

THÔNG BÁO KHOA HỌC

**HIỆN TRẠNG KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *Vibrio* spp. PHÂN LẬP TRONG AO NUÔI TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*) Ở TỈNH BẾN TRE**

**THE STATUS OF ANTIBIOTICS RESISTANCE OF *Vibrio* spp. THAT ISOLATED FROM WHITE LEG SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) FARMING POND IN BEN TRE PROVINCE**

**Phan Thị Anh Thư<sup>1,2</sup>, Đoàn Thị Đông Kiều<sup>1,2</sup>, Nguyễn Công Tráng<sup>1</sup>**

Ngày nhận bài: 30/07/2019; Ngày phản biện thông qua: 28/11/2019; Ngày duyệt đăng: 15/12/2019

**TÓM TẮT**

Nghiên cứu này được thực hiện để tìm ra loại kháng sinh thích hợp dùng điều trị bệnh do *Vibrio* spp. gây ra trên tôm thẻ chân trắng nuôi ở Bến Tre. Mẫu vi khuẩn được phân lập từ ao nuôi, từ tôm bệnh theo phương pháp Buntin và ctv. (2008) và định danh bằng kit Nam Khoa IDS 14GNR. Kháng sinh đồ được thực hiện và đánh giá bằng phương pháp Bauer-Kirby (1966) và đánh giá theo tiêu chuẩn CLSI (2016) với 17 loại kháng sinh đang được sử dụng phổ biến. Kết quả cho thấy, với *V. parahaemolyticus*, kháng sinh bị kháng mạnh nhất là Apramycin với tỷ lệ 66,7%, kháng sinh nhạy nhất là Cefotaxime và Levofloxacin (đồng tỷ lệ 100%). Với *V. alginolyticus*, kháng sinh bị kháng mạnh nhất là Oxyetracyclin với tỷ lệ 60%, kháng sinh nhạy nhất là Levofloxacin với tỷ lệ 100%. Vi khuẩn *V. vulnificus* kháng mạnh nhất với Metronidazole ở tỷ lệ 66,7% và nhạy nhất với Chloramphenicol, Doxycycline, Levofloxacin (cùng tỷ lệ 93,3%). Ngoài ra, kết quả phân tích ANOVA cho thấy, hiện trạng kháng kháng sinh của ba loài vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* và *V. vulnificus* là khác biệt không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) giữa 3 huyện Bình Đại, Ba Tri và Thạnh Phú.

Từ khóa: Bến Tre, kháng sinh đồ, kháng khuẩn, *Vibrio* spp.

**ABSTRACT**

The study was conducted to find the most effective antibiotic to treat diseases caused by *Vibrio* spp. on *vannamei* farming industry in Ben Tre. *Vibrio* spp. bacteria samples were collected and isolated from cultured pond and diseased shrimp by the method of Buntin et al. (2008). *Vibrio* spp. were identified by Nam Khoa IDS 14GNR kit. Antibiogram were performed and evaluated by diffusion method on agar plates according to Bauer-kirby (1966) and CLSI standard (2016) with 17 antibiotics commonly current using in shrimp farming. The research results showed that the status of antibiotics resistance as following: with *V. parahaemolyticus*, Apramycin was resisted highest with the rate of 66.7%. Cefotaxime và Levofloxacin had been sensitive highest with the same rate of 100%. With *V. alginolyticus*, Oxyetracyclin was resisted highest with the rate of 60%. Levofloxacin had been sensitive highest with the rate of 100%. However, *V. vulnificus* resisted to Metronidazole with the highest at 66.7% and it was most sensitive to Chloramphenicol, Doxycycline, Levofloxacin with the same rate of 93.3%. In addition, the results of ANOVA analysis showed that the status of antibiotic resistance of three species including *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* and *V. vulnificus* were similarity. There was no significant difference ( $p > 0.05$ ) about antibiotics resistance abilities between species of *Vibrio* that It was isolated in 3 districts of Binh Dai, Ba Tri and Thanh Phu.

Keywords: antibiogram, bacteria-resistance, Ben Tre, *Vibrio* spp.

