

XÁC ĐỊNH MỘT SỐ GEN MÃ HÓA KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *SALMONELLA* PHÂN LẬP TỪ LỢN

Nguyễn Thị Bích Thủy, Nguyễn Xuân Huyền
Viện Thú y

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã thực hiện trên 60 chủng *Salmonella* thuộc 7 serovar khác nhau phân lập được từ lợn nuôi tại một số tỉnh phía Bắc và Tây Nguyên từ năm 2005 đến 2012, bao gồm: 15 chủng *S. typhimurium*, 14 chủng *S. derby*, 12 chủng *S. choleraesuis*, 6 chủng *S. rissen*, 5 chủng *S. anatum*, 4 chủng *S. sandow* và 4 chủng *S. bargny*. Trong số 7 serovar *Salmonella* nghiên cứu, *S. typhimurium* và *S. derby* là 2 serovar có nhiều chủng kháng với nhiều loại kháng sinh hơn các serovar khác. Các chủng vi khuẩn *S. typhimurium* có tỷ lệ kháng cao nhất với các loại kháng sinh kiểm tra: với 15 chủng kiểm tra thì có tới 14 chủng kháng tetracyclin, chiếm tỷ lệ cao nhất là 93,33%; 13/18 chủng (86,67%) kháng ampicillin và streptomycin 12/15 chủng (80%) kháng kanamycin; 11/15 chủng (73,33%) kháng sulfisoxazole; 9/15 chủng (60%) kháng chloramphenicol; 5/15 chủng (33,33%) kháng gentamycin và 3/15 chủng (20%) kháng ciprofloxacin. Các chủng *S. derby* kháng 8/10 (am, cm, km, sm, su, tc, cip, cf) loại kháng sinh kiểm tra, với tỷ lệ từ 14,29% đến 78,57%.

Nghiên cứu đã xác định được 3 loại gen kháng kháng sinh là *bla_{TEM}*, *aphAI-Iab* và *tetA* (A) ở các chủng *Salmonella* nghiên cứu, trong đó chủ yếu xuất hiện ở các chủng *S. typhimurium* và *S. derby*. Gen *bla_{TEM}* kháng ampicillin có ở 26 chủng *Salmonella* gồm 13 chủng *S. typhimurium*, 11 chủng *S. derby*, 1 chủng *S. anatum* và 1 chủng *S. bargny*. Gen *aphAI-Iab* kháng kanamycin có ở 22 chủng gồm 12 chủng *S. typhimurium* và 10 chủng *S. derby*. Gen *tetA* (A) có ở 28 chủng gồm 14 chủng *S. typhimurium*, 9 chủng *S. derby*, 2 chủng *S. rissen*, 2 chủng *S. anatum* và 1 chủng *S. bargny*.

Từ khóa: vi khuẩn *Salmonella*, phân lập, kháng kháng sinh

Determination of some genes encoding antibiotic resistance of *Salmonella* spp. isolates from pigs

Nguyen Thi Bich Thuy, Nguyen Xuan Huyen

SUMMARY

The study was conducted to detect some genes encoding antibiotic resistance of 60 *Salmonella* isolates, they were identified from the pigs raising in some Northern and Central highland provinces in 2005 to 2012. These isolates belonged to 7 different serovars, including *S. typhimurium* (n = 15), *S. derby* (n = 14), *S. choleraesuis* (n = 12), *S. rissen* (n = 6), *S. Anatum* (n = 5), *S. sandow* (n = 4) and *S. bargny* (n = 4). Of which, *S. typhimurium* and *S. derby* were 2 serovars having several strains resisted to more antibiotics than other serovars. The *S. typhimurium* strains resisted to the tested antibiotics with the highest rate, such as: out of 15 tested strains, 14 strains resisted to tetracyclin, accounting for 93.33%; 13/18 strains (86.67%) resisted to ampicillin and streptomycin, 12/15 strains (80%) resisted to kanamycin; 11/15 strains (73.33%) resisted to sulfisoxazole; 9/15 strains (60%) resisted to chloramphenicol; 5/15 strains (33.33%) resisted to gentamycin and 3/15 strains (20%) resisted to ciprofloxacin. The *S. derby* strains resisted to 8/10 tested antibiotics (am, cm, km, sm, su, tc, cip, cf) with resistant rates ranging from 14.29% to 78.57%.

