



## SỰ HIỆN DIỆN CỦA CÁC INTEGRON NHÓM 1 Ở VI KHUẨN *Aeromonas hydrophila* GÂY BỆNH TRÊN CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*) NUÔI THÂM CANH Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Quách Văn Cao Thi<sup>1</sup>, Huỳnh Thị Diễm Trang<sup>2</sup> và Từ Thanh Dung<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Trường Cao đẳng Cộng đồng Vĩnh Long

<sup>2</sup> Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 03/02/2015

Ngày chấp nhận: 28/10/2015

### Title:

The presence of class 1 integrons in *Aeromonas hydrophila* causes disease on striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) farmed in the Mekong Delta

### Từ khóa:

*Aeromonas hydrophila*, Đồng bằng sông Cửu Long, integron, kháng sinh, *Pangasianodon hypophthalmus*

### Keywords:

*Aeromonas hydrophila*, antibiotic, integron, Mekong Delta, *Pangasianodon hypophthalmus*

### ABSTRACT

The objective of this study was to detect the presence of class 1 integrons in *A. hydrophila* that caused haemorrhagic disease on striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in the Mekong Delta. A total of 40 *A. hydrophila* isolates were collected from 2013 to 2014. These isolates were screened against 15 antimicrobial agents by disk diffusion method. The results showed that 80% *A. hydrophila* isolates displayed multiple resistant phenotypes. Thirty - two *A. hydrophila* isolates were chosen to determine the presence of class 1 integrons by PCR (Polymerase chain reaction). The results indicated the percentage of class 1 integrons in *A. hydrophila* isolates were 21,9%. The presence of the mobile genetic elements (class 1 integrons) in *A. hydrophila* in this research showed the ability that bacteria can transfer antimicrobial resistance genes to other bacteria in the aquatic environment. Therefore, using antibiotics for disease prevention in aquaculture should be managed more strictly.

### TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là khảo sát sự hiện diện của các integron nhóm 1 ở vi khuẩn *A. hydrophila* gây bệnh xuất huyết trên cá tra nuôi ở Đồng bằng sông Cửu Long. Tổng cộng, đề tài đã phân lập được 40 dòng vi khuẩn *A. hydrophila* trong thời gian từ năm 2013 đến năm 2014. Các dòng vi khuẩn được kiểm tra kháng sinh đồ bằng phương pháp đĩa khuếch tán với 15 loại kháng sinh. Kết quả cho thấy 80% các dòng vi khuẩn *A. hydrophila* thể hiện sự đa kháng thuốc. Ba mươi hai dòng vi khuẩn được chọn để xác định sự hiện diện của integron nhóm 1 bằng kỹ thuật PCR (Polymerase chain reaction). Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỉ lệ các integron nhóm 1 hiện diện ở vi khuẩn *A. hydrophila* là 21,9%. Sự hiện diện của các yếu tố di truyền vận động (các integron nhóm 1) ở vi khuẩn *A. hydrophila* trong nghiên cứu cho thấy khả năng vi khuẩn này có thể truyền gen kháng kháng sinh sang các loài vi khuẩn khác trong môi trường tự nhiên. Vì vậy, việc sử dụng thuốc kháng sinh để điều trị bệnh trong nuôi trồng thủy sản nên được quản lý chặt chẽ hơn.

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) là một trong những đối tượng thủy sản được nuôi phổ biến ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Việc thâm canh hóa với mật độ nuôi ngày càng cao đã dẫn đến tình trạng dịch bệnh xảy ra thường xuyên và gây hao hụt đáng kể cho người nuôi. Trong số các bệnh thường gặp trên cá tra thì bệnh xuất huyết do vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* và bệnh gan thận mù do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây ra là bệnh xuất hiện phổ biến và gây nhiều thiệt hại (Tư Thanh Dung và ctv., 2004). Hiện nay, ở nước ta thuốc kháng sinh thường được sử dụng để điều trị bệnh trên cá khi có dịch bệnh xảy ra. Việc sử dụng kháng sinh thường xuyên và không đúng liều lượng trong một thời gian dài đã làm phát sinh hiện tượng kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn (Tư Thanh Dung và ctv., 2008; Nguyễn Thiện Nam và ctv., 2010).

Sự kháng thuốc của vi khuẩn đang là mối quan tâm lớn cho cộng đồng vì vi khuẩn có thể truyền gen kháng thuốc sang các loài vi khuẩn khác (Davies and Davies, 2010). Sự phát tán của các gen kháng thuốc giữa các loài vi khuẩn diễn ra trong môi trường thông qua quá trình gọi là sự chuyển gen ngang (Davies and Davies, 2010). Quá trình chuyển gen ngang của vi khuẩn có thể được thực hiện thông qua các yếu tố di truyền vận động như là các plasmid tiếp hợp (conjugative plasmid), các thực khuẩn thể (phage), các gen nhảy (transposon) và đặc biệt là quá trình này được thực hiện bởi các integron.

