

# SỰ HIỆN DIỆN CỦA *SALMONELLA* ENTERITIDIS LIÊN QUAN AN TOÀN THỰC PHẨM TRONG CÁC TRẠI CHĂN NUÔI GÀ ĐẸ TRỨNG THƯƠNG PHẨM TẠI TỈNH TIỀN GIANG - VIỆT NAM

Nguyễn Duy Linh<sup>1</sup>, Từ Thiện Trí Thức<sup>1</sup>, Nguyễn Lê Nhật Duy<sup>1</sup>,  
Trần Thị Ngọc Hân<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Phương Trang<sup>1</sup>,  
Quách Tuyết Anh<sup>1</sup>, Lê Hữu Ngọc<sup>1</sup>, Lê Thanh Hiền<sup>1</sup>  
\*Tác giả liên hệ email: lhngoc@hcmuaf.edu.vn

## TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện ở 32 trại gà đẻ trứng thương phẩm tỉnh Tiền Giang. Các mẫu thu thập bao gồm các mẫu thức ăn, nước uống ở đầu và cuối đường cấp nước, máng ăn, lồng chuồng, vỏ và lòng đỏ trứng, để phân lập *Salmonella* và xác định serovar Enteritidis bằng kỹ thuật ngưng kết trên phiến kính. Kết quả nghiên cứu cho thấy 9-34% các mẫu môi trường có sự hiện diện của *Salmonella*, không phát hiện *Salmonella* trong mẫu dịch lòng đỏ trứng. Có 3/37 (8,1%) chủng *Salmonella* phân lập là serovar Enteritidis. Bên cạnh đó, 278 mẫu huyết thanh gà từ 32 trại gà ri và 122 mẫu từ 4 trại gà đẻ trứng công nghiệp được thu thập để xét nghiệm kháng thể kháng *Salmonella* Enteritidis (SE) bằng kỹ thuật ELISA. Kết quả xét nghiệm cho thấy hầu hết các trại đều dương tính với SE với tỷ lệ gà có kháng thể kháng SE lần lượt là 34,5% và 41,7% trên gà ri và gà công nghiệp đẻ trứng. Kết quả nghiên cứu cho thấy có nguy cơ vấy nhiễm SE trong chuỗi thực phẩm từ gia cầm.

Từ khóa: *Salmonella*, *Salmonella* Enteritidis, gà ta đẻ.

## Determination of *Salmonella* Enteritidis related to food safety in commercial breed layer farms in Tien Giang province of Viet Nam

Nguyen Duy Linh, Tu Thien Tri Thuc, Nguyen Le Nhat Duy,  
Tran Thi Ngoc Han, Nguyen Thi Phuong Trang,  
Quach Tuyet Anh, Le Huu Ngoc, Le Thanh Hien

## SUMMARY

The study was carried out on 32 commercial local breed layer chicken farms in Tien Giang province. The samples were collected including environmental samples i.e. feed, drinking water (at source and trough), cage floors, egg shell and yolk samples for *Salmonella* isolation and Enteritidis serovar using agglutination techniques. The studied results showed that 9-34% of the environmental samples had the presence of *Salmonella*, no *Salmonella* was detected in the egg yolk samples. There were 3/37 (8.1%) of *Salmonella* isolates classified as serovar Enteritidis. In addition, 278 chicken serum samples from 32 these chicken farms and additional 122 samples from 4 industrial egg laying farms were collected to determine antibodies to *Salmonella* Enteritidis (SE) by ELISA technique. The analysed results showed that most of the farms were positive to SE with the proportion of chickens having antibodies was 34.5% in the local-breed layer chicken farms and 41.7% in the industrial layer chicken farms. The results of the study suggest that there is a risk of SE in the poultry production food chain.

Keywords: *Salmonella*, *Salmonella* Enteritidis, local breed layer chicken farm.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

*Salmonella* được xem như là tác nhân gây bệnh quan trọng cho sức khỏe cộng đồng, là vi

khẩn phổ biến nhất gây nên tình trạng ngộ độc thực phẩm, nhất là những thực phẩm liên quan đến sản phẩm động vật. Rất nhiều loài động vật mang mầm bệnh có hoặc không có biểu hiện

