

## ĐÁNH GIÁ SỰ BIỂU HIỆN MỘT SỐ GEN KHÁNG THUỐC CỦA CHỦNG VI KHUẨN *Salmonella* Typhimurium PHÂN LẬP TỪ THỊT LỢN TƯƠI Ở HÀ NỘI

Nguyễn Thị Hoài Thu<sup>1</sup>, Nguyễn Thanh Việt<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Nhã Quyên<sup>3</sup>,  
Nghiêm Ngọc Minh<sup>1</sup>, Võ Thị Bích Thủy<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Trung tâm ứng dụng sinh y dược, Học viện Quân y

<sup>3</sup>Phòng Y tế huyện Phú Bình, tỉnh Thái Nguyên

**TÓM TẮT:** *Salmonella* (Salm) là vi khuẩn phổ biến gây ngộ độc thực phẩm, với hàng triệu ca nhiễm khuẩn hàng năm trên thế giới và có hàng trăm nghìn người chết. Salm có hơn 2.500 typ huyết thanh khác nhau, trong đó, *Salmonella* Typhimurium (ST) là một trong hai typ chính gây ngộ độc thực phẩm cho người. ST là typ huyết thanh kháng kháng sinh mạnh nhất hiện nay, nó gây thiệt hại cho ngành chăn nuôi và ảnh hưởng tới sức khỏe cộng đồng. Thực phẩm có nguồn gốc động vật, đặc biệt là thịt lợn từ lâu đã được công nhận là nguồn chính lây truyền Salm ở người. Trong nghiên cứu này, ba chủng ST gây ngộ độc thực phẩm được phân lập từ thịt lợn tươi ở Hà Nội có khả năng kháng 100% với ampicillin, streptomycin và tetracyclin, 66,67% với chloramphenicol và sulfamethoxazol/trimetoprim, kháng 33,33% với gentamycin. Ngoài ra, 100% chủng ST trong nghiên cứu phát hiện được bảy kiểu gen (gồm *aadA*, *avrA*, *gyrB*, *prmA*, *sul II*, *tetA* và *blaTEM/TEM*) đại diện cho bảy kiểu hình kháng kháng sinh khác nhau. Mức độ biểu hiện của bảy gen này so với gen đối chứng *16S rRNA* đều chiếm tỷ lệ cao trên 65%. Sự xuất hiện kiểu gen kháng thuốc của các chủng ST gây ngộ độc thực phẩm phân lập được từ thịt lợn là một điều đáng lo ngại khi người sử dụng thực phẩm nhiễm chủng vi khuẩn này thì hệ gen của nó có thể xâm nhập vào hệ gen của người và dẫn đến kháng thuốc ở người.

*Từ khóa:* *Salmonella* Typhimurium, gen kháng kháng sinh, thịt lợn tươi

### MỞ ĐẦU

*Salmonella enterica* là một trong những mầm bệnh thực phẩm phổ biến nhất làm cho hàng triệu trường hợp bị viêm dạ dày ruột, hàng nghìn bệnh nhân phải nhập viện và thậm chí là chết mỗi năm trên thế giới (Pui et al., 2011; Hur et al., 2012). Năm 1990 bắt đầu xuất hiện *Salmonella* (Salm) kháng thuốc và tỷ lệ kháng thuốc từ đó đến nay không ngừng tăng lên đã trở thành mối đe dọa nghiêm trọng tới sức khỏe cho con người. Trong nhiều thập kỷ qua, việc lạm dụng kháng sinh trong chăn nuôi, trong điều trị và phòng bệnh trên thế giới đã tạo ra nhiều loài vi khuẩn kháng thuốc (Zdziarski et al., 2003). Thịt gia súc, gia cầm và các sản phẩm từ chúng được xem là nguyên nhân chính và là nguồn chứa rất quan trọng của Salm gây bệnh cho người (Adzitey et al., 2012). Do việc sử dụng kháng sinh tràn lan cho gia súc, gia cầm để kích thích tăng trưởng và ngăn ngừa

bệnh tật đã làm tăng nhanh chóng các chủng Salm kháng thuốc ở người và động vật và điều này trở thành vấn đề nghiêm trọng đối với sức khỏe toàn cầu (Yang et al., 2010).

Trong những năm gần đây, nghiên cứu về các chủng Salm phân lập ở Việt Nam và các nước khác cho thấy, sự kháng thuốc của các chủng Salm ngày càng tăng (Van et al., 2007; Vo et al., 2010; Yang et al., 2010; Wannaprasat et al., 2011). Trong các loài Salm, serovar Enteritidis và Typhimurium là hai loài phổ biến nhất gây bệnh truyền từ động vật sang người. Ở Việt Nam, kháng kháng sinh đã được tìm thấy ở vi khuẩn phân lập từ người, trong đó có *Salmonella enterica* serovar Typhimurium và các mầm bệnh khác gây tiêu chảy (Isenbarger et al., 2002; Ehara et al., 2004; Nguyen et al., 2016). Nghiên cứu trên các mẫu thịt lợn cho thấy tỷ lệ nhiễm Salm khá cao ở miền Bắc, Việt Nam (39,6%) (Thai & Yamaguchi, 2012), tại