Integron có khả năng nhận biết, bắt giữ một hay nhiều gen cassette - thường là các gen kháng thuốc kháng sinh (Cambray et al., 2010). Do đó, các vi khuẩn mang integron thường có hiện tượng đa kháng thuốc (Collis and Hall, 1992). Integron thường phổ biến ở vi khuẩn Gram âm và liên quan đến sự đa kháng thuốc ở các loài vi khuẩn thuộc họ *Enterobacteriaceae* (White et al., 2001). Hiện nay, các nhà khoa học đã phát hiện có khoảng 10 nhóm integron (Correia et al., 2003), trong đó các integron nhóm 1 và nhóm 2 xuất hiện phổ biến nhất ở các vi khuẩn có kiểu hình đa kháng và thường được quan tâm nhất do khả năng bắt giữ và phát tán các gen kháng thuốc kháng sinh của chúng trong cùng loài hay khác loài vi khuẩn với nhau (White et al., 2001).

Hiện nay, ở Việt Nam đã có khá nhiều nghiên cứu về tính hình kháng thuốc kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh trong nuôi trồng thủy sản (NTTS) (Tư Thanh Dung và ctv., 2008; Tư Thanh Dung và

ctv., 2009; Nguyễn Thiện Nam và ctv., 2010; Phạm Thanh Hương và ctv., 2011; Quách Văn Cao Thi và ctv., 2014), trong đó có vi khuẩn *A. hydrophila* gây bệnh trên cá tra ở ĐBSCL (Phạm Thanh Hương và ctv., 2011; Quách Văn Cao Thi và ctv., 2014). Tuy nhiên, các nghiên cứu về sự hiện diện cũng như khả năng lan truyền các gen kháng thuốc kháng sinh có liên quan đến integron của vi khuẩn này chưa được các nhà khoa học quan tâm nhiều. Do đó, việc xác định sự hiện diện của các integron ở vi khuẩn *A. hydrophila* là hết sức cần thiết. Kết quả nghiên cứu của đề tài sẽ là cơ sở và tiền đề khoa học quan trọng giúp cho các nhà khoa học có các nghiên cứu tiếp theo để hiểu rõ hơn bản chất phân tử cũng như cơ chế truyền các gen kháng thuốc kháng sinh của chúng. Từ đó, đề xuất các biện pháp làm giảm nguy cơ lan truyền các gen kháng thuốc kháng sinh giữa các loài vi khuẩn và từ vi khuẩn lây sang người nhằm góp phần bảo vệ sức khỏe cho cộng đồng.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nguồn vi khuẩn

Vi khuẩn *A. hydrophila* sử dụng trong nghiên cứu được phân lập trên cá tra có dấu hiệu bị bệnh xuất huyết phù đầu với trọng lượng khác nhau (trung bình khoảng 50-700 g) từ 18 ao nuôi thâm canh khác nhau ở các tỉnh của ĐBSCL như An Giang, Bến Tre, Đồng Tháp, Tiền Giang, Trà Vinh và Vĩnh Long. Công tác thu thập vi khuẩn được thực hiện từ 01/2013 đến 04/2014.

### 2.2 Phân lập và định danh vi khuẩn

#### 2.2.1 Phân lập vi khuẩn *A. hydrophila*

Vi khuẩn *A. hydrophila* được phân lập từ các mẫu gan, thận và tỷ tạng của cá tra bị bệnh xuất huyết, phù đầu trên môi trường Tryptic soy agar (TSA) (Merck, Đức) ủ ở nhiệt độ 28°C trong 24 giờ. Vi khuẩn được phân lập dựa theo tài liệu hướng dẫn của Frerichs and Millar (1993). Các đặc điểm sinh lý và sinh hóa được xác định theo cẩm nang của Cowan và Steel (Barrow and Feltham, 1993).

