



## KHẢO SÁT SỰ HIỆN DIỆN VÀ XÁC ĐỊNH CÁC GENE GÂY BỆNH CỦA VI KHUẨN *Salmonella* WELTEVREDEN TRÊN THẦN LẦN TẠI TỈNH SÓC TRĂNG, TIỀN GIANG VÀ BẾN TRE

Huỳnh Tấn Lộc<sup>1</sup>, Nguyễn Khánh Thuận<sup>2</sup>, Hideki Hayashidani<sup>2</sup> và Lý Thị Liên Khai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp & Công nghiệp Tokyo, Nhật Bản

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 03/10/2016

Ngày nhận bài sửa: 01/11/2016

Ngày duyệt đăng: 26/06/2017

### Title:

The prevalence and determination of pathogenicity genes in *Salmonella* Weltevreden on geckos at Soc Trang, Tien Giang and Ben Tre provinces

### Từ khóa:

Bến Tre, gene gây bệnh, *Salmonella* Weltevreden, Sóc Trăng, thần lằn, Tiền Giang

### Keywords:

Geckos, *Salmonella* Weltevreden, pathogenicity genes, Soc Trang, Tien Giang, Ben Tre

### ABSTRACT

The study was conducted to investigate the prevalence and determination of *Salmonella* Weltevreden pathogenicity genes on geckos in Soc Trang, Tien Giang and Ben Tre provinces from August 2015 to July 2016. A total of 805 geckos' feces samples were collected at swine farms, households with livestock activities and households. The results showed 132 samples were positive with *Salmonella* at proportion 19,25% and with the predominant serovar being *S. Weltevreden* was 50/132 strains at rate 35.3%. The prevalence of *Salmonella* on geckos was not significantly different by samples at swine farms (21,25%) and households with livestock activities (15,87%); however, it was significantly different by samples at swine farms and households without livestock activities (11,88%). *Salmonella* Weltevreden strains were also found in swine farms (19 strains), households with livestock activities (17 strains) and households (14 strains). Up to 4/4 pathogenicity genes were determined with the proportion being *hilD*, *sifA*, *sopB* and *pefA* at 100%. None of the isolated *S. Weltevreden* strains were resistant to tested antibiotics.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát sự lưu hành của chủng *Salmonella* Weltevreden trên thần lằn ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre từ tháng 8/2015 đến 7/2016. Từ 805 mẫu phân thần lằn được thu thập ở các trại chăn nuôi heo, hộ gia đình có chăn nuôi và hộ gia đình không có chăn nuôi heo tìm thấy 132 mẫu dương tính với vi khuẩn *Salmonella* chiếm tỷ lệ 16,40%, trong đó chủng *Salmonella* Weltevreden là chủng phổ biến nhất với 50/132 chủng (37,88%). Tỷ lệ dương tính với vi khuẩn *Salmonella* trên thần lằn không có sự khác nhau giữa trại chăn nuôi (21,25%) và hộ dân có chăn nuôi (15,87%) nhưng có sự khác nhau giữa trại chăn nuôi và hộ dân không có chăn nuôi (11,88%). Có sự lưu hành của chủng *S. Weltevreden* tại các trại chăn nuôi (19 mẫu), hộ dân có chăn nuôi (17 mẫu) và hộ không có chăn nuôi (14 mẫu). Có 4/4 gene gây bệnh được phát hiện, các gene gây bệnh *hilD*, *sifA*, *sopB* và *pefA* được tìm thấy với tỷ lệ 100%. Không có sự đề kháng với kháng sinh ở các chủng *S. Weltevreden* phân lập được.

Trích dẫn: Huỳnh Tấn Lộc, Nguyễn Khánh Thuận, Hideki Hayashidani và Lý Thị Liên Khai, 2017. Khảo sát sự hiện diện và xác định các gene gây bệnh của vi khuẩn *Salmonella* Weltevreden trên thần lằn tại tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 50b: 34-43.

## 1 GIỚI THIỆU

Bệnh do *Salmonella* Có từ nhiều nguồn động vật khác nhau bao gồm bò, heo, cừu, ngựa, chó, gia cầm, bò sát và những loài động vật có túi. Trong đó, nhiều loài bò sát như rắn, rùa và các loài thằn lằn được biết đến như một nguồn quan trọng đang tăng lên về việc gây nhiễm *Salmonella* trên người, trong số đó thằn lằn châu Á (*Hemidactylus frenatus*) được biết đến như một loài bò sát phổ biến, có tập tính cư trú ở các khu vực sinh sống của con người và khả năng thích nghi cao trong điều kiện sống thay đổi, các loài *Salmonella* phân lập trên thằn lằn có liên quan đến các bệnh do *Salmonella* trên người và chỉ ra rằng loài thằn lằn này đóng vai trò quan trọng trong dịch tễ học liên quan đến bệnh do *Salmonella* (Randall *et al.*, 2015). Trong các serovar gây bệnh phổ biến hiện nay, vai trò quan trọng của *Salmonella* Weltevreden đã được ghi nhận. Cuộc khảo sát *Salmonella* toàn cầu được thực hiện bởi Tổ chức Y tế Thế giới cho thấy rằng chủng *S. Weltevreden* là nguyên nhân phổ biến nhất trong các chủng Nontyphi *Salmonella* trong khu vực Đông Nam Á và khu vực Tây Thái Bình Dương, các chủng này thường được phân lập từ hải sản, thịt, sản phẩm gia cầm và nước, cơ sở dữ liệu về ngộ độc thực phẩm do *Salmonella* trong 1989-1999 cho thấy, *S. Weltevreden* là chủng thường gặp thứ hai, bên cạnh *S. Enteritidis*.

Đối với hầu hết các vi khuẩn gây bệnh, độc lực đòi hỏi nhiều yếu tố (Groisman và Ochman, 1997). Đặc biệt đối với độc lực của các chủng *Salmonella* thì các vùng mã hóa gene gây bệnh (*Salmonella* pathogenicity islands, SPIs) có vai trò đặc biệt quan trọng. Hiện nay, có 17 SPIs khác nhau đã được mô tả là mã hóa các kiểu hình độc tính nổi bật nhất cho việc xâm nhập và gây bệnh nội bào của vi khuẩn *Salmonella*. Các nghiên cứu trước đó ở Việt Nam cũng chỉ ra được tỷ lệ nhiễm *Salmonella* Weltevreden là một trong những serovars phổ biến nhất trên thằn lằn. Tuy nhiên, vẫn chưa có một nghiên cứu nào về sự lưu hành và tỷ lệ các gene gây bệnh của vi khuẩn *S. Weltevreden* trên thằn lằn nhằm đánh giá tiềm năng độc lực của các chủng vi khuẩn này. Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định tỷ lệ lưu hành và các gene gây bệnh của các chủng *Salmonella* Weltevreden, đồng thời kiểm tra sự nhạy cảm đối với kháng sinh của các chủng *S. Weltevreden* phân lập được phân lập từ thằn lằn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu nghiên cứu

Mẫu phân thằn lằn được thu thập từ 805 thằn lằn tại các trại chăn nuôi heo, hộ gia đình có và không có chăn nuôi tại 9 huyện, thị xã của 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre. Ước lượng cỡ mẫu được tính toán theo mô tả của Lwanga và Lemeshow (1991) với độ tin cậy 95%, nghiên cứu hiện tại dựa trên nghiên cứu của Williams *et al.* (2015) với tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trên thằn lằn là 16% và với sai lệch trong mức 0,05.

