

THÔNG BÁO KHOA HỌC

**TÌNH HÌNH KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN
Vibrio spp. TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)**

**ANTIBIOTIC RESISTANCE OF BACTERIA OF *Vibrio* spp.
IN WHITELEG SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)**

Hồ Khánh Duy¹, Truyen Nhã Định Huệ¹, Lưu Thị Thanh Trúc¹

Ngày nhận bài: 25/07/2019; Ngày phản biện thông qua: 20/10/2019; Ngày duyệt đăng: 5/12/2019

TÓM TẮT

Nhằm xác định tình hình nhiễm kháng sinh và mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* trên tôm thẻ chân trắng, đề tài tiến hành phân lập được 240 chủng vi khuẩn *Vibrio* từ mẫu tôm nuôi thương phẩm và mẫu nước ao nuôi tại các tỉnh Long An, Bến Tre, Bạc Liêu, Tp. HCM, và mẫu tôm giống thu tại tỉnh Bạc Liêu, Ninh Thuận. Ngoài ra, đề tài còn phân lập trên mẫu tôm thu ngoài tự nhiên ở cửa biển Đông Hải, tỉnh Bạc Liêu. Tất cả các chủng vi khuẩn này được kiểm tra kháng sinh đồ bằng phương pháp đĩa khuếch tán đĩa thạch với 24 loại kháng sinh. Kết quả điều tra cho thấy trong 240 chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. khảo sát có 100% chủng kháng với 1 loại kháng sinh, 95% chủng kháng với 4 loại kháng sinh, trên 50% số chủng vi khuẩn kháng trên 10 loại kháng sinh, trong đó có 1 chủng kháng với 21 loại kháng sinh thử nghiệm. Xét về tính đa kháng kháng sinh, không có chủng vi khuẩn nào nhạy với 24 loại kháng sinh thử nghiệm. Chỉ số MAR trên vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ tôm giống ở Ninh Thuận rất cao (0,519) điều này cho thấy các chủng vi khuẩn *Vibrio* tại khu vực này tiếp xúc nhiều với các loại kháng sinh nên dẫn đến tình trạng kháng kháng sinh. Đối với những trại tôm nuôi thương phẩm ở Bạc Liêu chỉ số MAR là 0,487, điều này cho thấy người nuôi ở đây vẫn còn sử dụng nhiều loại kháng sinh trong quá trình nuôi.

Từ khóa: Kháng kháng sinh, tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*), *Vibrio* spp.

ABSTRACT

To determine infection status and antibiotic resistance level of *Vibrio* spp. on whiteleg shrimp, the study has isolated all 240 strains from pond cultured shrimp samples and collected water samples in the provinces of Long An, Ben Tre, Bac Lieu, HCM city, and shrimp samples collected in Bac Lieu, Ninh Thuan. In addition, there were also samples of wild-caught shrimp collected at Dong Hai estuary (Bac Lieu). All of these strains were tested for antibiotic resistance by diffusion plate method with 24 antibiotics. Survey results show that among 240 strains of *Vibrio* spp., 100% of them were resistant to 1 type of antibiotics, 95% was resistant to 4 types of antibiotic, over 50% of bacterial strains were resistant to over 10 types of antibiotics, including 1 resistant to 21 types of antibiotic tested. Regarding multi-antibiotic resistance, none of the strains were sensitive to 24 tested antibiotics. The MAR index of bacteria isolated from shrimp post larvae in Ninh Thuan was very high (0.519). This showed that the *Vibrio* strains in this area was heavily exposed to antibiotics, resulted in antibiotic resistance. For commercial shrimp farms in Bac Lieu, the MAR index was 0.487, which suggested that shrimp farmer in the surveyed area still heavily relied on antibiotics during the farming process.

Keywords: Antibiotic resistance, whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*), *Vibrio* spp.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm thẻ chân trắng là một trong những đối tượng nuôi có giá trị kinh tế cao, tốc độ tăng trưởng nhanh, sức đề kháng tốt, năng suất cao

nhên rất phù hợp với các mô hình nuôi thâm canh ở Việt Nam. Tuy nhiên, những năm gần đây tình hình dịch bệnh ngày càng gia tăng là một trong những nguyên nhân gây thiệt hại nhiều cho nghề nuôi tôm thẻ. Sự biến đổi khí

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

hậu, nắng nóng kéo dài dẫn đến thiếu nước, nhiệt độ và độ mặn tăng cao làm tôm bị suy yếu, tạo điều kiện cho mầm bệnh phát triển và gây bệnh; mầm bệnh lưu hành rộng rãi; các yếu tố đầu vào như tôm giống, hóa chất dùng xử lý cải tạo môi trường, chế phẩm sinh học chất lượng không đảm bảo.