#### 2.2.2 Định danh vi khuẩn *A. hydrophila*

DNA của các dòng vi khuẩn *A. hydrophila* trong nghiên cứu được ly trích theo phương pháp của Moore et al. (2004). Vi khuẩn được định danh dựa trên cặp mồi của Pollard et al. (1990) có trình tự như sau: mồi xuôi AeroFd: 5'-CCAA GGGGTCTGTGGCGACA-3' và mồi ngược AeroRs: 5'-TTTACCAGGTAACAGGATTG-3'. Thành phần phản ứng gồm: dung dịch đệm PCR 1X; 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 10 mM dNTPs; 5U *Taq* DNA

polymerase; 0,4  $\mu$ M mỗi xuôi (AeroFd); 0,4  $\mu$ M mỗi ngược (AeroRs) và 20 ng mẫu DNA trích từ vi khuẩn *A. hydrophila*. Chu kỳ nhiệt được thực hiện theo Panangala *et al.* (2007) như sau: biến tính ban đầu ở 95°C trong 4 phút; sau đó biến tính ở 95°C trong 30 giây, gắn mỗi ở 60°C trong 45 giây, kéo dài ở 72°C trong 30 giây, lặp lại chu kỳ trên 30 lần; cuối cùng là kéo dài ở 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR sau khi khuếch đại được điện di trên gel agarose 1,5% trong dung dịch TBE 1X. Kết quả điện di được đọc và chụp gel trên máy BioRad UV 2000 (Hoa Kỳ). Căn cứ vào thang DNA chuẩn 100 bp (Fermentas, Mỹ) để xác định kích thước đoạn DNA của vi khuẩn *A. hydrophila* là 209 bp.

**2.3 Kiểm tra kháng sinh đồ các dòng vi khuẩn**

Được thực hiện theo phương pháp đĩa khuếch tán của Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966) trên môi trường thạch TSA với 15 loại kháng sinh: Amoxicillin (AML/10 $\mu$ g), ampicillin (AMP/10 $\mu$ g), cefotaxim (CTX/30 $\mu$ g), cefalexin (CL/30  $\mu$ g), chloramfenicol (C/30 $\mu$ g), florfenicol (FFC/30 $\mu$ g), ciprofloxacin (CIP/5 $\mu$ g), enrofloxacin (ENR/5 $\mu$ g), norfloxacin (NOR/5 $\mu$ g), doxycyclin (DO/30 $\mu$ g), tetracyclin (TE/30 $\mu$ g), gentamycin (GM/10 $\mu$ g), streptomycin (S/10 $\mu$ g), neomycin (CN/30 $\mu$ g) và trimethoprim/sulfamethoxazol (SXT/1,25/23,75  $\mu$ g) (Oxoid, Anh). Đường kính vòng vô trùng (mm) được đo theo tiêu chuẩn của Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012) để xác định tính nhạy và kháng của vi khuẩn đối với các loại kháng sinh.

**2.4 Khảo sát sự hiện diện của các integron nhóm 1 ở vi khuẩn *A. hydrophila***

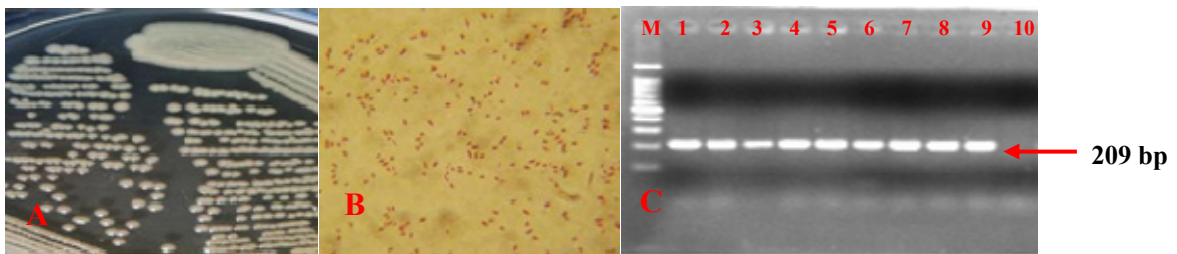
Để khảo sát sự hiện diện của các integron nhóm 1 ở các dòng vi khuẩn *A. hydrophila*, nghiên cứu sử dụng cặp mồi HS463a/HS464. Trình tự của cặp mồi lần lượt là: HS463a: 5'-CTGGATTTC

GATCACGGCACG-3'; HS464: 5'-ACATGCGTG TAAATCATCGTCG-3' được sử dụng để khuếch đại vùng gen của integron nhóm 1 (*intI1*) có kích thước là 470 bp (Barlow *et al.*, 2004). Thành phần phản ứng bao gồm: dung dịch đệm PCR 1X; 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 10 mM dNTPs; 5U *Taq* DNA polymerase; 0,4  $\mu$ M mỗi xuôi (HS463a); 0,4  $\mu$ M mỗi ngược (HS464) và 40 ng mẫu DNA trích từ vi khuẩn. Chu kỳ nhiệt để thực hiện phản ứng: biến tính ban đầu ở 94°C trong 5 phút; sau đó biến tính ở 94°C trong 30 giây, gắn mỗi ở 60°C trong 30 giây và kéo dài ở 72°C trong 45 giây, lặp lại chu kỳ trên 30 lần; cuối cùng là kéo dài ở 72°C trong 10 phút (Barlow *et al.*, 2004).

