

THÔNG BÁO KHOA HỌC

KHẢ NĂNG KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus* PHÂN LẬP TỪ CÁC VÙNG NUÔI TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*) CỦA TỈNH BẠC LIÊU NĂM 2019

ANTIBIOTICS RESISTANCE ABILITIES OF *Vibrio parahaemolyticus* BACTERIA THAT ISOLATED FROM WHITE LEG SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) FARMING AREAS IN BAC LIEU PROVINCE IN 2019

Nguyễn Công Tráng¹, Trần Thị Ngọc Lắm², Huỳnh Thị Quỳnh Như²

Ngày nhận bài: 15/08/2019; Ngày phản biện thông qua: 14/11/2019; Ngày duyệt đăng: 10/12/2019

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện từ 01-05/2019 tại Đại học Tiền Giang, nhằm đánh giá hiện trạng kháng kháng sinh của *Vibrio parahaemolyticus* và đề xuất loại kháng sinh thích hợp để điều trị bệnh trên tôm thẻ nuôi ở Bạc Liêu. Mẫu khuẩn *V. parahaemolyticus* được thu; phân lập từ bùn ao, nước ao, nước sông, và từ tôm bệnh theo phương pháp Nirunya et al. (2008). *V. parahaemolyticus* được định danh bằng kit Nam Khoa IDS 14GNR. Kháng sinh đồ được thực hiện và đánh giá bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch theo tiêu chuẩn CLSI (2016) với 17 loại kháng sinh sử dụng phổ biến hiện nay trong nuôi tôm. Kết quả cho thấy, Apramycin là kháng sinh bị kháng nhiều nhất với tỷ lệ 73,3%; kháng sinh bị kháng ít nhất là Streptomycine, Doxycycline, Florphenicol, Chloramphenicol và Norfloxacin với cùng tỷ lệ 0%. Doxycycline và Chloramphenicol là kháng sinh có tỷ lệ nhạy cao nhất với cùng tỷ lệ 100%; tỷ lệ nhạy thấp nhất là Enrofloxacin (6,7%). Tỷ lệ kháng kháng sinh của *V. parahaemolyticus* được phân lập ở 3 huyện Hòa Bình, Đông Hải, Giá Rai lần lượt là 15,3%, 17,7%, 31,8% và sự khác biệt này không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). Kết quả phân tích cho thấy, bên cạnh Doxycycline, thì có thể dùng Streptomycine và Florphenicol để điều trị bệnh trên tôm thẻ chân trắng nuôi tại Bạc Liêu do *V. parahaemolyticus* gây ra.

Từ khóa: Bạc Liêu, kháng kháng sinh, kháng sinh đồ, *V. parahaemolyticus*.

ABSTRACT

The study was conducted from January to May 2019 at Tien Giang University to evaluate the antibiotic resistance status of *Vibrio parahaemolyticus* and propose appropriately antibiotics to treat diseases on farmed shrimp in Bac Lieu. *V. parahaemolyticus* bacteria samples were collected and isolated from pond mud, pond water, river water and diseased shrimp by the method of Nirunya et al. (2008). *V. parahaemolyticus* was identified by Nam Khoa IDS 14GNR kit. Antibiogram were performed and evaluated by diffusion method on agar plates according to CLSI standard (2016) with 17 antibiotics commonly current using today in shrimp farming. The results showed that Apramycin was resisted highest with the rate of 73.3%. The least resistant antibiotic was Streptomycine, Doxycycline, Florphenicol, Chloramphenicol and Norfloxacin at the same rate of 0%. Doxycycline and Chloramphenicol had been sensetive highest with the same rate of 100%. The lowest sensitivity rate was Enrofloxacin (6.7%). The rate of antibiotic resistance of *V. parahaemolyticus* that was isolated in 3 districts of Hoa Binh, Dong Hai and Gia Rai of Bac Lieu province were 15.3%, 17.7% and 31.8%, respectively and it wasn't significantly difference ($p < 0.05$). Analytical results show that Doxycycline, Streptomycine and Florphenicol could be used to treat effectively on white leg shrimp disease caused by *V. parahaemolyticus* in Bac Lieu province.

Keywords: antibiotics resistance, antibiogram, Bac Lieu, *V. parahaemolyticus*.