Khi tôm nuôi bị bệnh do nhiễm vi khuẩn *Vibrio* spp., người dân thường sử dụng kháng sinh để điều trị. Do sự hiểu biết về kháng sinh còn hạn chế nên người dân đã và đang sử dụng kháng sinh trị bệnh tôm không đúng liều lượng, không đúng thời gian quy định dẫn đến hiện tượng kháng kháng sinh trên vi khuẩn gây bệnh cho tôm nuôi. Đây sẽ là một trong những nguyên nhân gây khó khăn cho việc điều trị bệnh trên động vật thủy sản cũng như ảnh hưởng đến sự phát triển bền vững của nghề nuôi thủy sản ở Việt Nam. Ngoài ra, dư lượng kháng sinh còn tồn dư trong cơ thể tôm sẽ ảnh hưởng đến sức khỏe của người tiêu dùng, ảnh hưởng đến việc sản xuất và xuất khẩu, gây thiệt hại khá lớn về mặt kinh tế.

Với mục đích khảo sát tình hình kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* spp. trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*), đề tài tiến hành thu mẫu, phân lập vi khuẩn *Vibrio* và thực hiện kháng sinh đồ với 240 chủng vi khuẩn thu tại các tỉnh Long An, Bến Tre, Bạc Liêu và thành phố Hồ Chí Minh.

II. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ: Mẫu tôm giống được thu từ các trại tôm giống ở Ninh Thuận, Bạc Liêu; Mẫu tôm thương phẩm và mẫu nước ao nuôi được thu tại các trại nuôi thâm canh, quảng canh ở tỉnh Bến Tre, Long An, Bạc Liêu và Thành phố Hồ Chí Minh. Ngoài ra, 03 mẫu tôm tự nhiên được đánh bắt ở ngoài khơi (mua từ các tàu đánh cá ở cảng cá tại huyện Đông Hải, tỉnh Bạc Liêu).

2. Hóa chất và môi trường sử dụng

Muối NaCl, cồn 90°, cồn 70°, glycerol 75%, nước cất, nước muối sinh lý 0,9%, các loại hóa chất nhuộm Gram (Crystal Violet, Lugol, Dung dịch tẩy màu, Safarine), đĩa giấy Oxidase

(Nam Khoa), thuốc thử Catalase.

Các loại môi trường được sử dụng trong nghiên cứu gồm: môi trường nuôi cấy vi khuẩn Trypton Soy Agar (TSA), môi trường làm kháng sinh đồ Mueller – Hinton Agar (MHA), môi trường chọn lọc *Vibrio* như Thiosulphage Citrate Bile Sulf Agar (TCBS), Chromagar *Vibrio*, môi trường xác định đặc tính sinh hóa của vi khuẩn O/F, môi trường dinh dưỡng để giữ giống vi khuẩn Nutrient Broth (NB). Bộ kit 14 thử nghiệm sinh hóa dùng để định danh trực khuẩn Gram âm của công ty Nam Khoa (Bộ test IDS 14GNR). Thuốc thử H₂O₂ dùng để kiểm tra phản ứng Catalase. Các hóa chất định danh dùng cho bộ kit: KOH, KOVAC, ống McFarlan 0,5. Các loại hóa chất khác: Paraffin, glycerol,...

Các loại đĩa giấy tẩm kháng sinh dùng trong làm kháng sinh đồ gồm 24 loại sau: Penicillin (P¹⁰, 10μg), Chloramphenicol (C³⁰, 30μg), Oxytetracycline (O³⁰, 30μg), Erythromycin (E¹⁵, 15μg), Ampicillin (AMP¹⁰, 10μg), Lincomycin (L¹⁵, 15μg), Doxycycline (DO³⁰, 30μg), Rifampicin (RIF⁵, 5μg), Streptomycin (S¹⁰, 10μg), Trimethoprim (TR⁵, 5μg), Sulphamethizole (SM³⁰⁰, 300μg), Ciprofloxacin (CIP⁵, 5μg), Levofloxacin (LE⁵, 5μg), Ticarcillin/clavulanic acid (TCC⁷⁵, 75μg), Neomycin (N¹⁰, 10μg), Colistin (CL¹⁰, 10μg), Enrofloxacin (EX⁵, 5μg), Cephalexin (CN³⁰, 30μg), Gentamicin (GEN¹⁰, 10μg), Norfloxacin (NX⁵, 5μg), Oxacillin (OX⁵, 5μg), Amikacin (AK¹⁰, 10μg), Cefuroxime (CXM³⁰, 30μg), Amoxicillin (AMX¹⁰, 10μg).