<sup>1</sup> Khoa Nông nghiệp và CNTP, Trường Đại học Tiền Giang

<sup>2</sup> Sinh viên Trường Đại học Tiền Giang

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, ngành tôm Việt Nam đang là một trong những nền kinh tế mũi nhọn của nước ta. Theo báo cáo của Tổng cục Thủy sản, năm 2018, tổng sản lượng thủy sản đạt khoảng 7,74 triệu tấn, trong đó sản lượng khai thác thủy sản đạt 3,59 triệu tấn, khai thác biển đạt gần 3,4 triệu tấn, khai thác nội địa 218.000 tấn. Sản lượng thủy sản nuôi trồng đạt 4,15 triệu tấn, tăng 8,3%. Giá trị sản xuất thủy sản năm 2018, đạt khoảng 228.139,8 tỷ đồng. Kim ngạch xuất khẩu thủy sản đạt khoảng 9 tỷ USD, trong đó tôm thẻ chân trắng xuất khẩu đạt 2,48 tỷ USD (Tổng cục Thủy Sản, 2018). Năm 2018, cả nước thả nuôi hơn 736.000 ha tôm nước lợ, trong đó, diện tích tôm thẻ chân trắng là 103.568 ha, với sản lượng tôm thẻ chân trắng đạt 464.924 tấn (Vũ Viết Đoàn, 2019). Tại Bến Tre, theo báo cáo của Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2018), toàn tỉnh này đã thả nuôi tôm biển thâm canh, bán thâm canh được gần 1.000 ha, trong đó phần lớn là tôm thẻ chân trắng (Nguyễn Sơn, 2018). Nuôi tôm thẻ chân trắng tại Bến Tre chủ yếu tập trung ở các huyện Thạnh Phú, Ba Tri và Bình Đại.

Thời gian qua, nghề nuôi tôm ở Bến Tre đã mang lại những lợi ích kinh tế to lớn cho người dân địa phương. Tuy nhiên, hiện nay nghề nuôi tôm này cũng đang gặp phải những khó khăn thách thức vô cùng to lớn như tình trạng ô nhiễm môi trường, dịch bệnh diễn biến phức tạp (Nguyễn Thị Kim Ngân và *ctv.*, 2013). Theo nhiều nghiên cứu, các loài vi khuẩn *Vibrio* spp. là tác nhân chính gây ra các bệnh trên tôm nuôi nước lợ. Trong đó, tác nhân gây bệnh nguy hiểm cho nghề nuôi tôm thẻ chân trắng nói chung và nghề nuôi tôm thẻ chân trắng tại Bến Tre nói riêng là 3 loài vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus* và *V. alginolyticus*. Khi tôm nuôi bị bệnh, người nuôi tôm ở Bến Tre hay chọn sử dụng kháng sinh như là giải pháp đầu tiên để trị bệnh. Tuy nhiên, các loài vi khuẩn này, hiện nay đã thể hiện tính kháng mạnh với hầu hết các loại kháng sinh dùng điều trị cho tôm (Từ Thanh Dung và *ctv.*, 2014). Thực tế và các nghiên cứu gần đây cho thấy, việc sử dụng kháng sinh để

điều trị bệnh cho tôm khi bùng phát dịch bệnh đã trở nên kém hiệu quả. Chính vì vậy, việc xác định những loại kháng sinh đã bị kháng và những kháng sinh còn nhạy thông qua thực hiện kháng sinh đồ để tìm ra loại kháng sinh phù hợp cho việc điều trị bệnh trên tôm thẻ chân trắng nuôi tại Bến Tre là điều cần thiết.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Thời gian, địa điểm và vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ 12/2018 đến 6/2019. Mẫu được thu mẫu tại các hộ nuôi tôm thẻ chân trắng công nghiệp và các sông tự nhiên của huyện Bình Đại, Ba Tri và Thạnh Phú tỉnh Bến Tre. Mẫu sau khi thu được phân tích mẫu và thực hiện kháng sinh đồ tại Phòng thí nghiệm vi sinh của Khoa Nông nghiệp và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Tiền Giang.

Hóa chất và môi trường: Các môi trường Chrom agar, TCBS (xuất xứ Merck-Đức) dùng phân lập vi khuẩn. Môi trường MHA (Merck-Đức) dùng để thực hiện kháng sinh đồ. Hóa chất gồm: nước muối NaCl (0,9%), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc, BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, cồn công nghiệp.

Kháng sinh: Các đĩa giấy tẩm sẵn kháng sinh do công ty Nam Khoa (TP Hồ Chí Minh) sản xuất. Các đĩa giấy tẩm kháng sinh được sử dụng trong nghiên cứu gồm 17 loại: Cefotaxime (10μg), Amoxycycline (10μg), Ceftriaxone (30μg), Cefalexine (30μg), Streptomycin (10μg), Apramycin (40μg), Oxytetracycline (30μg), Doxycycline (30μg), Florphenicol (30μg), Chloramphenicol (30μg), Ciprofloxacin (5μg), Levofloxacin (5μg), Norfloxacin (5μg), Enrofloxacin (10μg), Metronidazole (10μg), Rifamycin (5μg) và Cotrim (25μg).

### 2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.1. Phương pháp thu mẫu

Thu mẫu nước trong ao nuôi tôm: Mỗi huyện thu 15 mẫu nước tại 15 hộ nuôi tôm thẻ chân trắng. Thu nước ở tầng đáy tại 5 điểm trong ao, mỗi điểm thu 500 mL, sau đó trộn các mẫu nước lại với nhau, lấy 500 mL cho vào chai sạch, đậy nắp kín, giữ ở 20 °C (bảo quản mát bằng nước đá) để bảo quản mang về phòng thí nghiệm cấy khuẩn.

