

- Megid J, Salgado VR, Richtzenhain LJ., 2009. Comparison of agar gel immunodiffusion test, rapid slide agglutination test, microbiological culture and PCR for the diagnosis of canine brucellosis. *Res Vet Sci.* 86:22–6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.05.012>
20. Wanke MM, Delpino MV, Baldi PC., 2002. Comparative performance of tests using cytosolic or outer membrane antigens of *Brucella* for the serodiagnosis of canine brucellosis. *Vet Microbiol.* 88:367–75. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00152-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00152-9)
21. Wanke MM, Cairó F, Rossano M, Laiño M, Baldi PC, Monachesi NE, *et al.*, 2012. Preliminary study of an immunochromatography test for serological diagnosis of canine brucellosis. *Reprod Domest Anim.* 47(Suppl 6):370–2. <http://dx.doi.org/10.1111/rda.12108>
22. Keid LB, Diniz JA, Oliveira TM, Ferreira HL, Soares RM., 2015. Evaluation of an immunochromatographic test to the diagnosis of canine brucellosis caused by *Brucella canis*. *Reprod Domest Anim.* 50:939–44. <http://dx.doi.org/10.1111/rda.12612>
23. Keid LB, Soares RM, Vieira NR, Megid J, Salgado VR, Vasconcellos SA, *et al.*, 2007. Diagnosis of canine brucellosis: comparison between serological and microbiological tests and a PCR based on primers to 16S-23S rDNA interspacer. *Vet Res Commun.* 31:951–65. <http://dx.doi.org/10.1007/s11259-006-0109-6>
24. Kauffman LK, Bjork JK, Gallup JM, Boggiatto PM, Bellaire BH, Petersen CA., 2014. Early detection of *Brucella canis* via quantitative polymerase chain reaction analysis. *Zoonoses Public Health.* 61:48–54. <http://dx.doi.org/10.1111/zph.12041>
25. Rittig MG, Kaufmann A, Robins A, Shaw B, Sprenger H, Gerns D, *et al.*, 2003. Smooth and rough lipopolysaccharide phenotypes of *Brucella* induce different intracellular trafficking and cytokine/chemokine release in human monocytes. *J Leukoc Biol.* 74:1045–55. <http://dx.doi.org/10.1189/jlb.0103015>
26. Carmichael LE, Joubert JC., 1987. A rapid slide agglutination test for the serodiagnosis of *Brucella canis* infection that employs a variant (M-) organism as antigen. *Cornell Vet.* 77:3–12.
27. Mateu-de-Antonio EM, Martín M, Casal J., 1994. Comparison of serologic tests used in canine brucellosis diagnosis. *J Vet Diagn Invest.* 6:257–9. <http://dx.doi.org/10.1177/104063879400600220>
28. Yagupsky P, Baron EJ., 2005. Laboratory exposures to brucellae and implications for bioterrorism. *Emerg Infect Dis.* 11:1180–5. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1108.041197>
29. Kang SI, Lee SE, Kim JY, Lee K, Kim JW, Lee HK, *et al.*, 2014. A new *Brucella canis* species-specific PCR assay for the diagnosis of canine brucellosis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 37:237–41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2014.07.003>
30. National Association of State Public Health Veterinarians, 2016. Public health implications of *Brucella canis* infections in humans [cited 2016 Apr 4]. <http://www.nasphv.org/Documents/BrucellaCanisInHumans.pdf>
31. Lawaczek E, Toporek J, Cwikla J, Mathison BA., 2011. *Brucella canis* in a HIV-infected patient. *Zoonoses Public Health.* 58:150–2. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1863-2378.2010.01334.x>
32. Lucero NE, Corazza R, Almuzara MN, Reynes E, Escobar GI, Boeri E, *et al.*, 2010. Human *Brucella canis* outbreak linked to infection in dogs. *Epidemiol Infect.* 138:280–5. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268809990525>
33. Swenson RM, Carmichael LE, Cundy KR., 1972. Human infection with *Brucella canis*. *Ann Intern Med.* 76:435–8. <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-76-3-435>
34. Rumley RL, Chapman SW., 1986. *Brucella canis*: an infectious cause of prolonged fever of undetermined origin. *South Med J.* 79:626–