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Phương pháp thu mẫu

Đối với mẫu tôm thương phẩm thu tại ao, chợ cho vào bao PE riêng biệt. Mẫu nước thu khoảng 200 mL nước tại 4 vị trí trong ao trộn chung lại, sau đó cho mẫu nước vào chai đã tiệt trùng. Mẫu tôm giống thu 300 postlarvae (tôm hậu ấu trùng)/trại. Tất cả các mẫu thu được phải ghi rõ thông tin, địa chỉ thu mẫu, được trữ lạnh và chuyển về phòng thí nghiệm phân tích trong ngày [3].

3.2. Phương pháp phân tích mẫu

Đối với mẫu tôm giống lấy tôm giống rửa

bằng nước muối sinh lý vô trùng, cân 0,1 g cho vào ống eppendorf vô trùng có chứa 0,9 mL nước muối sinh lý 0,85%, sau đó lấy que nghiền nhuyễn. Mẫu tôm thương phẩm lấy 0,1 g gan tụy cho vào ống eppendorf vô trùng có chứa 0,9 mL nước muối sinh lý 0,85%, sau đó lấy que nghiền nhuyễn. Mẫu nước: lắc đều mẫu nước sau đó pha loãng đến nồng độ 10^{-2} . Sau khi chuẩn bị mẫu xong, dùng pipet tiết trùng hút 0,1 mL dung dịch mẫu cho vào đĩa thạch Chromagar *Vibrio* và TCBS đã ký hiệu sẵn. Dùng que cấy trang, trang nhanh và đều lên bề mặt thạch, vừa xoay đĩa vừa trang, đến khi dung dịch khuẩn phân bố đều trên mặt thạch. Sau đó úp ngược các đĩa petri rồi đặt vào tủ ủ, ủ ở nhiệt độ 30 °C trong thời gian 18 - 24 giờ [3].

3.3. Phương pháp phân lập vi khuẩn

Chọn khuẩn lạc đặc trưng: tròn, lồi hoặc lõm, $d = 0,5 - 3$ mm, màu xanh hay vàng chiếm đa số trên đĩa TCBS (+ 1% NaCl) và màu xanh, trắng hay tím hoa cà trên môi trường Chromagar *Vibrio* (+ 1% NaCl) lần lượt cấy ria sang các đĩa thạch TSA (+ 1% NaCl) đã được ký hiệu sẵn. Đem ủ ở nhiệt độ 30 °C, quan sát sự phát triển của khuẩn lạc trong 18 - 24 giờ.

3.4. Phương pháp thực hiện kháng sinh đồ

Chuẩn bị huyền phù vi khuẩn: dùng que cấy vòng lấy khoảng từ 3 - 5 khuẩn lạc thuần cho vào ống nghiệm có chứa 5 mL nước muối sinh lý đã tiết trùng. Vortex ống nghiệm để được huyền phù đồng nhất tương đương với độ đục của ống chuẩn Mc-farland 0,5. Tiến hành cấy trang vi khuẩn lên môi trường thạch MH và đặt đĩa kháng sinh lên bề mặt môi trường thạch. Đem ủ ở nhiệt độ 30 °C trong thời gian từ 18 - 24 giờ. Đọc kết quả kháng sinh đồ: Tiến hành đo đường kính vòng vô khuẩn (vòng vi khuẩn không mọc xung quanh đĩa kháng sinh) bằng thước đo với đơn vị là milimet (mm). Ghi nhận đường kính vòng vô khuẩn và biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các vi khuẩn kiểm tra theo tiêu chuẩn của Viện Nghiên Cứu Tiêu chuẩn lâm sàng và xét nghiệm (CLSI, 2005) để đánh giá khả năng nhạy cảm của vi khuẩn đối với kháng sinh theo ba mức độ: nhạy, trung gian, đề kháng.