Thu mẫu nước ở kênh rạch tự nhiên cung cấp nước cho hệ thống các ao nuôi tôm thẻ trong vùng. Mẫu được thu tại các rạch như Bông Cung, Giồng Luông, Thị Hoàng và các sông như sông Chín Thước, sông An Thuận, sông Mỹ An của huyện Thạnh Phú. Tại huyện Ba Tri, thì mẫu nước được thu kênh Bảy Chảy, sông Vàm Hồ, sông An Bình Tây. Ở huyện Bình Đại, mẫu nước tại sông Rạch Nò, Định Trung, Lộc Thuận, Thạnh Phước và kênh Phú Vàng cũng được thu để phân tích mẫu khuẩn. Mỗi sông, kênh, rạch thu 3 điểm ở tầng đáy, mỗi điểm 500 mL, sau đó tiến hành trộn mẫu nước lại với nhau và chọn ra 500 mL để bảo quản mang về phòng thí nghiệm cấy khuẩn.

Mẫu bùn chỉ thu trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng. Bùn được thu ở đáy (sâu vào lớp mặt khoảng 5 cm) ao tại vị trí sàn cho ăn và giữa ao. Bùn thu bằng ca nhựa PVC, dùng ca lấy lớp bùn mặt dày khoảng 0,5 cm của đáy ao. Bảo quản bùn trong túi nhựa P.E. ở nhiệt độ dưới 20°C chuyển về phòng thí nghiệm chờ phân tích.

Thu mẫu tôm bị các bệnh do vi khuẩn *Vibrio* spp. gây ra như phân trắng, gan tụy, đốm đen, phỏng đuôi, hoại tử phụ bộ và đang được người nuôi sử dụng kháng sinh để điều trị. Mỗi hộ thu 10 con, mẫu sau khi thu được trữ lạnh (dưới 20°C) đem về phòng thí nghiệm để cấy khuẩn. Trong quá trình thu mẫu tôm bệnh nghiên cứu viên kết hợp điều tra thêm thông tin về lịch sử sử dụng kháng sinh tại nông hộ như hộ đã dùng kháng sinh loại gì, dùng khi nào và hiệu quả ra sao ở vụ nuôi hiện tại và những vụ nuôi trước đó.

### 2.2. Phương pháp phân lập, định danh vi khuẩn

Các loài vi khuẩn *Vibrio* spp. từ mẫu nước, tôm, bùn được phân lập theo phương pháp của Buntin và ctv. (2008). Mẫu bùn được pha loãng với nước cất theo tỷ lệ 1 bùn/9 nước. Đối với mẫu tôm, thu đường ruột, khối gan tụy, chỗ phỏng đuôi, sau đó nghiền và pha loãng với nước muối sinh lý đã tiệt trùng. Mẫu nước được pha loãng từ 10-100 lần bằng nước cất vô trùng. Mẫu bùn được cấy ria trên các môi trường TCBS và Chrom agar. Mẫu nước và mẫu tôm được cấy lên môi trường TCBS và Chrom agar theo phương pháp cấy trang. Các

đĩa sau khi cấy được ủ ở 30°C trong 24 giờ. Sau khi ủ, chọn những khuẩn lạc đặc trưng cho từng loài *Vibrio* sp. tiếp tục cấy chuyển sang các đĩa TCBS và Chrom agar để làm thuần.

Các loài vi khuẩn *Vibrio* spp. sau khi được làm thuần được tiến hành định danh bằng bộ kit định danh IDS 14GNR của công ty Nam Khoa theo hướng dẫn sử dụng.

### 2.3. Phương pháp thực hiện kháng sinh đồ

Kháng sinh đồ được thực hiện theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch của Bauer-Kirby (Bauer và ctv., 1966). Tỷ lệ kháng của vi khuẩn (%) = [số mẫu khuẩn cho kết quả kháng/tổng số mẫu khuẩn khảo sát]x100. Tỷ lệ nhạy của vi khuẩn (%) = [số mẫu khuẩn cho kết quả nhạy/tổng số mẫu khuẩn khảo sát]x100.

### 3. Xử lý số liệu

Số liệu sau khi thu thập được, dùng phần mềm M.S Excel 2010 và SPSS 16.0 để xử lý. Phân tích ANOVA 1 yếu tố bằng phép thử Duncan ( $\alpha = 0,05$ ) để so sánh khả năng kháng kháng sinh của 3 loài vi khuẩn với nhau và của mẫu khuẩn phân lập được từ 3 huyện của tỉnh Bến Tre.

## III. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

### 1. Hiện trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*

Tỷ lệ kháng sinh bị vi khuẩn kháng và tỷ lệ kháng sinh còn nhạy với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* phân lập được ở Bến Tre thể hiện qua Bảng 1.

