

PHÂN TÍCH MỘT SỐ GEN KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *E. COLI* PHÂN LẬP TỪ LỢN CON MẮC BỆNH TIÊU CHẢY

Võ Thành Thìn¹, Lưu Thị Nguyệt Minh¹, Lê Đình Hải¹,
Nguyễn Ngọc Nhiên², Vũ Khắc Hùng¹

TÓM TẮT

Đã tiến hành phân tích gen kháng kháng sinh của 184 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con mắc bệnh tiêu chảy tại một số tỉnh Nam Trung bộ và Tây Nguyên. Tất cả các chủng vi khuẩn đều mang ít nhất 1 gen kháng kháng sinh. Trong đó, tỷ lệ các chủng vi khuẩn mang một số gen đề kháng nhóm kháng sinh aminoglycosid là cao nhất (98,37%), tiếp theo là nhóm tetracyclin (95,11%), sulfonamid (84,24%), β – lactam (62,5%), phenicol (56,52%) và quinolone (46,74%). Đây là những kết quả đầu tiên về gen kháng kháng sinh ở vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con bị bệnh tiêu chảy tại Việt Nam.

Từ khóa: *E.coli*, Gen kháng kháng sinh, Lợn con, Tiêu chảy

GENETIC ANALYSIS OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN *E. COLI* ISOLATED FROM DIARRHEIC PIGLETS

Võ Thành Thìn, Lưu Thị Nguyệt Minh, Lê Đình Hải,
Nguyễn Ngọc Nhiên, Vũ Khắc Hùng

SUMMARY

This study was carried out to screen and analyzed the genetic basis of antimicrobial resistance in 184 *E. coli* strains isolated from diarrheic piglets in Central region and Highland of Vietnam. The results showed that most of the strains carried at least 1 antibiotic resistance gene. Among of these tested ioslates, 98.37% of strains possessed genes resistance to Aminoglycosid group. The prevalence of strains carried genes resistance to tetracyclin, sulfonamid, β – lactam, phenicol and quinolone were 95.11%, 84.24%, 62.5%, 56.52% and 46.74%, respectively. To the best of our knowledge, this is the first report for molecular characterization of antimicrobial resistance in *E. coli* isolated from diarrheic piglets in Vietnam.

Key words: *E.coli*, Antimicrobial resistance gene, Piglet, Diarrhea

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tiêu chảy ở lợn con do vi khuẩn *E. coli* là một trong những nguyên nhân gây thiệt hại kinh tế lớn cho ngành chăn nuôi lợn. Sử dụng kháng sinh để điều trị bệnh là một trong những biện pháp quan trọng nhất để làm giảm tỷ lệ chết ở gia súc. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, vi khuẩn có khả năng kháng lại với một hoặc nhiều loại kháng sinh, đặc biệt là đối với những loại kháng sinh được sử dụng rộng rãi trong chăn nuôi và thú y (Boerlin và cs., 2005; Costa và cs., 2008; Ahmed và cs., 2009). Theo Moyaert và cs. (2006), việc sử dụng nhiều kháng sinh không những tạo áp lực chọn lọc đối với vi khuẩn gây bệnh mà còn ảnh hưởng đến hệ vi sinh vật trong đường tiêu hóa, làm cho vi khuẩn trở nên đề kháng với kháng sinh.

Sự gia tăng của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ động vật có khả năng đề kháng lại với kháng sinh cũng đã được nhiều tác giả nghiên cứu như Maynard và cs. (2003), Yang và cs. (2004). Tuy nhiên, có rất ít thông tin liên quan đến khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn ở mức độ phân tử được nghiên cứu tại Việt Nam, vì thế, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định một số gen kháng kháng sinh thuộc các nhóm β -lactam, aminoglycosid, tetracyclin, sulfonamid, phenicol và quinolone ở các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con bị bệnh tiêu chảy tại một số tỉnh Nam Trung bộ và Tây Nguyên.