Mười loại đĩa kháng sinh được sử dụng trong nghiên cứu gồm oxytetracycline, gentamicin, chloramphenicol, kanamycin, cefazolin, ampicillin, nalidixic acid, sulfisoxazole, streptomycin và ofloxacin (Cty Becton Dickinson, Mỹ). Bộ kháng thể chuẩn O và H (Cty Denka Seiken, ToKyo, Nhật), Master mix 2X (Cty Promega, Mỹ). Các primer được thiết kế dùng để xác định gene gây bệnh gồm: *hilD*, *sifA*, *sopB* và *pefA* của công ty Sigma-Aldrich tại Nhật Bản, các hóa chất sử dụng trong phản ứng PCR (Cty Promega, Mỹ).

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Phương pháp lấy mẫu

Ở mỗi tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre, chúng tôi tiến hành lấy mẫu thằn lằn ở 3 huyện khác nhau, mỗi huyện chúng tôi tiến hành lấy mẫu ở 3 xã, thị trấn khác nhau. Tại mỗi xã, thị trấn chúng tôi chọn ra các trại có chăn nuôi, hộ nông dân có chăn nuôi và không có chăn nuôi để lấy mẫu với tổng số mẫu thu được là 805. Mỗi con thằn lằn được cho vào túi nilon vô trùng riêng, trên túi có ghi ký hiệu mẫu và vận chuyển về phòng thí nghiệm phân tích. Khi lấy mẫu còn ghi rõ nguồn gốc, ngày lấy mẫu, địa điểm và số lượng mẫu.

#### 2.2.2 Phương pháp phân loại loài thằn lằn

Mẫu thằn lằn sau khi được đưa về phòng thí nghiệm được tiến hành gây mê bằng chloroform. Sau đó, ghi nhận đặc điểm hình dạng của thằn lằn, định danh các mẫu thằn lằn. Chúng tôi định danh dựa vào đặc điểm hình dáng của từng loài thằn lằn theo khóa định danh của Tikader và Sharma (1992).

#### 2.2.3 Phương pháp nuôi cấy - phân lập vi khuẩn *Salmonella* trên phân thằn lằn

Phương pháp nuôi cấy phân lập vi khuẩn *Salmonella* được dựa theo tiêu chuẩn phòng thí nghiệm về giám sát và phân lập vi khuẩn *Salmonella* trên toàn cầu của WHO (2003).

2.2.4 Định danh vi khuẩn *Salmonella* Weltevreden bằng phản ứng huyết thanh học

Vi khuẩn *Salmonella* Weltevreden được định danh bằng phản ứng huyết thanh học dựa theo tiêu chuẩn ISO/TR 6579-3:2014 (2014) về vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp phát hiện, định lượng *Salmonella* và định kiểu huyết thanh – Phần 1: Phương pháp phát hiện *Salmonella* spp.; Phần 2: Phương pháp định lượng bằng kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất (MPN) để đếm số lượng nhỏ; Phần 3: Định kiểu huyết thanh và dựa theo công thức kháng nguyên của

Popoff và Minor (1997) với bộ kháng thể chuẩn O và H (Denka Seiken Co., Ltd., Tokyo, Nhật Bản).

2.2.5 Phương pháp xác định các gen gây bệnh của vi khuẩn *Salmonella* Weltevreden bằng kỹ thuật PCR

DNA của vi khuẩn *S. Weltevreden* được ly trích theo phương pháp sốc nhiệt của Soumet *et al.* (1994), thành phần của phản ứng PCR dựa theo protocol của hãng Promega, Mỹ. Các bước thực hiện phản ứng tương ứng với từng primer của các gen gây bệnh được trình bày ở Bảng 1.

**Bảng 1:** Trình tự nucleotide của các đoạn mã xác định gen gây bệnh của vi khuẩn *Salmonella*

Gen gây bệnh	PCR primer	Vùng mã hóa	Trình tự primer (5'- 3')	Độ dài (bp)	Nguồn
<i>hilD</i>	<i>hilD</i> (F) <i>hilD</i> (R)	SPI-1	AGCAGGTTACCATCAAAAATCTTTATG TGAGCCGAGCTAAGGATGATC	509	Altier <i>et al.</i> , 2000
<i>sifA</i>	<i>sifA</i> (F) <i>sifA</i> (R)	SPI-2	ATGCCGATTACTATAGGCAATGG TTATAAAAAACAACATAAACAGCCG	1011	Hur <i>et al.</i> , 2011
<i>sopB</i>	<i>sopB</i> (F) <i>sopB</i> (R)	SPI-5	GATGTGATTAATGAAGAAATGCC GCAACCATAAAAACTACACTCA	1170	Soto <i>et al.</i> , 2006
<i>pefA</i>	<i>pefA</i> (F) <i>pefA</i> (R)	Plasmid	TTGCACTGGGTGTTCTGG TGTAAGCCACTGCGAAAG	485	Heithoff <i>et al.</i> , 2008

F: forward; xuôi; R: reverse: ngược

2.2.6 Xác định sự nhạy cảm đối với kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* Weltevreden

Kiểm tra sự nhạy cảm của vi khuẩn *S. Weltevreden* với các loại kháng sinh dựa trên phương pháp khuếch tán trên thạch của Bauer *et al.* (1966) và đọc kết quả kháng sinh đồ bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn (mm). Căn cứ vào đường kính vòng vô khuẩn đối chiếu với bảng chuẩn theo tiêu chuẩn CLSI (2014).

2.2.7 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê theo phương pháp Chi-quare, Chi-quare Yates bởi phần mềm Excel 2003 và Minitab 16.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Sự phân bố của vi khuẩn *Salmonella* trên thằn lằn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre

Kết quả khảo sát tỷ lệ dương tính với *Salmonella* trên 805 mẫu phân thằn lằn xung quanh nơi cư trú của chúng tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre được thể hiện ở Bảng 2.

