

TÍNH KHÁNG KHÁNG SINH CỦA *Vibrio* spp. PHÂN LẬP TỪ NƯỚC NUÔI THỦY SẢN Ở MỘT SỐ KHU VỰC MIỀN BẮC VIỆT NAM

Ngô Thị Huyền¹, Vũ Xuân Nghị², Lê Đặng Lâm Oanh², Đặng Lê Quỳnh², Lê Thị Tuyết Mai²,
Phạm Thị Tâm³, Đồng Văn Quyền¹, Vũ Thị Bích Huyền^{2,*}

¹ Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

² Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 136 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³ Trường Đại học Mở Hà Nội, B101 Nguyễn Hiền, Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Vũ Thị Bích Huyền <huyenvtb@hnue.edu.vn>
(Ngày nhận bài: 12-08-2022; Ngày chấp nhận đăng: 09-09-2022)

Tóm tắt. Kháng kháng sinh là một vấn đề nghiêm trọng mang tính chất toàn cầu, đặc biệt là trong nuôi trồng thủy sản. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành đánh giá tính kháng kháng sinh của *Vibrio* spp. phân lập từ nước nuôi thủy sản tại vùng nuôi tôm, cá của năm tỉnh miền Bắc Việt Nam. Đã có 86 mẫu vi khuẩn được phân lập bao gồm bốn loài *Vibrio* sp. trong đó phổ biến là *V. parahaemolyticus* và *V. alginolyticus* trên môi trường chọn lọc TCBS và ChroMagar™ *Vibrio*. Các mẫu vi khuẩn này đã được sử dụng để đánh giá tính kháng của chúng đối với 13 loại kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch theo tiêu chuẩn CLSI. Kết quả cho thấy các mẫu này có tỉ lệ kháng rất cao với ampicillin (100%), amoxicillin (98,84%), streptomycin (84,88%), oxytetracycline (69,77%) và tỉ lệ kháng thấp nhất với nhóm kháng sinh phenicol bao gồm chloramphenicol (32,56%) và florfenicol (31,4%). Chỉ số đa kháng (MAR) được ghi nhận từ 0,15 đến 1,0; hai mẫu vi khuẩn kháng với tất cả 13 loại kháng sinh. Các vi khuẩn phân lập từ năm khu vực thu mẫu nước nuôi thủy sản đều có tỉ lệ kháng 100% từ bốn đến tám loại kháng sinh. Kết quả này cho thấy rằng có mối liên hệ giữa tính kháng kháng sinh ở các chủng vi khuẩn với việc sử dụng kháng sinh trong nuôi thủy sản hiện nay và đây là một trong những cơ sở quan trọng để xây dựng các chiến lược và kế hoạch sử dụng và kiểm soát thuốc kháng sinh trong nuôi thủy sản tại các địa phương.

Từ khóa: *Vibrio* spp., MAR, nước nuôi thủy sản, tính kháng kháng sinh

Antibiotics resistance of *Vibrio* spp. isolated from aquaculture water in some areas of Northern Vietnam

Ngô Thị Huyền¹, Vũ Xuân Nghị², Lê Đặng Lâm Oanh², Đặng Lê Quỳnh², Lê Thị Tuyết Mai²,
Phạm Thị Tâm³, Đồng Văn Quyền¹, Vũ Thị Bích Huyền^{2,*}

¹ Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet St., Cau Giay, Ha Noi, Vietnam

² Hanoi National University of Education, 136 Xuan Thuy St., Cau Giay, Ha Noi, Vietnam

³ Hanoi Open University, B101 Nguyen Hien St., Hai Ba Trung, Ha Noi, Vietnam

* Correspondence to Vu Thi Bich Huyen <huyenvtb@hnue.edu.vn>
(Received: 12 August 2022; Accepted: 09 September 2022)

Abstract. Antibiotic resistance is a serious global problem, especially in aquaculture. In this study, we evaluated the antibiotic resistance of *Vibrio* spp. isolated from aquaculture water in shrimp and fish farming areas of five provinces of Northern Vietnam. There were 86 bacterial samples isolated, belonging to four species of *Vibrio* sp., in which *V. parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* were the two most widespread species on selective TCBS và ChroMagar™*Vibrio* media. These bacterial samples were used to evaluate their resistance to 13 antibiotics with the agar plate diffusion method according to CLSI standards. The results show that these samples have a very high rate of resistance to ampicillin (100%), amoxicillin (98.84%), streptomycin (84.88%), and oxytetracycline (69.77%); the lowest resistance rate is to phenicol antibiotics: chloramphenicol (32.56%) and florfenicol (31.4%). The multiple antibiotic resistance (MAR) indices were recorded from 0.15 to 1.0. Two isolates were resistant to all 13 antibiotics. The bacterial isolates from aquaculture water of the five areas have a high resistant rate (100%) from four to eight antibiotics. This result suggests a relationship between antibiotic resistance of the bacterial strains and the current use of antibiotics in aquaculture, and this is one of the important bases for developing strategies and plans on the use and control of antibiotics in aquaculture in the localities.

Keywords: *Vibrio* spp., MRA, aquaculture water, antibiotic resistance

1 Mở đầu

Vibrio spp. thuộc nhóm vi khuẩn gram âm, họ Vibrionaceae và là tác nhân gây bệnh phổ biến trên các loài động vật thủy sản, ảnh hưởng nghiêm trọng đến ngành nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam cũng như trên thế giới [1]. Trong đó, phải kể đến các vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. harveyi*, v.v., các tác nhân gây bệnh phổ biến [1]. Để điều trị các bệnh do *Vibrio* spp. gây ra cho động vật thủy sản, sử dụng kháng sinh là một trong những phương pháp phổ biến mà người dân lựa chọn. Mặc dù kháng sinh mang lại hiệu quả trị bệnh cũng như tiết kiệm được chi phí trong nuôi trồng thủy sản, nhưng việc sử dụng kháng sinh với tần suất cao và không được kiểm soát đã làm tăng số lượng các vi khuẩn kháng kháng sinh trong các ao hồ nuôi [2].