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

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Xác định một số gen kháng kháng sinh thuộc các nhóm β -lactam, aminoglycosid, tetracyclin, sulfonamid, phenicol và quinolone của vi khuẩn *E. coli*;

¹ Phân viện thú y miền Trung

² Hội thú y Việt Nam

2.2. Nguyên liệu nghiên cứu

- Các chủng vi khuẩn *E. coli* mang ít nhất một yếu tố độc lực, những chủng vi khuẩn này được phân lập từ lợn con mắc bệnh tiêu chảy.
- Các chủng vi khuẩn đối chứng dương: do Phòng thí nghiệm miễn dịch, Khoa thú y, trường Đại học Gent và Phòng thí nghiệm Ultrastructure, trường Đại học Vrije - Brussel, Vương quốc Bỉ cung cấp.
- Các loại hóa chất, sinh phẩm dùng cho phản ứng PCR, multiplex PCR do Promega (USA) sản xuất và cung cấp.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- DNA của vi khuẩn được chiết tách bằng phương pháp shock nhiệt: ly tâm canh khuẩn *E. coli* ở 4°C với tốc độ 3000 vòng/phút, trong 3 phút; hoàn nguyên cặn trong nước (free Dnase, Rnase) và đun sôi cách thủy ở 100°C trong 10 phút; tiến hành shock nhiệt trong đá 5 phút; ly tâm 4000 vòng/phút trong 4 phút. Thu hoạch nước nổi có chứa DNA của tế bào vi khuẩn, bảo quản DNA ở -20°C.
- Xác định gen kháng kháng sinh bằng phương pháp PCR/multiplex PCR như Boerlin và cs. (2005); Sunde và Norstrom, (2006); Ahmed và cs. (2009) với các cặp mồi đặc hiệu được mô tả trong bảng 1.

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi đặc hiệu xác định gen kháng kháng sinh

Nhóm kháng sinh	Gen	Mồi	Trình tự nucleotide của mồi (5' → 3')	Sản phẩm PCR (bp)
β-Lactam	<i>bla_{TEM}</i>	<i>bla_{TEM}-F</i>	TTCTTGAAGACGAAAGGGC	1150
		<i>bla_{TEM}-R</i>	ACGCTCAGTGGAAACGAAAAC	
	<i>bla_{SHV}</i>	<i>bla_{SHV}-F</i>	CACTCAAGGATGTATTGTG	885
		<i>bla_{SHV}-R</i>	TTAGCGTTGCCAGTGCTCG	
	<i>bla_{CMY}</i>	<i>bla_{CMY}-F</i>	CTCAGGAATGAGTTACGAAGAGG	550
		<i>bla_{CMY}-R</i>	AAT CCA CCA GTG GAG CCC	
Aminoglycosid	<i>strA-strB*</i>	<i>Str-F</i>	TATCTACGAACTGGACCCTCTG	538
		<i>Str-R</i>	CATTGCTTCATTTGATCGGAT	
	<i>aadA</i>	<i>aadA-F</i>	GCAGCGCAATGACATTCTTG	280
		<i>aadA-R</i>	ATCCTTCGGCGCGATTTTG	
	<i>aac(3)-II</i>	<i>aac2-F</i>	ACTTATGATGGGATACGGTC	237
		<i>aac2-R</i>	CTCCATCAGCGTTTCAGCTG	
	<i>aac(3)-IV</i>	<i>aac4-F</i>	CTGAGGATGGCAAGTATGGT	286
		<i>aac4-R</i>	TCAATTCTCGTTCTCGCCTCAT	
Tetracyclin	<i>tetA</i>	<i>tetA-F</i>	TTGGTCCTGAAGTGCCCTTAA	370
		<i>tetA-R</i>	GCCGTCCATCGAGTGAACCAGT	
	<i>tetB</i>	<i>tetB-F</i>	CTGAGTAGTCCAAGACTTTA	435
		<i>tetB-R</i>	ATAATCACTTGTCTCATGTG	
	<i>tetC</i>	<i>tetC-F</i>	TCTAACAATGCGCTCATCGT	588
		<i>tetC-R</i>	GGTTGAAGGCTCTCAAGGGC	
Phenicol	<i>floR</i>	<i>Flo-F</i>	CACGTTGAGCCTCTATATGG	885
		<i>Flo-R</i>	ATGCAGAAGTAGAACGCGAC	
Sulfonamid	<i>sulIII</i>	<i>sulIII-F</i>	AGGGGGCAGATGTGATCGAC	625
		<i>sulIII-R</i>	TGTGCGGATGAAGTCAGCTCC	
Quinolone	<i>qnrA</i>	<i>qnrA-F</i>	ATTTCTCACGCCAGGATTTG	516
		<i>qnrA-R</i>	GATCGGCAAAGGTTAGGTCA	
	<i>qnrB</i>	<i>qnrB-F</i>	GATCGTGAAAGCCAGAAAGG	469
		<i>qnrB-R</i>	ACGATGCCTGGTAGTTGTCC	
	<i>qnrS</i>	<i>qnrS-F</i>	ACGACATTCGTCAACTGCAA	417
		<i>qnrS-R</i>	TAAATTGGCACCCCTGTAGGC	
	<i>aac(6)-Ib-cr</i>	<i>aac(6')-F</i>	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	481
		<i>aac(6')-R</i>	CTCGAATGCCTGGCGTGTTT	

