



TÌNH HÌNH NHIỄM VI KHUẨN *VIBRIO* SPP. TRÊN TÔM BẠC (*PENAEUS MERGUIENSIS*), TÔM SÚ (*PENAEUS MONODON*), TÔM RÃO ĐẤT (*METAPENAEUS ENSIS*) TẠI MỘT SỐ CHỢ THUỘC QUẬN NINH KIỀU THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Nguyễn Thu Tâm¹, Nguyễn Phúc Khánh¹ và Phan Thị Hồng Nhung²

¹ Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

² Sinh viên Thú Y K35, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 26/9/2014

Ngày chấp nhận: 07/11/2014

Title:

Contamination of *Vibrio* spp. on *Penaeus merguisis*, *Penaeus monodon*, *Penaeus ensis* in some markets in Ninh Kieu District, Cantho City

Từ khóa:

Tôm, *Vibrio*

Keywords:

Vibrio, shrimp

ABSTRACT

From December 2012 to May 2013, 120 samples (43 Su shrimp, 43 Bac shrimp and 34 Rao Dat shrimp) were collected from some markets in Can Tho city to isolate *Vibrio* spp. bacteria by using ISO/TS 21872-2:2007 standard. The results showed high proportion positive with *Vibrio* spp. 16,66% (20/120). The rate of *Vibrio* spp. from Su shrimp, Rao Dat shrimp and Bac shrimp was 20,93%, 17,65% and 11,63% respectively. By chemical tests, *Vibrio cholerae* (11,11%) and *Vibrio fluvialis* (22,22%) were found in Su shrimp. However *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus* were found in Bac shrimp with 40% and 20%, respectively. *Vibrio fluvialis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* were found in Rao Dat shrimp with the same rate (16,66%). *Vibrio* spp. were sensitive with Doxycycline, Gentamicin, Bactrim, Amoxicillin and Norfloxacin in antibiotic test. *Vibrio* spp. were multiresistance with (Ax+Bt), (Nr+Bt) (10%) and (Bt, Ax, Ge)(5%).

TÓM TẮT

Từ tháng 12/2012 đến tháng 5/2013, 120 mẫu (bao gồm 43 mẫu tôm Sú, 43 mẫu tôm Bạc và 34 mẫu tôm Rảo Đất) được thu thập tại một số chợ thuộc quận Ninh Kiều – Thành phố Cần Thơ nhằm xác định sự hiện diện của vi khuẩn *Vibrio* spp. theo tiêu chuẩn ISO/TS 21872-2:2007. Kết quả ghi nhận được như sau: tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Vibrio* spp. ở các mẫu kiểm tra khá cao 16,66% (20/120), trong đó mẫu tôm Sú nhiễm 20,93%, tôm Rảo Đất 17,65% và tôm Bạc nhiễm 11,63%. Bằng các thử nghiệm sinh hóa đặc biệt, xác định được sự hiện diện của 2 chủng vi khuẩn *Vibrio cholerae* và *Vibrio fluvialis* ở tôm Sú với tỷ lệ lần lượt là 11,11% và 22,22%. Ở các mẫu tôm Bạc, tỷ lệ nhiễm *Vibrio cholerae* và *Vibrio vulnificus* lần lượt là 40% và 20%. Sự hiện diện của 3 chủng *Vibrio fluvialis*, *Vibrio cholerae* và *Vibrio vulnificus* trên tôm Rảo Đất là như nhau (16,66%). Kết quả kiểm tra kháng sinh đồ, cho thấy vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập được nhạy cảm hoàn toàn với 2 loại kháng sinh là Doxycycline, Gentamicin, nhạy cảm cao với Bactrim, Amoxicillin và Norfloxacin với tỷ lệ lần lượt là 80%, 80% và 95%. Có hiện tượng đa kháng với 2 loại kháng sinh (Ax+Bt), (Nr+Bt) chiếm tỷ lệ 10% và kháng với 3 loại kháng sinh (Bt, Ax, Ge) chiếm tỷ lệ 5%.

