

XÁC ĐỊNH TÍNH KHÁNG THUỒC KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN PHÂN LẬP TỪ CÁC HỆ THỐNG NUÔI THỦY SẢN Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG, VIỆT NAM

Đặng Thị Hoàng Oanh¹, Nguyễn Thanh Phương¹, Temdoung Somsiri², Supranee Chinabut², Fatimah Yusoff³, Mohamed Shariff³, Kerry Bartie⁵, Geert Huys⁴, Mauro Giacomini⁶, Stefania Berton⁷, Jean Swings⁴ and Alan Teale⁵

ABSTRACT

A study was conducted to test the susceptibility of chloramphenicol (CHL) resistant bacterial isolates (n=196) originating from aquaculture farms to six antimicrobials. Results of antibiotic susceptibility testing showed that resistance to CHL alone was rare (2%). The majority of isolates tested (59%) exhibited multi-resistance to three or four antibiotics in addition to CHL. The most common profiles (34%) included resistance to CHL, ampicillin, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole with/or without nitrofurantoin. The CHL-resistant isolates (29%) were found to be relatively more susceptible to norfloxacin. Ninety-one percent of the resistant isolates were shown to possess a MIC to CHL between 512–≥1.024 ppm. There is a statistical evidence (p<0.05) that strains with few resistance (1-2) has lowest MIC values than strains with many resistances (3-6).

Keywords: *antibiotic resistance, chloramphenicol, aquaculture, Mekong River Delta*

Title: *Antibiotic susceptibility testing of aquaculture associated bacteria originating from integrated farming systems in the Mekong River Delta, Viet Nam*

TÓM TẮT

Sự kháng kháng sinh của các dòng vi khuẩn kháng chloramphenicol (CHL) thu từ các ao nuôi thủy sản đã được xác định. Có 196 dòng vi khuẩn được thử với 6 kháng sinh và kết quả kháng sinh đồ cho thấy số dòng chỉ kháng CHL chiếm tỉ lệ 2%. Phần lớn các dòng vi khuẩn thí nghiệm có thể kháng với nhiều loại kháng sinh. Có 59% dòng vi khuẩn kháng 4 hay 5 loại kháng sinh trong đó có CHL. Có 34% kháng nhiều kháng sinh như CHL, ampicillin, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole hoặc CHL, ampicillin, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole và nitrofurantoin. Các dòng kháng CHL lại mẫn cảm với norfloxacin hơn (29%). Có 91 % các dòng vi khuẩn thử nghiệm có giá trị MIC từ 512 đến ≥1.024 ppm. Những dòng vi khuẩn kháng từ 1-2 thuốc kháng sinh gồm cả CHL thường có giá trị MIC thấp hơn (p<0,05) những dòng vi khuẩn kháng với 3-4 loại thuốc kháng sinh.

Từ khóa: *antibiotic resistance, chloramphenicol, aquaculture, Mekong River Delta*

¹Trung Tâm Quản lý Dịch bệnh Thủy sản, Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ, Việt Nam

²Viện nghiên cứu sức khoẻ thủy động vật, Bangkok, Thailand

³Khoa Thú Y, Đại học Putra, Mã Lai

⁴Phòng thí nghiệm Vi sinh vật, Đại học Ghent, Bỉ

⁵Viện Nghiên cứu Thủy sản, Đại học Stirling, Scotland

⁶DIST, Đại học Genova, Ý

⁷RILAB srl, Genova, Ý

1 GIỚI THIỆU

Những năm gần đây thuốc kháng sinh được sử dụng rất phổ biến để phòng và trị các bệnh nhiễm khuẩn trong các hệ thống nuôi thủy sản đặc biệt là trong các trại giống và trại nuôi thủy sản thâm canh. Đã có rất nhiều nghiên cứu cho thấy sử dụng thuốc kháng sinh trực tiếp để trị bệnh cá sẽ làm gia tăng mức độ kháng thuốc của vi khuẩn có trong hệ tiêu hóa của cá (Austin và Al-Zahrani, 1988; McPhearson *et al.*, 1991; DePaola *et al.*, 1995). Ngay cả ở hệ thống nuôi thủy sản kết hợp, việc sử dụng sản phẩm thải từ các chuồng chăn nuôi gia súc hay gia cầm để bón cho ao hoặc trực tiếp làm thức ăn cho cá cũng có thể dẫn đến tình trạng vi khuẩn kháng thuốc. Do người nuôi sử dụng thuốc kháng sinh để phòng, trị bệnh hoặc để kích thích sự tăng trưởng của vật nuôi nên lượng thuốc thừa và vi khuẩn kháng thuốc sẽ theo các sản phẩm thải trôi xuống các ao nuôi thủy sản (Anon, 1999). Ở Thái Lan, vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh chloramphenicol, ciprofloxacin, erythromycin, oxytetracycline, streptomycin và sulfamethoxazole đã được phát hiện ở hệ thống nuôi cá kết hợp với gà (Petersen *et al.*, 2003). Vi khuẩn kháng với thuốc kháng sinh oxytetracycline, erythromycin và furazolidone được phân lập từ trứng, ấu trùng và hậu ấu trùng tôm càng xanh ở Ấn Độ (Hameed *et al.*, 2003). Ở Phillipines, Baticodos *et al.* (1990) cho biết họ phân lập được vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh erythromycin, kanamycin, penicillin G và streptomycin từ ấu trùng tôm sú. Còn Tendencia và de la Pena (2001) thì phân lập được vi khuẩn kháng với oxytetracycline, furazolidone, oxolinic acid và chloramphenicol từ nước, bùn đáy ao và tôm sú nuôi từ các ao nuôi tôm.