*: Cặp mồi *Str-F/Str-R* đặc hiệu với cả 2 gen *strA* và *StrB*

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Gen kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* được xác định bằng phản ứng PCR và multiplex PCR với các cặp môi đặc hiệu (bảng 1). Đối với nhóm β -lactam, khả năng đề kháng của vi khuẩn được xác định thông qua phát hiện các gen *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}* và *bla_{CMY}* mã hóa cho các enzym β -lactamase. Các gen kháng kháng sinh thuộc nhóm aminoglycosid được xác định là *strA*, *strB*, *aadA*, *aac(3)-II*, *aac(3)-IV*. Khả năng đề kháng của vi khuẩn đối với tetracyclin được phát hiện thông qua gen *tetA*, *tetB* và *tetC*; nhóm sulfonamid là gen *sulIII*; nhóm phenicol là gen *floR*. Bên cạnh đây, phản ứng PCR cũng được ứng dụng để xác định các gen đề kháng nhóm quinolone là *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* và *aac(6')-Ib-cr*.

3.1. Xác định gen mã hóa β -lactamase

Nhóm kháng sinh β -lactam được cấu tạo đặc trưng bởi vòng β -lactam và được chia thành các nhóm nhỏ dựa vào cấu trúc hóa học như các penam (vòng A có 5 cạnh bão hòa: penicillin và các chất ức chế β -lactamase), cephem (vòng A có 6 cạnh không điều hòa: các Cephalosporin), penem (vòng A 5 cạnh không điều hòa: Imipenem, Ertapenem) và monobactam (không có vòng A – đây là các kháng sinh có thể tổng hợp như Aztreonam) (Đào Trọng Phan và cs., 2007). Kháng sinh thuộc nhóm β -lactam có khả năng diệt khuẩn là nhờ vòng β -lactam kết hợp bền vững với transpeptidase - enzym tham gia tổng hợp peptidoglycan của thành tế bào vi khuẩn. Do đó, ức chế quá trình tạo thành tế bào, làm ly giải hoặc biến dạng vi khuẩn. Vi khuẩn gram âm có thể đề kháng lại các kháng sinh này là do vi khuẩn tự sản sinh ra enzym β -lactamase, enzym này sẽ thủy phân vòng β -lactam và làm mất hoạt tính diệt khuẩn của kháng sinh (Livermore và Woodford, 2006). Có rất nhiều loại enzym β -lactamase đã được xác định như TEM-, SHV-, OXA-, CMY-, CTX-Mb, AmpC-. Tuy nhiên, các β -lactamase được mã hóa bởi các gen *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CMY}* là phổ biến nhất ở vi khuẩn gram âm (Livermore và Woodford, 2006; Ahmed và cs, 2007).

Kết quả phân tích gen đề kháng kháng sinh nhóm β -lactam cho thấy có 115/184 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con mắc bệnh tiêu chảy có khả năng sản sinh ít nhất 1 loại β -lactamase (bảng 2). Trong đó, cao nhất là β -lactamase – TEM (61,96%), tiếp theo là β -lactamase – SHV (0,54%) và β -lactamase – CMY (1,63%). Theo Ahmed và cs. (2009), những chủng vi khuẩn sản sinh β -lactamase – TEM sẽ có khả năng đề kháng với các kháng sinh thuộc nhóm penicillin và cephalosporin thế hệ thứ nhất; β -lactamase – SHV, β -lactamase – OXA, β -lactamase – CTX-Mb đề kháng với Oxyimino – cephalosporin như Cefotaxime, Ceftazidime, Cefpodoxime, Ceftriaxone; β -lactamase – CMY đề kháng với 7- α -methoxycephalosporins như Cefoxitin và Cefotetan. So sánh kết quả phân tích kiểu gen (genotype) với phân tích kiểu hình (phenotype) kháng kháng sinh (Võ Thành Thìn và cs., 2010), chúng tôi nhận thấy có sự tương quan chặt chẽ. Hầu hết các chủng mang gen kháng kháng sinh đều thể hiện khả năng kháng với kháng sinh đó khi kiểm tra bằng phương pháp khuếch tán trên thạch Mueller Hinton.

