

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN THỊ NHÃ QUYÊN

**XÁC ĐỊNH GEN KHÁNG THUỐC  
CỦA CÁC CHỦNG *SALMONELLA* GÂY NGỘ ĐỘC  
THỰC PHẨM ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ THỊT TƯƠI  
TẠI MỘT SỐ ĐỊA ĐIỂM Ở HÀ NỘI**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG**

**THÁI NGUYÊN - 2017**

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN THỊ NHÃ QUYÊN

**XÁC ĐỊNH GEN KHÁNG THUỐC  
CỦA CÁC CHỦNG *SALMONELLA* GÂY NGỘ ĐỘC  
THỰC PHẨM ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ THỊT TƯƠI  
TẠI MỘT SỐ ĐỊA ĐIỂM Ở HÀ NỘI**

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 60.42.02.01

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG**

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Nghiêm Ngọc Minh

THÁI NGUYÊN - 2017

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu do tôi trực tiếp thực hiện với sự giúp đỡ của cán bộ, nhân viên phòng Hệ gen học vi sinh - Viện nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS. TS. Nghiêm Ngọc Minh. Các số liệu, kết quả trình bày trong luận văn là trung thực và chưa từng được công bố ở bất kỳ công trình nào khác.

*Thái Nguyên, tháng 5 năm 2017*

**Tác giả luận văn**

**Nguyễn Thị Nhã Quyên**

## LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn tốt nghiệp này, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất của mình tới PGS.TS. Nghiêm Ngọc Minh - Trưởng phòng Hệ gen học vi sinh - Viện Nghiên cứu hệ gen - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, người đã tận tình chỉ bảo, hướng dẫn tôi trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Giám hiệu; phòng Đào tạo; khoa Công nghệ sinh học Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên, các quý thầy, cô trực tiếp giảng dạy, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu khoa học.

Tôi xin chân thành cảm ơn *TS. Võ Thị Bích Thủy, ThS. Nguyễn Hoài Thu* và các anh chị em, cán bộ phòng Hệ gen học vi sinh - Viện Nghiên cứu hệ gen - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, đã nhiệt tình hướng dẫn, giúp đỡ và đóng góp nhiều ý kiến quý báu để tôi hoàn thành luận văn này.

Cuối cùng tôi xin cảm ơn gia đình, bạn bè cùng tất cả các thầy cô luôn luôn động viên, khuyến khích và giúp đỡ tôi trong tiến trình tôi học tập và làm luận văn này.

Trong quá trình làm luận văn không tránh khỏi những sai sót, tôi mong nhận được sự đóng góp quý báu từ phía thầy cô và bạn bè để tôi có thể có được kết quả tốt hơn.

*Thái Nguyên, tháng 5 năm 2017*

**Tác giả luận văn**

**Nguyễn Thị Nhã Quyên**

## MỤC LỤC

<b>LỜI CAM ĐOAN</b> .....	i
<b>LỜI CẢM ƠN</b> .....	ii
<b>MỤC LỤC</b> .....	iii
<b>DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT</b> .....	vi
<b>DANH MỤC BẢNG</b> .....	vii
<b>DANH MỤC HÌNH</b> .....	viii
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	1
1. Lý do chọn đề tài .....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu .....	2
3. Nội dung nghiên cứu .....	2
4. Ý nghĩa khoa học của đề tài .....	2
<b>Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	3
1.1. Tình hình nghiên cứu về vi khuẩn <i>Salmonella</i> .....	3
1.1.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới .....	3
1.1.2. Tình hình nghiên cứu trong nước .....	5
1.2. Một số đặc điểm của vi khuẩn <i>Salmonella</i> .....	7
1.2.1. Đặc điểm hình thái .....	8
1.2.2. Đặc tính nuôi cấy .....	8
1.2.3. Đặc tính hóa sinh .....	10
1.2.4. Cấu trúc của <i>Salmonella</i> .....	10
1.2.5 Các yếu tố gây bệnh của <i>Salmonella</i> .....	12
1.3. Tình hình ngộ độc thực phẩm do vi khuẩn <i>Salmonella</i> .....	13
1.3.1. Ngộ độc thực phẩm .....	13
1.3.2. Ngộ độc thực phẩm do vi khuẩn <i>Salmonella</i> .....	14
1.4. Hiện tượng kháng kháng sinh của <i>Salmonella</i> .....	15
1.4.1. Hiện tượng kháng kháng sinh của vi khuẩn .....	15