Kết quả nghiên cứu tìm thấy 132/805 mẫu thằn lằn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre, dương tính với vi khuẩn *Salmonella* chiếm tỷ lệ là 16,4%. Tỷ lệ *Salmonella* hiện diện trên thằn lằn là khá cao. Điều này có thể là do chính bản thân các loài thằn lằn đã là một nguồn chứa *Salmonella*

trong tự nhiên. Các loài thằn lằn sống trong tự nhiên có mang một số lượng *Salmonella* với tỷ lệ khá cao có thể là do nguồn thức ăn của các loài thằn lằn rất đa dạng như các loài côn trùng, kiến, gián, ruồi,... Những loài côn trùng này đã được báo cáo rằng có tỷ lệ dương tính với *Salmonella* khá cao (Devi and Murray, 1991). Miguel và Sam, (1981) đã báo cáo rằng các loài thằn lằn ngoài khả năng nhiễm *Salmonella* do tiếp xúc với nguồn thức ăn bị nhiễm, vẫn bị nhiễm tự nhiên. Kết quả nghiên cứu của Williams *et al.* (2015) đã báo cáo khi khảo sát 90 con thằn lằn được thu thập xung quanh các hộ gia đình ở Úc cho thấy tỷ lệ dương tính với *Salmonella* cũng chiếm cao (16%).

**Bảng 2:** Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* trên thằn lằn phân bố tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre

Địa điểm	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Sóc Trăng	270	36	13,33
Tiền Giang	265	51	19,25
Bến Tre	270	45	16,67
			P=0,18
Tổng	805	132	16,40

Tỷ lệ dương tính với *Salmonella* trên thằn lằn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre là tương đương nhau chiếm tỷ lệ trong khoảng từ 13,33%-19,25% (P=0,18). Điều này có thể được

giải thích là do 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre đều là các tỉnh thuộc khu vực Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) nên chịu ảnh hưởng điều kiện khí hậu và môi trường sống tương tự nhau. Chính những điều kiện về nhiệt độ môi trường, ánh sáng, thức ăn và môi trường sống đã ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng của các loài thằn lằn. Middleton (2008) cho thấy tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trên các loài thằn lằn phụ thuộc vào tập tính, môi trường sống và nguồn thức ăn của chúng. Tất cả những điều này có thể là nguyên nhân làm cho tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trên thằn lằn ở 3 tỉnh trên gần như không khác nhau.

### 3.2 Kết quả phân loại loài thằn lằn sống tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre

Từ 805 mẫu thằn lằn thu thập ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre chúng tôi định danh được 3 loài thằn lằn *Hemidactylus frenatus*, *Hemidactylus platyurus* và *Gehyra mutilata*, kết quả được thể hiện ở Bảng 3.

**Bảng 3: Kết quả phân loại loài thằn lằn sống tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre**

Loài thằn lằn	Số lượng mẫu định danh	Tỷ lệ (%)
<i>Hemidactylus frenatus</i>	436	54,16
<i>Hemidactylus platyurus</i>	307	38,14
<i>Gehyra mutilata</i>	62	7,70
Tổng	805	P<0,01

Trong các loài thằn lằn được định danh thì loài thằn lằn *Hemidactylus frenatus* chiếm tỷ lệ cao nhất là 54,16%, kế đến là loài *Hemidactylus platyurus* với tỷ lệ 38,14%, thấp nhất là loài *Gehyra mutilata* được tìm thấy với tỷ lệ là 7,7% và sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ). Điều này có thể là do *Hemidactylus frenatus* và *Hemidactylus platyurus* là hai loài thằn lằn phổ biến sinh sống ở ĐBSCL; Ngoài ra, tập tính sống và bản năng của các loài thằn lằn cũng góp phần tạo nên sự khác biệt về số lượng giữa các loài. Nghiên cứu của Dame và Petren, (2006) về tập tính sống và bản năng của các loài thằn lằn đã nhận định rằng loài *Hemidactylus frenatus* là loài hung dữ và tranh giành lãnh thổ, tính năng cho phép nó dễ cạnh tranh thành công với các loài thằn lằn khác, làm cho các loài khác dễ bị ăn thịt. *Hemidactylus frenatus* có thể ăn thịt thằn lằn chưa trưởng thành của loài khác. Các báo cáo trước đó về nguồn tài nguyên lưỡng cư, bò sát ở một số tỉnh ĐBSCL cũng chỉ ra hai loài thằn lằn *Hemidactylus frenatus* và *Hemidactylus platyurus* là phổ biến. Trong kết quả nghiên cứu của Hoàng Thị Nghiệp và Võ Hoàng Trinh (2013), khi nghiên cứu về

nguồn tài nguyên lưỡng cư, bò sát ở tỉnh Tiền Giang cho kết quả gồm 62 loài lưỡng cư, bò sát thuộc 44 giống, 21 họ và 5 bộ phân bố ở tỉnh Tiền Giang, trong đó hai loài thằn lằn phổ biến được tìm thấy là *Hemidactylus frenatus* và *Hemidactylus platyurus*. Với mật độ cao và tập tính sống tự do của các loài thằn lằn *Hemidactylus frenatus*, *Hemidactylus platyurus* và *Gehyra mutilata* phân lập được, việc cần chú ý nhiều hơn đến những nguy cơ mà chúng mang lại là vật trung gian lan truyền mầm bệnh từ động vật sang người và từ người sang động vật là điều đáng quan tâm.

### 3.3 Sự phân bố của chủng *Salmonella* Weltevreden trên thằn lằn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre

Các chủng *Salmonella* Weltevreden được phân lập trên thằn lằn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre phân bố với tỷ lệ khác nhau, kết quả được thể hiện ở Bảng 4.

**Bảng 4: Kết quả định danh chủng *Salmonella* Weltevreden dựa trên nguyên tắc kết hợp giữa kháng nguyên và kháng thể của vi khuẩn *Salmonella* phân lập trên thằn lằn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre**

Địa điểm	Số mẫu định chủng	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Sóc Trăng	36	15	41,67
Tiền Giang	51	18	35,29
Bến Tre	45	17	37,78
Tổng	132	50	37,88

Kết quả định danh cho thấy trong 132 chủng *Salmonella* phân lập được có 50 chủng dương tính với *Salmonella* Weltevreden chiếm tỷ lệ 37,88%. Trong đó, sự phân bố của các chủng *S. Weltevreden* tại các tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre là khá cao và gần như tương đương nhau từ 35,29%-41,67% ( $p > 0,05$ ). Kết quả cho thấy chủng *S. Weltevreden* là chủng phổ biến nhất được phân lập từ thằn lằn tại 3 tỉnh trên. Điều này có thể là do tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trên thằn lằn tại 3 tỉnh trên là tương đương nhau (Bảng 1) và *S. Weltevreden* lại là serovar phổ biến được phân lập trên thằn lằn nên không có sự khác biệt lớn về sự phân bố của các chủng này tại 3 tỉnh trên. Randall *et al.* (2015) đã báo cáo sự lưu hành của chủng *Salmonella* Weltevreden là rất phổ biến trên thằn lằn châu Á (*Hemidactylus frenatus*) ở hai vùng phía Bắc và Tây Bắc ở Costa Rica với số lượng 2/6 mẫu chiếm tỷ lệ 33,33%. Ngoài ra, *S. Weltevreden* cũng được phát hiện ở động vật nuôi như lợn, gà, vịt ở Việt Nam và là serovar phổ biến nhất phân lập từ người ở Thái Lan và Malaysia. Các chủng *Salmonella*



Weltevreden được định danh trong nghiên cứu cho thấy có sự phân bố rộng rãi của chúng trên cả 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre và với tỷ lệ lưu hành cao trên thằn lằn.