¹ Khoa Nông nghiệp và CNTP, Trường Đại học Tiền Giang

² Sinh viên trường Đại học Tiền Giang

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các tỉnh khu vực đồng bằng sông Cửu Long như Long An, Tiền Giang, Bến Tre, Trà Vinh, Bạc Liêu, v.v. đang phát triển mạnh về nghề nuôi tôm thẻ chân trắng (TCT). Trong đó, Bạc Liêu là tỉnh có diện tích nuôi tôm thẻ chân trắng khá lớn, hiện là 5.815 ha với sản lượng 105.000 tấn/năm (Tổng cục thủy sản, 2016). Nghề nuôi tôm thẻ đã phát triển mạnh và trở thành ngành kinh tế mũi nhọn của Bạc Liêu. Nuôi tôm thẻ góp phần xóa đói giảm nghèo, giúp làm giàu, cải thiện đời sống dân cư và bảo đảm an ninh thực phẩm cho người dân tại Bạc Liêu. Bên cạnh sự phát triển, thì hiện nay nghề nuôi tôm TCT còn gặp nhiều thách thức. Tình hình phát sinh dịch bệnh và phòng trị bệnh trên tôm TCT là một trong những khó khăn đáng lo ngại đối với người nuôi tôm. Trong đó bệnh do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây ra những bệnh nguy hiểm nhất trên tôm như bệnh phát sáng, phân trắng. Đặc biệt, hội chứng hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm mà tác nhân là do *V. parahaemolyticus* nhiễm Bacteriophage gây ra đã gây thiệt hại lớn cho nghề nuôi tôm thẻ (Lightner *et al.*, 2013). Để hạn chế dịch bệnh do *V. parahaemolyticus*, giải pháp đầu tiên người dân là sử dụng kháng sinh để điều trị (Vũ Đình Tôn và *ctv.*, 2012). Tuy nhiên, sử dụng kháng sinh không đúng cách, lạm dụng đã gây lên tác hại lớn như tạo ra các dòng vi khuẩn kháng lại kháng sinh, làm giảm hiệu quả điều trị bệnh đồng thời tăng nguy cơ nhiễm các loại vi khuẩn có khả năng kháng thuốc cho con người, động vật và tồn dư trong thịt động vật thủy sản. Do đó, việc xác định những loại kháng sinh đã bị kháng và những kháng sinh còn nhạy với *V. parahaemolyticus* thông qua việc thực hiện kháng sinh đồ để tìm ra được loại kháng sinh phù hợp cho việc phòng và trị bệnh trên tôm thẻ chân trắng tại Bạc Liêu là điều cần thiết. Kết quả nghiên cứu là cơ sở dữ liệu quan trọng, hỗ trợ nhà chức trách tại địa phương có các giải pháp để quản lý vấn đề sử dụng kháng sinh hiện nay trong nuôi tôm, giúp nghề nuôi tôm an toàn và bền vững hơn tại Bạc Liêu.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Thời gian và địa điểm

Thời gian: Từ tháng 01/2019 đến 05/2019.

Địa điểm: Mẫu để phân lập vi khuẩn được thu tại các hộ nuôi tôm công nghiệp và các sông tự nhiên ở khu vực huyện Hòa Bình, Giá Rai và Đông Hải của tỉnh Bạc Liêu. 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.

2. Vật liệu nghiên cứu

Thiết bị và dụng cụ: Testkit định danh vi khuẩn IDS 14GRN do công ty Nam Khoa sản xuất. Các thiết bị gồm: nồi hấp khử trùng, tủ cấy, máy vortex, tủ âm, cân điện tử hai số lẻ. Dụng cụ gồm: đĩa petri, que cấy trang, que cấy vòng, đèn cồn, ống nghiệm, ống đong, micropipet (100-1000 micro litter), erlen, cốc thủy tinh, và một số dụng cụ khác. Hóa chất và môi trường gồm: cồn 90°, nước muối NaCl (0,9%), BaCl₂.2H₂O, H₂SO₄ đậm đặc. Môi trường Chrom agar (xuất xứ-Pháp), dùng phân lập vi khuẩn. Môi trường MHA (Merck-Đức) dùng để thực hiện kháng sinh đồ. Kháng sinh: 17 loại đĩa giấy tẩm sẵn kháng sinh do công ty Nam Khoa (TP Hồ Chí Minh) sản xuất.

3. Phương pháp thực hiện

3.1. Thu mẫu để phân lập vi khuẩn

3.1.1. Thu mẫu nước

Sử dụng chai sạch thu mẫu, lượng nước được thu đầy miệng chai và đậy kín nắp. Sau khi thu mẫu xong cần lưu trữ mẫu dưới 20°C (bảo quản mát bằng nước đá).

Thu mẫu nước trong ao nuôi tôm: Mỗi huyện thu 10 mẫu nước tại 10 hộ nuôi tôm thẻ chân trắng. Thu nước ở tầng giữa (cách đáy khoảng 0,4-0,5 m), mỗi ao thu 5 điểm, tại 4 góc ao và giữa ao. Mỗi điểm thu 500 mL, sau đó trộn các mẫu nước lại với nhau, chọn ra 500 mL để bảo quản mang về phòng thí nghiệm cấy khuẩn.

