

PLASMID KHÔNG TƯƠNG HỢP VÀ VÙNG GEN CASSETTE LIÊN QUAN ĐẾN TÍNH ĐA KHÁNG KHÁNG SINH CỦA CÁC SEROVAR *SALMONELLA* PHÂN LẬP TỪ THỰC PHẨM TẠI CÁC CHỢ TRUYỀN THỐNG TRÊN ĐỊA BÀN THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Trương Huỳnh Anh Vũ^{1*}, Nguyễn Hoàng Khuê Tú², Trần Quang Vinh³, Nguyễn Minh Hiền⁴

¹Phòng Vi sinh, Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thí nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh

²Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

³Phòng Quản lý Khoa học, Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh

⁴Khoa y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát sự hiện diện 18 loại plasmid không tương hợp và các vùng gen cassette thuộc integron nhóm I, II của 21 serovar *Salmonella* đa kháng (kháng từ 07 loại kháng sinh trở lên) được phân lập từ các mẫu thực phẩm thu thập tại các chợ truyền thống trên địa bàn Thành phố Hồ Chí Minh. Kết quả đã phát hiện 100% serovar đều mang plasmid. Trong số đó, *W* và *Y* là plasmid phổ biến nhất với tỷ lệ hiện diện ở các serovar phân lập (100%), tiếp đến là các plasmid *N*, *T*, *P*, *A/C*, *FIB* với tỷ lệ lần lượt là 85,71%, 66,67%, 38,10%, 28,57%, 9,52%; các plasmid *Frepb*, *K/B*, *B/O* được phát hiện với tỷ lệ thấp 4,76%. Không phát hiện serovar nào mang *HII*, *HI2*, *II*, *X*, *L/M*, *FIIA*, *FIC*, *FIA*. Tỷ lệ serovar mang vùng gen cassette thuộc integron nhóm I là 85,71% với 08 kích thước khác nhau (> 1,0 kbp; 1,0 kbp; 0,9 kbp; 0,6 kbp; 0,5 kbp; 0,4 kbp; 0,25 kbp; 0,2 kbp), integron nhóm II là 72,73% với 05 kích thước khác nhau (2,0 kbp; 1,6 kbp; 1,0 kbp; 0,7 kbp; 0,5 kbp). Sự hiện diện các yếu tố di truyền di động ở *Salmonella* cho thấy khả năng vi khuẩn này có thể truyền hoặc nhận gen kháng kháng sinh từ các loài khác trong môi trường tự nhiên là rất cao. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp bằng chứng khoa học cho các nghiên cứu chuyên sâu về cơ chế kháng kháng sinh và nâng cao ý thức sử dụng kháng sinh có hiệu quả tại Việt Nam nói chung và Thành phố Hồ Chí Minh nói riêng.

Từ khóa: Đa kháng kháng sinh, *Salmonella*, plasmid không tương hợp, vùng gen cassette.

MỞ ĐẦU

Plasmid là các phân tử DNA mạch đôi, dạng vòng, nằm ngoài DNA nhiễm sắc thể của vi khuẩn. Chúng có thể tự nhân lên độc lập với tế bào chủ do có vị trí khởi đầu sao chép ori. Các plasmid thường có kích thước từ vài đến vài trăm kbp. Các plasmid được xem là nhân tố quan trọng gây nên hiện tượng đa kháng ở vi khuẩn do chúng mang các gen mã hóa cho việc kháng lại nhiều loại kháng sinh như β -lactam, macrolide, aminoglycoside, tetracycline, phenicol và SXT (Nikaido, 2009). Các plasmid mạch vòng thường được tìm thấy nhiều hơn các plasmid mạch hở. Tuy nhiên, ngày nay, các plasmid mạch hở bắt đầu được nghiên cứu đặc tính chuyên sâu do chúng cho có khả năng chuyên chở các kiểu hình tích cực cho vật chủ. Cũng giống như plasmid mạch vòng, plasmid mạch hở cũng có khả năng tiếp hợp. Một số plasmid kháng kháng sinh không thể cùng tồn tại trong tế bào vật chủ. Thực tế này cho thấy chúng cũng được chia thành các nhóm không tương hợp. Các nhà khoa học đã chia chúng thành bốn nhóm chính dựa trên cấu trúc DNA: nhóm *IncF* (bao gồm *IncC*, *IncD*, *IncF*, *IncJ*, DNA *IncS*), nhóm *Incl* (bao gồm *IncB*, *Incl*, DNA *IncK*), nhóm *IncP* (bao gồm *IncM*, *IncP*, *IncU*, DNA *IncW*) và DNA *Ti*. Thêm vào đó, các plasmid ngoài việc chứa các gen kháng kháng sinh mục tiêu còn chứa các yếu tố kháng kháng sinh qua trung gian plasmid khác như kháng quinolone (*QnrA* và *QnrB*) và aminoglycoside (*rmfB*) (Endimiani và Hujer, 2008).

