

Phát hiện gen kháng erythromycin và tetracycline ở các chủng *Streptococcus suis* gây bệnh ở người

Lê Văn Duyệt^{1*}, Trần Thị Giáng Hương², Nguyễn Vũ Trung³

¹Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương

²Trường Đại học Y Hà Nội

³Bộ Y tế

Ngày nhận bài 18.1.2016, ngày chuyển phản biện 20.1.2016, ngày nhận phản biện 22.2.2016, ngày chấp nhận đăng 25.2.2016

Nhiễm khuẩn do *Streptococcus suis* thường dẫn đến các biến chứng nặng như viêm phổi, viêm màng não, nhiễm trùng huyết, viêm nội tâm mạc, viêm khớp. Erythromycin và tetracycline là các kháng sinh được lựa chọn để điều trị và phòng nhiễm trùng do vi khuẩn này ở lợn. Nghiên cứu nhằm phát hiện một số gen liên quan đến kháng erythromycin và tetracycline ở các chủng *S. suis* gây bệnh ở người. 81 chủng *Streptococcus suis* (trong đó có 72 chủng kháng tetracycline và 9 chủng nhạy với tetracycline) và 33 chủng (trong đó có 28 chủng kháng erythromycin và 5 chủng nhạy (CLSI 2013)) được lựa chọn vào nghiên cứu. Kỹ thuật PCR được sử dụng để phát hiện một số gen liên quan đến kháng erythromycin và tetracycline. Không có chủng *S. suis* nào mang gen *erm*(A), *mef*(A/E), *msr*(D) đề kháng erythromycin, chỉ có 1 chủng mang gen *erm*(B). 62 chủng mang gen *tet*(M), 81 chủng mang *tet*(K), 6 chủng mang *tet*(L), 13 chủng mang *tet*(W) và 19 chủng mang *tet*(40). Trong khi đó không có chủng nào mang gen *tet*(O) và *tet*(S). Như vậy, có thể kết luận: đã phát hiện các chủng *S. suis* phân lập từ bệnh nhân mang gen kháng erythromycin và tetracycline; phần lớn các chủng kháng tetracycline là các chủng mang gen kháng thuốc.

Từ khóa: gen kháng erythromycin và tetracycline, kỹ thuật PCR, *Streptococcus suis*.

Chỉ số phân loại 3.2

Đặt vấn đề

Streptococcus suis (liên cầu lợn) là một căn nguyên thường gặp gây viêm màng não và nhiễm khuẩn huyết ở người. Đây là một bệnh truyền từ động vật sang người. Trong khi viêm màng não do *Haemophilus influenzae* typ b (Hib) ở trẻ dưới 2 tuổi chiếm 88-94% các trường hợp viêm màng não do vi khuẩn ở trẻ dưới 5 tuổi [1]. Một nghiên cứu khác tiến hành trên các bệnh phẩm dịch não tủy thu thập từ bệnh nhân vào Bệnh viện Nhi trung ương từ 2001 đến 2005 cho thấy, 129/529 (24%) các mẫu bệnh phẩm dịch não tủy có kết quả nuôi cấy dương tính với Hib. Trong khi đó, ở người lớn, yếu tố dịch tễ học có sự khác biệt. *S. suis* là nguyên nhân gây viêm màng não do vi khuẩn phổ biến nhất, chiếm 26% các căn nguyên phân lập được. *S. suis* là một vi khuẩn từ lợn truyền nhiễm sang người do giết mổ lợn bị bệnh hoặc ăn tiết canh [2].