Thu mẫu nước ở kênh rạch tự nhiên: Mẫu được thu tại các kênh, rạch, sông cung cấp nước cho hệ thống các ao nuôi tôm thẻ trong vùng. Mẫu được thu tại kênh Hòa Thạnh, kênh Hòa Trung ở sông Gành Hào của huyện Giá Rai. Tại huyện Hòa Bình thì mẫu nước được thu tại kênh Nhà Mồ, kênh Mỹ Điền ở sông

Gành Hào. Ở huyện Đông Hải thì được thu tại kênh Trường Điền, kênh Minh Điền, kênh Hai Vũ ở sông Gành Hào. Mỗi sông/kênh thu 3 điểm, thu nước tầng đáy, thu lúc nước ròng, thu 500 mL điểm, sau đó trộn mẫu lại với nhau và lấy ra 500 mL để bảo quản mang về phòng thí nghiệm cấy khuẩn.

3.1.2. Thu mẫu bùn

Thu mẫu bùn trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng. Bùn được thu ở đáy ao tại vị trí sản 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. Mỗi hộ thu 10 mẫu bùn, sau đó trộn các mẫu bùn lại và chọn ra 1 mẫu đại diện. Bảo quản bùn trong túi nhựa PE ở nhiệt độ dưới 20°C chuyển về phòng thí nghiệm cấy khuẩn.

3.1.3. Thu mẫu tôm

Thu mẫu tôm bị bệnh do vi khuẩn *Vibrio* sp. gây ra như phân trắng, gan tụy, đốm đen, hoại tử phụ bộ và đang được các hộ nuôi sử dụng kháng sinh để điều trị. Mỗi hộ thu 15 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.

3.2. Phương pháp thực hiện

Phân lập vi khuẩn: Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* từ mẫu nước, tôm, bùn được phân lập theo phương pháp của Nirunya *et al.* (2008). Mẫu nước được pha loãng từ 10-100 lần bằng nước cất vô trùng. Đối với mẫu bùn, thì được pha loãng với nước cất vô trùng theo tỷ lệ 1/9 (1 bùn/9 nước). Riêng đối với mẫu tôm, thì lấy đường ruột, khối gan tụy, chỗ phỏng đuôi, sau đó nghiền và pha loãng với nước muối NaCl (0,9%) đã tiệt trùng. Mẫu nước và mẫu tôm được cấy lên môi trường phân lập chuyên biệt dành cho *Vibrio* sp. là Chrom agar theo phương pháp cấy trang. Đối với mẫu bùn thì được cấy ria trên các môi trường Chrom agar. Các đĩa sau khi cấy được ủ từ 18-24 giờ ở 30°C. Sau thời gian ủ, chọn những khuẩn lạc có màu tím đặc trưng cho *V. parahaemolyticus*, tiếp tục cấy chuyển sang các đĩa Chrom agar để làm thuần. Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* sau khi được làm

thuần thì sẽ được định danh.

Định danh vi khuẩn: Các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* sau khi được làm thuần sẽ được tiến hành định danh bằng bộ kit định danh IDS 14GNR của công ty Nam Khoa và theo hướng dẫn sử dụng của công ty Nam Khoa. Nghiên cứu đã chọn 15 chủng *V. parahaemolyticus* để thực hiện kháng sinh đồ.

Thực hiện kháng sinh đồ: Kháng sinh đồ được thực hiện theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch của Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966). Tiêu chuẩn đánh giá tính kháng của vi khuẩn dựa theo bảng tiêu chuẩn của Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) cập nhật năm 2016.

4. Thu thập và xử lý số liệu

Các đĩa thực hiện kháng sinh đồ sau khi ủ, tiến hành đo đường kính vòng kháng khuẩn (mm) bằng cách dùng thước kẻ chia vạch và đánh giá theo tiêu chuẩn CLSI (2016) thu được kết quả kháng, nhạy hoặc trung bình.

Tính tỷ lệ kháng của vi khuẩn:

Tỷ lệ kháng (%) = [số mẫu khuẩn cho kết quả kháng/tổng số mẫu khuẩn khảo sát]x100

Tính tỷ lệ nhạy của vi khuẩn:

Tỷ lệ nhạy (%) = [số mẫu khuẩn cho kết quả nhạy/tổng số mẫu khuẩn khảo sát]x100

Xử lý số liệu: Số liệu sau khi thu thập được, dùng phần mềm MS Excel 2007 và SPSS 16.0 để nhập liệu và xử lý. Nghiên cứu sẽ xử lý số liệu để tính ra, tỷ lệ kháng sinh bị kháng và tỷ lệ nhạy của kháng sinh đối với vi khuẩn. Phân tích ANOVA 1 yếu tố bằng phép thử Duncan ($\alpha=0,05$) để so sánh khả năng kháng kháng sinh của *V. parahaemolyticus* phân lập tại 3 huyện; tỷ lệ bị kháng và tỷ lệ nhạy giữa các kháng sinh với nhau. Ngoài ra, nghiên cứu còn sử dụng phương pháp phân tích cụm Cluster để đánh giá sự tương đồng của các nhóm kháng sinh khảo sát. Nghiên cứu xây dựng biểu đồ Dendrogram thông qua tính toán khoảng cách khác biệt (Euclidian) theo phương pháp liên kết nhóm trung bình trong phân tích Cluster để giải thích và so sánh sự gần nhau (giống nhau) về tính kháng và tính nhạy của các nhóm kháng sinh khảo sát đối với *V. parahaemolyticus*.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Hiện trạng kháng các nhóm kháng sinh của vi khuẩn

Kết quả khảo sát hiện trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở tỉnh Bạc Liêu được thể hiện qua Bảng 1.

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

Nhóm kháng sinh	Tên kháng sinh	Tỷ lệ bị kháng (%)	Tỷ lệ nhạy (%)	
1	β - Lactam	1 Cefotaxime	40,0±11,55 ^{bcd}	40,0±11,55 ^{abc}
		2 Amoxycycline	26,7±6,67 ^{abc}	53,3±13,33 ^{bcd}
		3 Ceftiofur	20,0±20,00 ^{abc}	40,0±11,55 ^{abc}
		4 Cefalexine	13,3±6,67 ^{ab}	60,0±11,55 ^{cde}
2	Aminoside	5 Streptomycine	0,0±0,00 ^a	93,3±6,67 ^{ef}
		6 Apramycin	73,3±6,67 ^c	20,0±11,55 ^{ab}
3	Tetracycline	7 Oxytetracyclin	46,7±13,33 ^{cde}	33,3±6,67 ^{abc}
		8 Doxycycline	0,0±0,00 ^a	100,0±0,00 ^f
4	Phenicol	9 Florphenicol	0,0±0,00 ^a	86,7±6,67 ^{def}
		10 Chloramphenicol	0,0±0,00 ^a	100,0±0,00 ^f
5	Quinolones	11 Ciprofloxacin	13,3±6,67 ^{ab}	53,3±13,33 ^{bcd}
		12 Levofloxacin	6,7±6,67 ^a	86,7±13,33 ^{def}
		13 Norfloxacin	0,0±0,00 ^a	66,7±17,64 ^{cdef}
		14 Enrofloxacin	66,7±17,64 ^{de}	6,7±6,67 ^a
6	Imidazol	15 Metronidazole	13,3±6,67 ^{ab}	80,0±11,55 ^{def}
7	Nhóm khác	16 Rifamycine	26,7±13,3 ^{abc}	60,0±11,55 ^{cde}
		17 Cotrim	20,0±11,55 ^{abc}	60,0±11,55 ^{cde}

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

Kết quả Bảng 1 cho thấy, tỷ lệ kháng của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* đối với các loại kháng sinh dao động từ 0-73,3%. Trong đó, Streptomycine, Doxycycline, Florphenicol, Chloramphenicol và Norfloxacin hoàn toàn không bị *V. parahaemolyticus* kháng và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các kháng sinh trong khảo sát. Ngược lại, Apramycin thuộc nhóm Aminoside có tỷ lệ bị *V. parahaemolyticus* kháng cao nhất (73,3%), khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với các kháng sinh khảo sát khác. Các kháng sinh

còn lại có tỷ lệ bị *V. parahaemolyticus* kháng ở mức trung bình dao động từ 13,3-46,7%. Nguyên nhân Apramycin và Enrofloxacin bị *V. parahaemolyticus* kháng có thể là do người nuôi tôm trên địa bàn tỉnh Bạc Liêu đã dùng kháng sinh không tuân thủ thời gian điều trị hoặc không đảm bảo nồng độ điều trị làm cho vi khuẩn thích nghi được dẫn đến hiện tượng kháng kháng sinh. Vì vậy, người nuôi tôm nên sử dụng kháng sinh đúng theo quy định để đạt hiệu quả cao trong điều trị.