Trong thực tế, các nghiên cứu gần đây cho thấy hiện tượng kháng nhiều loại kháng sinh của *Vibrio* spp. phân lập từ mẫu nước và mô của các động vật thủy sản. Manjusha và cs. [3] đánh giá tính kháng 22 loại kháng sinh của 119 mẫu *Vibrio* spp. phân lập từ nước nuôi thủy sản và mô của tôm, trai và cá ở Kerala (Ấn Độ). Trong số 83,19% loài vi khuẩn kháng kháng sinh, 30,3% kháng với 3 loại kháng sinh; 55,5% kháng với 4–10 loại kháng sinh; 14,14% kháng với hơn 10 loại

kháng sinh và 54% vi khuẩn có biểu hiện đa kháng. Tỷ lệ kháng cao đối với amoxycillin 10 µg, ampicillin 10 µg, carbencillin 100 µg và cefuroxime 30 µg. Trong năm 2013, 30 mẫu *Vibrio* spp. phân lập từ động vật thân mềm và giáp xác tại vùng ven biển Kerala (Ấn Độ) đều kháng 100% với amoxycillin, ampicillin và carbenicillin; 87% kháng với rifampicin; 74% kháng với cefuroxime; 67% kháng với streptomycin; 53% kháng với norfloxacin và ciprofloxacin và 47% kháng với furazolidone và acid nalidixic [4]. Zulkifli và cs. [5] phân lập 32 mẫu *V. parahaemolyticus* từ sò huyết tại Padang, Indonesia. Tất cả các mẫu đều kháng ít nhất ba loại kháng sinh; chỉ số đa kháng (MAR) từ 0,31 đến 0,69. Tại Ecuador, 219 mẫu *Vibrio* spp. đã được phân lập từ mẫu tôm bán ở chợ và khu nuôi tại Cuencabao gồm *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. cholerae* và *V. vulnificus*. Trong đó, *V. parahaemolyticus* kháng ampicillin (92,2%), tetracycline (51,2%) và amikacin (22,1%); *V. alginolyticus* được đánh giá có tính kháng kháng sinh; *V. cholerae* và *V. vulnificus* có xu hướng nhạy cảm hơn với kháng sinh [6]. Tính kháng kháng sinh cũng được De Silva và cs. [7] ghi nhận ở 97% mẫu *Vibrio* spp. phân lập từ sò điệp (*Patinopecten yessoensis*) bán trên thị trường ở Hàn Quốc; trong đó tỷ lệ kháng cao đối với ampicillin, colistin, vancomycin và cephalothin; 73% số vi khuẩn đa kháng (MAR > 0,2). Abdalla và cs. [8] đã đánh giá

tính kháng kháng sinh của *Vibrio* spp. phân lập từ cá và động vật có vỏ được bán ở Các tiểu Vương quốc Ả rập Thống nhất. Kết quả cho thấy không có loại kháng sinh nào trong số sáu loại kháng sinh được nghiên cứu (trừ sulfamethoxazole-trimethoprim) có hiệu quả với vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập từ cá và ba loại kháng sinh (penicillin, daptomycin và vancomycin) không hiệu quả đối với các mẫu phân lập từ động vật có vỏ.

Ở Việt Nam, Trương Thị Mỹ Hạnh và cs. [9] phân lập 9 chủng *V. parahaemolyticus* từ tôm bị bệnh AHPND tại Quỳnh Lưu, Nghệ An. Tại đây, việc điều tra trên 34 hộ nuôi cho thấy có ít nhất 10 loại kháng sinh đã được các hộ nuôi sử dụng với hai hình thức là cho ăn và hòa tan trong nước. Chín chủng *V. parahaemolyticus* kháng ampicillin 30 µg (100%), neomycin 30 µg (90,09%), erythromycin 15 µg (66,7%) và tetracycline 30 µg (55,6%). Trong đó, 33,3% số chủng kháng với bốn loại kháng sinh; 22,2% số chủng kháng với sáu loại kháng sinh và 11,1% số chủng kháng với năm loại kháng sinh. Nguyễn Công Tráng và cs. [10] đánh giá tính kháng kháng sinh của các chủng *V. parahaemolyticus* phân lập từ bùn ao, nước ao, nước sông và từ tôm bệnh với 17 loại kháng sinh. Kết quả cho thấy apramycin là kháng sinh bị kháng nhiều nhất với tỉ lệ 73,3%. Tương tự, Huỳnh và cs. [11] đánh giá trên 133 mẫu *Vibrio* spp. phân lập từ mẫu tôm tại thành phố Hồ Chí Minh bao gồm *V. parahaemolyticus*, *V. navarrensis*, *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. vulnificus*, và *V. fluvialis* với 12 loại kháng sinh. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỉ lệ kháng ở các mẫu phân lập là 82,7% đối với ampicillin, 18,8% đối với sulfamethoxazole, 17,3% đối với cephalosporins và 16,5% đối với cefotaxime. Hồ Khánh Duy và cs. [12] đã sử dụng 24 loại kháng sinh để đánh giá tính kháng của 240 mẫu *Vibrio* spp. phân lập từ tôm thẻ chân trắng và mẫu nước ao nuôi tại các tỉnh Long An, Bến Tre, Bạc Liêu và thành phố Hồ Chí Minh và tôm giống tại Bạc Liêu và Ninh Thuận. Các mẫu vi khuẩn này đều kháng với một loại kháng sinh (penicillin),

95% số mẫu kháng với bốn loại kháng sinh, trên 50% số mẫu kháng trên 10 loại kháng sinh. Đặc biệt là trong các mẫu này có một chủng kháng với 21 loại kháng sinh thử nghiệm và không có chủng nào nhạy với 24 loại kháng sinh thử nghiệm. Chỉ số đa kháng MAR của vi khuẩn phân lập từ tôm ở Ninh Thuận và Bạc Liêu là 0,519 và 0,487. Nhóm tác giả nhận định người nuôi ở đây sử dụng nhiều loại kháng sinh trong quá trình nuôi.