Vùng gen cassette là những yếu tố di truyền di động nhỏ nhất và không có khả năng sao chép, thường chỉ chứa 1 gen đơn và 1 điểm tái tổ hợp (*attC*) hay còn gọi là 59-be. Hầu hết các gen cassette không có promoter nên hoạt động của chúng phụ thuộc vào promoter của integron mà chúng chèn vào (Cambray *et al.*, 2010). Do đó, nó không thể tự nhân đôi ở trạng thái tự do. Nhiều gen cassette có thể chèn vào cùng 1 integron nên gây ra hiện tượng đa kháng (Partridge *et al.*, 2009). Theo số liệu tổng hợp, có hơn 130 gen cassette khác nhau đã được xác định (Partridge *et al.*, 2009). Trong đó, có hơn 80 gen cassette khác nhau từ integron nhóm I và chúng thường mã hóa cho sự kháng với các kháng sinh như aminoglycoside, chloramphenicol, trimethoprim, streptomycin, rifampin, erythromycin, fosfomycin, lincomycin, các hợp chất amino bậc 4 và các kháng sinh thuộc nhóm β -lactam. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát sự hiện diện các loại plasmid không tương hợp và vùng gen cassette thuộc integron nhóm I, II của các serovar đa kháng phân lập từ thực phẩm tại các chợ truyền thống trên địa bàn Thành phố Hồ Chí Minh.

Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần cung cấp tư liệu làm cơ sở khoa học cho những nghiên cứu sau này ở quy mô lớn hơn nhằm tìm hiểu cơ chế kháng đa kháng sinh của *Salmonella* spp. ở mức độ phân tử có nguồn gốc từ thực phẩm, bổ sung bằng chứng khoa học cho các nghiên cứu chuyên sâu về cơ chế kháng kháng sinh và nâng cao ý thức sử dụng kháng sinh có hiệu quả tại Việt Nam nói chung và Thành phố Hồ Chí Minh nói riêng.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đối tượng nghiên cứu

21 serovar *Salmonella* đa kháng (kháng từ 07 loại kháng sinh trở lên) được phân lập từ các mẫu thịt heo, thịt bò, thịt gà và cá thu thập tại các chợ truyền thống trên địa bàn Thành phố Hồ Chí Minh đang được lưu giữ trong các ống Cryobank ở nhiệt độ -70°C tại Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thí nghiệm TP. HCM.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp ly trích ADN tổng số

Dùng que cấy tròn lấy một vòng khuẩn lạc trên thạch Nutrient Agar (Merck/1.05450) cho vào Eppendorf chứa sẵn 1 ml nước cất vô trùng. Quy trình ly trích ADN được thực hiện theo bộ kit AccuRive Bacteria DNA Prep Kit (KT Biotech) (<https://kt-biotech.com/san-pham/accurive-bacteria-dna-prep-kit>).

Phương pháp phát hiện plasmid không tương hợp và các vùng gen cassette integron nhóm I, II

Xác định sự hiện diện 18 loại plasmid không tương hợp và các vùng gen cassette integron nhóm I, II trên các chủng *Salmonella* dựa vào 5 phản ứng multiplex-PCR và 5 simplex-PCR. Trình tự của các cặp mồi và kích cỡ sản phẩm khuếch đại được trình bày ở Bảng 1.

Thành phần phản ứng cho các m-PCR bao gồm: 25 µl Master mix 2X PCR (Bio-rad, Pháp); 0,25 µl iProof™ High-Fidelity DNA Polymerase (Bio-rad, Pháp); 0,5 µl mỗi đoạn mồi (nồng độ 0,5 µM); 5,0 µl (50 ng) DNA khuôn mẫu và nước cất khử ion vừa đủ thể tích 50 µl.

Chu trình nhiệt cho phản ứng m-PCR 1-->5: 94°C/5 phút, 30 chu kỳ (94°C/60 giây, 60°C/30 giây, 72°C/60 giây); 72°C/5 phút.

Chu trình nhiệt cho phản ứng s-PCR 1-->3: 94°C/5 phút, 30 chu kỳ (94°C/60 giây; 52°C/30 giây và 72°C/60 giây); 72°C/5 phút.

Chu trình nhiệt cho phản ứng s-PCR 4: 94°C/05 phút; 35 chu kỳ (94°C/01 phút, 58°C/02 phút, 72°C/02 phút); 72°C/10 phút.

Chu trình nhiệt cho phản ứng s-PCR 5: 94°C/05 phút; 35 chu kỳ (94°C/01 phút, 55°C/01 phút, 72°C/05 phút); 72°C/10 phút.

Chứng dương: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Kentucky 1600.

Điện di và đọc kết quả

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% có chứa 1 µg/ml ethidium bromide trong TBE. Các thang chuẩn DNA gồm 100 bp, 100 bp plus, 1 kbp (Fermentas, Mỹ). Thời gian điện di là 35 – 40 phút ở 100 V và 100 mA. Sau đó chụp hình gel với tia UV bằng máy chụp gel Ingenius.

