

HIỆN TRẠNG ĐA KHÁNG TRÊN VI KHUẨN *Edwardsiella ictaluri* GÂY BỆNH GAN THẬN MỦ TRÊN CÁ TRA *Pangasianodon hypophthalmus* Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Từ Thanh Dung¹, Phạm Thanh Hương², Nguyễn Anh Tuấn¹.

¹Khoa Thủy sản, ²Sinh viên cao học khoá 14, trường Đại học Cần Thơ.

ABSTRACT

The purpose of this study to assess the *in vitro* susceptibility of 50 *Edwardsiella ictaluri* isolates originated from Vietnamese freshwater catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) caused Bacillus Necrosis Pangasius (BNP) in the commercial catfish farms in the Mekong Delta from 2007 to 2009. All isolates were screened against 17 antimicrobial agent by disk diffusion method and were also tested for determination of minimal inhibitory concentration (MIC) to 4 antibiotics with method with broth dilution. The results show that none of isolates displayed resistant ability to cefotaxime, nitrofurazole. Majority of antimicrobial agents displayed indicating reduced susceptibility of a minority of isolates, namely cefazoline (2% of the total resistant strain), cefalexin (2%), neomycin (6%), amoxicillin + clavulanic acid (8%) và ampiciline (14%). Whereas, all isolates showed resistance to flumenquin, trimethoprim + sulfamethoxazol. Highly resistance was detected to enrofloxacin (93%), chloramphenicol (82%), streptomycin (80%). The results of MIC value were highly in most of tested isolates. The aquired resistance were found streptomycin with an MIC₉₀ ≥256µg/ml, chloramphenicol, enrofloxacin with an MIC₉₀ 128µg/ml, oxytetracycline (64µg/ml). Remarkably, multiresistance of *E.ictaluri* isolates were 86 % of the total resistant isolates to at least three antimicrobials. This results indicated the necessity for further research on resistant mechanism of pathogens and the transfer of antimicrobial resistant genes among environmental microflora in the intensive catfish farms in the Mekong Delta.

Keywords: antimicrobial susceptibility testing, *Edwardsiella ictaluri*, *Pangasianodon hypophthalmus*, the Mekong Delta.

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá sự kháng của 50 chủng vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan thận mủ được phân lập trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) nuôi thâm canh ở Đồng Bằng Sông Cửu Long từ 2007 đến 2009. Nghiên cứu được tiến hành làm kháng sinh đồ với 17 loại kháng sinh và xác định giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) với 4 loại kháng sinh bằng phương pháp pha loãng trong môi trường lỏng. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy đa số vi khuẩn *E.ictaluri* nhạy với cefotaxime, nitrofurazole và giảm tính nhạy trên nhiều loại kháng sinh như cefazoline (2%), cefalexin (2%), neomycin (6%), amoxicillin + clavulanic acid (8%) và ampiciline (14%). Trong khi đó, đa số vi khuẩn đã kháng flumenquin, trimethoprim + sulfamethoxazol và kháng với enrofloxacin (93%), chloramphenicol (82%), streptomycin (80%). Kết quả xác định giá trị MIC cho thấy đa số vi khuẩn kháng cao với streptomycin với giá trị MIC₉₀ ≥256µg/ml, chloramphenicol, enrofloxacin MIC₉₀ (128µg/ml) và oxytetracycline với giá trị MIC₉₀ (64 µg/ml). Đặc biệt, hiện tượng đa kháng đã tìm thấy 86% tổng số chủng kháng với ít nhất 3 loại kháng sinh. Kết quả này cho thấy cần thiết có nghiên cứu sâu hơn về cơ chế kháng thuốc và đánh giá sự trao đổi các genes kháng thuốc của các vi sinh vật trong môi trường nuôi cá tra thâm canh ở ĐBSCL.

Từ khóa: Kháng thuốc kháng sinh, *Edwardsiella ictaluri*, *Pangasianodon hypophthalmus*, Đồng Bằng Sông Cửu Long.