Sài Gòn (69,7%) (Nguyen et al., 2016), ở Lào (34,6%), Thái Lan (47,4%) (Sinwat et al., 2016), có nhiều *Salmonella* serovars được xác định, trong đó có *Salmonella* serovars Typhimurium. Bên cạnh đó các chủng Salm còn có khả năng kháng cao với nhiều loại kháng sinh như tetracycline (53,3%), ampicillin (43,8%), chloramphenicol (37,5%), and trimethoprim/sulfamethoxazole (31,3%) (Nguyen et al., 2016). Các chủng Salm phân lập được trong báo cáo của Yang (2010) kháng với sulfamethoxazole (67%), trimethoprim/sulfamethoxazole (58%), tetracycline (56%), nalidixic acid (35%), ciprofloxacin (21%) và ceftriaxone (16%) (Yang et al., 2010). Các chủng Salm gây ngộ độc thực phẩm có khả năng kháng thuốc là mối lo ngại đối với an toàn thực phẩm và sức khỏe của con người. Vì vậy nghiên cứu này tập trung xác định tính kháng thuốc của các chủng *Salmonella* Typhimurium (ST) phân lập từ thịt lợn tươi bán lẻ ở một số chợ tại Hà Nội, tìm kiếm một số gen đại diện cho tính kháng kháng sinh và đánh giá biểu hiện của các gen đó.

#### VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Ba typ ST được kí hiệu S181, S361 và S384 phân lập từ thịt lợn tươi tại một số chợ ở Hà Nội do Phòng Hệ gen học Vi sinh, Viện Nghiên cứu Hệ gen cung cấp. Các loại khoanh giấy kháng sinh của BioRad (France) gồm: ampicillin 10µg, ceftazidime 30µg, gentamycin 10µg, streptomycin 10µg, ciprofloxacin 5µg, chloramphenicol 30 µg, tetracyclin 30 µg, sulfamethoxazol/trimetoprim 23/75 µg, colistin 10 µg và polymycin B 300 units. Các loại hóa chất dùng trong tách chiết RNA (bộ kit RNeasy Mini, Qiagen, Đức), tổng hợp cDNA (bộ ProtoScript® First Strand cDNA Synthesis Kit, New England Biolabs, Hoa Kỳ), thành phần chạy phản ứng PCR (Thermo Scientific, Hoa Kỳ).

#### Kiểm tra tính kháng kháng sinh

Ba typ ST được làm kháng sinh đồ khoanh giấy theo phương pháp Kirby - Bauer (Bauer et al., 1966). Pha hỗn dịch vi khuẩn nồng độ 0,5 McF, cấy lên bề mặt đĩa thạch Muller-Hilton. Đặt khoanh giấy kháng sinh lên đĩa thạch, sau

đó đem nuôi ở tủ ẩm 37°C trong 24 giờ. Đo đường kính vô khuẩn và so sánh với tiêu chuẩn đánh giá của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và phòng thí nghiệm Hoa Kỳ (The Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI: 2015).

#### Tách chiết RNA tổng số

Ba typ ST được nuôi cấy lại trên môi trường thạch dinh dưỡng Nutrient Agar (Sigma, Hoa Kỳ). Tăng sinh trong môi trường Brain Heart Infusion Broth (BHI) (Sigma, Hoa Kỳ) để thu được canh khuẩn đạt nồng độ  $10^8$  dùng tách RNA. Quy trình tách RNA tổng số thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit RNeasy Mini (Qiagen, CHLB Đức). RNA tổng số được điện di kiểm tra trên gel agarose 1% và đo nồng độ, độ tinh sạch trên máy Nanodrop ở bước sóng 260 nm và 280 nm. Mẫu RNA thu được bảo quản ở tủ âm 80°C.

#### Phương pháp phản ứng chuỗi polymerase phiên mã ngược (RT-PCR)

Đầu tiên, tiến hành tổng hợp cDNA như sau: Hiệu chỉnh mẫu RNA đạt nồng độ 1 µg/ µl. Biến tính RNA ở nhiệt độ 75°C/ 5 phút, lấy ra đặt ngay vào hộp đá trong 5 phút. Chuẩn bị hỗn hợp cDNA gồm: 5 X buffer (4 µl); 0.1M DTT (4 µl); dNTP (2 µl); Random Primer (2 µl); RNase Inhibitor (0,5 µl); M MLV-RT (1 µl). Lượng được tính cho 1 mẫu. Cho 11,8 µl hỗn hợp cDNA + 8,5 µl mẫu RNA đã hiệu chỉnh (nồng độ 1 µg/ µl). Ủ ở nhiệt độ 37°C/ 60 phút. Biến tính ở nhiệt độ 95°C/ 5 phút, lấy ra đặt ngay vào hộp đá bào trong 5 phút. Sản phẩm cDNA được bảo quản ở -20°C.