Bảng 1. Trình tự primer sử dụng cho phản ứng PCR

Mục tiêu	Primer	Trình tự 5'-3'	Kích thước (bp)	Nguồn
parA-parB	H11 FW	GGAGCGATGGATTACTTCAGTAC	471	Carattoli <i>et al.</i> , 2005
	H11 RV	TGCCGTTTCACCTCGTGAGTA		
iterons	H12 FW	TTTCTCCTGAGTCACCTGTTAACAC	644	
	H12 RV	GGCTCACTACCGTTGTCATCCT		
RNAi	I1 FW	CGAAAGCCGGACGGCAGAA	139	
	I1 RV	TCGTCGTTCCGCCAAGTTCGT		
ori γ	X FW	AACCTTAGAGGCTATTTAAGTTGCTGAT	376	
	X RV	TGAGAGTCAATTTTATCTCATGTTTTAGC		
repA, B, C	L/M FW	GGATGAAAACATATCAGCATCTGAAG	785	
	L/M RV	CTGCAGGGGCGATTCTTTAGG		
repA	N FW	GTCTAACGAGCTTACCGAAG	559	
	N RV	GTTTCAACTCTGCCAAGTTC		

HỘI NGHỊ KHOA HỌC TOÀN QUỐC VỀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC 2024

iterons	<i>FIA</i> FW	CCATGCTGGTTCTAGAGAAGGTG	462	
	<i>FIA</i> RV	GTATATCCTTACTGGCTTCCGCAG		
repA	<i>FIB</i> FW	GGAGTTCTGACACACGATTTTCTG	702	m-PCR 3
	<i>FIB</i> RV	CTCCCGTCGCTTCAGGGCATT		
repA	<i>W</i> FW	CCTAAGAACAACAAAGCCCCCG	242	
	<i>W</i> RV	GGTGCGCGGCATAGAACCCT		
repA	<i>Y</i> FW	AATTCAAACAACACTGTGCAGCCTG	765	
	<i>Y</i> RV	GCGAGAATGGACGATTACAAAACCTT		
iterons	<i>P</i> FW	CTATGGCCCTGCAAACGCGCCAGAAA	534	m-PCR 4
	<i>P</i> RV	TCACGCGCCAGGGCGCAGCC		
repA2	<i>FIC</i> FW	GTGAACTGGCAGATGAGGAAGG	262	
	<i>FIC</i> RV	TTCTCCTCGTCGCCAAACTAGAT		
repA	<i>A/C</i> FW	GAGAACCAAAGACAAAGACCTGGA	465	
	<i>A/C</i> RV	ACGACAAACCTGAATTGCCTCCTT		
repA	<i>T</i> FW	TTGGCCTGTTTGTGCCTAAACCAT	750	m-PCR 5
	<i>T</i> RV	CGTTGATTACACTTAGCTTTGGAC		
repA	<i>FIIA</i> FW	CTGTGTAAGCTGATGGC	270	
	<i>FIIA</i> RV	CTCTGCCACAACTTCAGC		
RNAi/repA	<i>F_{repb}</i> FW	TGATCGTTTAAGGAATTTTG	270	s-PCR 1
	<i>F_{repb}</i> RW	GAAGATCAGTCACACCATCC		
RNAi	<i>K/B</i> FW	GCGGTCCGGAAGCCAGAAAAC	160	s-PCR 2
	<i>K/B</i> R R	TCTTTCAGGAGCCCGCCAAA		
RNAi	<i>B/O</i> FW	GCGGTCCGGAAGCCAGAAAAC	159	s-PCR 3
	<i>B/O</i> RV	TCTGCGTTCCGCCAAGTTCGA		
Cassette integron I	5'CS	GGCATCCAAGCAGCAAG	Variable*	s-PCR 4
	3'CS	AAGCAGACTTGACCTGA		
Cassette integron II	<i>hep51</i>	GATGCCATCGCAAGTACGAG	Variable*	s-PCR 5
	<i>hep74</i>	CGGGATCCCGACGGCATGCACGATTTGTA		

Kaushik
et al., 2019

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đặc điểm plasmid của các serovar *Salmonella* đa kháng

Phát hiện 100% serovar đều mang plasmid. Mang nhiều plasmid nhất là Kentucky với số lượng là 08 plasmid, Potsdam là 07 plasmid; Infantis, Saintpaul, Braenderup, Agona và 7:1,z₆:UT mang 05 plasmid, mang 04 plasmid là các serovar OMF:1,z₆:UT và Indiana (Bảng 2).