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Phân lập và định danh vi khuẩn**

Từ 63 mẫu cá tra có dấu hiệu xuất huyết, phù đầu ở các ao nuôi khác nhau, nghiên cứu đã phân lập được 40 dòng vi khuẩn *A. hydrophila* ở các tỉnh: An Giang (8 dòng), Bến Tre (10 dòng), Đồng Tháp (3 dòng), Tiền Giang (7 dòng), Vĩnh Long (8 dòng) và Trà Vinh (4 dòng). Sau 24 giờ phát triển trên môi trường TSA, các khuẩn lạc có dạng tròn, hơi lồi, ướt, nhẵn bóng, màu vàng nhạt (Hình 1A). Kết quả này giống với các mô tả trước đây của các tác giả (Shotts and Rimler, 1973; Abulhamd, 2009). Kiểm tra các chỉ tiêu cơ bản cũng cho thấy vi khuẩn dạng hình que ngắn, Gram âm (Hình 1B), di động được, catalase và oxidase dương tính. Nghiên cứu của tác giả (Cipriano, 2001) về đặc điểm sinh lý, sinh hóa của vi khuẩn *A. hydrophila* cũng cho kết quả tương tự. Điện di đoạn gen aerolysin của các dòng vi khuẩn, kết quả cho thấy 40 chủng vi khuẩn *A. hydrophila* phân lập được đều có vạch (band) ADN xuất hiện ở kích thước khoảng 209 bp (Hình 1C).



**Hình 1: Kết quả phân lập và định danh vi khuẩn *A. hydrophila***

A. Khuẩn lạc của vi khuẩn *A. hydrophila* trên môi trường TSA sau 18-24 giờ

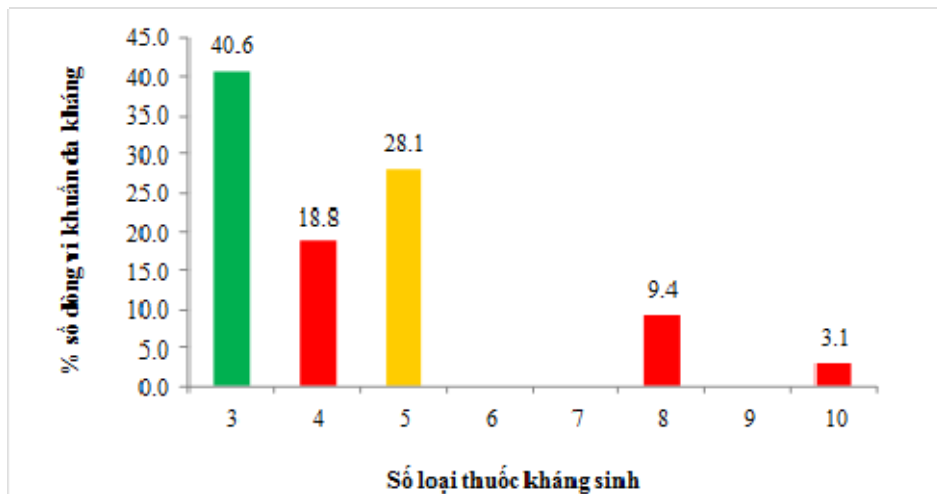
B. Vi khuẩn *A. hydrophila* Gram âm, hình que ngắn (100X); C. Kết quả điện di sản phẩm PCR vi khuẩn *A. hydrophila* bằng cặp mồi đặc hiệu

M: Thang DNA chuẩn 100 bp; 1-9: thứ tự các dòng vi khuẩn 1A3, 2A4, 3A3, 4A3, 5A3, 6A3, 8A3, 12A3, 20A3 và 10: đối chứng âm)

### 3.2 Sự đa kháng thuốc của vi khuẩn *A. hydrophila*

Điểm nổi bật của nghiên cứu là có 80% (32/40) số dòng vi khuẩn thể hiện sự đa kháng thuốc. Với 12 loại kháng sinh (do tính kháng tự nhiên của vi khuẩn *A. hydrophila* với nhóm  $\beta$  – lactam nên không tính 3 loại kháng sinh AMP, AMX và CL vào kiểu hình đa kháng) thì vi khuẩn *A. hydrophila* có kiểu hình đa kháng phổ biến từ 3 - 10 loại,

trong đó kiểu hình kháng với 3 loại kháng sinh chiếm tỷ lệ cao nhất 40,6%; tiếp theo là kháng với 5 loại chiếm tỷ lệ 28,1%; kiểu hình kháng với 4, 8 loại chiếm tỷ lệ lần lượt là 18,8% và 9,4%. Đặc biệt, có một dòng vi khuẩn đa kháng với 10 loại kháng sinh (3,1%) nhưng không có dòng vi khuẩn nào kháng cùng lúc với 6, 7 và 9 loại (Hình 3). Qua đó, ta thấy rằng trong thời điểm hiện tại rất khó tìm được loại kháng sinh để điều trị bệnh xuất huyết, phù đầu trên cá tra một cách hiệu quả nhất.