Tỷ lệ kháng kháng sinh của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* cao nhất (66,7%) đối với Apramycin, Oxytetracyclin và khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) với tất cả các kháng sinh còn lại. Ngược lại Cefotaxime và Levofloxacin hoàn toàn không bị *V. parahaemolyticus* kháng và khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) với 15 kháng sinh còn lại trong nghiên cứu. Enrofloxacin, Metronidazole là hai loại kháng sinh bị cấm nhưng người dân vẫn sử dụng và kết quả cho thấy với tỷ lệ bị kháng khá cao lần lượt là 40% và 26,7%.

Xét về tính nhạy, nhiều loại kháng sinh còn nhạy với *V. parahaemolyticus* với tỷ lệ từ 26,7-100% (Bảng 1). Đặc biệt,

**Bảng 1. Tỷ lệ nhạy và kháng của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* với các loại kháng sinh**

Nhóm kháng sinh	Loại kháng sinh	Tỷ lệ bị kháng (%)	Tỷ lệ nhạy (%)
<b><math>\beta</math> – Lactam</b>	Cefotaxime	0,0±0,00 <sup>a</sup>	100,0±0,00 <sup>e</sup>
	Amoxycycline	26,7±6,67 <sup>bc</sup>	60,0±11,55 <sup>abcd</sup>
	Ceftiofur	26,7±6,67 <sup>bc</sup>	73,3±6,67 <sup>bcde</sup>
	Cefalexine	6,7±6,67 <sup>ab</sup>	86,7±6,67 <sup>de</sup>
<b>Aminoside</b>	Streptomycine	20,0±11,55 <sup>abc</sup>	73,3±17,64 <sup>bcde</sup>
	Apramycin	66,7±13,33 <sup>d</sup>	26,7±6,67 <sup>a</sup>
<b>Tetracycline</b>	Oxytetracyclin	66,7±6,67 <sup>d</sup>	26,7±6,67 <sup>a</sup>
	Doxycycline	6,7±6,67 <sup>ab</sup>	86,7±13,33 <sup>de</sup>
<b>Phenicol</b>	Florphenicol	6,7±6,67 <sup>ab</sup>	86,7±6,67 <sup>de</sup>
	Chloramphenicol	6,7±6,67 <sup>ab</sup>	80,0±0,00 <sup>cde</sup>
<b>Quinolones</b>	Ciprofloxacin	6,7±6,67 <sup>ab</sup>	80,0±0,00 <sup>cde</sup>
	Levofloxacin	0,0±0,00 <sup>a</sup>	100,0±0,00 <sup>e</sup>
	Norfloxacin	26,7±13,33 <sup>bc</sup>	60,0±20,00 <sup>abcd</sup>
	Enrofloxacin	40,0±0,00 <sup>c</sup>	46,7±13,33 <sup>abc</sup>
<b>Imidazol</b>	Metronidazole	26,7±6,67 <sup>bc</sup>	60,0±0,00 <sup>abcd</sup>
<b>Nhóm khác</b>	Rifamycine	26,7±6,67 <sup>bc</sup>	40,0±11,55 <sup>ab</sup>
	Cotrim	13,3±6,67 <sup>ab</sup>	73,3±17,64 <sup>bcde</sup>

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có chứa các ký tự chữ khác nhau khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Cefotaxime và Levofloxacin nhạy hoàn toàn với *V. parahaemolyticus* với cùng tỷ lệ 100% và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) với các kháng sinh còn lại. Ngược lại, 2 loại có tỷ lệ nhạy thấp là Apramycin, Oxytetracyclin (cùng tỷ lệ 26,7%) và khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) với 15 loại kháng sinh khác.

Nghiên cứu của Trương Thị Mỹ Hạnh và ctv., 2016 cho thấy vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp ở tôm tại Quỳnh Lưu - Nghệ An kháng với Doxycycline và Oxytetracyclin lần lượt là 33,3% và 22,2%. So với kết quả nghiên cứu này tại Bến Tre, tỷ lệ kháng với Doxycycline và Oxytetracyclin lần lượt là 6,7% và 66,7%. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Tú Anh và ctv. (2016) về mức độ miễn cảm của *V. parahaemolyticus* trên tôm hùm bông nuôi tại Phú Yên cho thấy, Ciprofloxacin bị kháng với tỷ lệ (33,3%) cao hơn nghiên cứu này (6,7%). Ciprofloxacin, một trong những kháng sinh có tác dụng mạnh trong nhóm Quinolone, có tác dụng tốt với các vi khuẩn

đã kháng kháng sinh sinh thuộc các nhóm khác như Aminoglycosid, Cephalosporin, Tetracyclin, Penicilin (King và ctv., 2000; Huỳnh Ngọc Trường và ctv., 2015). Chính vì hiệu quả cao nên Ciprofloxacin được sử dụng nhiều trong nuôi tôm, dẫn đến Ciprofloxacin bị kháng mạnh bởi *V. parahaemolyticus* phân lập được trên tôm nuôi tại Nghệ An và bắt đầu bị kháng bởi *V. parahaemolyticus* phân lập được trên tôm nuôi tại Bến Tre.