3.5. Chỉ số đa kháng sinh (Multiple Antibiotic Resistance (MAR) index)

Chỉ số đa kháng sinh là công cụ hữu ích để đánh giá rủi ro bằng cách xác định sự lây nhiễm là từ môi trường có tính rủi ro cao hay thấp. Chỉ số đa kháng sinh cho từng ao nuôi, từng trang trại hoặc từng khu vực thu mẫu được định nghĩa theo Krumperman (1983): $MAR = a/(b \cdot c)$ trong đó: a là tổng điểm số kháng sinh của tất cả các chủng vi khuẩn phân lập trong một ao, một trại hoặc một khu vực. Tổng điểm số kháng sinh được tính là tổng số kháng sinh mà các chủng vi khuẩn phân lập được thể hiện tính kháng, b là tổng số kháng sinh thử nghiệm, c là tổng số chủng vi khuẩn phân lập trong một ao, một trang trại, hoặc một khu vực thu mẫu.

Quy ước điểm số: Kháng 1 điểm; Trung gian 0,5 điểm; Nhạy 0 điểm.

Chỉ số đa kháng sinh nhỏ hơn hoặc bằng 0,2 chỉ ra rằng tại ao nuôi, trang trại hoặc khu vực thu mẫu kháng sinh hiếm khi hoặc chưa được sử dụng. Chỉ số đa kháng sinh lớn hơn 0,2 chỉ ra rằng tại ao nuôi, trang trại nuôi khu vực thu mẫu kháng sinh thường được sử dụng. Do đó, việc xác định chỉ số đa kháng sinh rất cần thiết cho việc biện luận khu vực thu mẫu có sử dụng kháng sinh hay không.

III. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

1. Kết quả thu mẫu, phân lập và định danh vi khuẩn

Kết quả nghiên cứu phân lập được 48 chủng vi khuẩn *Vibrio* từ các mẫu tôm giống được thu tại hai tỉnh Ninh Thuận và Bạc Liêu, 112 chủng vi khuẩn *Vibrio* từ các mẫu tôm thương phẩm tại các tỉnh Long An, Bến Tre, Bạc Liêu, Tp. Hồ Chí Minh và 72 chủng vi khuẩn *Vibrio* từ các mẫu nước ao nuôi trong phạm vi nghiên cứu. Ngoài ra, kết quả đề tài cũng phân lập được 24 chủng vi khuẩn *Vibrio* từ mẫu tôm thẻ đánh bắt tự nhiên. Tất cả 240 chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập được (chiếm tỉ lệ 100%) đều là Gram (-), Catalase (+), Oxidase (+), tất cả đều di động. Kết quả kiểm tra độ nhạy cảm với O/129 *Vibriostaticum* (Oxoid, Anh) cho thấy 100% (240) chủng vi khuẩn phân lập nhạy

với hợp chất ức chế phẩy khuẩn O/129. Kết quả định danh 240 chủng vi khuẩn phân lập được bằng bộ test IDS 14 GNR cho thấy: 71 chủng *Vibrio vulnificus* (29,5%), 58 chủng *Vibrio parahaemolyticus* (24,2%), 3 chủng *Vibrio cholerae* (1,3%), 15 chủng *Vibrio mimicus* (6,3%) và 93 chủng *Vibrio cincinnatiensis* (38,7%).

2. Kết quả kháng sinh đồ

2.1. Các chủng vi khuẩn phân lập từ tôm giống

Tính kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ tôm giống ở Ninh Thuận có tính kháng cao hơn so với các chủng *Vibrio* spp. phân lập từ Bạc Liêu. Tất cả các chủng *Vibrio* spp. phân lập từ Ninh Thuận đều kháng với 6 loại kháng sinh P, AMP, L, TCC, OX, AMX với tỉ lệ kháng 100%, tiếp eo là các kháng sinh CMX, CL, CN với tỉ lệ lần lượt là 70%, 70% và 61%. Kết quả bước đầu cho thấy có thể kháng sinh được sử dụng phổ biến trong hoạt động sản xuất giống ở khu vực Ninh Thuận.

2.2. Các chủng vi khuẩn phân lập từ tôm thương phẩm

Tất cả các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ các trại nuôi tôm thương phẩm ở Long An cho thấy sự kháng kháng sinh đối với các kháng sinh AMP, OX, AMX (100%), kể đến là kháng sinh P với tỉ lệ 96% sau đó là các kháng sinh CN, TCC, RIP với tỉ lệ lần lượt là 66%, 61% và 53%. Các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ Bạc Liêu thể hiện sự kháng với các loại kháng sinh P, AMP, AMX, OX, L, CXM, TCC, TR, SM, TR với tỉ lệ lần lượt là 100%, 100%, 96%, 96%, 88%, 67%, 67%, 63% và 58%. Riêng các chủng vi khuẩn phân lập từ các hộ nuôi tôm thương phẩm Bến Tre và các chợ tại Tp. Hồ Chí Minh có tỷ lệ kháng thấp hơn.