Three antimicrobial resistant genes were identified, such as: *bla_{TEM}*, *aphAI-Iab* and *tetA* (A) in the the studied *Salmonella* strains, occurred mostly in *S. typhimurium* and *S. derby* strains. The *bla_{TEM}* genes appeared in 26 *Salmonella* strains, including 13 *S. typhimurium*, 11 *S. derby*, 1 *S. anatum* and 1 *S. bargny* isolates. The *aphAI-Iab* genes appeared in 22 strains, including 12 *S. typhimurium* and 10 *S. derby* isolates. The *tetA* (A) genes presented in 28 strains, including 14 *S. typhimurium*, 9 *S. derby*, 2 *S. rissen*, 2 *S. anatum* and 1 *S. bargny* isolates.

Keywords: *Salmonella* bacterium, isolation, antibiotic resistance.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Salmonella được xem là một trong những loại mầm bệnh truyền lây qua thức ăn phổ biến nhất trên toàn thế giới. Những sản phẩm động vật bị nhiễm khuẩn là nguồn gốc đáng kể gây ra Salmonellosis ở người (van Duijkeren và cs, 2002). Việc sử dụng rộng rãi kháng sinh với mục đích phòng và điều trị bệnh đã làm xuất hiện các chủng vi khuẩn *Salmonella* kháng thuốc (Kishima và cs, 2008).

Việc điều trị bằng kháng sinh là rất cần thiết đối với người và động vật bị nhiễm bệnh. Tuy nhiên, một vấn đề đáng quan tâm là sự phát triển của *Salmonella* kháng thuốc ngày một gia tăng trong mấy thập kỷ qua và trở thành vấn đề toàn cầu của thú y và y tế. Vào những năm 1990, vi khuẩn *Salmonella* kháng thuốc chỉ chiếm khoảng 20 - 30% và đã lên tới 70% vào những năm 2000 (Su và cs, 2004). Giữa thời điểm mà vi khuẩn *Salmonella* kháng thuốc đang được bàn cãi gay gắt thì *S. typhimurium* DT104, một chủng kháng nhiều loại thuốc (5 loại kháng sinh bao gồm Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamide và Tetracycline (ACSSuT) là nguyên nhân gây nên các ổ dịch tại châu Âu và Mỹ (Baggesen và cs, 2000). Chủng vi khuẩn đa kháng *S. typhimurium* DT104 này được phát hiện lần đầu tiên ở người bị Salmonellosis tại Anh vào năm 1980. Sau đó được quan sát thấy cả ở người cũng như vật nuôi trên khắp thế giới vào những năm 90 và hiện đang là mối lo ngại hàng đầu đối với sức khỏe cộng đồng (Kishima và cs, 2008). Cho tới nay, *S. typhimurium* DT104 vẫn là chủng kháng thuốc nổi trội, không chỉ kháng 5 loại thuốc nêu trên mà còn làm giảm khả năng miễn cảm của gentamycin, trimethoprim và fluoquinolones (Baggesen và cs, 2000).

Hiện nay tại Việt Nam, hầu hết các nghiên cứu mới chỉ dừng lại ở việc đánh giá khả năng kháng thuốc của vi khuẩn *Salmonella* bằng phương pháp kháng sinh đồ, chưa có nhiều nghiên cứu sâu về các gen mã hóa tính kháng kháng sinh và cơ chế kháng thuốc cũng như sự gia tăng ngày càng nhiều vi khuẩn kháng các loại thuốc khác nhau. Đó thực sự là một nguy cơ đáng lo ngại cho công tác chữa trị bệnh cho người và động vật.

Xuất phát từ thực trạng kháng thuốc kháng sinh

của *Salmonella* ngày càng tăng, chúng tôi tiến hành đề tài nghiên cứu: “Xác định một số gen mã hóa tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ lợn”, nhằm góp phần tìm ra cơ chế và bản chất của việc kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ lợn tại Việt Nam.

II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung

- Nghiên cứu tình hình kháng thuốc của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ lợn tại một số tỉnh phía Bắc và Tây Nguyên từ năm 2005 đến 2012.

- Xác định một số gen mã hóa tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập được từ lợn.