Nghiên cứu của Lê Kiều Xuyên và Từ Thanh Dung (2015) về sự kháng thuốc của *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm thẻ chân trắng tại Cà Mau, Bạc Liêu, Sóc Trăng và Trà Vinh cho kết quả, Cefalexin chỉ nhạy (8,3%), Streptomycine không nhạy (0%). Kết quả nghiên cứu trên khác với nghiên cứu này tại Bến Tre là Cefalexin nhạy cao (86,7%), Streptomycine cũng nhạy cao (73,3). Kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Thanh Hương và ctv. (2014) về hiện trạng kháng thuốc trên 2 loài vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas*

*hydrophila* gây bệnh trên cá tra ở đồng bằng sông Cửu Long cho thấy, Cotrim có tỷ lệ nhạy là 0% với vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*; so với nghiên cứu Cotrim trên vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* tại Bến Tre thì tỷ lệ nhạy là 73,3%. Ngoài ra, *V. parahaemolyticus* phân lập trong nghiên cứu này vẫn nhạy với Levofloxacin, Cotrim, Chloramphenicol. Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với những nghiên cứu trước đó

(Al-Othrubí và *ctv.*, 2014; Shaw và *ctv.*, 2014) về sự nhạy cảm của *V. parahaemolyticus* với Chloramphenicol và Cotrim.

**2. Hiện trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio alginolyticus***

Kết quả kháng kháng sinh của *Vibrio parahaemolyticus* gây ra trong nuôi tôm thẻ chân trắng ở Bến Tre và kết quả được thể hiện qua Bảng 2.

**Bảng 2. Tỷ lệ nhạy và kháng của vi khuẩn *V. alginolyticus* với các loại kháng sinh**

Nhóm kháng sinh	Loại kháng sinh	Tỷ lệ bị kháng (%)	Tỷ lệ nhạy (%)
<b><math>\beta</math> – Lactam</b>	Cefotaxime	6,7±6,67 <sup>a</sup>	86,7±6,67 <sup>cd</sup>
	Amoxycycline	26,7±6,67 <sup>abc</sup>	53,3±17,64 <sup>abc</sup>
	Ceftiofur	20,0±11,55 <sup>ab</sup>	60,0±20,00 <sup>abcd</sup>
	Cefalexine	20,0±11,55 <sup>ab</sup>	73,3±6,67 <sup>abcd</sup>
<b>Aminoside</b>	Streptomycine	13,3±6,67 <sup>a</sup>	80,0±11,55 <sup>bcd</sup>
	Apramycin	46,7±24,04 <sup>bcd</sup>	40,0±20,00 <sup>ab</sup>
<b>Tetracycline</b>	Oxytetracyclin	60,0±11,55 <sup>d</sup>	33,3±6,67 <sup>a</sup>
	Doxycycline	0,0±0,00 <sup>a</sup>	93,3±6,67 <sup>cd</sup>
<b>Phenicol</b>	Florphenicol	26,7±6,67 <sup>abc</sup>	73,3±6,67 <sup>abcd</sup>
	Chloramphenicol	6,7±6,67 <sup>a</sup>	93,3±6,67 <sup>cd</sup>
<b>Quinolones</b>	Ciprofloxacin	6,7±6,67 <sup>a</sup>	86,7±13,33 <sup>cd</sup>
	Levofloxacin	0,0±0,00 <sup>a</sup>	100,0±0,00 <sup>d</sup>
	Norfloxacin	26,7±6,67 <sup>abc</sup>	66,7±6,67 <sup>abcd</sup>
	Enrofloxacin	53,3±13,33 <sup>cd</sup>	33,3±13,33 <sup>a</sup>
<b>Imidazol</b>	Metronidazole	26,7±6,67 <sup>abc</sup>	66,7±6,67 <sup>abcd</sup>
<b>Nhóm khác</b>	Rifamycine	13,3±6,67 <sup>a</sup>	66,7±13,33 <sup>abcd</sup>
	Cotrim	6,7±6,67 <sup>a</sup>	60,0±20,00 <sup>abcd</sup>

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột chứa các ký tự chữ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa (p<0,05).

Tỷ lệ kháng kháng sinh của vi khuẩn *V. alginolyticus* với 17 loại kháng sinh trên địa bàn tỉnh Bến Tre dao động từ 0-60%. Levofloxacin và Doxycycline hoàn toàn không bị kháng (0,0%) và những kháng sinh có tỷ lệ kháng thấp như Cefotaxime, Chloramphenicol, Ciprofloxacin và Cotrim (6,7%), đồng thời khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05) với các kháng sinh còn lại. Nằm trong danh sách bị cấm nhưng Enrofloxacin và Metronidazole nhưng người dân vẫn sử dụng, và bị *V. alginolyticus* kháng với tỷ lệ khá cao lần lượt là 53,3%, 26,7% (Bảng 2).

