hợp nào mới hơn được thiết lập để chống lại trực tiếp các chủng CREs. Ngoài ra, các metallo- β -lactamase cũng đang thể hiện nhiều bất lợi khi không thể bị ức chế khi các enzym này bao gồm 3 nhóm khác nhau và đa dạng các cấu trúc và cơ chế [137]–[139].

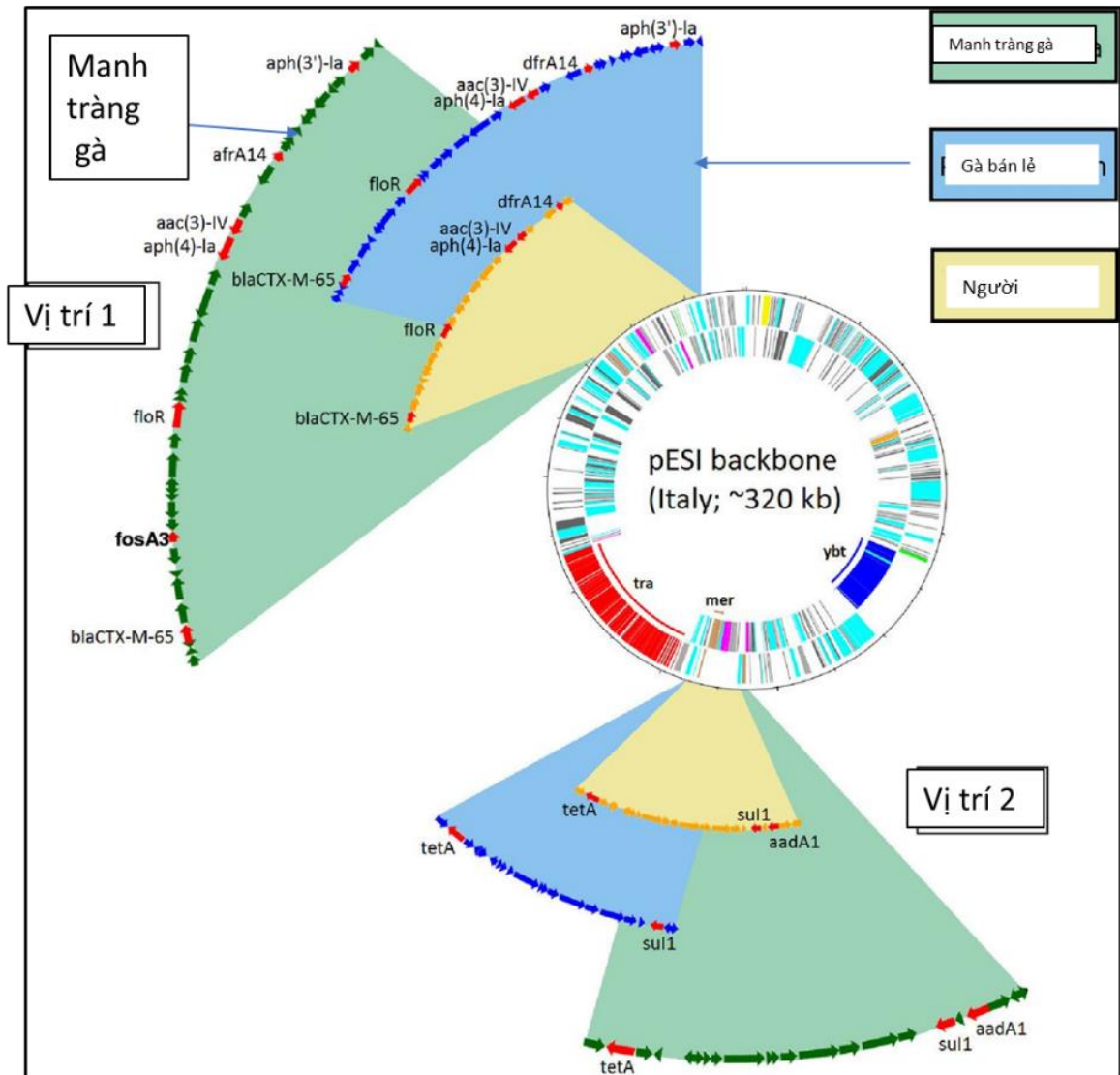
1.3.2. Gen độc lực, đảo SPI ở *Salmonella*

Kháng kháng sinh trên *Salmonella enterica* đã tăng lên kể từ những năm 1980 [140]. Các CDC Hoa Kỳ coi hiện trạng kháng thuốc trên *Salmonella* là mối đe dọa nghiêm trọng đối với sức khỏe cộng đồng. Báo cáo gần nhất về tình hình thực tế của CDC năm 2019 cho thấy 16% chủng *Salmonella* kháng với ít nhất một loại kháng sinh, 02% tổng số chủng đa kháng thuốc (kháng ba hoặc nhiều loại thuốc kháng sinh [141]).

Ước tính có tới 94% trường hợp nhiễm *Salmonella* ở Hoa Kỳ gây nên do thực phẩm, chứng tỏ tầm quan trọng của việc điều tra *Salmonella* trên thực phẩm nguồn gốc động vật [142]. Hệ thống giám sát kháng kháng sinh quốc gia (NARMS) theo dõi độ nhạy cảm với kháng sinh của vi khuẩn liên quan đến động vật, thịt, sản phẩm từ thịt và bệnh truyền qua thực phẩm ở người. Số liệu báo cáo năm 2015 của NARMS chỉ ra 21,3% mẫu liên quan tới động vật dương tính với *Salmonella* với các nguồn riêng lẻ từ 8% ở bò thịt và cao nhất lên tới tới 50% ở phân lợn [143].

Một số gen kháng kháng sinh nằm trên các yếu tố di truyền vận động (Mobile genetic elements - MGEs) trong nhiều chủng *Salmonella* [144]. Các yếu tố di truyền vận động, giống như plasmid là những yếu tố góp phần lan truyền, làm đa dạng số lượng gen kháng kháng sinh trong *Salmonella* và các vi khuẩn họ *Enterobacteriaceae* khác, như *Klebsiella pneumoniae* và *Escherichia coli* [145], [146]. Đặc biệt, plasmid đóng vai trò quan trọng mang gen kháng kháng sinh được tìm thấy trong các ca bệnh nhiễm

trùng tại bệnh viện, bùng phát cộng đồng và cũng có liên quan đến gen kháng kháng sinh trong các chủng vi sinh vật phân lập từ động vật [147]–[149]. Các gen kháng kháng sinh aminoglycoside là một trong các họ gen thường được tìm thấy trên các plasmid trong *Salmonella*, ví dụ như gen *bla*_{CTX-M-65} (Hình 1.5) [149], [150].



Hình 1.5. So sánh các plasmid trong các chủng CTX-M-65. So sánh đồ họa của plasmid pESI ở chủng phân lập tại Ý chứa gen *bla*_{CTX-M-65} (14026835) so với các chủng phân lập ở Hoa Kỳ [149].

Salmonella có khả năng chứa nhiều plasmid liên hợp lớn, có thể mang gen kháng kháng sinh với một số loại kháng sinh, bao gồm β -lactam, tetracycline, aminoglycoside và quinolone [151], [152]. Trong một tế bào có thể chứa nhiều plasmid. Tuy nhiên các plasmid của cùng một nhóm có họ hàng thường không có khả năng cùng tồn tại - không tương thích (incompatible) trong cùng một chủng. Trong

khi plasmid của các nhóm khác nhau thường có thể cùng tồn tại [153]. Sự không tương thích có thể được dự đoán bằng cách phân loại plasmid dựa trên các gen liên quan đến phản ứng mà chúng chứa [154]. Plasmid của một số nhóm không tương thích khác nhau có liên quan đến nhiều gen kháng kháng sinh trong *Salmonella* và các vi khuẩn khác [155]. Một ví dụ về plasmid IncA/C được phân lập từ *Salmonella* có liên quan đến các gen kháng aminoglycoside, β -lactam, chloramphenicol, sulfisoxazole, tetracycline và trimethoprim [156]. Các phân lập nhiễm trùng ở người được phân lập gần đây từ những năm 1960 liên quan đến plasmid loại F, I1, X1 và N là những người mang gen kháng β -lactam sớm trong *Salmonella* [157].

Tích hợp cũng đã được chứng minh là quan trọng đối với sự truyền của AR trong cả phân lập lâm sàng và nông nghiệp của *Salmonella* [158]. Tích hợp có cấu trúc được xác định rõ bao gồm: gen integrase, xúc tác cho sự tích hợp của các gen mới, vị trí tái tổ hợp attI nơi các gen mới tích hợp và một chất thúc đẩy để biểu hiện các gen hợp nhất. Các gen kết hợp được gọi là băng gen và thường là gen kháng kháng sinh [146]. Sự sắp xếp của các gen này được sử dụng để gán cho chúng các số dựa trên cơ sở dữ liệu Integrall của các chuỗi integron đã biết [159]. Mặc dù không di động độc lập, tích hợp có thể được huy động bởi các nguyên tố khác, như plasmid hoặc transposon [160]. Nghiên cứu của Hoffman và cộng sự cũng đã cho chúng ta cái nhìn tổng quát về các gen kháng kháng sinh được tìm thấy trên các plasmid IncA/C khác nhau, chứa các gen kháng các loại kháng sinh khác nhau được thể hiện tại Bảng 1.4 [156].

Bảng 1.4. Kiểu hình và gen liên quan kháng kháng sinh của plasmid IncA/C trong các tuýp huyết thanh *Salmonella* [156].

Tuýp huyết thanh	Kentucky CFSAN0074 28	Newport CFSAN00742 5	Typhimurium CFSAN007405	Agona CFSAN00742 6	Heidelberg CFSAN000405	Infantis CFSAN007427
Kiểu hình kháng kháng sinh	STR- FI AMC- AMP- FOX- TET- TOI- AXO- CHL- GEN- KANS	FOX- STR- FIS- TET- COT- TIO- AXO- CEP- CHL- AMC- AMP	FOX- AXO- CEP- CHL- KAN- TET- TIO AMC- AMP- NAL- STR- FIS	AXO- CHL- STR- AMC- AMP- FOX- - FIS- TET- TIO	FOX- AXO- CHL- GEN- AMC- AMP- KAN- STR- FIS- TET- TIO	- CHL- GEN- KAN- STR- FIS- TET- AMC- AMP- FOX- AXO- TIO
Beta-Lactam	bla _{cmy-2} , bla _{tem-1}	bla _{cmy-2} [*]	bla _{cmy-2} [*]	bla _{cmy-2}	bla _{cmy-2} [*] , bla _{tem-1}	bla _{cmy-2} , bla _{tem-1}

Tuýp huyết thanh	Kentucky CFSAN0074 28	Newport CFSAN00742 5	Typhimurium CFSAN007405	Agona CFSAN00742 6	Heidelberg CFSAN000405	Infantis CFSAN007427
Aminoglycosides	<i>strA, strB, aadB aph(3)-Ia</i>	<i>strA, strB, aadA2</i>	<i>strA, strB, aadB</i>	<i>strA, strB</i>	<i>strA, strB, aadA1, aadB, aac(3)-VI, aph(3')-Ia</i>	<i>strA, strB, aadA1, aac(3)-VI</i>
Tetracyclines	<i>tetR(A), tetA</i>	<i>tetR(A), tetA</i>	<i>tetR(A), tetA</i>	<i>tetR(A), tetA</i>	<i>tetR(A), tetA</i>	<i>tetR(A), tetA</i>
Chloramphenicols	<i>floR, cmlA</i>	<i>floR</i>	<i>floR, cmlA</i>	<i>floR</i>	<i>floR, cmlA</i>	<i>floR</i>
Ức chế tổng hợp Folate	<i>sul1, sul2</i>	<i>sul1, sul2, dfra12</i>	<i>sul1, sul2</i>	<i>sul2</i>	<i>sul1, sul2</i>	<i>sul1, sul2</i>
QAC	<i>quacE, sugE</i>	<i>quacE, sugE[±]</i>	<i>quacE, sugE[±]</i>	<i>sugE</i>	<i>quacE[±], sugE[±]</i>	<i>quacE, sugE</i>
ION thủy ngân	<i>merA[±], merE[±], merP, merT, merR, merB, merC, merD</i>	<i>merD, merE, merP, merT, merR, merA, merB, merC,</i>	<i>merC, merD, merE, merP, merT, merA, merB, merR,</i>		<i>, merD[±], merE[±], merP, merT, merR, merB, merC</i>	<i>merE[±], merP, merT, merR, merA[±], merB, merC, merD[±],</i>

Mặc dù đã nghiên cứu mối liên hệ được thiết lập giữa plasmid và gen kháng kháng sinh, nhưng sự phổ biến và đặc điểm của plasmid có chứa gen kháng kháng sinh trong các chủng phân lập từ động vật ít được biết đến [144]. Xem xét tỷ lệ nhiễm trùng do thực phẩm cao ở Hoa Kỳ và tăng sự kháng kháng sinh, việc hiểu bức tranh hoàn chỉnh về AR trong *Salmonella* là rất quan trọng. Để điều tra mối quan hệ này, 193 chủng *S. enterica* liên quan đến động vật của các tuýp huyết thanh đa dạng và hồ sơ kháng kiểu hình, được NARMS thu thập từ năm 1998 đến 2011, đã được chọn cho nghiên cứu này. Phân tích trình tự toàn bộ hệ gen (WGS) đã xác định plasmid, gen kháng kháng sinh, tích hợp và cassette AR (ARC) có trong các phân lập này. Để xác định mức độ liên quan hiện tại của các ARC này, dữ liệu hệ gen có sẵn công khai của *S. enterica* từ thực phẩm động vật được thu thập bởi Cơ quan Thanh tra và An toàn Thực phẩm USDA (FSIS) từ năm 2014 đến 2018 (n = 6681), đã được phân tích cho thấy sự hiện diện của ARC. Đây là phân tích WGS đầu tiên về phân lập từ bộ sưu tập động vật NARMS, đại diện cho 15 năm đầu tiên của chương trình này. Kết hợp với phân tích dữ liệu WGS từ 5 năm gần đây nhất của các phân lập HAACP FSIS, đây là nghiên cứu toàn quốc nhất về AR trong *Salmonella* liên quan đến động vật thực phẩm. Các họ của ARC và MGE được xác định trong nghiên cứu này cải thiện sự hiểu biết

của chúng ta về kháng kháng sinh ở thực phẩm động vật Hoa Kỳ. Từ đó, có thể giúp chúng ta dự đoán và ngăn chặn sự lây lan thêm của AR trong *Salmonella*.

Đảo mầm bệnh của *Salmonella* (SPI) là các phân đoạn di truyền được nghiên cứu kỹ lưỡng góp phần vào nâng cao hiệu quả lây nhiễm. Chúng chứa nhiều gen mã hóa các yếu tố độc lực, bao gồm một số loại hệ thống bài tiết (T1SS, T3SS và T6SS), chất kết dính, protein hiệu ứng và các yếu tố khác liên quan đến sự xâm nhập của vi khuẩn, sinh bệnh học đường ruột, sự sống sót và tăng sinh nội bào [161]–[163]. Việc thu nhận SPI có thể đạt được thông qua chuyển gen ngang từ các loài vi khuẩn khác và là một “bước nhảy lượng tử” trong quá trình tiến hóa của *Salmonella* [161], [164], [165]. Hiện tại cho tới nay, 23 SPI đã được báo cáo [161], [166]–[170]. Các SPI này đa dạng về cấu trúc và chức năng, và thậm chí cùng một SPI có thể có cấu trúc khác nhau trong một tuýp huyết thanh nhất định, cho thấy một loạt các yếu tố có thể lây truyền có khả năng liên quan đến quá trình tiến hóa liên tục của SPI và tính đặc hiệu của vật chủ [9,10]. Một nghiên cứu của Suez cho thấy rằng trong số 21 SPI đầu tiên, SPI-1 đến -5, -9, -13 và -14 được bảo tồn trong các chủng huyết thanh *Salmonella* không thương hàn xâm lấn (iNTS), trong khi các chủng khác biến đổi theo các tuýp huyết thanh khác nhau [163]. Ví dụ, *S. Typhimurium* LT2 mang 13 SPI, trong khi *S. Typhi* mang 17 SPI [166]. Gần đây, chúng tôi đã phân tích 61 chủng *S. Dublin* được phân lập từ người, bò bệnh và thịt bò bán lẻ cùng với 13 tuýp huyết thanh khác và kết quả cho thấy rằng tất cả các chủng bất kể tuýp huyết thanh nào đều mang SPI-1 đến 6, 9 và 11. Không có chủng nào mang SPI-1 đến 6, 9 và 11. SPI-7, 15, 20 và 21. Tất cả các chủng *S. Dublin* và một chủng *S. Enteritidis* mang nhiều SPI nhất ($n = 15$) so với các tuýp huyết thanh khác [171]. Các nghiên cứu trước đây về cấu hình SPI đã được thực hiện bằng microarray, PCR, hoặc giải trình tự khung đọc mở (Open Reading Frame ORF) của các SPI cụ thể với số lượng chủng phân lập và tuýp huyết thanh hạn chế. Cách tiếp cận như vậy có những hạn chế và có thể cung cấp một bức tranh không chính xác về cấu trúc và tổ chức của SPI. Do công nghệ giải trình tự toàn bộ hệ gen đã trở nên nhanh hơn và rẻ hơn, nên có thể xác định toàn diện SPI và các đặc điểm hệ gen khác với số lượng lớn các dòng phân lập và tuýp huyết thanh quan tâm.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm, thời gian nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng

- 182 mẫu thịt gà, vịt và ngan nguyên con được thu thập ở chợ trên địa bàn một số quận thuộc Thành phố Hà Nội.

2.1.2. Địa điểm

- Địa điểm lấy mẫu: Chợ trên địa bàn 05 quận tại Tp. Hà Nội.

- Địa điểm tiến hành nghiên cứu: Khoa Vi sinh vật (được đổi tên là Khoa vi sinh và Biến đổi gen từ ngày 01 tháng 01 năm 2020 đến nay) của Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia, Bộ Y tế.

2.1.3. Thời gian thực hiện

- Từ tháng 4 năm 2019 đến tháng 6 năm 2022;

- Thời điểm lấy mẫu thịt gà, vịt và ngan nguyên con: tháng 9 và tháng 10 năm 2019;

- Thời gian phân tích mẫu: tháng 9 và tháng 10 năm 2019;

- Thời gian thử nghiệm kháng kháng sinh: từ tháng 9 đến tháng 10 năm 2019;

- Thời gian giải trình tự và phân tích dữ liệu hệ gen, thực hiện các thí nghiệm khẳng định: từ tháng 10 năm 2019 đến tháng 6 năm 2022.

2.2. Môi trường, hóa chất, dụng cụ thí nghiệm

2.2.1. Môi trường nuôi cấy

Peptone water (Merck, Germany), Rappaport vassiliadis (Merck, Germany), TT broth (Merck, Germany), XLD agar (Merck, Germany), BGS agar (Merck, Germany), TSI agar (Merck, Germany), LIA agar (BD, USA), BHI broth (Merck, Germany), TSA agar (BD, USA), Muler Hinter (Merck, Germany) và các môi trường khác.

2.2.2. *Chủng chuẩn*

Salmonella Typhimurium ATCC 14028 (Virgina, USA); *Escherichia coli* ATCC 25922 (Virgina, USA); *Escherichia coli* ATCC 8739 (Virgina, USA).

2.2.3. *Kháng huyết thanh Salmonella.*

Kháng huyết thanh đa giá O và kháng huyết thanh đa giá H (Difco, USA).

2.2.4. *Kháng sinh*

Khoanh giấy kháng sinh của Liofilchem discs (Roseto degli Abruzzi (TE), Italy): ciprofloxacin (viết tắt là CIP, 5 µg); AmpC disc kit: cefotaxime (viết tắt là CTX, 30 µg); cefotaxime 30 µg + cloxacillin (viết tắt là CTC); chloramphenicol (viết tắt là C, 10 µg); ampicillin (viết tắt là AMP, 10 µg); cefuroxime (viết tắt là CXM, 30 µg); ceftriaxone (viết tắt là CRO, 30 µg); ESBL disc kit (acc. to CLSI); ceftazidime (viết tắt là CAZ, 30 µg), ceftazidime + clavulanic acid (viết tắt là CAL, 30 + 10 µg),); imipenem (viết tắt là IMI 10 µg); nalidixic acid (viết tắt là NA, 30 µg); ceftazidime (viết tắt là CAZ, 30 µg); ceftazidime 30 µg + cloxacillin (viết tắt là CAC); gentamicin (viết tắt là CN, 10 µg); tetracycline (viết tắt là TE, 30 µg); meropenem (viết tắt là MRP, 10 µg); trimethoprim (viết tắt là TM, 5 µg). cefoxitin (viết tắt là FOX, 30 µg); cefazoline (viết tắt là CZ, 30 µg); cefotaxime (viết tắt là CTX, 30 µg), ceftazidime (viết tắt là CAZ, 30 µg), cefotaxime (viết tắt là CTX, 30 µg); cefotaxime + clavulanic acid (viết tắt là CTL, 30 + 10 µg);

Xác định điểm ức chế (giá trị MIC) của chủng sử dụng Liofilchem discs (Roseto degli Abruzzi (TE), Italy): cefuroxime (CXM 0.016-2256mg/L); ceftazidime (CAZ 0.016-256 mg/L); cefixime (CFM 0.016-256 mg/L); cefotaxime (CTX 0.016-256 mg/L); ceftriaxone (CRO 0.016-256 mg/L), colistin (CS 0.064-1024 mg/L); ceftazidime/ceftazidime+clavulanic acid (CAZ/CAL 0.5-32/0.064-4 mg/L); cefotaxime/cefotaxime+Clavulanic acid (CTX/CTL 0.25-16/0.016-1 mg/L).

2.2.5. *Dụng cụ, trang thiết bị máy móc phòng thí nghiệm.*

- Tủ sấy 180 – 200 °C;
- Nồi hấp áp lực;

- Tủ ẩm 37 ± 1 °C, $41,5 \pm 1$ °C, 28 °C ± 1 °C (Binder, Đức);
- Đĩa petri đường kính 90 – 100 mm;
- Pipet có vạch loại xả hết (loại 1, 5, 10 mL);
- Nồi cách thủy có thể duy trì nhiệt độ từ 44 – 47 °C;
- Máy Real time PCR (7500, A&B-Thermo, USA);
- Máy PCR (Biorap, USA);
- Vitek MS/hệ thống định danh Maldi TOF (BioMérieux, USA);
- Hệ thống MiSeq (Illumina, USA);
- Hệ thống kính hiển vi BX63 (Olympus, Nhật Bản);
- Bình thủy tinh vô trùng, dung tích 250 – 500 ml;
- Cân kỹ thuật (Mettler Toledo, Thụy Sĩ) ;
- Máy đồng nhất mẫu;
- Máy vortex (Ika, Ý);
- Thiết bị đo pH (Mettler Toledo, Thụy Sĩ) : chính xác đến ± 0.1 đơn vị pH ở 25 °C;
- Tủ lạnh y sinh (PHCBi, Nhật Bản)
- Vòng que cấy: bằng platin/iridi hoặc niken/crom có đường kính khoảng 3mm;
- Que cấy thủy tinh;
- Các ống nghiệm: kích thước khoảng 16 mm x 160 mm và 20 mm x 200 mm;

Toàn bộ các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu được kiểm định, hiệu chuẩn theo quy định pháp luật và ISO/IEC 17025; các thiết bị, dụng cụ được hiệu chuẩn, bảo trì và được theo dõi hàng ngày và môi trường thí nghiệm được kiểm soát hàng ngày nhằm đảm bảo độ chính xác cho nghiên cứu.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp lấy mẫu

Mẫu thịt gà, vịt và ngan nguyên con được lấy mẫu ngẫu nhiên tại một số chợ (các chợ được đánh mã), tại thành phố Hà Nội: cách thức lựa chọn mẫu ngẫu nhiên tại cửa hàng (nghiên cứu cắt ngang).

Mỗi mẫu được đựng riêng rẽ vào 01 túi gắn mép vô trùng, có thực hiện mã hóa mẫu; nhiệt độ cần duy trì khoảng (04 – 08 °C) và vận chuyển mẫu đến phòng thí nghiệm để xử lý mẫu trong cùng ngày. Quá trình lấy mẫu từng đối tượng gia cầm (gà, vịt và ngan) được tiến hành theo Bảng 2.1.

Tiêu chuẩn loại trừ: mẫu bị rách tem/tem bị mờ không đọc được thông tin, túi chứa mẫu đã bị rách, quá trình vận chuyển mẫu không đảm bảo duy trì nhiệt độ lạnh bằng đá gel

Tiêu chuẩn chấp nhận: mẫu được vận chuyển về phòng thí nghiệm trong ngày, mẫu có đầy đủ biên bản lấy mẫu, tem đính kèm từng mẫu chứa đầy đủ thông tin về mẫu.

Bảng 2.1. Kế hoạch mua mẫu

STT	Quận	Đối tượng	Số lượng mẫu (gà/vịt/ngan)	Số mẫu lấy
1	Ba Đình	Gà/vịt/ngan	16/8/9	33
2	Cầu Giấy	Gà/vịt/ngan	32/3/2	37
3	Thanh Xuân	Gà/vịt/ngan	17/12/7	37
4	Hoàng Mai	Gà/vịt/ngan	20/13/7	39
5	Đông Đa	Gà/vịt/ngan	19/11/6	36
	Tổng số		182	182

Kế hoạch lấy mẫu chi tiết được cụ thể hóa về số lượng mẫu/chợ hoặc cửa hàng như trên Bảng 2.2.

Bảng 2.2. Danh sách chợ

Quận	Tên chợ	Mã của chợ	Địa chỉ	Lượng mẫu
Ba Đình	Chợ Ngọc Khánh	GSC01	Ba Đình – Tp. Hà Nội	4
	Cầu thang số 2 TT Thành Công	GSC02	Ba Đình – Tp. Hà Nội	1
	Nhà E6 TT Thành Công	GSC03	Ba Đình – Tp. Hà Nội	1
	Chợ Thành Công	GSC04	Ba Đình – Tp. Hà Nội	2
	Cửa hàng ngõ 65 Vạn Bảo	GSC05	Ba Đình – Tp. Hà Nội	2
	Chợ Châu Long	GSC06	Ba Đình – Tp. Hà Nội	3
	Cửa hàng Hào Nam	GSC07	Ba Đình – Tp. Hà Nội	4
	Chợ Cống Vị	GSC08	Ba Đình – Tp. Hà Nội	4
	Chợ Ngọc Hà	GSC09	Ba Đình – Tp. Hà Nội	3
	Chợ Hoa Sen	GSC10	Ba Đình – Tp. Hà Nội	3
	Chợ Vĩnh Phúc	GSC11	Ba Đình – Tp. Hà Nội	3
	Cửa hàng khu Kim Mã	GSC12	Ba Đình – Tp. Hà Nội	2
Cầu Giấy	Chợ Trung Kính	GSC13	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	2
	Chị Sâm đầu chợ Cầu Giấy	GSC14	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Ngõ 72 Dương Quảng Hàm	GSC15	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	2
	Chợ Nghĩa Tân	GSC16	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	3
	Đổi diện nhà 2-a18 Nghĩa Tân	GSC17	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Đầu ngõ đổi diện a25 Nghĩa Tân	GSC18	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Chợ Mỹ Đình	GSC19	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	5
	Chợ Đồng Xa	GSC20	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	4
	Đầu ngõ 2 Phạm Thận Duật	GSC21	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Công a25 Nghĩa Tân	GSC22	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Đổi diện 79 ngõ 58 Nguyễn Khánh Toàn	GSC23	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Trước số nhà 23 ngõ 143 Quan Hoa	GSC24	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1

	Kiot 01 ngõ 72 Dương Quảng Hàm	GSC25	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Cổng làng Cốm Vòng	GSC26	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Gần 136 Mai Dịch	GSC27	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	
	Đổi diện Số 2 a18 Nghĩa Tân	GSC28	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	2
	Chợ KTT Nghĩa Đô	GSC29	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Đổi diện 95 Đình Thôn	GSC30	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Ngõ 402 Mỹ Đình	GSC31	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	2
	Chợ khu Bắc Nghĩa Tân	GSC32	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Số 3 ngõ 117 Trần Cung	GSC33	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Đổi diện cổng TDP hoàng 15, Trần Cung	GSC34	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
	Cửa hàng khu Cổ Nhuế 2	GSC35	Cầu Giấy – Tp. Hà Nội	1
Hoàng Mai	Chợ Tân Mai	GSC36	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	3
	Cửa hàng phố Trần Điền	GSC37	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	2
	Cửa hàng Phố Nguyễn An Ninh	GSC38	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	2
	Chợ Đầu mối Đèn Lù	GSC39	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	4
	Chợ Góc Đè	GSC40	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	4
	Chợ Quang	GSC41	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	2
	Chợ Xanh Định Công	GSC42	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	5
	Chợ Đại Từ	GSC43	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	3
	Cửa hàng Trương Định	GSC44	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	4
	Chợ Bằng A	GSC45	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	3
	Chợ Thôn Thượng	GSC46	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	1
	Trước số nhà 115b Định Công Thượng	GSC47	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	1
Chợ Vĩnh Hưng	GSC48	Hoàng Mai – Tp. Hà Nội	3	
Thanh Xuân	Chợ Kim Giang	GSC49	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	6
	Chợ Khương Trung	GSC50	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	2
	54 Phùng Khoang	GSC51	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	1
	Chợ Phùng Khoang	GSC52	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	3
	Đổi diện 79 Hạ Đình	GSC53	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	1

	125 Hạ Đình	GSC54	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	1
	44 ngõ 480 Khương Đình	GSC55	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	1
	371 Khương Trung	GSC56	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	2
	374 Khương Trung	GSC57	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	1
	Chợ Ngã Tư Sở	GSC58	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	2
	Chợ Cầu Lủ	GSC59	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	3
	Chợ Khương Đình	GSC60	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	11
	Chợ Thanh Xuân Bắc	GSC61	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	2
	Cửa hàng Triều Khúc	GSC62	Thanh Xuân - Tp. Hà Nội	3
Đông Đa	Chợ Phúc Lai	GSC63	Đống Đa – Tp. Hà Nội	6
	Chợ Láng Thượng	GSC64	Đống Đa – Tp. Hà Nội	6
	Chợ Thái Hà	GSC65	Đống Đa – Tp. Hà Nội	4
	Chợ Hoàng Hoa Thám	GSC66	Đống Đa – Tp. Hà Nội	1
	Chợ Bưởi- Hoàng Hoa Thám	GSC67	Đống Đa – Tp. Hà Nội	3
	Chợ Vĩnh Hồ	GSC68	Đống Đa – Tp. Hà Nội	9
	Chợ Láng Hạ B	GSC69	Đống Đa – Tp. Hà Nội	3
	Chợ Láng Hạ	GSC70	Đống Đa – Tp. Hà Nội	2
Tổng số	70 chợ		05 quận	182

Lấy mẫu tại 70 chợ tại 05 quận của thành phố Hà Nội. Mẫu được mua theo từng đợt, mỗi mẫu là thịt gà nguyên con hoặc thịt vịt nguyên con hoặc thịt ngan nguyên con, mẫu không bao gồm nội tạng. Mỗi mẫu được lấy bằng cách mua và người bán bỏ trực tiếp vào túi gắn mép vô trùng (nhằm tránh bị nhiễm chéo do quá trình lấy mẫu). Các mẫu được mã hóa và đảm bảo đầy đủ thông tin về mẫu, bao gồm: thời gian, địa điểm, điều kiện lấy mẫu và tình trạng mẫu. Túi gắn mép đã chứa mẫu được đặt vào thùng chứa đá gel lạnh. Mẫu được chuyển về Khoa Vi sinh vật và Biến đổi gen của Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia trong ngày.

2.3.2. Phương pháp phân lập và khẳng định *Salmonella* spp.

Mẫu được thực hiện kiểm nghiệm sự tồn tại (phát hiện) *Salmonella* spp. theo quy trình USDA method (MLG 4.04) [172] mục 4.5.5 (phần Whole Bird and Parts Rinses). Quy trình tóm tắt như sau:

- Mẫu gia cầm nguyên con được đặt vào trong một túi gắn mép (hoặc túi dập mẫu) chứa sẵn 400mL đệm peptone;

- Tráng rửa toàn bộ bề mặt bên trong và bên ngoài mẫu bằng việc lắc thủ công: sử dụng một tay giữ phần thân thịt, tay còn lại giữ chặt miệng túi lắc với biên độ 18 - 24 cm trong vòng 1 phút (khoảng 35 vòng/phút) để thu được huyền phù mẫu;

- Rót 30 mL huyền phù mẫu vào bình (túi) đã chứa sẵn 30mL đệm peptone vô trùng và mang dịch huyền phù này tăng sinh ở 37 °C /20-24h;

- Từ dịch tăng sinh không chọn lọc lấy một lượng (0,1 mL và 0,5 mL) vào lần lượt hai môi trường tăng sinh chọn lọc RV, TT và ủ 42±5 °C /22-24h;

- Từ dịch tăng sinh chọn lọc ria lên hai loại thạch chọn XLD và BGS ủ 37 °C /18-24h;

- Lựa chọn khuẩn lạc theo USDA MLG trên mỗi loại thạch chuyển lên thạch TSA, thực hiện thử nghiệm hóa sinh và kháng huyết thanh.

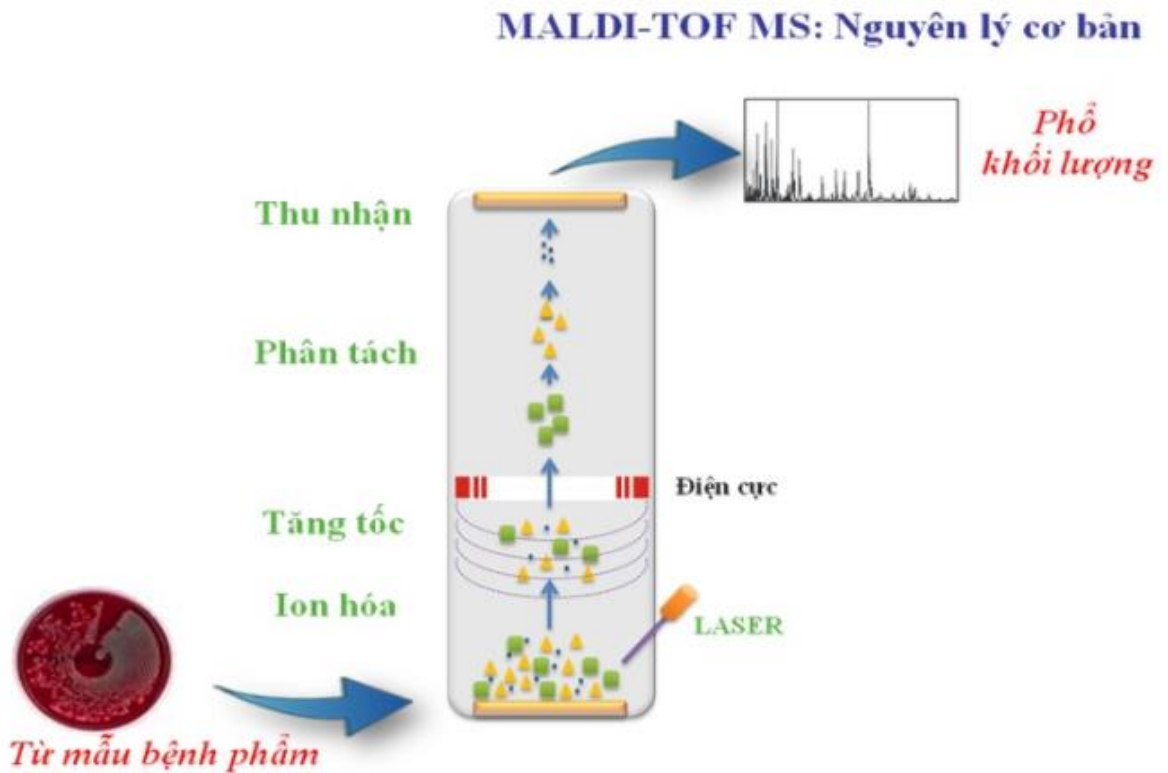
Mẫu dương là mẫu có hình thái khuẩn lạc điển hình trên thạch chọn lọc, có phản ứng hóa sinh điển hình và ngưng kết với kháng huyết thanh O và H đa giá.

Mỗi mẫu giữ tối thiểu 01 chủng trong BHI-glyceron 15% ở -75 °C tại Khoa VSGMO, NIFC. Các chủng sẽ được đánh mã và sử dụng cho các phân tích tiếp theo.

2.3.3. Kỹ thuật MALDI – TOF định danh vi sinh vật

Mỗi chủng của một mẫu được khẳng định lại bằng việc sử dụng kỹ thuật Maldi TOF. Tóm tắt quá trình cụ thể như sau:

VITEK[®] MS là hệ thống khối phổ, được sử dụng định danh vi khuẩn, sử dụng công nghệ MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight) nhằm định loại các loài vi khuẩn được thực hiện bằng ghi nhận các dải quang phổ và phân tích các dải quang phổ với cơ sở dữ liệu của VITEK[®] MS được cụ thể hóa theo Hình 2.3. So sánh phổ tương đồng của protein từ chủng vi sinh mục tiêu với cơ sở dữ liệu phổ của hơn 600 chủng (ngân hàng dữ liệu IVD) và khoảng 4000 chủng (ngân hàng dữ liệu Ruo) có thể nhanh chóng cho ra kết quả định loại vi sinh vật chỉ trong vài phút cho một chủng, yêu cầu về lượng sinh khối ít, lượng hóa chất vật tư ít, chi phí thấp và đưa ra định danh tới mức độ tên loài, thậm chí tên chủng vi sinh vật.



Hình 2.1. Nguyên lý cơ bản định danh vi khuẩn bằng hệ thống VITEK MS [173]

Quá trình thực hiện định danh vi khuẩn bằng công nghệ MALDI TOF sử dụng hệ thống VITEK MS theo hướng dẫn của hãng máy [173] như sau:

- 1 Chủng vi sinh vật được ria lên TSA: điều kiện nuôi cấy 37 °C/24h;
- 2 Sinh khối vi khuẩn (khuẩn lạc thuần) phết lên từng giếng (well) của khay (slide);
- 3 Sử dụng pipet nhỏ 0,1 uL dung dịch CHCA lên giếng đã phết sinh khối vi sinh;
- 4 Sử dụng thiết bị quét mã slide, ghi mã mẫu vào phần mềm Malditof preparation trên máy tính;
- 5 Thực hiện chạy máy;
- 6 Thực hiện vào phần mềm Myla, đọc kết quả.

2.3.4. Phương pháp xác định khả năng miễn cảm với kháng sinh

Mỗi chủng *Salmonella* được phân lập từ mẫu dương tính sẽ được xác định khả năng miễn cảm với kháng sinh. Sự nhạy cảm kháng sinh của chủng *Salmonella* đánh

giá bằng phương pháp khoan giấy kháng sinh [174]:

- 1 Chuẩn bị dung dịch McFaland 0,5 để kiểm soát nồng độ vi khuẩn hoặc sử dụng thiết bị đo độ đục và nuôi vi khuẩn *Salmonella*: $10^6 - 10^8$ CFU/mL;
- 2 Dùng tăm bông vô trùng quét huyền phù chủng *Salmonella* lên thạch Muller Hinton;
- 3 hong khô đĩa ở nhiệt độ phòng (trong box cấy) và đặt khoan giấy kháng sinh có chứa kháng sinh lên bề mặt đĩa chứa chủng vi khuẩn (nồng độ và các kháng sinh được thể hiện trong Bảng 2.3);
- 4 Đo kích thước vòng kháng (vòng trong quanh khoan giấy kháng sinh) đối chiếu với kích thước của chủng chứng *Esherichia coli* ATCC 25922 theo hướng dẫn CLSI về thử kháng sinh theo Bảng 2.3 [175];
- 5 Đọc kết quả: kháng, nhạy cảm, không kháng theo CLSI [176].

Bảng 2.3. Kháng sinh và điểm đọc kháng sinh đồ

Kháng sinh	Tên viết tắt	Nồng độ kháng sinh (μg)	Điểm đọc tiêu chuẩn		
			S	I	R
Cephalosporin thế hệ 1 cefazoline ampicillin	CZ	30	≥ 15	-	≤ 14
Cephalosporin thế hệ 2 cefuroxime cefoxitin	CXM FOX	30 30	≥ 18 ≥ 18	15-17 15-17	≤ 14 ≤ 14
Cephalosporin thế hệ 3 ceftriaxone cefotaxime ceftazidime	CRO CTX CAZ	30 30 30	≥ 23 ≥ 26 ≥ 21	20-22 23-25 18-20	≤ 19 ≤ 22 ≤ 17

Chloramphenicol	C	10	≥ 18	13-17	12
CN	CN	10	≥ 15	13-14	12
Nalixidic acid	NA	30	≥ 19	14-18	13
Iprofloxacin	CIP	5	≥ 26	22-25	21

2.3.5. Xác định *Salmonella* sinh enzym β -lactamase

Nhằm xác định các chủng có khả năng sinh enzym β -lactamase, AmpC β -lactamase, carbapenemase theo hướng dẫn của bộ kit thử nghiệm của hãng.

Chủng vi khuẩn *Salmonella* sẽ được tiến hành xác định khả năng sinh enzym β -lactamase phổ rộng, AmpC β -lactamase, Carbapenemase trong các thử nghiệm kháng sinh tương ứng với từng loại enzym [176], [177].

Tạo dịch chủng xác định tính kháng kháng sinh

Chuẩn bị dung dịch McFaland 0,5 để so sánh độ đục (hoặc bằng thiết bị đo độ đục) và chuẩn bị huyền phù *Salmonella* khoảng $10^6 - 10^8$ CFU/mL;

Dùng bông tăm vô trùng quét đều dịch huyền phù *Salmonella* lên đĩa thạch Muller Hinton agar;

Hong khô và đặt khoanh giấy kháng sinh có chứa kháng sinh lên các đĩa thạch trên;

Sử dụng thước xác định kích thước vòng trong quanh khoanh giấy (kích thước vòng kháng), đối chiếu với kích thước theo hướng dẫn của tổ chức CLSI và EUCAST [176], [177].

Xác định chủng sinh enzym β -lactamase phổ rộng

Mỗi chủng được thử nghiệm sự tồn tại của enzym β -lactamase phổ rộng sử dụng trên 4 khoanh giấy kháng sinh là cefotaxime (CTX), cefotaxime kết hợp clavulanic axit (CTL), ceftazidime (CAZ) và ceftazidime kết hợp clavulanic axit (CAL). Với kích thước vòng kháng CTL và CAL lớn hơn 5mm so với vòng kháng CTX và/hoặc CAZ thì khẳng định chủng vi khuẩn sinh β -lactamase phổ rộng theo hướng dẫn của tổ chức CLSI thể hiện trong Bảng 2.4 [176].

Bảng 2.4. Vi khuẩn sinh enzym ESBL

Chủng vi khuẩn sinh enzym ESBL	
Kháng sinh	Khẳng định
cefotaxime (CTX), CTX và clavulanic axit (CTL, 40 μ g)	Vòng kháng CTL, CAL \geq 5mm so với vòng kháng CTX, CAZ
ceftazidime (CAZ), CAZ và clavulanic axit (CAL, 40 μ g)	

Xác định chủng sinh enzym AmpC β -lactamase

Mỗi chủng (trong 119 chủng) được đánh giá sự tồn tại enzym AmpC β -lactamase bằng thử nghiệm kháng sinh đồ với 4 khoan giấy kháng sinh là cefotaxime (CTX), cefotaxime kết hợp cloxacillin (CTC), ceftazidime (CAZ) và ceftazidime kết hợp cloxacillin (CAC). Với kích thước vòng kháng CTC và CAC lớn hơn 5mm so với vòng kháng CTX và CAZ thì khẳng định chủng vi khuẩn sinh AmpC β -lactamase theo hướng dẫn của CLSI thể hiện trong Bảng 2.5 [176].

Bảng 2.5. Vi khuẩn sinh enzym AmpC β -lactamase

Chủng vi khuẩn sinh enzym AmpC β-lactamase	
Kháng sinh	Khẳng định
Cefotaxime (CTX), CTX và Cloxacillin (CTC)	vòng kháng CTL, CAL \geq 5mm so với vòng kháng CTX, CAZ
Ceftazidime (CAZ), CAZ và Cloxacillin (CAC)	

Đọc kết quả: vi khuẩn sinh hay không sinh enzym β -lactamase, AmpC β -lactamase.

2.3.6. Giải trình tự hệ gen của các chủng *Salmonella* đã được phân lập

Tách chiết DNA hệ gen của các chủng *Salmonella* được phân lập từ mẫu dương bằng kit PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Thermofisher scientific) [178].

Thu nhận DNA hệ gen của 26 chủng *Salmonella* để chuẩn bị cho giải trình tự

hệ gen. Các giai đoạn cơ bản của tách chiết DNA bao gồm: (1) phá màng tế bào và màng nhân, (2) loại bỏ RNA, (3) loại protein và (4) tủa DNA theo quy trình của hãng [178].