Ngoài gây viêm màng não, *S. suis* còn gây nhiễm trùng huyết ở những người nhiễm vi khuẩn này. Nhiễm khuẩn huyết có thể phối hợp với viêm màng não. Tỷ

lệ phân lập các tác nhân gây nhiễm trùng huyết tại một bệnh viện tuyến trung ương là 8% (thống kê tại Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương năm 2009-2010). Các vi khuẩn thường gặp như *Klebsiella pneumoniae* (18,3%), *Escherichia coli* (17,6%), *Staphylococcus aureus* (11,9%), *Pseudomonas aeruginosa* (5,9%) và *Acinetobacter baumannii* (4,4%). Một thống kê khác cho thấy, các căn nguyên vi khuẩn gây bệnh thường gặp từ 2008 đến 2009 là: *E. coli* (19,3%), *K. pneumoniae* (15,2%), *S. aureus* (13,8%), và *S. suis* (9,7%) (theo báo cáo của Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương, Hà Nội, 2009). Như vậy có thể thấy rằng, *S. suis* cùng với các vi khuẩn khác đang là căn nguyên đóng vai trò quan trọng trong gây viêm màng não và nhiễm khuẩn huyết hiện nay.

Cho tới nay, việc điều trị nhiễm khuẩn do *S. suis* gây ra chủ yếu dùng ampicillin và/hoặc ceftriaxone [3]. Tuy nhiên, erythromycin và tetracycline là các kháng sinh được lựa chọn để điều trị và phòng nhiễm trùng do vi khuẩn này ở lợn. Mặc dù các chủng *S. suis*

*Tác giả liên hệ: Tel: 04.35763491

Detection of erythromycin and tetracycline resistant genes in *Streptococcus suis* causing human infections

Summary

Streptococcus suis infections usually results in severe complications such as pneumoniae, meningitis, septicemia... Tetracycline and erythromycin are two antimicrobials that are extensively used for therapy and prophylaxis of *S. suis* strains isolated from pigs and human beings. This study aimed at detection of resistant genes for erythromycin and tetracycline from *S. suis* strains causing human infections. 81 *S. suis* isolates (72 tetracycline-resistant and 9 tetracycline-susceptible), and 33 isolates (28 erythromycin-resistant and 5 susceptible (CLSI 2013) were selected for the study. PCR was used to detect some resistant genes for erythromycin and tetracycline. No *S. suis* isolate harboured *erm*(A), *mef*(A/E), *msr*(D); only one harboured *erm*(B). 62 isolates harboured *tet*(M), and 81 for *tet*(K), 6 for *tet*(L), 13 for *tet*(W) and 19 for *tet*(40) respectively. No *tet*(O) and *tet*(S) gene was detected.

Keywords: PCR, resistant genes for erythromycin and tetracycline, *Streptococcus suis*.

Classification number 3.2

gây bệnh ở người có nguồn gốc từ lợn, nhưng ở Việt Nam chưa có một nghiên cứu nào khảo sát mức độ và đặc biệt là cơ chế di truyền liên quan đến kháng erythromycin và tetracycline ở các chủng *S. suis* phân lập từ người. Ngay sau khi đưa erythromycin vào sử dụng vào những năm 1950, người ta đã tìm thấy các chủng vi khuẩn đề kháng loại kháng sinh này lần đầu tiên ở staphylococci [4]. Tiếp đó, một lượng lớn vi khuẩn đã được xác định đề kháng với các kháng sinh nhóm macrolid, streptogramin, lincosamid (MSL) do sự xuất hiện của nhiều loại gen khác nhau, chủ yếu là các gen mã hóa cho enzyme methyl hóa phân tử rRNA. Nhóm enzyme methyl hóa phân tử rRNA do các gen *erm* mã hóa, tác động vào vị trí axit amin

adenine, tạo ra sự đề kháng đối với MSL. Hậu quả của methyl hóa adenine dẫn đến ngăn cản sự bám dính của thuốc kháng sinh lên tiểu đơn vị 50S ribosome. Ngoài ra, 2 cơ chế đề kháng khác liên quan đến bơm ngược và gen bất hoạt cũng đã được tìm thấy, các enzyme và protein liên quan đến hai cơ chế này do các gen *msr* và *ere* mã hóa. Cho đến nay, có hơn 60 loại gen đề kháng MSL đã được tìm thấy và đặt tên [5].