RT-PCR: Phản ứng RT-PCR được thực hiện với các thành phần và nồng độ như sau: 1X đệm PCR (đã bao gồm 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTPs, 5 pmol mỗi môi, 1 U Taq DNA polymerase 5U, 1 µg mẫu cDNA và bổ sung nước khử ion để tổng thể tích phản ứng là 20 µl. Chu trình nhiệt: 94°C/5 phút, 25 chu kỳ (94°C/30 giây, nhiệt độ gắn mỗi tương ứng với từng gen ở bảng 1/45 giây, 72°C/45 giây), 72°C/10 phút.

#### Phương pháp xử lý số liệu

Mức độ biểu hiện của các gen được phân tích bằng chương trình Quantity One (Bio-Rad). Các số liệu được thống kê bằng phương pháp phân

tích phương sai một nhân tố (One-way ANOVA). Sự khác biệt có ý nghĩa giữa các gen kháng kháng sinh của 3 typ ST được phân tích bằng các hệ số trong hồi quy bội tuyến tính (Bonferroni's Multiple Comparison Test) với độ sai khác  $p < 0,05$  (GraphPad Prism Version 5.01).

Bảng 1. Trình tự môi và nhiệt độ gắn môi của các gen sử dụng trong nghiên cứu

Nhóm kháng sinh	Gen	Trình tự môi (5'-3')	Nhiệt độ gắn môi (°C)	Kích thước sản phẩm (bp)
Tetracycline	<i>tetA</i>	F TTGGCATTCTGCATTCACTC	55	494
		R GTATAGCTTGCCGGAAGTCG		
Sulfonamides	<i>sul II</i>	F CCTGTTTCGTCCGACACAGA	57	434
		R GAAGCGCAGCCGCAATTCAT		
Streptomycin	<i>avrA</i>	F GTTGAGGACCAAAGCAGCTC	55	192
		R TCACCACACAGACGTTTACA		
Gentamycin	<i>aadA</i>	F GTTGAGGACCAAAGCAGCTC	55	228
		R TCACCACACAGACGTTTACA		
Betalactams	<i>blaTEM/TEM</i>	F GCACGAGTGGGTTACATCGA	57	310
		R GGTCTCCGATCGTTGTCAG		
Fluoroquinolones	<i>gyrB</i>	F CTGCGCTATCACAGCATCAT	55	219
		R CGCGATGGAAATCTGGTACT		
Colistin	<i>prmA</i>	F CACCCACACCTCTTTATG	55	187
		R GACTGGCCTGAATAGCTTGC		
Đối chứng	<i>16S rRNA</i>	F GCCTACGGGAGGCAGCAG	56	550
		R CCGTCAATTCMTTGTGAGTTT		

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ở Việt Nam, có đến 7% dược phẩm được sử dụng trong nông nghiệp là kháng sinh. Rất nhiều kháng sinh sử dụng trong điều trị đã được sử dụng trong chăn nuôi như:  $\beta$ -lactams, aminoglycosides, macrolides, tetracyclines, (fluoro) quinolones, phenicols, pleuromutilins, lincosamides, sulfonamides và diaminopyrimidine (trimethoprim) (An, 2009). Đặc biệt, hiện nay polymixins (colistin), một thuốc hàng đầu dùng để điều trị nhiễm khuẩn đa kháng thuốc và rifampicin, thuốc dùng trong điều trị lao cũng được sử dụng trong chăn nuôi (Nguyen et al., 2013). Trong nghiên cứu này 10 loại kháng sinh gồm ampicillin, ceftazidime, gentamycin, streptomycin, ciprofloxacin, chloramphenicol, tetracyclin, sulfamethoxazol/trimetoprim, colistin và polymycin B đã được chọn để kiểm tra khả năng kháng kháng sinh của 3 typ ST (S181, S361, S384) được phân lập từ thịt lợn tươi tại một số chợ bán lẻ ở Hà Nội. Kết quả ở bảng 2 cho thấy cả 3 typ ST đều kháng 100% với ampicillin, streptomycin và tetracyclin, kháng 66,67% với chloramphenicol và sulfamethoxazol/trimetoprim, kháng 33,33% với

gentamycin. Tất cả 3 typ ST không có khả năng kháng với 4 loại kháng sinh gồm ceftazidime, ciprofloxacin, colistin và polymycin B. Có thể thấy rằng các chủng ST phân lập từ thịt lợn tươi trong nghiên cứu của chúng tôi có khả năng kháng được với nhiều loại kháng sinh và kết quả tương tự cũng được phản ánh trong báo cáo của Van (2007), nghiên cứu của họ đã chỉ ra *Salmonella* serovar Typhimurium phân lập từ thịt lợn được mua từ các chợ và siêu thị ở thành phố Hồ Chí Minh kháng được với ampicillin, tetracyclin, gentamycin, sulfamethoxazole, trimethoprim, streptomycin, kanamycin và amoxicillin (Van et al., 2007). Nhóm nghiên cứu của White (2001) phân lập được 8 chủng *Salmonella enterica* serotype Typhimurium từ các mẫu thịt được mua ở khu vực Washington, trong đó có 4 chủng STDT104 được phân lập từ các mẫu thịt lợn và chúng đều kháng 100% với 5 loại kháng sinh gồm ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole và tetracycline (White et al., 2001). Theo một báo cáo của Lertworapreecha (2012), các chủng ST phân lập được từ thịt lợn bán lẻ tại một số chợ thuộc miền Nam Thái Lan