Bảng 2. Tỷ lệ mang plasmid đối với các serovar của *Salmonella*

Serovar (n=21)	Số lượng	Loại plasmid (n=18)	Tỷ lệ (%)
S. Kentucky	08	<i>N-FIB-W-Y-A/C-T- K/B-B/O</i>	44,44
S. Potsdam	07	<i>N-FIB-W-Y-P-A/C-F_{repb}</i>	38,89
S. Agona	06	<i>N-W-Y-P-A/C-T</i>	33,33
S. Braenderup	05	<i>N-W-Y-P-T</i>	27,78
S. Saintpaul	05	<i>N-W-Y-P-T</i>	27,78
S. Infantis	05	<i>N-W-Y-P-T</i>	27,78
7:1,z ₆ :UT	05	<i>N-W-Y-P-T</i>	27,78
S. Indiana	04	<i>N-W-Y-T</i>	22,22
OMF:1,z ₆ :UT	04	<i>N-W-Y-T</i>	22,22

CÔNG NGHỆ VI SINH, THỰC PHẨM VÀ MÔI TRƯỜNG

Sự hiện diện của plasmid khá đa dạng (10/18 loại) ở các serovar khác nhau. Trong số đó, *W* và *Y* là plasmid phổ biến nhất với tỷ lệ hiện diện trong các serovar phân lập (100%), tiếp đến là các plasmid *N*, *T*, *P*, *A/C*, *FIB* với tỷ lệ lần lượt là 85,71%, 66,67%, 38,10%, 28,57%, 9,52%; các plasmid *Frepb*, *K/B*, *B/O* được phát hiện với tỷ lệ thấp 4,76%. Không phát hiện serovar nào mang *HI1*, *HI2*, *I1*, *X*, *L/M*, *FIIA*, *FIC*, *FIA*. Cụ thể, plasmid *IncA/C* hiện diện ở *S. Agona* (01), *S. Kentucky* (03) và *S. Potsdam* (02) mang gen *blaTEM-strA-tetA-sul2* phổ biến nhất (Bảng 3). Điều này phù hợp với công trình của Cao và đồng tác giả (2018), plasmid *IncA/C* đã được phân lập ở *Salmonella* có chứa tới 10 gen kháng cho hơn 5 loại kháng sinh. Các gen kháng phổ biến nhất được mang bởi *IncA/C* là *strAB*, *sul2*, *tetAR*, *blaCMY-2* và *floR*. Các chủng *Salmonella* được phân lập tại Hoa Kỳ, plasmid *IncA/C* đã được tìm thấy trong một số serovar khác nhau và một số sản phẩm từ động vật, đặc biệt là gia súc (Folster *et al.*, 2017).

Bảng 3. Tỷ lệ phát hiện các loại plasmid trên các serovar *Salmonella*

Loại plasmid	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Serovar (n=21)
<i>N</i>	18	85,71	<i>S. Agona</i> (01); <i>S. Braenderup</i> (01); <i>S. Indiana</i> (01); <i>S. Infantis</i> (03); <i>S. Kentucky</i> (07); <i>S. Potsdam</i> (02); <i>S. Saintpaul</i> (01); OMF:1,z6:Ut (01); 7:1,z6:UT (01)
<i>FIB</i>	02	9,52	<i>S. Kentucky</i> (01); <i>S. Potsdam</i> (01)
<i>W</i>	21	100	<i>S. Agona</i> (02); <i>S. Braenderup</i> (01); <i>S. Indiana</i> (01); <i>S. Infantis</i> (04); <i>S. Kentucky</i> (08); <i>S. Potsdam</i> (02); <i>S. Saintpaul</i> (01); OMF:1,z6:Ut (01); 7:1,z6:UT (01)
<i>Y</i>	21	100	<i>S. Agona</i> (02); <i>S. Braenderup</i> (01); <i>S. Indiana</i> (01); <i>S. Infantis</i> (04); <i>S. Kentucky</i> (08); <i>S. Potsdam</i> (02); <i>S. Saintpaul</i> (01); OMF:1,z6:Ut (01); 7:1,z6:UT (01)
<i>P</i>	8	38,10	<i>S. Agona</i> (01); <i>S. Braenderup</i> (01); <i>S. Infantis</i> (03); <i>S. Potsdam</i> (01); <i>S. Saintpaul</i> (01); 7:1,z6:UT (01)
<i>A/C</i>	06	28,57	<i>S. Agona</i> (01); <i>S. Kentucky</i> (03); <i>S. Potsdam</i> (02)
<i>T</i>	14	66,67	<i>S. Agona</i> (01); <i>S. Braenderup</i> (01); <i>S. Indiana</i> (01); <i>S. Infantis</i> (03); <i>S. Kentucky</i> (06); <i>S. Saintpaul</i> (01); OMF:1,z6:Ut (01)
<i>Frepb</i>	01	4,76	<i>S. Potsdam</i> (01)
<i>K/B</i>	01	4,76	<i>S. Kentucky</i> (01)
<i>B/O</i>	01	4,76	<i>S. Kentucky</i> (01)
<i>HI1-HI2-I1-X-L/M-FIIA-FIC-FIA</i>	0	0	-