2.2. Nguyên liệu

- Các loại môi trường dùng để bồi dưỡng, giám định vi khuẩn *Salmonella*: Blood agar base, Mueller Hilton agar, DHL agar, LB broth...

- Các loại giấy tẩm kháng sinh do hãng Oxoid sản xuất.

- Các loại hóa chất và các cặp mồi dùng trong phản ứng PCR để xác định một số gen mã hóa khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella*.

- Thiết bị, dụng cụ, hóa chất chuyên dụng trong phòng thí nghiệm bộ môn Vi trùng, Viện Thú y.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

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

Vi khuẩn *Salmonella* phân lập được trên lợn bằng kháng sinh đồ dựa theo phương pháp của Kirby- Bauer đối với 10 loại kháng sinh, đó là: ampicillin (Am) 10 µg, chloramphenicol (Cm) 30 µg, kanamycin (Km) 30 µg, streptomycin (Sm) 10 µg, sulfisoxazole (Su) 250 µg, tetracycline (Tc) 30 µg, gentamycin (Gm) 10 µg, ciprofloxacin (Cip) 5 µg, ofloxacin (OFX) 5 µg và cephalothin (CF) 30 µg. Kết quả được đánh giá theo tiêu chuẩn của NCCLS (National committee for Clinical Laboratory Standards) - Hoa Kỳ.

2.3.2. Phương pháp xác định một số gen mã hóa tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* bằng phản ứng PCR đơn phức

- Chuẩn bị DNA: Các chủng vi khuẩn cần kiểm tra được nuôi cấy trên môi trường thạch máu ở 37°C trong 24 giờ. Lấy 1 – 2 khuẩn lạc hòa vào 300 µl nước khử ion vô trùng. Đun cách thủy ở 100°C trong 15 phút, ly tâm 10.000 vòng/phút trong 10 phút. Hút phần dịch nổi có chứa DNA để làm phản ứng PCR.

- Tiến hành phản ứng PCR: Thực hiện phản ứng

PCR đơn phức với mỗi phản ứng sử dụng một cặp mồi đặc hiệu để xác định một loại gen kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng 3 cặp mồi khác nhau để xác định 3 loại gen kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella*, đó là gen *aphAI-lab* kháng kanamycin, gen β -lactamase TEM (*bla*_{TEM}) kháng ampicillin và gen *tetA(A)* kháng tetracyclin. Trình tự nucleotide của 3 cặp mồi và kích thước sản phẩm PCR tương ứng (NTB Thủy, 2009) được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi và kích thước sản phẩm PCR tương ứng

Ký hiệu mồi	Trình tự nucleotide	Sản phẩm
<i>aphAI-lab</i> -F	5'-AAACGTCTTGCTCGAGGC- 3'	500 bp
<i>aphAI-lab</i> -R	5'-CAAACCGTTATTCATTCGTGA-3'	
<i>bla</i> _{TEM} -F	5'-GCACGAGTGGGTTACATCGA-3'	310 bp
<i>bla</i> _{TEM} -R	5'-GGTCCTCCGATCGTTGTCAG-3'	
<i>tetA(A)</i> -F	5'-GCTACATCCTGCTTGCCCTTC-3'	210 bp
<i>tetA(A)</i> -R	5'-CATAGATCGCCGTGAAGAGG-3'	

- Thành phần của phản ứng PCR bao gồm: 1X PCR buffer, 0,2 mM dNTPs, 2 mM MgCl₂, 0,2 µM mỗi loại primer, 0,05 µl Taq DNA polymerase, 1 µl DNA template và nước cất vừa đủ 25 µl.

Điều kiện của phản ứng PCR gồm các bước: Tiền biến tính ở 95°C/5 phút, sau đó là 30 chu kỳ gồm biến tính ở 95°C/ 1 phút, bắt cặp mồi ở 54°C/ 1 phút (với *aphAI-lab* và *bla*_{TEM}) hoặc 58°C/ 1 phút (với *tetA(A)*), tổng hợp ở 72°C/ 1 phút và cuối cùng là kéo dài ở 72°C/ 7 phút.

Sản phẩm PCR sau đó được điện di trên thạch agarose gel 1%, nhuộm bằng ethidium bromide và đọc kết quả bằng hệ thống Gel Doc.