**3.4 Sự phân bố của vi khuẩn *Salmonella* và các chủng *Salmonella* Weltevreden theo loài thằn lằn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre**

Tỷ lệ dương tính với vi khuẩn *Salmonella* và sự phân bố của các chủng *Salmonella* Weltevreden hiện diện trên 3 loài thằn lằn *Hemidactylus frenatus*, *Hemidactylus platyurus* và *Gehyra mutilata* được thể hiện qua kết quả ở Bảng 5.

Các loài thằn lằn dương tính với *Salmonella* ở tỷ lệ khá cao (13,68-18,58%) và không khác biệt giữa 3 loài thằn lằn ( $p=0,19$ ), nguyên nhân này có thể do những loài thằn lằn có tập tính sống và nguồn thức ăn gần như giống nhau. Những loài thằn lằn có thể bị nhiễm bởi vi khuẩn *Salmonella* thông qua tiếp xúc với các nguồn bệnh từ động vật hoặc qua ăn phải thức ăn bị nhiễm (các loài côn trùng) hoặc nước uống. Ngoài ra, gián và ruồi nhà là thức ăn của thằn lằn có thể là nguồn chính của các chủng *Salmonella* phân lập từ động vật sang vì

những côn trùng có tiếp xúc cao với phân người và động vật (Randall *et al.*, 2015). Ngoài nguồn nhiễm từ thức ăn, nước uống thì các loài bò sát còn bị nhiễm *Salmonella* từ các cá thể bò sát khác nên khi mang mầm bệnh, thằn lằn có thể lây truyền cho nhau làm tăng khả năng gây nhiễm *Salmonella* trong đàn. Kết quả khảo sát cho thấy chủng *S. Weltevreden* là một trong những chủng phổ biến nhất được phân lập từ thằn lằn. Hầu hết các chủng thằn lằn đều nhiễm *Salmonella* Weltevreden với tỷ lệ khác nhau ở từng loài thằn lằn: *Hemidactylus frenatus* (33 mẫu), *Hemidactylus platyurus* (14 mẫu) và *Gehyra mutilata* (3 mẫu). Điều này được giải thích là vì *S. Weltevreden* là một trong những chủng phổ biến nhất được phân lập từ nhiều nguồn khác nhau như trên phân người, động vật, động vật thí nghiệm, hải sản, nguồn nước mặt, nước thải, rau, đất, côn trùng (Sood and Basu, 1979). Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy tỷ lệ dương tính với *Salmonella* ở 3 tỉnh trên không phụ thuộc vào loài thằn lằn; tuy nhiên, do khả năng nhiễm *Salmonella* như nhau và đều có tập tính ưa sống gần người, cho nên 3 loài thằn lằn trên trở thành một nhân tố quan trọng ảnh hưởng đến sức khỏe của con người.

**Bảng 5: Tỷ lệ dương tính với *Salmonella* và chủng *Salmonella* Weltevreden theo loài thằn lằn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre**

Loài thằn lằn	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính với <i>Salmonella</i> (%)	Số chủng <i>S. Weltevreden</i>
<i>Hemidactylus frenatus</i>	436	81 (18,58)	33
<i>Hemidactylus platyurus</i>	307	42 (13,68)	14
<i>Gehyra mutilata</i>	62	9 (14,52)	3
		P=0,19	
Tổng chung	805	132	50

**3.5 Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* Weltevreden trên thằn lằn sống ở một số trại chăn nuôi heo, hộ gia đình có chăn nuôi và không có chăn nuôi ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre**

Nghiên cứu được tiến hành để khảo sát sự lưu hành của vi khuẩn *Salmonella* trên thằn lằn tại các hộ gia đình có và không có chăn nuôi, cũng như tại

các trại chăn nuôi ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre. Kết quả được trình bày ở Bảng 6.

**Bảng 6: Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* Weltevreden trên thằn lằn sống ở một số trại chăn nuôi heo, hộ gia đình có chăn nuôi và không có chăn nuôi ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre**

Địa điểm	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính với <i>Salmonella</i> (%)	Số chủng <i>Salmonella</i> Weltevreden
Hộ gia đình	261	31 (11,88) <sup>a</sup>	14
Hộ gia đình có chăn nuôi	271	43 (15,87) <sup>ab</sup>	17
Trại chăn nuôi	273	58 (21,25) <sup>b</sup>	19
		P=0,01	

Các giá trị của các chữ số mũ trong cùng một cột khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê  $p < 0,05$

Sự lưu hành của các chủng *Salmonella* ở trại chăn nuôi, hộ gia đình có chăn nuôi và không có chăn nuôi có tỷ lệ lần lượt là 21,25%, 15,87% và 11,88%, nghiên cứu cho thấy có sự khác biệt giữa tỷ lệ dương tính với *Salmonella* ở các trại chăn nuôi cao hơn so với hộ gia đình không có chăn nuôi và sự khác nhau này rất có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ). Nguyên nhân của sự sai khác này là do từ những môi trường sống và nguồn thức ăn khác nhau đã tạo ra sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm *Salmonella* giữa thằn lằn sống trong các trại chăn nuôi heo và thằn lằn sống trong các hộ gia đình. Côn trùng là nguồn thức ăn chủ yếu của thằn lằn vì vậy tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trên côn trùng cũng sẽ làm tăng tỷ lệ nhiễm (Devi and Murray, 1991).