Manjusha và cs. [3] khi đánh giá tính kháng kháng sinh của các mẫu vi khuẩn phân lập từ các nguồn khác nhau (nguồn nước nuôi thủy sản và mô của động vật thủy sản) nhận thấy mối tương quan thuận giữa tính kháng kháng sinh của mẫu vi khuẩn phân lập từ hai nguồn này. Kết quả nghiên cứu của Hồ Khánh Duy và cs. [12] cũng phản ánh mối tương quan tương tự. Như vậy, có thể nhận định rằng các vi khuẩn kháng kháng sinh có trong nước nuôi thủy sản có thể xâm nhập vào cơ thể động vật thủy sản trong quá trình nuôi chúng trong ao nuôi. Bên cạnh đó, Nguyễn Kim Hạnh và cs. [13] đã chỉ ra rằng có sự tương đồng giữa tính kháng kháng sinh của các mẫu vi khuẩn phân lập từ nước nuôi thủy sản với vi khuẩn phân lập từ các trầm tích quanh khu vực nuôi. Như vậy, có thể nhận thấy việc đánh giá tính kháng kháng sinh của chủng vi khuẩn phân lập từ nước nuôi thủy sản có thể là một trong những dẫn liệu quan trọng để dự đoán khả năng phát sinh các chủng kháng kháng sinh trong mô động vật thủy sản cũng như khả năng các chủng kháng này có thể tồn tại lâu dài ở trầm tích quanh khu vực nuôi, gây khó khăn cho việc kiểm soát, tiêu diệt nguồn vi khuẩn kháng kháng sinh này. Tuy nhiên, những nghiên cứu đánh giá tính kháng kháng sinh của *Vibrio* spp. từ nguồn nước nuôi thủy sản khu vực miền Bắc Việt Nam còn hạn chế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập chủng *Vibrio* spp. từ nước nuôi thủy sản của một số khu vực thuộc năm tỉnh miền Bắc Việt Nam và đánh giá tính kháng của chúng đối với 13 loại kháng sinh. Kết quả nghiên cứu là cơ sở để xây dựng các chiến lược, kế hoạch sử dụng

và kiểm soát thuốc kháng sinh trong nuôi thủy sản tại các địa phương.

2 Phương pháp

2.1 Vật liệu

Mẫu nước nuôi thủy sản (tôm/cá) thu được ở năm khu vực thuộc năm tỉnh phía Bắc Việt Nam: xã Giao Phong, Giao Thủy, Nam Định; phường Tràng Cát, Hải An, Hải Phòng; xã Hạ Long, Vân Đồn, Quảng Ninh; xã Kim Trung, Kim Sơn, Ninh

Bình và xã Thái Thượng, Thái Thủy, Thái Bình, vào tháng 10-2021. Tại khu vực lấy mẫu, nước được thu tại năm vị trí khác nhau trong một ao đang nuôi thâm canh tôm/cá và đựng trong ống fancel đã được khử trùng với dung tích 50 mL. Lấy mẫu nước cách tầng mặt nước khoảng 20–30 cm. Ống fancel được nhúng trực tiếp vào nước để lấy mẫu và lấy từ 8–10 ao nuôi tại mỗi khu nuôi thủy sản. Các ống fancel chứa mẫu nước nuôi được vận chuyển về phòng thí nghiệm khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, trong vòng 24 giờ và được phân lập sau 48 giờ thu mẫu.



Hình 1. Bản đồ vị trí thu mẫu nước nuôi thủy sản

Ghi chú: 1: Kim Trung, Kim Sơn, Ninh Bình (19°57'21.4"N 106°02'24.2"E); 2: Giao Phong, Giao Thủy, Nam Định (20°12'18.0"N 106°23'50.2"E); 3: Thái Thượng, Thái Thủy, Thái Bình (20°33'15.5"N 106°34'52.1"E); 4: Tràng Cát, Hải An, Hải Phòng 20°48'27.1"N 106°43'48.5"E ; 5: Hạ Long, Vân Đồn, Quảng Ninh 21°05'26.0"N 107°28'00.1"E

2.2 Phân lập *Vibrio* spp. từ nước nuôi thủy sản

Mẫu nước (10 mL/mẫu) sau khi ly tâm 10.000 vòng/phút, thu dịch lấy 100–150 μ L và cấy trải trên môi trường chọn lọc thiosulfate citrate bile sucross agar (TCSB) và nuôi trong tủ ấm ở 27 °C theo Alipour và cs. [14]. Sau 18–24 h nuôi cấy, tiến hành đánh giá và chọn lọc khuẩn lạc dựa trên đặc điểm hình thái. Trên môi trường chọn lọc TCBS, tuyển chọn những khuẩn lạc có hình thái đặc trưng của *Vibrio* spp. và cấy ria trên môi trường

ChroMagar™*Vibrio* ở 27°C trong 18–24 h, phân tích hình thái khuẩn lạc trên các môi trường chọn lọc. Với môi trường TCBS, chủng *V. parahaemolyticus* có màu xanh có tâm xanh đậm; *V. alginolyticus* có khuẩn lạc lớn và màu vàng; *V. cholerae* khuẩn lạc vàng phẳng đường kính 2–3 mm và *V. vulnificus* có khuẩn lạc màu vàng hoặc trắng mờ. Trên môi trường ChroMagar™*Vibrio*, *V. parahaemolyticus* có màu tím hoa cà; khuẩn lạc của *V. alginolyticus* màu trắng/không màu; *V. vulnificus* và *V. cholerae* có màu xanh lá đến xanh lam.