2.3.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các kết quả thu được trong các thí nghiệm được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học và phần mềm Excel.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Lựa chọn các chủng *Salmonella* phân lập được dùng trong nghiên cứu

Bảng 2. Kết quả lựa chọn các chủng *Salmonella* phân lập được phục vụ nghiên cứu

STT	Serovar	Số chủng được chọn
1	<i>S. typhimurium</i>	15
2	<i>S. derby</i>	14
3	<i>S. choleraesuis</i>	12
4	<i>S. rissen</i>	6
5	<i>S. anatum</i>	5
6	<i>S. sandow</i>	4
7	<i>S. bargny</i>	4
Tổng		60

Chúng tôi đã lựa chọn được 60 chủng *Salmonella* thuộc 7 serovar khác nhau gồm: 15 chủng *S. typhimurium*, 14 chủng *S. derby*, 12 chủng *S. choleraesuis*, 6 chủng *S. rissen*, 5 chủng *S. anatum*, 4 chủng *S. sandow* và 4 chủng *S. bargny*. Các chủng vi khuẩn này được phân lập từ các nguồn gốc khác nhau như từ thịt, phủ tạng, chất chứa ruột của lợn tại một số tỉnh phía Bắc và Tây Nguyên, được định typ bằng kháng huyết

thanh chuẩn của hãng Denka Seiken Co., Ltd, Tokyo, Nhật Bản.

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

Tiến hành kiểm tra khả năng kháng kháng sinh của 60 chủng *Salmonella* thuộc 7 serovar khác nhau đối với 10 loại kháng sinh thu được kết quả như trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả kiểm tra khả năng kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập được

Loại kháng sinh	Chủng <i>Salmonella</i> kiểm tra						
	<i>S. typhimurium</i> (n=15)	<i>S. derby</i> (n=14)	<i>S. choleraesuis</i> (n=12)	<i>S. rissen</i> (n=6)	<i>S. anatum</i> (n=5)	<i>S. sandow</i> (n=4)	<i>S. bargny</i> (n=4)
Ampicillin (Am)	13 (86,67%)	11 (78,57%)	0	0	1 (20%)	0	1 (25%)
Chloramphenicol (Cm)	9 (60%)	5 (35,71%)	0	0	0	0	1 (25%)
Kanamycin (Km)	12 (80%)	10 (71,43%)	0	0	0	0	0
Streptomycin (Sm)	13 (86,67%)	6 (42,86%)	0	0	0	0	0
Sulfisoxazole (Su)	11 (73,33%)	8 (57,14%)	0	0	1 (20%)	0	1 (25%)
Tetracycline (Tc)	14 (93,33%)	9 (64,29%)	0	2 (33,33%)	2 (40%)	0	1 (25%)
Gentamycin (Gm)	5 (33,33%)	0	0	0	0	0	0
Ciprofloxacin (Cip)	3 (20%)	2 (14,29%)	1 (8,33%)	0	0	0	0
Ofloxacin (OFX)	0	0	0	0	0	0	0
Cephalothin (CF)	0	4 (28,57%)	0	0	0	0	0

Kết quả từ bảng 3 cho thấy trong số 7 serovar *Salmonella* nghiên cứu thì *S. typhimurium* và *S. derby* là 2 serovar có nhiều chủng kháng với nhiều loại kháng sinh nhất, với khả năng kháng 8/10 loại kháng sinh kiểm tra, trong khi đó các chủng thuộc serovar *S. sandow* lại mẫn cảm với cả 10 loại kháng sinh kiểm tra.

Các chủng vi khuẩn *S. typhimurium* có tỷ lệ kháng cao nhất với các loại kháng sinh kiểm tra. Với 15 chủng kiểm tra thì có tới 14 chủng kháng lại tetracyclin, chiếm tỷ lệ cao nhất với 93,33%; 86,67% số chủng kháng lại ampicillin và streptomycin (với 13/15 chủng kiểm tra); 80% chủng kháng kanamycin (12/15 chủng); 73,33% chủng kháng sulfisoxazole (11/15 chủng); 60% chủng kháng chloramphenicol (9/15 chủng); 33,33% kháng gentamycin (5/15 chủng) và 20% kháng ciprofloxacin (3/15 chủng). Tuy nhiên, cả

15 chủng *S. typhimurium* này đều mẫn cảm với 2 loại kháng sinh là ofloxacin và cephalothin.