GIỚI THIỆU

Sự phát triển nhanh chóng của nuôi thâm canh cá da trơn ở Đồng Bằng Sông Cửu Long dẫn đến việc sử dụng quá nhiều loại kháng sinh trong phòng và trị bệnh vi khuẩn. Việc sử dụng hóa chất và kháng sinh không đúng qui định, không kiểm soát có thể làm tác động đến môi trường, hệ sinh thái của khu vực hoặc để lại dư lượng trong sản phẩm thủy sản và dẫn đến hiện tượng kháng kháng sinh trong các loài vi khuẩn gây bệnh trên cá (Aoki, 1988; Sarter và ctv., 2007; Dung và ctv., 2009). Nhiều nghiên cứu đã khẳng định tác động của việc sử dụng kháng sinh trong môi trường nuôi thủy sản sẽ tạo ra những chủng vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh (Hansen và ctv., 1993; DePaola và ctv., 1995). Ở Việt Nam, hiện tượng kháng thuốc đã được một số tác giả ghi nhận trên vi khuẩn gây bệnh cũng như vi khuẩn trong môi trường nuôi cá, tôm (Dung và ctv., 1997; Van, 2005; Phuong và ctv., 2005 và Le và ctv., 2005, Sarter và ctv., 2007). Riêng đối với vi khuẩn *E. ictaluri*, tác nhân gây ra bệnh nhiễm trùng máu trên cá nheo (*italurus punctatus*) và bệnh gan thận mủ trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) gây thiệt hại lớn cho người nuôi do tăng tỉ lệ hao hụt và chi phí cho việc điều trị (Hawke, 1979, Crumlish và ctv., 2002).

Nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước đã được thực hiện để đánh giá khả năng kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn nguy hiểm này. Từ năm 1986, Waltman và Shotts đã kiểm tra sự kháng thuốc trên 118 chủng vi khuẩn *E. ictaluri* phân lập trên cá nheo bệnh ở Mỹ với 37 loại kháng sinh. Kết quả cho thấy phần lớn vi khuẩn này nhạy với các thuốc thí nghiệm nhưng hơn 90% lại kháng với colistin và sulfamids. Đến năm 1993, Reger và ctv., cũng đã xác định các chủng *E. ictaluri* phân lập trên cá Nheo còn nhạy với enrofloxacin, gentamycin và doxycycline. Gần đây, Dung và ctv., (2008) xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của 64 chủng vi khuẩn *E. ictaluri* gây bệnh gan thận mủ trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) cho thấy vi khuẩn đã có hiện tượng kháng thuốc đáp ứng với kháng sinh streptomycin, oxytetracycline và trimethoprim. Đặc biệt có 73% tổng số chủng đa kháng với ít nhất 3 loại kháng sinh và vi khuẩn này đã bắt đầu có hiện tượng kháng với nhóm quinolone như: flumequin, oxolinic acid và enrofloxacin.

Hiện tượng đa kháng thuốc kháng sinh đang là mối lo không chỉ của người nuôi mà còn đối với các nhà quản lý sức khỏe cộng đồng bởi nó không chỉ làm giảm hiệu quả điều trị mà còn tiềm ẩn nhiều nguy cơ đối với sức khỏe con người, nhất là các kháng sinh đã bị cấm. Chính vì thế mục tiêu của nghiên cứu là nhằm đánh giá tính kháng của các chủng *E. ictaluri* phân lập tại một số vùng nuôi ở ĐBSCL đối với một số loại kháng sinh sử dụng trong nuôi trồng thủy sản. Đồng thời, xác định loại thuốc đặc hiệu để trị bệnh do vi khuẩn này trong những trường hợp cần thiết phải sử dụng kháng sinh.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng vi khuẩn

Nghiên cứu đã thực hiện trên 50 chủng vi khuẩn *E. ictaluri* phân lập từ cá tra bệnh gan thận mủ trong ao nuôi thâm canh ở các tỉnh: Cần Thơ, An Giang, Đồng Tháp, Vĩnh Long, Bến Tre và Trà Vinh từ năm 2007- 2009 (Bảng 1).

Bảng 1. Địa điểm thu mẫu cá tra bệnh gan thận mủ ở các tỉnh Đồng Bằng Sông Cửu Long.

Vùng nuôi	Nước lợ		Vùng nước ngọt			
Tỉnh	Trà Vinh	Bến Tre	Cần Thơ	Vĩnh Long	Đồng Tháp	An Giang
Số mẫu	12	13	10	7	5	3

Định danh vi khuẩn: Các đặc điểm về hình thái, sinh-hoá của vi khuẩn được xác định bằng cách kiểm tra các chỉ tiêu cơ bản (primary test) và sử dụng bộ kit API 20E (Microbank™, PRO-LAB Diagnostics, UK). Vi khuẩn được định danh theo phương pháp của Frerichs và Millar (1993) dựa trên dòng chuẩn *E. ictaluri* (CCUG 18764).