Theo báo cáo của Dung *et al.* (1997) thì việc trộn những loại thuốc kháng sinh như oxytetracycline, streptomycin và penicillin vào thức ăn của cá để phòng và trị bệnh là rất phổ biến ở vùng Đồng Bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL). Thêm vào đó người nuôi cá chỉ dùng thuốc theo kinh nghiệm cá nhân, không biết rõ tác nhân gây bệnh cũng như chưa có nhận thức tốt về sự độc hại của thuốc đối với người và, môi trường và đặc biệt là với sự kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn. Gần đây, kết quả điều tra về tình hình sử dụng thuốc và hóa chất ở một số vùng nuôi thủy sản trọng điểm ở ĐBSCL cho thấy có đến 122 sản phẩm thuốc kháng sinh dùng trong nuôi tôm (Nguyễn Thị Phương Nga, 2004) và 29 sản phẩm thuốc kháng sinh dùng trong nuôi cá da trơn (Phạm Thanh Tuấn, 2004). Thế nhưng thông tin về tính kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn ở các hệ thống nuôi thủy sản trong vùng còn rất hiếm. Do vậy việc xác định tính kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn phân lập từ các hệ thống nuôi thủy sản và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của thuốc kháng sinh CHL lên sự phát triển của chúng được xem là một trong những mục tiêu nghiên cứu trong tâm của dự án “Phân tích môi nguy về sự kháng thuốc kháng sinh trong môi trường nuôi thủy sản ở Châu Á” gọi tắt là ASIARESIST. Như đã nêu trong báo cáo của Đặng Thị Hoàng Oanh và ctv. (2004), dữ liệu về tính kháng thuốc kháng sinh và MIC cùng với các kết quả nghiên cứu về gen và hiện tượng chuyển gen kháng thuốc ở các dòng vi khuẩn phân lập được sẽ được sử dụng để đề xuất các giải pháp quản lý việc sử dụng thuốc kháng sinh trong nuôi thủy sản nhằm ngăn ngừa sự phát tán gen kháng thuốc kháng sinh.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguồn vi khuẩn

Các dòng vi khuẩn dùng trong nghiên cứu này được chọn lọc từ bộ sưu tập vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh chloramphenicol của Khoa Thủy sản (Đặng Thị Hoàng Oanh và ctv., 2004). Tổng cộng có 196 dòng vi khuẩn được chọn trong số 300 dòng vi khuẩn thuộc bộ sưu tập để xác định khả năng kháng thuốc kháng sinh và giá trị MIC. Các dòng vi khuẩn này được chọn lọc dựa trên kỹ thuật Rep-PCR để loại các dòng vi khuẩn đồng dạng về kiểu gen (Kerry *et al.*, 2005). Nguồn gốc phân lập của chúng là từ mẫu nước, bùn đáy ao nuôi và từ cá khỏe bao gồm cá chép (*Cyprinus carpio*), cá tra (*Pangassius hypophthalmus*), cá rô phi (*Oreochromis niloticus*), cá sặc rằn (*Trichogaster pectoralis*) và cá tai tượng (*Osphronemus goramy*). Ngoài ra, chủng vi khuẩn chuẩn *Escherichia coli* LMG 8223 được sử dụng để làm đối chứng dương cho mỗi lần lập kháng sinh đồ và xác định giá trị MIC. Tất cả các chủng vi khuẩn dùng cho thí nghiệm được trữ bằng hệ thống cryobead (Microbank™, PRO-LAB Diagnostics, Anh) ở -70°C.