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy chủng *Salmonella* Weltevreden đều hiện diện với số lượng khá cao ở trại chăn nuôi (19 mẫu), hộ gia đình có chăn nuôi (17 mẫu) và hộ gia đình không có chăn nuôi (14 mẫu). Điều này có thể do đây là serovar phổ biến hiện nay được phân lập ở người và động vật, cùng với mối quan hệ di truyền gần gũi giữa các chủng phân lập từ người và loài thằn lằn *Hemidactylus frenatus*, cho thấy thằn lằn nhà châu Á chứa một serovar quan trọng về sức khỏe cộng đồng và đã trở thành một vấn đề đối với sức khỏe con người. Ngoài ra, *Salmonella* Weltevreden

được báo cáo là một trong những chủng phổ biến nhất và cũng là nguyên nhân làm tăng bệnh nhiễm trùng ở khu vực Đông Nam Á, bao gồm Thái Lan, Malaysia và Việt Nam (Randall *et al.*, 2015). Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra sự hiện diện của *Salmonella* với tỷ lệ nhiễm cao trong các đàn gia súc gia cầm, theo An *et al.* (2006) cho thấy đàn gia súc tại các tỉnh ĐBSCL có tỷ lệ nhiễm *Salmonella* cao, tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trên heo 49,4%, vịt 20,5%, gà 38,5 %, các serovar phổ biến là *S. Typhimurium*, *S. Anatum*, *S. Weltevreden*, *S. Emek* và *S. Rissen*. Việc phân lập được các chủng *Salmonella* Weltevreden với số lượng phân bố cao trên thằn lằn tại các trại chăn nuôi, hộ chăn nuôi và không có chăn nuôi là một thông tin quan trọng đối với vấn đề sức khỏe cộng đồng hiện nay.

**3.6 Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* Weltevreden trên thằn lằn sống ở các trại chăn nuôi heo, hộ gia đình thuộc khu vực thành thị và nông thôn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre**

Các địa điểm gồm trại chăn nuôi heo, hộ gia đình có và không có chăn nuôi ở mỗi khu vực gồm thành thị và nông thôn cũng được khảo sát tỷ lệ lưu hành của vi khuẩn *Salmonella*, kết quả được thể hiện ở Bảng 7.

**Bảng 7: Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* Weltevreden trên thằn lằn sống ở các trại, hộ gia đình không có chăn nuôi và hộ có chăn nuôi thuộc khu vực thành thị và nông thôn**

Địa điểm	Số mẫu khảo sát	Số mẫu dương tính với <i>Salmonella</i> (%)	Số chủng <i>Salmonella</i> Weltevreden	
Thành thị	Trại chăn nuôi heo	95	21 (22,11)	4
	Hộ gia đình	86	12 (13,95)	8
	Hộ gia đình có chăn nuôi	89	11 (12,36)	7
			$p=0,157$	
Nông thôn	Trại chăn nuôi heo	179	37 (20,67) <sup>a</sup>	11
	Hộ gia đình	175	18 (10,29) <sup>b</sup>	6
	Hộ gia đình có chăn nuôi	181	33 (18,23) <sup>ac</sup>	14
			$p < 0,05$	
Tổng	805	132	50	

Giá trị của các chữ số mũ trong cùng một cột khác nhau là có ý nghĩa thống kê  $p < 0,05$

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở khu vực thành thị tỷ lệ dương tính với *Salmonella* ở trại chăn nuôi heo, hộ gia đình không có chăn nuôi và hộ gia đình có chăn nuôi là khá cao với tỷ lệ lần lượt là 22,11%, 13,95% và 12,36%, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p=0,157$ ), các chủng *Salmonella* Weltevreden cũng được tìm thấy ở trại chăn nuôi heo, hộ gia đình không có chăn nuôi cũng như hộ gia đình có chăn nuôi với số lượng gần như nhau từ 4 đến 8 mẫu. Còn ở khu vực nông thôn thì tỷ lệ dương tính với *Salmonella* cao nhất là ở trại chăn nuôi (20,67%), kế đến là hộ

dân có chăn nuôi (18,23%) và thấp nhất là hộ gia đình không có chăn nuôi (10,29%), sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), tỷ lệ nhiễm các chủng *S. Weltevreden* ở trại chăn nuôi, hộ gia đình có chăn nuôi và hộ gia đình không có chăn nuôi lần lượt là 11 mẫu, 14 mẫu và 6 mẫu. Nguyên nhân của sự sai khác này là do từ những môi trường sống và nguồn thức ăn khác nhau đã tạo ra sự khác nhau về tỷ lệ lưu hành của *Salmonella* giữa thằn lằn sống trong các trại chăn nuôi, hộ gia đình có chăn nuôi và không có chăn nuôi giữa hai khu vực thành thị và nông thôn.

Ở khu vực nông thôn, các trại chăn nuôi và hộ có chăn nuôi thường nuôi gia súc, gia cầm theo phương thức nhỏ lẻ, đặc biệt là gia cầm được nuôi thả rong xung quanh nhà với mật độ cao và phân thải lâu ngày không được xử lý. Thần lẩn tại các điểm này dễ bị vấy nhiễm *Salmonella* thông qua nguồn chất thải, thức ăn và côn trùng tại khu vực chăn nuôi. *Salmonella* sống trong đường ruột của gia súc và theo phân phát tán ra ngoài môi trường là nguồn gây bệnh cho con người và các loài động vật khác. Nhận định của Mitchell *et al.* (2006) đã chỉ ra rằng các chủng của *Salmonella* hiện diện trong môi trường tự nhiên được tìm thấy trong đường ruột của thần lẩn, thần lẩn sống tự do nên chúng có khả năng bị vấy nhiễm các chủng phổ

biến tồn tại ngoài môi trường. Các báo cáo trước đó của Tran *et al.* (2005) và An *et al.* (2006) đã chỉ ra sự lưu hành của *Salmonella* với tỷ lệ cao ở miền Nam Việt Nam. Chúng hiện diện trong phân người, phân gia súc (heo, bò, gia cầm), trên các sản phẩm thịt gia súc, hải sản. Trong đó, chủng *S. Weltevreden* là chủng phổ biến.

**3.7 Kết quả định danh vi khuẩn *Salmonella* trên thần lẩn sống ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre**

Sự lưu hành của các chủng *Salmonella* phổ biến trên thần lẩn ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre được định danh với số lượng chủng khác nhau, kết quả được trình bày ở Bảng 8.