Thực hiện tương tự hướng dẫn của nhà cung cấp PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, ThermoFisher scientific) [178].

Chuẩn bị thư viện cho giải trình tự

Nhằm chuẩn bị các mẫu DNA ở dạng các phân đoạn mạch đơn, đã được gắn các trình tự môi, các chỉ thị (trình tự index) và sẵn sàng cho giải trình tự hệ gen.

Đo nồng độ DNA bằng Qubit Kit

Bảng 2.6. Hóa chất của Qubit kit

Hoá chất	Thể tích	Nồng độ	Điều kiện lưu trữ
Chất nhuộm DNA	250µl	200X trong DMSO	Nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng
Chất đệm (HS Buffer)	50ml		Nhiệt độ phòng
DNA chuẩn 1	1ml	0 ng/µl trong dung dịch TE	04 °C
DNA chuẩn 2	1ml	10 ng/µl trong dung dịch TE	04 °C

Phân cắt DNA hệ gen và gắn adapter cho phản ứng giải trình tự (Trình tự transposase)

- Dung dịch đệm cho phân cắt DNA hệ gen (Tagment DNA Buffer - TD);
- Enzyme phân cắt DNA hệ gen (Tagment DNA Enzyme - TDE).

Tinh chế sản phẩm sau phản ứng phân cắt DNA hệ gen bằng kit QIAquick.

Bộ kit tinh sạch sản phẩm PCR - QIAquick PCR purification (Qiagen) được dùng để tinh sạch sản phẩm của phản ứng phân cắt DNA hệ gen bằng cột hấp thu silica, gồm các thành phần:

- Dung dịch đệm PB giúp DNA bám được trên cột silica;
- Dung dịch đệm PE có chứa ethanol có tác dụng rửa trôi những thành phần không cần thiết ra khỏi cột;
- Nước cất vô trùng;
- Dung dịch ly giải DNA (Resuspension Buffer - RSB) sau tinh chế.

Thiết lập phản ứng PCR gắn chỉ thị (Index) sử dụng kit Nextera (Trình tự môi và chỉ thị)

- Hỗn hợp hoá chất cho phản ứng PCR (Master Mix - PMM);
- Hỗn hợp môi cho phản ứng PCR (PCR Primer Cocktail - PPC).

Tinh sạch sản phẩm PCR

- Hạt từ dùng để tinh sạch (AMPure Bead);
- Ethanol 80% (phải dùng dung dịch vừa mới pha);
- Dung dịch ly giải DNA (Resuspension Buffer - RSB) sau tinh chế.

Đo nồng độ DNA bằng KAPA kit (nM), pha loãng/normalize và pool các mẫu DNA hệ gen

Nguyên lý: Thuốc nhuộm khi gắn vào phân tử ADN sẽ phát tín hiệu huỳnh quang. Máy đo huỳnh quang Qubit thu tín hiệu huỳnh quang từ mẫu và chuyển nó thành nồng độ bằng cách dựa trên các đầu dò có nồng độ đã biết. Nồng độ ADN của mẫu được tính bằng cách so sánh giá trị huỳnh quang tương đối (RFU) của mẫu với RFU của chất chuẩn.

- Hỗn hợp môi PCR (1ml - PCR Primer Mix);
- KAPA SYBR® FAST qPCR Master Mix (5ml);
- Dây nồng độ pha loãng DNA chuẩn từ 1-6 tương ứng với nồng độ giảm dần; (20 - 0.0002pM hay 12×10^6 - 12×10^1 phân tử DNA/ μ l);
- Tris-Cl 10mM, pH 8,5;
- NaOH 0,2N (vừa mới pha);

- Dung dịch đệm lai (HT1).

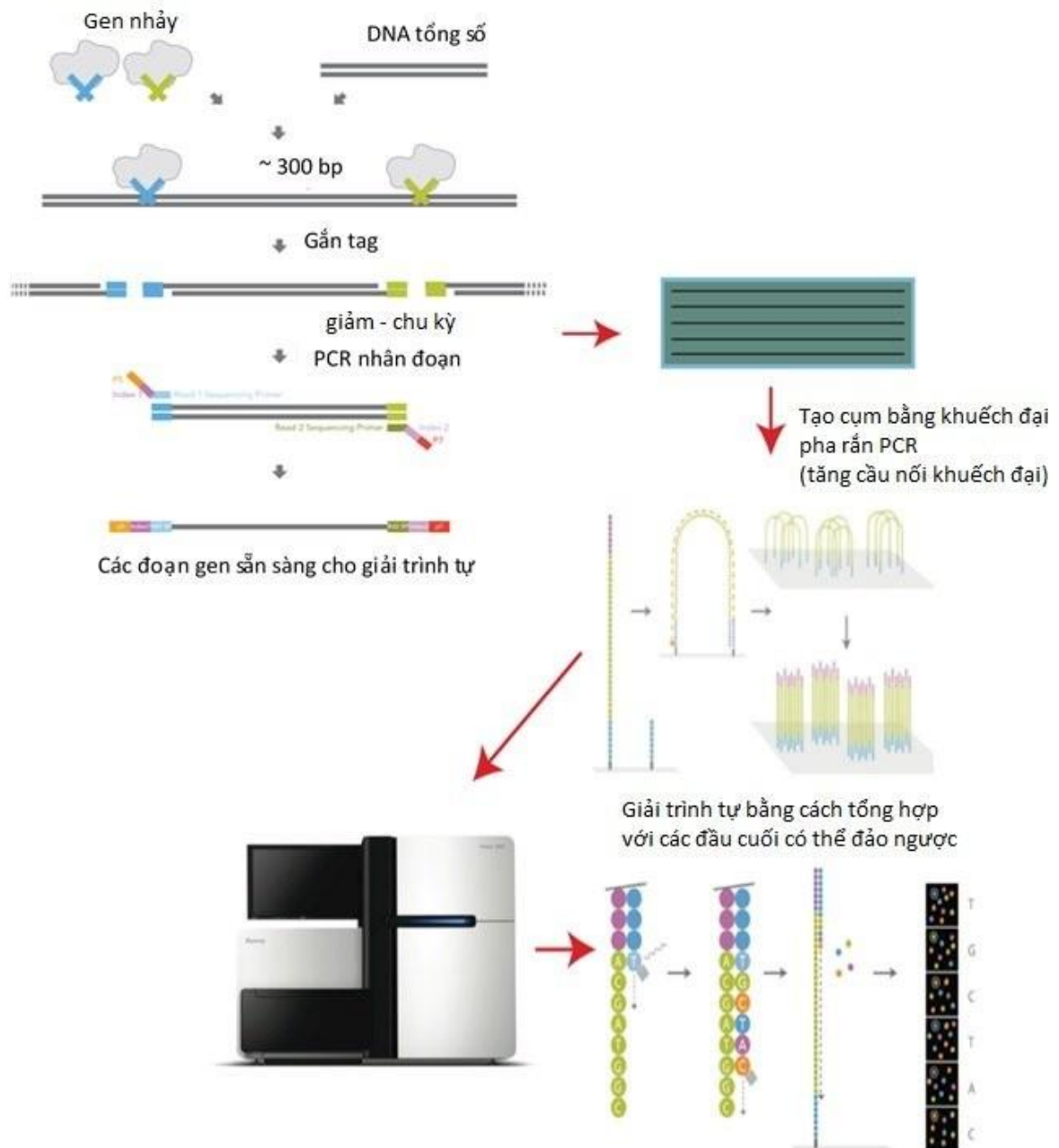
Giải trình tự

Phương pháp giải trình tự gen Illumina hoạt động dựa trên nguyên lý tổng hợp tương tự như giải trình tự DNA theo phương pháp Sanger, điểm cải tiến là giải trình tự Illumina cho phép giải trình tự một lượng lớn các đoạn DNA khác nhau song song cùng lúc, bằng cách gắn các nucleotide vào đầu 3' của chuỗi DNA đang tổng hợp theo nguyên tắc bổ sung. Đầu tiên, đoạn gen cần được giải trình tự sẽ bị cắt nhỏ thành các mảnh có kích thước từ 200-600bp, sau đó các adapter sẽ được gắn vào hai đầu của các đoạn DNA có kích thước ngắn này. Các đoạn DNA gắn với adapter sau đó được ủ với natri hydroxit và hình thành chuỗi đơn. Sau khi chuẩn bị xong, các đoạn DNA sẽ được nhỏ lên bề mặt thiết bị giải trình tự (flowcell) và bị giữ lại bằng adapter đã được gắn trước đó. DNA bám dính trên flowcell sau đó được khuếch đại và tạo thành các cụm DNA (cluster) có trình tự giống hệt nhau để sử dụng cho quá trình giải trình tự. Các nucleotide không gắn tín hiệu huỳnh quang và DNA polymerase sau đó được bổ sung lên bề mặt flowcell, tạo ra những “cầu nối” DNA sợi đôi trên bề mặt flowcell. Sau đó, DNA sợi đôi được phân tách thành DNA sợi đơn bằng nhiệt, để lại hàng triệu cluster có trình tự DNA giống hệt nhau. Các môi và các dNTP có gắn các tín hiệu huỳnh quang tương ứng với 4 loại nucleotide được bổ sung lên bề mặt flowcell, sau đó môi sẽ gắn vào đoạn DNA cần được giải trình tự, nối tiếp là DNA polymerase liên kết với môi và dNTP có gắn tín hiệu huỳnh quang. Khi một dNTP đã được gắn với đoạn DNA thì không thể gắn thêm base nào nữa cho đến khi base trước đó được cắt khỏi đoạn DNA. Tia laser được truyền qua flowcell để kích hoạt tín hiệu huỳnh quang, sau đó camera sẽ ghi lại tín hiệu này và trả lên máy tính. [179]

Các bước tiến hành tương tự theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Nextera - Illumina), bao gồm các bước chính như sau:

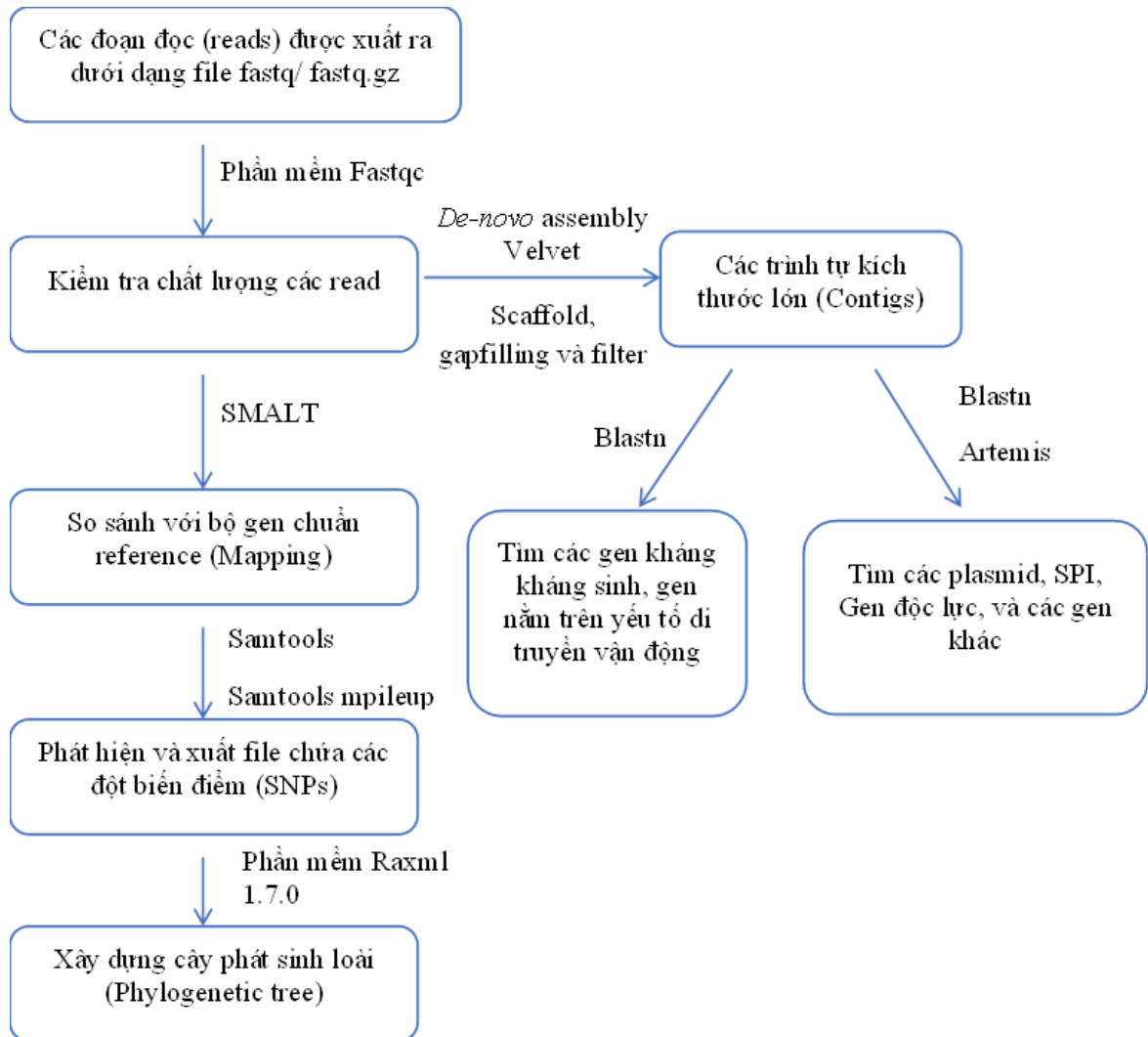
- Chuẩn bị DNA hệ gen ở nồng độ 50 ng (2,5 ng/ul) sử dụng bộ kit Qubit;
- Phân cắt DNA hệ gen và tiến hành gắn adapter;
- Tinh sạch sản phẩm sau phản ứng cắt;
- Gắn chỉ thị (index) cho các phân đoạn DNA;

- Tinh sạch sản phẩm sau khi gắn index;
- Đo nồng độ DNA bằng kit KAPA và trộn các mẫu DNA ở cùng một nồng độ;
- Biến tính và pha loãng thư viện;
- Thư viện DNA sau khi đã được chuẩn bị, pha loãng sẽ được nạp vào giếng đặt vào máy Miseq để tiến hành giải trình tự các mẫu. Toàn bộ quy trình giải trình tự hệ gen của các chủng *Salmonella*, được hoàn thành trong khoảng 27h.



Hình 2.2. Các bước giải trình tự hệ gen sử dụng hệ thống Illumina Miseq [180]

2.3.7. Phân tích kết quả giải trình tự hệ gen các chủng *Salmonella*



Hình 2.3. Sơ đồ phân tích hệ gen *Salmonella* [181], [182]

Kiểm tra chất lượng reads sau khi xuất

- Trình tự hệ gen của các chủng *Salmonella* sau khi được giải sẽ được xuất ra dưới dạng các file fastq, cụ thể: file R1_fastq sẽ chứa tất cả các đoạn đọc (read) mạch xuôi, file R2_fastq sẽ chứa tất cả các read mạch ngược. Các trình tự này trước khi được đưa vào phân tích sẽ được kiểm tra xem xét có đủ tiêu chuẩn để đưa vào phân tích các bước tiếp theo hay không. Chúng tôi sử dụng phần mềm fastqc để phân tích và đánh giá với các tiêu chí cụ thể bao gồm: các chỉ số thống kê cơ bản về tổng số reads, chiều dài của reads dài nhất và ngắn nhất cũng như %GC trong các reads; quality score cho các read (Phred score) [182].

So sánh với hệ gen chuẩn (Mapping)

- Các file chứa các read sau khi đã được kiểm tra đủ tiêu chuẩn sẽ được đưa vào so sánh với hệ gen chuẩn (reference sequence) của chủng *Salmonella* Ss046 (Accession number: NC_007384). Sử dụng thuật toán SMALT để so sánh trình tự nucleotide với một trình tự chuẩn [183].

Xây dựng cây phát sinh loài

Sau khi xác định và tạo được các file VCF chứa các SNP, tiến hành loại bỏ các SNP nằm trong vùng trình tự của phage hoặc các vùng trình tự lặp lại. Các SNP được tạo ra từ ít hơn 5 read và chất lượng read khi so sánh với trình tự chuẩn nhỏ hơn 20 cũng được loại bỏ. Các SNP của từng chủng vi khuẩn được tập hợp lại và so sánh với nhau, sau đó sử dụng Phần mềm Randomized Axelerated Maximum Likelihood (RaxML), để xây dựng cây phát sinh loài, dựa trên thuật toán ước lượng cực đại (maximum likelihood) [184].

De - novo assembly, tìm gen kháng kháng sinh và plasmid mang gen kháng kháng sinh

Sử dụng Velvet và Velvet Optimiser để sắp xếp các read và tạo ra các trình tự contigs (multiple contiguous sequences) kích thước lớn gồm nhiều trình tự liền kề. Velvet dựa trên đồ thị de Bruijn, tìm kiếm những trình tự có khả năng chồng lấp (overlap) nhau qua thông số k-mer (số nucleotide chồng lên nhau) giữa các read. Các read có cùng k-mer thì có thể overlap nhau và tạo ra một contigs với kích thước lớn. Một read có thể chứa nhiều k-mer khác nhau. VelvetOptimiser sẽ chọn lọc một loạt các giá trị k-mer khác nhau để tìm ra giá trị k-mer nào tối ưu nhất và tiến hành sắp xếp các read theo giá trị k-mer đó để tạo ra các contig với kích thước lớn hơn. Sau đó, sử dụng các chương trình scaffold, gapfilling và filter để tạo các contig tối ưu. Các contigs có kích thước nhỏ hơn 100bp sẽ bị loại bỏ.

Sử dụng công cụ Blastn với cơ sở dữ liệu chứa tất cả trình tự gen kháng kháng sinh ở vi khuẩn Gram âm và Gram dương, tiến hành so sánh trình tự của các contigs với cơ sở dữ liệu này và tìm các gen kháng kháng sinh ở các chủng *Salmonella*.

Đồng thời, sử dụng công cụ Blastn, phần mềm trên CGE

(<https://cge.food.dtu.dk/>) các plasmid đơn vị sao chép mang các gen kháng kháng sinh ở các chủng *Salmonella*[185].

2.3.8. Phương pháp xác định MIC của chất tẩy rửa và gen mã hóa khả năng kháng chất tẩy rửa

Xác định MIC của chất tẩy rửa

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của hai chất tẩy rửa chứa gốc Ammonium bậc 4 (Ammonium bậc 4 được viết tắt QAC) bao gồm Benzalkonium chloride và Cetylpyridinium chloride được xác định bằng phương pháp pha loãng vi cấp theo khuyến nghị của Viện Nghiên cứu lâm sàng và Tiêu chuẩn phòng thí nghiệm (CLSI) thực hiện trên đĩa 96 giếng microtiter bằng polystyrene. Đầu tiên, mỗi khuẩn lạc từ các đĩa phân lập ủ trong dịch tăng sinh BHI ở 37 °C trong 18 đến 24 giờ để thu được số lượng tế bào khoảng 10⁹ CFU/mL. Dịch chứa *Salmonella* sau đó được đưa về nồng độ 10⁶ CFU/mL trước khi thực hiện các bước thí nghiệm sau đó. Khi hoàn thành quá trình chuẩn bị dịch khuẩn, 200 µL chất tẩy rửa QAC được thêm vào giếng thứ nhất của mỗi hàng; cùng lúc, các giếng tiếp theo của cùng một hàng được bổ sung 100 µL dịch BHI. Dung dịch kháng khuẩn sau đó được pha loãng hai lần thông qua việc chuyển 100 µL thể tích QAC ở giếng đầu tiên sang các giếng tiếp theo; quá trình được tiếp tục sao cho nồng độ cuối cùng của QAC giảm dần từ 200 ppm ở giếng thứ nhất và 1,56 ppm ở giếng cuối cùng. Đối chứng dương của thí nghiệm bao gồm 100 µL dịch nuôi cấy khuẩn và 100 µL dịch BHI; đối chứng âm khẳng định tác động của BHI với chất tẩy rửa có chứa 100 µL thể tích QAC bổ sung 100 µL dịch BHI. Đĩa thí nghiệm sau đó được ủ ở 37°C trong 24 giờ để xác định sự phát triển của vi khuẩn thông qua quan sát độ đục. Trong nghiên cứu này, MIC được xác định là nồng độ thấp nhất của chất kháng khuẩn có khả năng ức chế sự phát triển của *Salmonella*.

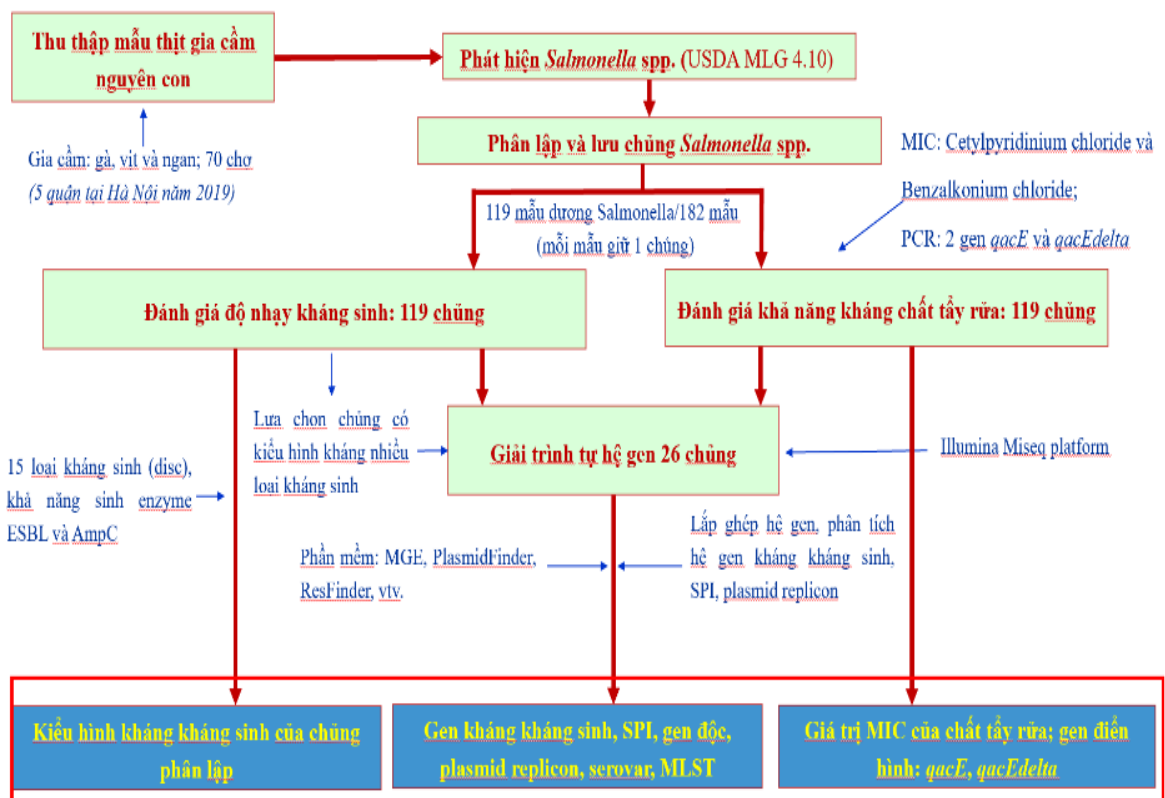
Xác định sự tồn tại các gen mã hóa khả năng kháng chất tẩy rửa bằng PCR

Các chủng *Salmonella* được tách từ mẫu dương tính (119 chủng) được lấy từ -80 °C và nuôi cấy trên thạch TSA/37 °C /18-24h. Lựa chọn khuẩn lạc đơn, cấy lên dịch BHI/37 °C /18-24h.

Lấy 1 mL dịch nuôi qua đêm trên BHI sốc nhiệt và thực hiện phản ứng PCR nhằm xác định sự có mặt của gen *qacE* và *qacEdelta*. Cặp mồi được sử dụng đối với

gen *qacE* và *qacEΔ* là: *qacE*-For (5'-AGCCCCATACCTACAAAAG-3'), *qacE*-Rev (5'-AGCTTGCCCCTTCCGC-3'); *qacEΔ*-For (5'-AAGTAATCGCAACATCCG-3') và *qacEΔ*-Rev (5'-ATAAGCAACACCGACAGG-3'). Phản ứng PCR được thực hiện với thể tích 25 μL; sử dụng PCR master mix 2X của ThermoScientific (codeK0171). Chu kỳ luân nhiệt của phản ứng PCR đối với *qacE* và *qacEΔ* là giai đoạn 1: 95 °C trong 5 phút; giai đoạn 2: 30 chu kỳ (30 giây ở 95 °C, 30 giây ở 56 °C, 30 giây ở 72 °C; giai đoạn 3: 72 °C trong 10 phút. Các sản phẩm PCR điện di với agarose 2,0% (w/v) có chứa thuốc nhuộm Redsafe (INtRON, Biotechnology, code: 21141).

Tổng quan toàn bộ quá trình thực hiện nghiên cứu được thể hiện trong Hình 2.4



Hình 2.4. Sơ đồ nghiên cứu tổng quát trong luận án

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. trong thịt gia cầm (gà, vịt và ngan) thu thập tại các chợ ở Hà Nội.

Salmonella là loại vi khuẩn có thể gây nguy hiểm do có khả năng gây bệnh trực tiếp trên nhiều loài gia súc, gia cầm và con người. Vi khuẩn xâm nhập vào vật chủ, gây ra các bệnh thương hàn và phó thương hàn, gây bệnh dạ dày ruột. Ngoài ra, vi khuẩn *Salmonella* cũng là nguyên nhân chủ yếu gây ra các vụ ngộ độc thực phẩm, cũng như gây nhiễm khuẩn đường tiêu hóa ở người, động vật. Việc phân lập và xác định tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trong thức ăn nói chung và các sản phẩm thịt gia súc, gia cầm nói riêng là việc làm hết sức quan trọng để đánh giá nguy cơ và phòng ngừa rủi ro liên quan đến *Salmonella*. Tuy nhiên, để phản ánh khách quan và chính xác việc nhiễm *Salmonella* trên mẫu thực phẩm thì nghiên cứu chỉ tiến hành kiểm tra định tính sự có mặt của vi khuẩn này trong các mẫu (không kiểm tra định lượng), từ đó xác định khách quan và chính xác tình trạng ô nhiễm *Salmonella* trong thực phẩm có nguồn gốc từ thịt trên địa bàn Tp. Hà Nội.

Thực hiện mua ngẫu nhiên 182 mẫu thịt gà, vịt và ngan nguyên con được bày bán tại các chợ thuộc các quận như danh sách để phân lập và xác định đặc tính sinh vật học (tính chất hóa sinh và kháng huyết thanh đa giá) của *Salmonella* spp. có mặt trong các mẫu bị nhiễm.

Toàn bộ 182 mẫu được kiểm nghiệm theo phương pháp USDA MLG 4.10 [172], đồng thời thử khẳng định mẫu dương bằng kỹ thuật Maldi TOF (mỗi mẫu dương thử khẳng định một khuẩn lạc bằng Maldi TOF). Các khuẩn lạc sau khi được khẳng định sẽ được đánh mã, lưu tại điều kiện -80 °C cho các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả 119 mẫu dương tính với *Salmonella* theo phương pháp USDA MLG 4.10: kết quả hóa sinh điển hình các tính chất của *Salmonella*: TSI sinh axit từ glucose (+); TSI sinh khí từ glucose (+); TSI sinh axit từ lactose (-); TSI sinh axit từ sucrose (-); TSI tạo hydro sulfid (+); Thủy phân ure (-); Lyzin đã khử nhóm cacboxyl (+); Phản ứng β -galactosidase (-); Sinh indol (-); và kết quả thử nghiệm kháng huyết thanh O đa giá và H đa giá: ngưng kết kháng huyết thanh. Mỗi mẫu

dương tính *Salmonella* (119 mẫu dương tính) chọn một khuẩn lạc *Salmonella* đã thử nghiệm hóa sinh và kháng huyết thanh chạy khẳng định bằng Maldi TOF. Kết quả chạy trên máy Maldi TOF thấy 100% cho kết quả là *Salmonella enterica*. Sau đó, đánh mã 119 chủng (mã gồm 04 ký tự: Sxxx- “S” chữ S, “x” là số); nuôi từng chủng trong canh thanh BHI/37 °C/18h; bổ sung glycerol vô trùng và lưu ở điều kiện -80 °C cho các thí nghiệm về kháng kháng sinh, kháng chất tẩy rửa và giải trình tự hệ gen. Các kết quả về mẫu dương, mã số chủng được thể hiện tại Phụ lục I.

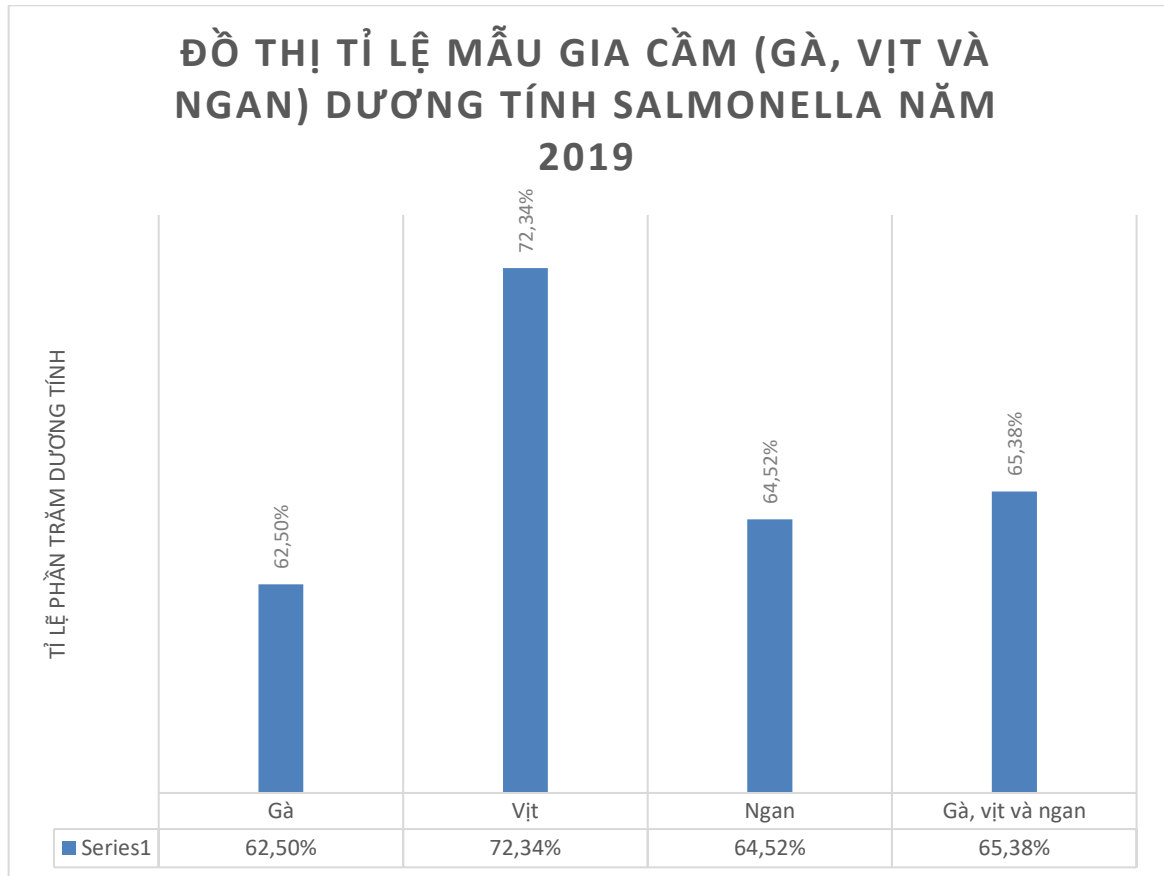
Bảng 3.1. Kết quả phân tích *Salmonella* trong thịt gà, vịt và ngan theo quận tại thành phố Hà Nội năm 2019

Tên Quận	Số mẫu dương	Tổng số mẫu	Tỉ lệ dương tính
Ba Đình	19	33	57,58%
Cầu Giấy	24	37	64,86%
Hoàng Mai	26	37	70,27%
Thanh Xuân	27	39	69,23%
Đống Đa	23	36	63,89%
Tổng	119	182	65,38%

Kết quả phát hiện *Salmonella* thể hiện trong Bảng 3.1 cho thấy: trong tổng số 182 mẫu được kiểm tra có 119 mẫu thịt gia cầm phân lập được *Salmonella* spp., chiếm tỷ lệ 65,38% tổng số mẫu dương tính. Theo Bảng 3.2 cho thấy tỷ lệ phân lập được *Salmonella* sp. ở gà là 62,50%, tỉ lệ ở vịt là 72,34% và tỉ lệ ở ngan là 64,52%. Tỉ lệ này cho thấy việc nhiễm *Salmonella* là rất phổ biến trên thịt gia cầm. Mặc dù có một sự chênh lệch không đáng kể giữa tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. ở các loài gia cầm trong thử nghiệm. Tuy nhiên, để kết luận về sự khác biệt thật sự giữa các sản phẩm gia cầm này, chúng ta cần các nghiên cứu sâu hơn.

Theo Bảng 3.1 thì hầu hết số quận đều có tỉ lệ nhiễm cao hơn 55 %, điều đó cho thấy trên 50% số gia cầm chúng ta ăn là nhiễm *Salmonella* spp. Đặc biệt, quận

Hoàng Mai và quận Thanh Xuân tỉ lệ nhiễm khoảng 70%. Mặc dù, gia cầm thường được chế biến chín để sử dụng nhưng với một tỉ lệ nhiễm cao như vậy sẽ dễ gây lây lan sang các thực phẩm khác và khả năng gây ngộ độc rất đáng lo ngại. Căn cứ Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT có trên 60% các mẫu thịt không đạt tiêu chuẩn.



Hình 3.1. Tỉ lệ nhiễm *Salmonella* trên gia cầm gồm: gà, vịt và ngan năm 2019

Điều này phần nào giải thích được nguyên nhân xảy ra những vụ ngộ độc thực phẩm liên tục xảy ra trong cả nước trong thời gian qua. Kết quả này có tính tương ứng cao so với một vài nghiên cứu được công bố gần đây. Trong một điều tra về phát hiện và phân lập các chủng *Salmonella* spp. từ các mẫu thu thập được trong các giai đoạn khác nhau trong toàn bộ chuỗi chế biến thịt lợn tại thành phố Huế, tác giả Takeshi và cộng sự [186] đã công bố tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. từ thịt lợn bán lẻ tại các chợ chiếm tới 32,8%. Đỗ Ngọc Thúy và cộng sự [187] trong một nghiên cứu khác về tỉ lệ nhiễm vi khuẩn khác nhau trong các loại thịt tươi tại các chợ tự do trên địa bàn thành phố Hà Nội đã xác định 30% tổng số mẫu thịt thu thập nhiễm *Salmonella* spp., trong đó có 47,1% ở thịt gà, 27,3% ở thịt lợn và 19% ở thịt bò.

Theo đồ thị Hình 3.1, ta thấy tỉ lệ nhiễm *Salmonella* của gà, vịt và ngan cũng có sự khác biệt nhất định: Kết quả nghiên cứu chỉ ra 63% mẫu thịt gà nguyên con bị nhiễm *Salmonella*. Tỷ lệ phát hiện gà nhiễm *Salmonella* trong nghiên cứu này cao hơn so với kết quả của một số nghiên cứu trước đây được thực hiện tại thành phố Hà Nội. Tỷ lệ lây nhiễm trong nghiên cứu của Nghiêm và cộng sự. tiến hành năm 2016, với cỡ mẫu 30, cho thấy tỷ lệ gà nhiễm *Salmonella* là 36% [187]. Trong khi nghiên cứu của Nghiêm và cộng sự và nghiên cứu của Tran và cộng sự đã phân tích *Salmonella* trong 25gr thịt gà/mẫu theo phương pháp ISO 6579; chúng tôi đã kiểm tra toàn bộ thân thịt gà dựa trên phương pháp FSIS MGL4.10 [172]. Sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm *Salmonella* có thể do sự khác biệt về vị trí lấy mẫu, thời gian lấy mẫu, phương pháp lấy mẫu cũng như phương pháp phát hiện *Salmonella*. Tuy nhiên, phát hiện của nghiên cứu của chúng tôi cũng giống với các nghiên cứu trước đây được thực hiện ở các khu vực khác trên thế giới và ở thành phố khác của Việt Nam như thành phố Hồ Chí Minh. Theo báo cáo, tỷ lệ ô nhiễm *Salmonella* trong thịt gà là 63,6% ở Trung Quốc (n = 475) [188]; *Salmonella* dương tính là 65,7% (n = 105) ở Thái Lan trong năm 2014 và 2015 [186]; 77,63% ở thành phố Hồ Chí Minh [189]. Kết quả nghiên cứu với độ tin cậy cao khi cỡ mẫu lớn (n=182) (khi so với cỡ mẫu và quy mô của các nghiên cứu khác) sẽ phản ánh chính xác và khách quan khả năng nhiễm *Salmonella* trên địa bàn. Hơn nữa, tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trong nghiên cứu của chúng tôi dao động từ 47% đến 75% và thay đổi tùy theo các khu vực quận huyện khác nhau trong khu vực thành phố Hà Nội. Luận giải thêm về sự khác biệt về tỷ lệ ô nhiễm *Salmonella* giữa các quận, huyện có thể do lấy mẫu từ các lò giết mổ gia đình khác nhau, sự quản lý kém vệ sinh đối với khâu chế biến thịt, đóng gói xử lý và vận chuyển đến các chợ truyền thống, cửa hàng...

Trong nghiên cứu này, 72% mẫu vịt nguyên con được phát hiện dương tính với *Salmonella*. Tỷ lệ lưu hành của *Salmonella* trong mẫu vịt trong nghiên cứu này cao hơn so với các nghiên cứu trước đây ở các vùng khác nhau của Trung Quốc. Theo nghiên cứu của Zhengquan, kết quả dương tính với *Salmonella* tại các cửa hàng bán lẻ ở miền Nam Trung Quốc là 41,4% [190], trong khi một nghiên cứu khác được công bố bởi Li và cộng sự ở tỉnh Tứ Xuyên (Tây Nam Chin) thu được 7 (26,9%) mẫu dương tính với *Salmonella* tại một chợ địa phương [191]. Sự khác nhau về tỷ lệ lưu

hành *Salmonella* có thể do sự khác biệt về vị trí lấy mẫu, thời gian lấy mẫu, phương pháp lấy mẫu cũng như phương pháp phát hiện *Salmonella*. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sự tương tự như kết quả của các nghiên cứu trước đây được thực nghiệm trên các mẫu gia cầm khác, bao gồm cả thịt gà. Một nghiên cứu của Zhang và cộng sự năm 2018 ở Trung Quốc cho thấy ô nhiễm *Salmonella* trong thịt gà là 63,6% (n = 475) [192]; *Salmonella* dương tính là 65,7% (n = 105) ở Thái Lan vào năm 2014 và 2015 [193]; tại thành phố Hồ Chí Minh, Trương Huỳnh Anh Vũ. báo cáo 77,63% (n = 76) *Salmonella* trong thịt gà [7]. Ngoài ra, tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trong nghiên cứu của chúng tôi dao động trong khoảng 69% đến 74% và khác nhau giữa các quận, trong đó Ba Đình có tỷ lệ thấp nhất là 69% trong khi Cầu Giấy có tỉ lệ cao nhất trong các quận. Tuy nhiên sự chênh lệch 5% này không quá lớn. Kết quả này cho thấy cơ sở giết mổ gia đình kém vệ sinh có thể là nguyên nhân dẫn đến mức độ khác nhau của *Salmonella* trong thịt vịt. Do đó, các chiến lược nâng cao an toàn thực phẩm cần được thực hiện tập trung tăng cường giám sát các chợ bán lẻ, cải thiện vệ sinh an toàn thực phẩm hệ thống quản lý chợ (bán hàng tại quầy hàng, vệ sinh dụng cụ và khử trùng thường xuyên) và đảm bảo các tiêu chuẩn về vệ sinh môi trường (quầy bán lẻ sạch sẽ và khô ráo) để bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

Đặc biệt, số liệu thống kê về tỉ lệ nhiễm *Salmonella* ở gan là chưa được báo cáo tại Việt Nam. Phát hiện của chúng tôi cho thấy 65% mẫu gan bị nhiễm vi khuẩn *Salmonella*; Mặc dù sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm *Salmonella* giữa các huyện trong nghiên cứu này có thể không đủ tin cậy vì tổng số mẫu không đủ để làm cỡ mẫu đại diện. Tỷ lệ mẫu dương tính với *Salmonella* được phát hiện ở gan cao hơn so với một số nghiên cứu trên gà được thực hiện ở Hà Nội. Tỷ lệ lây nhiễm trong nghiên cứu của Nghiêm và cs. năm 2016 là 36% (n = 30, năm 2016) [194]. Sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm *Salmonella* có thể do sự khác biệt về vị trí lấy mẫu, thời gian lấy mẫu, phương pháp lấy mẫu cũng như phương pháp phát hiện *Salmonella*. Tuy nhiên, tỷ lệ lây nhiễm trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với kết quả của các nghiên cứu đã công bố trước đây và ở một tỉnh khác của Việt Nam như thành phố Hồ Chí Minh. Nghiên cứu của Khan năm 2018 [195] báo cáo 66,7% mẫu thịt gà dương tính với *Salmonella*. Đáng chú ý, việc giám sát nhiễm khuẩn *Salmonella* ở gan trên khắp thế giới cho kết quả không giống nhau. Trong nghiên cứu của Emanuella vào năm 2014 ở Brazil,

không phát hiện thấy vi khuẩn *Salmonella* ở ngan [196]. Nghiên cứu của Trinidad và Tobaga năm 2008 cho kết quả tương tự, không phát hiện *Salmonella* ở ngan. Trước kia, người ta giả thuyết rằng ngan không được nuôi công nghiệp, do đó không chứa hệ vi sinh vật giống như gà. Tuy nhiên, hiện nay khi nhu cầu thực phẩm của con người ngày càng tăng, ngan bắt đầu được nuôi theo cách giống như các loại gia cầm khác, giết mổ chung cùng gà và vịt đồng thời sự lan rộng của tình trạng kháng thuốc ở các chủng *Salmonella*...nên đó là lý giải cho việc nhiễm *Salmonella* ở ngan.

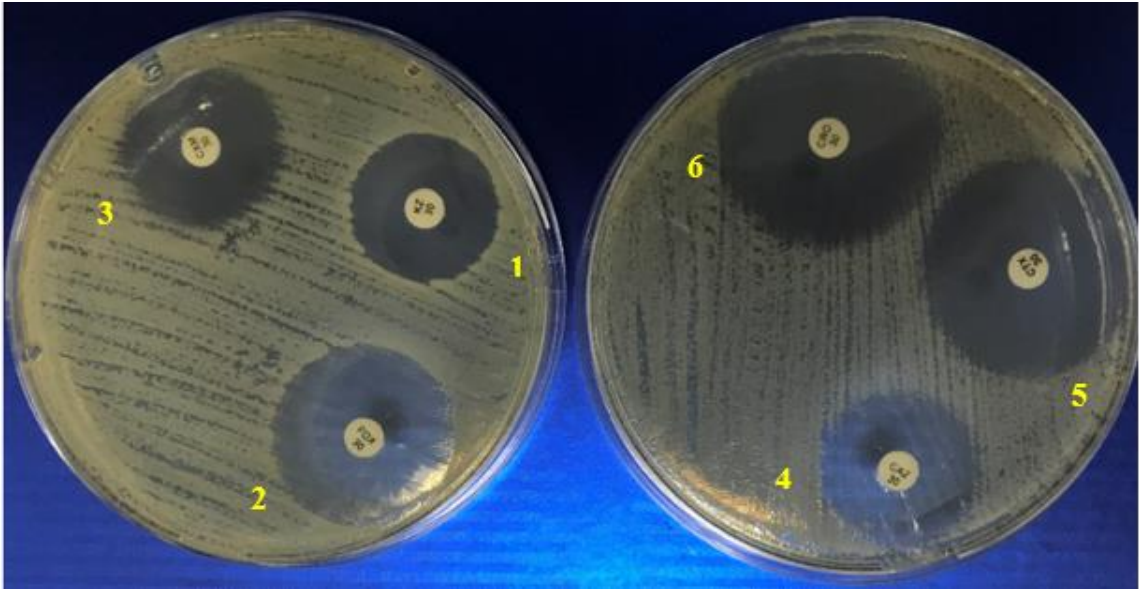
3.2. Đánh giá mức độ kháng kháng sinh, chất tẩy rửa của các chủng *Salmonella* spp. được phân lập từ thịt gà, vịt và ngan.