2.2 Lập kháng sinh đồ

Khả năng kháng thuốc của vi khuẩn được xác định theo phương pháp của Huys *et al.* (2005). Vi khuẩn được phục hồi thành từng đợt để làm thí nghiệm bằng cách nuôi trên môi trường ISA (Iso-Sensitest Agar, Oxoid, Basingstoke, Anh) ở 28°C trong vòng 24 giờ, mỗi đợt lập kháng sinh đồ có 9 dòng vi khuẩn cần thử nghiệm và chủng vi khuẩn chuẩn *E. coli* LMG 8223. Tính rỗng của vi khuẩn sau khi phục hồi được kiểm tra bằng cách quan sát sự đồng nhất về hình dạng, kích thước, màu sắc của khuẩn lạc và nhuộm Gram. Các khuẩn lạc ở mỗi đĩa ISA sau 24 giờ nuôi cấy được nhặt bằng que cấy và cho vào ống nghiệm có chứa 5 ml dung dịch 0,85 % NaCl để tạo dung dịch vi khuẩn (mật độ khoảng 3×10^8 CFU/mL) có độ đục tương ứng với dung dịch chuẩn 1,0 McFarland. Sau đó, 100 µL dung dịch vi khuẩn được tán đều trên bề mặt đĩa ISA khác. Sau 15 phút, 6 loại đĩa kháng sinh (Oxoid) bao gồm tetracycline (TE30), ampicillin (AMP10), chloramphenicol (C30), nitrofurantoin (F/M300), norfloxacin (NOR10), trimethoprim /sulfamethoxazole (SXT 1.25/23.75) được đặt trên mặt thạch và ủ 24 giờ ở 28°C. Đường kính vòng tròn vô trùng được đo bằng mm, dòng vi khuẩn trên đĩa ISA tương ứng sẽ được xác định là kháng, nhạy hay trung gian với kháng sinh thử nghiệm dựa theo hướng dẫn của NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (Bảng 1).

Bảng 1: Hướng dẫn của NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) dùng xác định mức độ kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn

Đĩa kháng sinh	Kháng (R)	Trung gian (I)	Nhạy (S)
Tetracycline (TE 30)	<14	15-18	>19
Ampicillin (AM 10)	<13	14-16	>17
Chloramphenicol (C 30)	<12	13-17	>18
Nitrofurantoin (F/M 300)	<14	15-16	>17
Norfloxacin (NOR 10)	<12	13-16	>17
Trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT 1.25/23.75)	<10	11-15	>16

2.3 Xác định nồng độ ức chế tối thiểu của thuốc lên vi khuẩn

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của thuốc kháng sinh CHL lên vi khuẩn được xác định theo phương pháp của Huys (2002). Vi khuẩn cũng được phục hồi giống như nêu ở phần lập kháng sinh đồ và mỗi đợt xác định MIC cũng có 9 dòng vi khuẩn cần thử nghiệm và chủng vi khuẩn chuẩn *E. coli* LMG 8223. Có 5 khuẩn lạc riêng lẻ trên mỗi đĩa ISA được chọn cho vào cùng một ống nghiệm chứa 10 mL ISB (Iso-Sensitest Broth, Oxoid, Basingstoke, Anh) nuôi 24 giờ ở 28°C. Thuốc kháng sinh CHL (# SR0078, Oxoid) được pha trong dung dịch 95 % ethanol (theo hướng dẫn của nhà sản xuất) với độ pha loãng hai lần từ 4-1.024 ppm (Bảng 2). Mật độ vi khuẩn được đo bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 590 nm và điều chỉnh mật độ vi khuẩn bằng môi trường ISB cho đạt OD=0,1±0,02 (khoảng 10⁸ CFU/mL). Thể tích vi khuẩn thử nghiệm ở mỗi nồng độ thuốc là 2 mL.

Bảng 2: Nuôi vi khuẩn ở các hàm lượng thuốc khác nhau (cho một chủng)

Số MIC	Hàm lượng cuối cùng (ppm)	Thể tích dung dịch thuốc (mL)	Thể tích vi khuẩn (mL)
1	512	2 (1.024 ppm; ống 1)	2
2	256	2 (512 ppm; ống 2)	2
3	128	2 (256 ppm, ống 3)	2
4	64	2 (128 ppm; ống 4)	2
5	32	2 (64 ppm; ống 5)	2
6	16	2 (32 ppm; ống 6)	2
7	8	2 (16 ppm; ống 7)	2
8	4	2 (8 ppm; ống 8)	2
9	2	2 (4 ppm; ống 9)	2