Các chủng *S. derby* cũng có khả năng kháng với 8/10 (AmCmKmSmSuTcCipCF) loại kháng sinh kiểm tra với tỷ lệ từ 14,29% đến 78,57%. Trong đó, tỷ lệ chủng kháng cao nhất là với ampicillin với 78,57% (11/14 chủng), tiếp đến là 71,43% chủng kháng kanamycin (10/14 chủng), 64,29% chủng kháng tetracyclin (9/14 chủng), 57,14% kháng sulfisoxazole (8/14 chủng), 42,86% chủng kháng streptomycin (6/14 chủng), 35,71% chủng kháng chloramphenicol (5/14 chủng), 28,57% chủng kháng cephalothin (4/14 chủng) và 14,29% chủng kháng ciprofloxacin (2/14 chủng). Ngược lại, không có chủng nào kháng lại ofloxacin và gentamycin.

Trong khi đó, các chủng *S. bargny* chỉ kháng lại 4 loại kháng sinh là ampicillin, chloramphenicol, sulfisoxazole, tetracyclin đều với tỷ lệ 25% và tất

cả mẫn cảm với 6 loại kháng sinh còn lại. 40% chủng *S. anatum* kháng tetracyclin và 20% kháng ampicillin, sulfisoxazole. Chỉ có 2/6 chủng *S. rissen* kiểm tra (33,33%) kháng với duy nhất 1 loại kháng sinh, đó là tetracyclin và 1/12 chủng *S. choleraesuis* kiểm tra (8,33%) kháng với duy nhất ciprofloxacin.

Có thể nhận thấy, trong số các loại kháng sinh kiểm tra thì tetracyclin là kháng sinh bị kháng nhiều nhất với 28/60 chủng *Salmonella* thuộc 5/7 serovar nghiên cứu. Sau đó là ampicillin bị kháng bởi 26/60 chủng của 4/7 serovar nghiên cứu, sulfisoxazole bị kháng bởi 21/60 chủng thuộc 4/7 serovar nghiên cứu. Ngược lại, rất đáng quan tâm là ofloxacin là loại kháng sinh duy nhất không bị kháng bởi bất kỳ một chủng *Salmonella* kiểm tra nào. Điều này cho thấy mặc dù vi khuẩn *Salmonella* ngày càng kháng với nhiều loại kháng sinh nhưng vẫn rất mẫn cảm đối với ofloxacin, ít nhất là đối với những chủng đang dùng trong nghiên cứu. Kết quả này cũng khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Tô Liên Thu năm 2004 với 90% chủng *Salmonella* phân lập được trên thịt lợn và thịt gà mẫn cảm với ofloxacin.

Từ kết quả kiểm tra khả năng kháng kháng sinh cho thấy, các chủng *Salmonella* phân lập được từ lợn dùng trong nghiên cứu có khả năng

kháng đồng thời với nhiều loại kháng sinh khác nhau, đặc biệt là các chủng *S. typhimurium* (AmCmKmSmSuTcGmCip) và *S. derby* (AmCmKmSmSuTcCipCF) với khả năng kháng 8/10 loại kháng sinh kiểm tra với tỷ lệ kháng rất cao. Điều này hết sức nguy hiểm, do vậy cần có những nghiên cứu sâu hơn như xác định các kiểu gen kháng thuốc của vi khuẩn để có thể đánh giá đầy đủ về khả năng kháng thuốc của vi khuẩn, từ đó đưa ra các biện pháp đối phó phù hợp để phòng chống và kiểm soát sự lây lan của mầm bệnh này.