**Bảng 8: Kết quả định danh các chủng *Salmonella* trên thần lẩn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre**

STT	Chủng <i>Salmonella</i>	Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	<i>Salmonella</i> Weltevreden	50	37,88
2	<i>Salmonella enterica</i> nhóm phụ <i>enterica</i> (I)	34	25,76
3	<i>Salmonella enterica</i> nhóm phụ <i>salamae</i> (II)	14	10,60
4	<i>Salmonella enterica</i> nhóm phụ <i>houtenae</i> (IV)	4	3,03
5	<i>Salmonella enterica</i> nhóm phụ <i>indica</i> (VI)	30	22,73
Tổng chung		132	100,00

Các chủng *Salmonella* Weltevreden được định danh trên thần lẩn ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre hiện diện với số lượng nhiều nhất 50 mẫu. Ngoài ra, kết quả định danh còn phân lập được 82 mẫu thuộc các nhóm phụ I là 34 mẫu (25,76%), nhóm phụ II là 14 mẫu (10,60%), nhóm phụ IV là 4 mẫu (3,03%) và nhóm phụ VI là 30 mẫu (22,73%). Kết quả này cho thấy chủng *S. Weltevreden* là chủng phổ biến được phân lập trên thần lẩn. Ngoài ra, các chủng *Salmonella* nhóm phụ *enterica* (I) cũng được tìm thấy trong nghiên cứu này với tỷ lệ khá cao. Trước đó, các chủng *Salmonella* thuộc nhóm phụ I là những chủng được tìm thấy trong các nguyên nhân gây bệnh *Salmonella* cho con người và các động vật máu nóng, còn các chủng *Salmonella* thuộc nhóm phụ II, IIIa, IIIb, IV, VI của loài *Enterica* và loài *Bongori* thường được tìm thấy ở động vật máu lạnh và môi trường (Popoff and Minor, 1997). Tuy nhiên, ở kết quả nghiên cứu này, các chủng *Salmonella* phân lập được từ thần lẩn thuộc nhóm phụ *enterica* (I) được tìm thấy với tỷ lệ cao, vì vậy khả năng gây bệnh *Salmonella* trên người là có thể.

Báo cáo của Oboegbulem và Iseghohimhen (1985) cũng cho thấy chủng *Salmonella* Weltevreden là phổ biến khi khảo sát sự lưu hành của *Salmonella* trên 90 mẫu thần lẩn sống trên tường nhà (*Hemidactylus* spp.) ở Nsukka, Nigeria thì có 27 mẫu thần lẩn dương tính với *Salmonella*, trong đó chủng *Salmonella* Weltevreden là chủng phổ biến nhất (8 mẫu). Một báo cáo khác của

Pasmans *et al.* (2005) cũng nhận định sự hiện của các chủng *Salmonella* thuộc nhóm phụ I với tỷ lệ cao nhất khi định danh 44 chủng *Salmonella* phân lập được từ thần lẩn thì có nhóm phụ I chiếm cao nhất với 27 mẫu, nhóm phụ II (9 mẫu), nhóm IIIb (3 mẫu), và nhóm phụ IV (5 mẫu). Sự hiện diện ngày càng phổ biến của các chủng *S. Weltevreden* và các chủng *Salmonella* thuộc nhóm phụ I trên các loài bò sát sông tự do hay nuôi nhốt ngày càng phổ biến đã trở thành yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng và cần đáng được quan tâm.

**3.8 Kết quả xác định các gene gây bệnh của các chủng *Salmonella* Weltevreden phân lập được trên thần lẩn**

Kết quả kiểm tra các gene gây bệnh của 50 chủng *S. Weltevreden* qua phân tích PCR cho thấy hầu hết các chủng đều có mang các gene gây bệnh với tỷ lệ khác nhau, kết quả được trình bày ở Bảng 9.

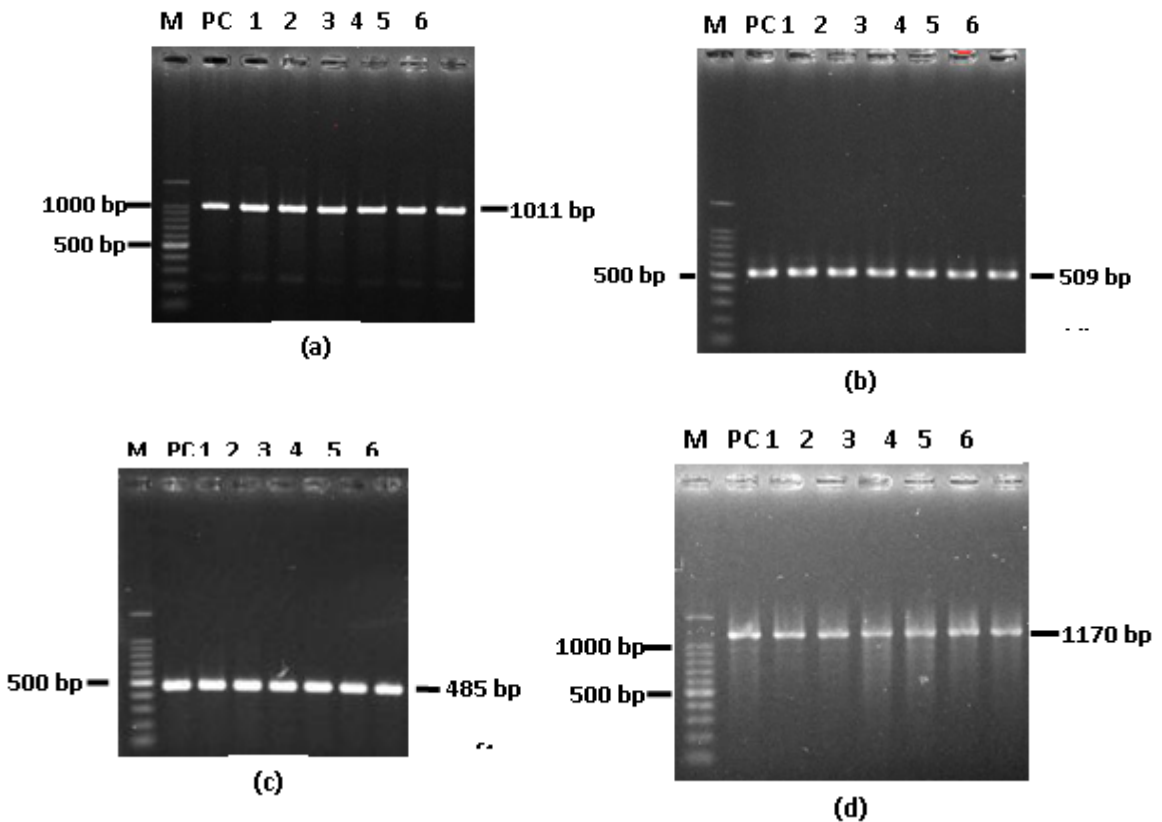
**Bảng 9: Tỷ lệ các gene gây bệnh của chủng *Salmonella* Weltevreden trên thần lẩn**

Vị trí gen	Gene	Số mẫu dương tính/50 mẫu kiểm tra	Tỷ lệ (%)
SPI-1	<i>hilD</i>	50	100
SPI-2	<i>sifA</i>	50	100
SPI-5	<i>sopB</i>	50	100
Plasmid	<i>pefA</i>	50	100

Kiểm tra sự hiện diện của các gene mã hóa các yếu tố gây bệnh của các chủng *Salmonella*