<sup>1</sup> Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường Đại học Nông Lâm, TP. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup> Chi cục Thú y vùng 6

triệu chứng lâm sàng, trong đó gà là một trong những loài mang *Salmonella* phổ biến. Thống kê cho thấy bệnh do *Salmonella* ở người liên quan đến việc sử dụng sản phẩm từ gà (thịt và trứng) chiếm đa số (49% trong số ca nhiễm *Salmonella*) (WHO, 2018). *Salmonella* liên quan đến ngộ độc thực phẩm thường đề cập với tên là *Salmonella* không phải loại thương hàn (NTS: Non-typhoidal *Salmonella*) với rất nhiều serovar khác nhau và độc lực đa dạng. Trong số các chủng NTS, serovar *Salmonella* Enteritidis (SE) được xem là serovar rất quan trọng lây nhiễm ở người liên quan đến gia cầm (EFSA, 2022). SE là serovar đa dạng về vật chủ, hiện diện nhiều trên gia cầm, gây bệnh cho nhiều loài động vật kể cả con người. Đối với gia cầm, serovar này có thể xâm nhập từ bên ngoài vào đường tiêu hóa gia cầm, tồn tại ở đó thời gian dài, là nguồn bệnh cho chính gia cầm và cho động vật khác kể cả con người. Gà nhiễm SE thường không bộc lộ biểu hiện lâm sàng.

Kiểm soát *Salmonella* trong các trại chăn nuôi gà là mục tiêu quan trọng để hướng tới chăn nuôi hiệu quả, an toàn và sản xuất trứng gà sạch. Đây là định hướng chiến lược cho ngành chăn nuôi gà Việt Nam và đặc biệt trên đối tượng gà đẻ. Trong đó chủng SE được quan tâm hơn cả. Chính vì vậy, việc xác định sự lưu hành của các chủng SE tại các trại chăn nuôi gà đẻ là rất quan trọng, để từ đó đưa ra các giải pháp để hạn chế, tiến tới loại trừ mầm bệnh này trong trại là cốt lõi của vấn đề an toàn thực phẩm cũng như hướng tới chăn nuôi sạch và bền vững cho người nông dân.

## II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Lấy mẫu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 1/2021 đến tháng 4/2022 với đối tượng là các trại gà đẻ thương phẩm đang trong giai đoạn đẻ thuộc nhóm gà ta (lông màu). Tổng số 32 trại chăn nuôi được chọn ngẫu nhiên trong danh sách chăn nuôi tại trung tâm dịch vụ chăn nuôi của huyện Chợ Gạo – tỉnh Tiền Giang. Cùng với việc thu thập thông tin trại, các mẫu đại diện môi trường chăn nuôi của từng trại được lấy để đánh giá thực trạng lưu hành SE trong môi trường trại được thực hiện. Các loại mẫu bao gồm mẫu nước đầu nguồn (32

mẫu) và nước tại máng uống (32 mẫu), thức ăn (32 mẫu), gạc lau máng ăn (32 mẫu), mẫu trứng (32 mẫu), gạc lau lồng chuồng (32 mẫu). Mẫu nước được lấy ở hai vị trí đầu nguồn và máng uống. Mỗi loại mẫu nước phải đảm bảo thể tích mẫu  $500 \pm 50$ ml nước cho vào bình tiệt trùng. Mẫu thức ăn lấy tại nhiều vị trí trên máng ăn, dùng muỗng tiệt trùng cho  $250 \pm 50$ g vào túi zip vô trùng. Đối với trứng, chọn ngẫu nhiên 10 quả cho vào túi zip vô trùng. Mẫu sàn lồng của chuồng và mẫu máng ăn được lấy mẫu đại diện bằng cách lấy gạc thấm ướt bằng nước muối sinh lý 0,9% lau trên bề mặt. Đặt miếng gạc lên bề mặt cần kiểm tra và lau trên một vùng rộng  $20 \text{ cm}^2$  đến  $100 \text{ cm}^2$  (TCVN 8129: 2009).

Mẫu huyết thanh: vị trí lấy ở tĩnh mạch cánh. Giữ, cố định và vật bột lông tơ, sát trùng bằng bông cồn ethanol 70% rồi dùng bơm kim tiêm vô trùng lấy từ 1ml đến 5ml máu. Máu lấy ra được chứa trong bơm tiêm, rút pít tông tạo khoảng trống (hoặc bơm máu vào ống nghiệm vô trùng), ghi ký hiệu mẫu trên bơm tiêm hoặc ống nghiệm rồi đặt nằm nghiêng  $45^\circ$  trong hộp đựng mẫu, để đông máu trong 1 đến 2 giờ ở nhiệt độ bình thường, tránh ánh nắng trực tiếp. Sau đó, chắt huyết thanh sang ống nghiệm vô trùng khác (hoặc ống eppendorf) và ghi ký hiệu của mẫu lên ống chứa huyết thanh (QCVN: 01-83:2011/BNNPTNT). Tất cả các mẫu phải được bảo quản trong thùng cách nhiệt với nhiệt độ duy trì bằng đá khô từ  $4-8^\circ\text{C}$  và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 4 giờ (phòng thí nghiệm Kiểm nghiệm thú sản và Môi trường sức khỏe vật nuôi, bộ môn Bệnh truyền nhiễm và Thú y cộng đồng, khoa Chăn nuôi thú y, trường đại học Nông Lâm Tp.HCM).