1.4.2. Hiện tượng kháng kháng sinh của <i>Salmonella</i> .....	15
1.5. Gen kháng kháng sinh.....	16
<b>Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>19</b>
2.1. Vật liệu .....	19
2.1.1. Thu thập và phương pháp lấy mẫu.....	19
2.1.2. Hóa chất nghiên cứu .....	19
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	20
2.1.1. Nuôi cấy và phân lập vi khuẩn <i>Salmonella</i> .....	20
2.2.2. Định type vi khuẩn <i>Salmonella</i> .....	21
2.2.3. Thử khả năng kháng kháng sinh .....	21
2.2.4. Phương pháp xác định một số gen kháng kháng sinh của chủng <i>Salmonella</i> Typhimurium bằng phương pháp RT-PCR .....	22
2.3. Phương pháp xử lý số liệu.....	25
<b>Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>26</b>
3.1. Thu thập mẫu ở một số loại thịt tươi.....	26
3.2. Nuôi cấy, phân lập vi khuẩn <i>Salmonella</i> spp. trên các môi trường cơ bản.....	27
3.1.1. Kết quả xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn <i>Salmonella</i> spp. trong mẫu thịt lợn, gà, bò .....	27
3.1.2. Kết quả giám định các đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn <i>Salmonella</i> spp. phân lập được .....	29
3.2. Kết quả định type vi khuẩn <i>Salmonella</i> phân lập được .....	30
3.3. Kết quả xác định tính kháng kháng sinh của các chủng <i>Salmonella</i> Typhimurium gây ngộ độc thực phẩm phân lập được .....	32
3.4. Kết quả phát hiện và đánh giá gen kháng thuốc của các chủng <i>Salmonella</i> Typhimurium gây ngộ độc thực phẩm phân lập được .....	35
3.4.1 Kết quả tách chiết RNA tổng số: Lựa chọn 3 chủng <i>Salmonella</i> Typhimurium S181, S360, S384 để tiến hành tách chiết RNA.....	35

3.4.2. Kết quả RT-PCR phát hiện các gen kháng kháng sinh của chủng <i>Salmonella</i> Typhimurium. ....	35
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ</b> .....	43
1. Kết luận .....	43
2. Kiến nghị.....	43
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	45

**DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT**

bp	: Base pair
cs	: Cộng sự
dH <sub>2</sub> O	: Nước khử ion
DNA	: Deoxyribonucleic acid
dNTP	: deoxyribonucleotide triphosphates
EDTA	: Ethylene Diamine Tetraacetate Axit
EtBr	: Ethidium Bromide
Kb	: Kilobase
OD	: Optical density
PCR	: Polymerase Chain Reaction
RNA	: Ribonucleic acid
RT-PCR	: Reverse transcription - Polymerase Chain Reaction
TAE	: Tris-acetate-EDTA



**DANH MỤC BẢNG**

Bảng 2.1.	Trình tự môi và nhiệt độ gắn môi của các gen sử dụng trong nghiên cứu .....	24
Bảng 3.1	Danh sách thu thập mẫu thịt tươi tại một số địa điểm ở Hà Nội	26
Bảng 3.2.	Tỷ lệ phân lập vi khuẩn <i>Salmonella</i> spp. từ các mẫu thịt.....	27
Bảng 3.3.	Kết quả giám định đặc tính nuôi cấy và hình thái khuẩn lạc của các chủng <i>Salmonella</i> spp. trong quá trình phân lập .....	29
Bảng 3.4.	Kết quả giám định một số đặc tính sinh hoá của các chủng vi khuẩn <i>Salmonella</i> spp. phân lập được .....	30
Bảng 3.5.	Kết quả xác định serotype của các chủng vi khuẩn <i>Salmonella</i> spp.....	31
Bảng 3.6.	Tổng hợp kết quả kháng các nhóm kháng sinh của 3 type <i>Salmonella</i> Typhimurium (ST) phân lập được .....	33
Bảng 3.7.	Kết quả đánh giá gen kháng kháng sinh của các chủng <i>Salmonella</i> Typhimurium S181, S360, S384 .....	41

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Vi khuẩn <i>Salmonella</i> .....	8
Hình 2.1.	Sơ đồ nuôi cấy và phân lập vi khuẩn <i>Salmonella</i> theo tiêu chuẩn ISO 6579 - 2005.....	20
Hình 3.3.	Kết quả mức độ kháng các nhóm kháng sinh của 3 type <i>Salmonella</i> Typhimurium (ST) phân lập được.....	33
Hình 3.4.	Kết quả điện di đồ sản phẩm RNA tổng số của 3 chủng <i>Salmonella</i> 1,2,3: S181, S360, S384.....	35
Hình 3.5.	Kết quả RT-PCR phát hiện sự có mặt của gen 16S (550 bp) của chủng <i>Salmonella</i> Typhimurium S181, S360, S384.....	36
Hình 3.6.	Kết quả RT-PCR phát hiện sự có mặt của gen <i>tetA</i> (494bp), <i>sull II</i> (434bp), <i>avrA</i> (192bp), <i>aadA</i> (228bp), <i>blaTEM</i> (310bp), <i>gyrB</i> (219bp), <i>prmA</i> (187bp) của chủng <i>Salmonella</i> Typhimurium S181, S360, S384 M: thang chuẩn (DNA 1Kb).....	37
Hình 3.7.	Tỷ lệ biểu hiện gen <i>tetA</i> , <i>sull II</i> , <i>avrA</i> , <i>aadA</i> , <i>blaTEM</i> , <i>gyrB</i> , <i>prmA/16S rRNA</i> của chủng <i>Salmonella</i> Typhimurium được phân tích bằng phương pháp RT-PCR. Gen 16S rRNA được dùng để so sánh.....	39