3 cơ chế đề kháng tetracycline bao gồm: 1) tăng cường bơm ngược, 2) protein bảo vệ ribosome, 3) enzyme bất hoạt. Cho đến nay, có tới hơn 40 gen đề kháng tetracycline đã được tìm thấy, trong đó có 38 gen *tet* (tetracycline resistance), 3 gen *otr* (oxytetracyclin resistance) và 1 gen *tcr*. Trong số đó, có 25 gen *tet*, 2 gen *otr*, và 1 gen *tcr* là mã hóa cho các hệ thống bơm ngược, ngược lại có 10 gen *tet*, 1 gen *otr* mã hóa cho các protein bảo vệ ribosome [6]. Đáng kể là nhóm gen *tet*(M), *tet*(U), *tet*(O/W) là những gen được tìm thấy nhiều ở cả vi khuẩn Gram âm và Gram dương [7]. Chính vì lý do đó, việc phát hiện một số gen liên quan đến kháng erythromycin và tetracycline ở các chủng *S. suis* gây bệnh ở người có ý nghĩa rất quan trọng.

Đối tượng, phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

88 chủng *S. suis*, trong đó có 72 chủng kháng tetracycline và 9 chủng nhạy với tetracycline và 33 chủng, trong đó có 28 chủng kháng erythromycin và 5 chủng nhạy (CLSI 2013); các chủng này được phân lập và lưu giữ trong khuôn khổ đề tài cấp nhà nước mã số KC10.18/11-15: “Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử xác định mức độ kháng kháng sinh của một số chủng vi khuẩn gây bệnh thường gặp ở Việt Nam”.

Vật liệu

Vật liệu để bảo quản, lưu giữ chủng vi khuẩn: môi trường canh thang BHI có 20% glycerol; ống cryotube vô trùng loại 2 ml; hộp trữ mẫu lạnh (loại 96 lỗ); đầu typ 200 µl, 1000 µl vô trùng; găng tay; khẩu trang.

Vật liệu để tách DNA tổng số của vi khuẩn: ống eppendorf loại 2,0 ml; pippette; cốc thủy tinh; bút ghi kính; giấy thấm; dung dịch sát khuẩn; bộ tách DNA của Hãng Qiagen (QIAmp DNA Mini Kit, Cat.No. 51304); găng tay; khẩu trang.

Vật liệu cho PCR: PCR master mix (Qiagen - Mỹ); Agarose dùng trong điện di (Invitrogen - Mỹ); gel red dùng để nhuộm gel (Nimagen - Mỹ); TAE (Tris Acetate EDTA); PBS (Phosphate buffer saline).

Bảng 1: bộ primer cho các gen liên quan đến đề kháng kháng sinh ở *S. suis*

Tetracycline	<i>tet</i> (M)	<i>tet</i> (M)F	GTG GAC AAA GGT ACA ACG AG	[8, 9]
		<i>tet</i> (M)R	CGG TAA AGT TCG TCA CAC AC	
	<i>tet</i> (O)	<i>tet</i> (O)F	AAC TTA GGC ATT CTG GCT CAC	
		<i>tet</i> (O)R	TCC CAC TGT TCC ATA TCG TCA	
		<i>tet</i> (O)FF2	TTG TTT TGG GGC TAT TGG AG	
		<i>tet</i> (O)FF3	TAT ATG ACT TTT GCA ACG TG	
	<i>tet</i> (K)	<i>tet</i> (K)F	GAT CAA TTG TAG CTT TAG GTG AAG G	
		<i>tet</i> (K)R	TTT TGT TGA TTT ACC AGG TAC CAT T	
	<i>tet</i> (L)	<i>tet</i> (L)F	TGG TGG AAT GAT AGC CCA TT	
		<i>tet</i> (L)R	CAG GAA TGA CAG CAC GCT AA	
	<i>tet</i> (S)	<i>tet</i> (S)F	CAT AGA CAA GCC GTT GAC C	
		<i>tet</i> (S)R	ATG TTT TTG GAA CGC CAG AG	
	<i>tet</i> (W)	<i>tet</i> (W)F	ACA ACG AGG ACG GAC ACC ATG	
		<i>tet</i> (W)R	TTA TCC CGA ACA GAC TGA ACC AC	
	<i>tet</i> (40)	<i>tet</i> (40)F	CGG AGG AAG AGG ACA AAC CC	
		<i>tet</i> (40)R	TAA GCC GCT GCC GAT AAG AC	
Erythromycin	16S <i>rRNA</i>	16S F	GAG TAC GAC CGC AAG GTT GA	
		16S R	CTG GTA AGG TTC TTC GCG TTG	
	<i>Erm</i> (A)	<i>Erm</i> (A)F	CCC GAA AAA TAC GCA AAA TTT CAT	
		<i>Erm</i> (A)R	CCC TGT TTA CCC ATT TAT AAA CG	
	<i>Erm</i> (B)	<i>Erm</i> (B)F	TGG TAT TCC AAA TGC GTA ATG	
		<i>Erm</i> (B)R	CTG TGG TAT GGC GGG TAA GT	
	<i>Mef</i> (A/E)	<i>Mef</i> (A/E)F	CAA TAT GGG CAG GGC AAG	
		<i>Mef</i> (A/E)R	AAG CTG TTC CAA TGC TAC GG	
	<i>msr</i> (D)	<i>msr</i> (D)F	TTG GAC GAA GTA ACT CTG	
		<i>msr</i> (D)R	GCT TGG CTC TTA CGT TC	