Xét về tính nhạy, tỷ lệ nhạy của các kháng

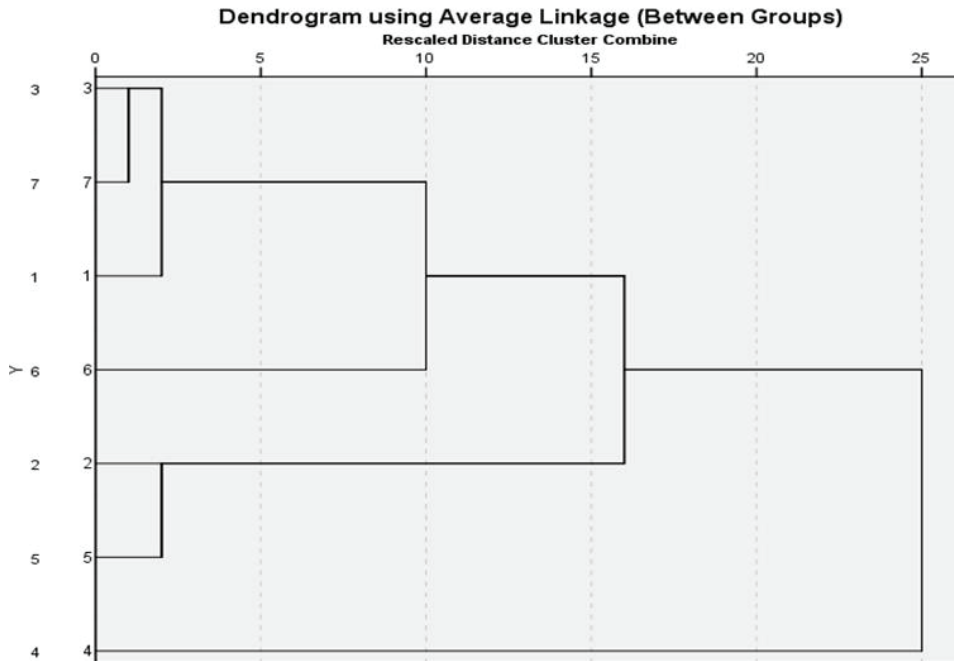
sinh đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* dao động từ 6,7-100%. Trong đó, Doxycycline và Chloramphenicol nhạy hoàn toàn (100%) với *V. parahaemolyticus* và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các kháng sinh trong khảo sát. Mặc khác, Enrofloxacin thuộc nhóm Quinolones có tỷ lệ nhạy với *V. parahaemolyticus* thấp nhất (6,7%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với các kháng sinh khảo sát (Bảng 1). Tỷ lệ nhạy của kháng sinh đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* cao hay thấp có thể do trong quá trình nuôi, người nuôi tôm sử dụng kháng sinh đó nhiều hay ít. Nếu người nuôi quá lạm dụng vào một loại kháng sinh để điều trị trong suốt vụ nuôi thì tỷ lệ nhạy của kháng sinh đó sẽ thấp, hoạt lực kháng khuẩn giảm, hiệu quả điều trị kém và có thể dẫn đến tình trạng kháng kháng sinh. Qua kết quả nghiên cứu về tỷ lệ nhạy của các loại kháng sinh đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở Bảng 1, người nuôi tôm thẻ ở Bạc Liêu có thể lựa chọn kháng sinh có tỷ lệ nhạy cao như: Doxycycline, Streptomycin, Amoxicillin, Cefalexin, Levofloxacin, Florphenicol, Ciprofloxacin, Norfloxacin, Rifamycin và Cotrim trong việc điều trị các bệnh gan tụy, phân trắng, đốm đen cho tôm. Riêng Chloramphenicol, dù nhạy hoàn toàn với *V. parahaemolyticus* nhưng kháng sinh này nằm trong danh mục cấm sử dụng trong nuôi trồng thủy sản từ năm 2012 (Thông tư 03/2012/TT BNNPTNT), cho nên người nuôi tôm cũng phải ngưng sử dụng. Bởi vì, tác hại của việc dùng kháng sinh cấm là rất lớn, đó là sự tồn lưu của kháng sinh trong thực phẩm gây nguy hiểm cho người sử dụng, tăng tác dụng phụ, tăng độc tính, tạo chủng vi khuẩn kháng thuốc làm cho việc chữa trị về sau gặp khó khăn hơn.

Kết quả nghiên cứu của Lê Kiều Xuyên (2014) về sự kháng thuốc của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* phân lập từ ao nuôi tôm ở các tỉnh Cà Mau, Sóc Trăng, Bạc Liêu và Trà Vinh cho thấy, đa số các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* kháng tương đối cao với Amoxicillin (91,7%), Cefalexin (83,3%). Như vậy, kết quả nghiên cứu về sự kháng thuốc của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* phân lập trên tôm TCT ở tỉnh Bạc Liêu là có sự khác nhau;