Phương pháp lập kháng sinh đồ: Dựa trên phương pháp Kirby-Bauer, sử dụng môi trường Mueller-Hinton Agar (MHA, Merck, Darmstadt, Germany), chọn 17 loại kháng sinh (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France): ampicilin (AM/10µg), amoxicilin+clavulanic acid (AMC/20/10µg), cefazoline (CEZ/30µg), cefotaxime (CTX/30µg), cefalexin (CN/30µg), chloramphenicol (CHL/30µg), florfenicol (FFC/30µg), tetracyclin (TE/30µg), doxycyclin (DO/30µg), norfloxacin (NOR/5µg), nitrofurazole (FT/300µg), flumequin (FM/30µg), streptomycin (SM/10µg), neomycin (NM/30µg), trimethoprim+sulfamethoxazol (SXT/1,25/23,75µg), rifampicin (RA/30µg), enrofloxacin (ENR/5µg).

Đo đường kính vòng vô trùng (mm): Dựa vào chuẩn đường kính của vòng vô trùng theo tài liệu “The Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI (former NCCLS M31-A2)) của Anonymous (2002) nhằm xác định loại kháng sinh nhạy, trung bình và kháng.

Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC): MIC (Minimal inhibitory concentration) được xác định bằng phương pháp pha loãng thuốc kháng sinh trong môi trường lỏng, theo tiêu chuẩn của Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006 (CLSI M49-A) với các loại kháng sinh có tính kháng cao và đại diện cho các nhóm kháng sinh trong nghiên cứu này: chloramphenicol, oxytetracyclin, streptomycin, enrofloxacin. Dòng vi khuẩn chuẩn *Escherichia Coli* (ATCC 25922) được sử dụng trong thí nghiệm này. Chọn 36 chủng vi khuẩn thể hiện tính kháng đáp ứng (acquired resistance) cao với 4 loại kháng sinh trên. *E. ictaluri* được cấy phục hồi từ tủ âm 80°C. Sau khi rã đông và cấy lên môi trường TSA, ủ trong tủ ấm từ 28°C sau 48 giờ.

Xác định mật số vi khuẩn bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 625 nm và điều chỉnh mật độ vi khuẩn bằng môi trường brain heart infusion broth (BHIB) ở điểm OD = 1 (mật số vi khuẩn khoảng 1×10^8 CFU/ml) rồi pha loãng đến mật độ khoảng 1×10^5 CFU/ml. Cho 1ml dung dịch vi khuẩn vào từng ống nghiệm có chứa 1ml dung dịch thuốc ở các nồng độ khác nhau từ 0,5 đến 256 µg/ml. Tất cả các ống nghiệm được ủ ở 28°C, trong 20-24 giờ. Riêng với vi khuẩn đối chứng *E. coli* (ATCC 25922), ủ ở 37°C trong 24 giờ. Đọc kết quả bằng cách so sánh độ đục của ống MIC với ống đối chứng âm và dương. Giá trị MIC được xác định là nồng độ thấp nhất của thuốc kháng sinh, ở đó không có sự phát triển của vi khuẩn.

KẾT QUẢ

Kết quả kháng sinh đồ

Kết quả kháng sinh đồ cho thấy 50 chủng đều nhạy với các loại thuốc kháng sinh thuộc nhóm beta-lactam như amoxicillin + clavulanic acid, cefazoline, cefotaxime, cefalexin. Hầu hết chủng vi khuẩn *E. ictaluri* nhạy nitrofurazone và đa số nhạy với neomycin (94,3%). Trong khi đó, các chủng vi khuẩn *E. ictaluri* đã kháng hoàn toàn với flumequin, trimethoprim+sulfamethoxazol và kháng cao với các loại kháng sinh như enrofloxacin (76,3%), chloramphenicol (78,6%), florfenicol (73,5%), streptomycin (95,6%), tetracyclin (64%) và doxycyclin (56%).

Bảng 2. Tỷ lệ phần trăm nhạy, nhạy trung bình và kháng của các chủng vi khuẩn với 17 loại kháng sinh

STT	Kháng Sinh	Số chủng	Nhạy (%)	Nhạy TB (%)	Kháng (%)
Beta-lactamin					
1	Ampicilin	50	86	4	10
2	Amoxicilin+Clavulanic acid	45	91	8	0
3	Cefazoline	45	97,8	2,2	0
4	Cefotaxime	45	100	0	0
5	Cefalexin	45	97,8	2.2	0
Fenicol					
6	Chloramfenicol	28	21,4	0	78,6
7	Florfenicol	34	20,6	4	73,5
Aminoglycoside					
8	Streptomycin	45	0	4,4	95,6
9	Neomycin	45	94,3	5,7	0
Tetracyclin					
10	Tetracyclin	50	30	6	64
11	Doxycyclin	50	34	10	56
Quinolon					
12	Enrofloxacin	38	5,3	18,4	76,3
13	Norfloxacin	50	38	30	32
14	Flumequin	34	0	0	100
Khác					
15	Nitrofuration	29	100	0	0
16	Rifampicin	50	16	20	64
17	Trimethorime+sulfamethoxazol	34	0	0	100