Thiết bị nghiên cứu

- Thiết bị lưu giữ chủng: tủ lạnh -80°C.
- Máy so độ đục Mc Faland.
- Máy điều nhiệt tự động GenAmp PCR System 9700 AB (Applied Biosystems, Mỹ).
- Máy ly tâm lạnh Eppendorf (Mỹ).
- Bộ điện di ngang Horizon 58(Gibco-BRL).

- Soi gel Wealtec Corp Model MD-20 (Mỹ), Máy chụp ảnh gel Geldoc (Biorad, Mỹ).

- Máy sequencing ABI PRISM 3130 (Mỹ).

Phương pháp nghiên cứu

Đây là nghiên cứu mô tả, thực nghiệm trong phòng xét nghiệm.

Kỹ thuật nghiên cứu:

Kỹ thuật tách chiết DNA: sử dụng bộ kit thương mại để tách chiết DNA tổng số theo quy trình của nhà sản xuất (bộ kit QIAamp DNA Mini Kit, Cat No. 51304).

Kỹ thuật PCR:

Thành phần phản ứng:

Thành phần	Thể tích (μl)
2x Master mix	25
MgCl ₂ (25 mM)	4
DMSO	2
Primer F (***) (10 μM)	1
Primer R (***) (10 μM)	1
DNA khuôn	2,5
H ₂ O	14,5
Tổng thể tích phản ứng	50

Chu trình nhiệt:

Các bước	Nhiệt độ	Thời gian	35 chu kỳ
Biến tính giai đoạn 1	94 °C	5 phút	
Biến tính giai đoạn 2	94 °C	30 giây	
Gắn mồi	*** °C	30 giây	
Kéo dài	72 °C	1 phút	
Kéo dài lần cuối	72 °C	5 phút	

• Các cặp mồi và nhiệt độ bắt cặp của gen đề kháng erythromycin của *S. suis*: sử dụng các cặp mồi đặc hiệu: *erm*(A), *erm*(B), *mef*(A/E), *msr*(D).

Mồi	<i>Erm</i> (A)	<i>Erm</i> (B)	<i>Mef</i> (A/E)	<i>Msr</i> (D)
T ^o	62	62	62	62

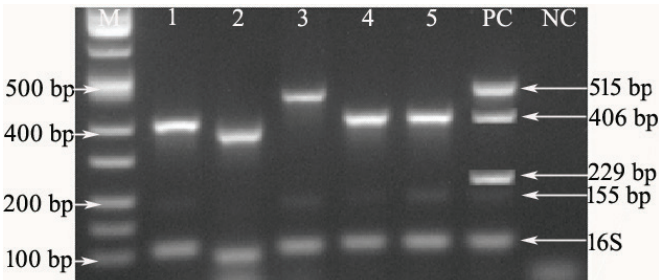
• Các cặp mồi và nhiệt độ bắt cặp của gen kháng tetracycline của *S. suis*: sử dụng các cặp mồi đặc hiệu: *tet*(M), *tet*(O), *tet*(K), *tet*(L), *tet*(S), *tet*(W), *tet*(40).