### 2.2. Phân tích xét nghiệm

Tại phòng thí nghiệm, các mẫu được trực tiếp phân lập vi khuẩn *Salmonella*, trong đó mẫu trứng sẽ được chia làm 2 phần: lấy vỏ và lấy dịch bên trong trứng. Nhóm lấy vỏ (5 quả): dùng gạc thấm BPW, lau vỏ trứng, thu mẫu gộp. Nhóm lấy dịch bên trong (5 quả): lấy cả lòng đỏ và lòng trắng đảo đều (sát trùng vô bằng Etanol 70%/10p trước khi lấy). Các mẫu được nuôi cấy phân lập theo quy trình TCVN 10780-1:2017 (ISO 6579-1:2017). Trong đó



những gốc vi khuẩn có đặc tính sinh hóa phù hợp với *Salmonella* tiếp tục được kiểm tra bằng phương pháp huyết thanh học với kháng huyết thanh *Salmonella* O đa giá và sau đó xác định kháng nguyên O9 đơn giá được cung cấp bởi Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh để xác định serovar Enteritidis (phản ứng ngưng kết nhanh trên phiến kính).

Kết quả phân lập được dùng để đánh giá tình trạng lưu hành *Salmonella* trong trại qua các tỷ lệ nhiễm theo loại mẫu. Sự hiện diện của *Salmonella* trong trại còn được dùng cho việc xác định yếu tố liên quan (cấp trại) thông qua chỉ số OR (odd ratio) để từ đó đánh giá yếu tố nguy cơ.

### 2.3. Phân tích số liệu

Các phân tích trên được thực hiện bằng phần mềm STATA 14 (College Station, TX 77845). Ngoài ra việc đánh trại nhiễm SE bằng phương pháp phân lập và kháng thể được so sánh với nhau bằng cách tính hệ số Kappa (GraphPad Software, 2022)

## III. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

### 3.1. Sự lưu hành *Salmonella* và *Salmonella* Enteritidis theo các loại mẫu từ môi trường nuôi gà

Với mục đích khảo sát sự hiện diện, lưu hành *Salmonella* Enteritidis (SE), chúng tôi đã phân lập phát hiện được 3 chủng dương tính SE (8,1%). Điều này có ý nghĩa quan trọng vì đây là serovar gây ngộ độc thực phẩm hiện nay, vì vậy cần có những biện pháp phòng ngừa các vi khuẩn này trên gà, nhằm hạn chế nguy cơ gây ngộ độc thực phẩm cho người khi sử dụng các sản phẩm từ thịt, trứng gà.

Các nghiên cứu trước đây tại Việt Nam về SE cũng được phát hiện ở miền Bắc nước ta chiếm tỷ lệ 7,29 % (Trần Thị Hạnh và ctv, 2003). Nghiên cứu của Lý Thị Liên Khai (2010) công bố 8,81 % thịt gà ở đồng bằng sông Cửu Long nhiễm *Salmonella*. Theo Nguyễn Thị Mỹ Nhân (2012), *Salmonella* được phát hiện trên gà chiếm 12,5%; trong 42 chủng đó phát hiện 7 chủng SE chiếm 16,67%. Tại miền Trung, nhóm nghiên cứu của Lettini và ctv (2016) đã phát hiện sự hiện diện của SE là 8,3%. Tỷ lệ nhiễm có sự gia tăng qua các năm khảo sát.