AM: ampicilin (10µg), AMC: amoxicillin + clavulanic acid (20/10µg), CEZ: cefazoline (30µg), CTX: cefotaxime (30µg), CN: cefalexin (30µg), CHL: chloramphenicol (30µg), FFC: florfenicol (30µg), TE: tetracyclin (30µg), DO: doxycyclin (30µg), NOR: norfloxacin (5µg), FT: nitrofurazole (300µg), FM: flumequin (30µg), SM: streptomycin (10µg), NM: neomycin (30µg), SXT: trimethoprim + sulfamethoxazol (1,25/23,75µg), RA: rifampicin (30µg), ENR: enrofloxacin (5µg).

Kết quả MIC

Kết quả giá trị MIC của 36 chủng vi khuẩn với 4 loại kháng sinh: chloramphenicol, oxytetracycline, enrofloxacin và streptomycine được trình bày ở Bảng 3. Tương tự kết quả kháng sinh đồ, hầu hết vi khuẩn kháng streptomycine với giá trị MIC₅₀ và MIC₉₀ cao nhất ≥ 256 µg/ml, tiếp theo là thuốc chloraphenicol, oxytetracycline và enrofloxacin có giá trị MIC thấp nhất (MIC₅₀ 4 µg/ml; MIC₉₀ 64 µg/ml).

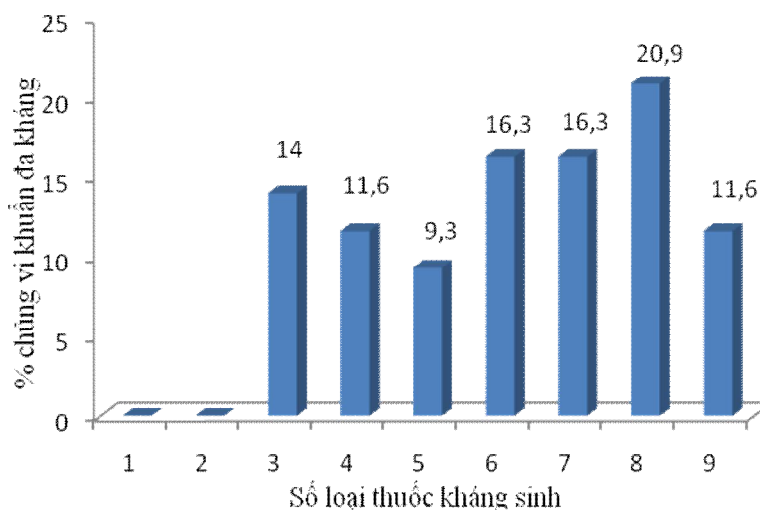
Bảng 3. Giá trị MIC của 36 chủng vi khuẩn *E. ictaluri* trên 4 loại thuốc kháng sinh.

Thuốc kháng sinh	Khoảng giá trị MIC ($\mu\text{g/ml}$)											MIC 50	MIC 90
	<0,5	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	≥ 256		
Chloramphenicol		1	2	1			4	20	2	6		32	128
Oxytetracycline	1		3	4	2	1	10	6	4	3	2	16	128
Enrofloxacin		4	5	3	3	8		1	5			4	64
Streptomycine						1	2		2	1	30	≥ 256	≥ 256

* Theo tiêu chuẩn CLSI 2006, các chủng in đậm thể hiện tính kháng đáp ứng

Hiện tượng đa kháng

Kết quả nổi bật của nghiên cứu là có đến 86% tổng số chủng vi khuẩn đa kháng kháng sinh (kháng từ 3 loại thuốc kháng sinh trở lên), phần lớn vi khuẩn đa kháng với các loại thuốc kháng sinh như: FM+SXT+SM+ENR+CHL+FFC+TE+DO+NOR. Đặc biệt vi khuẩn có hiện tượng đa kháng với 6 đến 9 loại thuốc kháng sinh, chiếm tỷ lệ khá cao (trên 70%) (Hình 1).



Hình 1. Tỷ lệ phần trăm chủng vi khuẩn *E. ictaluri* kháng kháng sinh.