Mồi	<i>tet</i> (M)	<i>tet</i> (O)	<i>tet</i> (K)	<i>tet</i> (L)	<i>tet</i> (S)	<i>tet</i> (W)	<i>tet</i> (40)
T ^o	55	55	55	55	55	55	55

Thời gian nghiên cứu: từ 9.2012 đến 9.2014.

Địa điểm nghiên cứu: Labo Sinh học phân tử - Khoa Xét nghiệm - Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương và Khoa Vi sinh - Bệnh viện Bạch Mai.

Kết quả



Hình 1: kết quả điện di sản phẩm PCR các gen đề kháng tetracycline của *S. suis*

Giếng M là thang DNA chuẩn, các giếng từ 1 đến 5 là sản phẩm PCR của các chủng *S. suis* có mã số lần lượt là 532, 529, 418, 464, 479. Sản phẩm PCR gen *tet(K)* có kích thước phân tử là 155 bp, gen *tet(L)* 229 bp, gen *tet(M)* 406 bp và gen *tet(O)* là 515 bp. PC là chứng dương (Positive control), NC là chứng âm (Negative control).

Gen	<i>erm(A)</i>	<i>erm(B)</i>	<i>mef(A/E)</i>	<i>msr(D)</i>
Tỷ lệ				
Có (n, %)	0	1(3)	0	0
Không (n, %)	33 (100)	32 (97)	33 (100)	33 (100)
Tổng số (33)	33	33	33	33

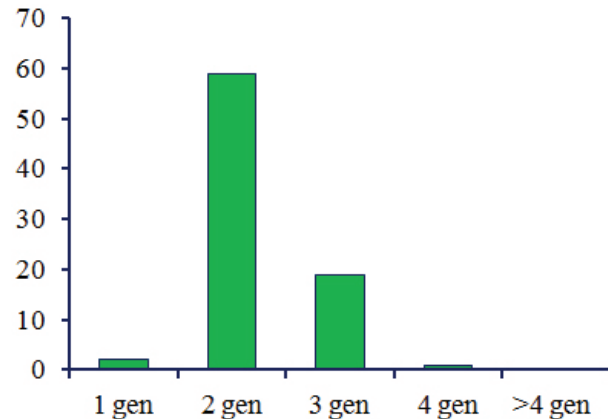
Bảng 2: phân bố các chủng *S. suis* mang gen đề kháng erythromycin

Bảng 2 cho thấy, không có chủng *S. suis* nào mang gen *erm(A)*, *mef(A/E)*, *msr(D)* đề kháng erythromycin, chỉ có 1 chủng mang gen *erm(B)*.

Gen	<i>tet(M)</i>	<i>tet(O)</i>	<i>tet(K)</i>	<i>tet(L)</i>	<i>tet(S)</i>	<i>tet(W)</i>	<i>tet(40)</i>
Tỷ lệ							
Có (n, %)	62 (76,6)	0	81 (100)	6 (7,4)	0	13 (16,1)	19 (23,5)
Không (n, %)	19 (23,4)	81 (100)	0	75 (92,6)	81 (100)	68 (83,9)	62 (76,5)
Tổng số (81)	81	81	81	81	81	81	81

Bảng 3: phân bố các chủng *S. suis* mang gen đề kháng tetracycline

S. suis đề kháng tetracycline có 62 chủng mang gen *tet(M)*, 81 chủng mang *tet(K)*, 6 chủng mang *tet(L)*, 13 chủng mang *tet(W)* và 19 chủng mang *tet(40)*. Trong khi đó không có chủng nào mang gen *tet(O)* và *tet(S)*.