Hình 2: Tỷ lệ phần trăm (%) số dòng vi khuẩn *A. hydrophila* đa kháng thuốc

Ngoài ra, qua kết quả kiểm tra kháng sinh đồ cho thấy, có nhiều kiểu hình đa kháng khác nhau được ghi nhận. Trong đó, các kiểu hình đa kháng phổ biến của các dòng vi khuẩn này được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1: Kiểu hình đa kháng phổ biến của các dòng vi khuẩn *A. hydrophila*

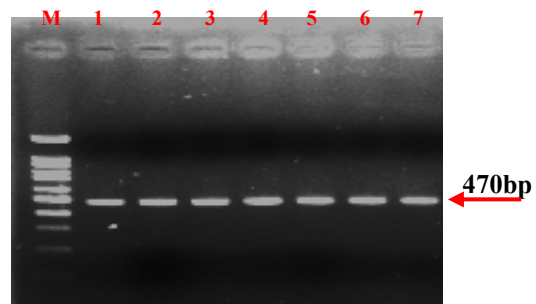
Kiểu hình đa kháng	Số dòng đa kháng	Tỷ lệ phần trăm (%)
SXT + TE + FFC	23	57,5
SXT + TE + C	17	42,5
SXT + TE + CN	13	32,5
SXT + TE + C + FFC	15	37,5
SXT + TE + FFC + CN	7	17,5
SXT + TE + FFC + CTX	6	15
SXT + TE + FFC + C + CN	8	20

Ghi chú: CTX: cefotaxim; C: chloramphenicol; CN: neomycin; FFC: florfenicol; TE: tetracycline; SXT: trimethoprim+sulfamethoxazol

### 3.3 Sự hiện diện của các integron nhóm 1 ở vi khuẩn *A. hydrophila*

Nghiên cứu thực hiện khảo sát các integron

nhóm 1 trên 32 dòng vi khuẩn *A. hydrophila*. Kết quả cho thấy, có 7/32 số dòng khảo sát có sự hiện diện của integron nhóm 1 (chiếm tỷ lệ 21,9%).



Hình 3: Kết quả khảo sát integron nhóm 1 trên các dòng vi khuẩn *A. hydrophila*

M: Thang DNA chuẩn 100 bp; Giếng 1-7 thứ tự các dòng 3A3, 8A3, 12A3, 20A3, 23A3, 2A4, 7A4

Ngoài ra, kiểu hình đa kháng của 7 dòng vi khuẩn có sự hiện diện của integron nhóm 1 cũng được ghi nhận và tất cả các dòng đều kháng hoàn toàn với SXT.



**Bảng 2: Kiểu hình đa kháng của các dòng vi khuẩn *A. hydrophila* có integron nhóm 1**

STT	Ký hiệu	Địa điểm thu mẫu	Kiểu hình đa kháng
1	23A3	Bến Tre	SXT + C+ TE
2	20A3	Vĩnh Long	C + TE + S + SXT
3	8A3	Trà Vinh	C + CN + TE + SXT
4	7A4	Tiền Giang	CN + FFC + TE + SXT
5	3A3	Trà Vinh	C + CN + FFC + TE + SXT
6	2A4	An Giang	C + CN + CTX + FFC + GM + TE + S + SXT
7	12A3	Tiền Giang	C + N + CIP + DO + FFC + ENR + GM + NOR + TE + S + SXT

Ghi chú: CTX: cefotaxim; C: chloramphenicol; CN: neomycin; CIP: ciprofloxacin; DO: doxycycline; ENR: enrofloxacin; FFC: florfenicol; GM: gentamycin; NOR: norfloxacin; TE: tetracycline; SXT: trimethoprim+sulfamethoxazol