8. <http://dx.doi.org/10.1097/00007611-198605000-00027>
 35. Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Jacob N., 2005. Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. *J Med Microbiol.* 54:457–61. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.45927-0>
 36. Marzetti S, Carranza C, Roncallo M, Escobar GI, Lucero NE., 2013. Recent trends in human *Brucella canis* infection. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 36:55–61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2012.09.002>
 37. Wallach JC, Giambartolomei GH, Baldi PC, Fossati CA., 2004. Human infection with M- strain of *Brucella canis*. *Emerg Infect Dis.* 10:146–8. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1001.020622>
 38. Hoff GL, Nichols JB., 1974. Canine brucellosis in Florida: serologic survey of pound dogs, animal shelter workers and veterinarians. *Am J Epidemiol.* 100:35–9. <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112006>
 39. Tosi MF, Nelson TJ., 1982. *Brucella canis* infection in a 17-month-old child successfully treated with moxalactam. *J Pediatr.* 101:725–7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(82\)80301-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(82)80301-6)
 40. Lucero NE, Maldonado PI, Kaufman S, Escobar GI, Boeri E, Jacob NR., 2010. *Brucella canis* causing infection in an HIV-infected patient. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 10:527–9. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2009.0034>
 41. Moreno S, Ariza J, Espinosa FJ, Podzamczar D, Miró JM, Rivero A. *et al.*, 1998. Brucellosis in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 17:319–26. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01709454>
 42. Lewis GE Jr, Anderson JK., 1973. The incidence of *Brucella canis* antibodies in sera of military recruits. *Am J Public Health.* 63:204–5. <http://dx.doi.org/10.2105/AJPH.63.3.204>
 43. Monroe PW, Silberg SL, Morgan PM, Adess M., 1975. Seroepidemiological investigation of *Brucella canis* antibodies in different human population groups. *J Clin Microbiol.* 2:382–6.
 44. Hoff GL, Schneider NJ., 1975. Serologic survey for agglutinins to *Brucella canis* in Florida residents. *Am J Trop Med Hyg.* 24:157–9. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.1975.24.157>
 45. Flores-Castro R, Segura R., 1976. A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico. *Cornell Vet.* 66:347–52.
 46. Angel MO, Ristow P, Ko AI, Di-Lorenzo C., 2012. Serological trail of *Brucella* infection in an urban slum population in Brazil. *J Infect Dev Ctries.* 6:675–9. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.2347>
 47. Brown J, Blue JL, Wooley RE, Dreesen DW., 1976. *Brucella canis* infectivity rates in stray and pet dog populations. *Am J Public Health.* 66:889–91. <http://dx.doi.org/10.2105/AJPH.66.9.889>
 48. Simmons KE, Hoffman CL., 2016. Dogs on the move: factors impacting animal shelter and rescue organizations' decisions to accept dogs from distant locations. *Animals (Basel).* 6:E11. <http://dx.doi.org/10.3390/ani6020011>
 49. Brower A, Okwumabua O, Massengill C, Muenks Q, Vanderloo P, Duster M. *et al.*, 2007. Investigation of the spread of *Brucella canis* via the U.S. interstate dog trade. *Int J Infect Dis.* 11:454–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2006.12.009>
- Lưu Thị Hải Yến - Viện Thú y dịch theo “Brucellosis in dogs and public health risk”, *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 24, No. 8, tháng 8/2018.**

ĐẶC ĐIỂM CỦA VI KHUẨN KHÁNG KHÁNG SINH PHÂN LẬP TỪ CÁ CẢNH: TRƯỜNG HỢP CÁ *CARASSIUS AURATUS*

Nguyễn Thành Luân

Viện Khoa học ứng dụng HUTECH,
Trường Đại học Công nghệ Tp. Hồ Chí Minh (HUTECH)

Cá xương (teleosts) tiếp xúc trực tiếp với môi trường nước, tương tác với hệ vi sinh vật phức tạp và luôn thay đổi theo môi trường. Vì vậy, hệ vi sinh vật có thể ảnh hưởng đến sức khỏe vật chủ (Perez và cs., 2010). Hệ vi sinh vật thủy sinh được định hình rõ ràng bởi chất lượng nước. Hơn nữa, các quần thể vi sinh vật trong đường ruột cá cũng thay đổi đáng kể để phản ứng với các biến đổi của các yếu tố môi trường như nhiệt độ và độ mặn nước (Beasley và cs., 2015). Sự thay đổi nhiệt độ hoặc sự dư thừa amoniac và nitrite trong môi trường nuôi dẫn đến suy giảm chất lượng nước, suy giảm đáng kể chức năng miễn dịch của vật chủ và kéo theo sự gia tăng nhạy cảm với các loại bệnh. Hệ miễn dịch của vật chủ đóng vai trò quyết định sự thay đổi các thành phần hệ vi sinh vật đường ruột, chất lượng nước có thể thay đổi sự tập hợp của hệ vi sinh vật đường ruột qua đó chúng ảnh hưởng lên khả năng miễn dịch của cá (Zhang và cs., 2015). Hiểu được mối quan hệ giữa sự xuất hiện của một số vi sinh vật đặc trưng trong ruột cá, sự thay đổi đồng thời về môi trường nước và sự xuất hiện của dịch bệnh có thể giúp các nhà nghiên cứu phát triển các biện pháp hiệu quả để ngăn ngừa và điều trị bệnh cho cá, cũng như hạn chế việc sử dụng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản.