Hình 2: tỷ lệ mang gen liên quan đến kháng tetracycline ở *S. suis*

Hình 2 cho thấy, có 2 chủng *S. suis* mang 1 gen (2,5%), 59 chủng mang 2 gen (72,8%), 19 chủng mang 3 gen (23,5%) và 1 chủng mang 4 gen (1,2%). Không có chủng nào mang nhiều hơn 4 gen.

Bảng 4: mối liên quan giữa các chủng *S. suis* mang gen với mức độ đề kháng erythromycin (n = 33)

Gen	<i>erm(A)</i>	<i>erm(B)</i>	<i>mef(A/E)</i>	<i>msr(D)</i>
Mức độ	(n)	(n)	(n)	(n)
S (MIC < 0,25)	0	0	0	0
I (MIC 0,25 - <1)	0	0	0	0
R (MIC 1-2)	0	0	0	0
R (MIC > 2)	0	1	0	0
Tổng số	0	1	0	0

Chú thích: S: Sensitive - nhạy; I: Intermediate - trung gian, R: resistance - kháng, MIC: nồng độ ức chế tối thiểu (µg/ml)

Theo bảng 4, không có chủng *S. suis* nào có mang gen *erm(A)*, *mef(A/E)* và *msr(D)* nhạy cảm, đề kháng trung gian và đề kháng hoàn toàn với erythromycin. Chỉ có 1 chủng mang gen *erm(B)* đề kháng hoàn toàn với kháng sinh này.

Bảng 5: mối liên quan giữa các chủng *S. suis* mang gen với mức độ đề kháng tetracycline (n = 81)

Gen	<i>tet(M)</i>	<i>tet(O)</i>	<i>tet(K)</i>	<i>tet(L)</i>	<i>tet(S)</i>	<i>tet(W)</i>	<i>tet(40)</i>
Mức độ	(n,%)	(n,%)	(n,%)	(n,%)	(n,%)	(n,%)	(n,%)
S (MIC < 2)	7 (77,7)	0 (0)	9 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (22,2)
I (MIC 2-8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
R (MIC > 8)	55 (76,4)	0 (0)	72 (100)	6 (8,4)	0 (0)	13 (18,1)	17 (23,6)
p	0,926			0,368		0,164	0,926
Tổng số	62	0	81	6	0	13	19

Chú thích: S: Sensitive - nhạy; I: Intermediate - trung gian, R: resistance - kháng, MIC: nồng độ ức chế tối thiểu (µg/ml)

Đối với đề kháng *S. suis* nhạy cảm với tetracycline (MIC ≤ 2 µg/ml), có 7 chủng mang gen *tet(M)*, 9 chủng mang *tet(K)* và 2 chủng mang *tet(40)*, không có chủng

nào mang gen *tet(O)*, *tet(L)*, *tet(S)* và *tet(W)*. Không thấy có chủng nào mang các gen trên đề kháng trung gian với tetracycline (MIC: 2-8 µg/ml). Ở các chủng đề kháng (MIC ≥ 8 µg/ml), có tới 55 chủng mang *tet(M)*, 72 chủng mang gen *tet(K)*, 6 chủng mang *tet(L)*, 13 chủng mang *tet(W)* và 17 chủng mang *tet(40)*, trong khi không có chủng nào mang gen *tet(O)* và *tet(S)*.