có khả năng kháng với ampicillin (100%), streptomycin (100%), tetracyclin (50%), chloramphenicol (0%), sulfamethoxazol/trimetoprim (0%) và gentamycin (0%) (Lertworapreecha et al., 2012). Trong công bố của Thai & Yamaguchi (2012), từ các mẫu thịt lợn và thịt gà tươi được thu thập ngẫu nhiên từ các chợ của 3 tỉnh phía Bắc, Việt Nam gồm Bắc Ninh, Hà Nội và Hà Tây đã phân lập được 9 chủng ST. Đa số các chủng này đều kháng được với các kháng sinh như: ampicillin, kanamycin, nalidixic acid, neomycin, sulfonamides, streptomycin và tetracycline (66,7%), chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin và trimethoprim (55,6%), amoxicillin-clavulanic acid (44,4%) và norfloxacin (11,1%) (Thai &

Yamaguchi, 2012).

Như vậy, khả năng kháng kháng sinh của chủng ST trong nghiên cứu này nhìn chung thấp hơn so với kết quả đã công bố của White et al. (2001) nhưng cao hơn so với kết quả đã công bố của Lertworapreecha et al. (2012). Khi so sánh với báo cáo của Thai & Yamaguchi (2012), tỷ lệ kháng với ampicillin, streptomycin, tetracyclin và chloramphenicol trong nghiên cứu của chúng tôi là cao hơn, nhưng kháng với ciprofloxacin, gentamicin, trimethoprim và sulfonamides là thấp hơn. Ngoài ra, trong công bố của Thai & Yamaguchi (2012) còn chỉ ra các chủng ST còn có khả năng kháng với nhiều loại kháng sinh khác như kanamycin, nalidixic acid, neomycin và norfloxacin.

**Bảng 2.** Tổng hợp kết quả kháng các nhóm kháng sinh và chứa các gen kháng thuốc của 3 typ ST phân lập được

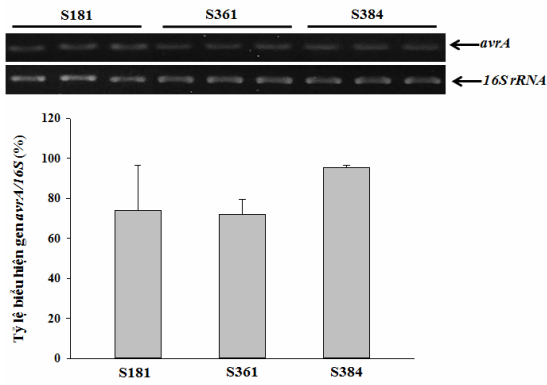
STT	Tên chủng	Kháng kháng sinh	Gen kháng kháng sinh
1	ST(S181)	AMP, STR, TET	<i>tetA</i> , <i>sul II</i> , <i>avrA</i> , <i>aadA</i> , <i>blaTEM/TEM</i> , <i>gyrB</i> , <i>prmA</i>
2	ST(S361)	AMP, STR, CHL, TET, SXT	<i>tetA</i> , <i>sul II</i> , <i>avrA</i> , <i>aadA</i> , <i>blaTEM/TEM</i> , <i>gyrB</i> , <i>prmA</i>
3	ST(S384)	AMP, STR, GEN, CHL, TET, SXT	<i>tetA</i> , <i>sul II</i> , <i>avrA</i> , <i>aadA</i> , <i>blaTEM/TEM</i> , <i>gyrB</i> , <i>prmA</i>

AMP: Ampicillin, STR: Streptomycin, GEN: Gentamycine, CHL: Chloramphenicol, TET: Tetracyclin, SXT: Sulfamethoxazol/Trimetoprim.