2.3 Đánh giá hình thái và chỉ tiêu sinh hóa của *Vibrio* spp.

Tiến hành cấy chuyển các khuẩn lạc đã chọn lọc sang môi trường Luria Bertani Agar (LB Agar) bổ sung 1% NaCl trong 24 h ở 27 °C. Hình thái của các mẫu vi khuẩn được quan sát bằng phương pháp nhuộm gram và đánh giá các chỉ tiêu sinh hóa bao gồm khả năng lên men, sinh indol, sinh catalase, khả năng di động, sinh khí và sinh H₂S theo phương pháp của Trần Linh Thuộc [15].

2.4 Đánh giá tính kháng kháng sinh của *Vibrio* spp.

Vi khuẩn được cấy trải trên môi trường LB agar bổ sung 1% NaCl với thể tích 50 µL/đĩa thạch với nồng độ 10⁶ CFU/mL. Mười ba loại kháng sinh được sử dụng trong nghiên cứu này là những kháng sinh thường được sử dụng trong nuôi thủy sản và đánh giá tính kháng của các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. bao gồm: ceftiofur 30 µg (EFT30), amoxicillin 10 µg (AML10), streptomycin 10 µg (S10), enrofloxacin 5 µg (ENR5), doxycycline 30 µg (DO30), chloramphenicol 30 µg (C30), amikacin 30 µg (AK30), florfenicol 30 µg (FFC30), aztreonam 30 µg (ATM30), ciprofloxacin 5 µg (CIP5), ampicillin 25 µg (AM25), rifampicin 10 µg (RA10) và oxytetracycline 30 µg (OTC30) (Hãng Mast Diagnostics, England). Các đĩa giấy (đường kính 6 mm) được đặt trên bề mặt môi trường nuôi khuẩn. Vi khuẩn được ủ ở 27 °C trong 48 h. Thí nghiệm được lặp lại ba lần.

Đánh giá đường kính vòng vô khuẩn theo tiêu chí của Clinical and Laboratory [16] : đường kính ≥ 20 mm là nhạy cảm (S) với kháng sinh; 15–19 mm là kháng trung bình (I) với kháng sinh và <14 mm là kháng kháng sinh (R). Chỉ số MAR là tỷ số giữa số lượng kháng sinh mà một sinh vật kháng với tổng số kháng sinh mà sinh vật đó tiếp xúc $MAR = a/b$ [17, 18]. Trong đó, *a* là số lượng kháng sinh một sinh vật kháng; *b* là tổng số kháng sinh sử dụng đánh giá. Chỉ số đa kháng MAR ≥ 0,2 cho

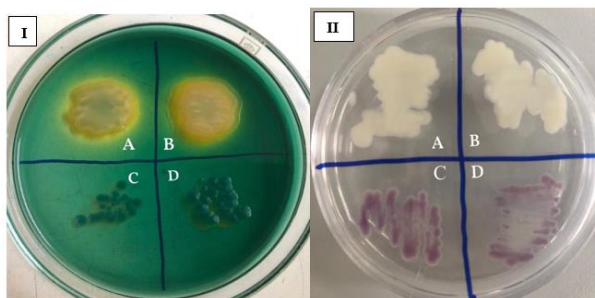
thấy tại khu vực thu mẫu kháng sinh thường được sử dụng.

3 Kết quả và thảo luận

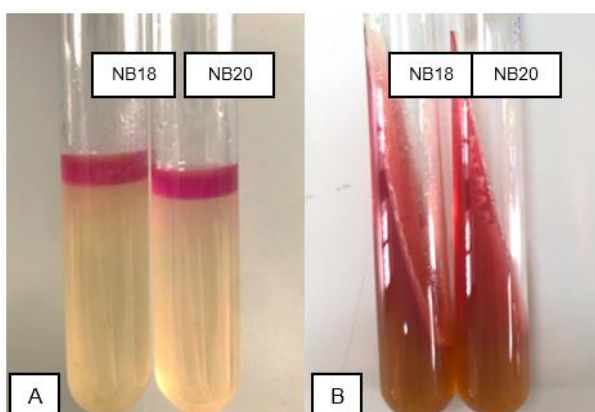
3.1 Kết quả phân lập vi khuẩn từ mẫu nước nuôi thủy sản

Tiến hành phân lập trên môi trường chọn lọc TCBS và môi trường ChroMagar™*Vibrio*, chúng tôi tuyển chọn được 86 mẫu vi khuẩn. Dựa trên đặc điểm hình thái và kích thước khuẩn lạc (Hình 2), bước đầu chúng tôi xác định được 41 mẫu *V. parahaemolyticus* (47,67%), 39 mẫu *V. alginolyticus* (45,53%), 4 mẫu *V. cholerae* (4,65%) và 2 mẫu *V. vulnificus* (2,33%). Trong đó, Giao Phong, Giao Thủy, Nam Định, có 21 mẫu (chiếm 24,42%, bao gồm 10 mẫu *V. parahaemolyticus*, 10 mẫu *V. alginolyticus* và 1 mẫu *V. cholerae*), Trảng Cát, Hải An, Hải Phòng, có 7 mẫu (chiếm 8,13%, bao gồm 2 mẫu *V. parahaemolyticus*, 1 mẫu *V. alginolyticus*, 3 mẫu *V. cholerae*, 1 mẫu *V. vulnificus*), phường Hạ Long, Vân Đồn, Quảng Ninh, có 21 mẫu (chiếm 24,42%, bao gồm 10 mẫu *V. parahaemolyticus*, 10 mẫu *V. alginolyticus*, 1 mẫu *V. vulnificus*), xã Kim Trung, Kim Sơn, Ninh Bình, có 32 mẫu (chiếm 37,21%, bao gồm 16 mẫu *V. parahaemolyticus*, 16 mẫu *V. alginolyticus*,) và xã Thái Thượng, Thái Thụy, Thái Bình, có 5 mẫu (chiếm 5,82%, bao gồm 3 mẫu *V. parahaemolyticus*, 2 mẫu *V. alginolyticus*). Tất cả các mẫu vi khuẩn phân lập được đều là vi khuẩn gram âm; hình dấu phẩy phù hợp với đặc điểm của *Vibrio* spp.

