

Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from the white-leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) collected from Binh Dien Agricultural Wholesale Market

Hue N. D. Truyen*, Thanh N. Khuu, Nhu T. B. Do, & Thu N. T. Tran

Faculty of Fisheries, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: June 18, 2021

Revised: September 10, 2021

Accepted: September 17, 2021

Keywords

Antibiotic resistance

Antibiotics

E. coli

Litopenaeus vannamei

Multidrug-resistant

***Corresponding author**

Truyen Nha Dinh Hue

Email: nhahuets@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

This study was conducted to determine the rate of antibiotic resistance, multiple antibiotic resistance of 60 *E. coli* strains isolated from white-leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) collected from Binh Dien Agricultural Wholesale Market in Ho Chi Minh City. With in 10 examined antibiotics, those *E. coli* strains showed a high resistant level to ampicillin (96.7%), streptomycin (70.0%), kanamycin (66.7%), nalidixic acid (60.0%), tetracyclines và trimethoprim/sulfamethoxazole (56.7%), ciprofloxacin (61.7%), chloramphenicol (43.3%). The percentage of multidrug-resistant strains (from 5 to 10 tested antibiotics) was 55%. All isolated, strains were insensitive to all 10 tested antibiotics. Four strains (6.7%) were found to be resistant to all these antibiotics.

Cited as: Truyen, H. N. D., Khuu, T. N., Do, N. T. B, & Tran, T. N. T. (2021). Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from the white-leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) collected from Binh Dien Agricultural Wholesale Market. *The Journal of Agriculture and Development* 20(5), 47-52.

Sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Escherichia coli* phân lập từ tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) thương mại tại chợ đầu mối nông sản Bình Điền

Truyện Nhã Định Huệ*, Khuê Nhật Thành, Đỗ Thị Bảo Như & Trần Nguyễn Thanh Thư

Khoa Thủy Sản, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 18/06/2021

Ngày chỉnh sửa: 10/09/2021

Ngày chấp nhận: 17/09/2021

Từ khóa

Đa kháng kháng sinh

E. coli

Kháng kháng sinh

Kháng sinh

Litopenaeus vannamei

*Tác giả liên hệ

Truyện Nhã Định Huệ

Email: nhahuets@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá tỷ lệ kháng kháng sinh, đa kháng kháng sinh của 60 chủng *E. coli* phân lập từ tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) thương mại tại chợ đầu mối nông sản thực phẩm Bình Điền, TP.HCM. Kết quả kiểm tra kháng sinh đồ của các chủng *E. coli* phân lập được cho thấy có tỷ lệ kháng cao với ampicillin (96,7%), streptomycin (70%), kanamycin (66,7%), nalidixic acid (60%), tetracyclines và trimethoprim/sulfamethoxazole (56,7%), đặc biệt ciprofloxacin (61,7%), chloramphenicol (43,3%). Tỷ lệ đa kháng từ 5 đến 10 loại kháng sinh là 55%, đặc biệt không có chủng nào nhạy cảm với cả 10 loại kháng sinh và có 4 chủng (chiếm 6,7%) kháng với tất cả các loại kháng sinh thử nghiệm.

1. Đặt Vấn Đề

Thủy sản đóng một vai trò quan trọng trong sự phát triển kinh tế đất nước; quy mô của ngành hiện đang ngày càng mở rộng và vai trò của ngành cũng tăng lên không ngừng trong nền kinh tế quốc dân. Từ năm 2001, xuất khẩu thủy sản Việt Nam tăng nhanh về cả giá trị và khối lượng. Trong các mặt hàng thủy sản xuất khẩu, tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) là một đối tượng chủ lực. Mặc dù, kim ngạch xuất khẩu tôm liên tục tăng trưởng, tuy nhiên ngành tôm cũng đang gặp không ít bất lợi do tác động của biến đổi khí hậu cũng như tình hình dịch bệnh. Việc sử dụng kháng sinh trong phòng và trị bệnh tạo nên các áp lực lên xuất khẩu khi hàng rào kỹ thuật về dịch bệnh, tồn dư hóa chất kháng sinh ngày càng được siết chặt.