Các loại plasmid phân bố theo kiểu gen kháng là rất khác nhau. Plasmid *W*, *Y* xuất hiện trong các serovar mang gen kháng nhóm β -lactam, *N* xuất hiện ở serovar mang gen *blaCTX*, *A/C* phân bố ở serovar mang gen *clm*. Đánh giá sự phân bố số lượng plasmid theo kiểu gen kháng của các serovar *Salmonella* chúng tôi nhận thấy: các serovar mang 3, 4 plasmid thường xuất hiện các chủng mang gen *blaCTX*, các serovar có kiểu gen *dhfr* thì chủ yếu mang 5 plasmid. Mang 6 plasmid chỉ xuất hiện ở các chủng mang kiểu gen *clm* (Bảng 4).

Bảng 4. Số lượng plasmid và kiểu hình kháng kháng sinh của *Salmonella*

Nguồn	Ký hiệu	Serovar	Kiểu hình kháng kháng sinh	Số lượng plasmid	Các loại plasmid
Thịt heo	SA11/19 3497	<i>S. Kentucky</i>	AMC/AM-C-NA/CIP/OFX-STR-TE	06	<i>N-W-Y-T-K/B-B/O</i>
	SA11/19 4221	<i>S. Indiana</i>	CAZ-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	04	<i>N-W-Y-T</i>
Thịt bò	SA07/20 3335	<i>S. Infantis</i>	AM-C-NA/CIP/OFX-STR-SXT	05	<i>N-W-Y-P-T</i>
	SA11/19 3498	<i>S. Agona</i>	AMC/AM-CAZ-C-STR-TE-SXT	03	<i>W-Y-A/C</i>
Thịt gà	SA12/19 1584	<i>S. Infantis</i>	AM-C-NA-STR/GM-TE-SXT	04	<i>W-Y-P-T</i>
	SA05/20 1114	<i>S. Potsdam</i>	AM-C-NA-STR/GM-TE-SXT	06	<i>N-FIB-W-Y-A/C-F_{repb}</i>
	SA07/20 1066	<i>S. Kentucky</i>	AM-CAZ-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	03	<i>N-W-Y</i>
	SA07/20 1067	<i>S. Kentucky</i>	AM-CAZ-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	04	<i>N-W-Y-T</i>
Cá	SA11/19 3514	<i>S. Kentucky</i>	AM-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	05	<i>N-FIB-W-Y-T</i>
	SA11/19 3515	<i>S. Saintpaul</i>	AM-C-NA/CIP-STR/GM-TE-SXT	05	<i>N-W-Y-P-T</i>

HỘI NGHỊ KHOA HỌC TOÀN QUỐC VỀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC 2024

SA11/19 4205	S. Braenderup	AM-C-NA-STR/GM-TE-SXT	05	N-W-Y-P-T
SA12/19 501	S. Kentucky	AM-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	03	N-W-Y
SA12/19 1600	S. Kentucky	AM-CAZ-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	05	N-W-Y-A/C-T
SA01/20 66	S. Potsdam	AM-NA/CIP-STR/GM-TE-SXT	05	N-W-Y-P-A/C
SA02/20 1524	S. Kentucky	AM-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	05	N-W-Y-A/C-T
SA05/20 210	S. Infantis	AM-C-NA-STR/GM-TE-SXT	04	N-W-Y-T
SA06/20 1808	S. Agona	AMC/AM-CAZ-C-STR-TE-SXT	05	N-W-Y-P-T
SA06/20 1809	S. Infantis	AM-C-NA/CIP-STR/GM-TE	04	N-W-Y-P
SA07/20 460	OMF:1,z ₆ :UT	AM-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	04	N-W-Y-T
SA07/20 462	7:1,z ₆ :UT	AM-C-NA-STR/GM-TE-SXT	04	N-W-Y-P
SA08/20 2058	S. Kentucky	AM-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE	04	W-Y-A/C-T