Bàn luận

Nhiễm khuẩn do *S. suis* thường dẫn đến các biến chứng nặng như viêm phổi, viêm màng não, nhiễm trùng huyết, viêm nội tâm mạc cũng như viêm khớp. Vi khuẩn này có khả năng gây bệnh rộng rãi từ động vật đến người, đặc biệt là trên lợn. Do việc sử dụng kháng sinh bừa bãi cả trong chăn nuôi lẫn điều trị y tế đã làm gia tăng đề kháng kháng sinh ở vi khuẩn này, vì vậy việc kiểm soát các nhiễm khuẩn do *S. suis* rất kém hiệu quả. Tetracycline và erythromycin là hai kháng sinh được sử dụng phổ biến trong điều trị và dự phòng loại nhiễm khuẩn này, hậu quả là tỷ lệ đề kháng đã ghi nhận được với tỷ lệ rất cao cả ở những chủng *S. suis* phân lập trên người và lợn ở khu vực châu Á, châu Âu và Bắc Mỹ. Hiện nay, cơ chế đề kháng tetracycline và erythromycin đã được làm sáng tỏ, có liên quan đến hệ thống bơm chủ động và sản sinh các enzyme mang hoạt tính methyl hóa. Gen *erm(B)* mã hóa cho enzyme erythromycin ribosomal methylase chịu trách nhiệm đề kháng các macrolide-lincosamine-streptogramin (MLS_B), tìm thấy phổ biến ở Hồng Kông và Bỉ. Đề kháng tetracycline chủ yếu liên quan đến các gen *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(W)* và *tet(O/W/32/O)*. Thêm vào đó, các protein bơm chủ động *tet(L)* và *tet(K)* cũng đã được xác định có liên quan đến đề kháng tetracycline ở *S. suis*.

Qua nghiên cứu 33 chủng *S. suis* phân lập được, sử dụng các cặp mồi đặc hiệu cho gen *erm(A)*, *erm(B)*, *mef(A/E)* và *mst(D)* cho thấy, chỉ có 1/33 chủng mang gen *erm(B)*, không có chủng nào mang các gen còn lại. Tuy nhiên, ở một số nghiên cứu khác lại ghi nhận một tỷ lệ cao các chủng *S. suis* mang các gen này, ví dụ như nghiên cứu của Surbhi (2005) tại Bỉ ghi nhận tới 70/125 chủng mang gen *erm(B)*, 34/125 chủng mang gen *mef(A/E)*, và chỉ có 2 chủng mang gen *erm(A)*. Một nghiên cứu khác của tác giả Hòa T.H (2014) tại

miền Nam Việt Nam ghi nhận có 36/38 chủng mang gen *erm(B)*, trong khi đó không phát hiện được chủng nào mang gen *erm(A)* và *mef(A/E)* [10]. Các số liệu giữa các nghiên cứu có sự khác biệt khá rõ ràng, tuy nhiên điều đặc biệt là các chủng *S. suis* gây bệnh tại Việt Nam trong hai giai đoạn khác nhau (2008) và (2014) lại có sự khác biệt khá rõ rệt. Chúng tôi cho rằng, có thể do việc kiểm soát và điều trị nhiễm trùng do *S. suis* bằng các phác đồ hiện tại rất hiệu quả, do đó đã ngăn chặn được sự lan truyền các gen đề kháng.

Đối với đề kháng tetracycline, tiến hành phân tích 81 chủng *S. suis* bằng PCR mồi đặc hiệu thu được tỷ lệ chủng mang gen *tet(K)* là 100%, *tet(M)* tới 76,6%, *tet(40)* là 23,5%, *tet(W)* 16,1%, *tet(L)* 7,4%. Trong khi đó, không phát hiện được các gen *tet(O)* và *tet(S)* trong số 81 chủng *S. suis* trong nghiên cứu. Đánh giá mức độ đề kháng của các chủng mang gen này thấy rằng, tỷ lệ chủng đề kháng tetracycline ở mức rất cao (≥ 8 µg/l). Kết quả này có sự khác biệt với kết quả nghiên cứu của Surbhi (2005) với 55/125 chủng mang gen *tet(M)*, 10/125 chủng mang gen *tet(O)*, không phát hiện được gen *tet(K)* và *tet(L)*. Trong khi đó, số liệu nghiên cứu của Hòa T.H (2014) chỉ ghi nhận có 3,9% số chủng mang gen *tet(M)*, *tet(L)*, trong khi gen *tet(M)* và *tet(O)* tìm thấy ở 90,8% số chủng, có 2,2% số chủng mang gen *tet(W)*. Sự xuất hiện của các gen *tet* cho thấy mức độ đề kháng của *S. suis* với loại kháng sinh thông dụng như tetracycline ngày càng gia tăng, và làm giảm đi sự lựa chọn điều trị cho bệnh nhân. Số liệu về các chủng *S. suis* mang gen đề kháng tetracycline trong nghiên cứu này có xu hướng cao hơn so với nghiên cứu của Hòa T.H (2014) tại miền Nam Việt Nam, chúng tôi cho rằng *S. suis* gây bệnh ngày càng gia tăng đề kháng tetracycline ở mức độ báo động: 100% chủng mang gen *tet(K)*, và một số gen khác cũng đã lên tới 70-80%, mức độ đề kháng của các chủng mang gen tương ứng cũng ở mức rất cao do tỷ lệ các chủng mang đa gen có xu hướng gia tăng với 72,8% số chủng mang 2 gen, 23,5% mang 3 gen và có 1,2% số chủng mang 4 gen trở lên. Với tỷ lệ mang gen như vậy, rõ ràng sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn sẽ ở mức rất cao, rất khó có sự đáp ứng điều trị bằng kháng sinh thông thường.