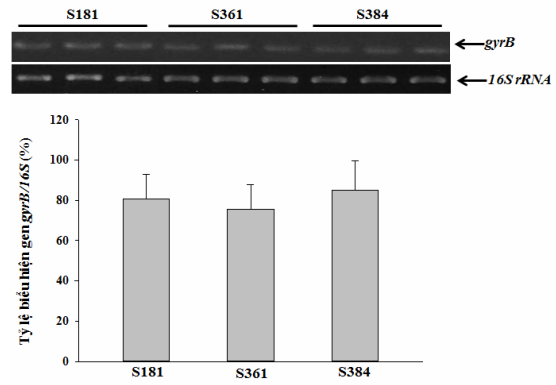
Sự biểu hiện của gen đối chứng *16S rRNA* (housekeeping gene) tương tự nhau giữa các mẫu nên có thể dựa vào đó để so sánh mức độ biểu hiện của từng gen kháng thuốc mạnh hay yếu giữa ba chủng *Salmonella* Typhimurium S181, S361 và S384. Mức độ biểu hiện của các gen *aadA*, *avrA*, *gyrB*, *prmA*, *sul II* ở 3 mẫu S181, S361 và S384 ngang nhau, không có sự khác biệt giữa các mẫu. Sự biểu hiện của 5 gen kể trên đều chiếm tỷ lệ cao trên 65%. Trong đó, sự biểu hiện mạnh nhất của gen chỉ thị kháng streptomycin (*avrA*), trung bình khoảng 80,50% (hình 1), sau đó đến fluoroquinolones (*gyrB*) là 80,45% (hình 2), sulfonamides (*sul II*) là 79,39% (hình 3), gentamycin (*aadA*) là 77,67% (hình 4), colistin (*prmA*) là 68,64% (hình 5).

Mức độ biểu hiện của gen *tetA* và *blaTEM/TEM* ở 3 mẫu S181, S361 và S384 là

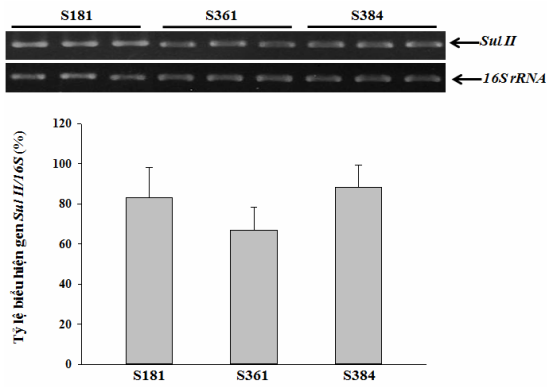
có sự khác biệt. Mức độ biểu hiện của gen *tetA* chỉ thị kháng Tetracycline ở mẫu S361 cao gấp 7,45 lần so với mẫu S181, ở mẫu S384 cao gấp 7,98 lần so với mẫu S181 ở mức độ sai khác đáng tin cậy ( $p < 0.05$ ) và không có sự khác biệt giữa mẫu S361 và S384 (hình 6). Và tương tự như phân tích ở gen *tetA*, *blaTEM/TEM*, chỉ thị kháng  $\beta$ -lactam cũng có mức độ biểu hiện ở mẫu S361 và S384 cao hơn so với mẫu S181 lần lượt là 4,17 lần và 5,17 lần với  $p < 0.05$  (hình 7). Hai gen *tetA* và *blaTEM/TEM* biểu hiện mạnh ở hai mẫu S361 và S384 so với mẫu S181 một phần là do mẫu S361 và S384 có kiểu hình kháng tetracycline mạnh hơn mẫu S181 trong thí nghiệm thử khả năng kháng kháng sinh. Ngoài ra, còn một số yếu tố khác ảnh hưởng đến khả năng biểu hiện của gen kháng thuốc như môi trường, thời điểm (kết quả không chỉ ra trong nghiên cứu này).



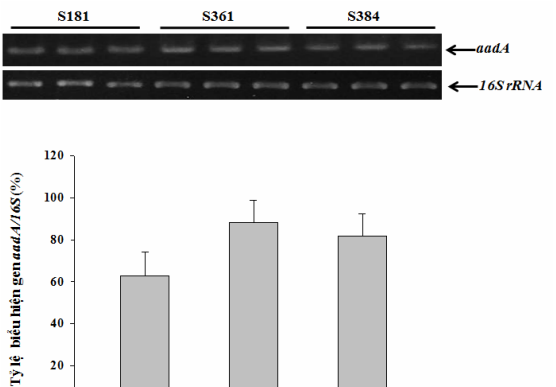
Hình 1. Biểu hiện của gen *avrA* so với gen đối chứng *16S rRNA*



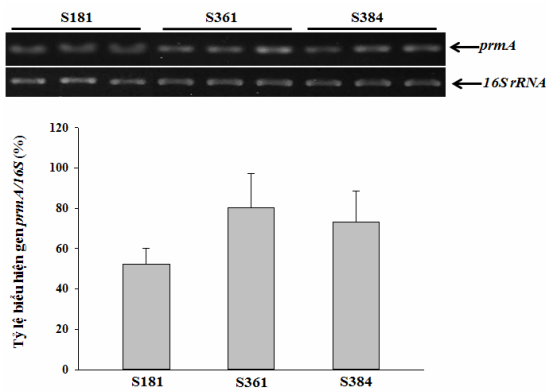
Hình 2. Biểu hiện của gen *gyrB* so với gen đối chứng *16S rRNA*