E. coli là vi sinh vật chỉ thị phổ biến để đánh giá chất lượng thực phẩm và nước uống, một số

loài *E. coli* cũng là tác nhân gây ngộ độc thực phẩm (Nguyen & Truyen, 2019). Trong những năm gần đây, các báo cáo về *E. coli* kháng kháng sinh ngày càng nhiều, nhưng chủ yếu là trên mẫu bệnh phẩm của người và động vật trên cạn, tuy nhiên, trên động vật thủy sản thì có rất ít báo cáo. Thêm vào đó, nhu cầu sử dụng thực phẩm thủy sản tươi sống ngày càng gia tăng. Vi khuẩn cộng sinh đa kháng kháng sinh có thể lan truyền sang các vi khuẩn cộng sinh hay gây bệnh trong thủy vực và cả trên người (Heuer & ctv., 2009). Việc tìm hiểu tình hình kháng và đa kháng kháng sinh của *E. coli* trên tôm thẻ chân trắng thương mại là rất cần thiết.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 07 năm 2020 đến tháng 06 năm 2021 tại Phòng thí nghiệm Bệnh học Thủy Sản, Trường Đại học

Nông Lâm TP.HCM.

Tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) sống, có trọng lượng 20 - 25 g/con được thu mua tại Chợ đầu mối nông sản thực phẩm Bình Điền (quận 8, TP.HCM). Tôm thu mua có nguồn gốc từ nhiều tỉnh thành khác nhau như Cà Mau, Kiên Giang, Bến Tre, Đồng Nai, Bạc Liêu, TP.HCM.

Phân lập *E. coli* từ hệ đường ruột tôm dựa trên phương pháp được mô tả bởi Tonguthai & ctv. (1999) và định danh sơ bộ dựa trên phương pháp được mô tả bởi Cooke & ctv. (1969) có hiệu chỉnh để phù hợp điều kiện thực tế. Cụ thể phân lập đường ruột tôm trên môi trường chọn lọc CHROMagar™ *E. coli* (Chromagar Microbiology, Pháp). Các kiểm tra sơ bộ được thực hiện bao gồm nhuộm Gram, di động, oxidase, catalase, cấy kiểm tra trên môi trường chọn lọc Eosin Methylene Blue Agar (EMB) (Himedia, Ấn Độ) và sử dụng bộ IDS 14 GNR (Nam Khoa Biotek) cho việc định danh vi khuẩn phân lập được.

Các chủng *E.coli* được kiểm tra kháng sinh đồ theo phương pháp khuếch tán đĩa kháng sinh (CLSI, 2012). Các loại kháng sinh thử nghiệm gồm: ampicillin 10 µg (AMP), gentamicin (GEN), streptomycin 10 µg (S), kanamycin 30 µg (K), doxycycline 10 µg (DO), tetracycline 30 µg (Te), nalidixic acid 30 µg (Ng), ciprofloxacin 30 µg (Ci), trimethoprim/sulfamethoxazole 25 µg (Bt), chloramphenicol 30 µg (Cl) (Nam Khoa Biotek). Chủng đối chứng tham khảo *E.coli* ATCC 25922 được sử dụng trong mỗi đợt thí nghiệm. Biện luận đường kính vòng vô khuẩn của các vi khuẩn kiểm tra theo tiêu chuẩn của Viện Tiêu chuẩn Lâm sàng và Xét nghiệm (CLSI, 2012) từ đó đánh giá khả năng nhạy cảm của vi khuẩn đối với kháng sinh theo các mức độ nhạy, trung gian và kháng. Trong nghiên cứu này, nhiệt độ ủ của các môi trường nuôi cấy ở 30°C trong 24 giờ.

Phương pháp xử lý số liệu: Dùng phần mềm Microsoft Excel 2010 để nhập số liệu, tính giá trị trung bình và vẽ biểu đồ.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Tỷ lệ đề kháng kháng sinh