3.2. Xác định gen kháng kháng sinh nhóm aminoglycosid

Gen kháng kháng sinh nhóm aminoglycosid của vi khuẩn gram âm thường nằm trên integron class 1 và class 2. Đây là những phân đoạn DNA có thể chèn vào phức hợp gen kháng kháng sinh (antibiotic resistance gen cassettes) bằng hệ thống tái tổ hợp điểm đặc hiệu (site-specific recombination system) (Mazel, 2006). Cấu trúc của integron class 1 và 2 tương đối giống nhau. Các integron thường liên kết với transposon Tn7 và mang gen mã hóa cho enzym Dihydrofolate reductase (*dhfrA*), Streptothricin acetyltransferase (*sat*) và Aminoglycoside adenyltransferase (*strA*, *strB*, *aadA*, *aac(3)*). Những enzym này giúp cho vi khuẩn gram âm đề kháng với kháng sinh nhóm Aminoglycosid như Trimethoprim (*dhfrA*), Streptothricin và Streptomycin / Spectinomycin (*strA*, *strB*, *aadA*), Gentamicin và Sisomicin (*aac(3)*) (Ahmed và cs., 2005).

Các gen kháng kháng sinh *strA/strB*, *aadA*, *aac(3)-II* và *aac(3)-IV* đã được chúng tôi tìm thấy ở các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con mắc bệnh tiêu chảy với tỷ lệ tương ứng là 71,2%, 91,85%, 53,26% và 2,17% (bảng 2). Năm 2009, Ahmed và cs. cũng đã xác định được các gen này ở các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ bê sơ sinh mắc bệnh tiêu chảy. Gen *aadA* cũng được tìm thấy ở các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con tiêu chảy tại Canada (Maynard và cs., 2003), Thụy Sĩ (Lanz và cs., 2003) và Trung Quốc (Yang và cs., 2004). Theo Sunde và Norstrom (2006), hầu hết các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ thịt và sản phẩm từ thịt tại Na Uy đều mang gen kháng Streptomycin / Spectinomycin là *strA*, *strB*, *aadA*.

Bảng 2. Kết quả phân tích một số gen kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli*

Nhóm kháng sinh	Gen	Số chủng kiểm tra	Số chủng dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)
β-Lactam	<i>bla_{TEM}</i>	184	114	61,96
	<i>bla_{SHV}</i>	184	1	0,54
	<i>Bla_{CMY}</i>	184	3	1,63
	<i>bla_{TEM}/bla_{SHV}/bla_{CMY}*</i>	184	115	62,50
Aminoglycosid	<i>strA-strB</i>	184	131	71,20
	<i>aadA</i>	184	169	91,85
	<i>aac(3)-II</i>	184	98	53,26
	<i>aac(3)-IV</i>	184	4	2,17
	<i>strA-strB/aadA/aac(3)-II/aac(3)-IV*</i>	184	181	98,37
Tetracyclin	<i>tetA</i>	184	155	84,24
	<i>tetB</i>	184	51	27,72
	<i>tetC</i>	184	5	2,72
	<i>tetA/tetB/tetC*</i>	184	175	95,11
Phenicol	<i>floR</i>	184	104	56,52
Sulfonamide	<i>sulII</i>	184	155	84,24
Quinolone	<i>qnrA</i>	184	10	5,43
	<i>qnrB</i>	184	54	29,35
	<i>qnrS</i>	184	35	19,02
	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	184	11	5,98
	<i>qnrA/qnrB/qnrS/aac(6')-Ib-cr*</i>	184	86	46,74