2.3. Các chủng vi khuẩn phân lập từ nước ao nuôi tôm thương phẩm

Hầu hết các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ nước ao nuôi ở các hộ nuôi tôm thương phẩm tại Long An, Bến Tre và Bạc Liêu cho thấy có sự kháng đối với các kháng sinh P (lần lượt là 96%, 100% và 100%), AMP (lần lượt là 100%, 88% và 100%), OX (lần lượt là 100%,

88% và 100%), AMX (lần lượt là 92%, 88%, và 96%), L (lần lượt là 96%, 92%, và 96%). Ngoài ra, các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ nước ao nuôi ở các hộ nuôi tôm thương phẩm tại Bạc Liêu thể hiện tính kháng với các loại kháng sinh TR, SM, CN, O, DO với tỉ lệ lần lượt là 92%, 92%, 88%, 79% và 71%, điều này cho thấy các hộ nuôi tôm tại Bạc Liêu có thể đã và đang sử dụng kháng sinh trong quá trình nuôi.

2.4. Các chủng vi khuẩn phân lập từ tôm tự nhiên

Tất cả các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ tôm tự nhiên cho thấy sự kháng kháng sinh đối với các kháng sinh P, AMP, OX, AMX (100%), kể đến là kháng sinh L với tỉ lệ 92 %, sau đó là các kháng sinh CN, TCC với tỉ lệ lần lượt là 88% và 58%. Khi so sánh kết quả kháng sinh đồ của các chủng vi khuẩn phân lập từ tôm tự nhiên với các chủng vi khuẩn phân lập từ tôm giống, tôm thương phẩm và mẫu nước trong ao nuôi tôm thương phẩm thì thấy rằng các mẫu tôm tự nhiên có tỉ lệ kháng kháng sinh là thấp nhất, tôm giống có tỉ lệ kháng kháng sinh cao nhất.

Theo điều tra thực tế, trong quá trình nuôi một số người dân không sử dụng kháng sinh, tuy nhiên các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ các mẫu thu tại các tỉnh vẫn thể hiện tính kháng với các loại kháng sinh thử nghiệm, đặc biệt là kháng sinh P, AMP, OX, AMX với tỉ lệ gần 100%. Điều này có thể do tính kháng tự nhiên của vi khuẩn *Vibrio* spp. với nhóm β -lactam (P, AMP và AMX). Theo nghiên cứu của Đặng Thị Hoàng Oanh và cộng sự (2006), các chủng vi khuẩn *Vibrio* trong tôm nuôi tại các vùng nuôi ở Bến Tre có chung một khả năng là kháng kháng sinh Ampicillin (100%). Ngoài ra, một số chủng còn kháng với Chloramphenicol, Nitrofurantion, Norfloxacin và Trimethoprim/Sulfamethoxazole [1].

Những nghiên cứu khác trên thế giới cho thấy *Vibrio* spp. phân lập từ thủy sản có kháng với Ciprofloxacin. Theo Goutam Chowdhury và ctv. (2012), có 50% trên 400 dòng *Vibrio* spp. được phân lập kháng với Ciprofloxacin [6]. Các nghiên cứu cho thấy có đến 90% số

chủng *Vibrio* spp. từ thủy sản ở Brazil kháng với Ampicillin [5], 97,2% chủng *Vibrio* spp. ở Iran kháng Ampicillin [8] hay 90% dòng vi khuẩn phân lập từ cá da trơn tại Đồng Bằng Sông Cửu Long kháng với Tetracycline, 76% kháng với Ampicillin [9].

Do vậy, tính kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập được có thể là do các chủng vi khuẩn *Vibrio* có mang các yếu tố quy định tính kháng lây lan trong nước thải tại các vùng nuôi trong khu vực. Tuy nhiên, tỉ lệ kháng với AMP, kháng sinh thuộc danh mục hạn chế sử dụng trong hoạt động sản xuất kinh doanh thủy sản tại Việt Nam, trên vi khuẩn phân lập từ động vật thủy sản tại các ao nuôi không sử dụng kháng sinh cũng cảnh báo chúng ta về việc cân nhắc khi sử dụng loại kháng sinh này.