### 3.4 Thảo luận

Do chưa có biện pháp phòng bệnh hiệu quả nên người nuôi vẫn còn phải sử dụng kháng sinh để phòng trị bệnh trên cá. Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh tràn lan và lạm dụng quá mức đã dẫn đến hiện tượng kháng thuốc của vi khuẩn. Nghiêm trọng hơn, đã có nhiều nghiên cứu chứng minh được các loài vi khuẩn ngoài việc có khả năng truyền gen kháng thuốc cho nhau còn có thể truyền các gen này cho các loài vi khuẩn khác thông qua các yếu tố di truyền di động như: plasmid tiếp hợp, transposon hoặc các integron (Kruse and Sørum, 1994; Từ Thanh Dung và ctv., 2009; Lukkana et al., 2011).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, có đến 80% số dòng vi khuẩn thể hiện sự đa kháng thuốc. Từ trước đến nay, trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về sự đa kháng thuốc của vi khuẩn *A. hydrophila*. Theo McNicol et al. (1980), có 57% dòng vi khuẩn *A. hydrophila* trong môi trường tự nhiên ở Bangladesh có hiện tượng đa kháng thuốc. Trên đối tượng thủy sản, khi kiểm tra kháng sinh đồ 14 dòng vi khuẩn *A. hydrophila* gây bệnh trên cá ở Ấn Độ, thì tất cả 14 chủng này đều đa kháng (Kashhedikar and Chhabra, 2010). Đồng thời, hiện tượng đa kháng thuốc của vi khuẩn *A. hydrophila* cũng xuất hiện rất cao (94%) trên cá rô phi ở Thái Lan (Lukkana et al., 2011). Qua đó, ta thấy rằng sự kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn *A. hydrophila* đang diễn biến hết sức phức tạp và gia tăng theo thời gian, gây nhiều khó khăn cho việc phòng trị bệnh. Vì vậy, việc nghiên cứu các biện pháp mới để phòng bệnh trên cá là cần thiết.

Integron có vai trò quan trọng trong việc làm lan truyền sự kháng thuốc ở các loài vi khuẩn. Từ trước đến nay trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về sự hiện diện của integron nhưng chủ yếu là ở vi khuẩn gây bệnh trên người, gia súc, gia cầm hoặc trong môi trường (Iversen et al., 2003; Barlow et

al., 2004; Yang et al., 2010; Odumoso et al., 2013) còn trên động vật thủy sản thì hạn chế. Tuy nhiên, Ndi and Barton (2012) đã ghi nhận có 23% số dòng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. phân lập trên cá hồi và trong bùn ở Australia có sự hiện diện của các integron nhóm 1. Ngoài ra, integron nhóm 1 còn xuất hiện ở vi khuẩn *E. coli* trên cá da trơn ở Mỹ (Nawaz et al., 2009). Đối với *Aeromonas* spp. gây bệnh trên cá sự hiện diện của integron nhóm 1 ở giống vi khuẩn này đã được ghi nhận ở nhiều nơi trên thế giới. Năm 2001, L'abée-Lund and Sørum trong nghiên cứu của mình đã phát hiện integron nhóm 1 trên vi khuẩn *A. salmonicida* ở Hà Lan, Na Uy, Scotland, Pháp, Nhật và Mỹ với tổng tỷ lệ 55,3%. Đồng thời, các integron nhóm này cũng được ghi nhận ở vi khuẩn *A. hydrophila* gây bệnh trên cá rô phi ở Thái Lan với tỷ lệ 46% (Lukkana et al., 2011) và trên cá chép ở Mexico là 43,5% (Sarría-Guzmán et al., 2014).

Qua các kết quả trên cho thấy, tần số xuất hiện của các integron ở một loài vi khuẩn trên các đối tượng khác nhau thì khác nhau và sự hiện diện của integron thì cũng không giống nhau ở các loài vi khuẩn. Nghiên cứu của Kang et al. (2005) cho thấy, sự hiện diện của các integron nhóm 1 ở các dòng vi khuẩn *E. coli* từ các động vật thì nhiều hơn từ người. Trong khi đó, nghiên cứu của Kha (2012) thì sự hiện diện của các integron nhóm 1 ở các loài vi khuẩn như *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp. và *E. coli* phân lập từ môi trường ao nuôi cá tra lần lượt là 28,3%, 32,8% và 72,7%. Nhìn chung, các integron nhóm 1 thì hiện diện phổ biến nhất ở các vi khuẩn đa kháng thuốc (White et al., 2001; Cambray et al., 2010). Ngoài ra, sự hiện diện của chúng có thể góp phần đáng kể vào việc chuyển gen ngang của các gen kháng thuốc kháng sinh giữa các loài vi khuẩn từ các nguồn hoặc các vùng địa lý khác nhau. Trong nghiên cứu này, tất cả các chủng vi khuẩn *A. hydrophila* được khảo sát có các integron nhóm 1 hiện diện đều có kiểu hình đa

kháng và kháng với SXT. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây của Lukkana *et al.* (2011) và Kha (2012).