*: mang ít nhất 1 gen

3.3. Xác định gen kháng kháng sinh nhóm tetracyclin

Tetracyclin là nhóm kháng sinh ức chế quá trình sinh tổng hợp protein của tế bào vi khuẩn do kháng sinh có thể gắn lên các ribosome. Kháng sinh này được sử dụng rộng rãi điều trị bệnh vật nuôi và bổ sung vào thức ăn chăn nuôi từ rất lâu. Tuy nhiên, một trong những vấn đề lớn khi sử dụng kháng sinh này là hiện tượng vi khuẩn kháng thuốc. Vi khuẩn có khả năng đề kháng lại Tetracyclin là nhờ một trong ba cơ chế: (1) vi khuẩn sẽ sản sinh ra một protein trong cytoplasmic, protein này có chức năng bơm Tetracyclin từ bên trong tế bào ra ngoài và luôn duy trì nồng độ Tetracyclin ở mức rất thấp, không đủ ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp protein của tế bào; (2) vi khuẩn sản sinh ra protein có trọng lượng phân tử khoảng 72 KDa, protein này bám lên ribosome và ngăn cản quá trình tương tác của Tetracyclin lên ribosome; (3) vi khuẩn sản sinh ra enzym (44 KDa) làm biến đổi cấu trúc hóa học của Tetracyclin, do đó làm kháng sinh mất hoạt tính diệt khuẩn và được thẩm thấu chủ động qua màng tế bào ra bên ngoài (Speer và cs., 1992). Các protein tham gia vào quá trình đề kháng với Tetracyclin của vi khuẩn được mã hóa bởi các gen kháng kháng sinh. Có hơn 60 gen kháng Tetracyclin (*tet*) đã được xác định và giải trình tự nucleotic. Tuy nhiên, ba trong số những gen thường gặp nhất là *tetA*, *tetB* và *tetC* (Roberts, 2005).

Kết quả xác định của chúng tôi đối với các gen *tetA*, *tetB* và *tetC* ở các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con mắc bệnh tiêu chảy cho thấy có 175/184 chủng mang ít nhất 1 gen kháng Tetracyclin. Trong đó, 84,24% chủng mang gen *tetA*, 27,72% chủng mang gen *tetB* và 2,72% chủng mang gen *tetC* (bảng 2). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của nhiều tác giả khác trên thế giới. Theo Boerlin và cs. (2005), đa số các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn tiêu chảy tại Canada có mang gen kháng Tetracyclin (*tetA*: 89%; *tetB*: 12%; *tetC*: 1%) và có sự tương đồng cao giữa kiểu gen và kiểu hình kháng kháng sinh (98%). Các gen *tetA*, *tetB* và *tetC* cũng được tìm thấy ở các chủng vi khuẩn *E. coli* có nguồn gốc khác nhau như lợn, bò, gà đẻ (Lanz và cs., 2003); thịt và sản phẩm thịt (Sunde và Nortrom, 2006); chó, mèo (Lanz và cs., 2003; Costa và cs., 2008).

3.4. Xác định gen kháng kháng sinh nhóm phenicol

Kháng sinh họ phenicol (Chloramphenicol, Florfenicol) gắn vào tiểu đơn vị 50S, ức chế enzym peptidyl transferase, do đó ức chế quá trình sinh tổng hợp protein của vi khuẩn. Đây cũng là những

kháng sinh được sử dụng rộng rãi trong chăn nuôi. Hiện nay, Chloramphenicol đã được cấm sử dụng trong điều trị bệnh gia súc cũng như bổ sung vào thức ăn. Florfenicol là kháng sinh thế hệ mới, có nguồn gốc từ Chloramphenicol với nhóm p-methyl sulfonyl, fluorine thay thế cho nhóm p-nitro và hydroxyl trong cấu trúc của Chloramphenicol (Plumb, 2002). Kháng sinh này được sử dụng điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở lợn từ năm 2000. Hiện tượng vi khuẩn đề kháng lại với kháng sinh này cũng đã xuất hiện trong nhiều trường hợp (Blickwede và Schwarz, 2004). Gen *floR* được xem là gen giúp vi khuẩn đề kháng lại với Chloramphenicol và Florfenicol. Gen này nằm trên plasmid và được phát hiện lần đầu tiên trên vi khuẩn *Pasteurella piscicida* phân lập từ cá vào năm 1996. Gen *floR* mã hóa cho protein màng, protein này hoạt động như cái bơm để đẩy Chloramphenicol và Florfenicol từ bên trong tế bào vi khuẩn ra ngoài. Vì thế, không đủ lượng kháng sinh cần thiết để thể hiện hoạt tính đối với vi khuẩn (Kim và Aoki, 1996).