3. Tính đa kháng của vi khuẩn với kháng sinh

3.1. Các chủng vi khuẩn phân lập từ tôm giống

Vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập trên tôm giống tại Bạc Liêu, Ninh Thuận kháng từ 7 – 21 loại kháng sinh (trong số 24 loại kháng sinh thử nghiệm). Các chủng vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ tôm giống thu tại Ninh Thuận thể hiện tính kháng nhiều nhất với 8 loại kháng sinh với tỉ lệ là 21,73%, trong khi đó các chủng vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ tôm giống tại Bạc Liêu kháng với 12 loại kháng sinh với tỉ lệ 21,73%. Đặc biệt, vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập trên tôm giống tại Ninh Thuận có tỉ lệ đa kháng cao hơn so với các chủng vi khuẩn phân lập trên tôm giống tại Bạc Liêu. Kết quả nghiên cứu cho thấy 01 chủng vi khuẩn kháng với 20 loại kháng sinh và 01 chủng kháng với 21 loại kháng sinh thử nghiệm chiếm tỷ lệ 4,34% trong tổng số 240 chủng vi khuẩn phân lập được. Từ kết quả trên tính đa kháng với kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập trên tôm giống cho thấy có thể các trại sản xuất tôm giống vẫn đang sử dụng nhiều loại kháng sinh. Trong đó, có Chloramphenicol, Amoxicillin, Ampicillin, Oxacillin, Colistin, Erythromycine, Lincomycine, Neomycine, Trimethoprim là những loại kháng sinh cấm hoặc hạn chế trong nuôi trồng thủy sản.

3.2. Các chủng vi khuẩn phân lập từ tôm thương phẩm

Vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập trên tôm thương phẩm tại Long An, Bến Tre, Bạc Liêu và Tp. HCM kháng từ 6 đến 14 loại kháng sinh (trong 24 loại kháng sinh thử nghiệm) nhiều nhất là 6 chủng vi khuẩn thu từ Long An kháng cùng một lúc 11 loại kháng sinh chiếm tỉ lệ 26%. Ngoài ra, 2 chủng vi khuẩn thu từ Bạc Liêu kháng với 19 và 1 chủng vi khuẩn thu từ Bạc Liêu kháng với 21 loại kháng sinh thử nghiệm với tỉ lệ lần lượt là 8%, 4%. Từ kết quả trên có thể cho thấy rằng các trại nuôi tôm thịt người dân có thể vẫn đang sử dụng nhiều loại kháng sinh, đặc biệt là những vùng nuôi tại Long An, Bạc Liêu.

3.3. Các chủng vi khuẩn phân lập từ nước ao nuôi thương phẩm

Các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ mẫu nước ao nuôi tôm thương phẩm tại Long An, Bến Tre, Bạc Liêu kháng chủ yếu từ 5 – 17 loại kháng sinh (trong 24 loại kháng sinh thử nghiệm). Khoảng 9 chủng vi khuẩn thu được từ mẫu nước ao nuôi tôm thương phẩm tại Bạc Liêu kháng với 10 loại kháng sinh chiếm tỉ lệ 37.5%, kể đến là 5 chủng vi khuẩn kháng với 12 loại kháng sinh chiếm tỉ lệ 21%. Trong khi đó, 7 chủng vi khuẩn thu được tại Long An kháng với 8 - 9 loại kháng sinh thử nghiệm với tỉ lệ bằng nhau là 29%. Riêng đối với các chủng vi khuẩn thu được tại Bến Tre có 4 chủng kháng với 9 loại với tỉ lệ cao nhất là 17%, 2 chủng kháng 5 loại với tỉ lệ 8% và 1 chủng kháng 17 loại với tỉ lệ 4%.

3.4. Các chủng vi khuẩn phân lập từ tôm tự nhiên

Các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ tôm tự nhiên có tỉ lệ đa kháng thấp hơn so với các chủng vi khuẩn phân lập từ các trại nuôi. Các chủng vi khuẩn phân lập từ tự nhiên kháng từ 5 – 12 loại kháng sinh kháng sinh thử nghiệm. Trong đó, 12 chủng vi khuẩn kháng với 7 loại kháng sinh chiếm tỉ lệ 50%, 4 chủng vi khuẩn kháng với 9 loại kháng sinh chiếm tỉ lệ 16,67%, chỉ có 1 chủng vi khuẩn kháng với 11 loại kháng sinh và 1/24 chủng vi khuẩn kháng với 12 loại kháng sinh chiếm tỉ lệ bằng nhau 4,17%.