kết quả này thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Lê Kiều Xuyên (cụ thể, tỷ lệ bị *V. parahaemolyticus* kháng của Amoxicillin, Cefalexin là 26,7% và 13,3%). Qua đó, có thể thấy khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* đối với các kháng sinh phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: thời gian, vùng địa lý, tình hình sử dụng kháng sinh, v.v. Đối với từng vùng, từng đối tượng và mục đích sử dụng kháng sinh khác nhau mà kết quả kháng kháng sinh của vi khuẩn sẽ khác nhau. Theo nghiên cứu của Trương Thị Mỹ Hạnh và ctv. (2016) về hiện trạng sử dụng thuốc của *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) ở tôm tại Quỳnh Lưu tỉnh Nghệ An; kết quả cho thấy, Doxycycline và Rifamycin hoàn toàn không nhạy với *V. parahaemolyticus*. Nhưng kết quả nghiên cứu về sự kháng thuốc của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* phân lập trên tôm TCT ở tỉnh Bạc Liêu trong nghiên cứu của nhóm tác giả lại cho thấy, Doxycycline và Rifamycin có tỷ lệ nhạy cao đối với *V. parahaemolyticus* lần lượt là 100% và 60%. Nguyên nhân có thể do người nuôi tôm ở vùng Nghệ An sử dụng Doxycycline và Rifamycin khá phổ biến trong nhiều vụ nuôi và liều lượng thuốc kháng sinh sử dụng không theo quy định hay tiêu chuẩn nào mà chủ yếu dựa theo kinh nghiệm người dân, nên 2 kháng sinh này đã bị *V. parahaemolyticus* kháng. Mặc khác, nghiên cứu của Nguyễn Thị Tú Anh và Võ Văn Nha (2016) về phân lập *V. parahaemolyticus* trên tôm hùm bông nuôi lồng ở Phú Yên và kiểm tra kháng sinh đồ thì cho kết quả tương đồng với nghiên cứu trên tôm TCT ở Bạc Liêu là đều cho tỷ lệ nhạy 100% với Doxycycline.

Nghiên cứu phân 17 loại kháng sinh ra làm 7 nhóm theo cấu tạo hóa học và tiến hành phân tích cụm (Cluster) để khảo sát sâu hơn về sự tương đồng trong khả năng kháng và tính nhạy 7 nhóm kháng sinh của vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Kết quả phân tích cụm thể hiện qua Bảng 2, Bảng 3, Hình 1 và Hình 2.

Hình 1 cho thấy, tỷ lệ kháng (%) của *V. parahaemolyticus* đối với nhóm Tetracycline và nhóm khác (Cotrim, Rifamycin) khác biệt với khoảng cách là gần nhau. Tỷ lệ bị kháng



Hình 1. Biểu đồ thể hiện các cụm và khoảng cách về tỷ lệ bị kháng của 7 nhóm kháng sinh.

(%) của nhóm Tetracycline với nhóm khác thì gần với nhóm β -Lactam về khoảng cách khác biệt, tuy nhiên nó lại xa hơn về khoảng cách khác biệt đối với nhóm Imidazole. Bên cạnh đó, tỷ lệ bị kháng của nhóm Aminocide và nhóm Quinolones thì gần nhau về khoảng cách khác

biệt. Mặc khác, nhóm Aminocide với nhóm Quinolones bị vi khuẩn *V. parahaemolyticus* kháng với khoảng cách khác biệt gần nhau nhưng lại xa nhau về khoảng cách khác biệt với nhóm Phenicol.

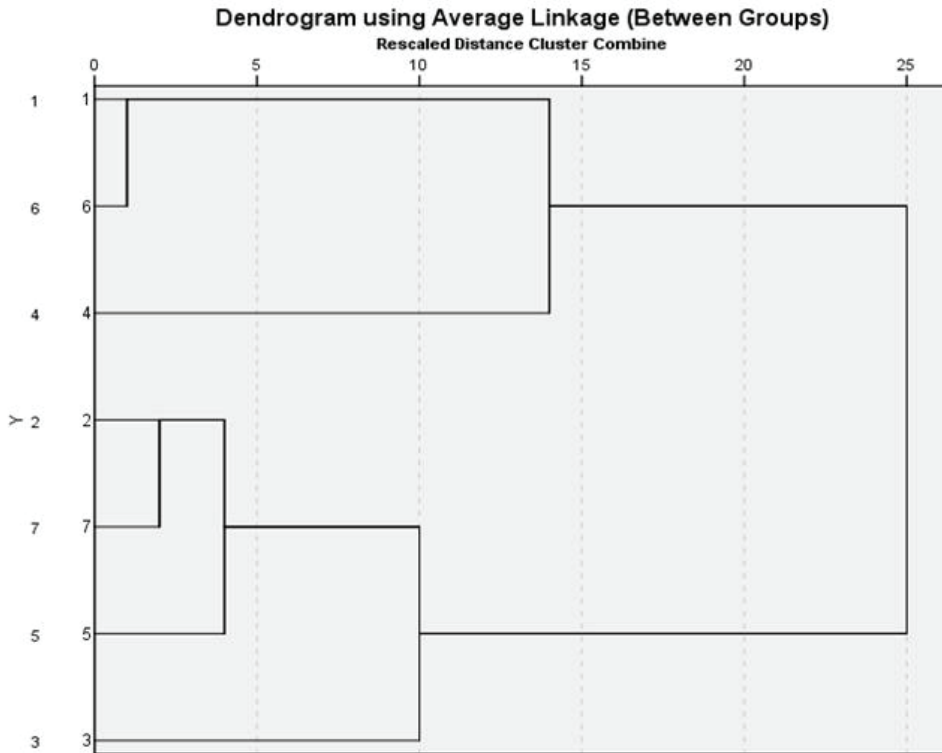
Bảng 2. Các cụm và khoảng cách về tỷ lệ bị *V. parahaemolyticus* kháng của 7 nhóm kháng sinh