3.3. Kết quả xác định một số gen kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập được

Chúng tôi tiến hành kiểm tra 3 loại gen kháng kháng sinh, đó là: gen *bla_{TEM}* kháng ampicillin đối với 26 chủng *Salmonella* gồm 13 chủng *S. typhimurium*, 11 chủng *S. derby*, 1 chủng *S. anatum* và 1 chủng *S. bargny*; gen *aphA1-lab* kháng kanamycin đối với 22 chủng gồm 12 chủng *S. typhimurium* và 10 chủng *S. derby*; gen *tetA* (A) đối với 28 chủng gồm 14 chủng *S. typhimurium*, 9 chủng *S. derby*, 2 chủng *S. rissen*, 2 chủng *S. anatum* và 1 chủng *S. bargny*. Kết quả thu được như trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả xác định một số gen kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập được

Chủng <i>Salmonella</i>	Gen kháng kháng sinh		
	<i>bla_{TEM}</i> (Am)	<i>aphA1-lab</i> (Km)	<i>tetA</i> (A) (Te)
<i>S. typhimurium</i>	10/13 (76,9 %)	8/12 (66,6 %)	12/14 (85,7 %)
<i>S. derby</i>	7/11 (63,6 %)	7/10 (70 %)	6/9 (66,6 %)
<i>S. rissen</i>	-	-	0/2 (0%)
<i>S. anatum</i>	0/1 (0%)	-	0/2 (0%)
<i>S. bargny</i>	0/1 (0%)	-	0/1 (0%)
Tổng	17/26	15/22	18/28

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

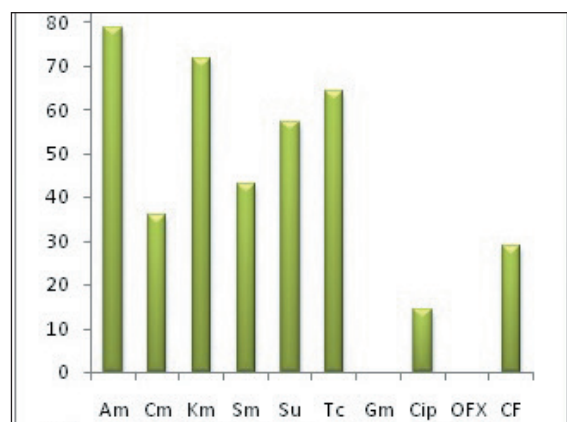
- Đối với gen *bla_{TEM}*: 10/13 (76,9%) chủng *S. typhimurium* và 7/11 (63,6%) chủng *S. derby* kiểm

tra bằng PCR đều có chứa gen *bla_{TEM}* với sản phẩm PCR là 310 bp. Trong khi đó, ở các chủng *S. anatum* và *S. bargny* không có gen này.

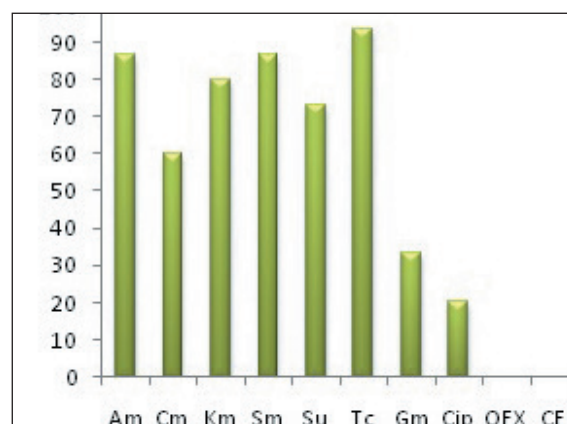
- Đối với gen *aphAI-Iab*: 8/12 (66,6%) chủng *S. typhimurium* và 7/10 (70%) chủng *S. derby* kiểm tra đều có chứa gen *aphAI-Iab* với sản phẩm PCR là 500 bp.

- Đối với gen *tetA* (A): 12/14 (85,7%) chủng *S. typhimurium* và 6/9 (66,6%) chủng *S. derby* kiểm tra đều có chứa gen *tetA* (A) với sản phẩm PCR là 210 bp, trong khi các chủng *S. rissen*, *S. anatum* và *S. derby* kiểm tra đều không có chứa gen này.