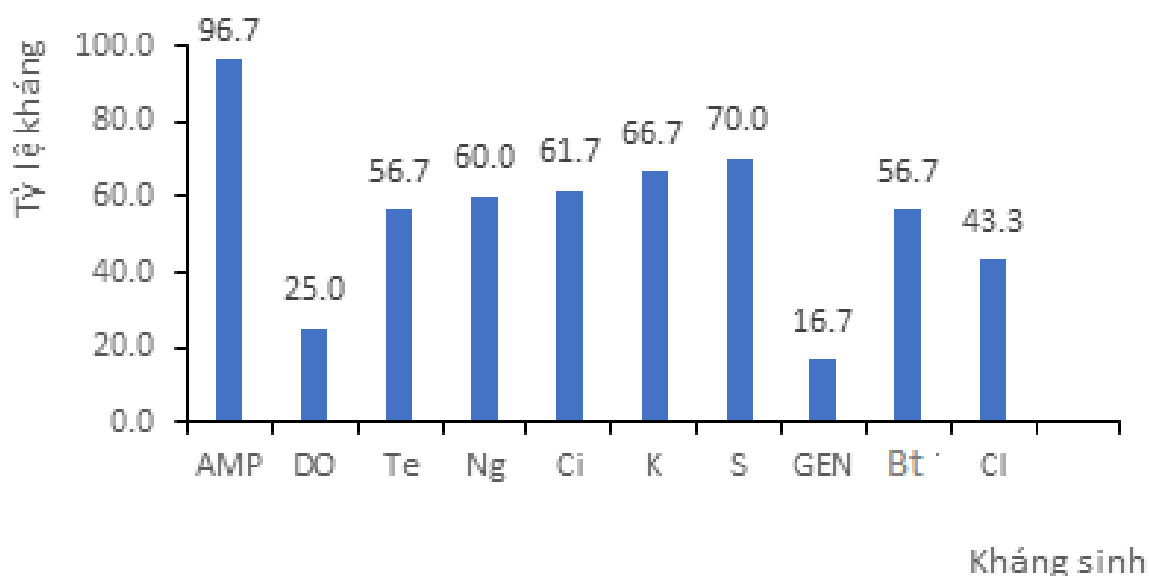
Tỷ lệ kháng kháng sinh của 60 chủng *E.coli* phân lập từ mẫu tôm thẻ với 10 loại kháng sinh thử nghiệm như sau: AMP (96,7%), S (70%), K (66,7%), Ci (61,7%), Ng (60%), Te (56,7%), Bt (56,7%), Cl (43,3%), DO (25%) và Ge (16,7%) (Hình 1). Trong đó, có 7/10 loại kháng

sinh thử nghiệm có tỷ lệ kháng cao hơn 50%. Thêm vào đó, ampicillin, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole nằm trong danh mục hạn chế sử dụng, đặc biệt là chloramphenicol và ciprofloxacin đã được đưa vào danh sách kháng sinh cấm sử dụng (MARD, 2016).

Ampicillin là kháng sinh thuộc nhóm betalactam có tác động sát khuẩn trên cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm (Nguyen & Truyen, 2019). Trong nghiên cứu này, tỷ lệ vi khuẩn *E. coli* kháng với kháng sinh ampicillin ở mức cao nhất trong các loại kháng sinh thử nghiệm lên đến 96,7%. Trên ao nuôi thủy sản, Dang (2005) đã ghi nhận kết quả 78% vi khuẩn kháng với kháng sinh ampicillin. Đặc biệt, tỷ lệ *E. coli* phân lập từ mẫu ruột tôm thương mại, kháng kháng sinh ampicillin khá cao là 83,1% (Nguyen & Truyen, 2019).

Nhóm kháng sinh aminoglycosides, trừ gentamicin, có tỷ lệ kháng khá cao so với các loại kháng sinh khác; streptomycin, kanamycin và gentamicin theo thứ tự có tỷ lệ kháng là 70%, 66,7% và 16,7%. Một số nghiên cứu về tỷ lệ kháng kháng sinh streptomycin gần đây cũng cho thấy trong nhóm aminoglycosides, streptomycin có tỷ lệ kháng cao hơn so với các loại kháng sinh còn lại cùng nhóm. Nguyen (2012) nghiên cứu trên cá da trơn tỷ lệ vi khuẩn kháng kháng sinh streptomycin là 49,7% cao hơn các kháng sinh còn lại trong nhóm (gentamycin 6,4% và kanamycin 14%). Tuy nhiên, kết quả kháng kháng sinh của nhóm aminoglycosides trong nghiên cứu này khác so với nghiên cứu của Nguyen & Truyen (2019), cụ thể, tỷ lệ kháng kháng sinh của streptomycin, kanamycin và gentamicin theo thứ tự là 31,5%, 20,8% và 26,2%. Theo Bui & ctv. (2001), streptomycin, gentamycin và neomycin ít hấp thụ qua đường tiêu hóa nên thường có thể sử dụng qua đường tiêm trong y học và thú y, do đó, chúng nên được hạn chế sử dụng trong nuôi trồng thủy sản. Theo Tolmasky (2000), vi khuẩn kháng với một kháng sinh trong nhóm aminoglycosides này có thể nhạy cảm với một kháng sinh khác cùng nhóm, vi khuẩn kháng nhanh với streptomycin có thể là do các plasmid trung gian. Vì vậy, có thể giải thích tại sao tỷ lệ kháng giữa các kháng sinh trong nhóm là khác nhau và mặc dù ít sử dụng trong nuôi trồng thủy sản nhưng tỷ lệ kháng streptomycin của vi khuẩn *E. coli* được báo cáo là khá cao.