Đặc điểm vùng gen cassette của *Salmonella* dương tính với integron I, II

Các gen cassette nằm giữa vùng 5'-CS và 3'-CS của các integron I và có kích thước thay đổi tùy thuộc vào các gen kháng được chèn vào. Đặc điểm vùng gen cassette của các serovar *Salmonella* được xác định tại Bảng 5. Đối với các integron I, kết quả khảo sát cho thấy vùng gen cassette được khuếch đại ở 18/21 chủng *Salmonella* (85,71%) với 08 kích thước khác nhau (> 1,0 kbp; 1,0 kbp; 0,9 kbp; 0,6 kbp; 0,5 kbp; 0,4 kbp; 0,25 kbp; 0,2 kbp). Vùng gen cassette của integron I được khuếch đại nhiều nhất là vùng có kích thước 0,6 kbp (9/21, 42,86%), kế đến là 1,0 kbp (7/21, 33,33%), 0,25 kbp (6/21, 28,57%), 0,9 kbp (5/21, 23,81%), > 1,0 kbp (4/21, 19,05%), 0,4 và 0,2 kbp (2/21, 9,53%) và thấp nhất là 0,5 kbp (1/21, 4,76%). Tỷ lệ các serovar của *Salmonella* không mang vùng gen cassette thuộc integron I là 14,29% (3/21), mang cùng lúc 4 vùng là 4,76% (1/21), 3 và 2 vùng là 23,81% (5/21), 1 vùng 33,33% (7/21). Vùng gen cassette có kích thước > 1,0 kbp chủ yếu hiện diện ở serovar Kentucky với tỷ lệ 50% (4/8), các serovar này mang chung các gen *bla*CTX/TEM là gen mã hóa enzyme β -lactamase phổ rộng ESBL; gen *gyrA,B/parC* mã hóa enzyme DNA gyrase và topoisomerase IV kháng đối với NA, OFX và CIP; gen *tet* mã hóa cho các protein bảo vệ ribosome kháng TE; gen *sul* ức chế dihydropteroate synthetase kháng SXT.

Tất cả các serovar chứa vùng gen cassette thuộc integron I có kích thước 0,9 và 1,0 kbp đều mang chung các gen *gyrA,B/parC,E-tetA,C-sul1* có khả năng kháng các kháng sinh thuộc nhóm quinolon, tetracycline và sulfonamide. Kết quả còn cho thấy, tất cả các serovar chứa vùng cassette thuộc integron I thì 100% mang gen *tet*; 94,44% mang gen *gyrA,B/parC,E*; 88,89% mang gen *sul1,2*; 61,11% mang gen *bla*TEM/CTX; 44,44% mang gen *strA*; 16,67% mang gen *dhfr*; 5,56% mang gen *cmIA*. Chúng tôi nhận định có sự tồn tại mối tương quan giữa integron chứa các vùng gen cassette với khả năng kháng AM, NA, CIP, SXT, STR, GM và TE của các serovar phân lập từ thực phẩm. Điều này cũng đã được giải thích từ các nghiên cứu trước đây, phần lớn các vùng gen cassette liên kết với integron I của nhiều loài vi khuẩn mang gen kháng với aminoglycoside (White *et al.*, 2001). Tuy nhiên, sự khác nhau về tỷ lệ xuất hiện cũng như sự kết hợp, sắp xếp của các gen trong vùng gen cassette ở các vi khuẩn cho đến nay vẫn chưa được chứng minh. Do đó, các nghiên cứu tiếp theo cần được thực hiện để làm sáng tỏ vấn đề này.

Vùng gen cassette thuộc integron II được xác định tại Bảng 5. Kết quả cho thấy tỷ lệ serovar mang vùng gen cassette là 72,73% với 05 kích thước khác nhau (2,0 kbp; 1,6 kbp; 1,0 kbp; 0,7 kbp; 0,5 kbp). Sự đa dạng của các vùng gen cassette chèn vào integron II thấp hơn so với integron I. Điều này được Moura và đồng tác giả (2007) giải thích có lẽ là do xảy ra đột biến ở codon 179 của gen mã hóa enzyme integrase thuộc integron II, từ đó tạo ra một protein bị cắt ngắn và mất chức năng, dẫn đến hoạt động của integrase bị hạn chế và không thể loại bỏ các vùng gen cassette hiện có hoặc chèn vùng mới vào integron. Sự sắp xếp vùng gen cassette phổ biến trong các integron II được tìm thấy ở các serovar *Salmonella* lần lượt là (*gyrA,B/parC,E-tetA-sul1,2*); (*aad2-dhfr*). Vùng gen cassette *aad2-dhfr* được phát hiện thường xuyên nhất trong các integron II (Van *et al.*, 2007). Hơn nữa, các serovar *Salmonella* dương tính với integron I và II kháng với các loại kháng sinh khác nhau nhưng các vùng gen cassette liên quan không được tìm thấy, điều này Chang và đồng tác giả (2000) cho rằng hiện tượng kháng của vi khuẩn không phải từ nguồn integron. Kết quả thu được trong nghiên cứu này, vùng gen cassette được khuếch đại bằng PCR ở integron II thấp hơn so với integron I.

Qua kết quả thu được, chúng tôi xác định được một số serovar, mặc dù có kiểu hình đa kháng và có mang gen integron I và II nhưng không được chèn các vùng gen cassette. Dawes và đồng tác giả (2010) cho biết, khác biệt này có thể do sự thay đổi trong vùng 3'CS của integron so với vị trí bắt cặp của các primer trong quá trình thực hiện phản ứng PCR. Ngoài ra, có một số serovar chứa nhiều nhóm integron và vùng gen cassette, điều này cho thấy các integron hiện diện tại các vùng nhiễm sắc thể khác nhau của các serovar đã được phân lập. Mặt khác,

CÔNG NGHỆ VI SINH, THỰC PHẨM VÀ MÔI TRƯỜNG

mối tương quan đáng kể của các integron I và II được chèn các vùng gen cassette có khả năng kháng NA, SXT, AM, C, OFX, CIP và TE cũng được phát hiện.