1 GIỚI THIỆU

Vi khuẩn *Vibrio* spp. là một trong những vi khuẩn nguy hiểm vì nó không những là tác gây bệnh quan trọng mà còn có thể gây ngộ độc thực phẩm ở người. Hiện nay, bệnh truyền nhiễm do nhóm vi khuẩn *Vibrio* spp. trên thủy sản đặc biệt là trên tôm được xem là tác nhân gây bệnh đáng được quan tâm, làm ảnh hưởng rất lớn đến sản lượng tôm nuôi hàng năm (Nguyễn Văn Hào, 2000). Bên cạnh đó, cơ quan đích của vi khuẩn *Vibrio* spp. thường là khối gan tụy của tôm (Chan, 1989). Đây cũng chính là nguyên nhân làm lây truyền nhiều bệnh đường tiêu hóa, trong đó có bệnh dịch tả, cho người ăn các món ăn tái hoặc sống từ tôm.

Nghiên cứu này nhằm xác định tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên tôm, định danh một số loài vi khuẩn *Vibrio* spp. và xác định tính nhạy cảm đối với một số loại kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập được trên tôm tại quận Ninh Kiều - Thành phố Cần Thơ.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Tôm Sú, tôm Bạc và tôm Rào Đất được thu thập từ một số chợ thuộc quận Ninh Kiều, Thành phố Cần Thơ.

2.2 Phương pháp lấy mẫu

Tổng số 120 mẫu, bao gồm 43 mẫu tôm Sú, 43 mẫu tôm Bạc và 34 mẫu tôm Rào Đất được lấy tại các sạp ở một số chợ như chợ An Hòa, chợ An Nghiệp, chợ Cái Khế, chợ Hưng Lợi, chợ Tân An, chợ Xuân Khánh, một cửa hàng hải sản tươi sống và một siêu thị thuộc quận Ninh Kiều - Thành phố Cần Thơ. Mẫu được lấy ở 3 vị trí khác nhau, mỗi vị trí lấy 1 con tôm. Đối với tôm sống ở cửa hàng hải sản tươi sống và siêu thị mẫu được lấy ngẫu nhiên 3 con. Các mẫu được bảo quản và đem về phòng thí nghiệm phân tích. Tổng số mẫu thu thập trong

quá trình thí nghiệm là 120, gồm: 43 mẫu tôm Sú, 34 mẫu tôm Rào Đất và 43 mẫu tôm Bạc.

2.3 Phương pháp nuôi cấy phân lập

2.3.1 Tăng sinh

Mẫu được cân và làm nhuyễn, sau đó cho vào môi trường tăng sinh. Mẫu sau khi cho vào môi trường ASPW có chứa nồng độ muối NaCl là 2%, được ủ ở 37°C trong 24 giờ.

2.3.2 Phương pháp xác định khuẩn lạc

Cấy chuyển mẫu từ môi trường tăng sinh sang môi trường chọn lọc TCBS, ủ ở 37°C trong 24 giờ. Hình thái và màu sắc khuẩn lạc để xác định. *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. mimicus* được thực hiện theo phương pháp của tiêu chuẩn ISO/TS 21872-2: 2007.

2.3.3 Kiểm tra các đặc tính sinh hóa

Các chủng vi khuẩn phân lập được tiến hành kiểm tra đặc tính sinh hóa dựa theo tiêu chuẩn ISO/TS 21872-2: 2007.

2.3.4 Kháng sinh đồ

Kiểm tra độ nhạy của các kháng sinh Amoxicillin (Ax), Doxycycline (Dx), Gentamicin (Ge), Norfoxacin (Nr), Bactrim (Bt) đối với vi khuẩn phân lập được bằng cách trải đều canh khuẩn (10^8 CFU/ml-độ đục tương đương với ống Mc Farland 0.5 lên mặt thạch MHA. Đặt các đĩa kháng sinh sao cho hai đĩa cách nhau 2,5 cm - 3,5 cm và cách mép hộp thạch 2 cm - 2,5 cm, ủ ở 37°C trong 24 giờ.

Kết quả kháng sinh đồ được xác định bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn sau đó so sánh với bảng tiêu chuẩn đường kính vòng vô khuẩn của Viện tiêu chuẩn lâm sàng và xét nghiệm (CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute) (CLSI, 2011).