Levofloxacin cho tỷ lệ nhạy tuyệt đối (100%) và khác biệt có ý nghĩa với 16 loại còn lại (p>0,05). Nhạy khá đối với *V. alginolyticus* là Doxycycline (93,3%) và Norfloxacin (66,7%). Oxytetracycline và Enrofloxacin có cùng tỷ lệ nhạy là 33,3%, khác biệt có ý nghĩa thống kê với các loại còn lại (p<0,05). Lajnef và *ctv.* (2012) cho rằng có 69,6% trong số 69 chủng vi khuẩn *Vibrio alginolyticus* phân lập từ các cơ sở nuôi cá ở Bắc Châu Phi thể hiện tính kháng mạnh với Doxycycline. Banerjee và *ctv.* (2011), phân lập được 48,3% các loài vi khuẩn thuộc nhóm

*Vibrio* spp. trong đó có *V. alginolyticus* từ các cơ sở nuôi tôm thẻ chân trắng đã cho kết quả kháng cao với Norfloxacin. Tại Phú Yên, *V. alginolyticus* gây bệnh đỏ thân trên tôm hùm bông đã kháng Doxycycline với tỷ lệ 25% (Võ Văn Nha, 2015). Kết quả này trái ngược với kết quả thực hiện tại Bến Tre trên mẫu khuẩn tôm thẻ (*V. alginolyticus* không kháng Doxycycline). Cùng với kết quả đó tại Phú Yên Ciprofloxacin đã kháng (50,0%) nhưng Bến Tre chỉ cho kết quả kháng

Ciprofloxacin 6,7%. Từ các nghiên cứu khác nhau thấy được, tình trạng kháng kháng sinh hiện nay trên động vật thủy sản diễn biến khá phức tạp. Cùng một loài vi khuẩn nhưng được phân lập ở 2 vùng địa lý khác nhau sẽ nhận được kết quả kháng kháng sinh khác nhau.

### 3. Hiện trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio vulnificus*

Kết quả thực hiện kháng sinh đồ 17 loại kháng sinh trên vi khuẩn *V. vulnificus* thì có đến 15 loại kháng sinh đã bị kháng (Bảng 3).

**Bảng 3. Tỷ lệ nhạy và kháng của vi khuẩn *V. vulnificus* với các loại kháng sinh**

Nhóm kháng sinh	Loại kháng sinh	Tỷ lệ bị kháng (%)	Tỷ lệ nhạy (%)
<b><math>\beta</math> – Lactam</b>	Cefotaxime	6,7±6,67 <sup>ab</sup>	86,7±6,67 <sup>cd</sup>
	Amoxycycline	60,0±11,55 <sup>cde</sup>	26,7±6,67 <sup>ab</sup>
	Ceftiofur	40,0±11,55 <sup>a-c</sup>	26,7±17,64 <sup>ab</sup>
	Cefalexine	26,7±26,67 <sup>a-d</sup>	73,3±26,67 <sup>bcd</sup>
<b>Aminoside</b>	Streptomycine	13,3±13,33 <sup>ab</sup>	86,7±13,33 <sup>cd</sup>
	Apramycin	73,3±17,64 <sup>e</sup>	13,3±6,67 <sup>a</sup>
<b>Tetracycline</b>	Oxytetracyclin	60,0±20,00 <sup>cde</sup>	33,3±24,04 <sup>ab</sup>
	Doxycycline	0,0±0,00 <sup>a</sup>	93,3±6,67 <sup>d</sup>
<b>Phenicol</b>	Florphenicol	13,3±13,33 <sup>ab</sup>	73,3±6,67 <sup>bcd</sup>
	Chloramphenicol	6,7±6,67 <sup>ab</sup>	93,3±6,67 <sup>d</sup>
<b>Quinolones</b>	Ciprofloxacin	6,7±6,67 <sup>ab</sup>	73,3±13,33 <sup>bcd</sup>
	Levofloxacin	0,0±0,00 <sup>a</sup>	93,3±6,67 <sup>d</sup>
	Norfloxacin	20,0±11,55 <sup>abc</sup>	73,3±17,64 <sup>bcd</sup>
	Enrofloxacin	33,3±6,67 <sup>a-e</sup>	33,3±17,64 <sup>ab</sup>
<b>Imidazol</b>	Metronidazole	66,7±17,64 <sup>d-e</sup>	33,3±17,64 <sup>ab</sup>
<b>Nhóm khác</b>	Rifamycine	33,3±13,33 <sup>a-e</sup>	53,3±6,67 <sup>abcd</sup>
	Cotrim	46,7±6,67 <sup>b-e</sup>	40,0±11,55 <sup>abc</sup>