Bảng 5. Sự hiện diện các vùng gen cassette của *Salmonella*

Nguồn	Ký hiệu	Serovar	Kiểu hình kháng kháng sinh	Integron		Kích thước vùng gen cassette (kbp)		
				<i>IntI1</i>	<i>IntI2</i>	<i>IntI1</i>	<i>IntI2</i>	
Thịt heo	SA11/19 3497	S. Kentucky	AMC/AM-C-NA/CIP/OFX-STR-TE	+	+	-	0,7	
	SA11/19 4221	S. Indiana	CAZ-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	+	-	0,25	1,0; 0,7	
Thịt bò	SA07/20 3335	S. Infantis	AM-C-NA/CIP/OFX-STR-SXT	+	+	1,0; 0,9	-	
	SA11/19 3498	S. Agona	AMC/AM-CAZ-C-STR-TE-SXT	+	-	0,25	1,0; 0,7	
	SA12/19 1584	S. Infantis	AM-C-NA-STR/GM-TE-SXT	+	+	1,0	2,0; 1,6; 1,0; 0,7	
Thịt gà	SA05/20 1114	S. Potsdam	AM-C-NA-STR/GM-TE-SXT	+	-	1,0; 0,6; 0,25	1,0; 0,7	
	SA07/20 1066	S. Kentucky	AM-CAZ-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	+	-	> 1,0; 0,6	2,0; 0,7	
	SA07/20 1067	S. Kentucky	AM-CAZ-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	+	-	> 1,0; 0,6; 0,4	0,7	
	SA11/19 3514	S. Kentucky	AM-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	+	+	-	0,7	
	SA11/19 3515	S. Saintpaul	AM-C-NA/CIP-STR/GM-TE-SXT	+	-	0,2	1,0; 0,6	
	SA11/19 4205	S. Braenderup	AM-C-NA-STR/GM-TE-SXT	+	+	1,0; 0,2	1,0; 0,7	
	SA12/19 501	S. Kentucky	AM-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	+	+	> 1,0	-	
	SA12/19 1600	S. Kentucky	AM-CAZ-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	+	+	-	-	
	SA01/20 66	S. Potsdam	AM-NA/CIP-STR/GM-TE-SXT	+	-	2,5	1,0; 0,7	
	SA02/20 1524	S. Kentucky	AM-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	+	-	0,6; 0,4	1,0; 0,7	
	Cá	SA05/20 210	S. Infantis	AM-C-NA-STR/GM-TE-SXT	+	+	1,0; 0,9; 0,6	1,6; 1,0; 0,7
		SA06/20 1808	S. Agona	AMC/AM-CAZ-C-STR-TE-SXT	+	+	0,6; 0,25	2,0; 1,0; 0,7; 0,5
		SA06/20 1809	S. Infantis	AM-C-NA/CIP-STR/GM-TE	+	+	1,0; 0,9; 0,5	0,7
SA07/20 460		OMF:1,z ₆ :UT	AM-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE-SXT	+	-	0,6	2,0; 1,0; 0,7	
SA07/20 462		7:1,z ₆ :UT	AM-C-NA-STR/GM-TE-SXT	+	+	1,0; 0,9; 0,6; 0,25	1,0; 0,7	
	SA08/20 2058	S. Kentucky	AM-C-NA/CIP/OFX-STR/GM-TE	+	-	> 1,0; 0,9; 0,6	0,7	