I. ẢNH HƯỞNG DỊCH BỆNH TRONG NGÀNH CÔNG NGHIỆP CÁ CẢNH

1.1. Tình hình nuôi cá cảnh ở TP. HCM

Tương tự như lợi ích kinh tế của cá thương phẩm, ngành cá cảnh cũng đang mang lại giá trị xuất khẩu lớn cho Việt Nam. Trong năm 2018, Thành phố Hồ Chí Minh đã xuất khẩu 10,5 triệu cá cảnh trị giá 12,7 triệu USD; tăng 14,8% về lượng và 10,6% về giá trị so với cùng kỳ năm trước đó (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2018).

Theo đó, thành phố đã xuất khẩu thêm 60 loài cá cảnh nước ngọt với hơn 40 loài được nuôi nhân tạo, phần còn lại được đánh bắt từ sông và suối. Trong số đó, cá ba đuôi/cá vàng (*Carassius auratus*) là một trong những loài cá được nuôi lâu đời nhất trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Cá vàng là một trong những loài cá cảnh được nuôi phổ biến nhất (FAO, 2005) và được chú ý nhiều hơn trong ngành công nghiệp vật nuôi cảnh khi có một số lượng lớn các giống cá này (Mirzaei và Khovand, 2015; Mohammad và cs., 2018). Mặc dù ngành cá cảnh đang mang lại lợi ích kinh tế lớn nhưng ngành này cũng đang đối đầu với những vấn đề cấp bách của dịch bệnh xuất phát từ việc nuôi thâm canh mật độ cao, quản lý không đầy đủ cũng như điều kiện môi trường nuôi kém. Ngoài ra, việc nuôi cá thâm canh trong những năm gần đây đã dẫn đến vấn đề ngày càng tăng của các bệnh do vi khuẩn, dẫn đến việc sử dụng kháng sinh rộng rãi để điều trị chúng (Daood, 2012). Việc sử dụng rộng rãi các loại thuốc kháng sinh để ngăn ngừa và điều trị các bệnh do vi khuẩn đã làm gia tăng mức độ kháng kháng sinh trên toàn cầu của các vi khuẩn gây bệnh trong nuôi trồng thủy sản (Mulyani và cs., 2018). Sự phát triển của các vi khuẩn kháng kháng sinh dẫn đến giảm hiệu quả điều trị của các chất kháng khuẩn và có thể tạo điều kiện cho sự phát triển của vi khuẩn kháng thuốc ở các loài cá bản địa (Belém-Costa và Cyrino, 2006). Hơn nữa, tình trạng kháng kháng sinh gia tăng làm cho vi khuẩn tăng biểu hiện độc lực, hậu quả làm tăng cao tỷ lệ cá chết trong các trang trại (Daood, 2012).

1.2. Nghiên cứu hệ vi sinh vật gây bệnh trên cá cảnh

Hệ vi sinh vật trong môi trường nước và đường ruột là thành phần không thể thiếu của vật chủ và có vai trò quan trọng trong dinh dưỡng và sức khỏe của vật chủ (Walter và cs., 2011).

Sự thay đổi hoặc mất sự đa dạng của vi sinh vật có thể khiến hệ sinh thái đường ruột kém ổn định và kém khỏe mạnh hơn. Tuy nhiên, hệ vi sinh vật đường ruột cũng chứa các tác nhân gây bệnh cơ hội. Sự phát triển quá mức của các tác nhân tiềm ẩn này có thể gây ra chứng rối loạn khuẩn đường ruột, có thể do thiếu hụt hệ thống bảo vệ miễn dịch của vật chủ hoặc do hàng rào niêm mạc ruột bị tổn thương (Wu và cs., 2012). Các tác nhân gây bệnh và các độc tố tạo ra (như endotoxin) có thể di chuyển từ ống ruột qua biểu mô niêm mạc để lây nhiễm vào các mô bên trong (Ringø và cs., 2007). Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh sự di chuyển của vi khuẩn *Vibrio salmonicida*, *V. fischeri*, *V. anguillarum*, *Aeromonas salmonicida* và *Enterococcus faecalis* gây bệnh trong đường ruột của cá, trong đó *A. salmonicida* và *V. anguillarum* có thể gây tổn thương tế bào ruột (Ringø và cs., 2007). Vì vậy, hệ tiêu hóa được xem như một con đường chính cho sự xâm nhiễm của tác nhân gây bệnh ở cá. Nhiều bệnh liên quan đến sự thay đổi hệ vi sinh vật đường ruột ở động vật có vú và động vật có xương sống khác, chẳng hạn như cá (Perez và cs., 2010), làm tăng sự quan tâm tìm hiểu các quần thể vi sinh vật đường ruột và tác động của chúng đến sức khỏe vật chủ. Các nghiên cứu hệ vi sinh vật đường ruột cá có thể được thực hiện bằng kỹ thuật giải trình tự thế hệ tiếp theo (NGS). Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu trước đây đều tập trung sử dụng cá khỏe mạnh để tìm hiểu các yếu tố hình thành hệ vi sinh vật đường ruột như chế độ ăn, hành vi và kiểu gen của vật chủ (Wu và cs., 2012). Các nghiên cứu tập trung vào mối quan hệ tương tác giữa hệ vi sinh vật đường ruột, bệnh ở cá và các tác nhân môi trường gây ra vẫn chưa được báo cáo nhiều (Li và cs., 2016; Ingerslev và cs., 2014)