Khi đánh giá đặc điểm sinh hoá của các mẫu vi khuẩn phân lập được (Hình 3), chúng tôi nhận thấy tất cả mẫu vi khuẩn phân lập này đều có một số đặc điểm đặc trưng của *Vibrio* spp. Cụ thể là có khả năng lên men đường glucose, không có khả năng lên men đường lactose, có khả năng di động, có khả năng sinh indole, sinh catalase, không sinh H₂S và không sinh khí. Kết quả này một lần nữa chứng minh được 86 mẫu vi khuẩn phân lập được thuộc *Vibrio* spp.



Hình 2. Hình thái khuẩn lạc *Vibrio* spp. trên môi trường TCBS (I) và Chromagar™*Vibrio* (II)
A: *V. alginolyticus* TB3; B: *V. alginolyticus* QN36; C: *V. parahaemolyticus* NB21; D: *V. parahaemolyticus* ND22



Hình 3. Đặc điểm sinh hóa của mẫu phân lập của hai mẫu NB18 và NB 20
Phản ứng với thuốc thử Kovacs do vi khuẩn sinh indole (A); Vi khuẩn lên men glucose trên môi trường KIA (B)

Huỳnh Ngọc Trường và cs. [19] đã tiến hành phân lập vi khuẩn với 161 mẫu nước nuôi thủy sản và 82 mẫu thủy sản thương phẩm tại Cái Bè, Tiền Giang, và xác định được 8 loài vi khuẩn *Vibrio* sp. Số lượng các mẫu vi khuẩn thuộc *V. parahaemolyticus*, *V. minmicus* và *V. alginolyticus* là lớn nhất. Các chủng đều âm tính với phản ứng sinh khí, và phản ứng lactase trừ *V. vulnificus*; dương tính với phản ứng oxidase và phản ứng sinh indole. Trên 30 mẫu tôm thẻ chân trắng thu thập tại các ao muối tôm ở Ninh Thuận, Dư Ngọc Tuấn và cs. [20] đã phân lập được 56 mẫu *Vibrio* spp. Các mẫu vi khuẩn phân lập trên môi trường TCBS được đánh giá bằng các chỉ tiêu sinh hóa đều có khả năng sinh catalase, khả năng di động, lên men đường glucose, không sinh H₂S và không sinh indole. Vũ Thị Bích Huyền và cs. [21] đã phân lập được chủng *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan thận cho cá mú nuôi lồng tại Cát Bà, Hải

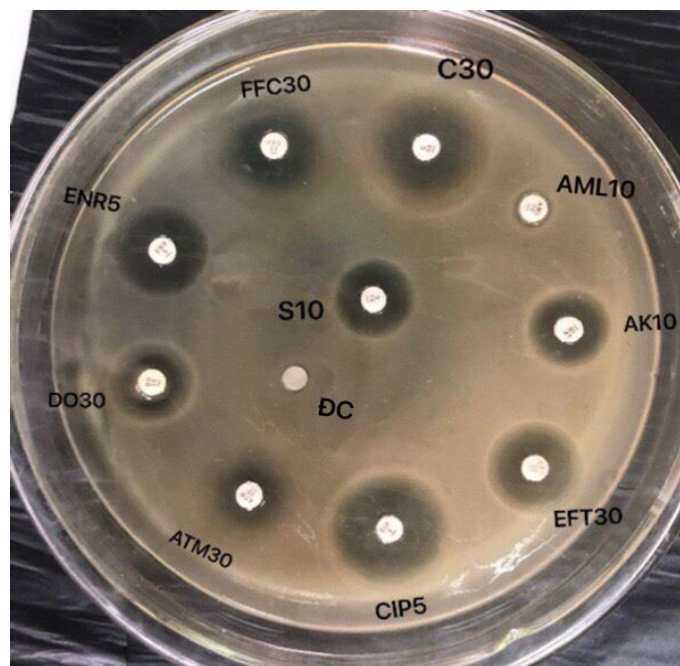
Phòng, với các đặc điểm sinh hóa như không lên men lactose, lên men glucose, không sinh khí, không sinh H₂S, có khả năng di động, sinh indole, sinh catalase và khả năng dung huyết dạng β. Như vậy, tỷ lệ xuất hiện của *Vibrio* spp. trong mẫu nước nuôi hoặc mô động vật thủy sản là rất phổ biến, đặc biệt là chủng *V. parahaemolyticus* và *V. alginolyticus*. Các chủng *Vibrio* spp. phân lập được trong nghiên cứu này cũng có những đặc điểm sinh hóa tương đồng với các công bố trước đó của các tác giả.