Tetracycline được sử dụng khá lâu, phổ biến, rộng rãi trong phòng chống bệnh, thúc đẩy tăng



Hình 1. Tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* thu được.

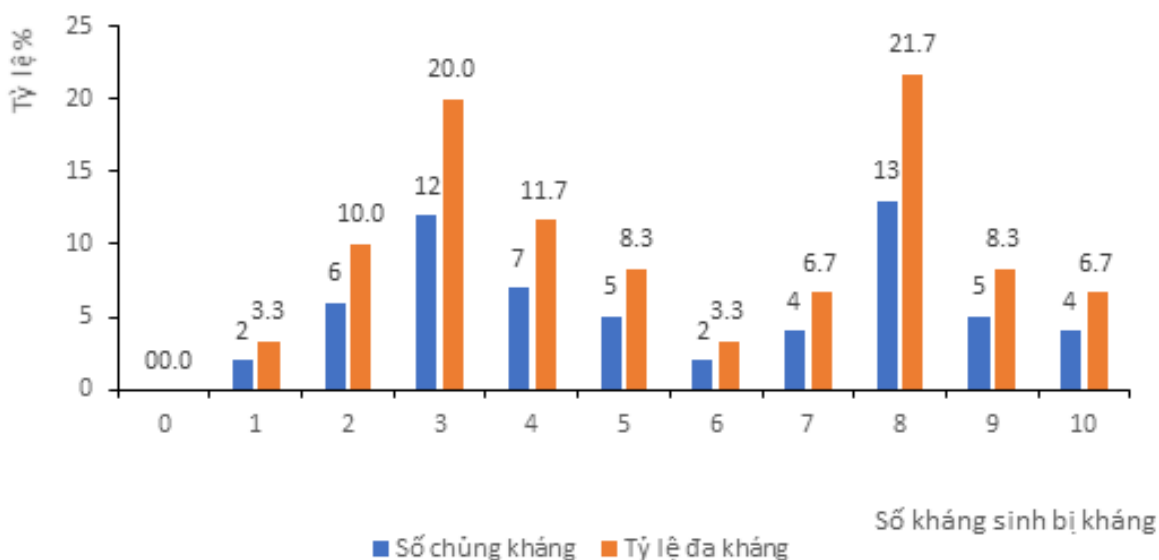
AMP: ampicillin; DO: doxycycline; Te: tetracycline; Ng: nalidixic acid; Ci: ciprofloxacin; K: kanamycin; S: streptomycin; GEN: gentamicin; Bt: trimethoprim/sulfamethoxazole; Cl: chloramphenicol.

trường và đã bị đề kháng (Roberts, 1996). Trong kết quả cho thấy, có 56,7% số chủng vi khuẩn *E. coli* kháng với tetracycline và 25% số chủng vi khuẩn *E. coli* kháng với doxycycline. Trong nghiên cứu của Nguyen & Truyen (2019), tỷ lệ *text* kháng kháng sinh tetracycline là 73,8% và doxycycline là 64,6%.