Đối chứng âm (2 mL ISB+2 mL nước cất) và đối chứng dương (2 mL vi khuẩn *E. coli* LMG 8223+2 mL nước cất) được sử dụng cho mỗi lần xác định MIC. Tất cả các ống nghiệm được ủ ở 28°C trong 24 giờ hoặc lâu hơn cho đến khi thấy vi khuẩn trong ống đối chứng dương phát triển. Mỗi dòng vi khuẩn sau khi điều chỉnh mật độ đều được cấy lên đĩa ISA và được ủ trong cùng điều kiện với các ống MIC để kiểm tra tính ròn của chúng. Nếu phát hiện thấy có sự tập nhiễm của dòng vi khuẩn xét nghiệm trên đĩa ISA thì không đọc kết quả MIC. Sự phát triển của vi khuẩn được xác định bằng cách so sánh độ đục của mỗi ống MIC với ống đối chứng âm và dương. Loạt ống nghiệm của dòng vi khuẩn nào phát triển không liên tục đều bị loại. Giá trị MIC được xác định là hàm lượng thuốc trong ống nghiệm đầu tiên không có vi khuẩn phát triển. Trường hợp vi khuẩn phát triển ở tất cả các nồng độ thì giá trị MIC được xác định ở ống nghiệm có hàm lượng thuốc mà sự phát triển của vi khuẩn giảm khoảng 80% so với ống trước đó.

2.4 Xử lý số liệu

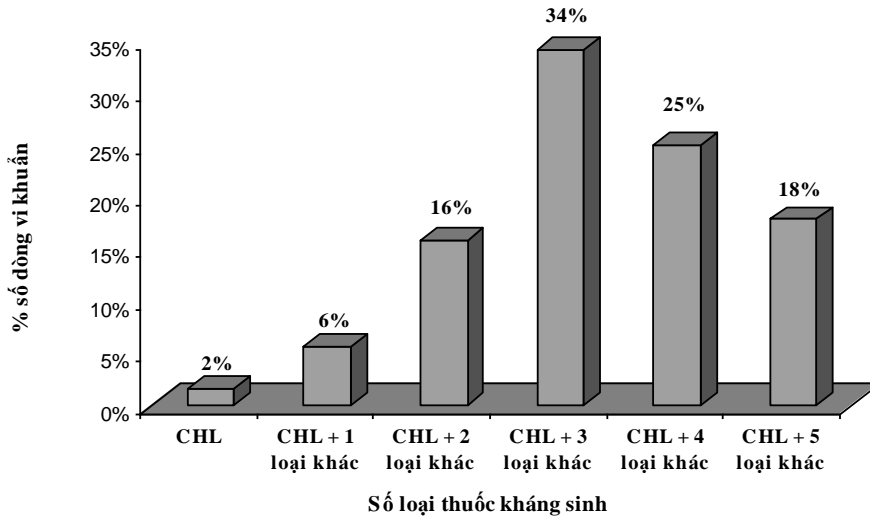
Phần mềm Microsoft excel được sử dụng để tính toán và thể hiện các đồ thị tỉ lệ phần trăm các dòng vi khuẩn kháng thuốc và giá trị MIC của chúng.

3 KẾT QUẢ

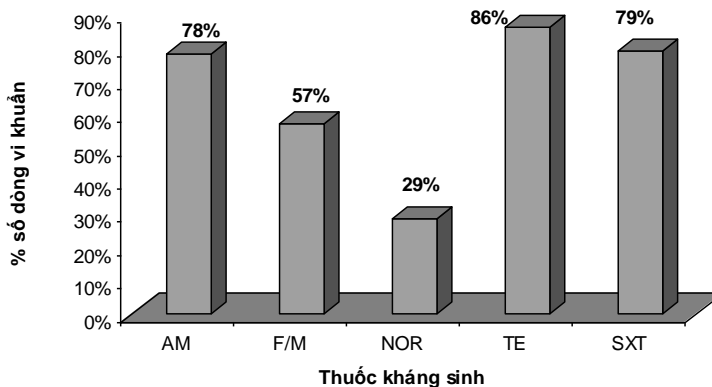
3.1 Kết quả kháng sinh đồ

Kết quả kháng sinh đồ của 196 dòng vi khuẩn kháng CHL được thử với 6 loại thuốc kháng sinh thường dùng trong nuôi thủy sản, nuôi gia súc/gia cầm và trong y khoa cho thấy số dòng vi khuẩn chỉ kháng với CHL là rất hiếm, chỉ chiếm tỉ lệ là 2%. Phần lớn các dòng vi khuẩn thử nghiệm có khả năng kháng với nhiều loại kháng sinh. Có khoảng 59% dòng vi khuẩn kháng với 4 hay 5 loại thuốc trong đó có CHL (Hình 1). Số dòng vi khuẩn kháng với ba loại thuốc kháng sinh trong đó có CHL là 16%. Đặc biệt có đến 18% số dòng vi khuẩn kháng với cả 6 loại kháng sinh thử nghiệm.