1.3. Đặc điểm vi khuẩn gây bệnh ở cá vàng (*Carassius auratus*)

Các bệnh do vi khuẩn ở cá cảnh nhiệt đới vẫn còn ít được quan tâm. Trong các nghiên cứu trước đây về bệnh gây thối đuôi ở *C. auratus* được xác định là do *Aeromonas* spp. và *Pseudomonas* spp., điều này cho thấy rằng

những vi khuẩn ưu thế trong nước và xuất hiện trên cá bị bệnh là nhóm gây bệnh cơ hội. Trong các nghiên cứu trước đây, nguyên nhân gây chết hàng loạt ở cá vàng là do nhiễm khuẩn nặng (Dixon và Issvoran, 1993); các vi khuẩn gram âm được xác nhận là tác nhân gây bệnh chính ở cá cảnh (Carnevia và cs., 2013).

Trong khi đó, *A. hydrophila*, vi khuẩn gram âm hình que phân bố rộng rãi trong môi trường nước (Grizzle và cs., 1993) là loài thường xuyên được báo cáo gây bệnh cho cá, động vật lưỡng cư và bò sát. Các yếu tố độc lực được biểu hiện bởi nhóm vi khuẩn *Aeromonas* bao gồm hemolysins, aerolysin, leukocidin, cytotoxins, enterotoxins, protease, gelatinase, elastase, lipase, phospholipase, DNase và chất bám dính (Yu và cs., 2015). Một số yếu tố độc lực này đã được xác định trong các chủng *Aeromonas* phân lập từ cá và nhiều hệ sinh thái nước (Desai và Desai, 2014). Những yếu tố này là nguyên nhân gây ra nhiều bệnh cho cá, như tổn thương loét bên ngoài, thối vây, loét mắt, loét đỏ, đầu hơi đỏ, thối đuôi, vùng hậu môn màu nhợt nhạt, vây xuất huyết, nhiễm trùng huyết, sung phù, biếng ăn, mất lông và viêm da, phù rở rảng, xuất huyết và phá hủy các mô có vỏ bọc ở lá lách và hoại tử ống thận ở thận, tắc nghẽn gan, lách và thận phình to và viêm ruột dẫn đến cá chết hàng loạt (Rashid và cs., 2013). Trong thử nghiệm gây nhiễm trên cá vàng (*C. auratus*), Harikrishnan và cs. (2009) cho thấy cá có biểu hiện phân mảnh - hoại tử các sợi cơ và các mảnh vụn dẹt cùng với sự rò rỉ các đại thực bào và hồng cầu, hoại tử lớn kèm theo xuất huyết trong cơ tim sau 24 ngày nhiễm bệnh. Tuy nhiên, không có dấu hiệu nhiễm trùng bên ngoài, chẳng hạn như sự xuất hiện của các vết loét trên da trong giai đoạn đầu.

Trong các nghiên cứu gần đây, sử dụng kỹ thuật định danh phân tử bằng khuếch đại và giải trình tự gen 16SrRNA cho thấy các tác nhân gây bệnh phân lập từ cá vàng bao gồm *Klebsiella aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter cancerogenus*, *Comamonas testosteroni*, *Acinetobacter nosocomialis* và *Kurthia gibsonii* khi so sánh với cơ sở dữ

liệu GenBank (Preena và cs., 2019). Trong một nghiên cứu khác, 13 chủng vi khuẩn với chỉ số đa dạng cao như *E. tarda*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus penneri*, *P. hauseri*, *Enterobacter cloacae*, *E. cancerogenus*, *E. ludwigii*, *Citrobacter freundii*, *E. coli*, *Kluyvera cryocrescens*, *Ploiomonas shigellae* và *Providencia vermicola* (Preena và cs., 2020) được thu nhận từ cá vàng bị nhiễm bệnh.