Trong nghiên cứu này, 104/184 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn bị bệnh tiêu chảy mang gen *floR*. Khi phân tích kiểu hình, chúng tôi cũng nhận thấy có 23,37% chủng vi khuẩn *E. coli* đề kháng với Florfenicol (Võ Thành Thìn và cs., 2010). Điều này chứng tỏ khả năng vi khuẩn *E. coli* đề kháng với Florfenicol có thể sẽ ngày càng phát triển nếu không có định hướng sử dụng kháng sinh một cách hợp lý. Gen *floR* cũng đã được nhiều tác giả tìm thấy ở các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ bê và lợn tiêu chảy. Những chủng vi khuẩn này đều thể hiện khả năng đề kháng với Florfenicol khi kiểm tra bằng phương pháp khuếch tán trên thạch (Blickwede và Schwarz, 2004; Ahmed và cs., 2009).

3.5. Xác định gen kháng kháng sinh nhóm sulfonamid

Khả năng đề kháng với kháng sinh nhóm sulfonamide của vi khuẩn *E. coli* là rất phổ biến. Quá trình này có được là nhờ 3 gen là *sulI*, *sulII* và *sulIII*, mã hóa cho enzym dihydropteroate synthase - ức chế hoạt tính của sulfonamide (Enne và cs., 2001). Gen *sulI* thường liên kết với integron class 1, *sulII* và *sulIII* nằm trên plasmid (Antunes và cs., 2005).

Gen *sulII* đã được xác định ở 184 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con tiêu chảy tại một số tỉnh Nam trung bộ và Tây Nguyên bằng phương pháp PCR. Kết quả phân tích sản phẩm PCR cho thấy có 155 chủng mang gen *sulII*, chiếm 84,24%. Kết quả này cũng phù hợp với một số nghiên cứu khác là gen *sulII* thường chiếm ưu thế ở các chủng vi khuẩn *E. coli* có khả năng đề kháng với kháng sinh thuộc nhóm sulfonamide (Boerlin và cs., 2005; Costa và cs., 2008; Wu và cs., 2010).

3.6. Xác định gen kháng kháng sinh nhóm quinolone

Cơ chế đề kháng của vi khuẩn đối với kháng sinh nhóm quinolone được Martinez-Martinez và cs. phát hiện vào năm 1998. Gen điều hòa quá trình này là *qnr* nằm trên plasmid có khả năng truyền ngang. Có 3 gen *qnr* đã được xác định là *qnrA*, *qnrB* và *qnrS*. Những gen này mã hóa cho protein của nhóm pentapeptide để vô hiệu hoạt tính diệt khuẩn của kháng sinh (Robicsek và cs., 2006a). Bên cạnh đây, một cơ chế mới liên quan đến gen *aac(6')-Ib-cr* cũng được phát hiện. Gen này mã hóa cho biến thể mới của enzym aminoglycoside acetyltransferase với 2 thay đổi tại vị trí acid amine 102 và 179. Enzym này có tác dụng làm giảm hoạt tính của kháng sinh (Robicsek và cs., 2006b).

Kết quả phân tích các gen kháng kháng sinh này ở 184 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con mắc bệnh tiêu chảy tại một số tỉnh Nam trung bộ - Tây Nguyên là khá cao (46,74%). Trong đó, cao nhất là gen *qnrB* (29,35%), tiếp theo là *qnrS* (19,02%), *aac(6')-Ib-cr* (5,98%) và thấp nhất là *qnrA* (5,43%). Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của nhiều tác giả khác như Robicsek và cs. (2006c), Ahmed và cs. (2009). Theo các tác giả, tỷ lệ các chủng vi khuẩn *E. coli* mang gen đề kháng với kháng sinh nhóm Quinolone là rất thấp (2-4%). Tuy nhiên, khi so sánh kết quả phân tích kiểu gen và kiểu hình, chúng tôi nhận thấy kết quả này là phù hợp. Tất cả các chủng mang kiểu gen đều thể hiện kiểu hình là đề kháng với loại kháng sinh kiểm tra.

Như vậy, một số gen kháng kháng sinh thuộc 6 nhóm thông dụng đã được kiểm tra trên các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con mắc bệnh tiêu chảy. Tất cả các chủng vi khuẩn đều có thể mang ít nhất 1 gen kháng kháng sinh. Theo nhiều tác giả, các gen kháng kháng sinh là nằm trên plasmid. Những plasmid này có thể truyền ngang cho các chủng vi khuẩn khác và chúng trở nên đề kháng với kháng sinh. Điều này sẽ gây khó khăn cho công tác điều trị bệnh. Vì vậy, chúng ta cần có những hướng dẫn cụ thể, hợp lý trong việc sử dụng kháng sinh để điều trị bệnh cũng như bổ sung trong thức ăn. Định kỳ kiểm tra khả năng miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh trên lợn tại địa phương để

lựa chọn được kháng sinh điều trị bệnh hợp lý và có hiệu quả. Nên loại bỏ những kháng sinh mà vi khuẩn mang gen đề kháng với tỷ lệ cao.