**Bảng 1. Tỷ lệ hiện diện *Salmonella* và *Salmonella* Enteritidis theo các loại mẫu từ môi trường nuôi gà**

Loại mẫu	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu SE	Tỷ lệ SE (%)
Nước đầu nguồn	32	6	18,75	0	0
Nước máng uống	32	3	9,38	0	0
Thức ăn	32	4	12,50	0	0
Gạc lau lồng chuồng	32	9	28,13	1	3,12
Gạc lau máng ăn	32	11	34,38	2	6,25
Gạc lau vỏ trứng	32	4	12,5	0	0
Dịch trứng	32	0	0	0	0

### 3.2. Tỷ lệ trại và tỷ lệ gà dương tính với *Salmonella* Enteritidis bằng xét nghiệm ELISA

Với trọng tâm nghiên cứu là SE và kết quả phân lập cho thấy SE hiện diện không nhiều trong môi trường. Vì thế trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành thêm phương pháp đánh giá lưu hành SE trên gà để thông qua xác định hiện diện kháng thể kháng SE vì đây là một mầm

bệnh quan trọng của gia cầm và đã được phân lập từ gà thịt thương phẩm. Gà khi nhiễm SE thường không bộc lộ biểu hiện lâm sàng (De Buck và ctv, 2004). Sự hiện diện của các kháng thể là một dấu hiệu của việc tiếp xúc trước đó từ việc chủng ngừa (vacxin) hoặc nhiễm bệnh do SE gây ra. Hiện nay đã có các loại vacxin ngăn ngừa SE được sản xuất nhưng tại Việt Nam chưa

được các hộ chăn nuôi áp dụng vào quy trình chùng gà. Nên việc xuất hiện các mẫu dương

tính SE có thể kết luận do nguyên nhân nhiễm thực địa.

**Bảng 2. Tỷ lệ trại và tỷ lệ gà dương tính với SE bằng xét nghiệm ELISA**

Loại gà	Salmonella Enteritidis	Số trại	Số mẫu xét nghiệm	Tỷ lệ gà dương tính theo trại (%)
Gà ri	Có hiện diện SE	27	243	34,5 (10 - 88,9)
	Không có hiện diện SE	5	35	
	Tỷ lệ trại có hiện diện	87,1%		
Gà công nghiệp	Có hiện diện SE	4	122	41,7 (33,3 - 50)
	Không có hiện diện SE	0		
	Tỷ lệ trại có hiện diện	100%		

Kết quả kiểm tra cho thấy trong tổng số 278 mẫu huyết thanh gà ri đẻ được kiểm tra có 34,5% tỷ lệ gà ri đẻ dương tính theo trại. Đối với gà đẻ công nghiệp; 41,7% tỷ lệ gà dương tính theo trại trong tổng số 122 mẫu huyết thanh thu được.

### 3.3. Sự tương quan giữa phân lập SE trong môi trường và lưu hành kháng thể kháng SE trên gà

Sự khác biệt loại mẫu thu thập trong phương pháp phân lập (nước, thức ăn, gạc lau, trứng) và phương pháp ELISA phát hiện kháng thể kháng SE (huyết thanh).

**Bảng 3. Sự tương quan giữa phân lập SE trong môi trường và lưu hành SE trên gà**

Trại	SE. ELISA (+)	SE. ELISA (-)	Tổng
SE phân lập (+)	21	3	24
SE phân lập (-)	6	2	8
<b>Tổng</b>	<b>27</b>	<b>5</b>	<b>32</b>

Với số liệu thống kê trong bảng 3, giá trị Kappa được tính là 0,143 (khoảng biến động với 95% độ tin cậy: -0,277 - 0,512). Việc phát hiện sự lưu hành SE trong trại chăn nuôi bằng phương pháp phân lập vi sinh vật và phương pháp kiểm tra sự hiện diện kháng thể kháng SE có tương quan nhẹ nhưng không chặt với nhau. Một cách dễ hiểu, với giá trị Kappa này khi phát hiện có sự hiện diện SE trong trại không đồng nghĩa kiểm tra phát hiện có sự hiện diện kháng thể kháng SE tại trại chăn nuôi.

### 3.4. Các yếu tố liên quan hiện diện Salmonella và SE trong đàn

Để đánh giá các yếu tố liên quan sự hiện diện SE trên gà, phân tích logistic nhiều tầng được thực hiện trong đó biến phụ thuộc là tình trạng

có kháng thể SE trên gà hay không, biến độc lập là tình trạng nhiễm Salmonella trong các mẫu môi trường và lứa tuổi (theo tuần – biến liên tục) và biến ngẫu nhiên là mã số trại. Kết quả phân tích đa biến loại trừ ngược (backward elimination) cho thấy hầu hết bị loại bỏ khỏi mô hình, cuối cùng chỉ có biến sự hiện diện của Salmonella trong nguồn nước là có ý nghĩa thống kê trong mô hình.