Tóm lại, việc đề kháng với thuốc kháng sinh của vi khuẩn *A. hydrophila* là rất cao và tăng dần theo thời gian. Sự hiện diện của integron nhóm 1 trên các dòng vi khuẩn khảo sát, chứng tỏ vi khuẩn *A. hydrophila* có khả năng lan truyền gen kháng kháng sinh cho các loài vi khuẩn khác. Vì vậy, người nuôi nên cân nhắc và chỉ sử dụng kháng sinh khi thật cần thiết để điều trị bệnh trên cá nhằm hạn chế sự kháng thuốc và lan truyền gen kháng thuốc sang các loài vi khuẩn khác, đặc biệt là vi khuẩn gây bệnh cho người.

#### 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Sự đề kháng với thuốc kháng sinh của vi khuẩn *A. hydrophila* ngày càng tăng và càng có tính đa kháng với nhiều loại kháng sinh. Nghiên cứu đã phát hiện sự hiện diện của integron nhóm 1 ở vi khuẩn *A. hydrophila* là 21,9%.

Cần khảo sát thêm các nhóm khác của integron cũng như nghiên cứu đặc điểm của vùng gene cassette của vi khuẩn *A. hydrophila* gây bệnh trên cá tra nuôi ở ĐBSCL.

Cần nghiên cứu các giải pháp mới để phòng và trị bệnh vi khuẩn trên cá như nghiên cứu vắc - xin, thảo dược hoặc chế phẩm sinh học để hạn chế việc sử dụng kháng sinh trong NTTS, nhằm đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm cho người tiêu dùng và mang lại lợi ích lâu dài cho cộng đồng.

#### LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin chân thành cảm ơn Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học; Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Cần Thơ đã tạo điều kiện thực hiện nghiên cứu. Chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của bà con nuôi cá tra thâm canh tại các địa điểm thu mẫu đã hỗ trợ chúng tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abulhamd, T.A., 2009. Characterization of *Aeromonas hydrophila* isolated from aquatic environments using phenotypic and genotyping methods. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5: 923-931.

Barlow, R.S., J.M. Pemberton, P.M. Desmarchelier and K.S. Gobius, 2004. Isolation and characterization of integron-containing bacteria without antibiotic

selection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48: 838-842.

Barrow, G.I. and R.K.A. Feltham, 1993. Cowan and Steel's manual for identification of medical bacteria. Cambridge University Press.

Bauer, A.L., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris and M. Turck, 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45: 493-496.

Cambay, G., A.M. Guerout and D. Mazel, 2010. Integrons. *Annual Review of Genetics*, 44: 141-166.

Cipriano, R.C., 2001. *Aeromonas hydrophila* and motile Aeromonad epticemias of fish. *J Clin Microbiol*, 39: 1348-1357.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2012. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals; approved standard, 32(3):M100-S22. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, USA.

Correia, M., F. Boavida, F. Grosso, M.J. Salgado, L.M. Lito, J.M. Cristino, S. Mendo, A. Duarte, 2003. Molecular characterization of a new class 3 integron in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 47: 2838-2843.

Davies, J. and D. Davies, 2010. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74: 417-433.

Frerichs, G. N. and S. D. Millar, 1993. Manual for the isolation and identification of fish bacterial pathogen. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland. 60pp.

Iversen, J., D. Sandvang, A. Srijan, P.D. Cam and A. Dalsgaard, 2003. Characterization of Antimicrobial Resistance, Plasmids, and Gene Cassettes in *Shigella* spp. from patients in Vietnam. *Microbial Drug Resistance*, 9: 17-23.

Kang, H.Y., Y.S. Jeong, J.Y. Oh, S.H. Tae, C.H. Choi, D.C. Moon, W.K. Lee, Y.C. Lee, S.Y. Seol, D.T. Cho, and J.C. Lee, 2005. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 integrons found in *Escherichia coli* isolates from humans and animals in Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55: 639-644.