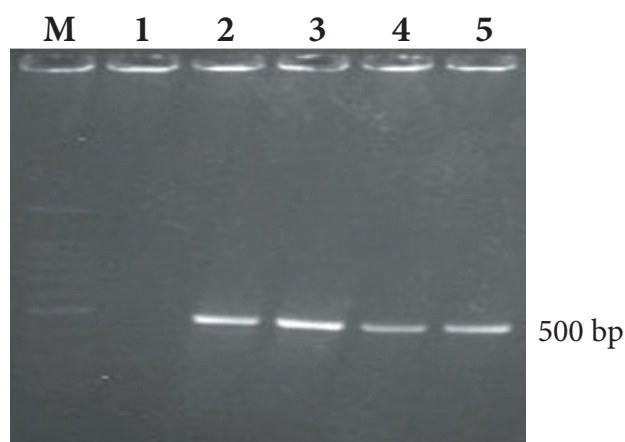
Tỷ lệ các chủng *S. typhimurium* và *S. derby*



Biểu đồ 1. Tỷ lệ kháng thuốc của *S. derby*

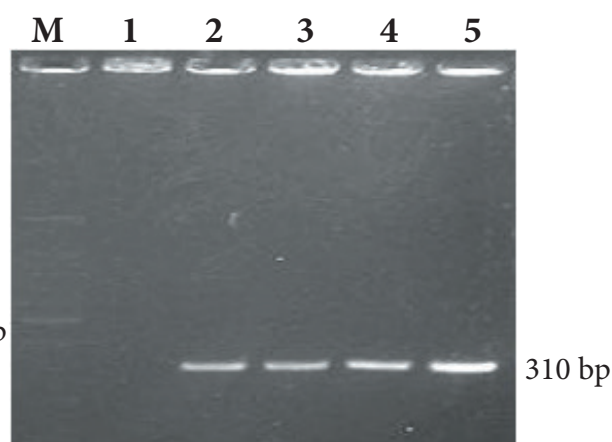


Biểu đồ 2. Tỷ lệ kháng thuốc của *S. typhimurium*



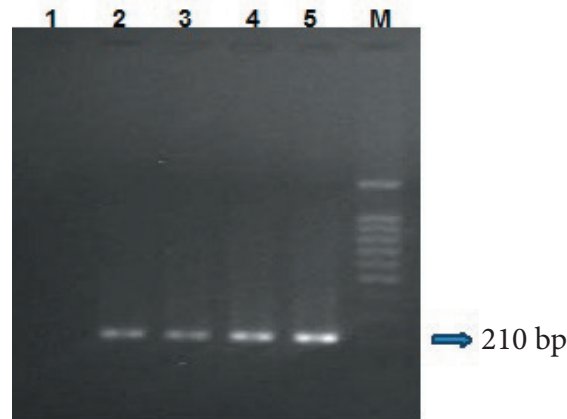
Hình 1. Sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi *aphAI-IAB*

Giếng 3 đến 5: *S. typhimurium* S2, S3 và S4.
Giếng 1: Đối chứng âm (DDW). Giếng 2: Đối chứng dương (*S. typhimurium* DT 104). Giếng M: Thang chuẩn 100 bp



Hình 2. Sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi *blaTEM*

Giếng 3 đến 5: *S. typhimurium* S1, S2 và S3.
Giếng 1: Đối chứng âm (DDW). Giếng 2: Đối chứng dương (*S. typhimurium* DT 104). Giếng M: Thang chuẩn 100 bp.



Hình 3. Sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi tet A

Giếng 3 đến 5: *S. typhimurium* S1, S2 và S3. Giếng 1: Đối chứng âm (DDW). Giếng 2: Đối chứng dương (*S. typhimurium* DT 104). Giếng M: Thang chuẩn 100bp

IV. KẾT LUẬN

- 60 chủng *Salmonella* thuộc 7 serovar khác nhau đã được lựa chọn để nghiên cứu gồm: 15 chủng *S. typhimurium*, 14 chủng *S. derby*, 12 chủng *S. choleraesuis*, 6 chủng *S. rissen*, 5 chủng *S. anatum*, 4 chủng *S. newport* và 4 chủng *S. bargny*. Trong đó *S. typhimurium* và *S. derby* là 2 serovar có nhiều chủng kháng với nhiều loại kháng sinh nhất với khả năng kháng 8/10 loại kháng sinh kiểm tra, trong khi đó các chủng thuộc serovar *S. newport* lại mẫn cảm với cả 10 loại kháng sinh kiểm tra.