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có chứa các ký tự chữ khác nhau khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Tỷ lệ kháng sinh bị *V. vulnificus* kháng từ 0-73,3%. Doxycycline nhóm Tetracycline và Levofloxacin không bị kháng và khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) với các kháng sinh còn lại. Nhóm Aminoside có Apramycin có tỷ lệ bị kháng cao nhất là 73,3%, khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) với 16 loại kháng sinh còn lại. Nhóm Imidazol có Metronidazole cũng có tỷ lệ bị kháng khá cao với 66,7%. Kết quả này cảnh báo sự cần thiết kiểm soát nghiêm ngặt việc dùng thuốc kháng sinh để

phòng trị bệnh cho tôm nuôi. Tỷ lệ kháng sinh nhạy với *V. vulnificus* từ 13,3-93%. Kháng sinh có tỷ lệ nhạy cao nhất là Doxycycline, Chloramphenicol, Levofloxacin (cùng tỷ lệ 93,3%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) với 14 loại còn lại (Bảng 3).

Nghiên cứu về khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* sp. gây bệnh phát sáng, phân lập được từ hậu ấu trùng tôm sú cho kết quả, 26 trong 27 chủng *Vibrio* sp. thì có 15% kháng với Cotrim (Đặng Thị Hoàng Oanh,

2006). Tại Bến Tre, *V. vulnificus* phân lập được từ môi trường nuôi tôm nước lợ cũng có tỷ lệ kháng với Cotrim khá cao với 40%. Nghiên cứu của He và ctv. (2016) tại Trung Quốc cho thấy, các chủng *Vibrio parahaemolyticus* phân lập được từ mẫu tôm sống và cá thương phẩm tại các chợ kháng cao với Streptomycin (45,25%). Kết quả nghiên cứu tại Bến Tre này cũng đã thấy bắt đầu hiện tượng kháng Streptomycin của *V. vulnificus* với tỷ lệ 33,3%. Từ các nghiên cứu cho thấy, các chủng *Vibrio* sp. kháng kháng sinh đã có mặt hầu hết các tỉnh ở Đồng Bằng sông Cửu Long. Điều này là một vấn đề đáng lo ngại cho nghề nuôi tôm nước lợ nói riêng và ngành nuôi trồng thủy sản chung.

#### IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Với các mẫu *Vibrio* spp. được phân lập từ 3 huyện Thạnh Phú, Ba Tri và Bình Đại, có 16/17 loại kháng sinh đã bị kháng. Vi

khẩn *V. parahaemolyticus* kháng cao nhất (66,7%) đối với Apramycin, Oxytetracyclin. Cefotaxime và Levofloxacin hoàn toàn không bị *V. parahaemolyticus* kháng. Đối với *V. alginolyticus*, kháng sinh có tỷ lệ bị kháng thấp là Cefotaxime, Chloramphenicol, Ciprofloxacin và Cotrim (cùng tỷ lệ 6,7%). Levofloxacin và Doxycycline là 2 kháng sinh hoàn toàn không bị kháng (0,0%) bởi *V. alginolyticus*. Đối với *V. vulnificus*, Apramycin và Metronidazole có tỷ lệ bị kháng cao (73,3% và 66,7%). Tỷ lệ nhạy cao nhất với *V. vulnificus* là Doxycycline, Chloramphenicol và Levofloxacin (cùng tỷ lệ 93,3%).

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Công ty TNHH TS Tâm Việt đã tài trợ chi phí cho chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

##### Tiếng Việt

1. Nguyễn Thị Tú Anh, Võ Văn Nha, 2016. Tỷ lệ nhiễm và mức độ miễn cảm kháng sinh *Vibrio parahaemolyticus* phân lập từ tôm hùm bông (*Panulirus ornatus*) nuôi lồng ở vùng biển Phú Yên. Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y tập XXIII, 2 : 71-77.
2. Từ Thanh Dung, Nguyễn Anh Tuấn, Partrick Sorgeloos, Annemie Decostere, Margo Baele, Freddy Haesebrouck, 2010. Hiện trạng kháng thuốc kháng sinh trên vi khuẩn *Edwardsiella ictaluti* gây bệnh gan, thận mù trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 15a/2010: 162-171.
3. Trương Thị Mỹ Hạnh, Phạm Thị Yên, Huỳnh Thị Mỹ Lệ, Phan Thị Vân, Nguyễn Đình Vinh, Trương Thị Thành Vinh, 2016. Hiện trạng sử dụng thuốc và tính kháng kháng sinh của *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp ở tôm tại Quỳnh Lưu - Nghệ An. Tạp chí Khoa học-Công nghệ Thủy sản, Trường Đại học Nha Trang, số 2/2016: 57-64.
4. Võ Văn Nha, 2005. Nghiên cứu một số bệnh thường gặp do vi khuẩn, ký sinh trùng gây ra ở tôm hùm bông (*Panulirus ornatus*) nuôi lồng tại vùng biển Phú Yên, Khánh Hòa và các biện pháp phòng trị. Báo cáo tổng kết khoa học và kỹ thuật đề tài cấp Bộ, 2005. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III.
5. Nguyễn Thị Kim Ngân, Nguyễn Công Tráng, Nguyễn Văn Trai, 2013. Nhận thức của người dân về tác động bất lợi của nuôi tôm thâm canh đến môi trường hệ sinh thái rừng ngập mặn tại Bến Tre. Kỷ yếu Hội nghị Khoa học trẻ Ngành thủy sản toàn quốc lần 4. Trường Đại học Nông Lâm TP HCM.
6. Đặng Thị Hoàng Oanh, Đoàn Nhật, Nguyễn Thị Thu Hằng, Nguyễn Thanh Phương, 2006. Xác định vị trí