- Kaskhedikar, M. and D. Chhabra, 2010. Multiple drug resistance in *Aeromonas hydrophila* isolates of fish. *Veterinary World*, 3: 76-77.
- Kruse, H. and H. Sorum, 1994. Transfer of Multiple Drug Resistance Plasmids between Bacteria of Diverse Origins in Natural Microenvironments. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 4015-4021.
- L'abée-Lund, T.M. and Sørum, H., 2001. Class 1 integrons mediate antibiotic resistance in the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* worldwide. *Microbial Drug Resistance*, 7: 263-272.
- Lukkana, M., J. Wongtavatchai and R. Chuanchuen, 2011. Class 1 Integrons in *Aeromonas hydrophila* isolates from farmed Nile Tilapia (*Oreochromis nilotica*). *J Vet Met Sci*, 74: 435-440.
- McNicol, A.N., K.M.S. Aziz, I. Huq, J.B. Kaper, H.A. Lockman, E.F. Remmers, W.M. Spira, M.J. Voll and R. R. Colwell, 1980. Isolation of Drug - Resistant *Aeromonas hydrophila* from Aquatic Environments. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 17: 477-483.
- Moore, E., A. Arnscheidt, A Kruger, C. Strompl and M. Mau, 2004. Simplified protocols for preparation of genomic DNA from bacterial cultures. *Molecular Microbial Manual*, 101: 3-18.
- Nawaz, M., A.A. Khan, S. Khan, K. Sung, K. Kerdahi and R. Steele, 2009. Molecular characterization of tetracycline - resistant genes and integrons from avirulent strains of *Escherichia coli* isolated from catfish. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6: 553-559.
- Ndi, L.O. and M.D. Barton, 2012. Resistance determinants of *Pseudomonas* species from Aquaculture in Australia. *J Aquac Res Development*, 3:1.
- Nguyen Hoang Nam Kha, 2012. Molecular characterisation of antibiotic resistant bacteria isolated from farmed catfish and humans in Vietnam, PhD thesis. RMIT University, Melbourne, Victoria, Australia. 346pp.
- Nguyễn Thiện Nam, Phạm Thanh Hương, Trần Duy Phương và Từ Thanh Dung, 2010. Nghiên cứu sự đa kháng thuốc của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 14b: 200-210.
- Odumosu, T.B., B.A. Adeniyi and R. Chandra, 2013. Analysis of integrons and associated gene cassettes in clinical isolates of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* from Southwest Nigeria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 12:29.
- Panangala, V.S., C.A. Shoemaker, V.L. van Santen, K. Dybvig and P.H. Klesius, 2007. Multiplex-PCR for simultaneous detection of 3 bacterial fish pathogens, *Flavobacterium columnare*, *Edwardsiella ictaluri* and *Aeromonas hydrophila*. *Diseases of aquatic organisms*, 74: 199-208.
- Phạm Thanh Hương, Nguyễn Thiện Nam, Từ Thanh Dung và Nguyễn Anh Tuấn, 2011. Sự kháng kháng sinh của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas hydrophila* gây bệnh trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở Đồng bằng sông Cửu Long. Kỷ yếu Hội nghị khoa học Thủy sản, trường Đại học Cần Thơ, lần 4: 250-261.
- Pollard, D.R., M.V. Johnson, H. Lior, D.S. Tyler, K.R. Rozee, 1990. Detection of the aerolysin gene in *Aeromonas hydrophila* by Polymerase chain reaction. *J. Clin Microbiol*, 28: 2477-2481
- Quách Văn Cao Thi, Đặng Phạm Hòa Hiệp và Từ Thanh Dung, 2014. Hiện trạng kháng thuốc kháng sinh trên hai loài vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas hydrophila* gây bệnh trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 2: 7-14.
- Sarria-Guzmán, Y., M.P. López-Ramírez, Y. Chávez-Romero, E. Ruiz-Romero, L. Dendooven and J.M. Bello-López, 2014. Identification of antibiotic resistance cassettes in class 1 integrons in *Aeromonas* spp. strains isolated from fresh fish (*Cyprinus carpio* L.). *Curr Microbiol*, 68: 581-586.
- Shotts, E.B. and R. Rimler, 1973. Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Microbiology*, 26: 550-553.
- Tu Thanh Dung, F. Haesebrouck, Nguyễn Anh Tuấn, P. Sorgeloos, M. Baele and A. Decostere, 2008. Antimicrobial susceptibility pattern of *Edwardsiella*

- ictaluri* isolates from natural outbreaks of bacillary necrosis of *Pangasianodon hypophthalmus* in Vietnam. *Microbial drug resistance*, 14: 311-316.
- Tu Thanh Dung, F. Haesebrouck, P. Sorgeloos, Nguyen Anh Tuan and F. Pasmans, 2009. IncK plasmid-mediated tetracycline resistance in *Edwardsiella ictaluri* isolates from diseased freshwater catfish in Vietnam. *Aquaculture*, 295: 157-159.
- Từ Thanh Dung, M. Crumlish, Nguyễn Thị Như Ngọc, Nguyễn Quốc Thịnh và Đặng Thụy Mai Thy, 2004. Xác định vi khuẩn gây bệnh trắng gan trên cá tra (*Pangasius hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 137-142.
- White, P.A., C.J. McIver and W.D. Rawlinson, 2001. Integrons and gene cassettes in the *Enterobacteriaceae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45: 2658-2661.
- Yang, H., O.A. Byelashov, I. Geornaras, L.D. Goodridge, K.K. Nightingale, K.E. Belk, G.C. Smith and J.N. Sofos, 2010. Characterization and transferability of class 1 integrons in commensal bacteria isolated from farm and nonfarm environments. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7: 1441-1451.