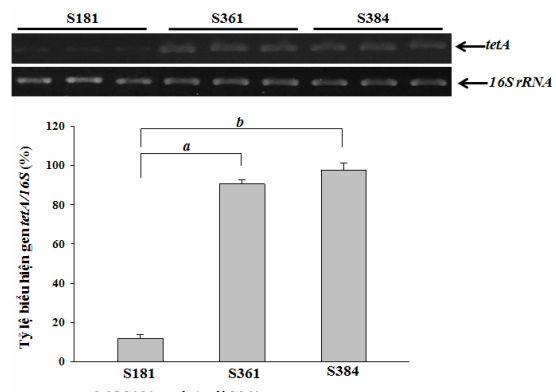
Hình 3. Biểu hiện của gen *sulII* so với gen đối chứng *16S rRNA*



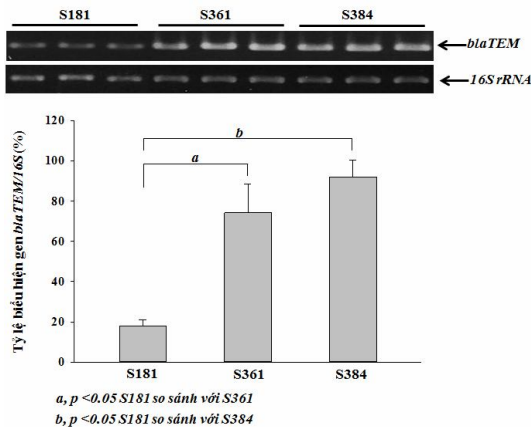
Hình 4. Biểu hiện của gen *aadA* so với gen đối chứng *16S rRNA*



Hình 5. Biểu hiện của gen *pmrA* so với gen đối chứng *16S rRNA*



Hình 6. Biểu hiện của gen *tetA* so với gen đối chứng *16S rRNA*



Hình 7. Biểu hiện của gen *blaTEM/TEM* so với gen đối chứng *16S rRNA*

Tác giả Hoàng Hoài Phương (2008) đã phát hiện 7 gen kháng sinh trên 11 chủng *Salmonella* spp. kháng đa kháng sinh thấy có tỷ lệ cao của *blaTEM* (90,9%), *sul2* (72,7%), *tetA*, *tetB*, và *sul1* cùng là 63,6%, gen được phát hiện ít hơn là *clmA* (45,5%) và *blaSHV* (18,2%) (Hoàng et al., 2008). Ở nghiên cứu của Thong (2011) có 88 mẫu dương tính với *Salmonella* và đã phát hiện được 10 trong số 17 gen kháng thuốc bằng phản ứng PCR gồm các gen sau: *blaTEM*, *strA*, *strB*, *aadA*, *sull*, *sullI*, *tetA*, *tetB*, *floR*, và *cmlA* (Thong & Modarressi, 2011). Adesiji (2014) nhận thấy cả 20 chủng kháng tetracycline đều mang gen *tetA* chiếm 100%, các gen *tetB*, *tetC* và *tetG* lần lượt là 30% (6), 35% (7), và 50% (10). Trong 18 chủng kháng cotrimoxazole phát hiện thấy các gen *sull1*, *sul2* và *sul3* với tỷ lệ lần lượt là 18 (100%), 14 (77,8%) và 4 (22,2%). Có 6 chủng kháng với chloramphenicol nhưng lại có tới 10 trong số 14 chủng đa kháng thuốc dương tính với gen *floR* và *cat2*, trong khi dương tính với gen *cat3* là 2 chủng (30%). Trong 14 chủng đa kháng được kiểm tra có 8 chủng (61%) mang gen *cmlA* và 9 chủng (69%) mang gen *cmlB* (Adesiji et al., 2014). Thai & Yamaguchi (2012) cũng đã tìm thấy 14/ 17 gen kháng kháng sinh (*blaTEM*, *blaOXA-1*, *blaPSE-1*, *aadA1*, *sull*, *tetA*, *tetB*, *tetG*, *cmlA1*, *floR*, *dfrA1*, *dfrA12*, *aac(3)-IV* và *aphA1-IAB*) trong nghiên cứu. Ở hầu hết các trường hợp, các gen kháng xuất hiện trong các kiểu hình kháng kháng sinh tương ứng. Tuy nhiên, khả năng kháng thấp với nhóm

fluoroquinolone (norfloxacin và ciprofloxacin) và cephalosporins thế hệ 3 (Thai & Yamaguchi, 2012).

Gen *pmrB* và *pmrA* mã hóa một hệ thống hai thành phần với một bộ cảm biến histidine kinase (*pmrB*) và bộ điều tiết tương ứng của nó (*pmrA*), một khi được phosphoryl hóa, kích hoạt sự biểu hiện gen *pmr* (Gunn et al., 1998). Trong ST hai gen *pmrA* và *pmrB* đã được xác định và cho thấy nó tạo thành một hệ thống điều hòa hai thành phần chịu trách nhiệm cho sự đề kháng colistin ở ST (Roland et al., 1993). Điều đó giải thích tại sao các chủng được phân lập trong nghiên cứu có sự hiện diện của gen *prmA* nhưng lại không biểu hiện kiểu hình kháng với colistin.