Weltevreden trên thằn lằn ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre cho thấy, đều có sự hiện diện của 4/4 gene (Hình 1) được kiểm tra, trong đó các gene *hilD*, *sifA*, *sopB* và *pefA* đều được tìm thấy ở tất cả các chủng *S. Weltevreden* với tỷ lệ 100%. Sự hiện diện của các gene gây bệnh cho thấy vai trò quan trọng của chúng đối với quá trình xâm nhập và gây bệnh của các chủng *Salmonella* Weltevreden có tác dụng giúp *Salmonella* xâm nhiễm vào trong tế bào biểu mô và gây bệnh; Gene *hilD* ở vùng SPI-1 mã hoá cho các protein hoạt hóa sự phiên mã các gene gây xâm nhiễm ở *Salmonella*, có vai trò trong sự xâm nhiễm của *Salmonella* vào các tế bào biểu mô và vô hiệu hóa

đại thực bào của vật chủ; Gene *sifA* ở cụm SPI-2 điều hòa sự biểu hiện các gene có liên quan đến hệ thống tiết dạng III cần thiết cho *Salmonella* nhân lên bên trong các đại thực bào và lan truyền khắp cơ thể vật chủ (Groisman and Ochman, 1994). Trong khi đó gene *sopB* nằm trên vùng SPI-5 mã hóa cho các gene giúp *Salmonella* sống sót trong đại thực bào. Mặc dù sự có mặt của các gene gây bệnh ở các chủng *Salmonella* Weltevreden hiện diện trong nghiên cứu này với tỷ lệ khác nhau, nhưng điều này cũng đã cho thấy tiềm năng gây bệnh của các chủng *S. Weltevreden* là có thể và cần được quan tâm đối với vấn đề sức khỏe y tế cộng đồng hiện nay



Hình 1: Sản phẩm PCR của gene *hilD* (a), *sifA* (b), *sopB* (c) và *pefA* (d) sau quá trình điện di  
 M: 100 bp DNA marker; PC: đối chứng dương

### 3.9 Kết quả khảo sát sự nhạy cảm với kháng sinh của các chủng *Salmonella* Weltevreden phân lập được từ thằn lằn tại tỉnh Tiền Giang

Kết quả kiểm tra sự nhạy cảm với kháng sinh của 50 chủng *Salmonella* Weltevreden phân lập từ thằn lằn tại 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre được thể hiện thông qua Bảng 10.

Kết quả kiểm tra sự nhạy cảm đối với kháng sinh của 50 chủng *S. Weltevreden* cho thấy không có chủng nào đề kháng với 10 loại kháng sinh kiểm tra (oxytetracycline, gentamicin, chloramphenicol, kanamycin, cefazolin, ampicillin, nalidixic acid, sulfisoxazole, streptomycin và ofloxacin). Điều này có thể cho thấy khả năng các loài thằn lằn tiếp xúc với thuốc kháng sinh hoặc vi khuẩn kháng thuốc từ gia súc hoặc con người là rất ít và hạn chế. Trước đó nghiên cứu của Pushpa *et al.* (1985) cũng báo



cáo rằng các chủng *S. Weltevreden* phân lập từ thằn lằn tại một hộ gia đình ở Ấn Độ đều nhạy cảm cao đối với các loại kháng sinh ampicillin, chloramphenicol, furazolidone, gentamicin, kanamycin, neomycin, streptomycin và tetracycline. Báo cáo của Moreno *et al.* (1995) khi kiểm tra sự đề kháng với kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập được từ các loài động vật máu lạnh bao gồm thằn lằn và ếch ở Tây Ban Nha cũng cho thấy không có sự đề kháng với các loại kháng

sinh được kiểm tra. Tuy nhiên, trên thế giới hiện nay sự đề kháng đối với kháng sinh của các chủng *Salmonella* ngày càng tăng, cùng với các bệnh truyền lây từ bò sát sang người và động vật đã trở thành vấn đề nguy hiểm trong việc điều trị bệnh, theo đó các loài thằn lằn thường có tập tính sống gần người, khu dân cư và ở các trại chăn nuôi nên nguy cơ đề kháng với kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập từ thằn lằn là điều cần được quan tâm hiện nay.

**Bảng 10: Tỷ lệ các chủng *Salmonella Weltevreden* nhạy cảm với kháng sinh phân lập từ thằn lằn**

Loại kháng sinh*	Hàm lượng	n=50					
		Nhạy cảm cao		Nhạy trung bình		Kháng	
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
AM10	10 µg	50	100	0	0	0	0
CZ30	30 µg	49	98	1	2	0	0
C30	30 µg	50	100	0	0	0	0
GM10	10 µg	50	100	0	0	0	0
G25	30 µg	48	96	2	4	0	0
K30	30 µg	50	100	0	0	0	0
NA30	5 µg	49	98	1	2	0	0
OFX5	30 µg	50	100	0	0	0	0
S10	10 µg	50	100	0	0	0	0
T30	250 µg	50	100	0	0	0	0

\*Oxytetracycline (T30), gentamicin (G10), chloramphenicol (C30), kanamycin (K30), cefazolin (CZ30), ampicillin (AM10), nalidixic acid (NA30), sulfisoxazole (G25), streptomycin (S10) và ofloxacin (OFX5)

**4 KẾT LUẬN**

Có sự lưu hành vi khuẩn *Salmonella* trên các loài thằn lằn sống ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang và Bến Tre với tỷ lệ nhiễm khá cao. *Salmonella Weltevreden* là chủng phổ biến nhất.

Tỷ lệ dương tính với *Salmonella* trên thằn lằn khác nhau giữa trại chăn nuôi và hộ không có chăn nuôi. Không có sự khác nhau giữa tỷ lệ lưu hành của các chủng *S. Weltevreden* tại trại chăn nuôi, hộ không có chăn nuôi và hộ có chăn nuôi.

Tỷ lệ dương tính với vi khuẩn *Salmonella* trên thằn lằn có sự khác nhau giữa thằn lằn sống ở các trại chăn nuôi, hộ gia đình có và không có chăn nuôi thuộc khu vực nông thôn.

Trong ba loài thằn lằn định danh được thì 2 loài *Hemidactylus frenatus*, *Hemidactylus platyurus* là loài thằn lằn phổ biến được tìm thấy ở 3 tỉnh Sóc Trăng, Tiền Giang, Bến Tre và loài *Gehyra mutilata* là loài ít được tìm thấy. Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* không phụ thuộc vào loài thằn lằn.

Có 4/4 gene gây bệnh được phát hiện, các gene gây bệnh *hilD*, *sifA*, *sopB* và *pefA* được tìm thấy với tỷ lệ 100%..