Trong báo cáo về đặc tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập trên tôm thẻ chân trắng nuôi ở Đồng Nai và Bình Thuận của Đoàn Thị Thu Thủy (2014), kết quả thực hiện kháng sinh đồ cho thấy các chủng *Vibrio* spp. phân lập ở tỉnh Đồng Nai chỉ kháng với một loại kháng sinh duy nhất là kháng sinh AMP. Các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ tôm tại Bình Thuận thì kháng chủ yếu với bốn loại kháng sinh AMP, NAL, SXT, STR. Tỷ lệ kháng cao nhất là kháng sinh AMP với tỷ lệ kháng là 100%, tiếp theo là kháng sinh SXT với tỷ lệ kháng là 80%, sau cùng là kháng sinh NAL và STR với tỷ lệ bằng nhau là 40% [2]. Huỳnh Ngọc Trường và ctv. (2015) đã phát hiện 235/243 (96,71%) chủng *Vibrio* phân lập từ thủy và nước nuôi ở Tiền Giang có khả năng kháng ít nhất với một loại kháng sinh khảo sát [4]. Trong đó, có 51% số chủng kháng với một loại kháng sinh, 30,8% số chủng kháng 2 loại, và có đến 18,2% số chủng có hiện tượng đa kháng kháng sinh. Đáng chú ý là có 1 chủng kháng với 6 loại kháng sinh. Trong 9 loại kháng sinh khảo sát, 100% *Vibrio* nhạy với Ciprofloxacin. Tỷ lệ kháng cao nhất là 42,8% số chủng kháng với Imipenem, kế đến là 39% số chủng kháng với Ampicillin. Cefepime, Gentamycin và Ceftazidime có tỷ lệ chủng kháng thấp từ 6 – 9%. Cũng trong nghiên cứu của Huỳnh Ngọc Trường và ctv. (2015), 51% số chủng *Vibrio* phân lập được kháng với 1 loại kháng sinh; 30,8% kháng với 2 loại kháng sinh. Đặc biệt, có 44/243 chủng vi khuẩn phân lập có hiện tượng đa kháng kháng sinh (kháng từ 3 loại kháng sinh trở lên), chiếm tỷ lệ 9% tổng số chủng kháng [4]. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Đặng Thị Hoàng Oanh (2006) khi cho rằng có xuất hiện một số chủng *V. parahaemolyticus* kháng được 4 loại, thậm chí 6 loại kháng sinh [1].

Adeyemi và ctv. (2008) đã khảo sát tính kháng kháng sinh của 44 chủng *Vibrio* phân lập từ thủy sản và nước nuôi ở Lagos, Nigeria. Kết quả cho thấy rằng 44/44 chủng kháng với 4 loại kháng sinh (Amoxicillin, Augmentin, Chloramphenicol và Nitrofurantoin); 8 chủng (18%) kháng với 10 loại kháng sinh

(Gentamycin, Nitrofurantoin, Tetracycline, Augmentin, Chloramphenicol, Amoxycilin, Ofloxacin, Cotrimozazole, Ceftriazone, và Ciprofloxacin) [5]. Báo cáo của Manjusha và ctv. (2005) về tính đa kháng của 119 chủng *Vibrio* cũng cho thấy có đến 55,5% kháng với 4-10 loại kháng sinh, 14,14% kháng với hơn 10 loại kháng sinh khảo sát [7].

4. Chỉ số đa kháng kháng sinh (Multiple Antibiotic Resistance (MAR) index)

Các kết quả chỉ số đa kháng sinh tại các tỉnh dao động từ 0,363 (Long An) đến 0,519 (tôm giống tại Ninh Thuận). Các giá trị này cho thấy rằng: các trại giống tại Ninh Thuận có thể đã và đang sử dụng rất nhiều loại thuốc kháng sinh, kể đến là các hộ nuôi tôm tại Bạc Liêu (0,487), Bến Tre (0,445), Tp. Hồ Chí Minh (0,423) đến Long An (0,363) và cuối cùng là tôm tự nhiên (0,317). Tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ tôm tự nhiên có thể bị nhiễm các loại *Vibrio* spp. từ các ao nuôi thương phẩm trong khu vực, khi người nuôi xả nước thải từ các ao nuôi ra môi trường ngoài mà không qua xử lý. Theo Đoàn Thị Thu Thủy (2014), chỉ số đa kháng kháng sinh tại các trại nuôi tôm ở Đồng Nai (0,1) thấp hơn 0,2 cho thấy các mẫu tôm tại các trại nuôi tôm ở Đồng Nai hiếm khi sử dụng kháng sinh trong điều trị. Riêng ở Bình Thuận, chỉ số đa kháng kháng sinh của các trại nuôi lớn hơn 0,2 cụ thể là 0,26 điều này cho thấy rằng các trại nuôi tôm ở Ninh Thuận có sử dụng kháng sinh trong quá trình nuôi tôm [2]. So sánh kết quả nghiên cứu của Đoàn Thị Thu Thủy thì cho thấy rằng chỉ số đa kháng kháng sinh tăng liên tục.