THẢO LUẬN

Hiện nay, nhiều cơ quan quản lý sức khỏe cộng đồng đặc biệt quan tâm đối với sự ảnh hưởng của việc sử dụng kháng sinh trong môi trường nuôi thủy sản trên phạm vi toàn cầu nhằm đảm bảo an toàn thực phẩm cho con người (Huys và *ctv.*, 2005). Ở Việt Nam, thuốc kháng sinh chloramphenicol hiện đang bị nghiêm cấm sử dụng trong nuôi trồng thủy sản vì có độc tính rất mạnh và là nguyên nhân gây ra hiện tượng thoái hóa tủy xương (MoFi 2004; Dowling 2006). Tuy nhiên, dẫn xuất florinated của kháng sinh này, đã được thay thế là florfenicol và nhanh chóng được phổ biến trong một số ngành chăn nuôi công nghiệp làm thực phẩm, bao gồm ngành nuôi trồng thủy sản (Dowling, 2006; Michel và *ctv.*, 2003; Gaunt và *ctv.*, 2003; Wrzesinsk và *ctv.*, 2005). Một điểm đáng chú ý trong nghiên cứu này là có trên 70% số chủng vi khuẩn kháng với thuốc kháng sinh nhóm phenicol là chloramphenicol và florfenicol. Đồng thời kết quả MIC cao (MIC_{90} 128 $\mu\text{g/ml}$) cũng đã thể hiện tính kháng cao của vi khuẩn đối với nhóm kháng sinh này. Tuy nhiên, theo kết quả của nhiều nghiên cứu

trước đây, vi khuẩn *E. ictaluri* gây bệnh trên cá nheo Mỹ (McGinnis, 2003) và cá tra ở Việt Nam (Dung và ctv. 2008) có giá trị MIC với nhóm phenicol rất thấp ($\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$). Theo trích dẫn của Miranda và Zemelan (2002) tính kháng của vi khuẩn với thuốc flofenicol tăng nhanh do thông qua nhiều cơ chế khác nhau như đào thải thuốc ra khỏi tế bào (efflux protein); mã hóa gen liên quan đến integron (Arcangioli và ctv., 1999; Cloeckaert và ctv., 2000) và qua plasmid (Keys và ctv., 2000). Kết quả nghiên cứu này cảnh báo nhóm thuốc phenicol hiện nay đã tăng tính kháng cao, cần cẩn trọng khi sử dụng thuốc này trong việc điều trị bệnh gan thận mủ.

Nghiên cứu cho thấy hầu hết vi khuẩn *E. ictaluri* đã kháng với thuốc flumequin và enrofloxacin thuộc nhóm quinolon ở mức giá trị MIC₅₀ là $4 \mu\text{g/ml}$ và MIC₉₀ là $64 \mu\text{g/ml}$. Nghiên cứu trước đây của Stock và Wiedemann (2001) xác định vi khuẩn thuộc giống *Edwardsiella*, kể cả vi khuẩn *E. ictaluri* nhạy với các kháng sinh thuộc nhóm quinolones. Nhưng gần đây vi khuẩn *E. ictaluri* đã bắt đầu kháng với nhóm kháng sinh này (Akinbowale và ctv., 2007; Dung và ctv., 2008). Theo báo cáo của Cục kiểm định thuốc ở Châu Âu (EMA), quinolon là nhóm thuốc kháng sinh rất quan trọng chuyên dùng trị các bệnh nhiễm trùng nguy hiểm cho người và động vật. Do đó, việc dùng thuốc kháng sinh này trong thủy sản cần hết sức thận trọng và cần được kiểm soát chặt chẽ bởi các cơ quan có thẩm quyền.

Trong nghiên cứu này tìm thấy 64% chủng vi khuẩn kháng với tetracycline và 56% kháng với doxycyclin. Tương tự, nghiên cứu Dung và ctv., (2008) có đến 81,3 % chủng vi khuẩn kháng với oxytetracycline thuộc nhóm kháng sinh này. Nhiều tác giả cho rằng sự kháng thuốc oxytetracycline có liên quan đến việc sử dụng thuốc kháng sinh trước đây quá rộng rãi và phổ biến để phòng trị bệnh trong nuôi trồng thủy sản (Alderman và Hastings, 1998; Van, 2005; DePaola và ctv., 1988; Reimschuessel và Miller, 2006). Trước đây, một số nhà khoa học đã phát hiện các gen kháng thuốc tetracycline trên các vi khuẩn gây bệnh cá, tuy nhiên đa số tập trung trên vi khuẩn *E. tarda* (Aoki và ctv., 1987; Kim và ctv., 2004; Jun và ctv., 2004; Roberts 2005). Gần đây nhất nghiên cứu của Dung và ctv., (2009) phát hiện plasmid IncK (không tương hợp) chứa gen kháng thuốc tetracycline trên vi khuẩn *E. ictaluri*. Vì thế cần có những nghiên cứu sâu hơn về cơ chế kháng thuốc cũng như khả năng truyền gen kháng thuốc này trong môi trường nuôi thủy sản, từ đó mà có hướng chọn lựa kháng sinh thích hợp điều trị trong những trường hợp cần thiết.