Không có sự đề kháng với kháng sinh ở các chủng *Salmonella Weltevreden* phân lập được.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Altier, C., Suyemoto, M., and Lawhon, S.D., 2000. Regulation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium invasion gen by *csrA*. *Journal of Infectious Diseases and Immunity*. 68: 6790–6797.

An, T.T.Vo., Duijkeren, Van E., Fluit, A.C., and Heck, M.E.O.C., 2006. Distribution of *Salmonella Enterica* serovars from humans, livestock and meat in Viet Nam and dominance of *Salmonella Typhimurium* phage type 90, *Veterinary Microbiology*. 113: 153-158.

Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., and Turck, M., 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45: 493–496.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2014. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test: Approved standards 24th ed. M100-S24, Wayne, PA. 230 pages.

Dame, E.A., and Petren, K., 2006. Behavioural mechanisms of invasion and displacement in Pacific island geckos (*Hemidactylus*). *Animal Behaviour*. 71: 1165–1173.

Devi, S.J.N., and Murray, C.J., 1991. Cockroaches (*Blatta* and *Periplaneta* species) as reservoirs of drug-resistant *Salmonella*. *Epidemiology Infection Journal Impact Factor*. 107: 357-361.

- Groisman, E.A., and Ochman, H., 1997. How Salmonella became a pathogen. *Trends Microbiology Journal*. 5: 343-349.
- Heithoff, D.M., Shimp, W.R., Lau, P.W., Badie, G., Enioutina, E.Y., Daynes, R.A., Byrne, B.A., House J.K., Mahan M.J., 2008. Human Salmonella clinical isolates distinct from those of animal origin. *Applied and Environmental Microbiology*. 74: 1757-1766.
- Hoàng Thị Nghiệp và Võ Thị Trinh, 2013. Nguồn tài nguyên lưỡng cư, bò sát ở tỉnh Tiền Giang. *Tạp chí ĐHSPTPHCM*. Số 51, trang 81-89.
- Hur, J., Choi, Y.Y., Park, J.H., Jeon, B.W., Lee, H.S., Kim, A.R., Lee, J.H., 2011. Antimicrobial resistance, virulence-associated genes, and pulsed-field gel electrophoresis profiles of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium isolated from piglets with diarrhea in Korea. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 75: 49-56.
- ISO/TR 6579-3:2014, 2014. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*, Part 3: Guidelines for serotyping of *Salmonella* spp. ISO/TC 34/SC 9:33, 33 pages.
- Lwanga, S.K., and Lemeshow, S., 1991. *Sample Size Determination in Health Studies: A Practical Manual*. Geneva, Switzerland: World Health Organization. 80 pages.
- Middleton, D.M.R.L., 2008. The prevalence of *Salmonella* and the spatial distribution of its amongst New Zealand's native lizards, A thesis presented in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Zoology, Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- Miguel, K., and Sam, R.T., 1981. Lizards in the Ecology of Salmonellosis in Panama. *Applied and Environmental Microbiology*. 41: 1248-1253.
- Mitchell, M.A., 2006. *Salmonella: Diagnostic methods for reptiles*. In: Marder DR (ed) *Reptile Medicine and Surgery*, pp. 900-901.
- Moreno, C.M., Ojeda Vargas, M.M., Echeita, A., and Usera, M.A., 1995. Occurrence of *Salmonella* in cold-blooded animals in Gran Canaria, Canary Islands, Spain. *Antonie van Leeuwenhoek*. 68: 191-194.
- Oboegbulem, S.I., and Iseghohimhen, A.U., 1985. Wall Geckos (Geckonidae) as reservoirs of *Salmonellae* in Nigeria: problems for epidemiology and public health. *International Journal of Zoonoses*, 12: 228-232.
- Ochman, H., and Groisman, E.A., 1994. The origin and evolution of species differences in *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium*. *Molecular ecology and evolution: Approaches and application*. 69: 479-493.
- Pasmans, F., Martel, A., Boyen, F., Vandekerchove, D., Wybo, I., Immerseel, F., Heyndrickx, M., Collard, J.M., Ducatelle, R., and Haesebrouck, F., 2005. Characterization of *Salmonella* isolates from captive lizards. *Veterinary Microbiology*. 110: 285-291.
- Popoff, M.Y., and Minor, L.L., 1997. *Antigenic formulas of the Salmonella serovars*. 7th revision. World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Paris, France: Pasteur Institute. 166 pages.
- Pushpa, A., Singh, S.M., and Bhattacharya, M.M., 1985. An outbreak of food poisoning in a family due to *Salmonella Weltevreden* in Delhi. *Journal Of Diarrhoeal Diseases Research*. 3: 224-225.
- Randall, R.J., Elías, B.C., Juan, G.A., and Laura, P.P., 2015. *Salmonella* Isolates in the Introduced Asian House Gecko (*Hemidactylus frenatus*) with Emphasis on *Salmonella Weltevreden*, in Two Regions in Costa Rica. *Vector-borne and Zoonotic Disease*. 15: 550-555.
- Sood, L.R., and Basu, S., 1979. Bacteriophage typing of *Salmonella Weltevreden*. National *Salmonella and Escherichia Centre*, Central Research Institute, Kasauli, India, pp. 595 – 604.
- Soto, S. M., Irene, R.G., Rosario, R.M., Jordi, V., and Carmen M.M., 2006. Detection of virulence determinants in clinical strains of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* and mapping on macrorestriction profiles. *Journal of Medical Microbiology*. 55: 365-373.
- Soumet, C., Ermel, G., Fach, P., Colin, P., 1994. Evaluation of different DNA extraction procedures for the detection of *Salmonella* from chicken products by polymerase chain reaction. *Lett. Journal of Applied Microbiology*. 19: 294-298.
- Tikader, B.K., and Sharma, R.C., 1992. *Handbook Indian Lizards*. Zoological Survey of India, Calcutta, India. 250 pages.
- Tran, T.P., Ly, T.L.K., Nguyen, T.T., Akiba, Ogasawara, N., Sinoda, D., Okatani, T.A., Hayashidani, H., 2004. Prevalence of *Salmonella* spp. in pigs, chickens and ducks in Mekong delta of Viet Nam. *Journal Veterinary Medicine Science*. 68: 1011-1014.
- Williams, S., Mahomed Patel, Peter Markey, Rosanne Muller, Suresh Benedict, Ian Ross, Michael Heuzenroeder, Dianne Davos, Scott Cameron, and Vicki Krause, 2015. *Salmonella* in the tropical household environment-Everyday, everywhere. *Journal of Infection*. 71: 642-648.
- World Health Organisation (WHO), 2003. *Global Salm-Surv Laboratory protocols level 1 training course isolation of Salmonella*. Fourth edition. 19 pages.