Với sự phát triển mạnh mẽ khoa học công nghệ ngày nay, nhiều loại kháng sinh mới được phát triển và đưa vào sử dụng, các dòng kháng sinh thế hệ mới được sản xuất theo con đường tổng hợp sinh học hoặc con đường tổng hợp hóa học. Việc sử dụng kháng sinh trong phòng và trị bệnh bước đầu đem lại nhiều thành công cũng như hiệu quả kinh tế, tuy nhiên trên thực tế, việc sử dụng kháng sinh không đúng liều lượng, liệu trình hoặc kết hợp nhiều loại kháng sinh đã đồng thời tạo ra áp lực chọn lọc đối với vi khuẩn. Môi trường sống thích hợp cùng với áp lực chọn lọc phù hợp đã tạo điều kiện cho vi khuẩn phát triển khả năng đề kháng kháng sinh. Hiện tượng đề kháng kháng sinh ngày càng gia tăng trong nhiều loại vi khuẩn gây bệnh cho người và gia súc đang là mối quan tâm lo lắng của các cơ quan quản lý và của toàn xã hội. Vi khuẩn đề kháng kháng sinh gây khó khăn trong điều trị bệnh nhiễm trùng. Một số trường hợp người bệnh nhiễm vi khuẩn gây bệnh đề kháng với hầu hết các loại kháng sinh dùng trong lâm sàng dẫn đến việc điều trị không hiệu quả và dẫn tới tử vong. Hơn thế nữa, các chủng vi khuẩn không gây bệnh nhưng có khả năng kháng kháng sinh là nơi lưu trữ các gen kháng thuốc, là nguồn truyền gen kháng kháng sinh cho những vi khuẩn gây bệnh khác. Khi đó nguy cơ về đa dạng nhóm vi khuẩn mang gen kháng kháng sinh càng được nhân rộng, trực tiếp đe dọa đến hiệu quả của quá trình điều trị bệnh. Từ mỗi mẫu nhiễm *Salmonella* (n=119 mẫu) lấy một chủng để lưu ở điều kiện nhiệt độ cao nhất -80 °C. Các chủng được lấy từ -80 °C ria lên thạch TSA máu cho các thử nghiệm độ nhạy kháng kháng sinh.

Việc lựa chọn được kháng sinh đánh giá dựa trên số liệu các nhóm kháng sinh

được sử dụng điều trị nhiễm khuẩn đường ruột của gia súc và người, trong phạm vi nội dung nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành kiểm tra khả năng mẫn cảm và kháng với 15 loại kháng sinh, nghiên cứu tập trung vào nhóm kháng sinh beta-lactam, đặc biệt là các dòng cephalosporin thế hệ 3 và 4 là nhóm kháng sinh được quan tâm hiện nay.

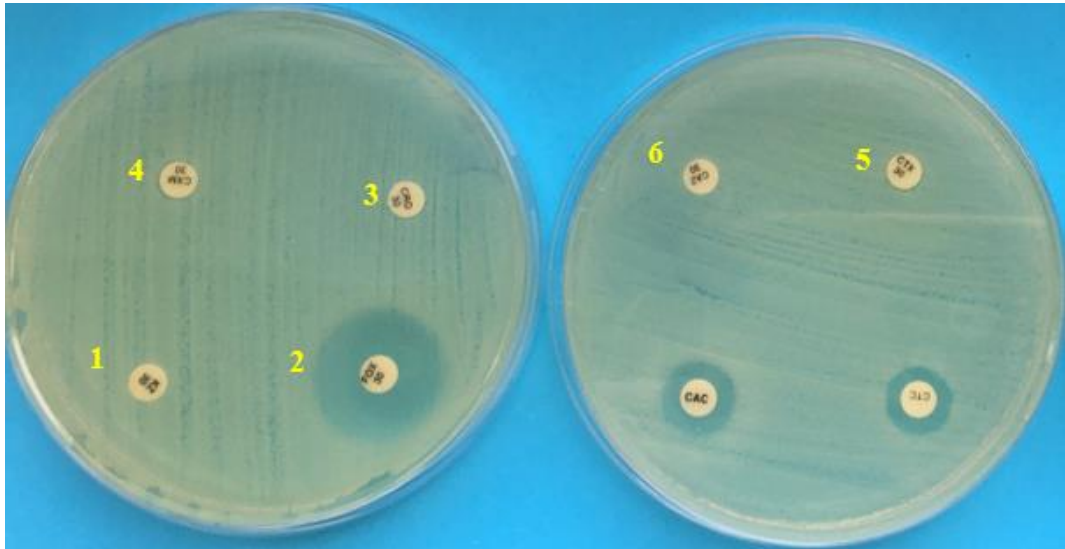
Một số kết quả về độ nhạy kháng sinh cụ thể như sau:



Hình 3.2. Kháng sinh đồ trên chủng đối chiếu chủng *E. coli* ATCC 25922

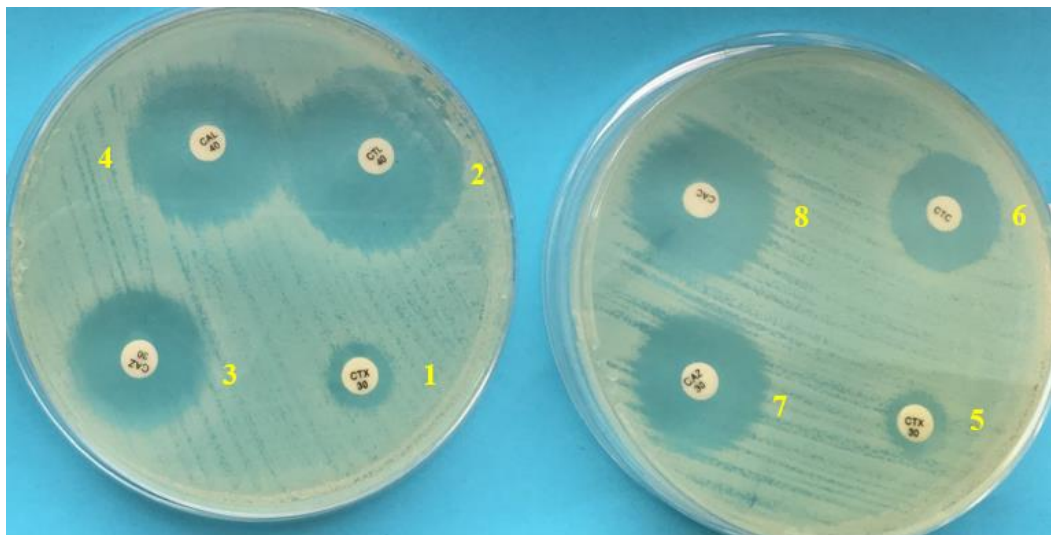
- (1) CZ, vòng kháng có kích thước 23 mm (yêu cầu 21-27 mm)
- (2) FOX, vòng kháng có kích thước 28 mm (yêu cầu 23-29 mm)
- (3) CXM, vòng kháng có kích thước 25 mm (yêu cầu 20-26 mm)
- (4) CAZ, vòng kháng có kích thước 26 mm (yêu cầu 25-32 mm)
- (5) CTX, vòng kháng có kích thước 32 mm (yêu cầu 29-35 mm)
- (6) CRO, vòng kháng có kích thước 34 mm (yêu cầu 29-35 mm)

Kết quả thử nghiệm trên chủng chuẩn cho thấy quá trình chuẩn bị hóa chất, môi trường, nồng độ vi khuẩn đạt yêu cầu theo CLSI. Các kết quả độc về sự mẫn cảm của kháng sinh đạt độ tin cậy. Một số kết quả về độ nhạy kháng sinh cụ thể theo Hình 3.3 và Hình 3.4.



Hình 3.3. Kháng sinh đồ trên chủng S018 kháng hoàn toàn kháng sinh cefazolin, cefotaxime, ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime và nhạy cảm với cefoxitin.

- (1) CZ, vòng kháng có kích thước 6 mm, kháng (≤ 14 mm, kháng hoàn toàn)
- (2) FOX, vòng kháng có kích thước 28 mm, nhạy cảm (≥ 18 mm, nhạy cảm)
- (3) CRO, vòng kháng có kích thước 6 mm, kháng (≤ 14 mm, kháng hoàn toàn)
- (4) CXM, vòng kháng có kích thước 6 mm, kháng (≤ 14 mm, kháng hoàn toàn)
- (5) CTX, vòng kháng có kích thước 6 mm, kháng (≤ 14 mm, kháng hoàn toàn)
- (6) CAZ, vòng kháng có kích thước 6 mm, kháng (≤ 14 mm, kháng hoàn toàn)



Hình 3.4. Kháng sinh đồ trên S035 chủng *Salmonella*

(A) Sinh enzyme ESBL

(1) CTX, vòng kháng có kích thước 10 mm

- (2) CTL, vòng kháng có kích thước 32 mm
- (3) CAZ, vòng kháng có kích thước 23 mm
hơn
- (4) CAL, vòng kháng có kích thước 28 mm
- (B) Sinh enzyme AmpC β -lactamase
- (5) CTX, vòng kháng có kích thước 11 mm
- (6) CTC, vòng kháng có kích thước 20 mm
- (7) CAZ, vòng kháng có kích thước 23 mm
lớn hơn
- (8) CAC, vòng kháng có kích thước 25 mm
- vòng kháng có kích thước CAL lớn hơn
- 5 mm so với vòng kháng CAZ
- vòng kháng có kích thước CAC lớn hơn
- 2 mm so với vòng kháng CAZ

Kết quả kiểm tra mức độ mẫn cảm với một số loại kháng sinh của các chủng *Salmonella* spp. phân lập được (n=119) được trình bày ở Bảng 3.2 và Hình 3.5, kết quả chi tiết từng mẫu.

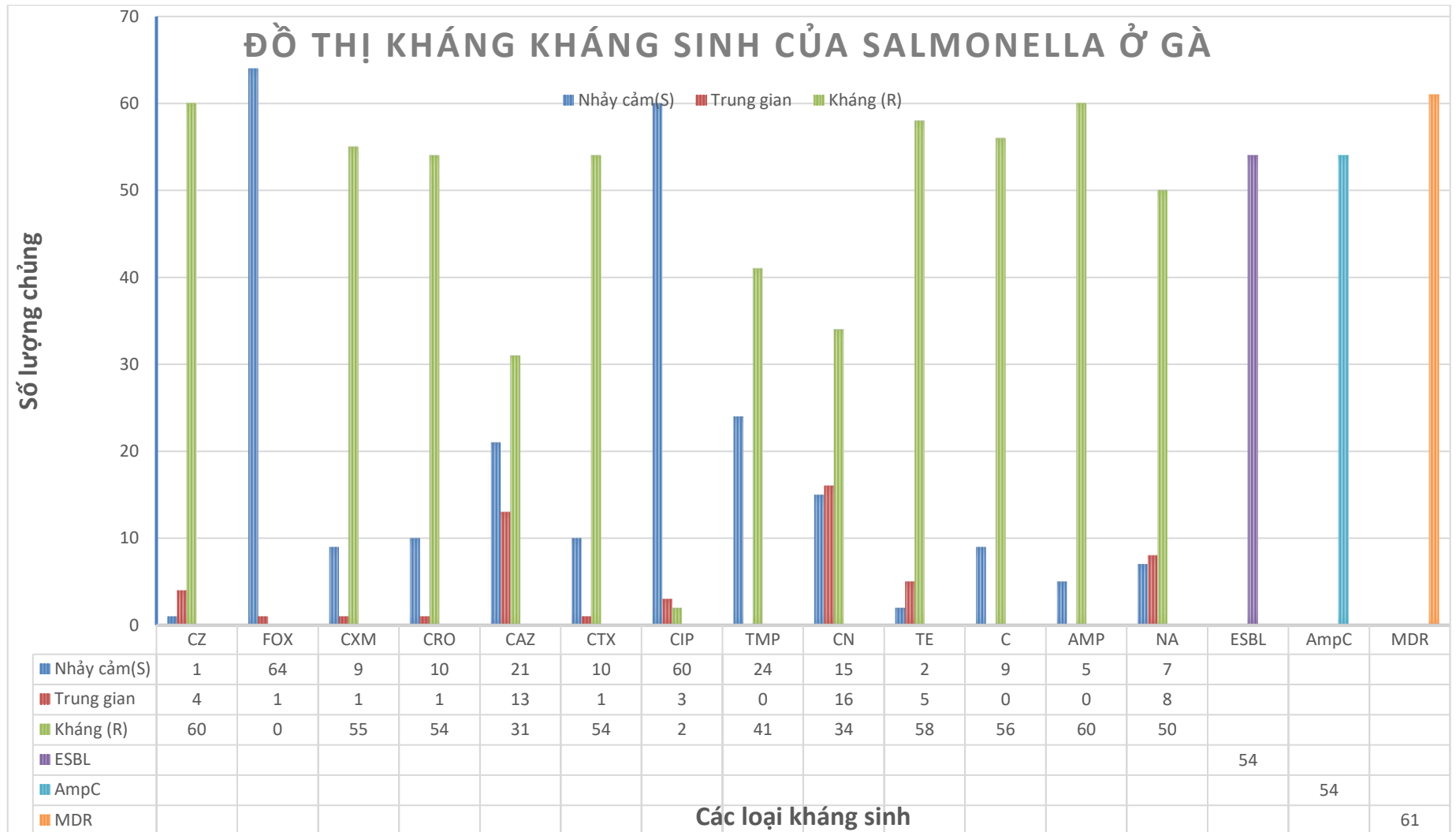
Bảng 3.2. Bảng kết quả độ nhạy kháng sinh

Kháng sinh		Mẫu gia cầm gồm: gà, vịt và ngan		Mẫu Gà		Mẫu Vịt		Mẫu Ngan	
		Số chủng	Tỉ lệ %	Số chủng	Tỉ lệ %	Số chủng	Tỉ lệ %	Số chủng	Tỉ lệ %
cefazolin (CZ)	S	2	1,68	1	1,54	1	2,94	0	0,00
	I	12	10,08	4	6,15	5	14,71	3	15,00
	R	105	88,24	60	92,31	28	82,35	17	85,00
cefoxitin (FOX)	S	117	98,32	64	98,46	33	97,06	20	100,00
	I	2	1,68	1	1,54	1	2,94	0	0,00
	R	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
cefuroxime (CXM)	S	23	19,33	9	13,85	11	32,35	3	15,00
	I	1	0,84	1	1,54	0	0,00	0	0,00
	R	95	79,83	55	84,62	23	67,65	17	85,00
ceftriaxone (CRO)	S	23	19,33	10	15,38	10	29,41	3	15,00
	I	2	1,68	1	1,54	1	2,94	0	0,00
	R	94	78,99	54	83,08	23	67,65	17	85,00
ceftazidime (CAZ)	S	44	36,97	20	30,77	15	44,12	9	45,00
	I	19	15,97	13	20,00	5	14,71	1	5,00
	R	56	47,06	32	49,23	14	41,18	10	50,00

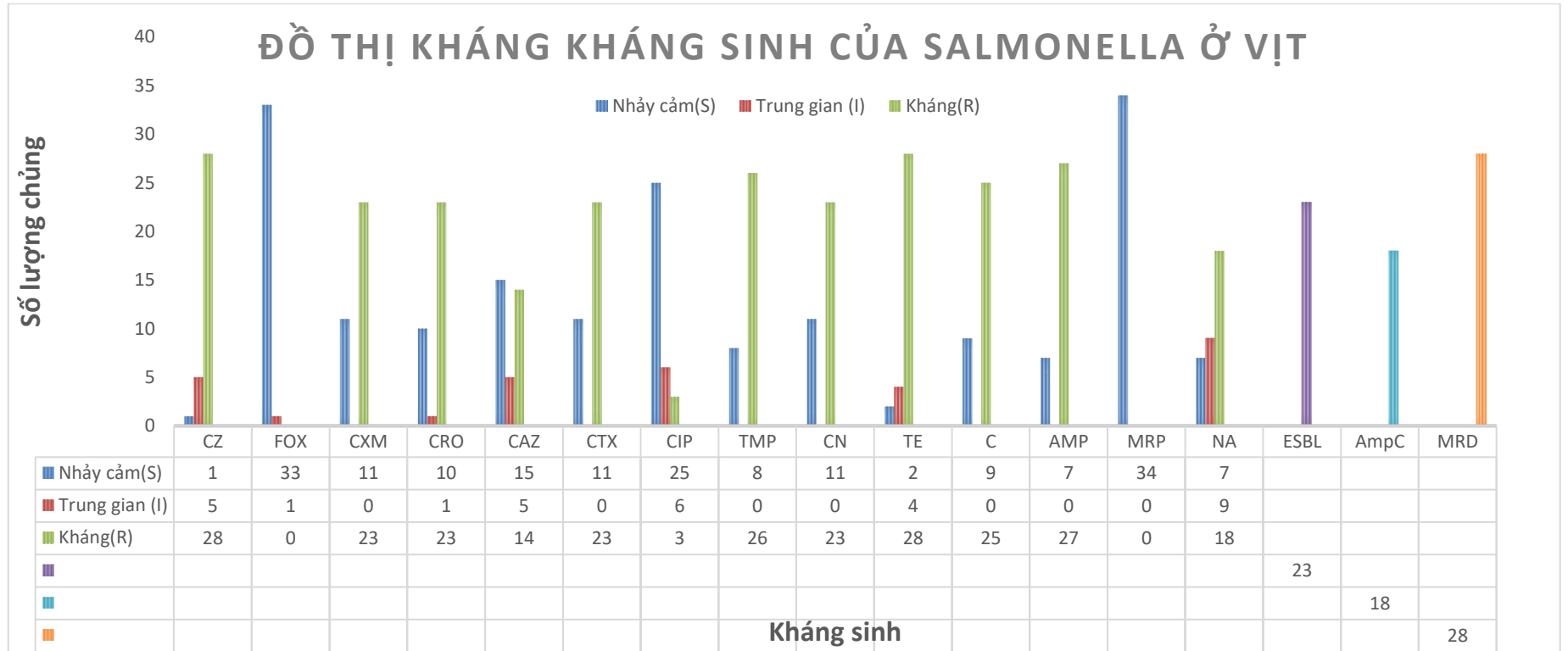
cefotaxime (CTX)	S	23	19,33	9	13,85	11	32,35	3	15,00
	I	1	0,84	1	1,54	0	0,00	0	0,00
	R	95	79,83	55	84,62	23	67,65	17	85,00
ciprofloxacin (CIP)	S	101	84,87	60	92,31	25	73,53	16	80,00
	I	11	9,24	3	4,62	6	17,65	2	10,00
	R	7	5,88	2	3,08	3	8,82	2	10,00
trimethoprim (TM)	S	38	31,93	24	36,92	8	23,53	6	30,00
	I	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	R	81	68,07	41	63,08	26	76,47	14	70,00
gentamycin (CN)	S	33	27,73	15	23,08	11	32,35	7	35,00
	I	17	14,29	16	24,62	0	0,00	1	5,00
	R	69	57,98	34	52,31	23	67,65	12	60,00
tetracycline (TE)	S	5	4,20	2	3,08	2	5,88	1	5,00
	I	10	8,40	5	7,69	4	11,76	1	5,00
	R	104	87,39	58	89,23	28	82,35	18	90,00
chloramphenicol (C)	S	27	22,69	9	13,85	9	26,47	9	45,00
	I	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	R	92	77,31	56	86,15	25	73,53	11	55,00
ampicillin (AMP)	S	13	10,92	5	7,69	7	20,59	1	5,00
	I	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	R	106	89,08	60	92,31	27	79,41	19	95,00

meropenem (MRP)	S	119	100,00	65	100,00	34	100,00	20	100,00
	I	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	R	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
nalidixic acid (NA)	S	17	14,29	7	10,77	7	20,59	3	15,00
	I	23	19,33	8	12,31	9	26,47	6	30,00
	R	79	66,39	50	76,92	18	52,94	11	55,00
imipenen (IMI)	S	119	100,00	65	100	34	100,00	20	100,00
	I	0	0,00	0	0	0	0,00	0	0,00
	R	0	0,00	0	0	0	0,00	0	0,00
Chủng sinh ESBL		94	78,99	54	83,08	23	67,65	17	85,00
Chủng sinh AmpC		87	73,11	54	83,08	18	52,94	15	75,00
Kháng đa kháng sinh		108	90,76	61	93,85	28	82,35	19	95,00

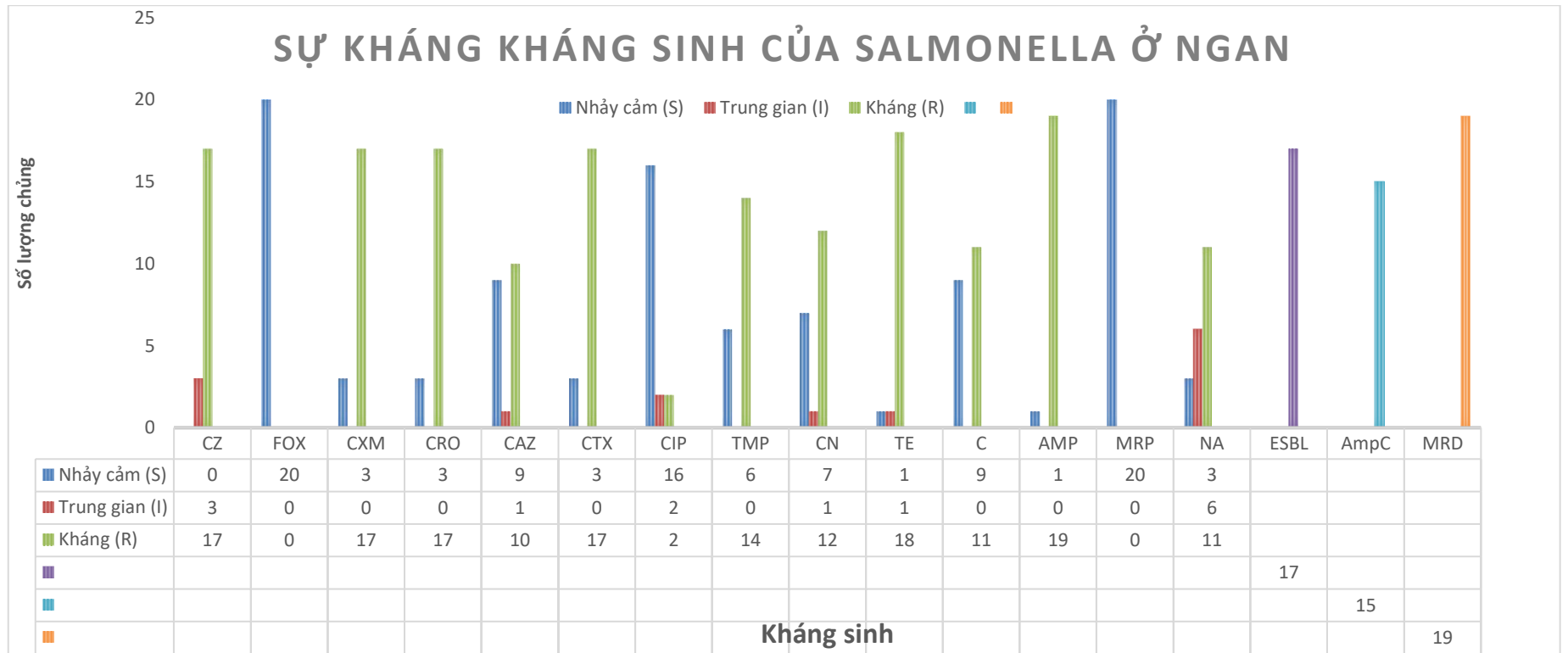
Chú thích: Cefazolin (CZ), cefoxitin (FOX), cefuroxime (CXM), ceftriaxone (CRO), ceftazidime (CAZ), cefotaxime (CTX), ciprofloxacin (CIP), trimethoprim (TMP), gentamicin (CN), tetracycline (TE), chloramphenicol (C), ampicillin (AMP), meropenem (MRP), imipenen (IMI), nalidixic acid (NA), Extended spectrum Beta-lactam (ESBL), AmpC β -lactamase (AmpC), Multi Drug Resistance (MDR)



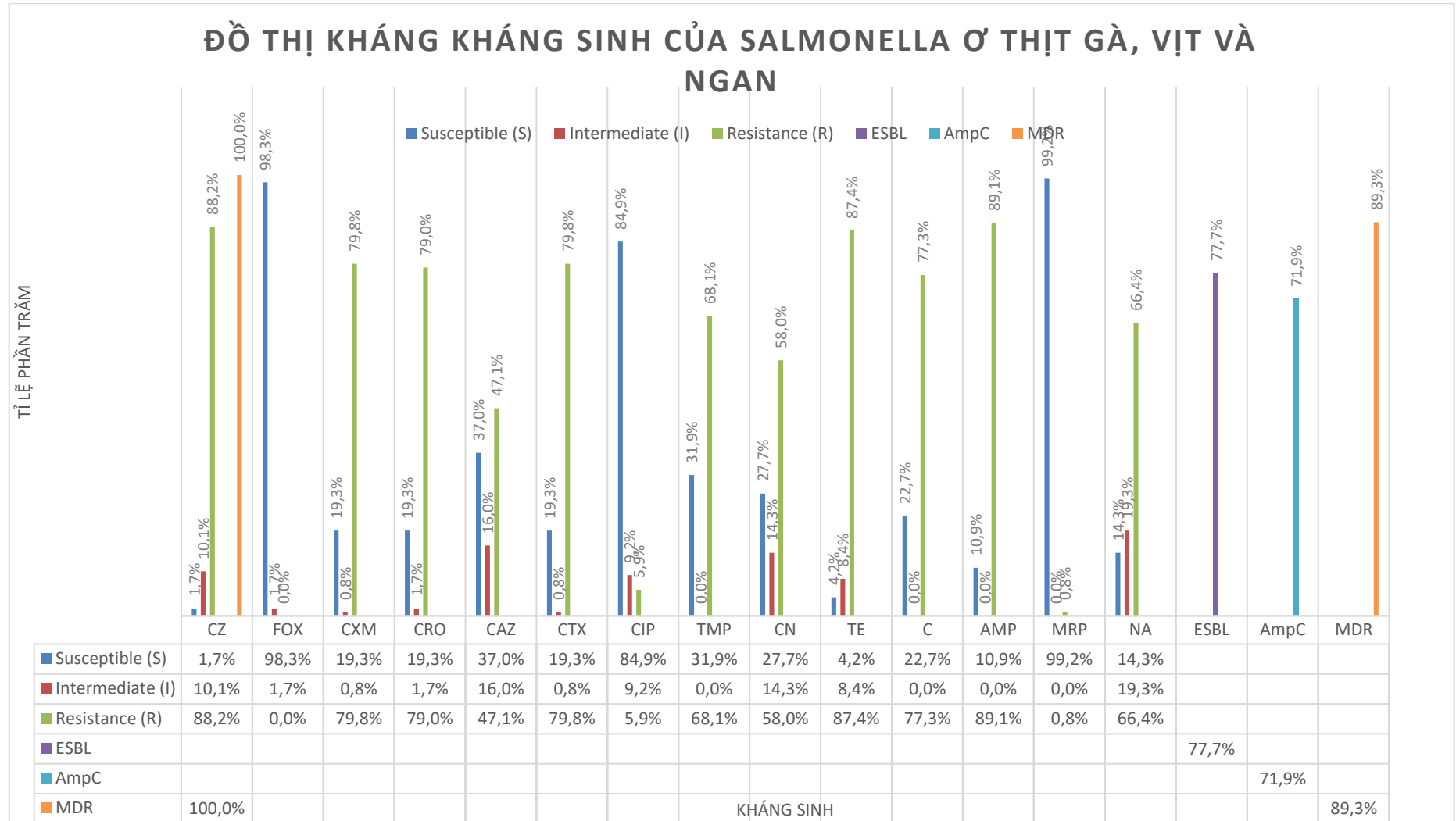
Hình 3.5. Sự nhạy cảm từng loại kháng sinh của chủng *Salmonella* phân lập từ gà



Hình 3.6. Sự nhạy cảm từng loại kháng sinh của chủng *Salmonella* phân lập từ vịt



Hình 3.7. Sự nhạy cảm từng loại kháng sinh của chủng *Salmonella* phân lập từ ngan



Hình 3.8. Sự nhạy cảm từng loại kháng sinh của chủng *Salmonella* phân lập từ gà, vịt và ngan

3.2.1. Sự nhạy cảm kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập từ gà

Khả năng kháng kháng sinh của tất cả các chủng *Salmonella* đã phân lập được thể hiện trong Bảng 3.2 và Hình 3.6. Trong số 65 chủng *Salmonella* được phân lập có 63/65 chủng (96,9%) đã đề kháng với ít nhất một trong số 15 loại kháng sinh. Kết quả thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh cho thấy kiểu hình kháng cao nhất với ampicillin và cefazolin (92,31%, 60/65), tiếp theo là tetracycline (89,23%, 58/65), chloramphenicol (86,15%, 56/65), cefuroxime (84,62%, 55/65), cefotaxime (84,62%, 55/65), ceftriaxone (83,08%, 54/65), axit nalidixic (76,92%, 50/65), trimethoprim (63,08%, 41/65), gentamicin (52,31%, 34/65), ceftazidime (49,23%, 32/65) ciprofloxacin (3,08%, 2/65). Tất cả các chủng đều nhạy cảm với ceftazidime, meropenem và imipenem. Tổng cộng, 93,85% số chủng (61/65) là chủng đa kháng thuốc (kháng với ít nhất 3 họ kháng sinh). Về khả năng sinh enzyme β -lactamase, 54/65 (83,08%) chủng đã phân lập đều sinh 02 loại enzyme là AmpC và ESBL.

3.2.2. Sự nhạy cảm kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập từ vịt

Khả năng kháng kháng sinh của tất cả các chủng *Salmonella* phân lập từ mẫu thịt vịt được thể hiện trong Bảng 3.2 và Hình 3.7. Trong số 34 chủng *Salmonella* được phân lập có 32/34 chủng (94,12%) đã đề kháng với ít nhất một trong số 15 loại kháng sinh. Kết quả thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh cho thấy kiểu hình kháng cao nhất với cefazolin và tetracycline (82,35%, 28/34), ampicillin (79,41%, 27/34), trimethoprim (76,47%, 26/34), chloramphenicol (73,53%, 25/34); tiếp theo là cefuroxime, ceftriaxone, cefotaxime và gentamycin (67,65%, 23/34); nalidixic acid (52,94%, 18/34), ceftazidime (41,18%, 14/34), cuối cùng là ciprofloxacin (8,82%, 3/34). Tất cả các chủng *Salmonella* phân lập được đều nhạy cảm với ceftazidime, meropenem và imipenem. Tổng cộng, 82,35% số chủng phân lập từ vịt (28/34) là chủng đa kháng thuốc (kháng với ít nhất 3 họ kháng sinh). Về khả năng sinh enzyme β -lactamase, 23/34 (67,65%) chủng đã phân lập sinh enzyme ESBL và 18/34 (52,94%) chủng sinh enzyme AmpC.

3.2.3. Sự nhạy cảm kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập từ ngan

Khả năng kháng kháng sinh của tất cả các chủng *Salmonella* phân lập từ mẫu thịt ngan được thể hiện trong Bảng 3.2 và Hình 3.8. Trong số 20 chủng *Salmonella*

được phân lập có 18/20 chủng (90,0%) đã đề kháng với ít nhất một trong số 15 loại kháng sinh. Kết quả thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh cho thấy kiểu hình kháng cao nhất với ampicillin (95,00%, 19/20), tetracycline (90,00%, 18/20), tiếp đó là cefazolin, cefuroxime, cefotaxime và ceftriaxone (85,00%, 17/20), trimethoprim (70,00%, 14/20), gentamycin (60,00%, 12/20), chloramphenicol và nalidixic acid (55,00%, 11/20), ceftazidime (50,00%, 10/20) cuối cùng là ciprofloxacin (10,00%, 2/20). Tất cả các chủng *Salmonella* phân lập được đều nhạy cảm với cefoxitin, meropenem và imipenem. Tổng cộng, 95,00% số chủng (19/20) là chủng đa kháng thuốc (kháng với ít nhất 3 họ kháng sinh). Về khả năng sinh enzyme β -lactamase, 17/20 (85,00%) chủng đã phân lập sinh enzyme ESBL và 15/20 (75,00%) chủng sinh enzyme AmpC.

Đứng trước 03 nhóm số liệu thống kê từ các nhóm đối tượng gia cầm cho thấy đây là thực trạng đáng báo động về việc kháng kháng sinh của *Salmonella*. Việc này sẽ gây nhiều khó khăn và thách thức đối với việc kiểm soát lây nhiễm và điều trị các bệnh có liên quan đến *Salmonella*.

3.2.4. Kiểu hình kháng kháng sinh của *Salmonella* phân lập từ gà, vịt và ngan

Khả năng kháng kháng sinh của tất cả các chủng *Salmonella* phân lập từ mẫu thịt gà, vịt và ngan được thể hiện trong Bảng 3.2 và Hình 3.9. Trong tổng số 119 chủng *Salmonella* được phân lập có 118/119 chủng (99,16%) đã đề kháng với ít nhất một trong số 15 loại kháng sinh. Kết quả thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh cho thấy kiểu hình kháng cao nhất với ampicillin (89,08%; 106/119), cefazolin (88,24%; 105/119), tetracycline (87,39%; 104/119); tiếp theo là cefuroxime và cefotaxime (79,83%; 95/119); ceftriaxone (78,99%; 94/119), chloramphenicol (77,31%; 92/119), trimethoprim (68,07%; 81/119), nalidixic acid (66,39%; 79/119), gentamycin (57,98%; 69/119), ceftazidime (47,06%, 56/119), cuối cùng là ciprofloxacin (5,88%; 7/119). Tất cả các chủng *Salmonella* phân lập được từ mẫu thịt gia cầm đều nhạy cảm với cefoxitin và meropenem, imipenem. Tổng cộng, 90,76% số chủng (108/119) là chủng đa kháng thuốc (kháng với ít nhất 3 họ kháng sinh). Về khả năng sinh enzyme β -lactamase, 94/119 (78,99%) chủng đã phân lập sinh enzyme ESBL và 87/119 (73,11%) chủng sinh enzyme AmpC.

Sự khác biệt không lớn về sự kháng kháng sinh giữa các chủng *Salmonella*

được phân lập từ gà, vịt và ngan được giải thích do điều kiện nuôi và giết mổ của chúng là tương đồng. Tại Việt Nam, gà, vịt và ngan thường được nuôi cùng nhau, do vậy chúng sẽ cùng tiếp xúc với các điều kiện tự nhiên, thức ăn, nơi sống cùng hoặc rất gần nhau và điều kiện nơi giết mổ cũng khá tương đồng nhau. Điều này giải thích cho việc chúng sẽ cùng kháng hoặc nhạy cảm với các kháng sinh tương tự nhau.

Điều này được giải thích: Trong quá trình chăn nuôi gia cầm, việc dùng các loại kháng sinh điều trị kéo dài, do sự có mặt thường xuyên của nhiều loại kháng sinh được bổ sung vào thức ăn và một nguyên nhân có khả năng cao xảy ra hiện tượng di truyền dọc và di truyền ngang tính kháng thuốc bởi các gen nằm trong Plasmid (Resistance) của các chủng *Salmonella*.

Sự lưu hành khả năng kháng kháng sinh (AMR) trong các mầm bệnh từ thực phẩm được coi là mối đe dọa nghiêm trọng đối với sức khỏe cộng đồng [197]. Sự xuất hiện và lây lan nhanh chóng của *Salmonella* không thương hàn kháng kháng sinh rất đáng lo ngại và đây cũng là một trong những nguyên nhân phổ biến nhất của bệnh truyền qua thực phẩm và là nguyên nhân quan trọng gây tử vong trên toàn thế giới [197]. *Salmonella* thường xuyên mang các yếu tố độc lực và yếu tố di động, cho phép chúng tích tụ và lây lan các gen kháng thuốc từ các chủng *Salmonella* khác và các loài khác phát triển trong hệ tiêu hóa của con người [197]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã khảo sát kiểu hình và kiểu gen kháng kháng sinh trên các mẫu gà nguyên con thu thập tại các chợ truyền thống ở thành phố Hà Nội. Các dữ liệu di truyền có thể cho thấy khả năng gây bệnh cho con người của các chủng *Salmonella* đã phân lập.

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ nhiễm khuẩn *Salmonella* kháng kháng sinh trên thịt gà ở thành phố Hà Nội rất cao. 96,9% số chủng kháng với một nhóm kháng sinh. 93,9% chủng kháng ít nhất ba loại kháng sinh khác nhau. Tỷ lệ *Salmonella* đơn và đa kháng (kháng với ít nhất ba loại kháng sinh) trong nghiên cứu của chúng tôi lớn hơn đáng kể so với những gì được báo cáo trong nghiên cứu của Nghiêm và cộng sự được thực hiện vào năm 2016 tại thành phố Hà Nội (27,3%, đơn kháng; 36,4% đa kháng) [194]. Ngoài ra, dựa trên các nghiên cứu khác đã được công bố về khả năng kháng *Salmonella* trong thịt gà ở Việt Nam, Van và cộng sự đã chứng minh rằng 50,5% chủng *Salmonella* đã phân lập (n = 18) trên tất cả các loại thịt (thịt

gà, thịt lợn, thịt bò và động vật 2 mảnh vỏ) đề kháng với ít nhất một loại kháng sinh. Nghiên cứu của Tạ Thị Yến năm 2012 ở thịt gà cũng báo cáo 56% số chủng phân lập kháng từ một đến bốn loại kháng sinh và 18% số chủng phân lập kháng từ năm đến chín loại kháng sinh [6]. Hơn nữa, *Salmonella* đề kháng với thuốc kháng sinh đang gia tăng với tỷ lệ tương tự ở gà thu gom từ các lò mổ và chợ bán lẻ ở Thái Lan và Campuchia, theo nghiên cứu của Trongjit [193]. Nghiên cứu này cho thấy 90% (n = 345) các chủng *Salmonella* phân lập được báo cáo là kháng ít nhất một loại kháng sinh, trong khi 45% kháng nhiều loại kháng sinh. Một nghiên cứu khác do Zhang và cộng sự thực hiện tại Trung Quốc năm 2016-2017 cho thấy các chủng *Salmonella* có khả năng kháng thuốc cao với 97,7% kháng ít nhất 1 loại kháng sinh và tỷ lệ đa kháng chiếm 81,1% (n = 302) [192]. Cả nghiên cứu của chúng tôi và các nghiên cứu trước đây ở các nước khác cũng cho thấy khả năng kháng cao đối với các chủng *Salmonella* được phân lập từ thịt gà.

Nghiên cứu khác của Trần Thị Nhật được thực hiện vào năm 2018 trên 301 mẫu gà được lấy tại lò mổ, chợ truyền thống và siêu thị ở Bắc Ninh, thành phố Hà Nội, Nghệ An cho thấy *Salmonella* ở gà kháng ampicillin (74,4%), tetracycline (62,8%), trimethoprim (53,5%), axit nalidixic (46,5%), chloramphenicol (41,9%) và ciprofloxacin (23,3%) [198]. Kết quả này tương tự với kết quả thu được từ nghiên cứu của chúng tôi. Sự tương đồng phản ánh tình trạng kháng thuốc của *Salmonella* trong chuỗi thức ăn. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương ứng với kết quả của nhiều nghiên cứu trên khắp thế giới về tính nhạy cảm với kháng sinh của *Salmonella* trên toàn cầu theo báo cáo của Castro-Vargas và cộng sự vào năm 2020 [112]. Báo cáo về tình trạng đa kháng hiện tại được tìm thấy trong 45/46 nghiên cứu về *Salmonella* ở gia cầm; Các chủng *Salmonella* được tìm thấy trong chuỗi thức ăn có tỷ lệ kháng thuốc kháng sinh cao như axit nalidixic (26,8-86,6%), ampicillin (14,9-68%), ampicillin (14,9-68%) trimethoprim/sulfamethoxazole (16-54,2%) và không kháng với các kháng sinh thuộc nhóm carbapenem như imipenem và meropenem. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy tỷ lệ *Salmonella* kháng với các kháng sinh khác cao hơn so với báo cáo của Castro-Vargas và cộng sự, đối với các kháng sinh cephalosporin (cefazolin, cefuroxime, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone), aminoglycoside (gentamicin) và phenicol (chloramphenicol).

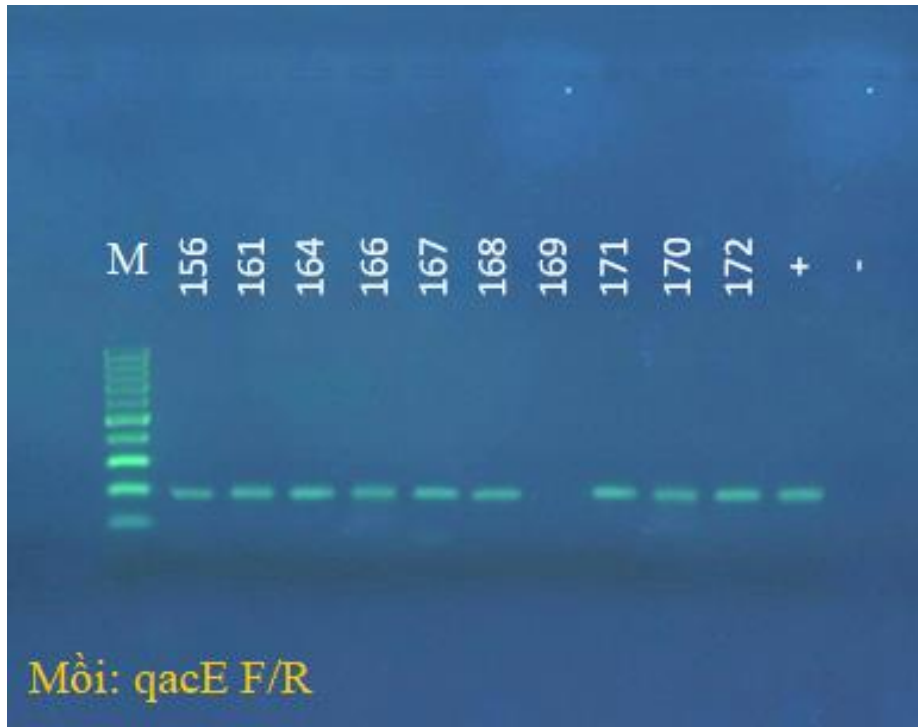
Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên báo cáo tỷ lệ *Salmonella* đa kháng thuốc cao nhất so với tất cả các nghiên cứu khác đã được thực hiện cho đến nay tại Việt Nam. Sự gia tăng khả năng đề kháng của *Salmonella* phân lập từ gà nói riêng và thực phẩm nói chung theo thời gian có thể là kết quả của việc sử dụng kháng sinh tự phát trong chăn nuôi, lạm dụng kháng sinh trong điều trị bệnh ở Việt Nam [80], [199]. Phát hiện này phản ánh dự báo về nguy cơ gia tăng kháng thuốc ở vi khuẩn gây bệnh ở Việt Nam của Tổ chức Y tế Thế giới [200].

3.2.5. Đánh giá khả năng kháng chất tẩy rửa bề mặt của một số chủng *Salmonella* spp. đa kháng kháng sinh

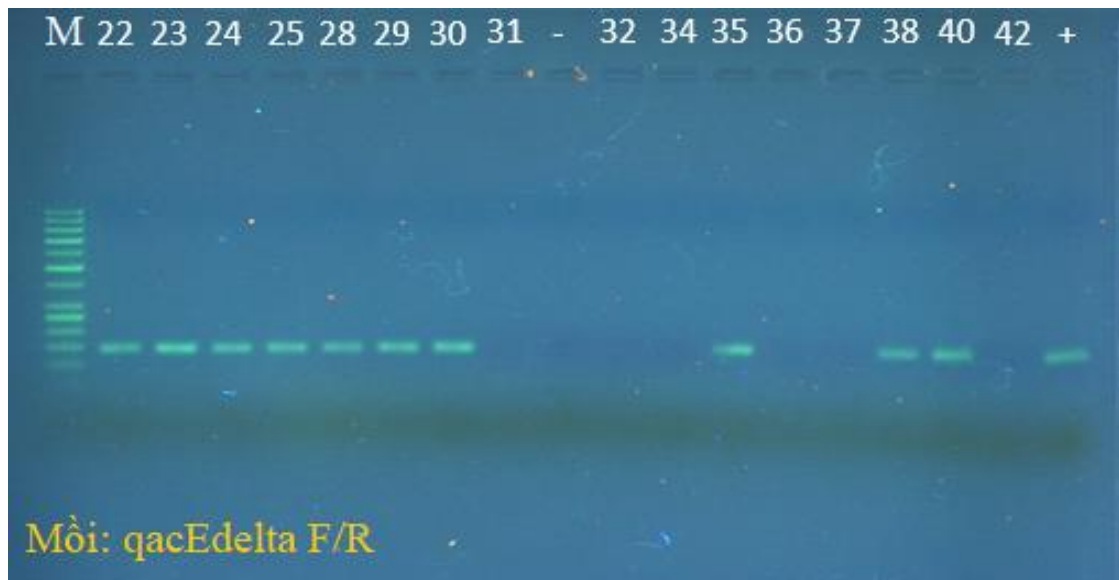
Kết quả PCR về gen *qacE* và *qacEdelta*

Sử dụng 119 các chủng theo Phụ lục I, đánh giá khả năng kháng chất tẩy rửa nhằm đánh giá mức độ lây lan và sự phức tạp sự nhiễm *Salmonella* trong sản xuất nông nghiệp, đặc biệt là trong chăn nuôi gia cầm và giết mổ gia cầm. Các chủng *Salmonella* mang khả năng kháng chất tẩy rửa sẽ rất khó để xử lý, chúng sẽ nhiễm vào chuỗi sản xuất thực phẩm cũng như lan truyền trong cộng đồng, đặc biệt là tại các cửa hàng bán thịt nhỏ lẻ-nơi mà các sản phẩm thực phẩm được bày bán trên cùng một sạp hoặc bàn.