Trong một nghiên cứu khác (Walczak và cs., 2017), 182 phân lập từ nhiều loài cá cảnh bệnh được định danh bằng phương pháp khối phổ MALDI-TOF và thuộc các loài thường gặp nhất trên cá bị bệnh như *A. veronii* (30,8%), *A. hydrophila* (18,7%), *Shewanella putrefaciens* (7,1%), *Citrobacter freundii* (7,1%), *Pseudomonas* spp. (7,1%), *S. baltica* (4,9%), và *Plesiomonas shigelloides* (3,3%). Đối với mẫu cá *C. auratus*, các loài như *A. veronii*, *A. hydrophila*, *Citrobacter murlinae*, *Citrobacter freundii* và *Serratia ureilytica* đã được phân lập từ các vết loét của cá. Ngoài ra, *Shewanella* spp. được phân lập từ vết loét da, sạm da, mắt lồi và dịch viêm đã được báo cáo trong các đợt bệnh bùng phát cũng được phân lập từ cá vàng (Walczak và cs., 2017). Một số tác nhân gây bệnh nhóm *Enterobacteriaceae* như *Proteus*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Plesiomonas* và *E. coli* được báo cáo là gây nhiễm trùng nặng cho cá cảnh (Walczak và cs., 2017).

II. TÌNH HÌNH KHÁNG KHÁNG SINH

2.1. Vi khuẩn kháng kháng sinh gây bệnh ở cá vàng

Trong quần thể động vật cảnh, *Aeromonads*, *Pseudomonads*, *Vibrios*, *Edwardsiella* và *Flavobacterium* là những tác nhân gây bệnh phổ biến nhất, gây thiệt hại đáng kể cho ngành công nghiệp vật nuôi cảnh (Taylor, 2003). Nhiều bệnh mạn tính do vi khuẩn và khả năng kháng kháng sinh đã được ghi nhận ở các loài cá cảnh như cá chép koi và cá vàng (John và Hatha, 2012). Đối với việc nuôi trồng các loài cá cảnh một cách

bền vững, việc theo dõi liên tục các bệnh do vi khuẩn và sự xuất hiện của các chủng gây bệnh kháng kháng sinh (AMR) thường xuyên được báo cáo với tỷ lệ kháng kháng sinh ngày càng tăng trong ngành nuôi cá cảnh (WHO, 2006). Vi khuẩn kháng kháng sinh ở cá cảnh được báo cáo ngày càng nhiều và là nguyên nhân làm tăng nguy cơ chuyển gen kháng thuốc kháng sinh vào môi trường thủy sinh và môi trường cạn, từ đó làm tăng khả năng lây nhiễm từ động vật sang người (Cizek và cs., 2010). Trong các nghiên cứu gần đây (Preena và cs., 2019 và 2020), nhóm vi khuẩn gây bệnh chủ yếu được phát hiện ở cá vàng và cá koi là *E. tarda*. Đây là loài gây bệnh toàn thân phổ biến, tạo ra độc lực nghiêm trọng ở nhiều loài khác nhau và cũng thể hiện sự kháng nhiều loại kháng sinh. *E. tarda* được biết nhiều với đặc tính lây lan từ động vật sang người và gia tăng tỷ lệ chết và thiệt hại kinh tế nặng nề ở nhóm cá hồi, cá da trơn, cá chình, v.v. (Yu và cs., 2012).

2.2. Vi khuẩn kháng kháng sinh phân lập từ cá cảnh nuôi ở Việt Nam

Ở Việt Nam, nghề nuôi cá vàng cũng được chú ý nhiều hơn trong ngành nuôi trồng thủy sản. Sự xuất hiện của các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn và việc điều trị bằng thuốc kháng sinh tiếp tục dẫn đến cuộc khủng hoảng lớn về kháng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản. Các bệnh do vi khuẩn ở cá cảnh nhiệt đới vẫn còn ít được hiểu biết, đặc biệt chưa có nhiều nghiên cứu khảo sát bệnh do vi khuẩn kháng kháng sinh trên cá cảnh nuôi ở Việt Nam. Sự vận chuyển, kinh doanh các loài cá cảnh cũng như việc xử lý cá chết, nước thải hoặc các vật liệu khác từ bể cá là nguy cơ phát tán các tác nhân gây bệnh và từ đó làm tăng sự lây nhiễm trên người. Các nghiên cứu trước đây cho thấy rằng *Enterococci* (80% có liên quan đến *E. faecalis*) là một trong những giống vi khuẩn có tác động lâm sàng tối thiểu và hiện đang được xem như là tác nhân gây bệnh cơ hội rất phổ biến trên người (Werner và cs., 2008; Teixeira và Merquior, 2013) bao gồm gây nhiễm trùng và các bệnh quan trọng như viêm nội tâm mạc,