Điểm nổi bật của nghiên cứu này có đến 86% chủng vi khuẩn *E. ictaluri* thể hiện tính đa kháng. Trong đó vi khuẩn kháng đồng thời với 8 loại kháng sinh chiếm tỷ lệ cao nhất (20,9%) với 9 loại kháng sinh (11,6%). Hiện tượng kháng thuốc càng trở nên nghiêm trọng hơn, khi trong môi trường nuôi thủy sản có sự kháng thuốc hình thành gián tiếp thông qua thể R-plasmid. Các R-Plasmid này có thể làm trung gian cho sự kháng một hay nhiều loại thuốc kháng sinh thông qua các gen mã hoá theo cơ chế bất hoạt hoá một hay nhiều loại kháng sinh (Aoki, 1988). Điển hình, một số nhà nghiên cứu trước đây đã phát hiện trên một số vi khuẩn gây bệnh cá chứa plasmid kháng thuốc kháng sinh chloramphenicol, trimethoprim, sulphonamides và tetracyclines (Mcphearson *et al.*, 1991). Ngoài ra, một số tác giả khác đã xác định sự trao đổi plasmid kháng thuốc đến 5 loại kháng sinh trên các vi khuẩn gây bệnh cá ở cả môi trường nước biển và nước ngọt như: *Vibrio anguillarum*, *V. salmonicida*, *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila*, *Edwardsiella tarda* và *Yersinia ruckeri* (Aoki và Takahashi, 1987; DePaola, 1988, 1995).

Điều đáng ngại khi hiện tượng kháng thuốc kháng sinh xảy ra trong môi trường nuôi thủy sản là khả năng truyền gen đa kháng thuốc kháng sinh từ vi khuẩn gây bệnh ở động vật thủy sản sang vi khuẩn gây bệnh ở người. Như nghiên cứu của Schmidt và ctv., (2001) về khả năng truyền plasmid kháng tetracycline của vi khuẩn *Aeromonas* gây bệnh cá sang vi khuẩn

E. coli kết quả có 17 trong tổng số 40 dòng vi khuẩn *Aeromonas* có khả năng truyền plasmid kháng tetracycline sang vi khuẩn *E. coli*. Tương tự, nghiên cứu Sørum và ctv., (2003) chứng minh vi khuẩn *Aeromonas salmonicida* chuyển plasmid kháng thuốc tetracyclines, trimethoprim và sulfonamides sang vi khuẩn *E. Coli* DH5 α tần suất là $6,5 \times 10^{-3}$. Gần đây nhất nghiên cứu Dung và ctv., (2009) chứng minh vi khuẩn *E. ictaluri* cũng có khả năng truyền plasmid kháng thuốc tetracycline sang vi khuẩn *E. Coli*. Từ những nghiên cứu trên cho thấy vấn đề này đã báo động đến sự an toàn sức khỏe của con người. Do vậy việc đưa ra những biện pháp nhằm hạn chế sự gia tăng tỷ lệ kháng kháng sinh là rất cấp thiết mà điều này đòi hỏi những người nuôi thủy sản phải có những hiểu biết nhất định cũng như các nhà khoa học cần có những nghiên cứu sâu hơn để xác định bản chất của cơ chế kháng thuốc, từ đó đưa ra những giải pháp khống chế tình trạng kháng thuốc một cách có hiệu quả.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Cùng với sự phát triển nghề nuôi cá tra thâm canh, tỉ lệ các chủng vi khuẩn *E. ictaluri* kháng với kháng sinh ngày càng tăng lên. Hiện tượng đa kháng của các chủng vi khuẩn ngày càng nhiều và phức tạp. Do vậy, cần phải kiểm soát nghiêm ngặt việc sử dụng thuốc kháng sinh đặc biệt là các loại thuốc cấm, tăng cường biện pháp kiểm soát dịch bệnh truyền nhiễm như hạn chế mầm bệnh, cải thiện môi trường, cải thiện sức khỏe của cá nuôi và sử dụng vaccine để phòng bệnh.