Bảng 1: Tiêu chuẩn đường kính vòng vô khuẩn của kháng sinh (CLSI, 2011. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing)

Tên Kháng	Kí hiệu	Hàm lượng	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
			Nhạy	Trung gian	Kháng
Norfloxacin	Nr	10	≥ 17	13-16	≤ 12
Doxycycline	Dx	30	≥ 14	11-13	≤ 10
Amoxicilin	Ax	10	≥ 17	14-16	≤ 13
Bactrim	Bt	1,25/23,75	≥ 16	11-15	≤ 10
Gentamicin	Ge	10	≥ 15	13-14	≤ 12

- Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng chương trình Excel 2007 và phần mềm

thống kê Minitab 16. Số liệu >5 dùng Chi square . <2 dùng Fisher exactly test.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả nuôi cấy phân lập vi khuẩn

Vibrio spp. trên tôm Sú, tôm Bạc, tôm Rào Đất

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Vibrio* spp. trên tôm Sú, tôm Bạc, tôm Rào Đất chiếm 16,66%. Tỷ lệ nhiễm này khá cao, điều này cũng có thể giải thích là do tôm Sú, tôm Bạc, tôm Rào Đất sống trong môi trường nước có sự biến động về nồng độ muối mà vi khuẩn *Vibrio* spp. lại là loài ưa muối, cần muối để phát triển, chúng phân bố rộng ở các khu vực nước mặn, vùng nước ven biển, cửa sông và các khu vực nuôi trồng thủy hải sản (Nguyễn Thị Hiền và ctv., 2009). Mặt khác, theo Oliver and Kaper (1997), vi khuẩn *Vibrio* spp. thường sống ở các vùng ôn đới và nhiệt đới mà nước ta lại có khí hậu nóng ẩm, điều này rất thuận lợi cho vi khuẩn *Vibrio* spp. phát triển.

Bảng 2: Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Vibrio* spp. trên tôm Sú, tôm Bạc, tôm Rào Đất

Mẫu	Số mẫu phân lập	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Tôm Sú	43	9	20,93
Tôm Bạc	43	5	11,63
Tôm Rào Đất	34	6	17,65
			P> 0,05
Tổng	120	20	16,66

Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Vibrio* spp. trên tôm Sú là 20,93% cao hơn tôm Rào Đất là 17,65% và thấp nhất là tôm Bạc là 11,63%. Tuy nhiên, sự khác biệt này là không có ý nghĩa thống kê ($p>0.05$). Điều này có thể là do các tôm được lấy ở cùng một thời điểm, cùng nguồn cung cấp tôm cho các sạp bán ở các chợ (vì qua việc điều tra khi thu thập mẫu được biết tôm bán ở các chợ hầu hết được lấy từ một chợ đầu mối).

3.2 Khảo sát tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên tôm Sú, tôm Bạc, tôm Rào Đất theo địa điểm lấy mẫu

Kết quả Bảng 3 cho thấy tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Vibrio* spp. trên tôm ở chợ G cao nhất chiếm 28,57% và thấp nhất ở chợ C có 5,55%. Sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê (NS> 0.05). **Nguyên nhân có thể là do các sạp thu mua tôm từ một nguồn cung cấp** đồng thời số mẫu nghiên cứu chưa đủ lớn để thể hiện sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp trên tôm ở các chợ.

Bảng 3: Tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên các loại tôm theo địa điểm lấy mẫu

Chợ	Số mẫu phân lập (mẫu)	Số mẫu <i>Vibrio</i> spp. dương tính (mẫu)	Tỷ lệ (%)
A	15	2	13,33
B	17	1	5,88
C	18	1	5,55
D	15	3	20
E	16	2	12,5
F	18	5	27,77
G	21	6	28,57
NS			

3.3 Kết quả định danh một số loài *Vibrio* spp. phân lập được trên tôm Sú, tôm Bạc, tôm Rào Đất bằng phản ứng sinh hóa

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Vibrio* spp. trên tôm Sú khá cao chiếm 33,33%, đồng thời có 2 loài *Vibrio* spp. được tìm thấy là *V. fluvialis* (22,22%) và *V. cholerae* (11,11%). Sự vậy nhiễm của 2 loài này trên tôm Sú có thể là do nhóm vi khuẩn *Vibrio* spp. tồn tại ở môi trường nước ao nuôi tôm Sú. Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê (NS). Theo Chan, (1989) cho rằng thời gian nuôi tôm càng dài thì thành phần và số lượng các loài vi khuẩn càng cao, mật độ vi khuẩn *Vibrio* nhiều nhất ở giai đoạn 90–120 ngày nuôi. Đồng thời cũng có thể bị vậy nhiễm vi khuẩn *Vibrio* từ một số loài thủy hải sản khác. Bởi loài vi khuẩn *Vibrio* spp. thường sống ven bờ sông, gần cửa biển nơi có nước mặn đổ vào và thường gây bệnh trên các loài thủy hải sản khác nhau, nên khả năng tôm Sú bị lây nhiễm là rất cao. Theo Bùi Quang Tề, (2006) thì vi khuẩn *Vibrio* spp. thường gây bệnh ở động vật thủy sản nước mặn và nước ngọt: cá, giáp xác, nhuyễn thể...