Mức độ đề kháng đối với chất ức chế nhóm tổng hợp axit folic đối với trimethoprim/sulfamethoxazole là 56,7%, chloramphenicol 43,3 và streptomycin 70%. Theo Serrano (2005), tỷ lệ kháng kháng sinh trimethoprim/sulfamethoxazole khá cao (63,6%) do kháng sinh này thường sử dụng để điều trị bệnh nhiễm khuẩn Gram âm trong nuôi trồng thủy sản ở các nước châu Á (Serrano, 2005). Ở Thái Lan, vi khuẩn kháng kháng sinh chloramphenicol, streptomycin và trimethoprim/sulfamethoxazole đã được phát hiện ở hệ thống nuôi cá kết hợp với gà (Petersen & Dalsgaard, 2003). Tỷ lệ kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* trên mẫu ruột của tôm thương phẩm mua tại các chợ trên địa bàn quận 9 và Thủ Đức là trimethoprim/sulfamethoxazole 63,2%, chloramphenicol 60,8%, streptomycin 31,5% (Nguyen & Truyen, 2019). Chloramphenicol (Cl) có tỷ lệ kháng 43,3% dù kháng sinh này đã nằm trong danh sách kháng sinh cấm sử dụng trong sản xuất, kinh doanh

thủy sản từ năm 2005. Theo Tendencia & de la Pena (2001) phân lập được vi khuẩn kháng với chloramphenicol và một số kháng sinh khác từ nước, bùn đáy ao và tôm sú nuôi từ các ao nuôi tôm. Sự kháng kháng sinh của các dòng vi khuẩn kháng chloramphenicol thu từ các ao nuôi thủy sản đã được xác định trên 196 dòng vi khuẩn được thử với sáu loại kháng sinh và kết quả kháng sinh đồ cho thấy số dòng chỉ kháng chloramphenicol chiếm tỷ lệ 2%. Phần lớn các dòng vi khuẩn thí nghiệm có thể kháng với nhiều loại kháng sinh. Có 59% dòng vi khuẩn kháng bốn hay năm loại kháng sinh trong đó có chloramphenicol. Có 34% kháng nhiều kháng sinh như chloramphenicol, ampicillin, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole hoặc chloramphenicol, ampicillin, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole và nitrofurantoin (Dang, 2005). Mặc dù bị cấm sử dụng nhưng vi khuẩn đề kháng chloramphenicol vẫn gia tăng có thể liên quan đến việc sử dụng thuốc bừa bãi, không rõ nguồn gốc của người dân.

Quinolones là một trong những loại kháng sinh được kê toa phổ biến nhất trên thế giới và được sử dụng để điều trị nhiều bệnh nhiễm khuẩn ở người. Do sử dụng rộng rãi và bị lạm dụng quá mức, số lượng chủng vi khuẩn kháng quinolones đã tăng lên đều đặn kể từ những năm 1990. Nalidixic



Hình 2. Tỷ lệ đa kháng kháng sinh tại các địa điểm thu mẫu.

acid là thế hệ thứ nhất của quinolones được đưa vào bệnh viện trong năm 1960 để điều trị các bệnh nhiễm trùng đường tiết niệu không biến chứng do vi khuẩn đường ruột. Thế hệ thứ hai ciprofloxacin đã tạo ra một loạt các quinolones thế hệ mới có hoạt động rộng hơn, đặc biệt đối với các loài Gram dương (Katie & ctv., 2014). Nhóm kháng sinh quinolones ức chế sự tổng hợp DNA của vi khuẩn thông qua việc ức chế enzyme DNA - gyrase. Từ Hình 1 cho thấy Ng có tỷ lệ kháng 60% thấp hơn ciprofloxacin (nằm trong danh sách kháng sinh cấm sử dụng trong sản xuất và kinh doanh thủy sản năm 2005) với tỷ lệ kháng 61,7%.

3.2. Tỷ lệ đa kháng kháng sinh

Theo số liệu của Hình 2 nhận thấy, không có chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập trong nghiên cứu này nhạy cảm với cả 10 loại kháng sinh thử nghiệm. Có 55% chủng vi khuẩn thể hiện tính đa kháng từ 5 - 10 loại kháng sinh thử nghiệm. Có 4 chủng *E. coli* (chiếm 6,7%) thể hiện tính kháng với 10 kháng sinh thử nghiệm. Tình hình đa kháng kháng sinh ngày càng diễn biến phức tạp một số nghiên cứu gần đây ghi nhận được một số kết quả đáng lo ngại. Theo báo cáo Nguyen & Truyen (2019), có tới 73% số chủng *E.coli* phân lập từ tôm thương phẩm thể hiện tính đa kháng với 4 - 10 loại kháng sinh thử nghiệm.