nhiễm khuẩn huyết, tiết niệu, nhiễm trùng trong ổ bụng và vùng chậu, nhiễm trùng hệ thần kinh trung ương (O'Driscoll và Crank, 2015). Tác nhân gây bệnh cơ hội *E. faecalis* đã được báo cáo là gây chết hàng loạt ở một số loài cá ở các quốc gia khác nhau (Petersen và cs., 2003; Abou El-Geit và cs., 2013). Trong

ngiên cứu phân lập vi khuẩn từ cá cảnh bệnh (cá vàng ba đuôi *Carassius auratus*, cá đầu lân *Carassius auratus auratus*) (hình 1), chúng tôi phân lập được 2 chủng *Enterococcus faecalis* (DL-T và BD-G) với kiểu hình kháng kháng sinh thể hiện trong bảng 1.

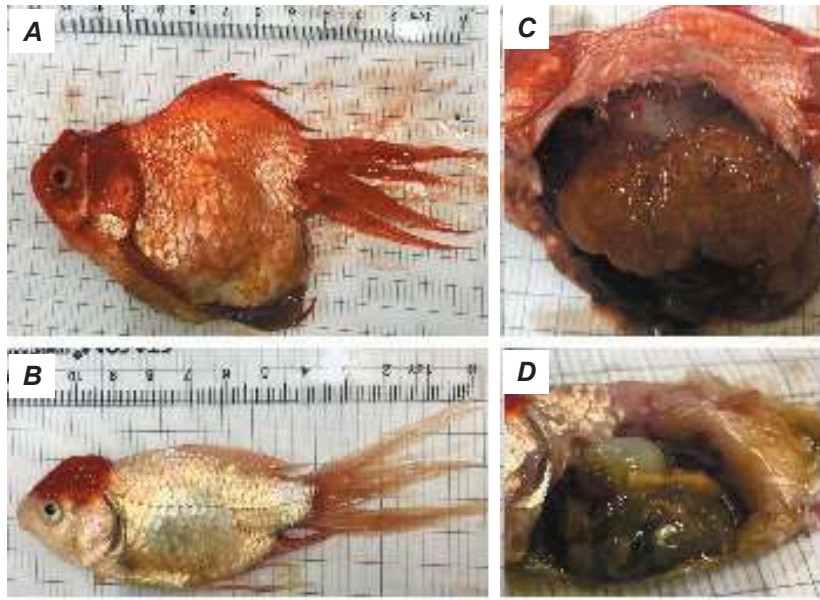
Bảng 1. Đặc điểm sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập từ cá vàng

Thử nghiệm	Chủng DL-T	Chủng BD-G
7%	+	+
NaCl	+	+
8%	+	+
9%	-	-
Hemolysis 5%	g	b
Gram	+	+
Kháng sinh*		
Clindamycin 2µg	0,00 ± 0,00 (R)	10,33 ± 0,58 (R)
Ampicillin 10µg	18,00 ± 6,92 (R)	25,00 ± 4,35 (S)
Tetracycline 30µg	20,00 ± 8,66 (R)	32,33 ± 10,78 (S)
Amoxicillin 25µg	36,33 ± 4,72 (R)	33,67 ± 13,65 (S)
Chloramphenicol 30µg	22,00 ± 0 (R)	24,00 ± 1,73 (I)
Ciprofloxacin 5µg	31,33 ± 2,31 (S)	34,33 ± 0,58 (S)
Erythromycin 15µg	25,33 ± 0,58 (I)	17,33 ± 7,51 (R)
Doxycycline 30µg	10,00 ± 1,00 (R)	0,00 ± 0,00 (R)
Cefalexin 30µg	20,33 ± 1,53 (R)	15,67 ± 4,04 (R)
Ofloxacin 5µg	24,67 ± 0,58 (S)	24,33 ± 3,06 (S)
Lincomycin 15µg	0,00 ± 0,00 (R)	0,00 ± 0,00 (R)
Acid clavulanic và Amoxicilin 20+10µg	29,33 ± 0,00 (S)	31,67 ± 11,15 (S)
Chỉ số đa kháng (MAR)	0,67	0,41

Ghi chú: *: đề xuất bởi CLSI (2006) cho chủng *E. coli* ATCC® 25922; S: nhạy cảm, R: kháng