Các dòng vi khuẩn kháng với CHL miễn cảm với norfloxacin hơn so với các loại kháng sinh còn lại, chỉ có 29% dòng vi khuẩn thử nghiệm là kháng với norfloxacin. Tỉ lệ kháng thuốc của vi khuẩn thử nghiệm với từng loại kháng sinh khác khá cao. Có đến 86% kháng với tetracycline, 79% kháng với trimethoprim/sulfamethoxazole, 78% kháng với ampicillin và 57% kháng với nitrofurantoin (Hình 2).

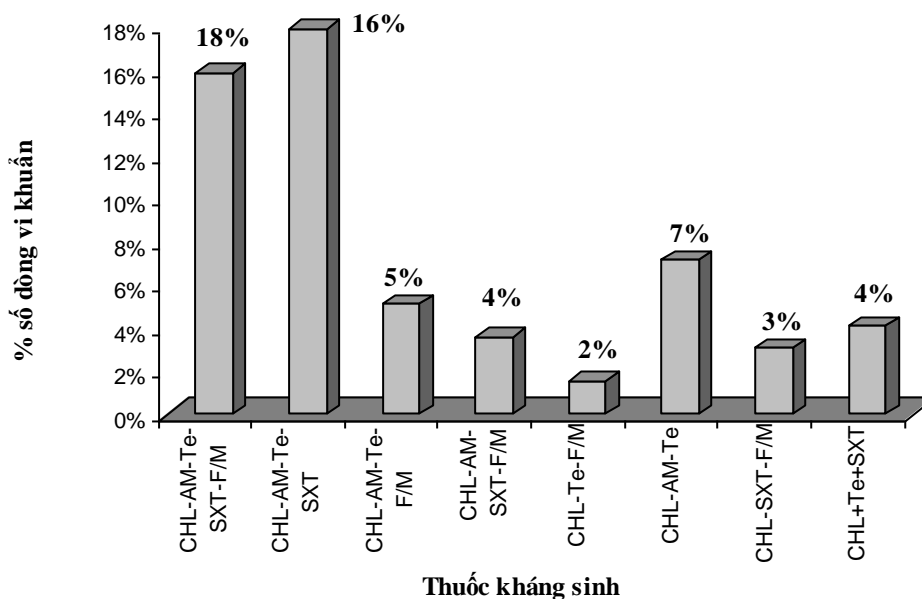


Hình 1: Tỉ lệ các dòng vi khuẩn đơn kháng với thuốc kháng sinh CHL hoặc kháng với nhiều loại kháng sinh trong đó có CHL



Hình 2: Tỉ lệ các dòng vi khuẩn đơn kháng với các loại thuốc kháng sinh thử nghiệm (AM: ampicillin, F/M: nitrofurantoin, NOR: norfloxacin, TE: tetracycline và SXT: trimethoprim/sulfamethoxazole)

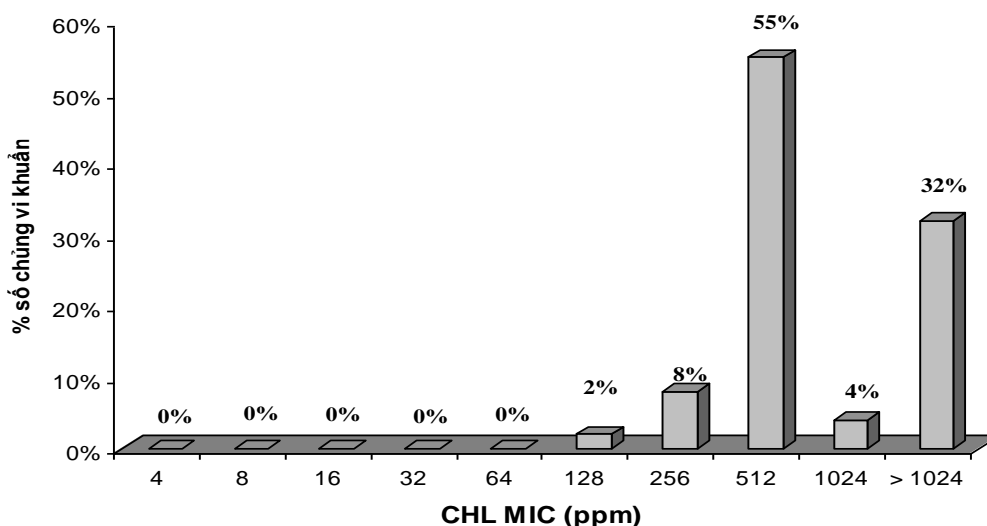
Trong số các dạng đa kháng với thuốc kháng sinh, thường gặp nhất là tính kháng với 5 loại thuốc bao gồm CHL, ampicillin, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole và nitrofurantoin (chiếm 18%) hoặc kháng với 4 loại kháng sinh bao gồm CHL, ampicillin, tetracycline và trimethoprim/sulfamethoxazole (chiếm 16%). Dạng kháng kết hợp trong đó có ba loại thuốc kháng sinh là CHL, ampicillin và tetracycline chiếm 46% (Hình 3).