Khuếch đại đoạn gen đích sử dụng 2 cặp mồi (*qacE*-For/Rev và *qacEΔ*-For/Rev) để phát hiện lần lượt gen quy định khả năng đề kháng QAC bao gồm *qacE* và *qacEΔ*. Kết quả cho thấy mỗi giếng của bản điện di hiển thị một băng sắc nét tương ứng với độ lớn của gen *qacE* (194 bp) và *qacEΔ* (140 bp) (Hình 2). Sự xuất hiện của các băng này chứng tỏ quá trình tách chiết DNA và phản ứng PCR diễn ra thành công, khuếch đại được đoạn gen đích ở 119 chủng *Salmonella*. Ngoài ra, dựa vào kết quả điện di, nghiên cứu cho thấy sự xuất hiện của những chủng mang đồng thời cả hai gen chiếm tỷ lệ cao trong tổng số các chủng thuộc nghiên cứu này. Kết quả PCR điện di các gen *qacE* và *qacEdelta* được thể hiện trong Hình 3.9, Hình 3.10 và các chủng khác được nêu tại Phụ lục IV và Bảng 3.3.



Hình 3.9. Kết quả PCR phát hiện gen *qacE* trên 10 chủng *Salmonella* (chủng S156; S161; S164; S166; S167; S168; S169; S171; S170; và S172)



Hình 3.10. Kết quả PCR phát hiện gen *qacEdelta* trên 16 chủng *Salmonella* (chủng S022; S023; S024; S028; S029; S030; S031; S032; S034; S035; S036; S037; S038; S040 và S042)

Kết quả xác định điểm nồng độ kháng chất tẩy rửa (giá trị MIC) được thể hiện tại Bảng 3.3.

Kết quả MIC của chất tẩy rửa

Đánh giá khả năng kháng với 02 chất hoạt động bề mặt Benzalkonium chloride (BKC) và Cetylpyridinium chloride (CPC) tại các nồng độ khác nhau, kết quả được tổng hợp trong Bảng 3.3.

Bảng 3.3. Kết quả phân tích tính kháng chất tẩy rửa

STT	Mã số chủng	MIC (ppm)		<i>qacE</i>	<i>qacEdelta</i>	Tổng số gen
		BKC	CPC			
1	S001	25	12.5	+	+	2
2	S002	25	12.5	+	+	2
3	S003	25	6.25	+	+	2
4	S005	12.5	6.25	-	-	0
5	S006	12.5	6.25	-	-	0
6	S007	25	12.5	+	+	2
7	S008	12.5	6.25	-	-	0
8	S010	12.5	6.25	+	+	2
9	S012	18.75	9.375	-	-	0
10	S013	25	12.5	-	-	0
11	S014	12.5	6.25	-	+	1
12	S015	25	12.5	+	+	2
13	S016	25	12.5	+	+	2
14	S018	18.75	12.5	+	+	2
15	S019	12.5	6.25	+	+	2
16	S021	25	12.5	+	+	2
17	S022	25	12.5	+	+	2
18	S023	25	12.5	+	+	2

19	S024	25	6.25	+	+	2
20	S025	25	12.5	+	+	2
21	S028	25	6.25	+	+	2
22	S029	25	12.5	+	+	2
23	S030	25	12.5	+	+	2
24	S031	25	6.25	-	-	0
25	S032	12.5	6.25	-	-	0
26	S034	12.5	12.5	-	-	0
27	S035	25	12.5	+	+	2
28	S037	25	6.25	+	-	1
29	S038	25	12.5	+	+	2
30	S040	25	12.5	+	+	2
31	S042	12.5	6.25	-	-	0
32	S043	25	6.25	-	-	0
33	S045	25	6.25	-	-	0
34	S047	25	12.5	+	+	2
35	S048	25	12.5	+	+	2
36	S049	25	12.5	+	+	2
37	S050	25	6.25	+	+	2
38	S051	12.5	6.25	-	-	0
39	S052	25	6.25	-	-	0
40	S053	18.75	12.5	+	+	2
41	S055	25	12.5	+	+	2
42	S056	25	12.5	-	-	0
43	S057	25	12.5	-	-	0

44	S059	12.5	6.25	+	+	2
45	S061	25	6.25	-	-	0
46	S063	25	12.5	+	+	2
47	S064	25	12.5	+	+	2
48	S065	12.5	12.5	+	+	2
49	S066	12.5	6.25	-	-	
50	S068	12.5	6.25	+	+	2
51	S069	25	9.375	+	+	2
52	S070	12.5	6.125	+	+	2
53	S071	12.5	12.5	+	+	2
54	S072	12.5	12.5	+	+	2
55	S073	12.5	6.25	-	-	0
56	S074	25	6.25	+	+	2
57	S075	25	12.5	+	+	2
58	S077	25	12.5	+	+	2
59	S078	12.5	6.25	-	-	0
60	S079	12.5	6.25	+	+	2
61	S080	25	12.5	+	+	2
62	S082	25	12.5	+	+	2
63	S083	25	12.5	+	+	2
64	S085	12.5	12.5	-	-	0
65	S086	12.5	6.25	-	-	0
66	S087	12.5	6.25	-	-	0
67	S089	12.5	6.25	-	-	0
68	S091	12.5	12.5	+	+	2

69	S092	25	12.5	+	+	2
70	S093	25	6.25	+	+	2
71	S094	25	12.5	+	+	2
72	S095	25	12.5	+	+	2
73	S097	12.5	6.25	-	-	0
74	S100	12.5	6.25	+	+	2
75	S101	25	6.25	+	+	2
76	S102	25	6.25	-	-	0
77	S103	25	12.5	+	-	1
78	S104	12.5	6.25		-	0
79	S105	25	12.5	+	+	2
80	S106	25	12.5	-	+	1
81	S107	12.5	6.25	-	-	0
82	S108	25	12.5	+	-	1
83	S110	25	12.5	+	-	1
84	S111	25	12.5	+		1
85	S115	12.5	6.25	-	-	0
86	S116	12.5	6.25	-	-	0
87	S117	18.75	6.25	+	-	1
88	S120	12.5	12.5	+	-	1
89	S121	25	6.25	-	-	0
90	S123	25	12.5	+	+	2
91	S124	18.75	12.5	+		1
92	S125	12.5	12.5	+	+	2
93	S128	12.5	6.25	-	-	0

94	S129	12.5	6.25	-	-	0
95	S137	12.5	12.5	-	-	0
96	S139	25	12.5	-	-	0
97	S140	12.5	6.25	-	-	0
98	S142	12.5	6.25	-	-	0
99	S143	12.5	6.25	-	-	0
100	S144	12.5	6.25	-	-	0
101	S145	12.5	6.25	-	-	0
102	S146	12.5	6.25	-	-	0
103	S148	12.5	6.25	-	-	0
104	S151	25	6.25	-	-	0
105	S152	12.5	6.25	-	-	0
106	S153	12.5	12.5	-	-	0
107	S154	25	6.25	-	-	0
108	S155	12.5	6.25	-	-	0
109	S156	12.5	12.5	+	+	2
110	S161	12.5	6.25	+	-	1
111	S164	25	12.5	+	+	2
112	S166	12.5	6.25	+	+	2
113	S167	12.5	12.5	+	+	2
114	S168	12.5	6.25	+	+	2
115	S169	18.75	9.375	-	-	0
116	S170	12.5	6.25	+	+	2
117	S171	12.5	6.25	+	+	2
118	S109	12.5	9.38	+	+	2

119	S060	12.5	6.25	-	-	
Giá trị MIC trung bình với BKC các chủng mang gen				20.5	20.5	
Giá trị MIC trung bình với CPC các chủng mang gen				10.5	10.6	
Giá trị MIC kháng trung bình với BKC các chủng không mang gen				16.3	16.5	
Giá trị MIC kháng trung bình với CPC các chủng không mang gen				7.2	7.2	
Tổng số chủng mang gen				73 (61.34%)	72 (60.54%)	
Ghi chú: “+” là dương tính; “-” là âm tính						

Các gen chịu trách nhiệm chính cho khả năng kháng các hợp chất có chứa gốc nitơ bậc bốn (QAC) được gọi là các gen *qac* [201], trong đó được biết đến nhiều nhất là *qacE* và *qacEdelta*. Cho đến nay, chỉ dựa vào khả năng liên kết và trao đổi vật chất di truyền của vi sinh vật, các gen này đã được lan truyền rộng rãi giữa các nhóm vi khuẩn trong thử nghiệm lâm sàng và trong môi trường [201]. Tuy vậy, những nghiên cứu xác định sự tồn tại và tác dụng của gen *qacE* và *qacEdelta* trên đối tượng vi khuẩn *Salmonella* còn rất hạn chế, do đó nghiên cứu này sẽ góp phần chứng minh sự tồn tại của gen kháng chất tẩy rửa có mặt trong nhóm vi khuẩn này tại Việt Nam. Kết quả thí nghiệm của chúng tôi cho thấy chủng *Salmonella* mang gen *qacE* 61.34% (73/119), mang gen *qacE* delta 60.54% (72/119). Ở một nghiên cứu khác của Chuanchuen và cộng sự, 27% số lượng các chủng *Salmonella* có chứa gen *qacEdelta* và không phát hiện bất kỳ một chủng nào mang gen *qacE I* [202]. Điều này cho thấy độ phổ biến rất cao của các gen *qac* đặc biệt là *qacE* trong các mẫu xác thịt gia cầm thu thập tại thành phố Hà Nội, gia tăng mối nguy hại về khả năng kháng thuốc diệt khuẩn và là hồi chuông cảnh báo ô nhiễm thực phẩm tại địa bàn. Cùng là nghiên cứu về gen ức chế tác động của QAC nhưng được thực hiện trên đối tượng là các chủng vi khuẩn *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Stenotrophomonas maltophilia*, nhóm nghiên cứu người Đức cho thấy 10% (10/103) tổng số lượng các chủng mang gen kháng *qac*, trong đó sự có mặt của một chủng có

chứa cả hai gen là đại diện vi khuẩn có khả năng mang đồng thời gen *qacE* và *qacEdelta* [203].

Trong nghiên cứu năm 2021, dựa trên khả năng chống chịu với hợp chất QAC, các chủng *Salmonella* được phân thành 3 nhóm: giá trị MIC từ 3,13 đến 6,26 $\mu\text{g/mL}$ = chủng nhạy cảm với chất tẩy rửa, 6,27 đến 12,54 $\mu\text{g/mL}$ = khả năng chống chịu trung bình và giá trị MIC trong khoảng 12,55 đến 25,10 $\mu\text{g/mL}$ là các chủng có khả năng đề kháng mạnh [204]. Đối với dung dịch tẩy rửa benzalkonium chloride (BKC), tất cả các chủng *Salmonella* có chỉ số MIC dao động từ 12,5 – 25 $\mu\text{g/mL}$. Các chủng chống chịu trung bình chiếm tỉ lệ 46% (54/119) trong quần thể vi khuẩn ban đầu, trong khi đó 54% (64/119) các chủng *Salmonella* thể hiện khả năng đề kháng cao với hợp chất này (Bảng 1). Đối với cetylpyridinium chloride (CPC), không có chủng vi khuẩn nào trong nghiên cứu này cho thấy khả năng đề kháng cao thông qua thử nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu của dung dịch tẩy rửa bề mặt. Các chủng có khả năng chống chịu trung bình và đề nhạy cảm chiếm khoảng 51% (61/119) với từng mức độ kháng.

Kết quả thử nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu của hai dung dịch QAC đối với các chủng *Salmonella* trong nghiên cứu này cho thấy sự tương đồng với các nghiên cứu trước đó. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy 54% (64/119) các chủng đề kháng cao với benzalkonium chloride. Nghiên cứu của Obe và cộng sự trên 25 chủng *Salmonella* đồng thời công bố tỷ lệ cao 36% (09/25) các chủng có khả năng đề kháng BKC với chỉ số MIC từ 12,55-25,10 $\mu\text{g/mL}$, khả năng chống chịu trung bình đến yếu được tìm thấy ở 32% (08/25) các chủng còn lại [204]. Phân bố dày đặc sức đề kháng BKC cũng đã được tìm thấy trong nghiên cứu của Chuanchuen thực hiện trên 125 chủng *Salmonella* bằng phương pháp pha loãng đĩa thạch. Trong đó, 89% (108/122) các chủng có chỉ số MIC nằm trong khoảng 32-256 $\mu\text{g/mL}$ và phần lớn các chủng có giá trị MIC với dung dịch BKC là 64 $\mu\text{g/mL}$ [205]. Đối với dung dịch cetylpyridinium chloride, tất cả các chủng vi khuẩn cho thấy khả năng chống chịu trung bình đến yếu đối với hợp chất này. Theo đó, 51% (61/119) các chủng *Salmonella* bị ức chế phát triển sử dụng CPC với nồng độ 3,13 - 6,26 $\mu\text{g/mL}$ và tỷ lệ tương tự 49% (58/119) các chủng bị ức chế ở nồng độ 6,27 - 12,54 $\mu\text{g/mL}$ của dung dịch. Kết quả cho thấy sự khác biệt so với nghiên cứu của Humayoun và cộng sự công bố chủng *Salmonella*

serovar Heidelberg phân lập từ thịt gà tây có khả năng đề kháng dung dịch CPC ở nồng độ 80 $\mu\text{g/mL}$ [206]. Sự khác biệt này bắt nguồn từ ứng dụng của hợp chất CPC tại các quốc gia thường không giống nhau. Tại Hoa Kỳ, CPC được sử dụng trong nhiều sản phẩm vệ sinh răng miệng từ rất lâu trước khi được phép sử dụng trên thực phẩm (chế biến gia cầm sống). Việc áp dụng CPC vào quá trình làm sạch bề mặt da làm suy giảm khả năng lây nhiễm *Salmonella* trong sản xuất thịt gia cầm [207], [208]; tuy nhiên quá trình áp dụng lâu dài có thể là nguyên nhân dẫn tới khả năng đề kháng cao của vi khuẩn đối với hợp chất này [209]. Tại Việt Nam, cetylpyridinium chloride thường được tìm thấy trong các sản phẩm kem đánh răng, nước súc họng, hoặc các sản phẩm như xịt họng, xịt hơi thở hay xịt mũi. Do đó, các nghiên cứu về việc áp dụng hóa chất này trong các khu vực trang trại chăn nuôi hoặc khu vực giết mổ chế biến thịt gia cầm còn rất hạn chế, được cho là nguyên nhân lý giải về khả năng ức chế mạnh của CPC đối với *Salmonella*.

Các nghiên cứu sớm hơn đã chỉ ra rằng *qacE* và *qacE Δ* là hai gen chịu trách nhiệm chính cho khả năng kháng các hợp chất có chứa gốc nitơ bậc bốn (QAC). Cho đến nay, chỉ dựa vào khả năng liên kết và trao đổi vật chất di truyền của vi sinh vật, các gen này đã được lan truyền rộng rãi giữa các nhóm vi khuẩn trong thử nghiệm lâm sàng và trong môi trường [210]. Tuy nhiên, những nghiên cứu về sự phổ biến và tác dụng của hai gen trên đối tượng vi khuẩn *Salmonella* còn gặp nhiều hạn chế tại các quốc gia như Việt Nam, nơi mà gia cầm là mặt hàng thịt tiêu thụ phổ biến. Nghiên cứu này của chúng tôi đã cho thấy khả năng phân bố của hai gen *qacE* và *qacE Δ* trong quần thể vi khuẩn *Salmonella* ban đầu. Trong đó, 61% (73/119) các chủng được tìm thấy dương tính với gen *qacE/qacE Δ* , 39% (46/119) các chủng âm tính với cả hai gen nhưng cho kết quả đa dạng trong thử nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu với chất tẩy rửa QAC đã mở ra những điểm mới lạ về khả năng đề kháng của nhóm vi khuẩn này. Đối với các chủng mang gen, tỷ lệ phân bố gen *qacE* (61%, 73/119) cho thấy sự tương đồng với gen *qacE Δ* (60%, 72/119); tỷ lệ tương đồng này giữa hai gen đã được công bố trong nghiên cứu trước đó của Obe và cộng sự với tỷ lệ *qacE*, *qacE Δ* lần lượt là 68% (17/25) và 76% (19/25). Bên cạnh đó, công bố của nhóm nghiên cứu người Mỹ cho thấy tỉ lệ trung bình mang gen *qacE/qacE Δ* là 72% (18/25) cao hơn rất nhiều so với tỉ lệ đề kháng BKC là 36% (09/25) [204]. Sự chênh lệch giữa tỷ lệ mang gen

và khả năng đề kháng chất tẩy rửa là điểm tương đồng được tìm thấy trong nhiều công bố; ví dụ nhóm nghiên cứu của Chuanchuen và cộng sự cho thấy tỷ lệ cao trong đề kháng BKC 89% (108/122) chênh lệch lớn so với tỷ lệ các chủng *Salmonella* mang gen là 27% (33/122) [205]. Nghiên cứu của chúng tôi đồng thời thể hiện sự chênh lệch này khi các chủng mang gen *qacE/ qacEΔ* chiếm tỷ lệ 61% (73/119) bên cạnh khả năng đề kháng BKC được tìm thấy trong 42% (49/119) các chủng *Samonella*. Đặc điểm chung của những nghiên cứu trên là không thể quan sát được mối tương quan giữa giá trị MIC cao đối với dung dịch BKC và sự hiện diện của *qacE/ qacEΔ* trên đối tượng là *Salmonella* cũng như nhóm vi khuẩn Gram âm khác [204], [205], [211].

Để lý giải hiện tượng này, các nghiên cứu trước đó đã chứng minh có nhiều yếu tố góp phần vào khả năng ức chế vi khuẩn kém hiệu quả của chất kháng khuẩn, cho phép mầm bệnh từ thực phẩm tồn tại sau quá trình vệ sinh [212]. Một số yếu tố bao gồm sự có mặt của các bơm hút đẩy trên cấu trúc màng tế bào và sự hình thành màng sinh học ở các chủng *Salmonella*. Để có thể tồn tại, *Salmonella enterica* biểu hiện quá mức các gen mã hóa bơm hút đẩy bao gồm AcrA và TolC, có khả năng tác động lên một loạt các hợp chất không giống nhau về mặt hóa học, bao gồm chất diệt khuẩn và chất kháng sinh [213]–[215]. Ngoài ra, những thay đổi trong thành tế bào dẫn đến sự suy giảm khả năng thẩm thấu cũng có thể là nguyên nhân gây ra tình trạng kháng này trong các nhóm vi khuẩn. Hơn nữa, các nghiên cứu trước đó đã chỉ ra khả năng hình thành màng sinh học của *Salmonella enterica* trên các bề mặt tiếp xúc khác nhau khiến việc loại bỏ chúng khó khăn hơn so với các tế bào tự do không liên kết [216], [217]. Trong màng sinh học, các tế bào vi khuẩn được bao bọc trong một ma trận chất nền tự sản xuất có thể đóng vai trò bảo vệ cơ học và hóa học, chống lại điều kiện môi trường khắc nghiệt xung quanh [218]. Bề mặt nhựa và thép không gỉ thường phổ biến trong các dây chuyền sản xuất, lò mổ và khu vực chế biến gia cầm là vị trí vi khuẩn *Salmonella* có thể bám vào và phát tín hiệu hình thành màng sinh học [204]. Vì vậy, hiểu biết khả năng hình thành màng sinh học của các chủng *Salmonella* là đặc biệt cần thiết để kiểm soát sự phơi nhiễm *Salmonella* từ thịt gia cầm và các sản phẩm liên quan.

3.3. Kết quả phân tích gen kháng kháng sinh từ một số chủng *Salmonella* phân lập

3.3.1. Đặc điểm hệ gen *Salmonella*

Vì lý do kinh tế không thể tiến hành toàn bộ 119 chủng phân lập do đó, nghiên cứu đã lựa chọn các chủng *Salmonella* có kiểu hình kháng kháng sinh và kháng chất tẩy rửa mạnh từ gà (10 chủng: 8 chủng có kiểu hình kháng mạnh và 2 chủng có kiểu hình kháng yếu), vịt (8 chủng có kiểu hình kháng mạnh) và ngan (8 chủng có kiểu hình kháng mạnh) từ bộ chủng lưu giữ của 119 mẫu dương theo Bảng 3.4:

Bảng 3.4. Kiểu hình kháng kháng sinh của các chủng giải trình tự hệ gen

Stt	Mã chủng	Mã chủng giải trình tự	Nguồn phân lập	Kiểu hình kháng kháng sinh của các chủng
1	S032	32_S8	Ngan	CAZ-TM-CN-TE-AMP- CXM-CRO-CZ-CTX-
2	S037	37_S9	Ngan	CAZ-TM-TE-AMP- CXM-CRO-CZ-CTX
3	S074	74_S1	Ngan	CTX-CAZ-CN-TE-AMP-CXM-CRO-CZ-
4	S089	89_S1	Ngan	TM-TE-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX
5	S109	109_S2	Ngan	TM-CN-TE-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX-CAZ
6	S129	129_S3	Ngan	TM-CN-TE-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX
7	S146	146_S4	Ngan	CAZ-CN-TE-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX
8	S148	148_S5	Ngan	TM-CN-TE-C-AMP- CXM-CRO-CZ-CTX-CAZ-
9	S012	12_S2	Gà	CAZ-TE-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX-
10	S013	13_S3	Gà	CAZ-TM-CN-TE-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX
11	S019	19_S4	Gà	TM-C-AMP-CXM-CZ
12	S021	21_S5	Gà	-CAZ--TM-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX
13	S025	25_S6	Gà	CAZ--TM-CN-TE-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX
14	S052	52_S14	Gà	CAZ- -TM-TE-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX
15	S056	56_S15	Gà	TM-CN-TE-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX-CAZ
16	S061	61_S18	Gà	CAZ- -TE-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX
17	S064	64_S19	Gà	CAZ-TM-CN-C-AMP-CXM-CRO-CZ-CTX
18	S008	8_S1	Gà	CZ--TM-TE-AMP
19	S068	68_S20	Vịt	CAZ-TM-CN-TE-AMP-CMX-CRO-CZ-CTX
20	S043	43_S11	Vịt	CAZ-TM-CN-TE-C-AMP-CMX-CRO-CZ-CTX

21	S045	45_S12	Vịt	CAZ-TM-CN-TE-C-AMP-CMX-CRO-CZ-CTX
22	S051	51_S13	Vịt	CAZ-TM-CN-TE-C-AMP-CMX-CRO-CZ-CTX
23	S031	31_S7	Vịt	CAZ-TM-CN-TE-AMP-CMX-CRO-CZ-CTX
24	S042	42_S10	Vịt	CMX-CRO-CZ-CTX-CAZ-TM-CN-TE-C-AMP
25	S057	57_S16	Vịt	CAZ-TM-CN-C-AMP-CMX-CRO-CZ-CTX
26	S060	60_S17	Vịt	CAZ-TM-CN-TE-C-AMP-CMX-CRO-CZ-CTX

Kết quả giải trình tự hệ gen của 26 chủng *Salmonella* kháng kháng sinh cho thấy tỉ lệ GC từ 50,47% đến 52,63%; N50 từ 18804 đến 79467; kích thước hệ gen từ 4.655.893 bp đến 5.068.882 bp (theo Bảng 3.5). Các trình tự đạt yêu cầu để thực hiện các giai đoạn tiếp theo.

Phân tích dữ liệu giải trình tự hệ gen của 26 chủng sử dụng công cụ phân tích TORMES [219] và Rast (<https://rast.nmpdr.org/rast.cgi>) có kết quả tổng thể như sau:

Bảng 3.5. Đặc điểm trình tự của hệ gen

Mã chủng giải trình tự	Số lượng contigs	Độ dài hệ gen (bp)	N50 (bp)	Tỉ lệ % GC
12_S2	465	4.688.801	24.135	52,58
13_S3	393	4.788.214	29.823	52,21
19_S4	483	4.954.070	24.679	52,14
21_S5	428	4.931.166	24.548	52,40
25_S6	530	4.878.881	18.804	52,51
31_S7	305	4.701.119	34.942	52,29
32_S8	383	4.707.459	29.742	52,38
37_S9	443	4.923.944	24.717	52,39
42_S10	425	4.671.790	28.050	52,45
43_S11	493	4.905.076	23.437	52,15
45_S12	334	4.744.687	37.074	52,27
51_S13	329	4.766.796	36.997	52,32
52_S14	506	4.924.654	22.592	52,54
56_S15	383	4.678.161	30.011	52,36

Mã chủng giải trình tự	Số lượng contigs	Độ dài hệ gen (bp)	N50 (bp)	Tỉ lệ % GC
57_S16	382	4.655.893	30.153	52,41
60_S17	493	4.682.797	22.011	52,51
61_S18	518	4.707.959	20.003	52,63
64_S19	508	4.918.718	22.505	52,48
68_S20	464	4.804.148	24.436	42,47
8_S1	385	4.823.844	28.113	52,29
89_S1	319	5.020.645	33.336	51,63
74_S1	149	4.835.519	79.467	50,47
148_S5	154	4.722.564	66.521	51,55
109_S2	230	4.968.615	49.847	52,00
129_S3	173	4.838.537	59.252	51,67
146_S4	179	5.068.882	73.813	51,24

Kết quả về sự phân bố các nhóm gen core gen, soft core gen, shell gen, cloud gen của chủng *Salmonella* theo Bảng 3.6 [219]

Bảng 3.6. Bảng tổng hợp các phân nhóm gen

Nhóm Gen	Mô tả	Số lượng gen
Nhóm Core gen	Sự phân bố từ 99% đến $\leq 100\%$ ở các chủng <i>Salmonella</i>	3423
Nhóm Soft core gen	Sự phân bố từ 95% đến $< 99\%$ ở các chủng <i>Salmonella</i>	135
Nhóm Shell gen	Sự phân bố từ 15% đến $< 95\%$ ở các chủng <i>Salmonella</i>	1982
Nhóm Cloud gen	Sự phân bố từ 0% đến $< 15\%$ ở các chủng <i>Salmonella</i>	2273

Nhóm Gen	Mô tả	Số lượng gen
Tổng số gen	Sự phân bố từ 0% đến <= 100% ở các chủng <i>Salmonella</i>	7813

Hệ gen của các chủng giải trình tự được chú giải sử dụng công cụ Rast (<https://rast.nmpdr.org/rast.cgi>), kết quả của một trình tự reads đã được chú giải sơ đồ hóa như Bảng 3.7 ở chủng số 74_S1 (Kentucky). Kết quả phân tích từ dữ liệu của chủng số 74 thấy 56 gen độc lực, gen kháng kháng sinh; 16 gen liên quan phages, prophages, plasmid, transposable element; 56 gen RNA trao đổi chất và các nhóm gen quan trọng khác. <https://rast.nmpdr.org/seedviewer.cgi?page=Organism&organism=6666666.950086> (chủng với mã số S074 được phân lập từ ngan tại chợ Thái Hà, Đống Đa, thành phố Hà Nội).

Bảng 3.7. Sự phân bố các nhóm gen trong hệ gen của chủng số 74_S1

STT	Nhóm gen	Số lượng	Tỉ lệ %
1	Cofactors, Vitamins, Prosthetic Groups, Pigments	171	7,90
2	Cell Wall and Capsule	61	2,82
3	Virulence, Disease and Defense	56	2,59
4	Potassium metabolism	15	0,69
5	Photosynthesis	0	0,00
6	Miscellaneous	23	1,06
7	Phages, Prophages, Transposable elements, Plasmids	16	0,74
8	Membrane Transport	132	6,10
9	Iron acquisition and metabolism	28	1,29
10	RNA Metabolism	59	2,73
11	Nucleosides and Nucleotides	82	3,79
12	Protein Metabolism	227	10,48
13	Carbohydrates	357	16,49
14	Cell Division and Cell Cycle	7	0,32
15	Motility and Chemotaxis	13	0,60
16	Regulation and Cell signaling	59	2,73
17	Secondary Metabolism	4	0,18
18	DNA Metabolism	88	4,06
19	Fatty Acids, Lipids, and Isoprenoids	72	3,33
20	Nitrogen Metabolism	51	2,36
21	Dormancy and Sporulation	1	0,05
22	Respiration	120	5,54

23	Stress Response	86	3,97
24	Metabolism of Aromatic Compounds	26	1,20
25	Amino Acids and Derivatives	352	16,26
26	Sulfur Metabolism	24	1,11
27	Phosphorus Metabolism	35	1,62
	Tổng số gen	2165	100

3.3.2. Kết quả xác định tuýp huyết thanh và MLST

Để góp phần ngăn ngừa và phòng chống các vụ ngộ độc thực phẩm do *Salmonella* spp. gây ra, việc xác định được các tác nhân gây bệnh và hiểu đầy đủ bản chất của mầm bệnh mang lại ý nghĩa rất quan trọng. Vì vậy, việc xác định chính xác tuýp huyết thanh của các chủng *Salmonella* spp. phân lập được từ các mẫu thịt tươi bày bán ở một số chợ truyền thống là một phần không thể thiếu trong nghiên cứu này. Kết quả giám định giúp chúng ta phân nào hiểu được các tuýp huyết thanh nào là tác nhân chính gây ra các vụ ngộ độc thực phẩm. Chúng tôi đã tiến hành xác định tuýp huyết thanh của các chủng *Salmonella* spp. sử dụng trình tự hệ gen với công cụ *Salmonella In Silico Typing Resource* (SISTR) – đây là công cụ hiệu quả trong định tuýp huyết thanh nhanh và chính xác; đồng thời việc xác định tuýp huyết thanh cũng được chạy song song trên phần mềm chuyên định tuýp huyết thanh <https://enterobase.warwick.ac.uk/> với công cụ SISTR1 and SeqSero2 [220].

Sử dụng đồng thời 02 phần mềm cho kết quả không có sự khác biệt, kết quả các tuýp huyết thanh thu được của 26 chủng *Salmonella* phân lập được trình bày ở bảng sau (Bảng 3.7) [185]:

Bảng 3.7. Bảng phân bố tuýp huyết thanh và phân nhóm của 26 chủng *Salmonella*

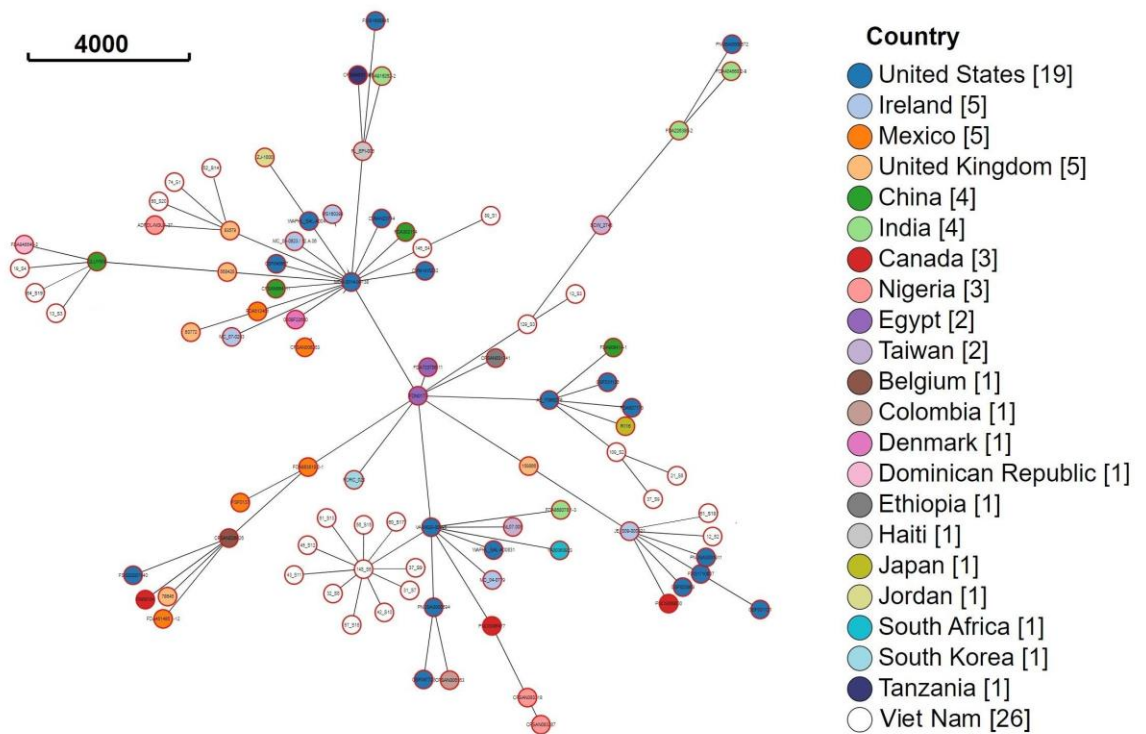
Mã chủng giải trình tự	Gia cầm	Tuýp huyết thanh	Serogroup	H1	H2	O Antigen	MLST
8_S1	Gà	Agona	B	f,g,s	-	1,4,[5],12	13
12_S2	Gà	Typhimurium	-	l,v	1,6	3,{10}{15}	155
13_S3	Gà	Newport	C2-C3	e,h	1,2	6,8,20	4157
19_S4	Gà	Corvallis	C2-C3	z4,z2 3	-	8,2	1541
21_S5	Gà	Infantis	-	R	1,5	6,7,14	32

25_S6	Gà	Infantis	-	R	1,5	6,7,14	32
52_S14	Gà	Meleagridis	-	e,h	l,w	3,{10}{15} {15,34}	463
56_S15	Gà	Muenster	-	e,h	1,5	3,{10}{15} {15,34}	321
61_S18	Gà	Typhimurium	-	l,v	1,6	3,{10}{15}	155
64_S19	Gà	Infantis	-	R	1,5	6,7,14	32
32_S8	Ngan	Muenster	-	e,h	1,5	3,{10}{15} {15,34}	321
37_S9	Ngan	Infantis	-	R	1,5	6,7,14	32
74_S1	Ngan	Kentucky	C2- C3	I	z6		198
89_S1	Ngan	Agona	-	f,g,s	-		13
109_S2	Ngan	Infantis	C1	R	1,5		32
129_S3	Ngan	Newport	C2- C3	e,h	1,2		4157
146_S4	Ngan	Agona	B	f,g,s	-		13
148_S5	Ngan	Muenster	E1	e,h	1,5		321
68_S20	Vịt	Kentucky	C2- C3	I	z6	8,2	198
43_S11	Vịt	Muenster	-	e,h	1,5	3,{10}{15} {15,34}	321
45_S12	Vịt	Muenster	-	e,h	1,5	3,{10}{15} {15,34}	321
51_S13	Vịt	Muenster	E1	e,h	1,5	3,{10}{15} {15,34}	321
31_S7	Vịt	Muenster	-	e,h	1,5	3,{10}{15} {15,34}	321
42_S10	Vịt	Muenster	-	e,h	1,5	3,{10}{15} {15,34}	321
57_S16	Vịt	Muenster	-	e,h	1,5	3,{10}{15} {15,34}	321
60_S17	Vịt	Muenster	-	e,h	1,5	3,{10}{15} {15,34}	321

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xác định được một số chủng *Salmonella* thuộc các nhóm gây bệnh như tuýp huyết thanh: Newport, Typhimurium, Muenster, meleagridis ... Đây là các chủng vi khuẩn có khả năng gây ra salmonellosis. Việc phát hiện ra các chủng vi khuẩn này trong mẫu thịt là thực tế rất đáng lo ngại cho người tiêu dùng.

Đồng thời thấy một số serogroup quan trọng: serogroup B (Agona); serogroup

C2-C3 (Newport, Covallis, Kentucky); serogroup E1 (chủng 148_S5, Muenster; chủng 51_S13, Muenster) [185].



Hình 3.11. Cây phát sinh chủng loại *Salmonella*

Sử dụng các chủng có nguồn gốc từ mẫu bệnh phẩm, mẫu trong chuỗi sản xuất thực phẩm từ Mỹ, Ireland, Mexico, Anh Quốc, Trung Quốc, Ấn Độ, Canada, Nigeria, Ai Cập, Đài Loan, Bỉ, Colombia, Đan Mạch, Cộng Hòa Dominican, Ethiopia, Haiti, Nhật, Nam Phi, Hàn Quốc, Tanzania và các chủng phân lập trong nghiên cứu để xây dựng cây phát sinh MLST (<https://enterobase.warwick.ac.uk/>), kết quả chỉ ra trên Hình 3.11. Kết quả cho thấy, các chủng phân lập từ gà, vịt và ngan rất đa dạng và gần gũi với các nhóm gây bệnh được phân lập từ mẫu bệnh phẩm.

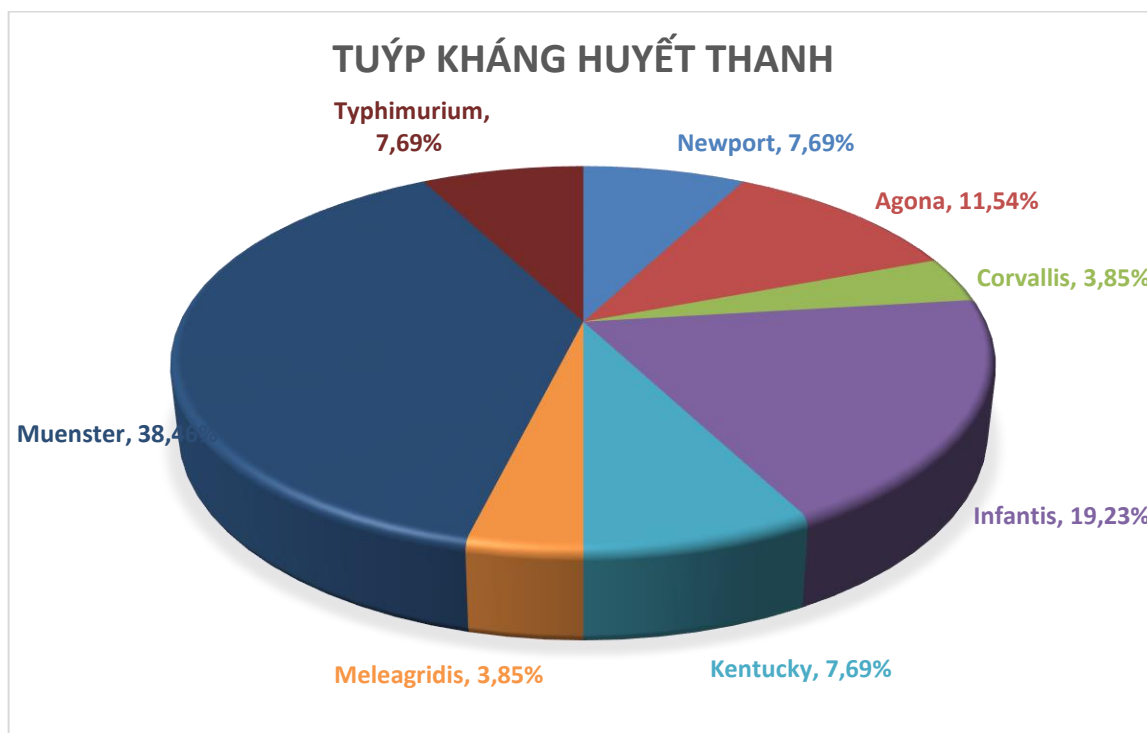
Hơn nữa, sự phân bố đa dạng của các ST theo công cụ MLST[221]: 03 chủng ST 13 (Agona) được phân lập từ gà và ngan; 05 chủng ST 32 (Infantis) được phân lập từ gà và ngan; 02 chủng ST 155 (Typhimurium) được phân lập từ gà; 02 chủng ST 198 (Kentucky) được phân lập từ ngan và vịt; 01 chủng có ST 463 (Meleagridis) phân lập từ gà; 01 chủng ST 1541 (Corvallis) được phân lập từ gà và 02 chủng ST 4157 (Newport) được phân lập từ gà và ngan (Bảng 3.8).

Bảng 3.8. Tỷ lệ các tuýp huyết thanh

Tuýp huyết thanh	ST	Sơ lượng	Thịt gà/vịt/ngan
Agona	13	3	1 gà; 2 ngan
Infantis	32	5	3 gà; 2 ngan
Typhimurium	155	2	2 gà
Kentucky	198	2	1 ngan; 1 vịt
Muenster	321	10	1 gà; 7 vịt; 2 ngan
Meleagridis	463	1	Gà
Corvallis	1541	1	Gà
Newport	4157	2	1 gà; 1 ngan

Kết quả cho thấy 38,46% các chủng là tuýp huyết thanh Muenster (ST 321) chiếm tỉ lệ cao nhất tiếp đến là Infantis (19,23%).

Một kết quả quan trọng khác trong nghiên cứu này là các tuýp huyết thanh này đều có khả năng gây bệnh trên người (phân mềm dự đoán khả năng gây bệnh PathogenFinder 1.1 [222])



Hình 3.12. Tỷ lệ các tuýp huyết thanh kháng kháng sinh

Kết quả này đã phản ánh trung thực về chất lượng thịt trên thị trường thành phố Hà Nội, tình trạng giết mổ và bày bán thiếu vệ sinh nghiêm trọng đang diễn ra

tại các điểm giết mổ và các chợ trên địa bàn thành phố Hà Nội. Nghiên cứu này cũng đã phần nào giải thích cho nguyên nhân của các vụ ngộ độc thực phẩm của nước ta nói chung và thành phố Hà Nội nói riêng. Các vi khuẩn phân lập được đều là những vi khuẩn trực tiếp hoặc gián tiếp là nguyên nhân gây ra các vụ ngộ độc thực phẩm. Các loại tuýp huyết thanh *Salmonella* này không được phép có trong thịt và sản phẩm thịt. Các số liệu trong nghiên cứu này cũng phần nào cảnh báo cho các nhà quản lý và người tiêu dùng về mối nguy cơ ngộ độc thực phẩm ở thành phố Hà Nội là rất cao.

3.3.3. Kết quả gen kháng kháng sinh

Sử dụng công cụ *Salmonella In Silico* [223], các hệ gen được sắp xếp theo trình tự của các chủng MRD có khả năng mang tổng cộng 82 gen kháng kháng sinh khác nhau (Bảng 3.9) và những gen này thuộc các họ gen khác nhau. Dự đoán kiểu gen kháng kháng sinh hoàn toàn khớp với kết quả kiểu hình đã ghi nhận trong nghiên cứu này.

Bảng 3.9. Phân bố các gen kháng kháng sinh của chủng giải trình tự

Lớp kháng sinh	Đôi tượng	Gà										Vịt								Ngan								
	Tuýp huyết thanh	Agona	London	Newport	Corvallis	Infantis	Infantis	Meleagridis	Muenter	London	Infantis	Muenter	Muenter	Muenter	Muenter	Muenter	Muenter	Muenter	Kentucky	Muenter	Infantis	Kentucky	Agona	Infantis	Newport	Agona	Muenter	
	Mã chủng giải trình tự	8_S1	12_S2	13_S3	19_S4	21_S5	25_S6	52_S14	56_S15	61_S18	64_S19	31_S7	42_S10	43_S11	45_S12	51_S13	57_S16	60_S17	68_S20	32_S8	37_S9	74_S1	89_S1	109_S2	129_S3	146_S4	148_S5	
	Số lượng gen/gen	14	15	25	17	17	18	27	27	14	20	25	26	27	26	33	26	24	32	24	17	33	35	33	44	38	34	
Rifampin	<i>arr-3_4</i>			1	1			1	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1					1		1	
	<i>arr2</i>			1					1			1	1	1	1	1	1	1	1	1					1		1	
	<i>arr3</i>				1			1																				
Aminoglycoside	<i>acrD</i>																					1	1	1	1	1	1	
	<i>aac(3)-Iia</i>							1	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1								
	<i>aac(3)-IId_1</i>							1	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1								
	<i>aac(3)-IVa_1</i>					1	1				1										1			1				
	<i>aac(3)-Id_1</i>																		1			1	1					
	<i>aac(6)-Iaa_1</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<i>aac(6)-Ib-cr_1</i>				1			1																				
	<i>aac(6)-Iy</i>	1		1		1	1		1			1	1	1	1	1	1	1	1		1	1			1	1	1	1
	<i>aadA1-pm</i>					1	1					1										1						
	<i>aadA16_1</i>				1			1																				
	<i>aadA17</i>																			1								
	<i>aadA22</i>			1					1			1	1	1	1	1	1	1	1		1							
<i>aadA7_1</i>																			1		1	1						

	<i>bla_{TEM-34}</i>																	1																	
aminocoumarin	<i>baeR</i>																									1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	<i>mdtB</i>																										1	1	1	1	1	1	1	1	
	<i>mdtC</i>																										1	1	1	1	1	1	1	1	
polypeptide	<i>yojI</i>																										1	1	1	1	1	1			
	<i>bacA</i>																										1	1	1	1	1	1	1		
	<i>mcr-3.1</i>										1																								
Fosfomicin	<i>fosA3_1</i>										1																								
	<i>fosA7_1</i>	1						1																							1				
Chloramphenicol	<i>floR_2</i>		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1	1	1	
	<i>catA2_1</i>							1																											
Diaminopyrimidine	<i>dfrA14_5</i>	1		1			1		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1	1	1	
	<i>dfrA14_1</i>																													1					
	<i>dfrA27_1</i>				1			1																											
fluoroquinolone	<i>emrB</i>																											1	1	1	1	1	1	1	1
	<i>emrA</i>																											1	1	1	1	1	1	1	1
	<i>emrR</i>																											1	1	1	1	1	1	1	1
Lincosamide	<i>linG</i>			1				1				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1						
	<i>Inu(F)_1</i>			1				1				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1						
Quinolone	<i>qnrS1_1</i>	1	1	1	1			1				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Macrolides	<i>mph(A)_2</i>			1				1																			1		1						
Nitroimidazole	<i>msbA</i>																										1	1	1	1	1	1	1	1	
Sulfonamides	<i>sul1_5</i>				1	1	1	1			1														1		1	1	1	1					
	<i>sul2_2</i>		1					1		1																							1		
	<i>sul3_2</i>							1					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1				1		1	

Tetracycline	<i>tet(A)</i> ₆	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1				
	<i>tetR</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1									
Multi-drug classes	<i>golS</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
	<i>H-NS</i>																								1	1	1	1	1	1	
	<i>CRP</i>																														
	<i>cpxA</i>																														
	<i>mdsA</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	<i>mdsB</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	<i>mdsC</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	<i>mdtK</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	<i>Mrx</i>				1				1													1									
	<i>ramA</i>																												1	1	
	<i>acrB</i>																														
	<i>acrA</i>																														
	<i>sdiA</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>tolC</i>																															

 Dương tính  Âm tính

Polypeptide

Phân tích kiểu gen cho thấy chủng số 61 chứa gen *mcr 3-1* (Ky924928) được dự đoán là có khả năng kháng colistin. Đây là nhóm kháng sinh rất quan trọng trong điều trị cho người, đặc biệt là các bệnh nặng.