Lời cảm tạ

Nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài cấp bộ (B2008-16-93). Tác giả xin chân thành cảm ơn khoa Thủy sản, trường Đại học Cần Thơ. Xin chân thành cảm ơn bà con nuôi cá tra tại các điểm thu mẫu đã giúp đỡ chúng tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài. Chúng tôi xin gửi lời cảm ơn các em sinh viên: Trần Duy Phương lớp (BHTSK31) và Nguyễn Thiện Nam (lớp BHTSK32) đã nhiệt tình tham gia thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Akinbowale, O.L., H. Peng., P. Grant. and M.D. Barton., 2007. Antibiotic and heavy metal resistance in motile *Aero-monads* and *Pseudomonads* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia. Int. J. Antimicrob. Agents 30: 177–182.
- Alderman, D.J., and Hastings, T.S., 1998. Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance — potential for consumer health risks. Int. J. Food Sci. Technol. 33: 139–155.
- Aoki, T. 1988. Drug-resistance plasmids from fish pathogens. Microbiol. Sci. 5: 219-223.
- Aoki, T. and Takahashi, A., 1987. Class D tetracycline resistance determinants of R-plasmids from fish pathogens *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* and *Pasteurella piscicida*. Antimicrob. Agents Chemother. 31, 1278–1280.
- Aoki, T. and Takahashi, A., 1987. Class D tetracycline resistance determinants of R-plasmids from fish pathogens *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* and *Pasteurella piscicida*. Antimicrob. Agents Chemother. 31, 1278–1280.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)., 2006a. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests of bacteria isolate from aquatic animals; approve standard, third edition, M31-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, NJ.

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2006b. Methods for broth dilution susceptibility testing of bacteria isolate from aquatic animals; informational supplement, M49-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, NJ.
- Crumlish, M., Dung T. T., Turnbull, J.F., Ngoc, N.T.N., and Fugerson, H.W., 2002. Identification of *E. ictaluri* from diseased freshwater catfish, *Pangasius hypophthalmus* cultured in the Mekong delta Vietnam, Journal of Fish Diseases, 25: 733 – 736.
- Depaola, A., Pauline, A.F., McPhearson, R. M. and Levy, S.B., 1988. Phenotypic and Genotypic Characterization of Tetracycline and Oxytetracycline Resistance *Aeromonas hydrophila* from Cultured Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) and their Environments. Applied and Environmental Microbiology, July 1988, p. 1861-1863.
- Depaola, A., Peeler J.T. and Rodrick, G.E., 1995. Effect of Oxytetracycline-Medicated Feed on Antibiotic Resistance of Gram-Negative Bacteria in Catfish Ponds. Applied and Environmental Microbiology, June 1995, p. 2335-2340.
- Dowling, P.M. 2006. Chloramphenicol, thiamphenicol and florenicol. In: S. Giguère, J.F.Prescott, D.Baggot, R.D.Walker and P.M Dowling (ed.), Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, pp. 241-248.
- Dung, T.T., Haesebrouck, F., Sorgeloos, P., Tuan, N.A., Baelem M., Smet, A., Decostere, A., 2009. IncK plasmid-mediated tetracycline resistance in *Edwardsiella ictaluri* isolates from diseased freshwater catfish in Vietnam. Aquaculture. Volumn 295. Isuess 3-4. 16 October 2009, Pages 157-159.
- Dung, T.T., Haesebrouck, F., Tuan, N.A., Sorgeloos, P., Baelem M. and Decostere, A., 2008. Antimicrobial susceptibility pattern of *Edwardsiella ictaluri* isolate from natural outbreaks of bacillary necrosis of *Pangasianodon hypophthalmus* in Vietnam. Microbial Drug Resistance. December 2008, 14(4) p: 311-316.
- Dung, T.T., Z. Galina, D.T.H. Oanh, Z. Jeney, and N.A Tuan., 1997. Results of the baseline survey on fish health management in freshwater aquaculture of the Mekong Delta Vietnam. WEST-EAST-SOUTH (WES) Newsletter No. 6.
- Gaunt, P., R. Endris, L. Khoo, T. Leard, S. Jack, T. Santucci, T. Katz, S.V. Radecki. and R. Simmons., 2003. Preliminary assessment of the tolerance and efficacy of florfenicol against *E. ictaluri* administered in feed to channel catfish. J. Aquat. Anim. Health 15:239–247.
- Hansen P.K., Lunestad B.T., Samuelen O.B.M., 1992. Ecological effects of antibiotics and chemotherapeutants from fish farming. In: Michel, C., Aldeman, D.J. (Eds.), Chemotherapy in Aquaculture: From Theory to Reality. Office International des Epizootics, Paris, pp. 288-301, March 12-15,1991.
- Hawke, J.P., 1979. A bacterium associated with disease of pond cultured channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 36:1508–1512.
- Huys G., Cnockaert, M., Vaneechoutte, M., Woodford, N., Nemec, A., Dijkshoorn, L. and Swings, J., 2005. Distribution of tetracycline resistance genes in genotypically related and unrelated multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains from different European hospitals Res. Microbiol. 156: 348-55.
- Jun, L.J., Jeong, J.B., Huh, M.D., Chung, J.K., Choi, D.L., Lee, C.H., Jeong, H.D., 2004. Detection of tetracycline-resistance determinants by multiplex polymerase chain reaction in *Edwardsiella tarda* isolated from fish farms in Korea. Aquaculture. 240: 89-100.
- Kim, S.R., Nonaka, L. and Suzuki, S., 2004. Occurrence of tetracycline resistance genes *Tet(M)* and *Tet(S)* in bacteria from marine aquaculture sites. FEMS Microbiol. Lett. 237: 147-156.
- Le, T. X, Y. Munekage and S. Kato., 2005. Antibiotic resistance in bacteria from shrimp farming in mangrove areas. Science of the Total Environment 349 (2005) 95-105.