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã cho thấy sự đa kháng của các serovar *Salmonella* và xu hướng ngày càng gia tăng với nhiều loại kháng sinh. Ngoài ra, chúng tôi đã phát hiện 100% serovar đều mang plasmid. Trong số đó, W và Y là plasmid phổ biến nhất với tỷ lệ hiện diện ở các serovar phân lập (100%), tiếp đến là các plasmid N, T, P, A/C, FIB với tỷ lệ lần lượt là 85,71%, 66,67%, 38,10%, 28,57%, 9,52%; các plasmid *Frepb*, *KB*, *B/O* được phát hiện với tỷ lệ thấp 4,76%. Không phát hiện serovar nào mang *HI1*, *HI2*, *I1*, *X*, *L/M*, *FIIA*, *FIC*, *FIA*. Tỷ lệ serovar mang vùng gen cassette thuộc integron nhóm I là 85,71% với 08 kích thước khác nhau (> 1,0 kbp; 1,0 kbp; 0,9 kbp; 0,6 kbp; 0,5 kbp; 0,4 kbp; 0,25 kbp; 0,2 kbp), integron nhóm II là 72,73% với 05 kích thước khác nhau (2,0 kbp; 1,6 kbp; 1,0 kbp; 0,7 kbp; 0,5 kbp). Kết quả nghiên cứu nhằm cung cấp dữ liệu cho các nhà khoa học có những nghiên cứu tiếp theo về cơ chế kháng đa kháng sinh ở mức độ phân tử. Đồng thời, khảo sát thêm sự hiện diện của các nhóm integron khác, nghiên cứu đặc điểm vùng gene cassette của các *Salmonella* phân lập từ thực phẩm cũng hết sức cần thiết và đáng được quan tâm.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được hỗ trợ về kinh phí từ nhiệm vụ khoa học công nghệ hợp đồng số 70/2019/HĐ-QPTKHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cambray G, Guerout AM, Mazel D (2010). Integrons. *Annu Rev Genet*, 44: 141-166.
- Carattoli A, Bertini A, Villa L, Falbo V, Hopkins KL, Threlfall EJ (2005). Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J. Microbiol. Methods*, 63(3): 219-228.
- Chang C, Chang L, Chang Y (2000). Characterisation of drug resistance gene cassettes associated with class 1 integrons clinical isolates of *Escherichia coli* from Taiwan. *J. Med. Microbiol*, 49(12): 1097-1102.
- Dawes F, Kuzevski A, Bettelheim K (2010). Distribution of class 1 integrons with is mediated deletions in their 3'-conserved segments in *Escherichia coli* of human and animal origin. *PLoS ONE*, 5(9): e12754.
- Endimiani ACL, Hujer AM (2008). Presence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates possessing BLA_{KPC} in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother*, 52(7): 2680-2682.
- Folster JP, Grass JE, Bicknese A, Taylor J, Friedman CR, Whichard JM (2017). Characterization of resistance genes and plasmids from outbreaks and illness clusters caused by *Salmonella* resistant to ceftriaxone in the United States, 2011-2012. *Microb. Drug. Resist*, 23(2): 188-193.
- Kaushik M, Kumar S, Kapoor RK, Gulati P (2019). Integrons and antibiotic resistance genes in water-borne pathogens: threat detection and risk assessment. *J Med Microbiol*, 68(5): 679-692.
- Moura A, Henriques I, Correia A (2007). Prevalence and characterization of integrons from bacteria isolated from a slaughterhouse wastewater treatment plant. *J Antimicrob Chemother*, 60(6): 1243-1250.
- Nikaido H (2009). Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem*, 78: 119-146.
- Partridge SR, Coiera E, Iredell JR (2009). Gen cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. *FEMS Microbiol Rev*, 33: 757-784.
- Van Essen-Zandbergen A, Smith H, Veldman K, Mevius D (2007). Occurrence and characteristics of class 1, 2 and 3 integrons in *E. coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* spp. in the Netherlands. *J. Antimicrob. Chemother*, 59: 746-750.
- White PA, McIver CJ, Rawlinson WD (2001). Integrons and gene cassettes in the Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*, 45: 2658-2661.

INCOMPATIBLE PLASMID AND GENE CASSETTES OF MULTI-RESISTANT *SALMONELLA* SEROVARS ISOLATED FROM FOOD AT CONVENTIONAL MARKETS IN HO CHI MINH CITY

Truong Huynh Anh Vu^{1*}, Nguyen Hoang Khue Tu², Tran Quang Vinh³, Nguyen Minh Hien⁴

¹Microbiology laboratory, Center of Analytical Services and Experimentation HCMC (CASE), Vietnam

²School of Biotechnology, HCMC International University, Vietnam National University HCMC, Vietnam

³Science Management Division, Department of Science and Technology HCMC (DOST), Vietnam

⁴School of Medicine, Vietnam National University HCMC, Vietnam

SUMMARY

The study investigated the presence of 18 incompatible plasmids and gene cassette regions of integron I and II of 21 multi-resistant *Salmonella* serovars (resistant to more than 07 antibiotics) isolated from food samples collected at traditional markets in Ho Chi Minh City. The results have found that 100% of serovar carries plasmids. Among them, W and Y are the most common plasmids with the presence rate of isolated serovars (100%), followed by N, T, P, A/C, FIB plasmids with rates of 85.71%, 66.67%, 38.10%, 28.57%, 9.52%, respectively; Frepb, K/B, B/O plasmids were detected with a low rate of 4.76%. No serovars were detected carrying HI1, HI2, II, X, L/M, FIIA, FIC, FIA. The assessment of the gene cassette region of integron I was accounted for 85.71%; group II was 72.73%. The presence of mobile genetic factors in *Salmonella* in the study suggests that the bacteria can transmit or receive antibiotic resistance genes from other bacterial species in the natural environment. In addition, the research results contribute to providing scientific evidence for decisions on management and raising awareness of effective antibiotic use in Ho Chi Minh City, Vietnam.

Keywords: Multidrug-resistance, antimicrobial resistance, *Salmonella*, incompatible plasmid, gene cassette.

* Author for correspondence: Tel:0909182442; Email: vutha@case.vn