Aminoglycoside

Gen kháng kháng sinh phổ rộng thuộc nhóm aminoglycoside xác định được trong 26 khuẩn lạc *Salmonella* có thể chia thành ba nhóm nhỏ gồm nhóm gen mã hóa enzyme Aminoglycoside acetyltransferase, enzyme Aminoglycoside phosphotransferase và enzyme Nucleotidyl transferase. Trong đó sự có mặt của nhóm gen mã hóa enzyme aminoglycoside acetyltransferase là phổ biến nhất, toàn bộ hệ gen của 26 chủng đều có ít nhất một gen mã hóa cho enzyme này, cụ thể như gen *aac(6)-Iaa_1* được tìm thấy trong 26/26 chủng (100%), gen *aac(6)-Iy* có mặt trong 19/26 chủng (73,08% - 7/8 chủng từ mẫu vịt, 6/8 chủng từ mẫu ngan và 6/10 chủng từ mẫu gà), *aac(3)-Iia* và *aac(3)-IId_1* đều có tỉ lệ 46,15% (12/26 chủng – 3/10 chủng mẫu gà, 1/8 chủng mẫu ngan và 8/8 chủng mẫu vịt), *aac(3)-IVa_1* chỉ xuất hiện ở các chủng phân lập từ thịt gà và thịt ngan với tỉ lệ 19,23% (5/26 - 3 chủng từ gà, 2 chủng từ ngan), thấp nhất là các chủng gen *aac(6)-Ib-cr_1* (2 chủng từ mẫu gà) và *aac(3)-Id_1* (2 chủng từ mẫu ngan) chỉ chiếm tỉ lệ 7,69% (2/26). Aminoglycoside phosphotransferase còn được biết đến là enzyme có khả năng đề kháng streptomycin và hầu hết các gen mã hóa enzyme này được đặt tên là *aph*. Trong nghiên cứu này, các gen mã hóa enzyme Aminoglycoside phosphotransferase được dự đoán có tồn tại trong 24/26 chủng, chiếm 92,31% (16/16 chủng từ mẫu vịt, ngan và 8/10 chủng từ mẫu gà). Nhóm gen này bao gồm: *aph(6)-Id_1* (65,38%; 17/26 chủng), *aph(3)-Ia_3* (26,92%, 7/26), *aph(3)-Ib_5* (23,08%, 6/26), *aph(4)-Ia_1* (19,23%, 5/26), *aph(3)-Ia_7* (11,54%, 3/26), *aph(3)-IIa_2* chỉ xuất hiện ở chủng phân lập từ thịt ngan (7,69%, 2/26 chủng). Trình tự gen của tất cả 26 chủng *Salmonella* cho thấy sự hiện diện của 7 gen mã hóa enzym nucleotidyl transferase, bao gồm: *ant(3)-Ia_1* (17/26 chủng, 65,38%), *ant(3)-Iia* (1/26 chủng, 3,84%), *aadA7_1* (2/26 chủng, 7,69%), *aadA22* (10/26 chủng, 38,46%), *aadA17* (1/26 chủng, 3,84%), *aadA16_1* (2/26 chủng, 7,69%) và *aadA1-pm* (4/26 chủng, 15,38%). Tất cả các chủng *Salmonella* được phân lập từ

mẫu thịt vịt đều mang ít nhất 1 gen nhóm *ant* (3) và 1 gen nhóm *aadA*; 7/10 chủng từ mẫu thịt gà và 6/8 chủng từ mẫu thịt ngan mang ít nhất 1 gen nhóm *ant* (3) hoặc *aadA*.

Một số chủng mang yếu tố di truyền vận động ISEc59, IS26, IS6100 mang gen *aac*(3) và *aph*.

Beta-lactam

Các gen liên quan tới kháng kháng sinh beta-lactam được xác định có mặt trong hệ gen của toàn bộ 26 chủng *Salmonella* trong nghiên cứu. Có nhiều họ gen khác nhau mã hóa cho enzyme beta-lactamase phổ rộng (extended-spectrum beta-lactamase - ESBL), trong đó loại phổ biến nhất tìm thấy trên các chủng *Salmonella* thuộc họ gen *bla*_{CTX-M}. Các gen thuộc họ này có liên quan mật thiết đến sự kháng thuốc kháng sinh phổ rộng trên nhóm beta-lactam, gen *bla*_{CTX-M-55_1} có trong 15 chủng, chiếm 57,69%; gen *bla*_{CTX-M-65_1} có ở 5 chủng (19,23%); gen *bla*_{CTX-M-14b_1} và gen *bla*_{CTX-M-9} cùng xuất hiện trong 2 chủng (7,69%). Tuy nhiên hai gen *bla*_{CTX-M-55_1}, *bla*_{CTX-M-65_1} và nhóm gen *bla*_{CTX-M-14b_1}, *bla*_{CTX-M-9} không xuất hiện cùng nhau trong bất kỳ chủng nào. Đáng chú ý, có 3 chủng nhạy cảm với beta-lactam và mang gen *bla*_{TEM-1B_1} – gen mã hóa cho ESBL lớp A. Ngoài ra, các gen *bla*_{TEM-141}, *bla*_{TEM-206}, *bla*_{TEM-214} cũng được phát hiện trong nghiên cứu này với tỉ lệ hiện diện tương đối thấp 2/26 chủng (7,69%) và thấp nhất là các gen *bla*_{TEM-1A_1}, *bla*_{TEM-209}, *bla*_{TEM-210}, *bla*_{TEM-216}, *bla*_{TEM-33} và *bla*_{TEM-34}. Khả năng kháng lại các loại kháng sinh khác nhau, bao gồm amoxicillin, ampicillin, aztreonam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, piperacillin và ticarcillin, cũng được dự đoán do nhóm gen này. Thêm vào đó, 6/26 chủng (23,08%) mang gen *ampH*, gen này có khả năng kháng kháng sinh họ beta-lactam dù không sinh ESBL.

Một trong những phát hiện quan trọng của nghiên cứu là một số gen nằm trên các yếu tố di truyền vận động: *bla*_{CTX-M-65} nằm trên yếu tố di truyền IS102 trên các mẫu từ gà, vịt và ngan (mẫu 21, 25, 64 và 109) và gen *bla*_{CTX-M-55} nằm trên yếu tố di truyền ISKPN19 cùng với *qnrS1*; mẫu 55 có yếu tố di truyền vận động IS6100 mang gen *mph*(A).

Một điều khá ngạc nhiên là chủng 68 với 05 gen kháng kháng sinh họ beta-lactam trên 1 cotig (*bla*_{TEM-1B}; *bla*_{CTX-M-55}; *bla*_{TEM-206}; *bla*_{TEM-214} và

blaTEM-141); mẫu 51 bao gồm 11 gen liên quan đến kháng kháng sinh β -lactam, đặc biệt 10/11 gen nằm trên một cotig (blaLAP-2 ; blaTEM-214; blaTEM-206; blaTEM-33; blaTEM-1B; blaTEM-216; blaTEM-209; blaCTX-M-55; blaTEM-34; blaTEM-210; blaTEM-141), đây là kết quả được báo cáo đầu tiên của cụm gen này ở Việt Nam. Sự tồn tại của các cụm gen kháng kháng sinh lớn sẽ tạo ra khả năng chuyển gen giữa các chủng và loài khác nhau

Chloramphenicol

Trong các nhóm gen kháng kháng sinh phổ rộng phổ biến được ghi nhận trong các chủng *Salmonella*, nhóm gen kháng phenicol được ghi nhận có mặt trong phạm vi nghiên cứu này có gen *floR* là một trong những gen giúp vi khuẩn đề kháng với chloramphenicol và flophenicol. Kết quả phân tích gen *floR* cho thấy 73,07% (19/26) chủng *Salmonella* phân lập mang gen *floR_2* – gen mã hóa enzyme Chloramphenicol acetyltransferase. Trong đó chiếm 9/10 chủng phân lập từ mẫu thịt gà mang gen này chiếm tỉ lệ 34,62% (9/26 chủng), tiếp đó là các chủng phân lập từ mẫu thịt vịt chiếm tỉ lệ 23,08% (6/26 chủng), thấp nhất là các chủng phân lập từ mẫu thịt ngan với tỉ lệ 15,38% (4/8 chủng).

Kết quả cũng cho thấy tỷ lệ 46,15% (12/26 chủng) *Salmonella* có yếu tố di truyền vận động ISVsa3 mang gen *floR*.

Tetracycline

Tetracycline là một kháng sinh phổ rộng có tác dụng kìm chế sự phát triển của vi khuẩn nhờ vào khả năng ức chế quá trình tổng hợp protein. Hiện nay có hơn 60 gen kháng tetracyclin (tet) đã được xác định và giải trình tự nucleotic. Có 4 trong số những gen thường gặp nhất là tetA, tetB, tetC và tetR. 24 chủng được giải trình tự có mang gen *tet (A)_6* và 19 chủng (73,08%) mang gen *tetR* được phát hiện trên 26 chủng *Salmonella*.

Quinolone

Đồng thời gen kháng kháng sinh nhóm quinolone – gen *qnrS1_1* – được phát hiện có mặt trong 17 chủng (65,38%), trong đó toàn bộ 8 chủng phân lập từ vịt đều có chứa gen này. Gen *qnrS1_1* được coi là có liên quan đến cơ chế đề kháng với

kháng sinh fluoroquinolon 1 (QnrS1_1 là một protein kháng quinolon qua trung gian plasmid). Gen *qnrS1* đều mang các đột biến *parC*: p.T57S, thậm chí chủng 68 mang 04 đột biến (*parC*: p.S80I; *parC*: p.T57S; *gyrA*: p.S83F và *gyrA*: p.D87N). Hơn nữa, kết quả còn thấy ở một số chủng gen này nằm trên yếu tố di truyền vận động ISKpn19.

Macrolides

Một số nhóm gen kháng kháng sinh khác như macrolides có 4/26 chủng mang gen *mph (A)_2* mã hóa enzyme Macrolide phosphotransferase.

Sulfonamide

24/26 chủng mang gen (*sul1_5* hoặc *sul2_2* hoặc *sul3_2*) liên quan đến kháng Sulfonamide, các gen này mã hóa cho enzyme có khả năng thay thế mục tiêu kháng sinh của Sulfonamide.

Fosfomycins

05/26 chủng mang gen *fosA3_1* hoặc *fosA7_1*, mã hóa enzyme Fosfomycin thiol transferase. Các gen này có liên quan đến sự bất hoạt kháng sinh trong quá trình kháng fosfomycin.

Diaminopyrimidines

Hệ gen của 21/26 chủng mang gen *dfrA14_5*, *dfrA27_1* hoặc *dfrA14_1*, các gen này không xuất hiện cùng nhau trên cùng một hệ gen. Những gen này liên quan đến kháng trimethoprim thông qua sự hình thành enzyme dihydrofolate reductase Dfr kháng trimethoprim.

Rifampins

15/26 chủng phát hiện sự tồn tại của các gen *arr-3_4*, *arr2* và *arr3*, các gen mã hóa enzyme Rifampin ADP-ribosyltransferase.

Lincosamides

12/26 chủng mang đồng thời hai gen *linG* và *lnu (F)_1* (tương đương với *lin (F)*), gen mã hóa enzyme nucleotidyltransferase trung gian qua integron, dẫn đến tính kháng lincomycin, lindamycin.

Gen kháng đa thuốc

Toàn bộ 26 chủng đều mang gen liên quan đến tính kháng đa thuốc (*golS*; *mdsA*; *mdsB*; *mdsC*; *mdtK*; *sdiA*; *Mrx*).

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có 118/119 chủng (99,16%) biểu hiện theo kiểu hình kháng với 15 loại kháng sinh đã được thử nghiệm. Cụ thể, 28/33 chủng (84,8%) *Salmonella* kháng đa thuốc được phát hiện trong thịt vịt bán lẻ. Kết quả này cho thấy khả năng kháng kháng sinh cao ở các chủng *Salmonella* phân lập được so với các công bố khác về khả năng kháng của *Salmonella* trong thịt vịt. Phát hiện của Chen và cộng sự. năm 2020 ở thịt vịt cũng báo cáo $\geq 88,1\%$ (133/151 dòng) phân lập được xác định đa kháng thuốc [188], [221]. Hơn nữa, dựa trên các nghiên cứu khác đã được công bố về khả năng kháng *Salmonella*, chúng tôi nhận thấy rằng tỷ lệ này ở các mẫu vịt vượt trội hơn so với tỷ lệ ở các động vật khác bao gồm thịt gà, thịt lợn, thịt bò và động vật có vỏ. Van và cộng sự. năm 2007 đã chứng minh 50,5% (n = 18) các chủng *Salmonella* kháng ít nhất một loại thuốc và kháng nhiều loại thuốc đã được tìm thấy trong tất cả các loại thực phẩm.

Sự quan trọng của kết quả nghiên cứu được thấy rõ trong báo cáo về gen kháng kháng sinh, 26 chủng được giải trình tự mang 82 gen kháng kháng sinh. Tất cả các chủng đều mang nhiều loại gen kháng kháng sinh nhóm aminoglycoside (*aac* (3) -Iia, *aac* (3) -IId_1, *aac* (6) -Iaa_1 ...), hơn nữa chủng số 68 mang gen *rmtB* mã hóa enzym 16S RNA methyltransferase, có khả năng kháng lại tất cả các nhóm kháng sinh aminoglycoside, là nhóm kháng sinh cực kỳ quan trọng trong chăn nuôi và điều trị bệnh ở người. Hơn nữa, với 24/26 chủng có kiểu hình sinh enzym ESBL đều mang gen *bla*_{CTX-M-55} (7 Munster serovar và 1 Kentucky), điều khá ngạc nhiên là chủng 68 với 05 gen kháng kháng sinh họ beta-lactam trên 1 cotig (*bla*_{TEM-1B}; *bla*_{CTX-M-55}; *bla*_{TEM-206}; *bla*_{TEM-214} và *bla*_{TEM-141}) và mẫu 51 bao gồm 11 gen liên quan đến kháng kháng sinh β -lactam, đặc biệt 10/11 gen nằm trên một cotig (*bla*_{LAP-2}; *bla*_{TEM-214}; *bla*_{TEM-206}; *bla*_{TEM-33}; *bla*_{TEM-1B}; *bla*_{TEM-216}; *bla*_{TEM-209}; *bla*_{CTX-M-55}; *bla*_{TEM-34}; *bla*_{TEM-210}; *bla*_{TEM-141}), đây là kết quả được báo cáo đầu tiên của cụm gen này ở Việt Nam. Sự tồn tại của các cụm gen kháng kháng sinh lớn sẽ tạo ra khả năng chuyển gen giữa các chủng và loài khác nhau. Đáng chú ý, khi phân tích hệ gen của 08 chủng kháng sinh nhóm quinolon có chứa 02 gen *floR* và *qnrS1_1* cho thấy chúng đều mang ít nhất

một đột biến *parC*: p.T57S, thậm chí cả chủng 68 mang 04 đột biến (*parC*: p.S80I; *parC*: p.T57S; *gyrA*: p.S83F và *gyrA*: p.D87N), cho thấy đột biến này sẽ tăng cường và làm phức tạp tình trạng kháng kháng sinh họ Quinolon, có thể do nhóm kháng sinh này được sử dụng rộng rãi trong nuôi trồng thủy sản. Một phát hiện khác được quan tâm trong nghiên cứu này là sự tồn tại của gen *floR* kháng chloramphenicol, florfenicol. Gen này thường được chuyển giữa các vi khuẩn dựa vào yếu tố di truyền vận động làm gia tăng thêm tình trạng kháng kháng sinh do sự chuyển gen dọc và ngang, thậm chí biến đổi, dẫn đến việc truyền gen kháng sinh rất nhanh và dễ dàng. Đặc biệt, số liệu thống kê về tỉ lệ nhiễm *Salmonella* ở ngan là chưa được báo cáo tại Việt Nam.

Phát hiện của chúng tôi cho thấy 65% mẫu ngan bị nhiễm *Salmonella* mặc dù sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm *Salmonella* giữa các quận trong nghiên cứu này có thể không đủ tin cậy vì tổng số mẫu không đủ để làm cỡ mẫu đại diện. Tỷ lệ mẫu dương tính với *Salmonella* được phát hiện ở ngan cao hơn so với một số nghiên cứu trên gà được thực hiện ở thành phố Hà Nội. Tỷ lệ lây nhiễm trong nghiên cứu của Nghiêm và cộng sự. năm 2016 là 36% (n = 30, năm 2016) [194], [224]. Sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm *Salmonella* có thể do sự khác biệt về vị trí lấy mẫu, thời gian lấy mẫu, phương pháp lấy mẫu cũng như phương pháp phát hiện *Salmonella*. Tuy nhiên, tỷ lệ lây nhiễm trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với kết quả của các nghiên cứu đã công bố trước đây và ở một tỉnh khác của Việt Nam như thành phố Hồ Chí Minh. Nghiên cứu của Khan và cộng sự năm 2018 báo cáo 66,7% mẫu thịt gà dương tính với *Salmonella* [195]. Đáng chú ý, việc giám sát nhiễm khuẩn *Salmonella* ở ngan trên khắp thế giới cho kết quả không giống nhau. Trong nghiên cứu của Emanuella vào năm 2014 ở Brazil, không phát hiện thấy *Salmonella* ở ngan [32]. Nghiên cứu của Trinidad và Tobago năm 2008 cho kết quả tương tự, không phát hiện *Salmonella* ở ngan [225]. Trước kia, người ta giả thuyết rằng ngan không được nuôi công nghiệp, do đó không chứa hệ vi sinh vật giống như gà. Tuy nhiên, khi nhu cầu thực phẩm của con người ngày càng tăng, ngan bắt đầu được nuôi theo cách giống như các loại gia cầm khác và giết mổ cùng các gia cầm đó. Đồng thời sự lan rộng của tình trạng kháng thuốc ở các chủng *Salmonella* dẫn đến việc tình trạng nhiễm và kháng kháng sinh ở *Salmonella* trên ngan.

Nghiên cứu của chúng tôi là báo cáo đầu tiên về tính kháng thuốc của các chủng *Salmonella* được phân lập từ ngan tại thành phố Hà Nội. Tỷ lệ *Salmonella* kháng đơn hoặc kháng đa thuốc (kháng hơn 3 họ kháng sinh) trong nghiên cứu của chúng tôi cũng cao hơn so với những gì được phát hiện ở gà, dựa trên một nghiên cứu được thực hiện vào năm 2016 của tác giả Nguyễn Thanh Việt, trong đó 27,3% (3/11) mẫu gà (cũng được lấy ở truyền thống tại thành phố Hà Nội) kháng 1 loại kháng sinh và kháng đa kháng thuốc là 36,4% (4/11) [226]. Có thể do việc lạm dụng kháng sinh trong chăn nuôi đã khuyến khích sự phát triển của vi khuẩn có mức độ kháng kháng sinh ngày càng cao theo thời gian. Sự đề kháng thuốc của *Salmonella* có tỷ lệ tương đương với nghiên cứu tại Thái Lan và Campuchia thực hiện bởi Trongjit, 90% (n = 345) chủng *Salmonella* đề kháng với ít nhất một loại kháng sinh và sự đề kháng đa kháng sinh chiếm tới 45% tổng số chủng [193]. Trong khi ở Trung Quốc, nhóm nghiên cứu của Zhang đã chỉ ra rằng 97,7% *Salmonella* kháng ít nhất 1 loại thuốc kháng sinh và 81,1% kháng thuốc đa tác dụng [192]. Nghiên cứu của chúng tôi và các nghiên cứu trước đây ở các nước khác cũng cho thấy khả năng kháng cao đối với các chủng *Salmonella* được phân lập từ gia cầm.

3.3.4. Nhóm gen liên kết

Sử dụng công cụ Mobile element Finder [227] nhằm xác định các cụm gen liên kết, nhiều chủng *Salmonella* có khả năng kháng đồng thời một số kháng sinh, thậm chí nhiều chủng kháng cả chất tẩy rửa. Các kết quả phân tích trình tự hệ gen của 26 chủng thấy nhiều cụm gen *aph(6)-ID*, *tet(A)* và *sul2* kháng với streptomycin, tetracycline và sulamethoxazole; v.v. Nhiều chủng mang một số cụm gen với nhiều gen kháng kháng sinh quan trọng và các gen kháng chất tẩy rửa (*qacE*), thậm chí cụm gen ở chủng số S051 chứa contig00317 gồm 10 gen liên quan đến sự kháng đa dạng kháng sinh từ cephalosporin thế hệ 1 đến cephalosporin thế hệ 3 hoặc 4 và nhiều kháng sinh khác nhau. Các kết quả cụ thể được thể hiện tại Bảng 3.10.

Bảng 3.10. Sự phân bố của các nhóm gen kháng kháng sinh trên cùng contig

Mã chủng	Contig	Tên gen	Kiểu hình kháng kháng sinh	Accession	Vị trí trong contig
S012	contig00279	<i>aph(6)-Id</i>	streptomycin	M28829	2580-3416

		<i>tet(A)</i>	tetracycline, doxycycline	AF534183	1319- 45
		<i>aph(3'')-Ib</i>	streptomycin	AF321551	3416- 4219
		<i>sul2</i>	sulfamethoxazole	AY034138	4280- 5095
S013	contig00402	<i>aadA22</i>	streptomycin, spectinomycin	AM261837	85-876
		<i>lnu(F)</i>	lincomycin	EU118119	1008- 1829
	contig00332	<i>tet(A)</i>	doxycycline, tetracycline	AF534183	2528- 3601
		<i>aph(6)-Id</i>	streptomycin	M28829	1267- 431
	contig00416	<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	1254- 1727
		<i>arr-2</i>	rifampicin	HQ141279	1143- 691
S019	contig00322	<i>qacE</i>	chlorhexidine, benzylkonium chloride, ethidium bromide, cetylpyridinium chloride	X68232	3005- 3286
		<i>sul1</i>	sulfamethoxazole	U12338	2106- 2945
		<i>aadA16</i>	streptomycin, spectinomycin	EU675686	3382- 4215
	contig00436	<i>dfrA27</i>	trimethoprim	FJ459817	1393- 1866
		<i>arr-3</i>	rifampicin	JF806499	1260- 808
		<i>aac(6')-Ib-cr</i>	tobramycin, amikacin, netilmicin, dibekacin, sisomicin, fluoroquinolone, ciprofloxacin	DQ303918	112- 711
S021	contig00300	<i>aac(3)-IV</i>	tobramycin, gentamicin	DQ241380	128- 904
		<i>aph(4)-Ia</i>	hygromycin	V01499	1133- 2158
	contig00044	<i>qacE</i>	chlorhexidine, benzylkonium chloride, cetylpyridinium chloride, ethidium bromide	X68232	18030- 18311
		<i>aadA1</i>	spectinomycin, streptomycin	JQ414041	18475- 19266

		<i>tet(A)</i>	tetracycline, doxycycline	AJ517790	3415- 4614
		<i>aadA1</i>	spectinomycin, streptomycin	JX185132	18475- 19266
		<i>sul1</i>	sulfamethoxazole	U12338	17131- 17970
S025	contig00069	<i>aadA1</i>	spectinomycin, streptomycin	JX185132	1296- 2087
		<i>qacE</i>	chlorhexidine, ethidium bromide, benzylkonium chloride, cetylpyridinium chloride	X68232	2251- 2532
		<i>aadA1</i>	spectinomycin, streptomycin	JQ414041	1296- 2087
		<i>tet(A)</i>	doxycycline, tetracycline	AJ517790	15948- 17147
		<i>sul1</i>	sulfamethoxazole	U12338	2592- 3431
	contig00276	<i>aac(3)- IV</i>	gentamicin, tobramycin	DQ241380	4125- 4901
		<i>aph(4)- Ia</i>	hygromycin	V01499	2871- 3896
	S052	contig00270	<i>bla_{TEM-1B}</i>	amoxicillin, ticarcillin, piperacillin, ampicillin, cephalothin	AY458016
<i>bla_{TEM- 206}</i>			amoxicillin, ticarcillin, piperacillin, ampicillin, cephalothin	KC783461	4947- 5745
<i>bla_{TEM- 214}</i>			unknown beta-lactam	KP050491	4947- 5745
contig00459		<i>qacE</i>	benzylkonium chloride, chlorhexidine, ethidium bromide, cetylpyridinium chloride	X68232	1927- 2208
		<i>sul1</i>	sulfamethoxazole	U12338	1028- 1867
contig00171		<i>sul2</i>	sulfamethoxazole	AY034138	8138- 8953
		<i>aph(6)- Id</i>	streptomycin	M28829	6438- 7274
		<i>tet(A)</i>	tetracycline, doxycycline	AF534183	3903- 5177
		<i>floR</i>	florfenicol, chloramphenicol	AF118107	2089- 3302

		<i>aph(3'')-Ib</i>	streptomycin	AF321551	7274-8077	
S056	contig00412	<i>aadA22</i>	spectinomycin, streptomycin	AM261837	1120-1911	
		<i>lnu(F)</i>	lincomycin	EU118119	167-988	
	contig00338	<i>tet(A)</i>	tetracycline, doxycycline	AF534183	1-1074	
		<i>aph(6)-Id</i>	streptomycin	M28829	2345-3181	
	contig00428	<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	1254-1727	
		<i>arr-2</i>	rifampicin	HQ141279	1143-691	
S061	contig00084	<i>sul2</i>	sulfamethoxazole	AY034138	1670-2485	
		<i>aph(6)-Id</i>	streptomycin	M28829	1-806	
		<i>aph(3'')-Ib</i>	streptomycin	AF321551	1609-806	
S064	contig00040	<i>aadA1</i>	streptomycin, spectinomycin	JX185132	1296-2087	
		<i>qacE</i>	ethidium bromide, cetylpyridinium chloride, benzylkonium chloride, chlorhexidine	X68232	2251-2532	
		<i>aadA1</i>	streptomycin, spectinomycin	JQ414041	1296-2087	
		<i>tet(A)</i>	doxycycline, tetracycline	AJ517790	15948-17147	
		<i>sul1</i>	sulfamethoxazole	U12338	2592-3431	
	contig00311	<i>aac(3)-IV</i>	gentamicin, tobramycin	DQ241380	127-903	
		<i>aph(4)-Ia</i>	hygromycin	V01499	1132-2157	
	S031	contig00376	<i>aadA22</i>	streptomycin, spectinomycin	AM261837	1120-1911
			<i>lnu(F)</i>	lincomycin	EU118119	167-988
contig00190		<i>aph(6)-Id</i>	streptomycin	M28829	1267-431	
		<i>tet(A)</i>	tetracycline, doxycycline	AJ517790	2613-3812	
contig00388		<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	568-95	

		<i>arr-2</i>	rifampicin	HQ141279	1131-679
S042	contig00438	<i>aadA22</i>	streptomycin, spectinomycin	AM261837	1120-1911
		<i>lnu(F)</i>	lincomycin	EU118119	167-988
	contig00352	<i>aph(6)-Id</i>	streptomycin	M28829	1266-430
		<i>tet(A)</i>	doxycycline, tetracycline	AF534183	2537-3610
	contig00452	<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	1253-1726
<i>arr-2</i>		rifampicin	HQ141279	1142-690	
S043	contig00443	<i>aadA22</i>	spectinomycin, streptomycin	AM261837	85-876
		<i>lnu(F)</i>	lincomycin	EU118119	1008-1829
	contig00453	<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	1254-1727
		<i>arr-2</i>	rifampicin	HQ141279	1143-691
S045	contig00376	<i>aadA22</i>	streptomycin, spectinomycin	AM261837	1120-1911
		<i>lnu(F)</i>	lincomycin	EU118119	167-988
	contig00253	<i>bla_{TEM-1B}</i>	piperacillin, ampicillin, amoxicillin, ticarcillin, cephalothin	AY458016	3325-4185
		<i>bla_{LAP-2}</i>	piperacillin, ampicillin, cephalotin, amoxicillin, ticarcillin	EU159120	1121-264
	contig00416	<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	1321-848
		<i>arr-2</i>	rifampicin	HQ141279	285-737
S051	contig00384	<i>aadA22</i>	spectinomycin, streptomycin	AM261837	1120-1911
		<i>lnu(F)</i>	lincomycin	EU118119	167-988
	contig00317	<i>bla_{TEM-1B}</i>	piperacillin, ampicillin, amoxicillin, cephalothin, ticarcillin	AY458016	3012-3647

		<i>bla</i> _{TEM-33}	piperacillin, ampicillin+clavulanic acid, ampicillin, amoxicillin+clavulanic acid, amoxicillin, ticarcillin, piperacillin+tazobactam, ticarcillin+clavulanic acid	GU371926	3012-3647
		<i>bla</i> _{TEM-206}	piperacillin, ampicillin, amoxicillin, cephalothin, ticarcillin	KC783461	3012-3647
		<i>bla</i> _{TEM-214}	unknown beta-lactam	KP050491	3012-3647
		<i>bla</i> _{TEM-210}	unknown beta-lactam	KJ484630	3012-3647
		<i>bla</i> _{LAP-2}	piperacillin, ampicillin, amoxicillin, ticarcillin, cephalotin	EU159120	1-808
		<i>bla</i> _{TEM-209}	unknown beta-lactam	KF240808	3012-3647
		<i>bla</i> _{TEM-141}	piperacillin, ampicillin, amoxicillin, cephalothin, ticarcillin	AY956335	3012-3647
		<i>bla</i> _{TEM-34}	piperacillin, ampicillin+clavulanic acid, ampicillin, amoxicillin+clavulanic acid, amoxicillin, ticarcillin, piperacillin+tazobactam, ticarcillin+clavulanic acid	KC292503	3012-3647
		<i>bla</i> _{TEM-216}	unknown beta-lactam	KF944358	3012-3647
	contig00194	<i>aph(6)-Id</i>	streptomycin	M28829	1266-430
		<i>tet(A)</i>	doxycycline, tetracycline	AJ517790	2612-3811
	contig00398	<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	568-95
		<i>arr-2</i>	rifampicin	HQ141279	1131-679
S057	contig00434	<i>aadA22</i>	streptomycin, spectinomycin	AM261837	1120-1911
		<i>lnu(F)</i>	lincomycin	EU118119	167-988

	contig00348	<i>tet(A)</i>	tetracycline, doxycycline	AF534183	1-1074
		<i>aph(6)-Id</i>	streptomycin	M28829	2345-3181
	contig00446	<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	568-95
		<i>arr-2</i>	rifampicin	HQ141279	1131-679
S060	contig00925	<i>aadA22</i>	spectinomycin, streptomycin	AM261837	1-527
		<i>lnu(F)</i>	lincomycin	EU118119	1480-659
	contig00763	<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	568-95
		<i>arr-2</i>	rifampicin	HQ141279	1131-679
S068	contig00419	<i>bla_{TEM-1B}</i>	ticarcillin, ampicillin, cephalothin, amoxicillin, piperacillin	AY458016	71-816
		<i>bla_{CTX-M-55}</i>	ticarcillin, ampicillin, cefepime, ceftazidime, ceftriaxone, amoxicillin, piperacillin, cefotaxime, aztreonam	DQ810789	1598-2473
		<i>bla_{TEM-206}</i>	ticarcillin, ampicillin, cephalothin, amoxicillin, piperacillin	KC783461	71-816
		<i>bla_{TEM-214}</i>	unknown beta-lactam	KP050491	71-816
		<i>bla_{TEM-141}</i>	ticarcillin, ampicillin, cephalothin, amoxicillin, piperacillin	AY956335	71-816
	contig00463	<i>lnu(F)</i>	lincomycin	EU118119	1008-1829
		<i>aadA17</i>	streptomycin, spectinomycin	FJ460181	85-876
	contig00369	<i>aadA7</i>	streptomycin, spectinomycin	AF224733	1324-527
		<i>aac(3)-Id</i>	astromicin, gentamicin, fortimicin	AB114632	451-75
		<i>sul1</i>	sulfamethoxazole	U12338	1829-2668
		<i>qacE</i>	benzylkonium chloride, chlorhexidine, ethidium bromide, cetylpyridinium chloride	X632	1488-1769

	contig00476	<i>ARR-2</i>	rifampicin	HQ141279	1131-679
		<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	568-95
S074	contig00091	<i>aac(3)-Id</i>	astromicin, gentamicin, fortimicin	AB114632	1341-1817
		<i>aadA7</i>	streptomycin, spectinomycin	AF224733	1893-2690
		<i>aph(6)-Id</i>	streptomycin	M28829	16032-16868
		<i>qacE</i>	chlorhexidine, ethidium bromide, benzylkonium chloride, cetylpyridinium chloride	X68232	2854-3135
		<i>tet(A)</i>	tetracycline, doxycycline	AJ517790	11093-12292
		<i>aph(3'')-Ib</i>	streptomycin	AF321551	16868-17671
		<i>sulI</i>	sulfamethoxazole	U12338	3195-4034
S109	contig00222	<i>aac(3)-IV</i>	gentamicin, tobramycin	DQ241380	4117-4893
		<i>aph(4)-Ia</i>	hygromycin	V01499	2863-3888
	contig00124	<i>aadA1</i>	streptomycin, spectinomycin	JX185132	12074-12865
		<i>qacE</i>	chlorhexidine, ethidium bromide, benzylkonium chloride, cetylpyridinium chloride	X68232	11629-11910
		<i>aadA1</i>	streptomycin, spectinomycin	JQ414041	12074-12865
		<i>sulI</i>	sulfamethoxazole	U12338	10730-11569
	contig00206	<i>dfrA14</i>	trimethoprim	AF393510	5456-5898
		<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	5456-5898
	S129	contig00209	<i>aadA22</i>	streptomycin, spectinomycin	AM261837
<i>lnu(F)</i>			lincomycin	EU118119	159-980
contig00142		<i>aph(6)-Id</i>	streptomycin	M28829	1259-423
		<i>tet(A)</i>	tetracycline, doxycycline	AJ517790	2595-3794

	contig00214	<i>dfrA14</i>	trimethoprim	KF921535	1246-1719
		<i>arr-2</i>	rifampicin	HQ141279	1135-683

Sự tồn tại của nhiều cụm gen liên kết có thể kháng với nhiều loại kháng sinh là một trở ngại và thách thức rất lớn đối với chiến lược sử dụng kháng sinh. Hơn nữa, nhiều chủng mang các cụm gen kháng kháng sinh và kháng chất tẩy rửa (*qacE*) luôn di truyền cùng nhau, các chủng này rất khó khăn để xử lý trong chuỗi nuôi trồng của sản xuất nông nghiệp.

3.3.5. Kết quả phân tích hệ gen về đơn vị sao chép của plasmid, gen độc và các SPI

Kết quả về yếu tố gây độc tìm thấy trong các chủng dương được giải trình tự rất đa dạng và nhiều gen gây bệnh tham gia vào quá trình gây bệnh của *Salmonella* trên động vật và người được xác định trong Bảng 3.11.

Bảng 3.11. Sự phân bố Plasmid đơn vị sao chép, SPI và VFs trong 26 chủng *Salmonella* giải trình tự

Mã chủng giải trình tự	Tuýp huyết thanh	Đơn vị sao chép của plasmid	Số lượng VFS	Số lượng gen	SPI
12_S2	Typhimurium	IncA/C2 ColRNAI	23	82	CS54, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-9, SPI-13
13_S3	Newport	Col156 IncHI2 IncHI2A	26	90	C63PI, S54, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-9, SPI-13
19_S4	Corvallis	IncHI2 Col156 IncHI2A	21	83	SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-9
21_S5	Infantis	IncF	29	101	SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-9, SPI-13
25_S6	Infantis		30	93	C63PI, S54, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-9, SPI-13, SPI-14
52_S14	Meleagridis	IncFIB Col (MGD2)	24	80	C63PI, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-9

56_S15	Muenster		22	82	SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-9, SPI-13, SPI-14
61_S18	Typhimurium	IncA/C2 ColRNAI	21	78	SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-13, SPI-14
64_S19	Infantis		29	93	C63PI, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-9, SPI-13, SPI-14
8_S1	Agona	IncL/M IncX1_1	81	21	C63PI, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-9
68_S20	Kentucky		23	83	SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-9
43_S11	Muenster	IncHI2_1 IncHI2A_1	20	75	SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-9, SPI-13, SPI-14
45_S12	Muenster		21	79	SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-13, SPI-14
51_S13	Muenster		23	84	C63PI, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-9, SPI-13
31_S7	Muenster		24	82	SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-9, SPI-13, SPI-14
42_S10	Muenster		23	79	C63PI, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-9, SPI-13, SPI-14
57_S16	Muenster		23	81	C63PI, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-13
60_S17	Muenster	IncL/M(pM U407)1_pM U407	21	72	SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-13, SPI-14
32_S8	Infantis		21	80	SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-9, SPI-13
37_S9	Muenster		29	96	CS54-island, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-9, SPI-13
74_S1	Kentucky	ColRNAI_1	28	95	C63PI, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4, SPI-5, SPI-9
89_S1	Agona	ColRNAI_1	28	102	C63PI, SGI1, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4, SPI-5, SPI-9
109_S2	Infantis	IncFIB(K)_1_Kpn3	31	100	C63PI, CS54-island, SGI1, SPI-1, SPI-2,

					SPI-3, SPI-4, SPI-5, SPI-9, SPI-13, SPI-14
129_S3	Newport	IncHI2A_1 IncHI2_1 RepA_1_pK PC- CAV1321	28	94	C63PI, CS54-island, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4, SPI-5, SPI-9, SPI-13, SPI-14
146_S4	Agona	IncI_Gamm a_1 IncFII(pHN 7A8)_1_pH N7A8 p0111_1	27	99	C63PI, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4, SPI-5, SPI-9
148_S5	Muenster		27	98	C63PI, SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4, SPI-5, SPI-9

Các plasmid được tìm thấy rất đa dạng, chúng thường cho thấy mối liên hệ mật thiết với các gen độc lực, kháng kháng sinh và gây bệnh (Bảng 3.11). *In Silico* Detection PlasmidFinder (<https://cge.food.dtu.dk/>) cho thấy:

IncF

Plasmid IncF thường được bắt gặp ở các chủng vi khuẩn đường ruột trong các nghiên cứu lâm sàng liên quan đến việc phân tách các gen kháng kháng sinh và độc lực có liên quan. Các plasmid IncF có liên quan đến sự xuất hiện đột ngột của các β -lactamase phổ mở rộng (ESBLs) liên quan đến lâm sàng trên toàn thế giới, chẳng hạn như sự xuất hiện của gen CTX-M-15, sự lây lan của các gen AmpC qua trung gian plasmid (*bla_{CMY}* và *bla_{DHA}*) và các gen kháng quinolone và aminoglyco được mã hóa bởi các gen *aac (6') -Ib-cr*, *qnr*, *qepA*, *armA* và *rmtB* [228].

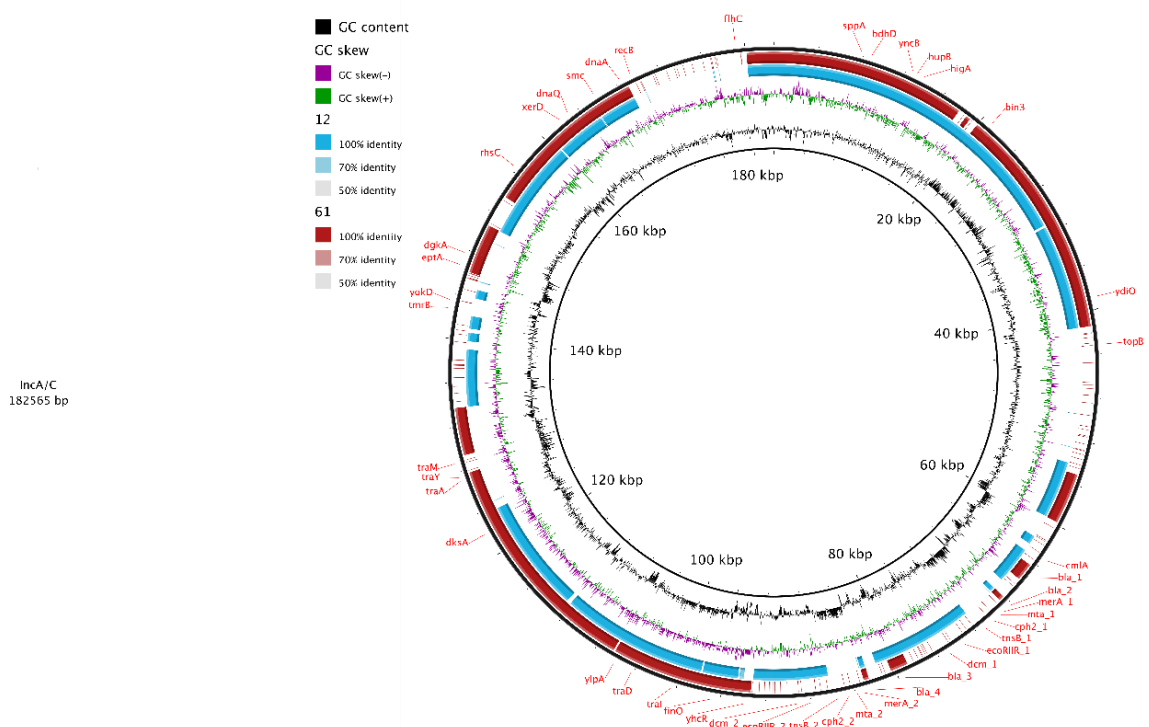
Col156

E. coli ST131 là dòng chính của *E. coli* đóng vai trò quan trọng trong việc chuyển giao các gen đa kháng kháng sinh, đặc biệt là các gen CTX-M ESBL có khả năng đề kháng cefotaxime và ceftriaxone. Dòng này được chia thành hai nhánh kháng fluoroquinolone có chứa các alen fimH30 là H30R/C1 và H30Rx/C2. Các đơn vị sao chép giống Col (Col156) được tìm thấy là một phần của nhánh liên kết C1 và mang gen kháng *bla_{CTX-M-27}* [229], [230].

IncA/C2

Plasmid IncA/C lần đầu được phân lập từ các vật chủ là sinh vật sống trong môi trường nước, bao gồm chủng vi khuẩn *Vibrio cholerae* và từ các mầm bệnh trên cá *Aeromonas salmonicida* [231], [232]. Tuy nhiên, việc phân lập plasmid IncA/C từ *Enterobacteriaceae* bao gồm *Salmonella* ngày càng được đánh giá cao [233].

Do khả năng liên kết với rất nhiều gen kháng kháng sinh được chứng minh trong nhiều nghiên cứu lâm sàng như *bla_{CMY}* and *bla_{NDM}*, các plasmid này đại diện cho mối nguy hại hiểm họa đối với sức khỏe cộng đồng. Cephalomycinase (CMY) kháng kháng sinh ceftriaxone được mã hóa bởi các gen *bla_{CMY}* [234], ngoài ra, NDM-1 có khả năng phá hủy nhóm thuốc carbapenem như meropenem, imipenem, doripenem và ertapenem bằng cách phá vỡ nhóm chức carbapenem trong kháng sinh [235].