IV. Kết luận và đề nghị

Gần 100% các chủng vi khuẩn phân lập được thể hiện tính kháng với các loại kháng sinh P, AMP, OX, AMX, trong đó tính đa kháng thấp nhất là 4 loại kháng sinh và nhiều nhất là 21 loại kháng sinh (trong 24 loại kháng sinh thử nghiệm); và có hơn 50% tổng số chủng kháng trên 11 loại kháng sinh. Kết quả xác định chỉ số đa kháng kháng sinh chỉ ra rằng tất cả các vùng nuôi tại khu vực Long An, Bến Tre, Bạc Liêu, Tp. HCM và Ninh Thuận có thể thường xuyên sử dụng

nhiều loại kháng sinh, đặc biệt là các trại tôm giống tại khu vực Ninh Thuận. Kiểm soát chặt chẽ việc sử dụng hóa chất, kháng sinh gây ảnh hưởng đến môi trường nuôi, cũng như các biện pháp xử lý nước thải sau khi nuôi. Khuyến cáo người dân không nên tự ý kết hợp nhiều loại kháng sinh khi không

cần thiết, hướng dẫn quy trình sử dụng thuốc hợp lý trong điều trị bệnh cho động vật thủy sản. Cần có thêm những nghiên cứu chuyên sâu về vaccine hay probiotics nhằm thay thế kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản để đảm bảo phát triển bền vững, một trong những mũi nhọn của nền kinh tế quốc gia.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Đặng Thị Hoàng Oanh, 2005. Xác định tính kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn phân lập từ các hệ thống nuôi thủy sản ở Đồng Bằng sông Cửu Long, Việt Nam, Tạp chí khoa học 2005: 136 – 143
2. Đoàn Thị Thu Thủy, 2014. Khảo sát đặc tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) phân lập trên tôm thẻ chân trắng nuôi ở Đồng Nai, Bình Thuận và sò huyết (*Anadara granosa*) nuôi ở Kiên Giang, Bạc Liêu. KLTN kỹ sư khoa thủy sản trường ĐH Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.
3. Lưu Thị Thanh Trúc, 2014. Thực hành chẩn đoán bệnh trên động vật thủy sản. Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.
4. Huỳnh Ngọc Trường, 2015. Tình hình nhiễm và tỉ lệ kháng thuốc của *Vibrio* spp. phân lập từ thủy sản và nước nuôi tại Tiền Giang. Tạp chí khoa học ĐH Sư Phạm Tp. HCM: 157 – 163

Tiếng Anh

5. Adeyemi, A., Enyinnia, V., Nwanze, R., Smith, S. and Omonigbehin, E., 2008. Antimicrobial susceptibility of potentially pathogenic halophilic *Vibrio* species isolated from seafoods in Lagos. Nigeria African Journal of Biotechnology, 7 (20): 3791-3794.
6. Chowdhury, G., Pazhani, G.P., Dutta, D., Guin, S., et al., 2012. *Vibrio fluvialis* in patients with diarrhea, Kolkata, India. Emerging Infectious Diseases, 18 (11):1868-1871.
7. Manjusha, S., Sarita, G.B., Elyas, K.K and Chandrasekaran, M., 2005. Multiple antibiotic resistances of *Vibrio* isolates from coastal and brackish water areas. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 1 (4): 193-198.
8. Raissy, M. Moumeni, M., Ansari, M., and Rahimi, E., 2012. Antibiotic resistance pattern of some *Vibrio* strains isolated from seafood. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 11 (3): 618-626.
9. Sarter, S., Nguyen, H. N. K., Hung, L. T., Lazard, J., & Montet, D., 2007. Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. Food control, 18(11): 1391-1396.