Bảng 4: Tỷ lệ nhiễm một số loài *Vibrio* spp. trên tôm Sú

Chủng <i>Vibrio</i>	Số mẫu phân lập	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
<i>V. cholerae</i>	9	1	11,11
<i>V. fluvialis</i>	9	2	22,22
NS			
Tổng	9	3	33,33

Bảng 5: Tỷ lệ nhiễm một số loài *Vibrio* spp. trên tôm Bạc

Chủng <i>Vibrio</i>	Số mẫu phân lập	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
<i>V. cholerae</i>	5	2	40
<i>V. vulnificus</i>	5	1	20
Tổng	5	3	60

Bảng 5 cho thấy tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Vibrio* spp. trên tôm Bạc cao (60%). Trong đó *V. cholerae* chiếm 40%, và *V. vulnificus* là 20%. Tuy nhiên, tỷ lệ nhiễm 2 chủng này là khác nhau không có ý nghĩa thống kê. *V. cholerae* chiếm tỷ lệ khá cao, đây là mối nguy cơ đối với sức khỏe người tiêu dùng đặc biệt là người hay ăn hải sản chín tái vì đây là loài gây bệnh dịch tả ở người. *V. cholerae* được tìm thấy trong tôm Bạc có thể do bị ảnh hưởng từ nguồn nước bị nhiễm khuẩn.

Các chủng *Vibrio* được tìm thấy trên tôm Rào Đất là *V. cholerae*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* đều chiếm tỷ lệ giống là 16.66%. Nguyên nhân có thể

là do tôm được lấy ở các nguồn giống nhau. Loài vi khuẩn *V. fluvialis* được tìm thấy trên tôm Rào Đất có thể là do vậy nhiễm từ môi trường nước ao nuôi tôm. Theo Lee và ctv. (1981) thì vi khuẩn *V. fluvialis* phân bố rộng rãi khắp thế giới, ở các vùng nước ngọt và nước lợ cửa sông.

Bảng 6: Kết quả định danh các chủng *Vibrio* trên tôm Rào Đất

Chủng <i>Vibrio</i>	Số mẫu phân lập	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
<i>V. cholerae</i>	6	1	16,66
<i>V. vulnificus</i>	6	1	16,66
<i>V. fluvialis</i>	6	1	16,66
Tổng	6	3	49,98

3.4 Kết quả kiểm tra sự nhạy cảm của vi khuẩn *Vibrio* spp. phân lập được đối với kháng sinh

Qua kết quả bảng trên cho thấy các chủng vi khuẩn *Vibrio* phân lập được đều nhạy cảm cao với 5 loại kháng sinh sử dụng Gentamicin (100%), Doxycycline (100%), Norfloxacin (95%), Amoxicillin (80%) và Bactrim (80%).

Bảng 7: Kết quả kiểm tra tính nhạy cảm của vi khuẩn đối với kháng sinh

Tên kháng sinh	Kí hiệu	Tổng số mẫu	Nhạy		Trung gian		Kháng	
			Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Norfloxacin	Nr	20	19	95	0	0	1	5
Doxycycline	Dx	20	20	100	0	0	0	0
Amoxicillin	Ax	20	16	80	1	5	3	15
Bactrim	Bt	20	16	80	3	15	1	5
Gentamicin	Ge	20	20	100	0	0	0	0

3.5 Kết quả kiểm tra tính đa kháng của vi khuẩn *Vibrio* phân lập được trên tôm Sú, tôm Bạc, tôm Rào Đất đối với các loại kháng sinh

Kết quả ở Bảng 8 cho thấy, vi khuẩn *Vibrio* phân lập được đã kháng đồng thời nhiều loại kháng

sinh chiếm tỷ lệ 15%. Trong đó, kháng với 2 loại kháng sinh (Norlfoxacin + Bactrim, Amoxicillin + Bactrim) có 2 mẫu và kháng với 3 loại kháng sinh (Amoxicillin+Doxycycline+ Bactrim) có 1 mẫu.