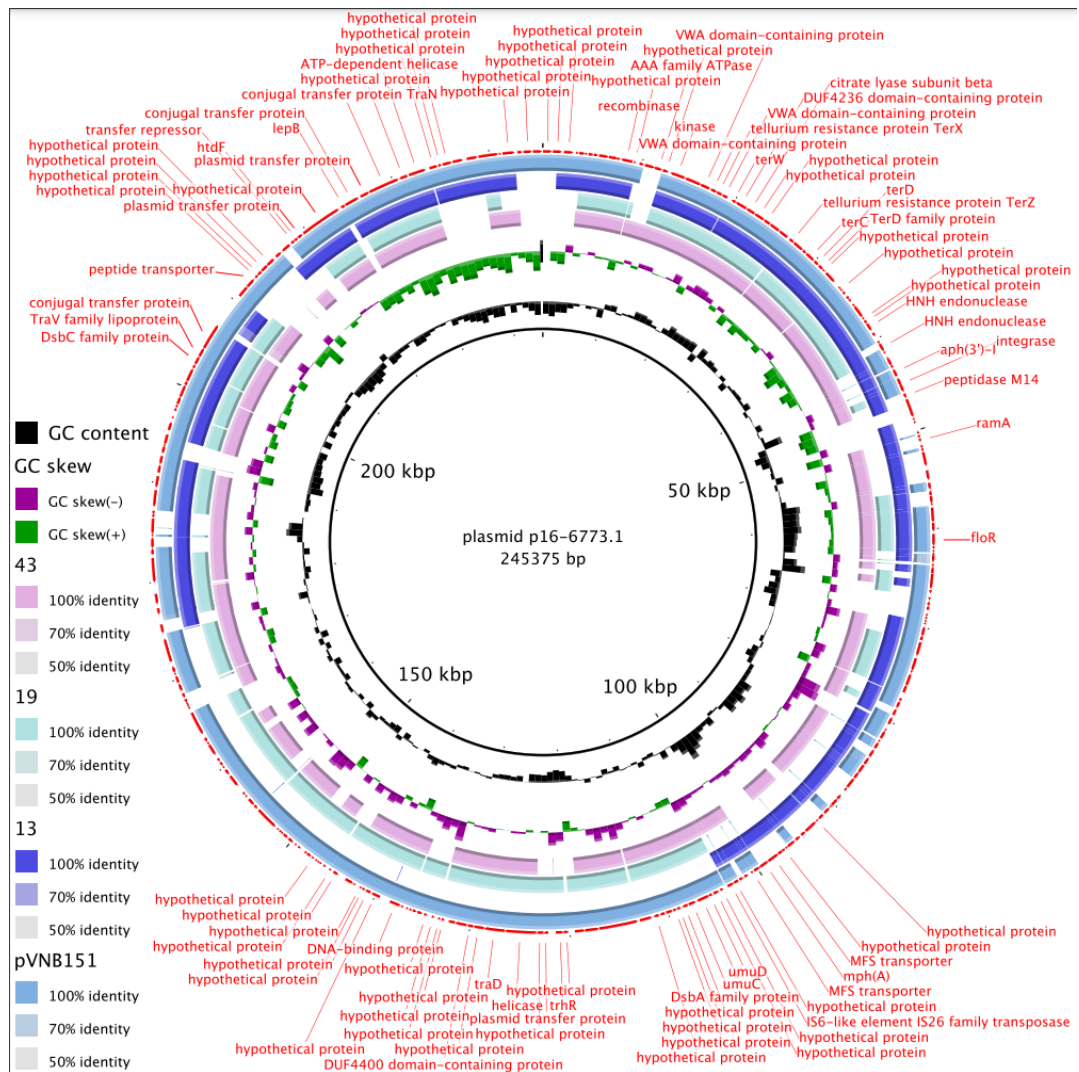


Hình 3.13. Plasmid IncA/C

IncHI2

IncHI2 là một nhánh plasmid quan trọng được tìm thấy rộng khắp trong các chủng *Salmonella* kháng kháng sinh, đặc biệt là chủng *S. Typhimurium*. Plasmid IncHI2 có khả năng chuyển ngang gen mã hóa β -lactamase (*bla_{OXA-1}* và *bla_{TEM-1}*)

cũng như *qnrA* và *acc(6')-ib-cr*. Theo các nghiên cứu trước đó, *aac(6')-Ib-cr* cũng đã được phát hiện cùng với gen *bla_{OXA-1}*, *wiPMQR* và có thể là *bla_{TEM-1}* [236]. Các mẫu 13, 19 và 43 được so sánh với plasmid p67 và pVNB151, phần chú thích là của p67.



Hình 3.14. Plasmid InHI2

IncFIB

IncFIB là một plasmid tiếp hợp có liên quan đến việc lan rộng của các gen *bla_{IMP}* ở *E. cloacae* tại Nhật Bản [237] và *bla_{TEM}* ở các chủng *E. coli* phân lập được báo cáo ở Châu Phi [238]. Ở châu Âu, IncFIB chịu trách nhiệm cho sự lây lan của các gen *bla_{NDM-1}*, *bla_{SHV-12}*, *bla_{CTXM-15}* và *bla_{OXA-1}* ở *K. pneumoniae* [239].

IncL/M

IncL/M hiện là một trong sáu họ plasmid kháng thuốc chính được xác định trong họ *Enterobacteriaceae* có liên quan về mặt lâm sàng. Plasmid loại IncL/M có

liên quan đến các gen kháng kháng sinh mã hóa các β -lactamase phổ rộng (ESBL) (*bla*_{CTX-M-3}, *bla*_{SHV-5}), carbapenemases loại A, B và D (*bla*_{KPC}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} và *bla*_{OXA-48}), AmpC β -lactamase (*bla*_{FOX-7}), cũng như các gen methylase *armA* 16S rRNA, mang lại khả năng kháng tất cả các aminoglycoside [240].

IncX1_1

Họ plasmid IncX là plasmid có phạm vi kí sinh vật chủ hẹp, chủ yếu được tìm thấy trong họ vi khuẩn *Enterobacteriaceae*. Cho đến nay, có ít nhất tám phân nhóm plasmid IncX đã được báo cáo (IncX1 đến IncX8) mang nhiều gen kháng thuốc khác nhau, bao gồm *oqxAB*, *qnrS1*, *qnrS2*, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM} và *mcr-1*, có khả năng kháng fluoroquinolones, cephalosporin, carbapenems, colistin và một số loại kháng sinh khác [241]–[248].

Kết quả phân tích cho thấy từ 80 đến 102 gen độc lực với 21-29 yếu tố độc lực. Kết quả sử dụng phần mềm SPIFinder-2.0 cho thấy sự hiện diện rộng rãi của SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-9, SPI-13 và SPI-14, trong đó tất cả các chủng đều có SPI-1, SPI-3 và SPI-9. Một số các SPI điển hình như sau:

SPI-1 là một cụm gen và bao gồm một vùng 40 kb gồm 39 gen mã hóa T3SS và các chaperones và protein của nó cũng như một số cơ quan điều hòa phiên mã kiểm soát sự biểu hiện của nhiều gen độc lực nằm trong và ngoài SPI-1. Việc đảo SPI-1 của *Salmonella* gây bệnh mã hóa cho hệ thống tiết protein III (T3SS) sẽ cung cấp các protein cần thiết cho sự xâm nhập vào ruột và sản sinh ra các mầm bệnh. Ngoài ra, các gen SPI-1 còn chịu trách nhiệm về quá trình xâm nhập vào các tế bào vật chủ, điều chỉnh phản ứng miễn dịch của vật chủ. Ví dụ: biểu hiện cytokine tiền viêm sớm trong đại thực bào, bao gồm; IL-1 β , IL-8, TNF- α , IL-23 α , GM-CSF và IL-18; tham gia vào quá trình điều hòa giảm MHC-II và phân cực thành kiểu hình M2 trong đại thực bào [249].

Tương tự SPI-1, SPI-2 của *Salmonella* gây bệnh có chứa nhiều protein “effector” được chuyển vị vào các cơ thể vật chủ thông qua hệ thống tiết T3SS. SPI-2 T3SS được tìm thấy trong tất cả các phân loài *S. enterica* và là một yếu tố độc lực chính của nhóm mầm bệnh này. Trong đó, xấp xỉ 30 effector bao gồm SspH1, SspH2, SifA và SlrP của SPI-2 T3SS đã được xác định trong đó 13 mẫu trong số này đóng

vai trò trong nhiều chức năng, bao gồm kiểm soát động lực học màng không bào chứa *Salmonella* (SCV), định vị SCV trong tế bào chủ, điều hòa miễn dịch, thay đổi tế bào xương và ảnh hưởng đến khả năng vận động của tế bào bị nhiễm bệnh [250].

Cấu trúc di truyền phân tử của SPI-3 là một đảo có kích cỡ 17 kb nằm ở vị trí tRNA *selC* của *Salmonella enterica* Typhimurium. SPI-3 có chứa 10 khung đọc mở được tổ chức thành sáu đơn vị phiên mã, bao gồm operon *mgtCB* mã hóa protein của đại thực bào là *MgtC* và chất vận chuyển *MgtB* là Mg^{2+} . Sự phân bố của các trình tự SPI-3 khác nhau giữa các loài *Salmonella*: đầu bên phải của đảo chứa gen độc lực *mgtC*, hiện diện trong tất cả 8 phân loài của *Salmonella*. *mgtC* mang những đặc điểm cần thiết để tồn tại trong thực bào, độc lực ở chuột và tăng trưởng trong môi trường có hàm lượng Mg^{2+} thấp.

SPI-4 là vùng đặc hiệu của *Salmonella* 27 kb mang 6 gen được chỉ định *siiA/B/C/D/E/F*. *SiiC*, *SiiD* và *SiiF* tạo thành hệ thống tiết loại I để tiết *SiiE* một protein khổng lồ (~600 kDa) góp phần vào quá trình sinh sống của vi khuẩn [251].

SPI-5 được phát hiện lần đầu tiên trong hệ gen của *Salmonella* Dublin nằm giữa tRNA-*serT* và *copR* và bao gồm năm gen (*pipA*, *pipB*, *pipC*, *sopB* và *pipD*). Năm gen này thể hiện sự tương đồng cao với các gen từ đại thực khuẩn *Gifsy-1* và *Gifsy-2*. SPI-5 đóng một vai trò quan trọng trong việc gây bệnh và mã hóa các effector của SPI-1 và SPI-2. Ví dụ: *sopB* mã hóa một protein effector chuyển vị của hệ thống tiết loại III (T3SS) trong SPI-1 dưới sự kiểm soát của *hilA*, trong khi *pipB* mã hóa hiệu ứng chuyển vị của T3SS trong SPI-2 dưới sự kiểm soát của *ssrAB* [252].

SPI-9 phát hiện từ *Salmonella enterica* Typhi (*S. Typhi*) mang ba gen (STY2876, STY2877, STY2878) biểu hiện giống 98% với hệ thống tiết I (T1SS) và một ORF (STY2875) tương tự như một protein lớn giống RTX thể hiện các miền Ig tăng sinh. Hơn nữa, SPI-9 góp phần vào sự bám dính của *S. Typhi* vào các tế bào biểu mô khi vi khuẩn được phát triển trong điều kiện độ thẩm thấu cao hoặc pH thấp. Trong các điều kiện thử nghiệm, *S. Typhi* SPI-9 không tham gia vào quá trình hình thành màng sinh học. Ngoài ra, SPI-9 mã hóa một chất kết dính được tạo ra trong các điều kiện thường thấy trong theintestine, chẳng hạn như độ thẩm thấu cao.

SPI-11 mã hóa một số gen quan trọng đối với quá trình gây bệnh và sự sống

sốt của vi khuẩn. Đảo này có ở cả hai tuýp huyết thanh Typhimurium và Typhi, tuy nhiên nó đã bị thoái hóa ở một mức độ nào đó trong Typhimurium. Đặc biệt trong SPI-11 là các tập hợp các gen mã hóa các protein vỏ, *pagD*, *envE*, *envF* tham gia vào quá trình tái cấu trúc màng ngoài để cải thiện khả năng chống lại các hệ thống miễn dịch gặp phải trong tế bào. Ngoài ra, các gen SPI-11 bổ sung là *pagC* và *pagD*, là một phần của bộ điều chỉnh PhoPQ và có khả năng được thu nhận thông qua chuyển gen ngang.

SPI-13 của *Salmonella* gây bệnh là một locus gen ~19 kbp mang 18 gen không đặc trưng về mặt chức năng ở loài *Salmonella* serovar Gallinarum (*S. Gallinarum*) thích nghi với gia cầm. Dựa trên phân tích *in silico*, phần lớn các gen SPI-13 mã hóa các protein tham gia một cách có chủ đích vào quá trình trao đổi chất của vi khuẩn, tuy nhiên các chức năng của chúng phần lớn vẫn chưa được xác thực.

SPI-14 tương ứng với vùng 9kb trong *S. Typhimurium*. Nó bao gồm 8 khung đọc mở từ STM14_1001 đến STM14_1008, trong đó, STM14_1008 mã hóa bộ điều hòa phiên mã họ LysR giả định, STM14_1004 là gen giả và 6 khung còn lại mã hóa các protein tế bào chất giả định chưa biết chức năng. Sự đóng góp của SPI-14 đối với độc lực của *Salmonella* đã được nghiên cứu ở *S. Gali* và *S. Enteritidis* trong những nghiên cứu trước đó. Hơn nữa, một tác nhân điều hòa mới được mã hóa trong SPI-14 (STM14_1008), có tên *LoiA* là yếu tố quyết định độc lực của SPI-14 (low oxygen induced factor A), sẽ liên kết trực tiếp với promoter và kích hoạt phiên mã *hilD*, dẫn đến sự hoạt hóa của *hilA* (chất hoạt hóa chính của SPI-1).

Một kết quả được tìm thấy khi phân tích hệ gen là các gen mã hóa cho các độc tố: *fyuA*, *ipr2*, *traT*, *astA*, *terC*. Điều này giải thích cho khả năng gây bệnh cũng như gây ngộ độc thực phẩm của *Salmonella*.

fyuA

Các gen *fyuA* mã hóa thụ thể màng ngoài cho siderophore yersiniabactin (Ybt). *FyuA* được phát hiện trong môi trường thiếu sắt như nước tiểu của con người, đóng vai trò quan trọng đối với sự hình thành màng sinh học là nguyên nhân chính gây nhiễm trùng đường tiết niệu (UTI) người [253].

ipr2

Irp2 mã hóa cho HMWP2 là protein được cho là quan trọng đối với sản xuất siderophore yersiniabactin phổ biến rộng rãi giữa các vi khuẩn gây bệnh và do đó liên quan đến việc giải phóng CAS (thuốc nhuộm chỉ thị ion sắt chrom azurol S) - kiểu hình dương tính [254].

traT

Gen *traT* mã hóa cho phần lớn protein màng ngoài chính (gọi là các protein *traT*), được tìm thấy trong nhiều plasmid IncF. Protein *traT* làm giảm tính nhạy cảm của vi khuẩn đối với quá trình thực bào bởi các đại thực bào phức tạp [255] và đồng thời tăng đến một mức độ đáng kể khả năng gây bệnh của chủng *E. coli* trong mô hình nhiễm trùng ở chuột [256].

astA

astA, là gen mã hóa enterotoxin (EAST1) ở các chủng *E. coli* ổn định nhiệt [257]. Độc tố EAST1 có liên quan đến bệnh tiêu chảy ở người và các loài động vật khác nhau bao gồm gia súc và lợn. Độc tố này thường được so sánh với *E. coli* STa enterotoxin vì chúng có chung một số điểm tương đồng về tính chất vật lý và cơ học [258].

terC

Gen *terC* mã hóa cho protein kháng ion Tellurite, đại diện cho những protein quan trọng trong việc kháng thuốc và cho thấy không có sự tương đồng đáng kể với bất kỳ protein nào có chức năng đã biết. Nhiều vùng có tính axit được bảo tồn trong miền *TerC* cho thấy rằng nó có thể tạo thành một cấu trúc với bề mặt anion trong màng, do đó có thể hoạt động như ống dẫn hoặc vị trí liên kết với kim loại [259], [260].

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

1. Đã xác định được tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. trong thịt gia cầm (gà, vịt và ngan) thu thập tại các chợ ở thành phố Hà Nội là: 65,38% mẫu nhiễm *Salmonella* spp. (119/182 mẫu); tỉ lệ nhiễm *Salmonella* spp. từng nhóm gia cầm: gà 62,50% (65/104); vịt 72,34% (34/47) và ngan 64,52% (20/31).

2. Đã đánh giá được mức độ kháng các kháng sinh và kháng chất tẩy rửa của các chủng *Salmonella* spp. được phân lập từ thịt gia cầm: ampicillin (89,08%), cefazolin (88,24%), tetracycline (87,39%); cefuroxime và cefotaxime (79,83%); ceftriaxone (78,99%), chloramphenicol (77,31%), trimethoprim (68,07%), nalidixic acid (66,39%), gentamycin (57,98%), ceftazidime (47,06%) và ciprofloxacin (5,88%); đồng thời xác định được mối liên quan các chủng *Salmonella* mang gen *qacE* và *qacDelta* với khả năng kháng hai chất tẩy rửa Benzalkonium chloride và Cetylpyridinium chloride.

3. Đã xác định được các gen chức năng liên quan đến tính kháng kháng sinh của một số chủng *Salmonella* spp. nhờ kỹ thuật phân tích hệ gen gồm: 82 liên quan đến nhiều loại kháng sinh khác nhau; một số gen liên quan tính kháng kháng sinh thể hệ 3 và 4 thuộc họ cephalosporin (Beta-lactam) như gen *bla_{CTX-M-55_1}* có trong 15 chủng (57,69%); gen *bla_{CTX-M-65_1}* có ở 5 chủng (19,23%); gen *bla_{CTX-M-14b_1}* và gen *bla_{CTX-M-9}* (7,69%, 2/26) và gen *bla_{TEM-33}*, *bla_{TEM-34}*; gen *mcr-3* liên quan đến tính kháng colistin; gen *mrtB* kháng với toàn bộ các kháng sinh thuộc lớp Aminoglycosides; một số yếu tố di truyền vận động (IVSs3, ISEc57,..) mang các gen kháng kháng sinh quan trọng như *floR*, *qnrS1*, *bla_{CTX-M-55}*, *bla_{CTX-M65}*, *aac (3)*, *aac (4)*; và phát hiện sự tồn tại các đơn vị sao chép của plasmid là IncA/C, IncHI2, IncL/M, ColRNAI, Col156, IncHI2A, IncF, IncFIB, IncFIB, IncI; sự lưu hành phong phú của SPI và gen độc lực trong các chủng phân lập.

KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu sự ảnh hưởng các đột biến đến sự kháng kháng sinh trong các chủng *Salmonella* phân lập tại Việt Nam từ gia cầm.

Nghiên cứu về sự biểu hiện tính độc của các gen độc được tìm thấy như *fyuA*, *ipr2*, *traT*, *astA* và *terC*.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Trung Thanh Nguyen**, Hoa Vinh Le, Yen Thi Ta, Da Xuan Pham, Nam Trung Nguyen (2022). Prevalence and Whole-Genome Analysis of Multidrug-Resistant *Salmonella* Isolated from Chicken Carcasses in Hanoi. *Vietnam Journal of Biotechnology* 20 (4):705-15; <https://doi.org/10.15625/1811-4989/17495>.
2. **Trung Thanh Nguyen**, Hoa Vinh Le, Yen Thi Ta, Da Pham Xuan, Nam Trung Nguyen, Nguyen Huy Hoang (2022). Characteristic of Multiple-Antibiotic-Resistant *Salmonella enterica* from Muscovy Duck in Hanoi. *Academia Journal of Biology* 44 (4):1-17; <https://doi.org/10.15625/2615-9023/17499>.
3. **Trung Thanh Nguyen**, Hoa Vinh Le, Da Pham Xuan, Trung Nghia Vu, Minh Hong Nguyen, Huyen Thi Thanh Tran (2022). Whole-Genome Sequencing of Antimicrobial-Resistance *Salmonella enterica* Isolates from Cairina Moschata Carcass in Vietnam. *Data in Brief*, Volume 47, 2023, 108932, ISSN 2352-3409; <https://doi.org/10.1016/j.dib.2023.108932>
4. **Trung Thanh Nguyen**, Hoa Vinh Le, Ha Vu Thi Hai, Thanh Nguyen Tuan, Huong Minh Nguyen, Da Pham Xuan, Trung Nghia Vu, Huyen Tran Thi Thanh, Hao Hong Le Thi (2022). Whole Genome Analysis of Antimicrobial Resistant *Salmonella enterica* Isolated from Duck Carcasses in Hanoi, Vietnam. *Current Issues in Molecular Biology*, 2023, 45(3), 2213-2229; <https://doi.org/10.3390/cimb45030143>
5. Xuan Da Pham, Hao Le Thi Hong, Huyen Tran Thi Thanh, Long Thanh Le, Hoa Vinh Le, Ninh Hanh Thi, Minh Le Tran, **Nguyen Thanh Trung**. Strains and virulence genes of *Salmonella* with multidrug resistance isolated from chicken carcasses (Ha-noi, Vietnam). *Health Risk Analysis*, 2023, no. 1, pp. 115–123. DOI: 10.21668/health.risk/2023.1.11.eng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *FoodNet Fast* / CDC. (n.d.). Retrieved January 13, 2022, from <https://wwwn.cdc.gov/foodnetfast/>.
2. *EFSA Journal*, vol. 19, no. 12, Dec. 2021, “The European Union One Health 2020 Zoonoses Report,” doi: 10.2903/J.EFSA.2021.6971.
3. Lamas, A., Miranda, J. M., Regal, P., Vázquez, B., Franco, C. M., & Cepeda, A., 2018, A comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella enterica*, *Microbiological Research*, 206, 60–73, <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2017.09.010>.
4. Gut, A. M., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. N., 2018, *Salmonella* infection – Prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: A review, *Microbiology (United Kingdom)*, 164(11), 1327–1344, <https://doi.org/10.1099/MIC.0.000709/CITE/REFWORKS>.
5. *2018 NARMS Update: Integrated Report Summary Interactive Version* / FDA. (n.d.), Retrieved August 9, 2022, from <https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/2018-narms-update-integrated-report-summary-interactive-version>.
6. Tạ Thị Yên, Nguyễn Thành Trung, Tô Bích Phượng, Phạm Xuân Đà, Lê Thị Hồng Hào., Nguyễn Thị Giang, Alali, W. Q., Walls, I., & Doyle, M. P., 2014, Quantification, serovars, and antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from retail raw chicken meat in Vietnam. *Journal of Food Protection*, 77(1), 57–66, <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-221>.
7. Trương Huỳnh anh vũ., Nguyễn Hoàng Khuê Tú, Chu Vân Hải, & Huỳnh yên Hà, 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, [https://doi.org/10.31276/VJST.63\(8\).55-59](https://doi.org/10.31276/VJST.63(8).55-59).
8. Scaltriti, E., Sasser, D., Comandatore, F., Morganti, C. M., Mandalari, C., Gaiarsa, S., Bandi, C., Zehender, G., Bolzoni, L., Casadei, G., & Pongolinia, S., 2015, Differential Single Nucleotide Polymorphism-Based Analysis of an Outbreak Caused by *Salmonella enterica* Serovar Manhattan Reveals Epidemiological Details Missed by Standard Pulsed-Field Gel Electrophoresis, *Journal of Clinical Microbiology*, 53(4), 1227, <https://doi.org/10.1128/JCM.02930-14>.
9. Achtman, M., Wain, J., Weill, F. X., Nair, S., Zhou, Z., Sangal, V., Krauland, M. G., Hale, J. L., Harbottle, H., Uesbeck, A., Dougan, G., Harrison, L. H., & Brisse, S., 2012, Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*, *PLoS Pathogens*, 8(6), <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1002776>.
10. Gilchrist, C. A., Turner, S. D., Riley, M. F., Petri, W. A., & Hewlett, E. L., 2015, Whole-Genome Sequencing in Outbreak Analysis, *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 541, <https://doi.org/10.1128/CMR.00075-13>.

11. Leekitcharoenphon, P., Nielsen, E. M., Kaas, R. S., Lund, O., & Aarestrup, F. M., 2014, Evaluation of whole genome sequencing for outbreak detection of salmonella enterica, *PLoS ONE*, 9(2), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087991>.
12. Gonzalez-Santamarina, B., Busch, A., Garcia-Soto, S., Abdel-Glil, M. Y., Linde, J., Fries, R., Meemken, D., Hotzel, H., & Tomaso, H., 2020, Draft genome sequence of multi-resistant Salmonella enterica subsp. enterica serovar Rissen strain 19CS0416 isolated from Vietnam reveals mcr-1 plasmid mediated resistance to colistin already in 2013, *Journal of Genomics*, 8(2020), 76–79, <https://doi.org/10.7150/jgen.42790>.
13. Chlebicz, A., & Śliżewska, K., 2018, Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Vol. 15, Issue 5, MDPI AG, <https://doi.org/10.3390/ijerph15050863>).
14. Fàbrega, A., & Vila, J., 2013, Salmonella enterica serovar Typhimurium skills to succeed in the host: Virulence and regulation, In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 26, Issue 2, pp. 308–341, <https://doi.org/10.1128/CMR.00066-12>).
15. Agnès, W., Isabelle, V. P., Anne-Marie, C. M., Adam, S., & Philippe, V., 2014, Interactions of salmonella with animals and plants, In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 5, Issue DEC, Frontiers Media S.A., <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00791>).
16. Crum Cianflone, N. F. (n.d.). *Salmonellosis and the GI Tract: More than Just Peanut Butter*.
17. *PERSPECTIVE SERIES Bacterial polymorphisms*. (n.d.).
18. Hoffm Ann, S., Batz, M. B., & Morris, J. G., 2012, Annual Cost of Illness and Quality-Adjusted Life Year Losses in the United States Due to 14 Foodborne Pathogensf, *Journal of Food Protection*, 75(7), 1292–1302, <https://doi.org/10.4315/0362-028X>.
19. Hohmann, E. L., 2001, *Nontyphoidal Salmonellosis*. www.cdc.gov/ncidod/dbmd/foodnet/.
20. CDC, 2019b, *Diagnosis and Treatment | General Information | Salmonella | CDC*. <https://www.cdc.gov/salmonella/general/diagnosis-treatment.html>.
21. Holt, J., Krieg, N., Sneath, P., Staley, J., & Williams, S., 1994, --Bergey's manual of determinative microbiology, 9th edn, *Lippincot, Williams and Wilkins, Baltimore*.
22. Jones, G. W., & Richardson, L. A., 1981, The attachment to, and invasion of HeLa cells by Salmonella typhimurium: The contribution of mannose-sensitive and mannose-resistant haemagglutinating activities, *Journal of General Microbiology*, 127(2), <https://doi.org/10.1099/00221287-127-2-361>.
23. Đào Trọng Đạt, Phan Thanh Phương, 1995, *Benh duong tieu hoa o lon*.
24. Nguyễn Phước Vĩnh, 1970, *Vì sinh vật học thú y, NXB Đại Học và Trung Học Chuyên Nghiệp Hà Nội*.

25. Elnekave, E., Hong, S. L., Lim, S., Johnson, T. J., Perez, A., & Alvarez, J, 2020, Comparing serotyping with whole-genome sequencing for subtyping of non-typhoidal salmonella enterica: A large-scale analysis of 37 serotypes with a public health impact in the usa. *Microbial Genomics*, 6(9), 1–13, <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000425>.
26. Xu, H., Zhang, W., Zhang, K., Zhang, Y., Wang, Z., Zhang, W., Li, Y., & Li, Q, 2021, Characterization of Salmonella serotypes prevalent in asymptomatic people and patients, *BMC Infectious Diseases*, 21(1), <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06340-z>.
27. WHO EMRO | What is the difference between antibiotic and antimicrobial resistance? | Antimicrobial resistance | Health topics. (n.d.). Retrieved May 10, 2023, from <https://www.emro.who.int/health-topics/drug-resistance/what-is-the-difference-between-antibiotic-and-antimicrobial-resistance.html>.
28. Salmonella Homepage | CDC. (n.d.-a). Retrieved May 10, 2023, from <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>.
29. Salmonella Outbreak Linked to Raw Frozen Breaded Stuffed Chicken Products | CDC. (n.d.), Retrieved May 10, 2023, from <https://www.cdc.gov/salmonella/enteritidis-06-21/index.html>.
30. Rosenberg, S. M., Longrich, S., Gee, P., & Harris, R. S, 1994, Adaptive Mutation by Deletions in Small Mononucleotide Repeats, *Science*, 265(5170), 405–407, <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.8023163>.
31. Parkhill, J., Dougan, G., James, K. D., Thomson, N. R., Pickard, D., Wain, J., Churcher, C., Mungall, K. L., Bentley, S. D., Holden, M. T. G., Sebaihia, M., Baker, S., Basham, D., Brooks, K., Chillingworth, T., Connor, P., Cronin, A., Davis, P., Davies, R. M., ... Barrell, B. G, 2001, Complete genome sequence of a multiple drug resistant Salmonella enterica serovar Typhi CT18, *Nature* 2001 413:6858, 413(6858), 848–852, <https://doi.org/10.1038/35101607>
32. Jacobsen, A., Hendriksen, R. S., Aaresturp, F. M., Ussery, D. W., & Friis, C, 2011, The Salmonella enterica Pan-genome, *Microbial Ecology*, 62(3), 487–504, <https://doi.org/10.1007/S00248-011-9880-1/FIGURES/7>.
33. Escherichia coli and Salmonella: cellular and molecular biology | WorldCat.org. (n.d.), Retrieved May 8, 2023, from <https://www.worldcat.org/title/escherichia-coli-and-salmonella-cellular-and-molecular-biology/oclc/34150023>.
34. Carattoli, A., Bertini, A., Villa, L., Falbo, V., Hopkins, K. L., & Threlfall, E. J, 2005a, Identification of plasmids by PCR-based replicon typing, *Journal of Microbiological Methods*, 63(3), 219–228, <https://doi.org/10.1016/J.MIMET.2005.03.018>.
35. Datta, N., & Hedges, R. W, 1971, Compatibility Groups among ϕ -R Factors, *Nature* 1971 234:5326, 234(5326), 222–223, <https://doi.org/10.1038/234222a0>.
36. García-Fernández, A., Fortini, D., Veldman, K., Mevius, D., & Carattoli, A, 2009, Characterization of plasmids harbouring qnrS1, qnrB2 and qnrB19 genes

- in Salmonella, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(2), 274–281, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKN470>.
37. Villa, L., Poirel, L., Nordmann, P., Carta, C., & Carattoli, A, 2012, Complete sequencing of an IncH plasmid carrying the blaNDM-1, blaCTX-M-15 and qnrB1 genes, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(7), 1645–1650, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKS114>.
 38. Villa, L., García-Fernández, A., Fortini, D., & Carattoli, A, 2010, Replicon sequence typing of IncF plasmids carrying virulence and resistance determinants. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(12), 2518–2529, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKQ347>.
 39. García-Fernández, A., Chiaretto, G., Bertini, A., Villa, L., Fortini, D., Ricci, A., & Carattoli, A, 2008, Multilocus sequence typing of IncII plasmids carrying extended-spectrum β -lactamases in Escherichia coli and Salmonella of human and animal origin, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(6), 1229–1233, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKN131>.
 40. Zankari, E., Hasman, H., Cosentino, S., Vestergaard, M., Rasmussen, S., Lund, O., Aarestrup, F. M., & Larsen, M. V. (n.d.). *Identification of acquired antimicrobial resistance genes*, <https://doi.org/10.1093/jac/dks261>.
 41. *Salmonella Homepage | CDC*. (n.d.-b), Retrieved May 10, 2023, from <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>.
 42. Abdi, R. D., Mengstie, F., Beyi, A. F., Beyene, T., Waktole, H., Mammo, B., Ayana, D., & Abunna, F, 2017, Determination of the sources and antimicrobial resistance patterns of Salmonella isolated from the poultry industry in Southern Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 1–12, <https://doi.org/10.1186/S12879-017-2437-2/TABLES/6>.
 43. Raji, M. A., Kazeem, H. M., Magyigbe, K. A., Ahmed, A. O., Lawal, D. N., & Raufu, I. A, 2021, Salmonella Serovars, Antibiotic Resistance, and Virulence Factors Isolated from Intestinal Content of Slaughtered Chickens and Ready-to-Eat Chicken Gizzards in the Ilorin Metropolis, Kwara State, Nigeria, *International Journal of Food Science*, 2021, <https://doi.org/10.1155/2021/8872137>.
 44. Zishiri, O. T., Mkhize, N., & Mukaratirwa, S, 2016, Prevalence of virulence and antimicrobial resistance genes in Salmonella spp. isolated from commercial chickens and human clinical isolates from South Africa and Brazil, *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 83(1), <https://doi.org/10.4102/OJVR.V83I1.1067>.
 45. Wang, J., Li, Y., Xu, X., Liang, B., Wu, F., Yang, X., Ma, Q., Yang, C., Hu, X., Liu, H., Li, H., Sheng, C., Xie, J., Du, X., Hao, R., Qiu, S., & Song, H, 2017, Antimicrobial Resistance of Salmonella enterica Serovar Typhimurium in Shanghai, China, *Frontiers in Microbiology*, 8(MAR), <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.00510>.
 46. Cao, T., Liu, P., Li, Y., Cui, M., Zhang, C., Wang, Y., Shen, Z., Shen, J., Ke, Y., Wang, S., & Wu, Y, 2021, Prevalence of Salmonella and Antimicrobial

- Resistance in Isolates from Food Animals — Six PLADs, China, 2019, *China CDC Weekly*, 3(24), 514–517, <https://doi.org/10.46234/ccdcw2021.132>.
47. Yang, X., Huang, J., Zhang, Y., Liu, S., Chen, L., Xiao, C., Zeng, H., Wei, X., Gu, Q., Li, Y., Wang, J., Ding, Y., Zhang, J., & Wu, Q, 2020, Prevalence, abundance, serovars and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from retail raw poultry meat in China, *Science of The Total Environment*, 713, 136385, <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136385>.
 48. G, F. R., A, R. D. K., Adelino, C.-N., B, M. S., S, F. E. E., & A, C.-J. C, 2019, Worldwide Epidemiology of Salmonella Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis, *Applied and Environmental Microbiology*, 85(14), e00591-19, <https://doi.org/10.1128/AEM.00591-19>.
 49. S Trongjit, S., Angkititrakul, S., Tuttle, R. E., Pongseree, J., Padungtod, P., & Chuanchuen, R, 2017a, Prevalence and antimicrobial resistance in Salmonella enterica isolated from broiler chickens, pigs and meat products in Thailand–Cambodia border provinces, *Microbiology and Immunology*, 61(1), 23–33.
 50. Yang, B., Xi, M., Wang, X., Cui, S., Yue, T., Hao, H., Wang, Y., Cui, Y., Alali, W. Q., Meng, J., Walls, I., Lo Fo Wong, D. M., & Doyle, M. P, 2011, Prevalence of Salmonella on Raw Poultry at Retail Markets in China. *Journal of Food Protection*, 74(10), 1724–1728, <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-215>.
 51. Sodagari, H. R., Mashak, Z., & Ghadimianazar, A, 2015, Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella serotypes isolated from retail chicken meat and giblets in Iran, *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9(05), 463–469.
 52. Iwabuchi, E., Yamamoto, S., Endo, Y., Ochiai, T., & Hirai, K, 2011, Prevalence of Salmonella isolates and antimicrobial resistance patterns in chicken meat throughout Japan, *Journal of Food Protection*, 74(2), 270–273.
 53. Abatcha, M. G., Effarizah, M. E., & Rusul, G, 2018, Prevalence, antimicrobial resistance, resistance genes and class 1 integrons of Salmonella serovars in leafy vegetables, chicken carcasses and related processing environments in Malaysian fresh food markets. *Food Control*, 91, 170–180, <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2018.02.039>.
 54. Shafini, A. B., Son, R., Mahyudin, N. A., Rukayadi, Y., & Zainazor, T. C. T, 2017, Prevalence of Salmonella spp. in chicken and beef from retail outlets in Malaysia, *International Food Research Journal*, 24(1), 437.
 55. 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, <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-407>.
 56. Zwe, Y. H., Tang, V. C. Y., Aung, K. T., Gutiérrez, R. A., Ng, L. C., & Yuk, H. G, 2018, Prevalence, sequence types, antibiotic resistance and, gyrA mutations of Salmonella isolated from retail fresh chicken meat in Singapore,

- Food Control*, 90, 233–240, <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2018.03.004>.
57. Lee, S.-K., Choi, D., Kim, H.-S., Kim, D.-H., & Seo, K.-H, 2016, Prevalence, seasonal occurrence, and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolates recovered from chicken carcasses sampled at major poultry processing plants of South Korea, *Foodborne Pathogens and Disease*, 13(10), 544–550.
 58. Kim, M. S., Lim, T. H., Jang, J. H., Lee, D. H., Kim, B. Y., Kwon, J. H., Choi, S. W., Noh, J. Y., Hong, Y. H., Lee, S. B., Yang, S. Y., Lee, H. J., Lee, J. B., Park, S. Y., Choi, I. S., & Song, C. S, 2012, Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* species isolated from chicken meats produced by different integrated broiler operations in Korea, *Poultry Science*, 91(9), 2370–2375, <https://doi.org/10.3382/PS.2012-02357>.
 59. 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), <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02121>.
 60. Tạ Thị Yên, Nguyễn Thành Trung, Tô Bích Phượng., Phạm Xuân Đà, Lê Thị Hồng Hảo, Alali, W. Q., Walls, I., Lo Fo Wong, D. M. A., & Doyle, M. P, 2012, Prevalence of *Salmonella* on Chicken Carcasses from Retail Markets in Vietnam, *Journal of Food Protection*, 75(10), 1851–1854, <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-130>.
 61. Abd-Elghany, S. M., Sallam, K. I., Abd-Elkhalek, A., & Tamura, T, 2015, Occurrence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from chicken meat and giblets, *Epidemiology & Infection*, 143(5), 997–1003.
 62. Thung, T. Y., Mahyudin, N. A., Basri, D. F., Wan Mohamed Radzi, C. W. J., Nakaguchi, Y., Nishibuchi, M., & Radu, S, 2016, Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in raw chicken meat at retail markets in Malaysia, *Poultry Science*, 95(8), 1888–1893, <https://doi.org/10.3382/PS/PEW144>.
 63. Wall, B. A., Mateus, A. L. P., Marshall, L., Pfeiffer, D. U., Lubroth, J., Ormel, H. J., Otto, P., & Patriarchi, A, 2016, Drivers, dynamics and epidemiology of antimicrobial resistance in animal production, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
 64. 2015 NARMS Integrated Report | FDA. (n.d.), Retrieved May 10, 2023, from <https://www.fda.gov/animal-veterinary/national-antimicrobial-resistance-monitoring-system/2015-narms-integrated-report>.
 65. NARMS Integrated Report: 2014 The National Antimicrobial Resistance Monitoring System: Enteric Bacteria. (n.d.).
 66. Mazengia, E., Samadpour, M., Hill, H. W., Greeson, K., Tenney, K., Liao, G., Huang, X., & Meschke, J. S. (n.d.). *Prevalence, Concentrations, and Antibiotic*

- Sensitivities of Salmonella Serovars in Poultry from Retail Establishments in Seattle, Washington*, <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-394>.
67. Nde, C. W., Sherwood, J. S., Doetkott, C., & Logue, C. M, 2006, Prevalence and Molecular Profiles of Salmonella Collected at a Commercial Turkey Processing Plant, In *Journal of Food Protection* (Vol. 69, Issue 8).
 68. Punchihewage-Don, A. J., Hawkins, J., Adnan, A. M., Hashem, F., & Parveen, S, 2022, The outbreaks and prevalence of antimicrobial resistant Salmonella in poultry in the United States: An overview, In *Heliyon* (Vol. 8, Issue 11), Elsevier Ltd, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11571>.
 69. S0362028X23062506. (n.d.).
 70. For Disease Control, C, 2014, *National Antimicrobial Resistance Monitoring System NARMS 2014 Human Isolates Surveillance Report*. <http://www.cdc.gov/narms>.
 71. For Disease Control, C, 2014, *National Antimicrobial Resistance Monitoring System NARMS 2014 Human Isolates Surveillance Report*. <http://www.cdc.gov/narms>.
 72. *Antibiotic resistance threats in the United States, 2019*, 2019, <https://doi.org/10.15620/cdc:82532>.
 73. Bae, D., Cheng, C. M., & Khan, A. A, 2015, Characterization of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing non-typhoidal Salmonella (NTS) from imported food products, *International Journal of Food Microbiology*, 214, 12–17, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.017>.
 74. Hur, J., Jawale, C., & Lee, J. H, 2012, Antimicrobial resistance of Salmonella isolated from food animals: A review, *Food Research International*, 45(2), 819–830, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.014>.
 75. Ngô Hoàng Tuấn Hải, Đặng Xuân Sinh, Nguyễn Thanh Lương, Lê Thị Hằng, Nguyễn Văn Quân, Fred Unger, Phạm Đức Phúc, 2019, Thực trạng nhiễm salmonella và vi khuẩn tổng số trên thịt lợn từ các loại hình kinh doanh trên địa bàn quận Cầu Giấy, Hà Nội 2018, *Tạp Chí Khoa Học Nghiên Cứu Sức Khỏe và Phát Triển*, 3(2), 7–18, <https://vjol.info.vn/index.php/SK-PT/article/view/37018>
 76. Koichi Takeshi, Shigeru Itoh, Hiromi Hosono, Hiroichi Konno, Vo Trung Tin, Nguyen Quang Vinh, Nguyen Thi Bich Thuy, Keiko Kawamoto, & Sou-ichi Makino, 2009, Detection of Salmonella spp. Isolates from specimens due to pork production Chains in Hue City, Vietnam, *Journal of Veterinary Medical Science*, 71(4), 485–487.
 77. Dao Thi Anh Nguyen, Sharda Prasad Awasthi, Phuong Hoai Hoang, Phuc Do Nguyen, Hassan Jayedul, Noritoshi Hatanaka, Atsushi Hinenoya, Chinh Van Dang, Shah M. Faruque, and Shinji Yamasaki, 2021, Prevalence, Serovar, and Antimicrobial Resistance of Nontyphoidal Salmonella in Vegetable, Fruit, and Water Samples in Ho Chi Minh City, Vietnam, *Foodborne Pathogens and Disease*, 18(5), 354–363, <https://doi.org/10.1089/FPD.2020.2891>.

78. Dao Thi Anh Nguyen, Masashi Kanki, Phuc Do Nguyen, Hien Thi Le, Phong Thanh Ngo, Doan Nguyen Minh Tran, Ninh Hoang Le, Chinh Van Dang, Takao Kawai, Ryuji Kawahara, Shinya Yonog, Yuji Hirai, Michio Jinnai, Shinji Yamasaki, Yuko Kumeda, & Yoshimasa Yamamoto, 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, <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2016.07.017>.
79. Tu LTP, Hoang NVM, Cuong N V., et al, 2015, High levels of contamination and antimicrobial-resistant non-typhoidal Salmonella serovars on pig and poultry farms in the Mekong Delta of Vietnam, *Epidemiol Infect*, 143(14):3074–3086. doi:10.1017/S0950268815000102
80. Juan J Carrique-Mas, Nguyen V. Trung, Ngo T. Hoa, Ho Huynh Mai, Tuyen H. Thanh, James I. Campbell, Jaap A. Wagenaar, Anita Hardon, Thai Quoc Hieu, Constance Schultsz, 2015, Antimicrobial usage in chicken production in the Mekong Delta of Vietnam, *Zoonoses and Public Health*, 62 Suppl 1(s1), 70–78, <https://doi.org/10.1111/ZPH.12165>.
81. Nguyen Thi Nhung, Nguyen Thi Bich Van, Nguyen Van Cuong, Truong Thi Quy Duong, Tran Thi Nhat, Tran Thi Thu Hang, Nguyen Thi Hong Nhi, Bach Tuan Kiet, Vo Be Hien, Pham Thi Ngoc, James Campbell, Guy Thwaites, Juan Carrique-Mas, 2018, Antimicrobial residues and resistance against critically important antimicrobials in non-typhoidal Salmonella from meat sold at wet markets and supermarkets in Vietnam, *International Journal of Food Microbiology*, 266, 301–309, <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2017.12.015>.
82. Niamh Holohan, Maximilian Wallat, Thi Hai Yen Luu, Eleanor Clark, Duong Thi Quy Truong, Sinh Dang Xuan, Hue Thi Kim Vu, Dung Van Truong, Hoang Tran Huy, Hung Nguyen-Viet, Fred Unger, Son Thi Thanh Dang and Richard A. Stabler, 2022, Analysis of Antimicrobial Resistance in Non-typhoidal Salmonella Collected From Pork Retail Outlets and Slaughterhouses in Vietnam Using Whole Genome Sequencing, *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 214, <https://doi.org/10.3389/FVETS.2022.816279/BIBTEX>
83. González-Santamarina, B., García-Soto, S., Dang-Xuan, S., Abdel-Glil, M. Y., Meemken, D., Fries, R., & Tomaso, H, 2021, Genomic Characterization of Multidrug-Resistant Salmonella Serovars Derby and Rissen From the Pig Value Chain in Vietnam, *Frontiers in Veterinary Science*, 8, <https://doi.org/10.3389/FVETS.2021.705044>.
84. Minh Ngoc Nghiem, Viet Thanh Nguyen, Thu Thi Hoai Nguyen, Ton Dang Nguyen, & Thuy Thi Bich Vo, 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), 85–94, <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.288>.