- Phát hiện các gen kháng kháng sinh là *bla*_{TEM} *aphA1-Iab* và *tetA* (A) ở mức độ cao ở các chủng vi khuẩn *S. typhimurium* và *S. derby* kháng kháng sinh, trong khi có ít ở các chủng *Salmonella* khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Asai, T., Esaki, H., Kojima, A., Ishihara, K., Tamura, Y., and Takahashi, T., 2006. *Antimicrobial resistance in Salmonella isolates from apparently healthy food-producing animal from 2000 to 2003: the first stage of Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring (JVARM)*. J Vet Med Sci 68:881-4.
2. Baggesen, D. L., D. Sandvang, and F. M. Aarestrup., 2000. *Characterization of Salmonella enterica serovar typhimurium DT104 isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States*. J Clin Microbiol 38:1581-6.
3. Kishima, M., Uchida, i., Namimatsu, T., Osumi, T., Takahashi, S., Tanaka, K., Aoki, H., Matsuura, K. and Yamamoto, K., 2008. *“Nationwide Surveillance of Salmonella in the Faeces of Pigs in Japan”*.
4. Kuo, H.C., Lauderdale, T.L., Lo, D.Y., Chen, C.L., Chen, P.C, et al., 2014. *An Association of Genotypes and Antimicrobial Resistance Patterns among Salmonella Isolates from Pigs and Humans in Taiwan*. PLoS ONE 9(4): e95772. doi:10.1371/journal.pone.0095772.
5. Nguyễn Thị Bích Thủy, 2009. *Đặc tính của Salmonella phân lập được từ lợn khỏe ở Hokkaido, Japan và sự di chuyển ngang của các gen kháng thuốc và gen độc lực giữa họ Enterobacteriaceae*. Luận án Tiến sĩ, Trường Đại học Nông nghiệp và Thú y Obihiro, Nhật Bản.
6. Oh, S.I., Kim, J.W., Chae, M., Jung, J.A., So, B., Kim B, Kim, H.Y., 2016. *Characterization and bial Resistance of Salmonella Typhimurium Isolates from Clinically Diseased Pigs in Korea*. J Food Prot. 2016 Nov;79(11):1884-1890. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-131.

7. Pornsukarom, S., Thakur, S., 2017. *Horizontal dissemination of antimicrobial resistance determinants in multiple Salmonella serotypes following isolation from the environment of commercial swine operations after manure application*. Appl Environ Microbiol. AEM.01503-17. doi: 10.1128/AEM.01503-17.
 8. Sinwat, N., Angkittitrakul, S., Coulson, K.F., Pilapil, F.M., Meunsene, D., Chuanchuen, R., 2016. *High prevalence and molecular characteristics of multidrug-resistant Salmonella in pigs, pork and humans in Thailand and Laos provinces*. J Med Microbiol. 2016 Oct;65(10):1182-1193. doi: 10.1099/jmm.0.000339. Epub 2016 Aug 19.
 9. Taguchi, M., Seto, K., Kanki, M., Tsukamoto, T., Izumiya, H., and Watanabe, H., 2005. *Outbreak of food poisoning caused by lunch boxes prepared by a company contaminated with multidrug resistant Salmonella typhimurium DT104*. Jpn J Infect Dis 58:55-6.
 10. Tô Liên Thu, 2004. “*Tình trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn Salmonella và E.coli phân lập được từ thịt lợn và thịt gà tại vùng đồng bằng Bắc bộ*”. Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y, số 4, tr. 29 –35.
 11. Trongjit, S., Angkittitrakul, S., Tuttle, R. E., Pongsere, J., Padungtod, P. and Chuanchuen, R., 2017. *Prevalence and antimicrobial resistance in Salmonella enterica isolated from broiler chickens, pigs and meat products in Thailand–Cambodia border provinces*. Microbiol Immunol, 61: 23–33. doi:10.1111/1348-0421.12462
 12. Van Duijkeren, E., Wannet, W.J., Houwers, D.J and van Pelt, W., 2002. *Serotype and phage type distribution of Salmonella strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001*. J Clin Microbiol 40:3980-5.
 13. Van, T.T., Moutafis, G., Tran, L.T., Coloe, P.J., 2007. *Antibiotic Resistance in Food-Borne Bacterial Contaminants in Vietnam*. Appl Environ Microbiol.
- Ngày nhận 29-8-2017
 Ngày phản biện 5-10-2017
 Ngày đăng 1-1-2018