Chủng S181 và S361 nhạy với kiểu hình kháng gentamycin, chủng S181 nhạy với kiểu hình kháng sulfamethoxazol/trimetoprim nhưng lại tìm thấy gen kháng thuốc, điều này có thể giải thích dựa theo nghiên cứu của Alberts (2004) cho rằng có khả năng gen này không được biểu hiện vào thời điểm phân tích (Alberts, 2004) và cảnh báo trong tương lai gần các chủng này có tiềm năng kháng lại các kháng sinh đó (Biffi et al., 2014).

## KẾT LUẬN

Ba chủng ST phân lập từ thịt lợn tươi bán lẻ ở Hà Nội có tỷ lệ kháng cao với nhiều loại kháng sinh và kiểm tra thấy có biểu hiện của cả 7 gen nghiên cứu đại diện cho 7 kiểu hình kháng kháng sinh, đó là streptomycin (*avrA*), fluoroquinolones (*gyrB*), sulfonamides (*sul II*), gentamycin (*aadA*),  $\beta$ -lactam (*blaTEM/TEM*), tetracycline (*tetA*) và colistin (*prmA*). Nghiên cứu cũng đã cung cấp thêm thông tin về việc kháng thuốc của chủng ST phân lập từ thịt lợn tươi ở một số chợ tại Hà Nội để góp phần kiểm soát và giám sát tình hình kháng thuốc của vi khuẩn có nguồn gốc thực phẩm trên địa bàn.

*Lời cảm ơn:* Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số: 106-NN.04-2015.41.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Adesiji Y. O., Deekshit V. K., Karunasagar I., 2014. Antimicrobial resistant genes

- associated with *Salmonella* spp. isolated from human, poultry, and seafood sources. *Food. Sci. Nutr.*, 2: 436-442.
- Adzitey F., Huda N., Ali G. R., 2012. Prevalence and antibiotic resistance of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *L. monocytogenes* in ducks: a review. *Foodborne Pathog. Dis.*, 9: 498-505.
- Alberts B., 2004. Controle da Expressão Gênica. Alberts, B, Johnson A, Lewis J, Raff, M, Roberts, K, Walter, P *Artmed. Biologia Molecular da Célula Porto Alegre*, 375-466.
- An N., 2009. Report of antibiotic use in animals in Viet Nam. Hanoi: GARP Workshop.
- Bauer A., Kirby W., Sherris J. C., Turck M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45: 493.
- Biffi C., Stefani L., Miletti L., Matiello C., Backes R., Almeida J., Neves G., 2014. Phenotypic and genotypic resistance profile of *Salmonella* Typhimurium to antimicrobials commonly used in poultry. *Rev. Bras. Cienc. Avic.*, 16: 93-96.
- Ehara M., Nguyen B., Nguyen D., Toma C., Higa N., Iwanaga M., 2004. Drug susceptibility and its genetic basis in epidemic *Vibrio cholerae* O1 in Vietnam. *Epidemiol. Infect.* 132: 595-600.
- Gunn J. S., Lim K. B., Krueger J., Kim K., Guo L., Hackett M., Miller S. I., 1998. PmrA-PmrB-regulated genes necessary for 4-aminoarabinose lipid A modification and polymyxin resistance. *Mol. Microbiol.*, 27: 1171-1182.
- Hoàng Hoài Phương, Nguyễn Thị Kê, Phạm Hùng Vân, Nguyễn Đỗ Phúc, Nguyễn Thị Anh Đào, Trần Thị Ngọc Phương (2008) Khảo sát gen kháng kháng sinh của một số vi khuẩn gây bệnh phân lập từ thực phẩm. *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh* 12(4).
- Hur J., Jawale C., Lee J. H., 2012. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. *Food. Res. Int.*, 45: 819-830.
- Isenbarger D. W., Hoge C. W., Srijan A., Pitarangsi C., Vithayasai N., Bodhidatta L., Hickey K. W., Cam P. D., 2002. Comparative antibiotic resistance of diarrheal pathogens from Vietnam and Thailand, 1996-1999. *Emerg. Infect. Diseases.*, 8: 175-180.
- Lertworapreecha M., Sutthimusik S., Tontikapong K., 2012. Antimicrobial resistance in *salmonella* enterica isolated from pork, chicken, and vegetables in southern Thailand. *Jundishapur J. Microbiol.*, 6: 36-41.
- Nguyen D. T. A., Kanki M., Do Nguyen P., Le H. T., Ngo P. T., Tran D. N. M., Le N. H., Van Dang C., Kawai T., Kawahara R., 2016. Prevalence, antibiotic resistance, and extended-spectrum and AmpC  $\beta$ -lactamase productivity of *Salmonella* isolates from raw meat and seafood samples in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Int. J. Food Microbiol.*, 236: 115-122.
- Nguyen K. V., Thi Do N. T., Chandna A., *et al.*, 2013. Antibiotic use and resistance in emerging economies: a situation analysis for Viet Nam. *BMC Public Health*, 13: 1-10.
- Pui C. F., Wong W. C., Chai L. C., Robin T., Ponniah J., Sahroni M., Hidayah N., Anyi U., Mohamad Ghazali F., Cheah Y. K., 2011. *Salmonella*: A foodborne pathogen. *Int. Food Res. J.*, 18: 465-473.
- Roland K. L., Martin L. E., Esther C. R., Spitznagel J. K., 1993. Spontaneous pmrA mutants of *Salmonella* typhimurium LT2 define a new two-component regulatory system with a possible role in virulence. *J. Bacteriol.*, 175: 4154-4164.
- Sinwat N., Angkittitrakul S., Coulson K. F., Pilapil F. M. I. R., 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.*, 65: 1182-1193.