3.2 Đánh giá khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập

Tất cả các mẫu *Vibrio* spp. phân lập (86 mẫu) được đánh giá tính kháng với 13 loại kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Các đặc tính kháng kháng sinh của vi khuẩn và chỉ số đa kháng MAR được trình bày trên Hình 4, Hình 5 và

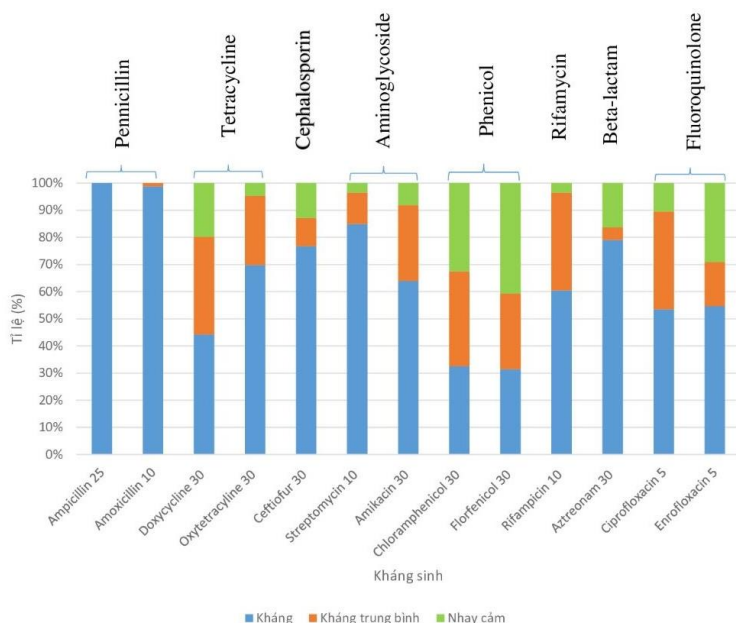
Bảng 1. Hai kháng sinh penicillin bao gồm amoxicillin 10 μg và ampicillin 25 μg có tỉ lệ vi khuẩn kháng khá cao (98,84 và 100%). Kháng sinh phenicol bao gồm chloramphenicol 30 μg và florfenicol 30 μg có tỉ lệ kháng thấp nhất (32,56 và 31,4%). Nhóm kháng sinh tetracycline xác định tính kháng mẫu vi khuẩn phân lập đạt 44,19% với doxycycline 30 μg và 69,77% với oxytetracycline 30 μg . Streptomycin 10 μg và amikacin 30 μg thuộc nhóm kháng sinh aminoglycoside có tỉ lệ kháng kháng sinh ở các vi khuẩn phân lập là 84,88 và 63,95%. Trong khi đó hai loại kháng sinh thuộc nhóm fluroquinolone (ciprofloxacin 5 μg và enrofloxacin 5 μg) có tỉ lệ kháng với các vi khuẩn phân lập khá tương đồng nhau (53,49 và 54,65%). Ceftiofur 30 μg , rifampicin 10 μg , aztreonam 30 μg có tỉ lệ kháng vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập lần lượt là 76,74, 60,47 và 79,07%. *Vibrio* spp. phân lập tại

một số khu vực vùng nuôi thủy sản miền Bắc Việt Nam có tỉ lệ kháng rất cao với ampicillin 25 (100%), amoxicillin (98,84%), streptomycin (84,88%) và oxytetracycline (69,77%). Kết quả của nghiên cứu này khá tương đồng với một số kết quả đã công bố trước đó. Manjusha và cs. cho thấy 30 mẫu *Vibrio* spp. được phân lập từ động vật thân mềm và giáp xác tại vùng ven biển Kerala (Ấn Độ) đều kháng 100% với amoxycillin và ampicillin và 67% kháng với streptomycin [4]. Tại Ecuador, *V. parahaemolyticus* phân lập từ mẫu tôm bán ở chợ và khu nuôi tại Cuenca kháng ampicillin (92,2%) và tetracycline (51,2%) [6]. Chính chủng *V. parahaemolyticus* phân lập từ tôm ở Nghệ An kháng ampicilline 30 μg (100 %) và tetracycline 30 μg (55,6%) [9]. Đánh giá trên 133 mẫu *Vibrio* spp. phân lập từ mẫu tôm tại thành phố Hồ Chí Minh cho thấy tỉ lệ kháng 82,7% đối với ampicillin [11].



Hình 4. Đường kính vòng kháng khuẩn ở một số loại kháng sinh của vi khuẩn TB3

Ghi chú: EFT30 (ceftiofur 30 μg), AML10 (amoxicillin 10 μg), S10 (streptomycin 10 μg), ENR5 (enrofloxacin 5 μg), DO30 (doxycycline 30 μg), C30 (chloramphenicol 30 μg), AK30 (amikacin 30 μg), FFC30 (florfenicol 30 μg), ATM30 (aztreonam 30 μg), CIP5 (ciprofloxacin 5 μg)



Hình 5. Tính kháng của các mẫu *Vibrio* spp. phân lập

Chỉ số đa kháng MAR của 86 mẫu vi khuẩn phân lập được ghi nhận từ 0,15 (mẫu NB 41) đến 1,0 (mẫu QN14 và ND13). Trong đó, 85/86 (98,83%) mẫu vi khuẩn phân lập có chỉ số MAR > 0,2; hai mẫu vi khuẩn QN4 và ND13 kháng với tất cả 13 loại kháng sinh. Zulkifli Y và cs. [5] ghi nhận 32 mẫu *V. parahaemolyticus* đều kháng ít nhất ba loại

kháng sinh; chỉ số đa kháng MAR từ 0,31 đến 0,69. Tính kháng kháng sinh cũng được De Silva và cs. [7] ghi nhận, tương ứng với 73% số vi khuẩn *Vibrio* spp. đa kháng (MAR > 0,2) phân lập từ sò điệp (*Patinopecten yessoensis*) bán trên thị trường ở Hàn Quốc.