Theo mô tả của Krumperman (1983), sử dụng kết quả thử nghiệm tính nhạy cảm với kháng sinh để tính toán chỉ số đa kháng kháng sinh (multiple antibiotic resistance - MAR) của tất cả các chủng khảo sát. Chỉ số MAR có thể được định nghĩa là tỷ lệ x/y, trong đó "x" biểu thị số loại kháng sinh mà chủng vi khuẩn khảo sát được xác định là kháng và "y" biểu thị tổng số loại kháng sinh được sử dụng khảo sát. Theo đó, chủng DL-T và BD-G lần lượt có chỉ

số MAR là 0,67 và 0,41 (đều có MAR > 0,2), cho thấy rằng áp lực chọn lọc kháng sinh cao có thể đã xuất hiện trong hệ thống nuôi cá vàng tại Việt Nam. Tuy nhiên, các nghiên cứu tiếp theo cần thực hiện khảo sát các ARG và vị trí chính xác của chúng các trong vi khuẩn nhằm dự đoán khả năng kháng kháng sinh là do qua trung gian plasmid hay qua trung gian nhiễm sắc thể và nghiên cứu chuyên sâu để tìm các giải pháp kiểm soát phù hợp.



Hình 1. Cá cảnh bị bệnh với các dấu hiệu lâm sàng bên ngoài và bên trong
A, B: bụng sưng to và xuất huyết; C, D: gan sưng to, cơ quan hoại tử

III. SỰ PHÁT TÁN GEN KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN GÂY BỆNH TỪ CÁ VÀNG

Trong nuôi trồng thủy sản, chỉ số đa kháng (MAR) > 0,2 thể hiện mức độ nghiêm trọng của việc sử dụng kháng sinh hoặc sử dụng kháng sinh nồng độ cao được đưa vào từ một số nguồn khác (Krumperman 1983; Osundiya và cs., 2013). Trong nghiên cứu của Preena và cs. (2020), tất cả các vi khuẩn phân lập từ cá vàng đều có chỉ số MAR > 0,2 với giá trị trung bình là 0,45 với nồng độ kháng sinh tối thiểu (MIC) cần thiết để ức chế hầu hết các chủng kháng thuốc là > 256 mcg/ml. So với cá cảnh koi, chỉ số MAR tối đa của các phân lập gây bệnh từ cá vàng kháng thuốc cao hơn (Preena và cs., 2019). Đặc biệt, *E. tarda* phân lập từ cá vàng biểu hiện khả năng kháng đối với 16 loại kháng sinh thuộc 9 nhóm với chỉ số MAR là 0,35. Preena và cs. (2019) cũng cho thấy rằng *Acinetobacter* và *Enterobacter* là các chủng đa kháng thuốc phổ biến nhất phân lập từ cá vàng tương ứng với 21 và 20 loại kháng sinh thuộc các nhóm khác nhau với chỉ số MAR tương ứng

là 0,45 và 0,43. Nồng độ MIC của kháng sinh đối với những chủng phân lập này rất cao (> 256 ug). Trong khi đó, chỉ số MAR được phát hiện là cao nhất đối với *P. penneri* (0,87) và tối thiểu đối với *C. freundii* và *E. cloacae* (0,22). Điều này cho thấy áp lực chọn lọc kháng sinh cao đã xuất hiện trong trang trại và nhiều tác nhân gây bệnh kháng kháng sinh cũng đã xuất hiện trong hệ thống nuôi cá vàng.

Các nhóm *Acinetobacter* và *Enterobacteriaceae* tồn tại trong cùng môi trường và mang nhiều gen kháng kháng sinh (ARG) trên các plasmid, chúng có thể di chuyển từ các trang trại cá ở Thái Lan và Trung Quốc (Su và cs., 2011). Sự tồn tại của các gen kháng thuốc trên plasmid thúc đẩy sự lây lan nhanh chóng của các yếu tố di truyền thông qua cơ chế chuyển gen ngang dựa vào các yếu tố di truyền di động (MGE) như plasmid và transposon tích hợp với các integrons/gene cassettes (Preena và cs., 2020). Quá trình trao đổi các ARG giữa các tác nhân gây bệnh có thể thúc đẩy thêm sự xuất hiện của các đột biến di truyền trong DNA nhiễm sắc thể (Strahilevitz và cs., 2009). Do đó,

tác nhân gây bệnh chứa nhiều MGE hoạt động như một kho chứa gen kháng kháng sinh nên được đánh giá thường xuyên trong các hệ thống nuôi trồng thủy sản. Để xác định vị trí chính xác của các ARG trong vi khuẩn và để dự đoán liệu khả năng kháng kháng sinh là do qua trung gian plasmid hay qua trung gian nhiễm sắc thể, các plasmid của các chủng kháng kháng sinh có thể được xử lý loại bỏ.