Hình 3: Tỷ lệ các dạng đa kháng thuốc của vi khuẩn (CHL: chloramphenicol, AM: ampicillin, TE: tetracycline, SXT: trimethoprim/sulfamethoxazole và F/M: nitrofurantoin)

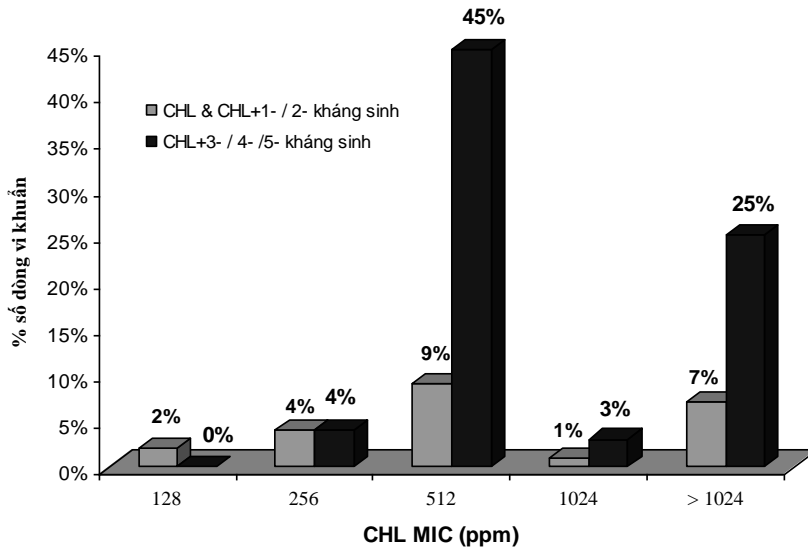
3.2 Kết quả MIC

Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của thuốc kháng sinh CHL lên các dòng vi khuẩn trên được bằng phương pháp pha loãng thuốc hai lần trong ống nghiệm chứa dung dịch nuôi cấy cho thấy có đến 91% các dòng vi khuẩn có giá trị MIC dao động từ 512 đến ≥ 1.024 ppm. Trong đó có 55% số dòng vi khuẩn thử nghiệm có giá trị MIC là 512 ppm và 36% có giá trị MIC ≥ 1.240 ppm (Hình 4).



Hình 4: Giá trị MIC của thuốc kháng sinh chloramphenicol lên các dòng vi khuẩn thử nghiệm

Những dòng vi khuẩn có tính kháng với 1-2 loại thuốc kháng sinh trong đó có CHL thường có giá trị MIC thấp hơn ($p < 0,05$) so với những dòng vi khuẩn kháng từ 3-6 loại kháng sinh trong đó có CHL (Hình 5).



Hình 5: Mức độ kháng với nhiều loại thuốc kháng sinh và MIC của các dòng vi khuẩn thử nghiệm

4 THẢO LUẬN

Cùng với sự thâm canh hóa các đối tượng nuôi thủy sản có giá trị kinh tế thì vấn đề dịch bệnh cũng trở nên nghiêm trọng hơn. Thuốc kháng sinh và các dạng hóa chất dùng để phòng trị bệnh thủy sản cũng xuất hiện nhiều hơn và đa dạng hơn. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy hiện tượng đa kháng ở các dòng vi khuẩn thử nghiệm là khá cao. Phần lớn (94%) là kháng từ 3 loại kháng sinh trở lên trong đó có cả thuốc kháng sinh dùng trong y khoa như chloramphenicol, ampicillin và tetracycline. Điều này cho thấy sự lạm dụng thuốc kháng sinh trong thủy sản là rất nghiêm trọng. Theo báo cáo của Nguyễn Thị Phương Nga (2004) và Phạm Thanh Tuấn (2004) về tình hình sử dụng thuốc kháng sinh ở các vùng nuôi thủy sản trọng điểm ở ĐBSCL thì đa số người dân tham gia nuôi thủy sản hiểu biết rất hạn chế về cách dùng thuốc kháng sinh và hóa chất sao cho có hiệu quả. Họ thường dùng thuốc theo kinh nghiệm, theo tài liệu hướng dẫn về nuôi thủy sản và theo khuyến cáo của cán bộ kỹ thuật của các công ty bán thuốc và hóa chất. Thuốc kháng sinh thường được sử dụng không đúng nguyên tắc như sử dụng không đúng liều, thay đổi nhiều loại kháng sinh khác nhau không đúng phương pháp hoặc dùng phối hợp nhiều loại kháng sinh với nhau không đúng. Đa số không nhận thức tốt về sự độc hại của việc lạm dụng thuốc kháng sinh có thể gây nên hiện tượng kháng thuốc ảnh hưởng đến môi trường sống và sức khỏe con người.