- McGinnis, A., Gaunt, P., Santucci, T., Simmons, R. and Endris R., 2003. *In vitro* evaluation of the susceptibility of *Edwardsiella ictaluri*, etiological agent of enteric septicemia in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), to florfenicol. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 15: 576-9.
- McPhearson, M.R., De Paola, A., Zywno, P.S., Motes, L.M. Jr. and Guarino, M.A., 1991. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds. *Aquaculture*, 99: 203-211.
- Michel, C., B. Kerouault., and C. Martin., 2003. Chlor-amphenicol and florfenicol susceptibility of fish-pathogenic bacteria isolated in France: comparison of minimum inhibitory concentration, using recommended provisory standards for fish bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 95:1008–1015.
- Miranda, C.D., and Zemelman, R., 2002. Antimicrobial multiresistance in bacteria isolated from freshwater Chilean salmon farms. *The science of the Total Environment* 293:207-218.
- MoFi., 2004. Ministry of Fisheries in Vietnam. Department of Legislation—Fisheries Law Project. Available at <http://www.mofi.gov.vn=law=default.aspx?tabid%4288&ID%4578>. (Online.)
- Nguyen Thanh Phuong, Dang Thi Hoang Oanh, Tu Thanh Dung, and Le Xuan Sinh. 2005. Bacterial Resistance to Antimicrobials Use in Shrimp and Fish Farms in the Mekong delta, Vietnam. *Journal: Proceeding of the international workshop on: Antibiotic Resistance in Asian Aquaculture Environments*.
- Reger, P. J., D. F. Mockler. and M. A. Miller., 1993. Comparison of antimicrobial susceptibility, beta-lactamase production, plasmid analysis and serum bactericidal activity in *Edwardsiella tarda*, *E. ictaluri* and *E. hoshinae*. *J. Med. Microbiol.* 39:273–281.
- Reimschuessel, R., and R.A.Miller., 2006. Antimicrobial drug use in aquaculture. In: S. Giguère, J.F. Prescott, D.Baggot, R.D.Walker and P.M Dowling (ed.), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, pp. 241-248.
- Roberts, M.C., 2005. Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS. Microbiol Lett.* 245: 195–203.
- Sarter, S., Kha, N.H.N., Hung, L.T., Lazard, J. and Didier Montet., 2007. Antibiotic Resistace in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food Control* 18 (2007) p.1391-1396.
- Schmidt, A. S., Bruun, M. S., Dalsgaard, I. and Larsen, J. L., 2001. Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 5675-5682.
- Sørum, H., L’Abee-Lund, T M., Solberg, A., and Wold A., 2003. Integron-Containing IncU R Plasmids pRAS1 and pAr-32 from the Fish Pathogen *Aeromonas salmonicida*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Apr. 2003. Vol. 47, No. 4, p. 1285–1290.
- Stock, I., and B. Wiedemann., 2001. Natural antimicrobial susceptibility of *Edwardsiella tarda*, *E. ictaluri* and *E. hoshinae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:2245–2255.
- Van, P.T., 2005. Current status of aquaculture veterinary drugs usage for aquaculture in Viet Nam. In *proceedings of the international workshop on antibiotic resistance in Asian aquaculture invironments*. Chiang Mai, Thai land. ISBN 88-901344-3-7.
- Waltman, W.D. and Shotts, E.B., 1986. Antibiomicrobial susceptibility of *Edwardsiella ictaluri*, *Journal of U’ildife Disrasrs*.21: 173-177.
- Wrzesinsk, C., L. Crouch, P. Gaunt, D. Holifield, N. Ber-trand, and R. Endris., 2005. Florfenicol residue depletion in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Aqua-culture* 253:309–316.