- Thai T. H., Yamaguchi R., 2012. Molecular characterization of antibiotic-resistant *Salmonella* isolates from retail meat from markets in Northern Vietnam. *J. Food Prot.*, 75: 1709-1714.
- Thong K. L., Modarressi S., 2011. Antimicrobial resistant genes associated with *Salmonella* from retail meats and street foods. *Food Res. Int.*, 44: 2641-2646.
- Van T. T. H., Moutafis G., Tran L. T., Coloe P. J., 2007. Antibiotic resistance in food-borne bacterial contaminants in Vietnam. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73: 7906-7911.
- Vo A. T., Van Duijkeren E., Gaastra W., Fluit A. C., 2010. Antimicrobial resistance, class 1 integrons, and genomic island 1 in *Salmonella* isolates from Vietnam. *PLoS ONE*, 5: e9440.
- Wannaprasat W., Padungtod P., Chuanchuen R., 2011. Class 1 integrons and virulence genes in *Salmonella enterica* isolates from pork and humans. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 37: 457-461.
- White D. G., Zhao S., Sudler R., Ayers S., Friedman S., Chen S., McDermott P. F., McDermott S., Wagner D. D., Meng J., 2001. The isolation of antibiotic-resistant *Salmonella* from retail ground meats. *N. Engl. J. Med.*, 345: 1147-1154.
- Yang B., Qu D., Zhang X., Shen J., Cui S., Shi Y., Xi M., Sheng M., Zhi S., Meng J., 2010. Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, China. *Int. J. Food Microbiol.*, 141: 63-72.
- Zdziarski P., Simon K., Majda J., 2003. Overuse of high stability antibiotics and its consequences in public and environmental health. *Acta. Microbiol. Pol.*, 52: 5-13.

## EVALUATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES EXPRESSION IN FOOD POISONING *Salmonella* TYPHIMURIUM ISOLATED FROM RETAIL PORK IN HA NOI

Nguyen Thi Hoai Thu<sup>1</sup>, Nguyen Thanh Viet<sup>2</sup>, Nguyen Thi Nha Quyen<sup>3</sup>,  
Nghiem Ngoc Minh<sup>1</sup>, Vo Thi Bich Thuy<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>2</sup>Biomedical and Pharmaceutical Applied Research Centre, Vietnam Military Medical University

<sup>3</sup>Department of Health Phu Binh district, Thai Nguyen province

### SUMMARY

*Salmonella* is the most common bacteria causing foodborne diseases. Millions of cases of infections and hundreds of thousands of deaths every year worldwide. *Salmonella* consists of more than 2,500 serovars. Among those, *Salmonella typhimurium* (ST) is one of the major causes of food poisoning in humans with the most powerful antibiotic resistance, causing damage to the livestock and affecting public health. Foods of animal origin, especially pork have long been recognized as the primary source of *Salmonella* to cause human infections. In this study, three strains of ST causing food poisoning were isolated from retail pork in Hanoi. They were resistant to ampicillin, streptomycin, tetracycline (100%), chloramphenicol, sulfamethoxazole/trimethoprim (66.7%), and gentamycin (33.3%). Seven genes (e.g. *aadA*, *avrA*, *gyrB*, *prmA*, *sul II*, *tetA* and *blaTEM/TEM*) encoding seven different antibiotic resistance groups were detected from three strains of ST with the highest percentage (100%). The relative seven genes per control gene (*16S rRNA*)



expression were above 65%. The presence of antibiotic resistance genotypes among ST isolated from retail pork in Hanoi is worrisome, especially, when people use food contaminated with these STs, the genomes of the bacteria may transmit in the human genome and lead to antibiotic resistance in humans.

*Keywords:* *Salmonella typhimurium*, antimicrobial resistant genes, retail pork meat.

*Citation:* Nguyen Thi Hoai Thu, Nguyen Thanh Viet, Nguyen Thi Nha Quyen, Nghiem Ngoc Minh, Vo Thi Bich Thuy, 2017. Evaluation of antibiotic resistance genes expression in food poisoning *Salmonella Typhimurium* isolated from retail pork in Ha Noi. *Tap chi Sinh hoc*, 39(2): 210-218. DOI: 10.15625/0866-7160/v39n2.9370.

\**Corresponding author:* thuytbvo@igr.ac.vn

*Received 11 December 2016, accepted 20 March 2017*