85. Simões M, Simões LC, Machado I, Pereira MO, Vieira MJ. Control of Flow-Generated Biofilms with Surfactants, 2006, Evidence of Resistance and Recovery. *Food and Bioproducts Processing*, 84(4):338-345. doi:10.1205/FBP06022
86. Randall, L. P., Cooles, S. W., Piddock, L. J. V., & Woodward, M. J, 2004, Effect of triclosan or a phenolic farm disinfectant on the selection of antibiotic-resistant *Salmonella enterica*, *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(3), 621–627, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKH376>.
87. Cetylpyridinium chloride direct spray treatments reduce *Salmonella* on cantaloupe rough surfaces – PMC, Accessed October 26, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6120480/>
88. Occurrence of QACE/QACE Δ 1 genes and their correlation with class 1 integrons in *Salmonella enterica* isolates from poultry and swine, Accessed October 26, 2023. https://www.researchgate.net/publication/5807133_Occurrence_of_QACEQACED1_genes_and_their_correlation_with_class_1_integrons_in_Salmonella_enterica_isolates_from_poultry_and_swine
89. McDonnell G, Russell AD, Operations L, Louis S, 1992, Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance, *Clin Microbiol Rev.*, 12(1):147-179.
90. Li D, Yu T, Zhang Y, et al, 2010, Antibiotic Resistance Characteristics of Environmental Bacteria from an Oxytetracycline Production Wastewater Treatment Plant and the Receiving River †, *Appl Environ Microbiol.*, 76(11):3444-3451. doi:10.1128/AEM.02964-09
91. Paulsen IT, Littlejohn TG, Radstrom P, et al, 1993, *S-221 00 Lund,3 and Pharmaceutical Microbiology*.
92. Mereghetti, L., Quentin, R., N, M.-V. D. M., & Audurier, A, 2000, Low Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to Quaternary Ammonium Compounds, *Applied and Environmental Microbiology*, 66(11), 5083–5086, <https://doi.org/10.1128/AEM.66.11.5083-5086.2000>.
93. Jostein, B., Terje, S., Bjørg, K., Steinar, W., Marianne, S., & Even, H, 2005, Widespread Distribution of Disinfectant Resistance Genes among *Staphylococci* of Bovine and Caprine Origin in Norway, *Journal of Clinical Microbiology*, 43(9), 4363–4368, <https://doi.org/10.1128/JCM.43.9.4363-4368.2005>.
94. Gerald, M., & Denver, R. A, 1999, Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 147–179, <https://doi.org/10.1128/CMR.12.1.147>.
95. Kazama, H., Hamashima, H., Sasatsu, M., & Arai, T, 1999, Characterization of the antiseptic-resistance gene *qacE Δ 1* isolated from clinical and environmental isolates of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* non-O1, *FEMS Microbiology Letters*, 174(2), 379–384, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13593.x>.

96. Paulsen, I. T., Littlejohn, T. G., Rådström, P., Sundström, L., Sköld, O., Swedberg, G., & Skurray, R. A, 1993, The 3' conserved segment of integrons contains a gene associated with multidrug resistance to antiseptics and disinfectants, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37(4), 761–768, <https://doi.org/10.1128/AAC.37.4.761>.
97. Meier, A. B., Guldemann, C., Markkula, A., Pöntinen, A., Korkeala, H., & Tasara, T, 2017, Comparative Phenotypic and Genotypic Analysis of Swiss and Finnish *Listeria monocytogenes* Isolates with Respect to Benzalkonium Chloride Resistance, *Frontiers in Microbiology*, 8(MAR), <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.00397>.
98. Quisno, R. ;, & Foter2, M. J. (n.d., *Cetyl pyridinium chloride' i. germicidal properties*, <https://journals.asm.org/journal/jb>
99. Lee Huyck, B. C, 1938, The Pharmacopoeia of the United States, Twelfth Revision, In *REFERENCES* (Vol. 27, Issue 1), Mack Printing Company.
100. Haps, S., Slot, D. E., Berchier, C. E., & Van der Weijden, G. A, 2008, The effect of cetylpyridinium chloride-containing mouth rinses as adjuncts to toothbrushing on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review, In *International journal of dental hygiene* (Vol. 6, Issue 4, pp. 290–303, <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2008.00344.x>.
101. Aoun, G., Cassia, A., & Berberi, A, 2015, Effectiveness of a chlorhexidine digluconate 0.12% and cetylpyridinium chloride 0.05% solution in eliminating *Candida albicans* colonizing dentures: A randomized clinical in vivo study, *Journal of Contemporary Dental Practice*, 16(6), 433–436, <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1702>
102. Van der Weijden, F. A., Van der Sluijs, E., Ciancio, S. G., & Slot, D. E, 2015, Can Chemical Mouthwash Agents Achieve Plaque/Gingivitis Control? In *Dental Clinics of North America* (Vol. 59, Issue 4, pp. 799–829), W.B. Saunders, <https://doi.org/10.1016/j.cden.2015.06.002>
103. Fluit, A. C., & Schmitz, F. J, 2004, Resistance integrons and super-integrons, In *Clinical Microbiology and Infection* (Vol. 10, Issue 4, pp. 272–288, Blackwell Publishing Ltd, <https://doi.org/10.1111/j.1198-743X.2004.00858.x>
104. Hsu, S.-C., Chiu, T.-H., Pang, J.-C., Hsuan-Yuan, C.-H., Chang, G.-N., & Tsen, H.-Y, 2006, Characterisation of antimicrobial resistance patterns and class 1 integrons among *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis strains isolated from humans and swine in Taiwan, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27(5), 383–391, <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.11.020>
105. Gradel, K. O., Randall, L., Sayers, A. R., & Davies, R. H, 2005, Possible associations between *Salmonella* persistence in poultry houses and resistance to commonly used disinfectants and a putative role of mar, *Veterinary Microbiology*, 107(1), 127–138, <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.01.013>.

106. Aminov, R. I., 2010, A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future. *Frontiers in Microbiology*, 1(DEC), <https://doi.org/10.3389/FMICB.2010.00134>
107. Ferri, M., Ranucci, E., Romagnoli, P., & Giaccone, V., 2017, Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2857–2876, <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1077192>
108. Canal, N., Meneghetti, K. L., De Almeida, C. P., Da Rosa Bastos, M., Otton, L. M., & Corção, G., 2016, Characterization of the variable region in the class 1 integron of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from surface water, *Brazilian Journal of Microbiology: [Publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 47(2), 337–344, <https://doi.org/10.1016/J.BJM.2016.01.015>
109. Ugboko, H., Sci, N. D.-I. J. C. M. A., & 2014, undefined. (n.d.), Mechanisms of Antibiotic resistance in *Salmonella typhi*, *Researchgate.Net*, Retrieved June 5, 2023, from https://www.researchgate.net/profile/Harriet-Ugboko/publication/321491731_Mechanisms_of_Antibiotic_resistance_in_Salmonella_typhi/links/5a256dbb4585155dd41fdf2d/Mechanisms-of-Antibiotic-resistance-in-Salmonella-typhi.pdf
110. Chancey, S. T., Zähler, D., & Stephens, D. S., 2012, Acquired inducible antimicrobial resistance in Gram-positive bacteria, *Future Microbiology*, 7(8), 959–978, <https://doi.org/10.2217/FMB.12.63>.
111. Mahon, C., Lehman, D., & Manuselis, G., 2018, *Textbook of diagnostic microbiology-e-book*, <https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=uGRgDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=N-87GErENk&sig=MqUEs4NrXRuS4XVO5V7sghL5FfI>
112. Castro-Vargas, R. E., Herrera-Sánchez, M. P., Rodríguez-Hernández, R., & Rondón-Barragán, I. S., 2020, Antibiotic resistance in *Salmonella* spp. isolated from poultry: A global overview. *Veterinary World*, 13(10), 2070–2084, <https://doi.org/10.14202/VETWORLD.2020.2070-2084>
113. Hawkey, P. M., 2003, Mechanisms of quinolone action and microbial response, *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51 Suppl 1(SUPPL. 1), 29–35, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKG207>
114. Redgrave, L. S., Sutton, S. B., Webber, M. A., & Piddock, L. J. V., 2014, Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success, *Trends in Microbiology*, 22(8), 438–445, <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2014.04.007>
115. Seth-Smith, H. M. B., Fookes, M. C., Okoro, C. K., Baker, S., Harris, S. R., Scott, P., Pickard, D., Quail, M. A., Churcher, C., Sanders, M., Harmse, J., Dougan, G., Parkhill, J., & Thomson, N. R., 2012, Structure, diversity, and mobility of the *Salmonella* pathogenicity island 7 family of integrative and conjugative elements within Enterobacteriaceae, *Journal of Bacteriology*, 194(6), 1494–1504, <https://doi.org/10.1128/JB.06403-11>

116. Silva, C., Wiesner, M., & Calv, E, 2012, The Importance of Mobile Genetic Elements in the Evolution of Salmonella: Pathogenesis, Antibiotic Resistance and Host Adaptation, *Salmonella - A Diversified Superbug*, <https://doi.org/10.5772/28024>.
117. Douard, G., Praud, K., Cloeckert, A., & Doublet, B, 2010, The Salmonella Genomic Island 1 Is Specifically Mobilized In Trans by the IncA/C Multidrug Resistance Plasmid Family, *PLOS ONE*, 5(12), e15302, <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0015302>
118. Le Hello, S., Weill, F. X., Guibert, V., Praud, K., Cloeckert, A., & Doublet, B, 2012, Early strains of multidrug-resistant Salmonella enterica serovar Kentucky sequence type 198 from Southeast Asia harbor Salmonella genomic island 1-J variants with a novel insertion sequence, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(10), 5096–5102, <https://doi.org/10.1128/AAC.00732-12>
119. Heuer, H., Abdo, Z., & Smalla, K, 2008, Patchy distribution of flexible genetic elements in bacterial populations mediates robustness to environmental uncertainty, *FEMS Microbiology Ecology*, 65(3), 361–371, <https://doi.org/10.1111/J.1574-6941.2008.00539.X>
120. Rodríguez, I., Rosario Rodicio, M., Guerra, B., & Hopkins, K. L, 2012, Potential international spread of multidrug-resistant invasive Salmonella enterica serovar enteritidis, *Emerging Infectious Diseases*, 18(7), 1173–1176, <https://doi.org/10.3201/EID1807.120063>
121. Lindsey, R. L., Fedorka-Cray, P. J., Frye, J. G., & Meinersmann, R. J, 2009, Inc A/C plasmids are prevalent in multidrug-resistant Salmonella enterica isolates, *Applied and Environmental Microbiology*, 75(7), 1908–1915, <https://doi.org/10.1128/AEM.02228-08>
122. Harmer, C. J., & Hall, R. M, 2015, The A to Z of A/C Plasmids, *Plasmid*, 80, 63–82, <https://doi.org/10.1016/J.PLASMID.2015.04.003>
123. Munita, J. M., & Arias, C. A, 2016, Mechanisms of Antibiotic Resistance, *Microbiology Spectrum*, 4(2), <https://doi.org/10.1128/MICROBIOLSPEC.VMBF-0016-2015>
124. Gillings, M. R, 2014a, Integrons: Past, Present, and Future, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(2), 257–277, <https://doi.org/10.1128/MMBR.00056-13>
125. Cambray, G., Guerout, A. M., & Mazel, D, 2010, Integrons, *Annual Review of Genetics*, 44, 141–166, <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-GENET-102209-163504>.
126. Pfeifer, Y., Cullik, A., & Witte, W, 2010, Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens, *International Journal of Medical Microbiology: IJMM*, 300(6), 371–379, <https://doi.org/10.1016/J.IJMM.2010.04.005>.
127. Bush, K., & Bradford, P. A, 2016, β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview, *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A025247>

128. Bush, K., & Jacoby, G. A, 2010, Updated functional classification of beta-lactamases, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969–976, <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
129. Kumar, S., Mukherjee, M. M., & Varela, M. F, 2013, Modulation of Bacterial Multidrug Resistance Efflux Pumps of the Major Facilitator Superfamily, *International Journal of Bacteriology*, 2013, 1–15, <https://doi.org/10.1155/2013/204141>.
130. Toth, M., Antunes, N. T., Stewart, N. K., Frase, H., Bhattacharya, M., Smith, C. A., & Vakulenko, S. B, 2016, Class D β -lactamases do exist in Gram-positive bacteria, *Nature Chemical Biology*, 12(1), 9–14, <https://doi.org/10.1038/NCHEMBIO.1950>
131. Bush, K, 2013, Proliferation and significance of clinically relevant β -lactamases, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1277(1), 84–90, <https://doi.org/10.1111/NYAS.12023>
132. A Méndez-Vilas, 2013, *Microbial pathogens and strategies... - Google Scholar*, Antimicrobial Resistance Mechanisms of Staphylococcus Aureus..
133. Schultsz, C., & Geerlings, S, 2012, Plasmid-mediated resistance in Enterobacteriaceae: changing landscape and implications for therapy, *Drugs*, 72(1), 1–16, <https://doi.org/10.2165/11597960-000000000-00000>
134. Bevan, E. R., Jones, A. M., & Hawkey, P. M, 2017, Global epidemiology of CTX-M β -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype, *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(8), 2145–2155, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKX146>
135. Lahlaoui, H., ben Haj Khalifa, A., & ben Moussa, M, 2014, Epidemiology of Enterobacteriaceae producing CTX-M type extended spectrum β -lactamase (ESBL), *Medecine et Maladies Infectieuses*, 44(9), 400–404, <https://doi.org/10.1016/J.MEDMAL.2014.03.010>
136. Thomson, K. S, 2010, Extended-spectrum-beta-lactamase, AmpC, and Carbapenemase issues, *Journal of Clinical Microbiology*, 48(4), 1019–1025, <https://doi.org/10.1128/JCM.00219-10>
137. Docquier, J. D., & Mangani, S, 2018, An update on β -lactamase inhibitor discovery and development, *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, 36, 13–29, <https://doi.org/10.1016/J.DRUP.2017.11.002>.
138. Bush, K, 2018, Game Changers: New β -Lactamase Inhibitor Combinations Targeting Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria, *ACS Infectious Diseases*, 4(2), 84–87, <https://doi.org/10.1021/ACSINFECDIS.7B00243>
139. Zhanel, G. G., Lawson, C. D., Adam, H., Schweizer, F., Zelenitsky, S., Lagacé-Wiens, P. R. S., Denisuik, A., Rubinstein, E., Gin, A. S., Hoban, D. J., Lynch, J. P., & Karlowsky, J. A, 2013, Ceftazidime-avibactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination, *Drugs*, 73(2), 159–177, <https://doi.org/10.1007/S40265-013-0013-7>.

140. Crump, J. A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M. A., & Parry, C. M., 2015, Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive Salmonella infections, *Clinical Microbiology Reviews*, 28(4), 901–937, <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-15/ASSET/5FBAC7E8-245D-4370-8573-8C44A949135F/ASSETS/GRAPHIC/ZCM0041525220003.JPEG>
141. CDC, 2019, *Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019*, CDC, www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2019.
142. Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., Jones, J. L., & Griffin, P. M., 2011, Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens, *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), 7–1., <https://doi.org/10.3201/EID1701.P11101>
143. FDA, 2015, *NARMS 2015 Integrated Report*, <https://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialRe>
144. Carattoli, A., 2003, Plasmid-Mediated Antimicrobial Resistance in Salmonella enterica, *Current Issues in Molecular Biology 2003, Vol. 5, Pages 113-122*, 5(4), 113–122, <https://doi.org/10.21775/CIMB.005.113>.
145. Carattoli, A., 2013, Plasmids and the spread of resistance, *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6–7), 298–304, <https://doi.org/10.1016/J.IJMM.2013.02.001>
146. Gillings, M. R., 2014b, Integrons: Past, Present, and Future, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(2), 257–277, <https://doi.org/10.1128/MMBR.00056-13/ASSET/566A4A73-114E-4004-9CFF-0B65FEC6CBFD/ASSETS/GRAPHIC/ZMR9990923590006.JPEG>
147. Conlan, S., Park, M., Deming, C., Thomas, P. J., Young, A. C., Coleman, H., Sison, C., Weingarten, R. A., Lau, A. F., Dekker, J. P., Palmore, T. N., Frank, K. M., & Segre, J. A., 2016, Plasmid dynamics in KPC-positive Klebsiella pneumoniae during long-term patient colonization. *MBio*, 7(3), https://doi.org/10.1128/MBIO.00742-16/SUPPL_FILE/MBO003162868ST2.PDF
148. Folster, J. P., Grass, J. E., Bicknese, A., Taylor, J., Friedman, C. R., & Whichard, J. M., 2017, Characterization of Resistance Genes and Plasmids from Outbreaks and Illness Clusters Caused by Salmonella Resistant to Ceftriaxone in the United States, 2011–2012, <https://Home.Liebertpub.Com/Mdr>, 23(2), 188–193, <https://doi.org/10.1089/MDR.2016.0080>
149. Tate, H., Folster, J. P., Hsu, C. H., Chen, J., Hoffmann, M., Li, C., Morales, C., Tyson, G. H., Mukherjee, S., Brown, A. C., Green, A., Wilson, W., Dessai, U., Abbott, J., Joseph, L., Haro, J., Ayers, S., McDermott, P. F., & Zhao, S., 2017, Comparative analysis of extended-spectrum- β -lactamase CTX-M-65-producing Salmonella enterica serovar Infantis isolates from humans, food animals, and retail chickens in the United States, *Antimicrobial Agents and*

- Chemotherapy*, 61(7), https://doi.org/10.1128/AAC.00488-17/SUPPL_FILE/ZAC007176332SD1.XLSX
150. Leão, C., Clemente, L., Moura, L., Seyfarth, A. M., Hansen, I. M., Hendriksen, R. S., & Amaro, A, 2021, Emergence and Clonal Spread of CTX-M-65-Producing *Escherichia coli* From Retail Meat in Portugal, *Frontiers in Microbiology*, 12, 1420, <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.653595/BIBTEX>
 151. Johnson, T. J., Thorsness, J. L., Anderson, C. P., Lynne, A. M., Foley, S. L., Han, J., Fricke, W. F., Mcdermott, P. F., White, D. G., Khatri, M., Stell, A. L., Flores, C., & Singer, R. S, 2010, Horizontal Gene Transfer of a ColV Plasmid Has Resulted in a Dominant Avian Clonal Type of *Salmonella enterica* Serovar Kentucky, *PLOS ONE*, 5(12), e15524, <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0015524>.
 152. Jain, P., Sudhanthirakodi, S., Chowdhury, G., Joshi, S., Anandan, S., Ray, U., Mukhopadhyay, A., & Dutta, S, 2018, Antimicrobial resistance, plasmid, virulence, multilocus sequence typing and pulsed-field gel electrophoresis profiles of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium clinical and environmental isolates from India, *PLOS ONE*, 13(12), e0207954, <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0207954>
 153. Novick, R. P, 1987, Plasmid Incompatibility, *MICROBIOLOGICAL REVIEWS*, 51(4), 381–395, <https://journals.asm.org/journal/mr>
 154. Carattoli, A., Bertini, A., Villa, L., Falbo, V., Hopkins, K. L., & Threlfall, E. J, 2005, Identification of plasmids by PCR-based replicon typing, *Journal of Microbiological Methods*, 63(3), 219–228, <https://doi.org/10.1016/J.MIMET.2005.03.018>
 155. Carattoli, A, 2009, Resistance Plasmid Families in Enterobacteriaceae, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(6), 2227–2238, <https://doi.org/10.1128/AAC.01707-08>.
 156. Hoffmann, M., Pettengill, J. B., Gonzalez-Escalona, N., Miller, J., Ayers, S. L., Zhao, S., Allard, M. W., McDermott, P. F., Brown, E. W., & Monday, S. R, 2017, Comparative sequence analysis of multidrug-resistant *incA/C* plasmids from *salmonella enterica*, *Frontiers in Microbiology*, 8(AUG), 1459, <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.01459/BIBTEX>.
 157. Tran-Dien, A., Le Hello, S., Bouchier, C., & Weill, F. X, 2018, Early transmissible ampicillin resistance in zoonotic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s: a retrospective, whole-genome sequencing study, *The Lancet Infectious Diseases*, 18(2), 207–214, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30705-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30705-3)
 158. Kaushik, M., Kumar, S., Kapoor, R. K., Viridi, J. S., & Gulati, P, 2018, Integrins in Enterobacteriaceae: diversity, distribution and epidemiology, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(2), 167–176, <https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2017.10.004>

159. Moura, A., Soares, M., Pereira, C., Leitão, N., Henriques, I., & Correia, A, 2009, INTEGRALL: A database and search engine for integrons, integrases and gene cassettes, *Bioinformatics*, 25(8), 1096–1098, <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTP105>
160. Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N., & Jensen, S. O, 2018, Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4), <https://doi.org/10.1128/CMR.00088-17>
161. Hensel, M, 2004, Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella enterica*, *International Journal of Medical Microbiology*, 294(2–3), 95–102, <https://doi.org/10.1016/J.IJMM.2004.06.025>
162. Rychlik, I., Karasova, D., Sebkova, A., Volf, J., Sisak, F., Havlickova, H., Kummer, V., Imre, A., Szmolka, A., & Nagy, B, 2009, Virulence potential of five major pathogenicity islands (SPI-1 to SPI-5) of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis for chickens, *BMC Microbiology*, 9, <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-268>.
163. Suez, J., Porwollik, S., Dagan, A., Marzel, A., Schorr, Y. I., Desai, P. T., Agmon, V., McClelland, M., Rahav, G., & Gal-Mor, O, 2013, Virulence Gene Profiling and Pathogenicity Characterization of Non-Typhoidal *Salmonella* Accounted for Invasive Disease in Humans. *PLoS ONE*, 8(3), <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0058449>.
164. Amavisit, P., Lightfoot, D., Browning, G. F., & Markham, P. F, 2003, Variation between pathogenic serovars within *Salmonella* pathogenicity islands, *Journal of Bacteriology*, 185(12), 3624–3635, <https://doi.org/10.1128/JB.185.12.3624-3635.2003>
165. Groisman, E. A., O'Connor, C. D., & Qi, S. Y, 1996, Bacterial responses to host-defense peptides, *Trends in Microbiology*, 4(4), 127–128, [https://doi.org/10.1016/0966-842X\(96\)30013-9](https://doi.org/10.1016/0966-842X(96)30013-9).
166. Sabbagh, S. C., Forest, C. G., Lepage, C., Leclerc, J. M., & Daigle, F, 2010, So similar, yet so different: Uncovering distinctive features in the genomes of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Typhi, *FEMS Microbiology Letters*, 305(1), 1–13, <https://doi.org/10.1111/J.1574-6968.2010.01904.X>
167. Marcus, S. L., Brumell, J. H., Pfeifer, C. G., & Finlay, B. B, 2000, *Salmonella* pathogenicity islands: Big virulence in small packages, *Microbes and Infection*, 2(2), 145–156, [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)00273-2](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00273-2)
168. Blondel, C. J., Jiménez, J. C., Contreras, I., & Santiviago, C. A, 2009, Comparative genomic analysis uncovers 3 novel loci encoding type six secretion systems differentially distributed in *Salmonella* serotypes, *BMC Genomics*, 10, <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-354>
169. Hayward, M. R., AbuOun, M., La Ragione, R. M., Tchórzewska, M. A., Cooley, W. A., Everest, D. J., Petrovska, L., Jansen, V. A. A., & Woodward, M. J, 2014, SPI-23 of *S. Derby*: Role in adherence and invasion of porcine tissues, *PLoS ONE*, 9(9), <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0107857>

170. Fookes, M., Schroeder, G. N., Langridge, G. C., Blondel, C. J., Mammina, C., Connor, T. R., Seth-Smith, H., Vernikos, G. S., Robinson, K. S., Sanders, M., Petty, N. K., Kingsley, R. A., Bäumlner, A. J., Nuccio, S. P., Contreras, I., Santiviago, C. A., Maskell, D., Barrow, P., Humphrey, T., ... Thomson, N. R., 2011, *Salmonella bongori* provides insights into the evolution of the salmonellae, *PLoS Pathogens*, 7(8), <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1002191>
171. Hsu, C. H., Li, C., Hoffmann, M., McDermott, P., Abbott, J., Ayers, S., Tyson, G. H., Tate, H., Yao, K., Allard, M., & Zhao, S, 2019, Comparative genomic analysis of virulence, antimicrobial resistance, and plasmid profiles of salmonella Dublin isolated from sick cattle, retail beef, and humans in the United States, *Microbial Drug Resistance*, 25(8), 1238–1249, <https://doi.org/10.1089/MDR.2019.0045>.
172. *Laboratory Guidebook Notice of Change Title: Isolation and Identification of Salmonella from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, and Siluriformes (Fish) Products and Carcass and Environmental Sponges*, (n.d)..
173. Biomerieux, (n.d.), *Workflow User Manual*, 33(0).
174. World, H. O, 2018, *Susceptibility testing of Enterobacteriaceae using disk diffusion*.
175. *M100-S25 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement An informational supplement for global application developed through the Clinical and Laboratory Standards Institute consensus process*, 2015, www.clsi.org
176. Clinical, and L. S. I, 2018, *PerforCLSI, 2018, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, Clinical and Laboratory Standards Institute, Retrieved from www.clsi.org *mance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, In *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*.
177. Skov, R., & Skov, G, 2012, *EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and / or epidemiological importance, December*, 1–47
178. PureLink ® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA
179. Next-Generation Sequencing (NGS) | Explore the technology, Accessed October 26, 2023. <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing.html>
180. *Sequencing Platforms | Illumina NGS platforms*, (n.d.), Retrieved May 16, 2023, from <https://www.illumina.com/systems/sequencing-platforms.html>
181. *Center for Genomic Epidemiology*, (n.d.), Retrieved October 17, 2022, from <https://www.genomicepidemiology.org/>
182. *Galaxy*, (n.d.), Retrieved October 17, 2022, from <https://usegalaxy.org/>.
183. Anhalt, J. P., & Fenselau, C, 1975, Identification of Bacteria using Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry*, 47(2), 219–225, https://doi.org/10.1021/AC60352A007/ASSET/AC60352A007.FP.PNG_V03

184. Stamatakis, A., 2014, RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies, *Bioinformatics*, *30*(9), 1312–1313, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>.
185. Yoshida, C. E., Kruczkiewicz, P., Laing, C. R., Lingohr, E. J., Gannon, V. P. J., & Nash, J. H. E., 2016, The Salmonella In Silico Typing Resource (SISTR): An Open Web-Accessible Tool for Rapidly Typing and Subtyping Draft Salmonella Genome Assemblies, *PLoS ONE*, *11*(1), 147101, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147101>.
186. Vu Minh Duc, Yuko Nakamoto, Ayaka Fujiwara, Hajime Toyofuku, Takeshi Obi & Takehisa Chuma, 2019, Prevalence of Salmonella in broiler chickens in Kagoshima, Japan in 2009 to 2012 and the relationship between serovars changing and antimicrobial resistance, *BMC Veterinary Research*, *15*(1), <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1836-6>.
187. Nghiem, M. N., Nguyen, V. T., Jeung, E. B., & Vo, T. T. B., 2019, Alternate antimicrobial resistance genes in multidrug resistant Salmonella spp. isolated from retail meats in Vietnam using RNA-sequencing analysis, *Journal of Food Safety*, *39*(6), e12707, <https://doi.org/10.1111/JFS.12707>.
188. Chen, Z., Bai, J., Zhang, X., Wang, S., Chen, K., Lin, Q., Xu, C., Qu, X., Zhang, H., Liao, M., & Zhang, J., 2021, Highly prevalent multidrug resistance and QRDR mutations in Salmonella isolated from chicken, pork and duck meat in Southern China, 2018–2019, *International Journal of Food Microbiology*, *340*, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109055>.
189. Nguyen, T. K., Nguyen, L. T., Chau, T. T. H., Nguyen, T. T., Tran, B. N., Taniguchi, T., Hayashidani, H., & Ly, K. T. L., 2021, Prevalence and antibiotic resistance of Salmonella isolated from poultry and its environment in the Mekong Delta, Vietnam, *Veterinary World*, *14*(12), 3216, <https://doi.org/10.14202/VETWORLD.2021.3216-3223>.
190. Chen, Z., Bai, J., Wang, S., Zhang, X., Zhan, Z., Shen, H., Zhang, H., Wen, J., Gao, Y., Liao, M., & Zhang, J., 2020, Prevalence, Antimicrobial Resistance, Virulence Genes and Genetic Diversity of Salmonella Isolated from Retail Duck Meat in Southern China, *Microorganisms*, *8*(3), <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8030444>
191. Li, R., Lai, J., Wang, Y., Liu, S., Li, Y., Liu, K., Shen, J., & Wu, C., 2013, Prevalence and characterization of Salmonella species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province, China, *International Journal of Food Microbiology*, *163*(1), 14–18, <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2013.01.020>.
192. Zhang, L., Fu, Y., Xiong, Z., Ma, Y., Wei, Y., Qu, X., Zhang, H., Zhang, J., & Liao, M., 2018, Highly Prevalent Multidrug-Resistant Salmonella From Chicken and Pork Meat at Retail Markets in Guangdong, China, *Frontiers in Microbiology*, *9*(SEP), <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.02104>
193. 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*, 61(1), 23–33, <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12462>.
194. Nghiem, M. N., Nguyen, V. T., Jeung, E. B., & Vo, T. T. B, 2019, Alternate antimicrobial resistance genes in multidrug resistant Salmonella spp. isolated from retail meats in Vietnam using RNA-sequencing analysis, *Journal of Food Safety*, 39(6), <https://doi.org/10.1111/jfs.12707>
 195. Khan, A. S., Georges, K., Rahaman, S., Abdela, W., & Adesiyun, A. A, 2018, Prevalence and serotypes of Salmonella spp. on chickens sold at retail outlets in Trinidad, *PLoS ONE*, 13(8), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202108>.
 196. Emanuella, E. da S., Elisângela, de S. L., Régis, S. de C. T., Átilla, H. de A., Roberta, C. da R. e S., Valdez, J. R. G. F., Ruben, H. V., & William, C. M, 2014, Survey of Enterobacteriaceae in domestic ducks (*Cairina moschata*) from properties located in four cities of the state of Ceará, Brazil. *Arquivos Do Instituto Biológico*
 197. WHO, 2015, *Who estimates of the global burden of foodborne diseases*. www.who.int
 198. Trần Thị Nhật, Trương Thị Quý Dương, Trương Thị Hương Giang, Vũ Kim Huệ, & Đặng Thị Thanh Sơn, 2019, Quan điểm của nghiên cứu tỷ lệ nhiễm và mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn salmonella được phân lập từ thịt lợn, thịt gà ở Hà Nội, Bắc Ninh và Nghệ An, *Khoa Học Kỹ Thuật Thú Y*, XXVI (5), <https://vjol.info.vn/index.php/kk-ty/article/view/52193/42976>
 199. Nguyen, K. van, Thi Do, N. T., Chandna, A., Nguyen, T. V., Pham, C. van, Doan, P. M., Nguyen, A. Q., Thi Nguyen, C. K., Larsson, M., Escalante, S., Olowokure, B., Laxminarayan, R., Gelband, H., Horby, P., Thi Ngo, H. B., Hoang, M. T., Farrar, J., Hien, T. T., & Wertheim, H. F, 2013, Antibiotic use and resistance in emerging economies: a situation analysis for Viet Nam, *BMC Public Health*, 13(1), 1158, <https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-1158>.
 200. WHO, 2014, *Antimicrobial resistance Global Report on Surveillance*
 201. Wassenaar, T., Ussery, D., Nielsen, L., & Ingmer, H, 2015a, Review and phylogenetic analysis of qac genes that reduce susceptibility to quaternary ammonium compounds in Staphylococcus species, *European Journal of Microbiology & Immunology*, 5(1), 44–61, <https://doi.org/10.1556/EUJMI-D-14-00038>.
 202. Chuanchuen, R., Khemtong, S., & Padungtod, P, 2007, Occurrence of qacE/qacEDelta1 genes and their correlation with class 1 integrons in salmonella enterica isolates from poultry and swine – PubMed, *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18041302/>
 203. Kucken, D., Feucht, H.-H., & Kaulfers, P.-M, 2000, Association of qacE and qacEΔ1 with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-negative bacteria, *FEMS Microbiology Letters*, 183(1), 95–98, <https://doi.org/10.1111/J.1574-6968.2000.TB08939.X>

204. Obe, T., Nannapaneni, R., Schilling, W., Zhang, L., & Kiess, A, 2021, Antimicrobial tolerance, biofilm formation, and molecular characterization of Salmonella isolates from poultry processing equipment, *Journal of Applied Poultry Research*, 30(4), 100195, <https://doi.org/10.1016/J.JAPR.2021.100195>.
205. Rungtip Chuanchuen, Sirintip Khemtong, & Pawin Padungtod, 2007, Occurrence of QACE/QACE Δ 1 genes and their correlation with class 1 integrons in Salmonella enterica isolates from poultry and swine, *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 38(5), 855–862, https://www.researchgate.net/publication/5807133_Occurrence_of_QACEQA_CED1_genes_and_their_correlation_with_class_1_integrons_in_Salmonella_enterica_isolates_from_poultry_and_swine#fullTextFileContent
206. Humayoun, S. B., Hiott, L. M., Gupta, S. K., Barrett, J. B., Woodley, T. A., Johnston, J. J., Jackson, C. R., & Frye, J. G, 2018, An assay for determining the susceptibility of Salmonella isolates to commercial and household biocides, *PLoS ONE*, 13(12), <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0209072>
207. Kim, J. W., & Slavik, M. F, 1996, Cetylpyridinium Chloride (CPC) Treatment on Poultry Skin To Reduce Attached Salmonella, *Journal of Food Protection*, 59(3), 322–327, <https://doi.org/10.4315/0362-028X-59.3.322>
208. Saucedo-Alderete, R. O., Eifert, J. D., Boyer, R. R., Williams, R. C., & Welbaum, G. E, 2018, Cetylpyridinium chloride direct spray treatments reduce Salmonella on cantaloupe rough surfaces, *Journal of Food Safety*, 38(4), <https://doi.org/10.1111/JFS.12471>
209. Randall, L. P., Cooles, S. W., Piddock, L. J. V., & Woodward, M. J, 2004c, Effect of triclosan or a phenolic farm disinfectant upon the selection of antibiotic resistant Salmonella enterica, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(3), 621–627, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKH376>
210. Wassenaar, T., Ussery, D., Nielsen, L., & Ingmer, H, 2015, Review and phylogenetic analysis of qac genes that reduce susceptibility to quaternary ammonium compounds in Staphylococcus species, *European Journal of Microbiology & Immunology*, 5(1), 44–61, <https://doi.org/10.1556/EUJMI-D-14-00038>.
211. Kücken, D., Feucht, H.-H., & Kaulfers, P.-M, 2000, Association of qacE and qacE $\hat{1}$ with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-negative bacteria, *FEMS Microbiology Letters*, 183(1), 95–98, <https://doi.org/10.1111/J.1574-6968.2000.TB08939.X>
212. Frank, J. F, 2001, Microbial attachment to food and food contact surfaces, *Advances in Food and Nutrition Research*, 43(C), 319–370, [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(01\)43008-7](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(01)43008-7).
213. Olliver, A., Vallé, M., Chaslus-Dancla, E., & Cloeckaert, A, 2005, Overexpression of the multidrug efflux operon acrEF by insertional activation with IS1 or IS10 elements in Salmonella enterica serovar typhimurium DT204 acrB mutants selected with fluoroquinolones, *Antimicrobial Agents and*

- Chemotherapy*, 49(1), 289–301, <https://doi.org/10.1128/AAC.49.1.289-301.2005>
214. Baucheron, S., Tyler, S., Boyd, D., Mulvey, M. R., Chaslus-Dancla, E., & Cloeckaert, A, 2004, AcrAB-TolC directs efflux-mediated multidrug resistance in *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT104, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(10), 3729–3735, <https://doi.org/10.1128/AAC.48.10.3729-3735.2004>
 215. Levy, S. B, 2002, Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance, *Journal of Applied Microbiology*, 92(s1), 65S-71S, <https://doi.org/10.1046/J.1365-2672.92.5S1.4.X>.
 216. Randall, L. P., Cooles, S. W., Piddock, L. J. V., & Woodward, M. J, 2004, Effect of triclosan or a phenolic farm disinfectant on the selection of antibiotic-resistant *Salmonella enterica*, *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(3), 621–627, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKH376>.
 217. Paz-Méndez, A. M., Lamas, A., Vázquez, B., Miranda, J. M., Cepeda, A., & Franco, C. M, 2017, Effect of Food Residues in Biofilm Formation on Stainless Steel and Polystyrene Surfaces by *Salmonella enterica* Strains Isolated from Poultry Houses, *Foods 2017*, Vol. 6, Page 106, 6(12), 106, <https://doi.org/10.3390/FOODS6120106>
 218. Zogaj, X., Nimitz, M., Rohde, M., Bokranz, W., & Römling, U, 2001, The multicellular morphotypes of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* produce cellulose as the second component of the extracellular matrix, *Molecular Microbiology*, 39(6), 1452–1463, <https://doi.org/10.1046/J.1365-2958.2001.02337.X>
 219. Quijada, N. M., Rodríguez-Lázaro, D., Eiros, J. M., & Hernández, M, 2019, TORMES: An automated pipeline for whole bacterial genome analysis, *Bioinformatics*, 35(21), 4207–4212, <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTZ220>
 220. Yoshida, C. E., Kruczkiewicz, P., Laing, C. R., Lingohr, E. J., Gannon, V. P. J., & Nash, J. H. E, 2016, The *Salmonella* In Silico Typing Resource (SISTR): An Open Web-Accessible Tool for Rapidly Typing and Subtyping Draft *Salmonella* Genome Assemblies, *PLoS ONE*, 11(1), 147101, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147101>
 221. Yan, S., Zhang, W., Li, C., Liu, X., Zhu, L., Chen, L., & Yang, B, 2021, Serotyping, MLST, and Core Genome MLST Analysis of *Salmonella enterica* From Different Sources in China During 2004–2019, *Frontiers in Microbiology*, 12, Cosentino, S., Voldby Larsen, M., Møller Aarestrup, F., & Lund, O, 2013, PathogenFinder--distinguishing friend from foe using bacterial whole genome sequence data, *PloS One*, 8(10), <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0077302>
 223. Carattoli, A., Zankari, E., Garcíá-Fernández, A., Larsen, M. V., Lund, O., Villa, L., Aarestrup, F. M., & Hasman, H, 2014a, In Silico detection and typing of plasmids using plasmidfinder and plasmid multilocus sequence typing,

- Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(7), 3895–3903, <https://doi.org/10.1128/AAC.02412-14>
224. 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, In *Tạp chí Công nghệ Sinh học* (Vol. 16, Issue 3)
225. Rampersad, J., Johnson, J., Brown, G., Samlal, M., & Ammons, D, 2008, Comparison of polymerase chain reaction and bacterial culture for Salmonella detection in the Muscovy duck in Trinidad and Tobago, *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*, 23(4).
226. Nguyễn Thanh Việt, Nghiêm Ngọc Minh, & Võ Thị Bích Thủy, 2018, Determination of antibiotic resistance of salmonella isolated from pork, beef, and chicken meat at the retail markets in Hanoi, *Vietnam Journal of Biotechnology*, 16(3), 553–564.
227. Johansson, M. H. K., Bortolaia, V., Tansirichaiya, S., Aarestrup, F. M., Roberts, A. P., & Petersen, T. N, 2021, Detection of mobile genetic elements associated with antibiotic resistance in Salmonella enterica using a newly developed web tool: MobileElementFinder, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 76(1), 101–109, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKAA390>
228. Villa, L., García-Fernández, A., Fortini, D., & Carattoli, A, 2010a, Replicon sequence typing of IncF plasmids carrying virulence and resistance determinants, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(12), 2518–2529, <https://doi.org/10.1093/JAC/DKQ347>
229. Kondratyeva, K., Salmon-Divon, M., & Navon-Venezia, S, 2020, Meta-analysis of Pandemic Escherichia coli ST131 Plasmidome Proves Restricted Plasmid-clade Associations, *Scientific Reports 2020 10:1*, 10(1), 1–11, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56763-7>
230. Matsuo, N., Nonogaki, R., Hayashi, M., Wachino, J. I., Suzuki, M., Arakawa, Y., & Kawamura, K, 2020, Characterization of blaCTX-M-27/F1:A2:b20 plasmids harbored by escherichia coli sequence type 131 sublineage C1/H30R isolates spreading among elderly japanese in nonacute-care settings, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(5), https://doi.org/10.1128/AAC.00202-20/SUPPL_FILE/AAC.00202-20-SD002.XLSX
231. Ruggiero, M., Girlich, D., Dabos, L., Power, P., Naas, T., & Gutkind, G, 2018, Complete sequence of the IncA/C 1 plasmid pCf587 carrying bla PER-2 from citrobacter freundii, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(5), <https://doi.org/10.1128/AAC.00006-18>
232. Hedges, R. W., & Jacob, A. E, 1975, A 98 megadalton R factor of compatibility group C in a Vibrio cholerae El Tor isolate from southern U.S.S.R, *Journal of General Microbiology*, 89(2), 383–386, <https://doi.org/10.1099/00221287-89-2-383>

233. Welch, T. J., Fricke, W. F., McDermott, P. F., White, D. G., Rosso, M. L., Rasko, D. A., Mammel, M. K., Eppinger, M., Rosovitz, M. J., Wagner, D., Rahalison, L., LeClerc, J. E., Hinshaw, J. M., Lindler, L. E., Cebula, T. A., Carniel, E., & Ravel, J, 2007, Multiple antimicrobial resistance in plague: an emerging public health risk, *PloS One*, 2(3), <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0000309>
234. Bauernfeind, A., Stemplinger, I., Jungwirth, R., & Giamarellou, H, 1996, Characterization of the plasmidic beta-lactamase CMY-2, which is responsible for cephamycin resistance, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(1), 221–224, <https://doi.org/10.1128/AAC.40.1.221>
235. Wang, Y., Sun, X., Kong, F., Xia, L., Deng, X., Wang, D., & Wang, J, 2020, Specific NDM-1 Inhibitor of Isoliquiritin Enhances the Activity of Meropenem against NDM-1-positive Enterobacteriaceae in vitro, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(6), <https://doi.org/10.3390/IJERPH17062162>
236. Chen, W., Fang, T., Zhou, X., Zhang, D., Shi, X., & Shi, C, 2016, IncHI2 Plasmids Are Predominant in Antibiotic-Resistant Salmonella Isolates, *Frontiers in Microbiology*, 7(SEP), 1566, <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.01566>
237. Aoki, K., Harada, S., Yahara, K., Ishii, Y., Motooka, D., Nakamura, S., Akeda, Y., Iida, T., Tomono, K., Iwata, S., Moriya, K., & Tateda, K, 2018, Molecular Characterization of IMP-1-Producing Enterobacter cloacae Complex Isolates in Tokyo, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(3), <https://doi.org/10.1128/AAC.02091-17>
238. Ferjani, S., Saidani, M., Maamar, E., Harbaoui, S., Hamzaoui, Z., Hosni, H., Amine, F. S., & Boubaker, I. B. ben, 2018, Escherichia coli colonizing healthy children in Tunisia: High prevalence of extra-intestinal pathovar and occurrence of non-extended-spectrum- β -lactamase-producing ST131 clone, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(6), 878–885., <https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2018.07.015>
239. Paskova, V., Medvecký, M., Skalová, A., Chudejová, K., Bitar, I., Jakub, V., Bergerová, T., Zemlicková, H., Papagiannitsis, C. C., & Hrabak, J, 2018, Characterization of NDM-Encoding Plasmids From Enterobacteriaceae Recovered From Czech Hospitals, *Frontiers in Microbiology*, 9(JUL)., <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.01549>
240. Carattoli, A., Seiffert, S. N., Schwendener, S., Perreten, V., & Endimiani, A, 2015, Differentiation of IncL and IncM Plasmids Associated with the Spread of Clinically Relevant Antimicrobial Resistance, *PLoS ONE*, 10(5), <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0123063>
241. Wang, Y., Tian, G. B., Zhang, R., Shen, Y., Tyrrell, J. M., Huang, X., Zhou, H., Lei, L., Li, H. Y., Doi, Y., Fang, Y., Ren, H., Zhong, L. L., Shen, Z., Zeng, K. J., Wang, S., Liu, J. H., Wu, C., Walsh, T. R., & Shen, J, 2017, Prevalence, risk factors, outcomes, and molecular epidemiology of mcr-1-positive