Có 18% dòng vi khuẩn thử nghiệm có tính kháng với 5 loại thuốc gồm CHL, ampicillin, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole và nitrofurantoin và 16% có tính kháng với 4 loại thuốc gồm CHL, ampicillin, tetracycline và trimethoprim/sulfamethoxazole. Riêng dạng kháng kết hợp ba loại thuốc kháng sinh dùng trị bệnh ở người là CHL, ampicillin và tetracycline chiếm đến 46%. Qua kết quả MIC cho thấy hiện tượng đa kháng với nhiều loại kháng sinh lại có xu hướng

hường tỉ lệ thuận với giá trị MIC ≥ 512 ppm. Giá trị MIC tối đa của CHL lên các chủng vi khuẩn thí nghiệm ở mức rất cao (≥ 1.024 ppm) và có đến 91% các dòng vi khuẩn thử nghiệm có giá trị MIC dao động từ 512 đến ≥ 1.024 ppm. Trong đó, có 55% dòng thử nghiệm có giá trị MIC là 512 ppm và 36% dòng có giá trị MIC là 1.240 ppm. Các số liệu nêu trên cho thấy mối nguy của việc sử dụng thuốc kháng sinh không hợp lý trong thủy sản ở vùng ĐBSCL. Theo Wegener *et al.* (1999) và Inglis (2000) thì các chất diệt khuẩn trong đó có kháng sinh có thể được đưa vào môi trường nước qua thức ăn, từ thức ăn thừa có trộn thuốc hoặc từ sản phẩm bài tiết của vật nuôi. Những yếu tố đặc biệt nguy hiểm cho sự hình thành tính kháng thuốc là việc sử dụng thuốc ở mức thấp hơn liều dùng để chữa trị và sự kết hợp một cách bất hợp lý các loại thuốc kháng sinh (Wegener *et al.*, 1999; Inglis, 2000; Threlfall *et al.*, 2000). Vấn đề được đặt ra là làm sao quản lý môi trường nuôi cũng như quản lý dịch bệnh tốt trong điều kiện sử dụng thật hạn chế thuốc kháng sinh cũng như việc áp dụng những biện pháp quản lý hiệu quả về sinh thái môi trường nhằm khống chế những ảnh hưởng do hiện tượng kháng thuốc gây nên.

5 KẾT LUẬN

Mặc dù nghề nuôi thủy sản ở vùng ĐBSCL mới phát triển mạnh trong những năm gần đây nhưng việc sử dụng thuốc kháng sinh để phòng trị bệnh cho các đối tượng nuôi thủy sản đang là vấn đề cần được cân nhắc thận trọng. Kết quả nghiên cứu về tính đơn và đa kháng với thuốc kháng sinh cho thấy hiện tượng đơn kháng chiếm tỉ lệ rất thấp và phần lớn các dòng vi khuẩn thử nghiệm có khả năng kháng với 4-6 loại kháng sinh. Những dòng vi khuẩn có tính kháng với nhiều loại thuốc kháng sinh thường có giá trị MIC ≥ 512 ppm, cao hơn so với những dòng vi khuẩn chỉ kháng với 1-3 loại thuốc kháng sinh. Để ngăn ngừa sự phát tán gen kháng thuốc kháng sinh trong môi trường và vật nuôi cũng như nguy cơ hình thành tính đa kháng ở mầm bệnh vi khuẩn gây bệnh ở người thì việc đề xuất các giải pháp quản lý việc sử dụng thuốc kháng sinh trong nuôi thủy sản có tính chất cần thiết và cấp bách.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ về mặt tài chính của EU thông qua dự án ASIARESIST để thực hiện nghiên cứu về vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản ở ĐBSCL, Việt Nam. Chúng tôi cũng xin gửi lời cảm ơn đến các cán bộ nghiên cứu của Trung tâm Quản lý Dịch Bệnh Thủy sản thuộc Khoa Thủy sản đã tham gia thực hiện các thử nghiệm xác định tính kháng thuốc và MIC.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anon., 1999. Market Information 1998. Animal Health Products Association, Bangkok, Thailand.
- Austin, B. and A.M.J. Al-Zahrani. 1988. The effect of antimicrobial compounds on the gastrointestinal microflora of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* 33, 1– 14.
- Bartie, K., G. Huys, J. Swings, D.T.H. Oanh, N.T. Phuong, M. Shariff, F. Yussoff, T. Somsiri, S. Chinabut, M. Giacomini, S. Bertone and A. Teale. 2005. The ASIARESIST project: A study of antimicrobial resistance associated with Asian aquaculture environments. Workshop

on: *Antibiotic Resistance in Asian Aquaculture Environments*.
<http://www.medinfo.dist.unige.it/asiare sist/workshop/>