Cụm (cluster)	Khoảng cách (Euclidian)	Khoảng cách [1-25]	Nhóm kháng sinh
1	0,000	1,00	1,2,(3, 7), 4, 5, 6
2	0,121	2,00	(1,3,7),2, 4,5,6
3	0,129	2,02	(1, 3, 7), (2,5),4, 6
4	0,799	10,00	(1, 3,6,7), (2,5),4
5	1,231	16,00	(1, 3, 6, 7), (2,4,5)
6	2,016	25,00	(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7)

Kết quả của sự gần nhau và xa nhau về khoảng cách của sự khác biệt trong tỷ lệ (%) bị kháng bởi *V. parahaemolyticus* của 7 nhóm kháng sinh được thể hiện rõ trên Bảng 2.

Biểu đồ ở Hình 2 cho thấy, tỷ lệ nhạy của nhóm β -Lactam và nhóm Imidazole đối với *V. parahaemolyticus* khác nhau với khoảng cách khác biệt gần nhau. Bên cạnh đó, tỷ lệ

nhạy của nhóm β -Lactam với nhóm Imidazole có khoảng cách khác biệt gần nhau và gần với nhóm Phenicol. Tỷ lệ nhạy của nhóm Aminocide và nhóm khác có khoảng cách khác biệt gần nhau. Trong đó, tỷ lệ nhạy của nhóm Aminocide với nhóm khác với nhóm Quinolones có khoảng cách khác biệt gần nhau. Nhìn chung, tỷ lệ nhạy của các nhóm



Hình 2. Biểu đồ thể hiện các cụm và khoảng cách về tỷ lệ nhạy của 7 nhóm kháng sinh.

β -Lactam, Imidazole và Phenicol thì xa nhau về khoảng cách khác biệt và không tương đồng với các nhóm Aminocide, nhóm khác, Quinolones và Tetracycline.

Kết quả của sự gần nhau và xa nhau về khoảng cách của sự khác biệt trong tỷ lệ nhạy (%) của 7 nhóm kháng sinh đối với *V. parahaemolyticus* được thể hiện rõ trên Bảng 3.

Bảng 3. Các cụm và khoảng cách về tỷ lệ nhạy của 7 nhóm kháng sinh

Cụm (cluster)	Khoảng cách (Euclidian)	Khoảng cách [1-25]	Nhóm kháng sinh
1	0,116	1,00	(1, 6), 2, 3, 4, 5, 7
2	0,226	2,00	(1,4, 6), 2, 3,5,7
3	0,346	4,00	(1, 4,6), (2,7) 3,5
4	0,687	10,00	(1, 4, 6),(2, 5,7),3
5	0,970	14,00	(1, 4, 6),(2, 3,5,7)
6	1,692	25,00	(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7)

2. Hiện trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn giữa các huyện

Hiện trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* phân lập được ở 3 huyện Hòa Bình, Giá Rai và Đông Hải của tỉnh Bạc Liêu đối với kháng sinh khảo sát được thể hiện qua Bảng 4 và Hình 5.

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy, tỷ lệ kháng của

vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được phân lập giữa 3 huyện ở tỉnh Bạc Liêu dao động từ 15,3-31,8% và khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau ($p > 0,05$). Cụ thể, *V. parahaemolyticus* phân lập ở huyện Giá Rai cho tỷ lệ kháng cao nhất với 31,8%, tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) so với 2 huyện còn lại. Ngược lại, *V. parahaemolyticus* phân lập

Bảng 4. Khả năng kháng kháng sinh của các chủng *V. parahaemolyticus* được phân lập giữa 3 huyện

Chỉ tiêu khảo sát	Các chủng <i>V. parahaemolyticus</i> phân lập ở huyện		
	Hòa Bình	Giá Rai	Đông Hải
Tỷ lệ kháng sinh bị kháng (%)	15,3±5,82 ^a	31,8±7,49 ^a	17,7±5,39 ^a
Tỷ lệ kháng sinh nhạy (%)	63,5±6,91 ^a	51,8±7,87 ^a	68,2±7,68 ^a

Ghi chú: Số liệu trong bảng là giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Các số liệu trong cùng một hàng có chứa các ký tự chữ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

ở huyện Hòa Bình thì có tỷ lệ kháng thấp nhất với 15,3% và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) so với 2 huyện còn lại. Nguyên nhân do các huyện nằm gần nhau, điều kiện khí hậu giống nhau và nguồn nước nuôi tôm lấy cùng chung một hệ thống dòng chảy tại các con sông nhỏ nên vi khuẩn di chuyển theo dòng chảy trong hệ thống có khả năng kháng tương tự nhau.