Kết luận

- Đã phát hiện các chủng *S. suis* phân lập từ bệnh nhân mang gen kháng erythromycin và tetracycline.
- Phần lớn các chủng kháng tetracycline là các chủng mang gen kháng thuốc.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được thực hiện trong khuôn khổ đề tài cấp nhà nước mã số KC10.18/11-15: “Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử xác định mức độ kháng kháng sinh của một số chủng vi khuẩn gây bệnh thường gặp ở Việt Nam”. Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã tài trợ kinh phí cho đề tài này.

Tài liệu tham khảo

- [1] Anh Đ.T (2011), “Căn nguyên vi khuẩn và tính kháng kháng sinh ở bệnh nhân viêm màng não mủ điều trị tại Bệnh viện đa khoa Bắc Giang”, *Tạp chí Y học thực hành*, số 3, tr.131-133, Bộ Y tế.
- [2] Wertheim H.F, Nguyen H.N, Taylor W, Lien T.T, Ngo H.T, Nguyen T.Q, Nguyen B.N, Nguyen H.H, Nguyen H.M, Nguyen C.T, et al (2009), “*Streptococcus suis*, an important cause of adult bacterial

meningitis in northern Vietnam”, *PLoS One*, 4(6), e5973.

- [3] Bộ Y tế (2007), *Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị bệnh do liên cầu lợn (Streptococcus suis) ở người*, Quyết định số 3605/QĐ-BYT.
- [4] Weisblum B (1995), “Erythromycin resistance by ribosome modification”, *Antimicrob Agents Chemother*, 39(3), pp.577-585.
- [5] Roberts M.C (2008), “Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes”, *FEMS Microbiol Lett*, 282(2), pp.147-159.
- [6] Levy S.B, McMurry L.M, Barbosa T.M, Burdett V, Courvalin P, Hillen W, Roberts M.C, Rood J.I, Taylor D.E (1999), “Nomenclature for new tetracycline resistance determinants”, *Antimicrob Agents Chemother*, 43(6), pp.1523-1524.
- [7] Levy S.B, McMurry L.M, Roberts M.C (2005), “Tet protein hybrids”, *Antimicrob Agents Chemother*, 49(7), p.3099.
- [8] Malhotra-Kumar S, Lammens C, Piessens J, Goossens H (2005), “Multiplex PCR for simultaneous detection of macrolide and tetracycline resistance determinants in streptococci”, *Antimicrob Agents Chemother*, 49(11), pp.4798-4800.
- [9] Chen L, Song Y, Wei Z, He H, Zhang A, Jin M (2013), “Antimicrobial susceptibility, tetracycline and erythromycin resistance genes, and multilocus sequence typing of *Streptococcus suis* isolates from diseased pigs in China”, *J Vet Med Sci*, 75(5), pp.583-587.
- [10] Hòa T.H (2014), “Một số đặc điểm dịch tễ học của nhiễm khuẩn bệnh viện do vi khuẩn kháng carbapenem mang gen NDM-1 tại Bệnh viện Việt Đức - Hà Nội, 2010-2011”, *Luận án tiến sĩ*.