Bảng 1. Tỷ lệ MAR của các mẫu *Vibrio* spp. phân lập

Mẫu	MAR	Mẫu	MAR	Mẫu	MAR	Mẫu	MAR
QN4	1,00	NB2	0,54	NB33	0,77	ND14	0,69
QN6	0,85	NB5	0,54	NB34	0,77	ND15	0,54
QN9	0,77	NB6	0,69	NB35	0,85	ND16	0,46
QN10	0,92	NB9	0,85	NB37	0,62	ND17	0,54
QN14	0,92	NB10	0,46	NB38	0,38	ND19	0,46
QN18	0,85	NB12	0,92	NB39	0,69	ND20	0,46
QN19	0,77	NB14	0,62	NB40	0,69	ND23	0,92
QN20	0,23	NB15	0,92	NB41	0,15	ND24	0,62
QN21	0,54	NB16	0,23	NB42	0,62	ND26	0,92
QN22	0,92	NB17	0,54	ND1	0,46	TB1	0,69
QN23	0,85	NB18	0,77	ND2	0,85	TB2	0,92
QN27	0,85	NB20	0,85	ND3	0,85	TB3	0,31
QN28	0,31	NB21	0,69	ND4	0,62	TB4	0,31

Mẫu	MAR	Mẫu	MAR	Mẫu	MAR	Mẫu	MAR
QN29	0,54	NB22	0,69	ND5	0,69	TB5	0,38
QN30	0,54	NB23	0,77	ND6	0,69	HP1	0,69
QN31	0,54	NB24	0,31	ND7	0,69	HP2	0,69
QN32	0,69	NB25	0,77	ND9	0,62	HP3	0,54
QN33	0,77	NB26	0,92	ND10	0,38	HP4	0,77
QN36	0,85	NB27	0,85	ND11	0,54	HP5	0,31
QN37	0,54	NB28	0,69	ND12	0,77	HP6	0,46
QN39	0,38	NB30	0,85	ND13	1,00	HP8	0,62
NB1	0,46	NB32	0,69				

Đối với 13 loại kháng sinh thử nghiệm, cả năm khu vực thu mẫu đều có tỉ lệ kháng 100% với ít nhất bốn loại kháng sinh: phường Hạ Long (Quảng Ninh) 8/13 loại kháng sinh, phường Tràng Cát (Hải Phòng) 7/13 loại kháng sinh, xã Thái Thượng (Thái Bình) 6/18 loại kháng sinh, xã Kim Trung (Ninh Bình) và xã Giao Phong (Nam Định) 4/18 loại kháng sinh. Chloramphenicol 30 µg có tỉ lệ kháng thấp nhất với các chủng *Vibrio* spp. phân lập được ở Thái Bình (20%) và cao nhất tại Ninh

Bình (43,75%). Việc sử dụng kháng sinh trong nuôi thủy sản ở một tỉnh, như Nam Định, Hải Phòng, Quảng Ninh, và mối liên hệ giữa việc sử dụng kháng sinh và tính kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn gây bệnh phân lập ở các khu vực này đã được một số tác giả công bố [22, 23]. Trong nghiên cứu này, tỉ lệ kháng của các chủng vi khuẩn phân lập thuộc các tỉnh Quảng Ninh, Ninh Bình, Nam Định, Thái Bình và Hải Phòng có thể là một cơ sở để khuyến cáo việc sử dụng kháng sinh trong nuôi thủy sản ở địa phương.

Bảng 2. Tỉ lệ kháng (%) kháng sinh ở các khu vực thu mẫu

STT	Kháng sinh	Tỉ lệ kháng (%) của các mẫu vi khuẩn phân lập ở				
		Quảng Ninh	Ninh Bình	Nam Định	Thái Bình	Hải Phòng
1	Ceftiofur 30 µg	80,95	43,75	95,24	80,00	57,14
2	Amoxicillin 10 µg	100,0	96,86	100,0	100,0	100,0
3	Streptomycin 10 µg	100,0	90,66	90,48	80,00	71,43
4	Enrofloxacin 5 µg	61,90	81,25	52,38	60,00	57,14
5	Doxycycline 30 µg	66,67	65,62	57,14	40,00	28,57
6	Chloramphenicol 30 µg	38,10	43,75	42,86	20,00	28,57
7	Amikacin 30 µg	76,19	84,36	57,14	60,00	71,43
8	Florfenicol 30 µg	33,33	46,86	23,81	40,00	57,14
9	Aztreonam 30 µg	85,71	90,63	90,48	20,00	57,14
10	Ciprofloxacin 5 µg	76,19	78,13	47,62	80,00	57,14
11	Ampicillin 25 µg	100,0	100,0	100,0	20,00	100,0
12	Erythromycin 15 µg	100,0	100,0	100,0	60,00	100,0

STT	Kháng sinh	Tỉ lệ kháng (%) của các mẫu vi khuẩn phân lập ở				
		Quảng Ninh	Ninh Bình	Nam Định	Thái Bình	Hải Phòng
13	Norfloxacin 10 µg	100,0	100,0	95,24	40,00	100,0
14	Gentamicin 30 µg	100,0	96,88	95,24	100,0	100,0
15	Cefotaxime 20 µg	100,0	100,0	100,0	100,0	85,71
16	Rifampicin 10 µg	85,71	37,50	80,95	100,0	85,71
17	Oxytetracycline 30 µg	80,95	50,00	90,48	100,0	100,0
18	Kanamycin 50 µg	100,0	96,88	90,48	100,0	100,0

4 Kết luận

Chúng tôi đã phân lập được 86 mẫu vi khuẩn bao gồm bốn loài *Vibrio* sp. từ nước nuôi thủy sản tại năm khu vực thuộc các tỉnh miền Bắc Việt Nam, trong đó phổ biến là *V. parahaemolyticus* và *V. alginolyticus*. Các mẫu vi khuẩn phân lập được đánh giá có tỉ lệ kháng rất cao với ampicillin (100%); amoxicillin (98,84%); streptomycin (84,88%) và oxytetracycline (69,77%). Tỉ lệ kháng thấp nhất với nhóm kháng sinh phenicol bao gồm chloramphenicol (32,56%) và florfenicol (31,4%). Chỉ số đa kháng của 86 mẫu vi khuẩn phân lập được ghi nhận từ 0,15 đến 1. Trong đó, 85/86 (98,83%) mẫu vi khuẩn phân lập có chỉ số MAR > 0,2; hai mẫu vi khuẩn kháng với tất cả 13 loại kháng sinh. Các vi khuẩn phân lập từ năm khu vực thu mẫu nước nuôi thủy sản đều có tỉ lệ kháng 100% từ bốn đến tám loại kháng sinh. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học để kiểm soát việc sử dụng kháng sinh trong nuôi thủy sản ở các địa phương.