- Baticodos, M.C.L., C.R. Lavilla-Pitogo, E.R. Cruz-Lacicerda, L.D. de la Pena and N.A. Sunaz. 1990. Studies on the chemical control of luminous bacteria *Vibrio harveyi* and *V. splendidus* isolated from diseased *Penaeus monodon* larvae and rearing water. *Diseases of Aquatic Organisms* 9, 133–139.
- Đặng Thị Hoàng Oanh, Đoàn Nhật Phương, Nguyễn Minh Hậu và Nguyễn Thanh Phương, 2004. Thiết lập bộ sưu tập vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh chloramphenicol tại Khoa Thủy sản, Đại học Cần thơ. *Tap chí nghiên cứu Khoa học, Đại học Cần thơ*, số 2: 76-81.
- DePaola, A., J.T. Peeler and G.E. Rodrick. 1995. Effect of oxytetracycline-medicated feed on antibiotic resistance of gram-negative bacteria in catfish ponds. *Applied Environmental Microbiology* 61, 2335– 2340.
- 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. *WES newsletter* No. 6.
- Hameed A.S., K.H. Rahaman, A. Alagan and K. Yoganandhan. 2003. Antibiotic resistance in bacteria isolated from hatchery-reared larvae and post-larvae of *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* 217, 39– 48.
- Huys G. 2002. Antibiotic susceptibility testing of aquaculture-associated bacteria with the disc diffusion method. *Standard Operating Procedure, Asiaresist*.
- Huys, G. , M. Cnockaert, K. Bartie, D. T. H. Oanh, N. T. Phuong, T. Somsiri, S. Chinabut, F. Yussoff, M. Shariff, M. Giacomini, S. Bertone, J. Swings and A. Teale. 2005. Intra- and interlaboratory performance of antibiotic disk diffusion susceptibility testing of bacterial control strains of relevance for monitoring aquaculture environments. *Disease of Aquatic Organisms*, Vol. 66:197-204, 2005.
- Inglis, V. (2000). Antibacterial chemotherapy in aquaculture: review of practice, associated risks and need for action. In: *Use of Chemicals in Aquaculture in Asia* (edited by J. R. Arthur, C. R. Larilla-Pitogo & R. P. Subasinghe), Pp. 7–22. *Proceedings of the Meeting on the Use of Chemicals in Aquaculture in Asia, 20–22 May 1996, Tigbauan, Iloilo, Philippines*. Tigbauan, Iloilo, Philippines: Southeast Asian Fisheries Development Center Aquaculture Department. Development Center Aquaculture Department.
- McPhearson, R.M., A. DePaola, S.R. Zywno, M.L. Motes Jr. and A.M. Guarino. 1991. Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds. *Aquaculture* 99, 203– 211.
- Nguyễn Thị Phương Nga, 2004. Phân tích tình hình phân phối và sử dụng thuốc trong nuôi trồng thủy sản tại Sóc Trăng, Bạc Liêu và Cà Mau. *Luận án thạc sĩ Nuôi trồng thủy sản*. Khoa Thủy sản, Đại học Cần thơ.
- Petersen, A. and A. Dalsgaard., 2003. Antimicrobial resistance of intestinal *Aeromonas* spp. and *Enterococcus* spp. in fish cultured in integrated broiler-fish farms in Thailand. *Aquaculture* 219, 71–82.
- Phạm Thanh Tuấn, 2004. Khảo sát bước đầu về tình hình sử dụng thuốc và hóa chất trong nghề nuôi cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) thâm canh ở Đồng Tháp. *Luận án tốt nghiệp Đại học*. Khoa Thủy sản, Đại học Cần thơ.
- Tendencia, E.L. and L.D. de la Pena., 2001. Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds. *Aquaculture* 195, 193– 204.
- Threlfall, E.J., L.R. Ward, J.A. Frost and G.A. Willshaw. 2000. The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 1–5.
- Wegener, H.C., F.M. Aarestrup, P. Gerner-Smidt and F. Bager. 1999. Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man. *Acta Veterinaria Scandinavia, Supplementum*, 92, 51–57.