Bảng 8: Kết quả kiểm tra tính đa kháng của vi khuẩn *Vibrio* phân lập được đối với các loại kháng sinh (n = 20)

Số loại kháng sinh bị vi khuẩn <i>Vibrio</i> spp. kháng (loại)	Số lượng mẫu (mẫu)	Số lượng mẫu (mẫu)	Tỷ lệ (%)
2 Nr+Bt	20	1	5
2 Ax+Bt	20	1	5
3 (Ax+Bt+Ge)	20	1	5
Tổng	20	3	15

4 KẾT LUẬN

Có sự hiện diện của vi khuẩn *Vibrio* spp. trên tôm Sú, tôm Bạc và tôm Rào Đất với tỷ lệ khá cao (16.66%), và tỷ lệ nhiễm *Vibrio* spp. trên tôm Sú (20,93%), tôm Rào đất (17,65%), tôm Bạc

(11,63%) là không khác nhau. Trong 20 mẫu dương tính định danh được một số loài *Vibrio* spp. hiện diện trên tôm Sú, tôm Bạc, tôm Rào Đất là *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. cholerae*. Đặc biệt loài *V. cholerae* chiếm tỷ lệ cao nhất (40%) ở tôm Bạc, 20% ở tôm Rào Đất và 11,11% ở tôm Sú.

Vi khuẩn *Vibrio* đều nhạy cảm cao Doxycycline (100%), Gentamicin (100%), Norfloxacin (95%), Amoxicillin (80%) và Bactrim (80%). Tuy vi khuẩn *Vibrio* phân lập được có tỷ lệ kháng thấp nhưng đã có biểu hiện đa kháng với 2 loại kháng sinh (Amoxicillin + Bactrim, Bactrim + Norfloxacin) 10%, kháng với 3 loại kháng sinh (Amoxicillin + Doxycycline + Bactrim) 5%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Quang Tề, 1996. *Bệnh tôm cá và giải pháp phòng trị*. Tạp chí thủy sản số 4/1996.
2. Đặng Thị Hoàng Oanh và Đoàn Nhật Phương, 2006. “Xác định vị trí phân loại và khả năng kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* phát sáng phân lập từ hậu ấu trùng tôm sú (*Penaeus monodon*)”. *Tạp chí Nghiên cứu Khoa học*, Đại học Cần Thơ, trang 42 – 52.
3. Huỳnh Kim Diệu, 2010. *Thú Y – Cơ sở dược lý trong điều trị*. NXB Nông nghiệp, TP HCM.
4. Nguyễn Thị Xuân Trang và Nguyễn Ngọc Tuấn, 2012. “Tần số xuất hiện *Vibrio cholerae* trên tôm và nhuyễn thể, xác định serogroup O₁, O₁₃₉ và biotype của *V. cholerae* bằng kỹ thuật multiplex-PCR”. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật thú y*, Khoa Chăn nuôi thú y, Đại học Nông Lâm TP. HCM, 9(3), trang 51-59.
5. Nguyễn Công Tý và Nguyễn Duy Phong, 2006. *Những bệnh miền nhiệt đới thường gặp*. NXB Y học Hà Nội.
6. Nguyễn Văn Hào, 2000. Một số vấn đề kỹ thuật nuôi tôm Sú công nghiệp. NXB Nông nghiệp, TP Hồ Chí Minh, trang 7-14.
7. Nguyễn Thị Hiền và ctv, 2009. *Vi sinh vật tạp nhiễm trong lương thực–thực phẩm*. Đại học Bách Khoa Hà Nội.
8. Nguyễn Văn Duy và Nguyễn Thị Cẩm Ly, 2011. “Phân lập và xác định gen độc tố của *Vibrio parahaemolyticus* trong hải sản tươi sống ở Nha Trang”. *Tạp chí Khoa học – Công nghệ thủy sản*, trường Đại học Nha Trang, số 2.
9. Chan, K.U., 1989. *V. parahaemolyticus* and other halophilic *Vibrios* associated with seafood in Hong Kong. *J. Appl. Microbiol.* 66: pp. 57-64.
10. Lee, J.V.; Shread, P.; Furniss, A.L.; Bryant, T.N, 1981. Taxonomy and description of *Vibrio fluvialis* sp nov (Synonym Group F vibrios, Group EF-6. *J. Appl. Bacteriol.* pp. 73-94.
11. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic *Vibrio* spp. Part 2: Detection of species other than *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio Cholerae*. ISO/TS 21872-2, First edition 15/4/2007.
12. Oliver JD, Kaper JB, 1997. *Vibrio* species. In: Doyle MP, ed. *Food microbiology, fundamentals and frontiers*. Washington, DC, ASM Press: pp. 228-264.