Thông tin tài trợ

Nghiên cứu được Bộ Giáo dục và Đào tạo cấp kinh phí trong đề tài cấp mã số B2022-SPH-14.

Xung đột lợi ích

Các tác giả tuyên bố không có mâu thuẫn nào liên quan đến việc xuất bản bài báo này.

Tài liệu tham khảo

- Hòa ĐT, Tề BQ, Dũng NH, Muội NT. Bệnh học thủy sản. Hồ Chí Minh: NXB Nông nghiệp; 2004. 423 p.
- Loo KY, Letchumanan V, Law JWF, Pusparajah P, Goh BH, Ab Mutalib NS, et al. Incidence of antibiotic resistance in *Vibrio* spp. Rev Aquac. 2020;12:2590-2608.
- Manjusha S, Sarita GB, Elays KK, Chadrasekaran M. Multiple antibiotic resistances of *Vibrio* isolates from coastal and brackish water areas. Am J Biochem Biotechnol. 2005;1:201-206.
- Manjusha S, Sarita GB. Characterization of plasmids from multiple antibiotic resistant *Vibrios* isolated from molluscan and crustacean of Kerala. Int Food Res J. 2013;20:77-86.
- Zulkifi Y, Alitheen NB, Raha AR, Yeap SK, Marlina, Son R, Nishibuchi M. Antibiotic resistance and plasmid profiling of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from cockles in Padang, Indonesia. Int Food Res J. 2009;16:53-58.
- Sperling L, Alter T, Huehn S. Prevalence and antimicrobial resistance of *Vibrio* spp. in retail and farm shrimps in Ecuador. J Food Prot. 2015;78: 2089-2092.
- De Silva BCJ, Hossain S, Dahanayake PS, Kang TM. *Vibrio* spp. from Yesso scallop (*Patinopten yessoensis*) demonstrating virulence properties and antimicrobial resistance. J Food Saf. 2019;39: e12634.
- Abdalla T, Al-Rumaihi H, Osaili TM, Hasan F, Obaid RS, Abushelaibi A, et al. Prevalence, antibiotic-resistance, and growth profile of *Vibrio*

- spp. isolated from fish and shellfish in subtropical-arid area. *Front Microbiol.* 2022;13:861547.
9. Hạnh TTM, Yến PT, Lê HTM, Vân PT, Vinh ND, Vinh TT. 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.* 2016;4/2016:57-64.
 10. Tráng NC, Lắm TTN, Như HTQ. 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. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản.* 2019;4/2019:139-147.
 11. Huynh TNT, An TTV, Yen PTN, Cuong VN. Prevalence, antimicrobial resistance profiles and virulence genes of *Vibrio* spp. isolated from shrimp retails in Ho Chi Minh City (Vietnam). *J Agric Dev.* 2019;18:27-34.
 12. Duy HK, Huệ TND, Trúc LTT. Tình hình kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* spp. trên tôm thẻ trắng (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản.* 2019;4/2019:26-32.
 13. Hanh NK, Hieu NTD, Hieu NM, Thi VH, Mien PT, Du HT, et al. Kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh cơ hội phân lập từ môi trường nước và trầm tích quanh khu vực nuôi trồng thủy hải sản tại vịnh Nha Trang. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ biển.* 2021;20(4A):199-209.
 14. Alipour M, Issazadeh K, Soleimani J. Isolation and identification of *Vibrio parahaemolyticus* from seawater and sediment samples in the southern coast of the Caspian Sea. *Comp Clin Path.* 2012;23:129-133.
 15. Thuốc TL. Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm. Hà Nội: NXB Giáo dục; 2009.
 16. CLSI - Clinical & Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial Susceptibility. *Clin Lab Stand Inst.* 2011;33:1-35.
 17. Sandhu R, Dahiya S, Sayal P. Evaluation of multiple antibiotic resistance (MAR) index and Doxycycline susceptibility of *Acinetobacter* species among inpatients. *Indian J Microbiol Res* 2016;3(3):299-304.
 18. Ejiofor SO, Edeh AD, Ezeudu CE, Gugu TH, Oli AN. Multi-Drug resistant acute otitis media amongst children attending out-patient clinic in Chukwuemeka Odumegwu Ojukwu University Teaching Hospital, Awka, South-East Nigeria. *Adv Microbiol.* 2016;6:495-501.
 19. Trương HN. Tình hình nhiễm *Vibrio* spp phân lập từ thủy sản và nước nuôi tại Cái Bè - Tiền Giang. *Tạp chí Kiểm nghiệm và An toàn thực phẩm.* 2019;3/2019:18-23.
 20. Tuấn DN, Đức TK, Có NV, Minh NV. Đánh giá khả năng gây bệnh của *Vibrio* spp. phân lập từ tôm thẻ bị bệnh hoại tử gan tụy cấp tính tại Ninh Thuận. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản.* 2019;3/2019:181-188.
 21. Huyền VT, Viết NX, Tâm PT, Tùng HV, Phước MH. Đặc điểm sinh hoá và di truyền của chủng *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan thận cho cá mú nuôi tại Cát Bà, Hải Phòng. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y.* 2019;7/2019:62-73.
 22. Luu QH, Nguyen TBT, Nguyen TLA, Do TTT, Dao THT, Padungtod P. Antibiotics use in fish and shrimp farms in Vietnam. *Aquac Reports.* 2021;20:100711.
 23. Chi TTK, Clausen JH, Van PT, Tersbøl B, Dalsgaard A. Use practices of antimicrobials and other compounds by shrimp and fish farmers in Northern Vietnam. *Aquac Reports.* 2017;7:40-47.