Với kết quả được trình bày trong bảng 4, giá trị OR được tính là 3,64 (95% độ tin cậy: 1,34 - 9,85) cho thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa vệ sinh nguồn nước và tình trạng nhiễm SE trên gà. Có thể nói khả năng nhiễm Salmonella trên gà từ nguồn nước là quan trọng nhất trong



nghiên cứu này. Một cách để hiểu từ giá trị OR này là gà từ trại có *Salmonella* trong nguồn nước

có khả năng nhiễm SE gấp 3,64 lần so với gà từ trại không có *Salmonella* trong nguồn nước.

**Bảng 4. Mô hình logistic về mối liên quan giữa sự hiện diện của *Salmonella* trong nguồn nước và hiện diện của SE trên gà (được xác định bằng ELISA)**

Biến	Hệ số góc	P	95% độ tin cậy	
Hiện diện <i>Salmonella</i> trong nước	1,2921	0,011	0,2963	2,2878
Hằng số	-1,2533	<0,001	-1,7202	-0,7864

#### IV. KẾT LUẬN

Trong các trại chăn nuôi gà ri đẻ trứng và gà đẻ công nghiệp khảo sát đều có sự lưu hành phổ biến của SE. Tỷ lệ gà ri và gà công nghiệp dương tính SE bằng xét nghiệm ELISA theo trại khá cao; lần lượt là 34,5% và 41,7%.

Sự lưu hành SE trong môi trường không nhiều nhưng thông qua mô hình logistic về sự hiện diện của *Salmonella* trong nguồn nước có liên quan với xác suất dương tính của SE trên gà được xác định bằng ELISA. Việc đánh giá sự lưu hành SE trong môi trường rất khó đánh giá sự lưu hành SE trên gà thông qua mối liên hệ không chặt chẽ giữa phương pháp phân lập và phương pháp xét nghiệm kháng kháng thể ELISA.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- TCVN 8129:2009, ISO 18593:2004/BNNPTNT. Tiêu chuẩn quốc gia về Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – phương pháp lấy mẫu bề mặt sử dụng đĩa tiếp xúc và lau bề mặt.
- TCVN 10780-1:2017, ISO 6579-1:2017/BNNPTNT. Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm – Phương pháp phát hiện, định lượng và xác định type huyết thanh của *Salmonella* - Phần 1: Phương pháp phát hiện *Salmonella* spp.
- QCVN 01-83:2011/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về bệnh động vật – yêu cầu chung lấy mẫu bệnh phẩm, bảo quản và vận chuyển.
- De Buck, J., Van Immerseel, F., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R., 2004. Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination by *Salmonella*. *Journal of Applied Microbiology*, 97(2), 233–245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02294.x>
- EFSA, 2022. *Salmonella* | Retrieved January 5, 2022, from <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/Salmonella>.
- Lettni, A. A., Vo Than, T., Marafin, E., Longo, A., Antonello, K., Zavagnin, P., Barco, L., Mancin, M., Cibin, V., Morini, M., Dang Thi Sao, M., Nguyen Thi, T., Pham Trung, H., Le, L., Nguyen Duc, T., & Ricci, A., 2016. Sự phân bố của *Salmonella* Serovars và khả năng nhạy cảm với kháng sinh từ các trang trại chăn nuôi gia cầm và lợn ở miền Trung Việt Nam. *Zoonoses and Public Health*, 63(7), 569–576. <https://doi.org/10.1111/zph.12265>
- Lý Thị Liên Khai, Nguyễn Thị Chúc, 2010. Xác định nguồn lây truyền bệnh đường tiêu hóa do vi khuẩn *Salmonella* từ động vật sang người ở một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 16, 69–79.
- Nguyễn Thị Mỹ Nhân, 2012. *Khảo sát sự hiện diện các chủng và một số gene độc lực của Salmonella phân lập trên heo và gà*. Luận văn Thạc sĩ, Trường ĐH Nông Lâm TP. HCM, Việt Nam.
- Trần Thị Hạnh, Đặng Thị Thanh Sơn, Nguyễn Tiến Thành, 2003. *Tỷ lệ nhiễm Salmonella spp. Phân lập, định typ Salmonella typhimurium và Salmonella enteritidis ở gà tại một số trại giống thuộc các tỉnh phía Bắc*. Báo cáo Chăn nuôi Thú y.
- WHO, 2018. *Salmonella* (non-typhoidal) Retrieved January 5, 2022, from [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Salmonella-(non-typhoidal)).

Ngày nhận 3-6-2022

Ngày phản biện 8-7-2022

Ngày đăng 1-1-2023