IV. KẾT LUẬN

Đã xác định được một số gen kháng kháng sinh ở vi khuẩn *E. coli* bằng phương pháp PCR/multiplex PCR. Tất cả các chủng vi khuẩn đều mang ít nhất 1 gen kháng kháng sinh và có sự tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình kháng kháng sinh. Tỷ lệ các chủng vi khuẩn mang một số gen đề kháng nhóm kháng sinh aminoglycosid là cao nhất (98,37%), tiếp theo là nhóm tetracyclin (95,11%), sulfonamid (84,24%), β – lactam (62,5%), phenicol (56,52%) và thấp nhất là quinolone (46,74%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Thành Thìn, Lê Đình Hải, Vũ Khắc Hùng, 2010. Khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* phân lập từ lợn con mắc bệnh tiêu chảy. *Khoa học kỹ thuật thú y*, tập XVII, số 5, 5-10.
2. Ahmed, A.M., Younis, EEA., Osman, SA., Ishida, Y., El-khodery, SA., Shimamoto, T., 2009. Genetic analysis of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from diarrheic neonatal calves. *Veterinary Microbiology*, 136, 397–402.
3. Blickwede, M., and Schwarz, S., 2004. Molecular analysis of florfenicol-resistant *Escherichia coli* isolates from pigs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53, 58–64.
4. Boerlin, P., Travis, R., Gyles, C.L., Reid-Smith, R., Janecko, N., Lim, H., Nicholson, V., McEwen, S.A., Friendship, R., and Archambault, M., 2005. Antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from swine in Ontario. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 71 (11), 6753-6761.
5. Catry, B., Laevens, H., Devriese, L.A., Opsomer, G., DeKruif, A., 2003. Antimicrobial resistance in livestock. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 26, 81–93.
6. Costa, D., Poeta, P., Saenz, Y., Coelho, AL., Matos, M., Vinue, L., Rodrigues, J., and Torres, C., 2008. Prevalence of antimicrobial resistance and resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates recovered from healthy pets. *Veterinary Microbiology*, 127, 97–105.
7. Enne, V. I., Livermore, D.M., Stephens, P., and Hall, L.M.C., 2001. Persistence of sulphonamide resistance in *Escherichia coli* in the UK despite national prescribing restriction. *Lancet*, 357, 1325–1328.
8. Lanz, R., Kuhnert, P., Boerlin, P., 2003. Antimicrobial resistance and resistance gene determinants in clinical *Escherichia coli* from different animal species in Switzerland. *Vet. Microbiol.*, 91, 73–84.
9. Martinez-Martinez, L., Pascual, A., Jacoby, G.A., 1998. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 351, 797–799.
10. Maynard, C., Fairbrother, J.M., Bekal, S., Sanschagrín, F., Levesque, R.C., Brousseau, R., Masson, L., Larivière, S., Harel, J., 2003. Antimicrobial resistance genes in Enterotoxigenic *Escherichia coli* O149:K91 isolates obtained over a 23-year period from pigs. *Antimicrob. Agents Chemother*, 47, 3214–3221.
11. Robicsek, A., Jacoby, G.A., Hooper, D.C., 2006a. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect. Dis.*, 6, 629–640.
12. Speer, B.S., Shoemaker, N.B., and Salyers, A.A., 1992. Bacterial resistance to Tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. *Clin Microbiol Rev.*, 5(4), 387–399.
13. Yang, H., Chen, S., White, D.G., Zhao, S., McDermott, P., Walker, R., Meng, J., 2004. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. *J. Clin. Microbiol.*, 42, 3483–3489.
14. Wu, S., Dalsgaard, A., Hammerum, A.M., Porsbo, L.J., Jensen, L.B., 2010. Prevalence and characterization of plasmids carrying sulfonamide resistance genes among *Escherichia coli* from pigs, pig carcasses and human. *Acta Vet Scand.*, 52:47.