phân loại và khả năng kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* phát sáng phân lập từ hậu ấu trùng tôm sú (*Penaeus monodon*). Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ: 42-52.

7. Huỳnh Ngọc Trường, Trần Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Tiến Dũng, 2015. Tình hình nhiễm và tỷ lệ kháng thuốc của *Vibrio* spp. phân lập từ thủy sản và nước nuôi tại Tiền Giang. Tạp chí khoa học Đại học sư phạm Thành Phố Hồ Chí Minh, số 2 (67) năm 2015, trang 157-167.

8. Lê Kiều Xuyên, 2014. Nghiên cứu sự kháng thuốc của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* phân lập từ ao nuôi tôm. Luận văn Đại học ngành Bệnh học thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.

9. Phạm Thị Thanh Hương, Nguyễn Thiện Nam, Từ Thanh Dung, Nguyễn Anh Tuấn, (2014). Hiện trạng kháng thuốc kháng sinh trên hai loài vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas hydrophila* gây bệnh trên cá tra tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở đồng bằng sông cửu Long. Kỷ yếu Hội nghị Khoa học Thủy sản Toàn quốc lần thứ IV, Trường Đại học Nông lâm TP Hồ Chí Minh ngày 16/12/2011, trang 250-261.

### Tiếng Anh

10. Al-Othubi, S. M., Kqueen, C. Y., Mirhosseini, H., Hadi, Y. A., and Radu, S., 2014. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from cockles and shrimp seafood marketed in Selangor, Malaysia. Clinical Microbiology 3: 148–154.

11. Banerjee, S., Ooi, M.C., Shariff, M., and Khaton, H., 2011. Antibiotic resistant Salmonella and Vibrio associated with farmed *Litopenaeus vannamei*. The Scientific World Journal, 2012.

12. Bauer, A. W., Kirby, M. D., Sherris, J. C., and Turck, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, 45: 493-496.

13. Buntin, N., Chanthachum, S., and Hongpattarakere, T., 2008. Screening of lactic acid bacteria from gastrointestinal tracts of marine fish for their potential use as probiotics. Songklanakarin Journal of Science & Technology, 30: 141-148.

14. He, Y., Jin, L., Sun, F., Hu, Q., and Chen, L., 2016. Antibiotic and heavy-metal resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from fresh shrimps in Shanghai fish markets, China. Environmental Science and Pollution Research, 23(15): 15033-15040.

15. King, D. E., Malone, R., and Lilley, S. H., 2000. New classification and update on the quinolone antibiotics. American family physician, 61(9): 2741-2748.

16. Lajnef, R., Snoussi, M., Romalde, J.L., Nozha, C., and Hassen, A., 2012. Comparative study on the antibiotic susceptibility and plasmid profiles of *Vibrio alginolyticus* strains isolated from four Tunisian marine biotopes. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28(12), 3345-3363.

17. Shaw, K. S., Goldstein, R. E.R., He, X., Jacobs, J. M., Crump, B. C., and Sapkota, A. R., 2014. Antimicrobial susceptibility of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* recovered from recreational and commercial areas of Chesapeake Bay and Maryland coastal bay. PLoS ONE 9(2):e89616.

### Website

18. Tổng cục Thủy Sản, 2018. Hội nghị tổng kết công tác năm 2018 và triển khai nhiệm vụ năm 2019 của. <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/tin-t%E1%BB%A9c/-tin-v%E1%BA%AFn/doc-tin/011994/2018-12-25/hoi-nghi-tong-ket-cong-tac-nam-2018-va-trien-khai-nhiem-vu-nam-2019-cua-tong-cuc-thuy-san>.

19. Vũ Viết Đoàn, 2019. Nuôi tôm ở đồng bằng sông Cửu Long. <https://www.nhandan.com.vn/baothoinay/baothoinay-xahoi/baothoinay-xahoi-phongsu/item/39928302-nuoi-tom-o-dong-bang-song-cuu-long.html>.

20. Nguyễn Sơn, 2018. Bến Tre phát triển nghề nuôi tôm biển. <http://www.dangcongsan.vn/kinh-te/ben-tre-phat-trien-nghe-nuoi-tom-bien-477568.html>.