Tỷ lệ nhạy của kháng sinh đối với *V. parahaemolyticus* được phân lập giữa 3 huyện dao động từ 51,8-68,2%. Trong đó, các kháng sinh khảo sát với các chủng *V. parahaemolyticus* được phân lập ở huyện Đông Hải cho tỷ lệ nhạy cao nhất với 68,2% và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) so với 2 huyện còn lại. Ngược lại, các kháng sinh được khảo sát với các chủng *V. parahaemolyticus* được phân lập ở huyện huyện Giá Rai cho tỷ lệ nhạy thấp nhất với 51,8% và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) so với các huyện khác. Kết quả cho thấy, có nhiều loại kháng sinh có tỷ lệ nhạy cao với *V. parahaemolyticus* như Streptomycine, Doxycycline và Florphenicol. Do đó, các kháng sinh này được đề xuất sử dụng để trị bệnh trên tôm TCT tại Bạc Liêu. Tuy nhiên, người nuôi

tôm chỉ sử dụng các loại kháng sinh này khi thật cần thiết và phải tuân thủ nghiêm ngặt các quy định của nhà nước và những khuyến cáo của các nhà khoa học chuyên môn về sử dụng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

Vibrio parahaemolyticus phân lập được từ các hệ thống nuôi tôm thẻ chân trắng ở Bạc Liêu có tỷ lệ kháng cao nhất với Apramycin (73,3%) và nhạy cao nhất (100%) với Doxycycline và Chloramphenicol.

Tỷ lệ kháng kháng sinh và nhạy kháng sinh của các chủng *V. parahaemolyticus* được phân lập ở 3 huyện Hòa Bình, Đông Hải và Giá Rai của tỉnh Bạc Liêu khác biệt không có ý nghĩa với nhau.

2. Kiến nghị

Người nuôi tôm thẻ chân trắng ở Bạc Liêu nên dừng sử dụng Apramycin, Enrofloxacin và Chloramphenicol trong việc phòng và điều trị các bệnh do *V. parahaemolyticus* gây ra trên tôm nuôi.

Streptomycine, Doxycycline và Florphenicol là những kháng sinh được khuyến cáo dùng để điều trị một số bệnh cho tôm thẻ chân trắng nuôi ở Bạc Liêu do *V. parahaemolyticus* gây ra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

- Bộ Nông Nghiệp và phát triển Nông thôn, 2012. Thông tư số 03/2012/TT-BNNPTNT ban hành ngày 16/01/2012 về việc sửa đổi, bổ sung Thông tư số 15/2009/TT – BNN ngày 17/3/2009 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn ban hành Danh mục thuốc, hóa chất, kháng sinh cấm sử dụng, hạn chế sử dụng trong sản xuất, kinh doanh thủy sản.

2. 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.
3. 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, số 2 – 2016.
4. Trương Thị Mỹ Hạnh, Phạm Thị Yến, 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, trang 57-64.
5. Vũ Đình Tôn, Phạm Kim Đăng, Phan Đăng Thắng, Đỗ Thúy Nga, Heiman Wertheim và Marie – Louise Scippo, 2012. Giám sát sử dụng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản nước ngọt ở Việt Nam. Trường Đại học Nông Nghiệp Hà Nội.

Tiếng Anh

6. Bauer A. W., Kirby M. D., Sherris J. C., Turck, M., 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. American Journal of Clinical Patholog. Volume 45, April 1966, Pages 493-496.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2016. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests of bacteria isolated from aquatic animals; approve standard, third edition, M31A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, NJ.
8. Lightner D.V., C. R.Redman, B. L.Pantoja, L. M.Noble, L. Nunan, Loc Tran, 2013. Documentation of an Emerging Disease (Early Mortality Syndrome) in SE Asia & Mexico. 1-52.
9. Nirunya, B., C. Suphitchaya and H. Tipparat, 2008. Screening of lactic acid bacteria from gastrointestinal tracts of marine fish for their potential use as probiotics. Journal of Science Technology. 30. 141-148.

Website

10. Tổng cục Thủy Sản, 2016. “Bản tin thủy sản”. Ngày truy cập, 5/1/2019. https://tongcucthuysan.gov.vn/portals/0/3_11_2016/ban-tin-thuy-san.pdf.