- Enterobacteriaceae in patients and healthy adults from China: an epidemiological and clinical study, *The Lancet Infectious Diseases*, 17(4), 390–399, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30527-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30527-8)
242. Sun, J., Yang, R. S., Zhang, Q., Feng, Y., Fang, L. X., Xia, J., Li, L., Lv, X. Y., Duan, J. H., Liao, X. P., & Liu, Y. H., 2016, Co-transfer of blaNDM-5 and mcr-1 by an IncX3-X4 hybrid plasmid in Escherichia coli, *Nature Microbiology*, 1, <https://doi.org/10.1038/NMICROBIOL.2016.176>
243. Brauer, A., Telling, K., Laht, M., Kalmus, P., Lutsar, I., Remm, M., Kisand, V., & Tenson, T., 2016, Plasmid with colistin resistance gene mcr-1 in extended-spectrum- β -Lactamase-producing Escherichia coli strains isolated from pig slurry in Estonia, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(11), 6933–6936, <https://doi.org/10.1128/AAC.00443-16>.
244. Chen, L., Chavda, K. D., Fraimow, H. S., Mediavilla, J. R., Melano, R. G., Jacobs, M. R., Bonomo, R. A., & Kreiswirth, B. N., 2013, Complete nucleotide sequences of blaKPC-4- and bla KPC-5-harboring incn and IncX plasmids from Klebsiella pneumoniae strains isolated in New Jersey, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(1), 269–276, <https://doi.org/10.1128/AAC.01648-12>.
245. Du, H., Chen, L., Chavda, K. D., Pandey, R., Zhang, H., Xie, X., Tang, Y. W., & Kreiswirth, B. N., 2016, Genomic characterization of Enterobacter cloacae isolates from China that coproduce KPC-3 and NDM-1 carbapenemases, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(4), 2519–2523, <https://doi.org/10.1128/AAC.03053-15>
246. Carattoli, A., Zankari, E., Garcíá-Fernández, A., Larsen, M. V., Lund, O., Villa, L., Aarestrup, F. M., & Hasman, H., 2014a, In Silico detection and typing of plasmids using plasmidfinder and plasmid multilocus sequence typing, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(7), 3895–3903, <https://doi.org/10.1128/AAC.02412-14>.
247. Johnson, T. J., Bielak, E. M., Fortini, D., Hansen, L. H., Hasman, H., Debroy, C., Nolan, L. K., & Carattoli, A., 2012, Expansion of the IncX plasmid family for improved identification and typing of novel plasmids in drug-resistant Enterobacteriaceae, *Plasmid*, 68(1), 43–50, <https://doi.org/10.1016/J.PLASMID.2012.03.001>
248. Norman, A., Hansen, L. H., She, Q., & Sørensen, S. J., 2008, Nucleotide sequence of pOLA52: A conjugative IncX1 plasmid from Escherichia coli which enables biofilm formation and multidrug efflux, *Plasmid*, 60(1), 59–74, <https://doi.org/10.1016/J.PLASMID.2008.03.003>
249. Lou, L., Zhang, P., Piao, R., & Wang, Y., 2019, Salmonella Pathogenicity Island 1 (SPI-1) and Its Complex Regulatory Network, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9, 270, <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2019.00270/XML/NLM>
250. Figueira, R., & Holden, D. W., 2012, Functions of the Salmonella pathogenicity island 2 (SPI-2) type III secretion system effectors, *Microbiology*, 158(5), 1147–1161, <https://doi.org/10.1099/MIC.0.058115-0>

251. Kiss, T., Morgan, E., & Nagy, G, 2007, Contribution of SPI-4 genes to the virulence of *Salmonella enterica*, *FEMS Microbiology Letters*, 275(1), 153–159, <https://doi.org/10.1111/J.1574-6968.2007.00871.X>
252. Cao, G., Allard, M., Strain, E., Stones, R., Zhao, S., Brown, E., & Meng, J, 2014, Genetic diversity of *Salmonella* pathogenicity islands SPI-5 and SPI-6 in *Salmonella newport*, *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(10), 798–807, <https://doi.org/10.1089/FPD.2014.1784>
253. Hancock, V., Ferrières, L., & Klemm, P, 2008, The ferric yersiniabactin uptake receptor FyuA is required for efficient biofilm formation by urinary tract infectious *Escherichia coli* in human urine, *Microbiology (Reading, England)*, 154(Pt 1), 167–175, <https://doi.org/10.1099/MIC.0.2007/011981-0>
254. Pelludat, C., Rakin, A., Jacobi, C. A., Schubert, S., & Heesemann, J, 1998, The yersiniabactin biosynthetic gene cluster of *Yersinia enterocolitica*: Organization and siderophore-dependent regulation, *Journal of Bacteriology*, 180(3), 538–546, <https://doi.org/10.1128/JB.180.3.538-546.1998>
255. Agüero, M. E., Aron, L., Deluca, A. G., Timmis, K. N., & Cabello, F. C, 1984, A plasmid-encoded outer membrane protein, TraT, enhances resistance of *Escherichia coli* to phagocytosis, *Infection and Immunity*, 46(3), 740, <https://doi.org/10.1128/IAI.46.3.740-746.1984>
256. Montenegro, M. A., Bitter-Suermann, D., Timmis, J. K., Agüero, M. E., Cabello, F. C., & Sanyal, S. C, 1985, traT gene sequences, serum resistance and pathogenicity-related factors in clinical isolates of *Escherichia coli* and other gram-negative bacteria, *Journal of General Microbiology*, 131(6), 1511–1521, <https://doi.org/10.1099/00221287-131-6-1511/CITE/REFWORKS>
257. Maluta, R. P., Leite, J. L., Rojas, T. C. G., Scaletsky, I. C. A., Guastalli, E. A. L., Ramos, M. de C., & da Silveira, W. D, 2017, Variants of astA gene among extra-intestinal *Escherichia coli* of human and avian origin, *FEMS Microbiology Letters*, 364(6), 285, <https://doi.org/10.1093/FEMSLE/FNW285>.
258. Ménard, L. P., & Dubreuil, J. D, 2002, Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 (EAST1): a new toxin with an old twist, *Critical Reviews in Microbiology*, 28(1), 43–60, <https://doi.org/10.1080/1040-840291046687>
259. Anantharaman, V., Iyer, L. M., & Aravind, L, 2012, Ter-dependent stress response systems: novel pathways related to metal sensing, production of a nucleoside-like metabolite, and DNA-processing, *Molecular BioSystems*, 8(12), 3142–3165, <https://doi.org/10.1039/C2MB25239B>
260. Turkovicova, L., Smidak, R., Jung, G., Turna, J., Lubec, G., & Aradska, J, 2016, Proteomic analysis of the TerC interactome: Novel links to tellurite resistance and pathogenicity, *Journal of Proteomics*, 136, 167–173, <https://doi.org/10.1016/J.JPROT.2016.01.003>

PHỤ LỤC

Phụ lục I: Bảng kết quả phát hiện *Salmonella* trong mẫu gia cầm

STT	Tên	Mã mẫu	Quận	Thời gian thu mẫu	Kết quả (USDA MLG 4.10)	Maldi TOF	Mã chủng
1	Gà	092019/GS.100	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S001
2	Gà	092019/GS.101	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S002
3	Gà	092019/GS.102	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S003
4	Gà	092019/GS.103	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S005
5	Gà	092019/GS.104	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S006
6	Gà	092019/GS.105	Cầu Giấy	T9/ 2019	Dương tính	+	S007
7	Gà	092019/GS.107	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S008
8	Gà	092019/GS.109	Ba Đình	T9/2019	Dương tính	+	S010
9	Gà	092019/GS.111	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S014
10	Gà	092019/GS.112	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S012
11	Gà	092019/GS.113	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S013
12	Gà	092019/GS.115	Ba Đình	T9/2019	Dương tính	+	S015
13	Gà	092019/GS.117	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S016
14	Gà	092019/GS.118	Cầu Giấy	T9/2019	Dương tính	+	S019
15	Gà	102019/GS.120	Cầu Giấy	T10/2019	Dương tính	+	S021
16	Gà	102019/GS.122	Cầu Giấy	T10/2019	Dương tính	+	S018
17	Gà	102019/GS.123	Cầu Giấy	T10/2019	Dương tính	+	S171
18	Gà	102019/GS.124	Cầu Giấy	T10/2019	Dương tính	+	S025
19	Gà	102019/GS.127	Cầu Giấy	T10/2019	Dương tính	+	S022
20	Gà	102019/GS.128	Cầu Giấy	T10/2019	Dương tính	+	S023

21	Vịt	102019/GS.130	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S031
22	Ngan	102019/GS.131	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S032
23	Vịt	102019/GS.133	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S024
24	Vịt	102019/GS.134	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S028
25	Vịt	102019/GS.135	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S029
26	Ngan	102019/GS.136	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S037
27	Vịt	102019/GS.137	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S030
28	Vịt	102019/GS.140	Cầu Giấy	T10/2019	Dương tính	+	S034
29	Vịt	102019/GS.142	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S042
30	Vịt	102019/GS.145	Cầu Giấy	T10/2019	Dương tính	+	S043
31	Gà	102019/GS.150	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S035
32	Vịt	102019/GS.151	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S045
33	Gà	102019/GS.147	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S038
34	Gà	102019/GS.148	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S040
35	Gà	102019/GS.149	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S047
36	Vịt	102019/GS.143	Cầu Giấy	T10/2019	Dương tính	+	S051
37	Gà	102019/GS.152	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S052
38	Gà	102019/GS.153	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S048
39	Gà	102019/GS.156	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S056
40	Vịt	102019/GS.157	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S057
41	Gà	102019/GS.155	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S049
42	Vịt	102019/GS.160	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S060
43	Gà	102019/GS.161	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S061
44	Vịt	102019/GS.160	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S050
45	Gà	102019/GS.163	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S064
46	Gà	102019/GS.164	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S053
47	Gà	102019/GS.165	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S055

48	Vịt	102019/GS.166	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S059
49	Vịt	102019/GS.168	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S068
50	Vịt	102019/GS.169	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S063
51	Ngan	102019/GS.170	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S065
52	Vịt	102019/GS.171	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S066
53	Vịt	102019/GS.172	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S069
54	Ngan	102019/GS.174	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S074
55	Vịt	102019/GS.173	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S070
56	Vịt	102019/GS.175	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S071
57	Gà	102019/GS.177	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S072
58	Gà	102019/GS.178	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S073
59	Vịt	102019/GS.179	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S075
60	Gà	102019/GS.180	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S077
61	Gà	102019/GS.182	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S078
62	Gà	102019/GS.183	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S079
63	Vịt	102019/GS.185	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S080
64	Vịt	102019/GS.186	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S082
65	Ngan	102019/GS.187	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S083
66	Ngan	102019/GS.190	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S089
67	Gà	102019/GS.191	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S085
68	Gà	102019/GS.192	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S086
69	Gà	102019/GS.193	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S087
70	Gà	102019/GS.195	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S091
71	Vịt	102019/GS.198	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S092
72	Gà	102019/GS.201	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S093
73	Gà	102019/GS.202	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S094
74	Gà	102019/GS.203	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S095

75	Gà	102019/GS.204	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S097
76	Gà	102019/GS.205	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S100
77	Vịt	102019/GS.206	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S101
78	Vịt	102019/GS.207	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S102
79	Ngan	102019/GS.208	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S109
80	ngan	102019/GS.209	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S103
81	Ngan	102019/GS.210	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S104
82	Vịt	102019/GS.211	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S105
83	ngan	102019/GS.212	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S106
84	Gà	102019/GS.213	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S107
85	Gà	102019/GS.214	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S108
86	Ngan	102019/GS.218	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S110
87	Gà	102019/GS.219	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S111
88	Vịt	102019/GS.220	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S115
89	Vịt	102019/GS.224	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S116
90	Vịt	102019/GS.225	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S117
91	Ngan	102019/GS.227	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S120
92	Ngan	102019/GS.228	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S129
93	Vịt	102019/GS.230	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S121
94	Gà	102019/GS.234	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S123
95	Ngan	102019/GS.235	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S124
96	Vịt	102019/GS.237	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S125
97	Gà	102019/GS.243	Đông Đa	T10/2019	Dương tính	+	S128
98	Ngan	102019/GS.245	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S146
99	Vịt	102019/GS.247	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S137
100	Ngan	102019/GS.246	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S148
101	Gà	102019/GS.249	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S139

102	Gà	102019/GS.251	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S140
103	Ngan	102019/GS.252	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S142
104	Ngan	102019/GS.255	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S143
105	Ngan	102019/GS.257	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S144
106	Vịt	102019/GS.258	Ba Đình	T10/2019	Dương tính	+	S145
107	Vịt	102019/GS.260	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S151
108	Ngan	102019/GS.261	Thanh Xuân	T10/2019	Dương tính	+	S152
109	Gà	102019/GS.262	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S153
110	Gà	102019/GS.263	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S154
111	Gà	102019/GS.264	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S155
112	Gà	102019/GS.270	Hoàng Mai	T10/2019	Dương tính	+	S156
113	Gà	122019/GS.273	Ba Đình	T12/2019	Dương tính	+	S161
114	Gà	122019/GS.275	Ba Đình	T12/2019	Dương tính	+	S164
115	Gà	122019/GS.277	Cầu Giấy	T12/2019	Dương tính	+	S166
116	Gà	122019/GS.278	Cầu Giấy	T12/2019	Dương tính	+	S167
117	Gà	122019/GS.279	Cầu Giấy	T12/2019	Dương tính	+	S168
118	Gà	122019/GS.280	Ba Đình	T12/2019	Dương tính	+	S169
119	Gà	122019/GS.281	Ba Đình	T12/2019	Dương tính	+	S170
Ghi chú: “+” có kết quả là <i>Salmonella enterica</i>							

Phụ lục II: Bảng về các gen MLST từ Enterobase (<https://enterobase.warwick.ac.uk>)

Mẫu	ST	1	2	3	4	5	6	7
12_S2	155	aroC(10)	dnaN(60)	hemD(58)	hisD(66)	purE(6)	sucA(65)	thrA(16)
13_S3	4157	aroC(747)	dnaN(7)	hemD(21)	hisD(12)	purE(15)	sucA(12)	thrA(12)
19_S4	1541	aroC(197)	dnaN(187)	hemD(10)	hisD(234)	purE(8)	sucA(65)	thrA(22)
21_S5	32	aroC(17)	dnaN(18)	hemD(22)	hisD(17)	purE(5)	sucA(21)	thrA(19)
25_S6	32	aroC(17)	dnaN(18)	hemD(22)	hisD(17)	purE(5)	sucA(21)	thrA(19)
31_S7	321	aroC(119)	dnaN(10)	hemD(17)	hisD(42)	purE(12)	sucA(13)	thrA(4)
32_S8	321	aroC(119)	dnaN(10)	hemD(17)	hisD(42)	purE(12)	sucA(13)	thrA(4)
37_S9	32	aroC(17)	dnaN(18)	hemD(22)	hisD(17)	purE(5)	sucA(21)	thrA(19)
42_S10	321	aroC(119)	dnaN(10)	hemD(17)	hisD(42)	purE(12)	sucA(13)	thrA(4)
43_S11	321	aroC(119)	dnaN(10)	hemD(17)	hisD(42)	purE(12)	sucA(13)	thrA(4)
45_S12	321	aroC(119)	dnaN(10)	hemD(17)	hisD(42)	purE(12)	sucA(13)	thrA(4)
51_S13	321	aroC(119)	dnaN(10)	hemD(17)	hisD(42)	purE(12)	sucA(13)	thrA(4)
52_S14	-	aroC(92)	dnaN(125)	hemD(78)	hisD(~128)	purE(138)	sucA(9)	thrA(141)

56_S15	321	aroC(119)	dnaN(10)	hemD(17)	hisD(42)	purE(12)	sucA(13)	thrA(4)
57_S16	321	aroC(119)	dnaN(10)	hemD(17)	hisD(42)	purE(12)	sucA(13)	thrA(4)
60_S17	321	aroC(119)	dnaN(10)	hemD(17)	hisD(42)	purE(12)	sucA(13)	thrA(4)
61_S18	155	aroC(10)	dnaN(60)	hemD(58)	hisD(66)	purE(6)	sucA(65)	thrA(16)
64_S19	32	aroC(17)	dnaN(18)	hemD(22)	hisD(17)	purE(5)	sucA(21)	thrA(19)
68_S20	198	aroC(76)	dnaN(14)	hemD(3)	hisD(77)	purE(64)	sucA(64)	thrA(67)
8_S1	13	aroC(3)	dnaN(3)	hemD(7)	hisD(4)	purE(3)	sucA(3)	thrA(7)

Phụ lục III: Sự phân bố và tỉ lệ gen kháng kháng sinh

Mã	37_S9	21_S5	25_S6	64_S19	61_S18	12_S2	13_S3	19_S4	8_S1	52_S14	68_S20	43_S11	45_S12	51_S13	31_S7	42_S10	57_S16	60_S17	32_S8	56_S15	74_S1	89_S1	109_S2	129_S3	146_S4	148_S5	gen	Số lượng	Phần trăm
1							1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				1	1	<i>arr-3_4</i>	15	57,69%	
2							1				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				1	1	<i>arr2</i>	13	50,00%	
3								1		1																	<i>arr3</i>	2	7,69%
4																						1	1	1	1	1	<i>ampH</i>	6	23,08%
5																						1	1	1	1	1	<i>acrD</i>	6	23,08%
6																						1	1	1	1	1	<i>acrB</i>	6	23,08%
7																						1	1	1	1	1	<i>acrA</i>	6	23,08%
8							1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1						<i>aac(3)-lia</i>	12	46,15%
9							1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1						<i>aac(3)-Ild_1</i>	12	46,15%
10	1	1	1	1																			1				<i>aac(3)-IVa_1</i>	5	19,23%
11											1											1	1				<i>aac(3)-Id_1</i>	2	7,69%
12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>aac(6)-Iaa_1</i>	26	100,00%
13								1		1																	<i>aac(6)-Ib-cr_1</i>	2	7,69%
14	1	1	1	1			1		1			1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1	<i>aac(6)-Iy</i>	19	73,08%
15	1	1	1	1																							<i>aadA1-pm</i>	4	15,38%
16								1		1																	<i>aadA16_1</i>	2	7,69%
17											1																<i>aadA17</i>	1	3,85%
18							1					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1						<i>aadA22</i>	10	38,46%
19											1											1	1				<i>aadA7_1</i>	3	11,54%
20																								1			<i>ant(3)-Iia</i>	1	3,85%
21	1	1	1	1			1				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1		<i>ant(3)-Ia_1</i>	17	65,38%	
22					1	1				1												1	1			1	<i>aph(3)-Ib_5</i>	6	23,08%
23																							1			1	<i>aph(3)-IIa_2</i>	2	7,69%
24							1				1	1					1	1		1				1			<i>aph(3)-Ia_3</i>	7	26,92%
25				1																		1	1				<i>aph(3)-Ia_7</i>	3	11,54%
26	1	1	1	1																				1			<i>aph(4)-Ia_1</i>	5	19,23%

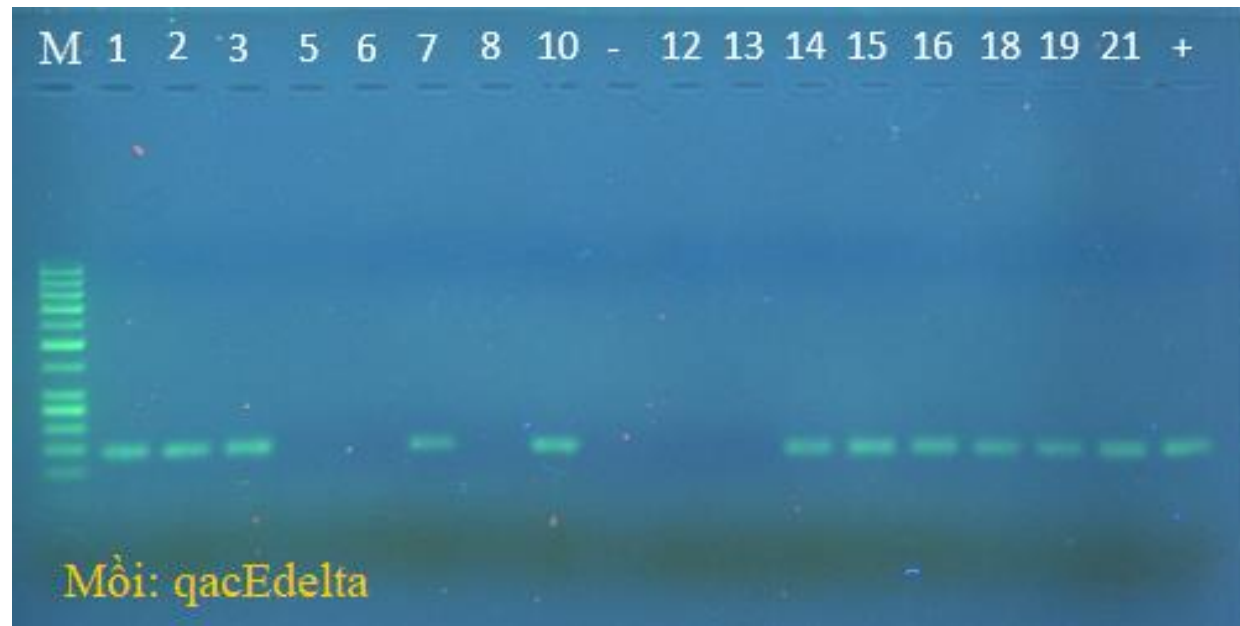
27					1	1	1			1		1	1	1	1	1	1		1	1	1	1		1	1	1	<i>aph(6)-Id_1</i>	17	65,38%					
28					1	1	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				1	1	1	<i>blaCTX-M-55_1</i>	17	65,38%				
29	1	1	1	1																				1	1			<i>blaCTX-M-65_1</i>	6	23,08%				
30											1	1	1	1	1		1											<i>blaLAP-2</i>	6	23,08%				
31										1			1															<i>blaTEM-141</i>	2	7,69%				
32							1																					<i>blaTEM-1A_1</i>	1	3,85%				
33						1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				1	1		<i>blaTEM-1B_1</i>	15	57,69%				
34										1			1															<i>blaTEM-206</i>	2	7,69%				
35													1															<i>blaTEM-209</i>	1	3,85%				
36													1															<i>blaTEM-210</i>	1	3,85%				
37										1			1															<i>blaTEM-214</i>	2	7,69%				
38													1															<i>blaTEM-216</i>	1	3,85%				
39													1															<i>blaTEM-33</i>	1	3,85%				
40													1															<i>blaTEM-34</i>	1	3,85%				
41																									1	1	1	1	1	1	<i>baeR</i>	6	23,08%	
42																									1	1	1	1	1	1	<i>bacA</i>	6	23,08%	
43																									1	1	1	1	1	1	<i>CRP</i>	6	23,08%	
44																									1	1	1	1	1	1	<i>cpxA</i>	6	23,08%	
45																									1	1				<i>blaCTX-M-14b_1</i>	2	7,69%		
46																									1	1				<i>blaCTX-M-9</i>	2	7,69%		
47											1																		<i>catA2_1</i>	1	3,85%			
48	1			1	1			1		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>dfrA14_5</i>	18	69,23%			
49																										1			<i>dfrA14_1</i>	1	3,85%			
50								1		1																			<i>dfrA27_1</i>	2	7,69%			
51																										1	1	1	1	1	1	<i>emrB</i>	6	23,08%
52																										1	1	1	1	1	1	<i>emrA</i>	6	23,08%
53																										1	1	1	1	1	1	<i>emrR</i>	6	23,08%
54		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1		1				1	1	1	1	1	<i>floR_2</i>	19	73,08%			
55				1							1																		<i>fosA3_1</i>	2	7,69%			
56								1	1																				<i>fosA7_1</i>	2	7,69%			

57	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>golS</i>	26	100,00%		
58																				1	1	1	1	1	1	<i>H-NS</i>	6	23,08%	
59																				1		1	1	1		<i>kdpE;</i>	4	15,38%	
60						1				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				1			<i>linG</i>	12	46,15%	
61						1				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				1			<i>Inu(F)_1</i>	12	46,15%	
62	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>mdsA</i>	26	100,00%	
63	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>mdsB</i>	26	100,00%	
64	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>mdsC</i>	26	100,00%	
65	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>mdtK</i>	26	100,00%	
66						1				1	1												1			<i>mph(A)-2</i>	4	15,38%	
67						1				1	1															<i>Mrx</i>	3	11,54%	
68																					1					<i>mcr-3.1</i>	1	3,85%	
69																								1	1	1	<i>mdtB</i>	6	23,08%
70																								1	1	1	<i>mdtC</i>	6	23,08%
71																								1	1	1	<i>msbA</i>	6	23,08%
72						1	1	1	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>qnrS1_1</i>	17	65,38%	
73												1															<i>rmtB_1</i>	1	3,85%
74																								1	1		<i>ramA</i>	2	7,69%
75	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>sdiA</i>	26	100,00%	
76	1	1	1	1						1	1													1	1	1	<i>sul1_5</i>	10	38,46%
77					1	1						1													1		<i>sul2_2</i>	4	15,38%
78													1	1	1	1	1	1	1	1	1			1		1	<i>sul3_2</i>	11	42,31%
79	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>tet(A)_6</i>	24	92,31%	
80	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				1	1		<i>tetR</i>	19	73,08%	
81																								1	1	1	<i>tolC</i>	6	23,08%
82																								1	1	1	<i>yojI</i>	5	19,23%

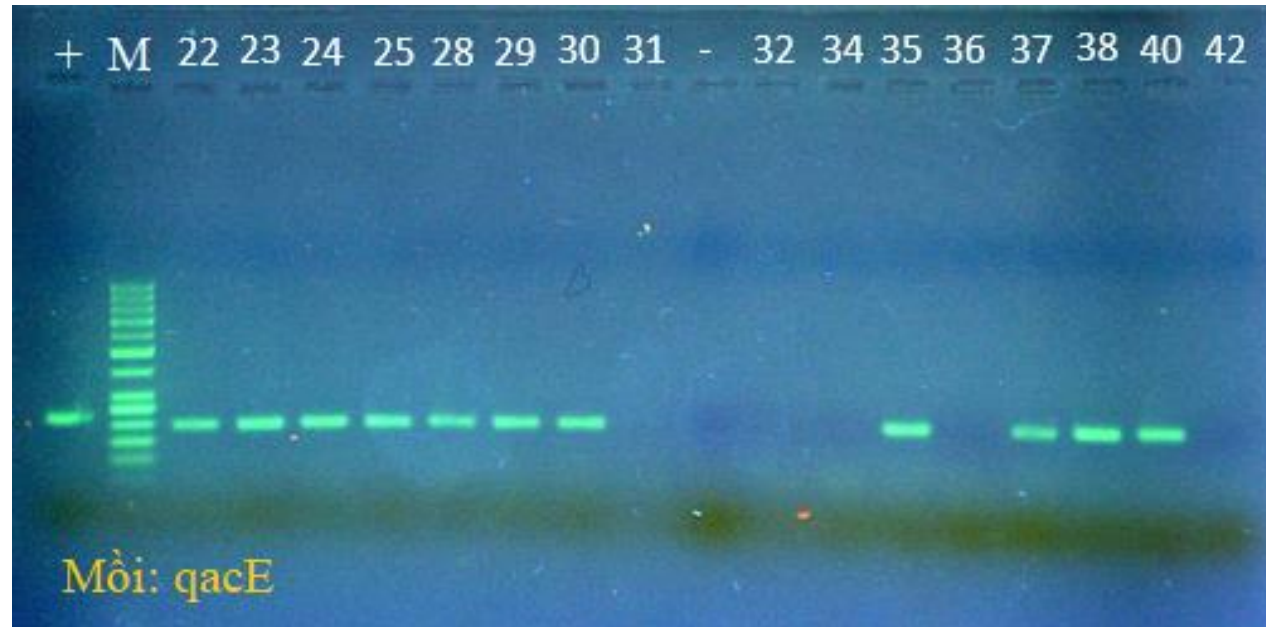
1 Dương tính Âm tính

Phụ lục IV: Kết quả PCR về các gen *quaE*, *quaEdelta*

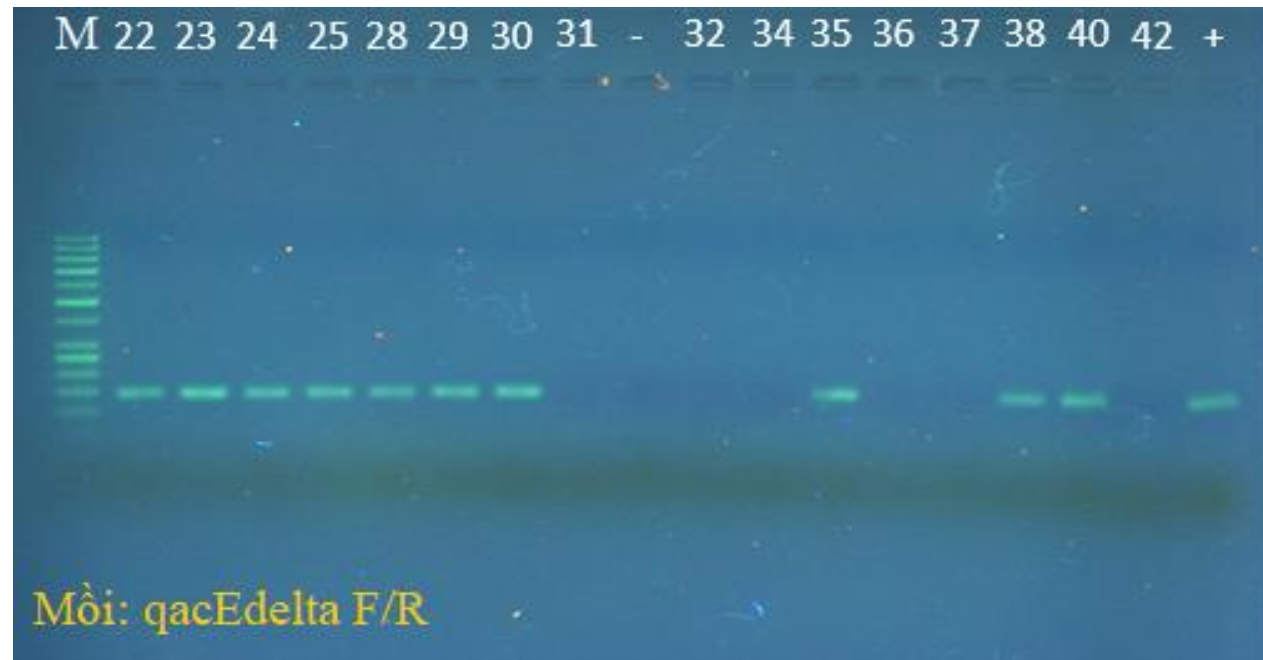
Hình 3.15. Kết quả PCR phát hiện gen *quaE* trên chủng *Salmonella* 1 – 21



Hình 3.16. Kết quả PCR phát hiện gen *quaEdelta* trên chủng *Salmonella* 1 - 21



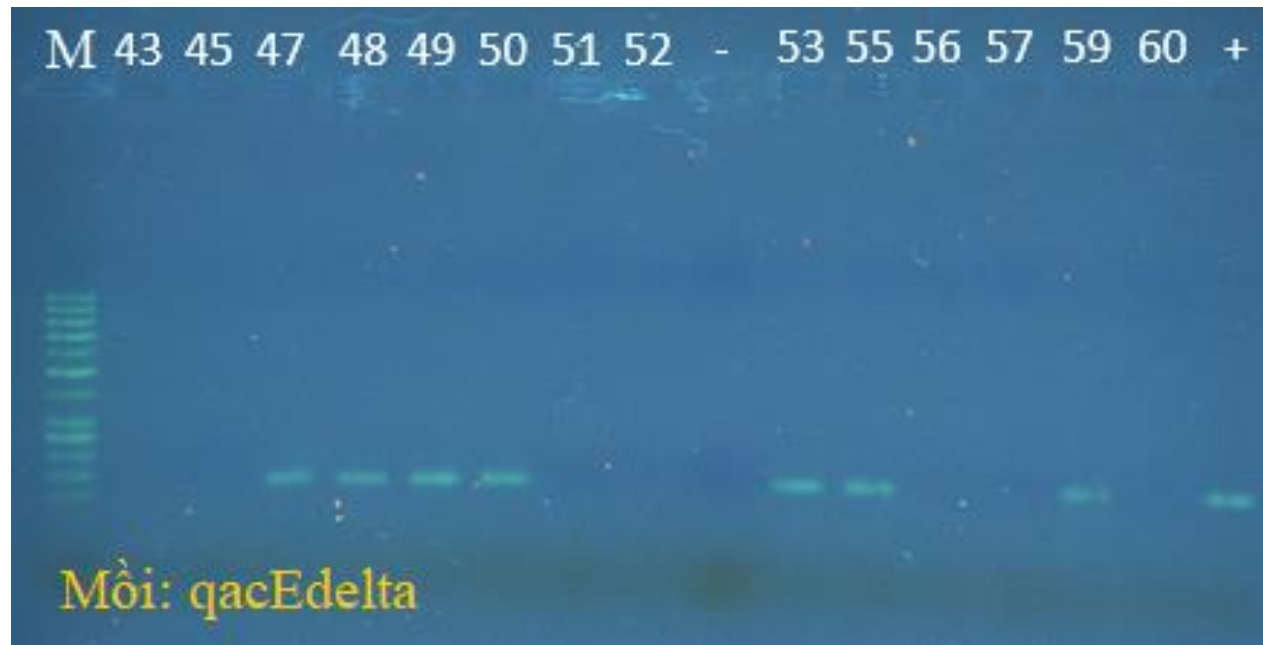
Hình 3.17. Kết quả PCR phát hiện gen *quaE* trên chủng *Salmonella* 22 - 42



Hình 3.18. Kết quả PCR phát hiện gen *qacEdelta* trên chủng *Salmonella* 22 - 42



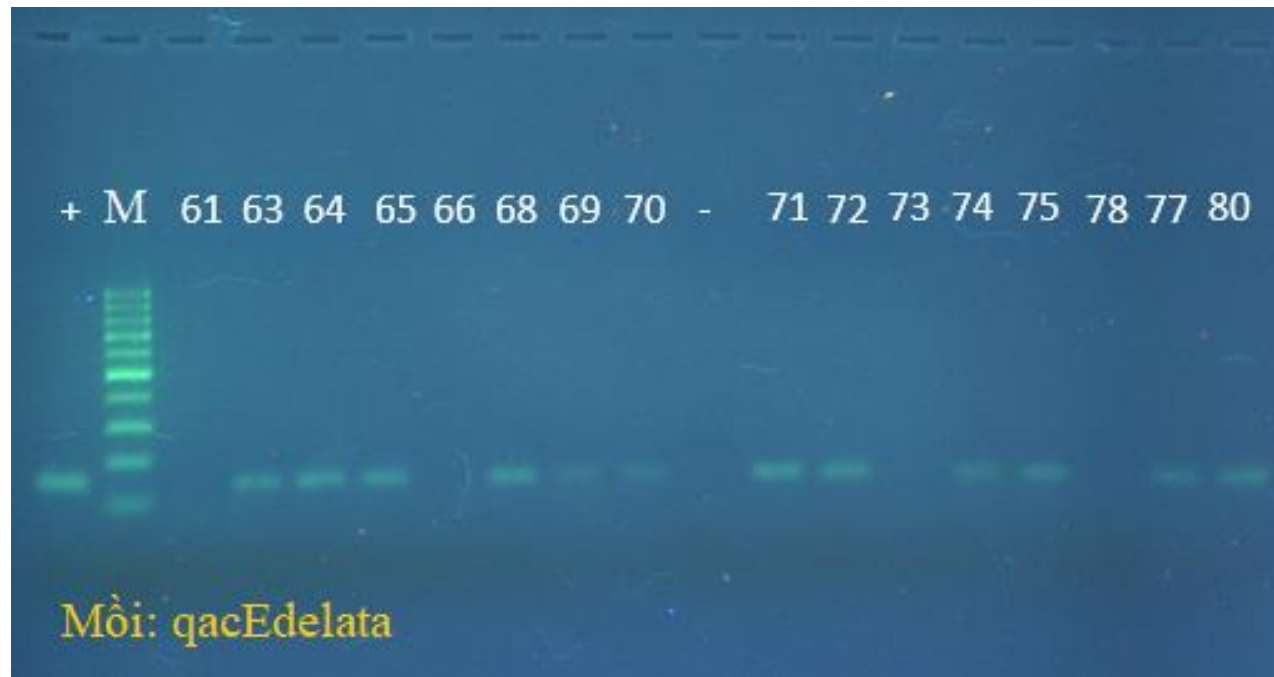
Hình 3.19. Kết quả PCR phát hiện gen *qacE* trên chủng *Salmonella* 43 - 60



Hình 3.20. Kết quả PCR phát hiện gen *qacEdelta* trên chủng *Salmonella* 43 - 60



Hình 3.21. Kết quả PCR phát hiện gen *qacE* trên chủng *Salmonella* 61 - 80



Hình 3.22. Kết quả PCR phát hiện gen *quaEdelta* trên chủng *Salmonella* 61 - 80



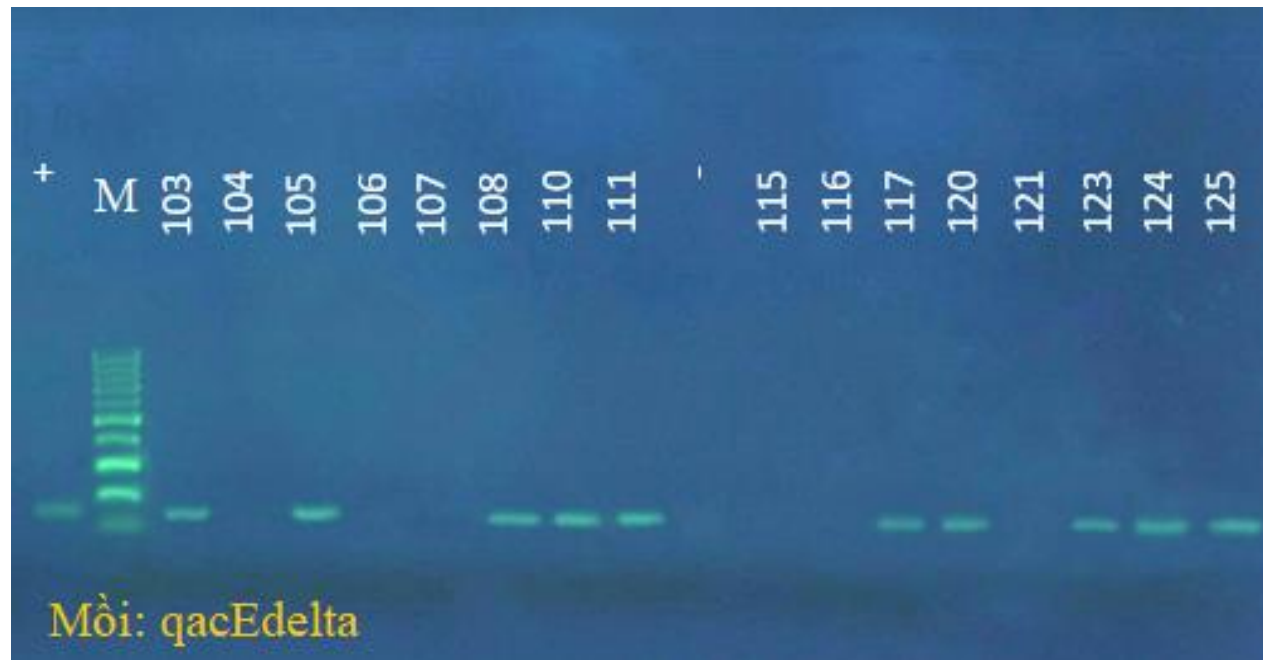
Hình 3.23. Kết quả PCR phát hiện gen *qacE* trên chủng *Salmonella* 79 - 102



Hình 3.24. Kết quả PCR phát hiện gen *qacEdelta* trên chủng *Salmonella* 79 - 102



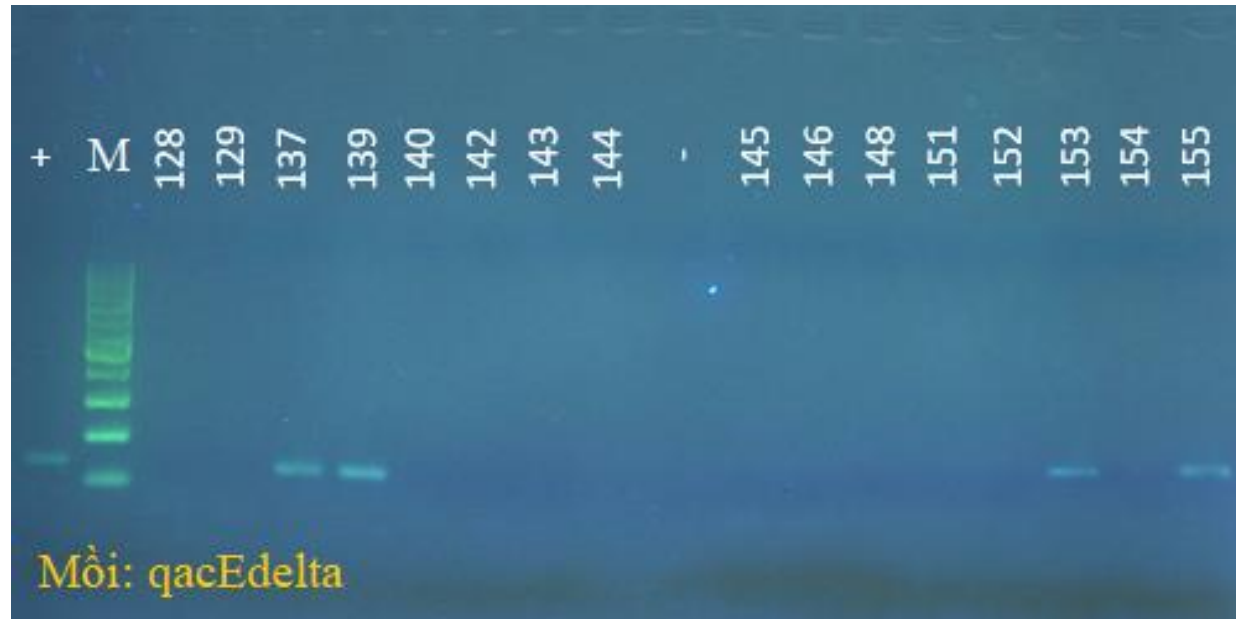
Hình 3.25. Kết quả PCR phát hiện gen *qacE* trên chủng *Salmonella* 103 - 125



Hình 3.26. Kết quả PCR phát hiện gen *quaEdelta* trên chủng *Salmonella* 103 - 125



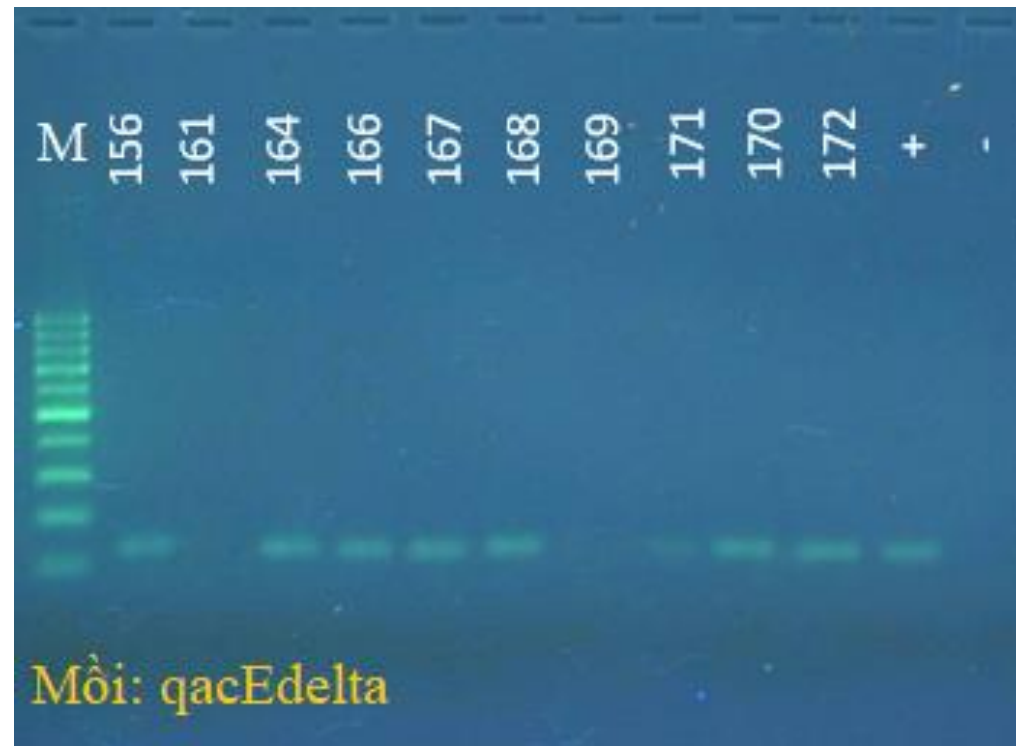
Hình 3.27. Kết quả PCR phát hiện gen *quaE* trên chủng *Salmonella* 128 - 155



Hình 3.28. Kết quả PCR phát hiện gen *qacEdelta* trên chủng *Salmonella* 128 - 155



Hình 3.29. Kết quả PCR phát hiện gen *quaE* trên chủng *Salmonella* 156 - 172



Hình 3.30. Kết quả PCR phát hiện gen *qacEdelta* trên chủng *Salmonella* 156 - 172