4. Kết Luận

Các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ mẫu tôm thẻ chân trắng thương mại tại chợ đầu mối Bình Điền có tỷ lệ kháng kháng sinh khá cao ở một số loại kháng sinh và có sự tương đồng với các nghiên cứu của các tác giả trước. Đặc biệt, tỷ lệ các chủng *E. coli* kháng các loại kháng sinh nằm trong danh mục kháng sinh cấm, hạn chế sử dụng của Bộ Nông nghiệp ở mức từ 43,3 - 96,7%. Tính đa kháng kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* cho thấy có 55% chủng vi khuẩn thể hiện tính đa kháng kháng sinh từ 5 - 10 loại kháng sinh thử nghiệm, trong đó có 6,7% số chủng thể hiện tính kháng với 10 loại kháng sinh.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có mâu thuẫn nào.

Lời Cảm Ơn

Tác giả trân trọng cảm ơn cô Võ Thị Trà An đã hỗ trợ chủng đối chứng *E. coli* ATCC 25922 và các bạn sinh viên Lâm Thúy Đăng, Nguyễn Ngọc Trâm, Trần Thị Bích Trâm lớp DH17NY đã hỗ trợ cho thí nghiệm.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Bui, T. K., Bui, H. K., & Bui, T. K. (2001). *Antibiotics*. Department of Science and Technology, Ba Ria Vung Tau, Vietnam.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2012). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute
- Cooke, E. M., Ewins, S., and Shooter, R. A. (1969). Changing faecal population of *Escherichia coli* in hospital medical patients. *British Medical Journal* 4, 593-595.
- Dang, O. T. H. (2005). Antibiotic susceptibility testing of aquaculture associated bacteria originating from integrated farming systems in the Mekong River Delta, Viet Nam. *Can Tho University Journal of Science* 4, 136-144.
- Heuer, O. E., Kruse, H., Grave, K., Collignon P., Karunasagar, I., & Frederick, J. A. (2009). Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. *Clinical Infectious Diseases* 49, 1248-1253.
- Katie, J. A., Robert, J. K., & Osheroff, N. (2014). Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry* 53(10), 1565-1574.
- MARD (Ministry of Agriculture and Rural Development). (2021). Decision No 10/2016/TTBNNPTNT dated June 01, 2016, List of veterinary drugs permitted to be marketed and banned from use in Vietnam. Retrieved June 27, 2021, from http://vanban.chinhphu.vn/portal/page/portal/chinhphu/hethongvanban?class_id=1&mode=detail&document_id=186403.
- Nguyen, K. H. N. (2012). *Molecular characterisation of antibiotic resistant bacteria isolated from farmed catfish and humans in Vietnam* (Doctoral dissertation). RMIT University, Victoria, Australia.
- Nguyen, K. H. N., & Truyen, H. N. D. (2019). Antibiotic resistance of *E. coli* isolated from whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) collected from wet markets and supermarkets in Ho Chi Minh city and their transferability. *The Journal of Agriculture and Development* 18(2), 97-104.
- Petersen, A., & Dalsgaard, A. (2003). Species composition and antimicrobial resistance genes of *Enterococcus* spp., isolated from integrated and traditional fish farms in Thailand. *Environmental Microbiology* 5(5), 395-402.
- Roberts, M. C. (1996). Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. *FEMS Microbiology Review* 19(1), 1-24.
- Serrano, P. H. (2005). Responsible use of antibiotics in aquaculture. Rome, Italy: Food And Agriculture Organization of The United Nations.
- Tendencia, E. A., & de la Peña, L. D. (2001). Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds. *Aquaculture* 195, 193-204.
- Tolmasky, M. E. (2000). Bacterial resistance to aminoglycosides and β -lactams: The Tn1331 transposon paradigm. *Frontiers in Biology Science* 5, 20-29.
- Tonguthai, K., Chinabut, S., Somsiri, T., Chanratchakool, P., & Kanchanakhan, S. (1999). Diagnostic procedures for finfish diseases. AAHRI - Aquatic Animal Health Research Institute. Bangkok, Thailand.