Các vi khuẩn kháng đa kháng sinh như *Acinetobacter*, *Comamonas*, *Edwardsiella*, *Aeromonas* và *Enterobacter* từ trang trại nuôi trồng thủy sản có thể tác động lên sức khỏe con người đã được chứng minh trong nghiên cứu gần đây của Preena và cs. (2019). Sử dụng phương pháp xử lý loại bỏ ARG nằm trong plasmid bằng các tác nhân hóa học (ví dụ: ethidium bromide, acridine orange và sodium dodecyl sulphate) các nhóm *Enterobacteriaceae* gây bệnh phân lập từ cá vàng thể hiện nhiều kiểu kháng kháng sinh thay đổi khác nhau. Sự kháng kháng sinh của các phân lập thay đổi sau khi xử lý plasmid chứng minh rằng hầu hết các phân lập đều mang các ARG trên plasmid. Điều này có thể làm tăng xác suất lan truyền nhanh chóng của AMR trong toàn hệ thống. Chỉ số MAR của vi khuẩn kháng nhiều kháng sinh nhất *P. penneri* đã thay đổi (từ 0,87 thành 0,37) khi thử nghiệm tính nhạy cảm với kháng sinh sau khi xử lý plasmid. Điều này cho thấy rằng hầu hết các gen AMR nằm trong MGE, trong khi tetracycline, erythromycin, nitrofurantoin, glycopeptides và một số gen kháng beta-lactam nằm trong nhiễm sắc thể.

Tương tự, *P. hauseri* cũng biểu hiện một kiểu biến đổi tương tự trong chỉ số MAR từ 0,65 đến 0,32 bằng cách duy trì khả năng kháng beta-lactam, tetracycline, erythromycin, glycopeptides, polymyxin và rifampicin mặc dù đã xử lý plasmid. Đối với *E. coli*, sự thay đổi mạnh mẽ trong chỉ số MAR từ 0,71 đến 0,1 đã được ghi nhận; điều này cho thấy rằng hầu hết các ARG quan trọng đã biến mất khi plasmid được xử lý, ngoại trừ các gen kháng tetracycline, rifampicin, vancomycin, polymyxin và ampicillin. Tương tự, AMR của

K. aerogenes đối với hầu hết các loại kháng sinh cũng đã giảm, ngoại trừ một số beta-lactam, vancomycin, rifampicin, kháng bacitracin khi xử lý plasmid, với sự thay đổi của chỉ số MAR từ 0,67 đến 0,24. ARG trong *P. vermicola* cũng đã mất nhiều ngoại trừ những ARG mã hóa cho vancomycin, tetracycline, ampicillin, rifampicin, kháng bacitracin với chỉ số MAR thấp hơn 0,17. Trong khi *E. tarda* chỉ duy trì khả năng kháng vancomycin và rifampicin (chỉ số MAR = 0,04) sau khi xử lý plasmid, kết quả này cho thấy hầu hết tất cả ARG trong *E. tarda* đều nằm trên plasmid.

Lunn và cs. (2010) đã cho thấy rằng các AMR quyết định có thể di chuyển qua trung gian plasmid được quan sát chủ yếu ở các họ *Enterobacteriaceae* (vi khuẩn đường ruột) so với *Vibrio* và *Aeromonas*. Để khắc phục, các nhà nghiên cứu khác nhau đã xem xét chi tiết sáng kiến về một phương pháp tiếp cận sức khỏe, các biện pháp quản lý khác nhau, các chiến lược thay thế và các phương pháp phát hiện kịp thời để làm sáng tỏ mức độ phức tạp của AMR trong nuôi trồng thủy sản (Preena và cs., 2020).

V. KẾT LUẬN

Ngành công nghiệp cá cảnh đang phát triển nhanh trên toàn thế giới, tuy nhiên chúng cũng là nguồn phát tán các tác nhân gây bệnh và làm tăng sự lây nhiễm trên người. Cá vàng (*Carassius auratus*) thường được con người chọn nuôi cảnh, tuy nhiên đây có thể chính là nguồn lây nhiễm của các nhóm vi khuẩn gây bệnh cho con người. Bài tổng hợp này thể hiện so sánh sự đa dạng vi khuẩn phân lập từ cá vàng và tình trạng kháng kháng sinh của chúng. Nhìn chung số lượng loài vi khuẩn nhiễm trên cá có thể thay đổi khác nhau giữa các vị trí nuôi và thời điểm khảo sát. Đa số các chủng vi khuẩn được đặc trưng bởi sự đề kháng với nhiều loại kháng sinh trong thử nghiệm. Kết quả nghiên cứu vi khuẩn phân lập từ cá vàng ở Việt Nam cũng thể hiện chỉ số MAR > 0,2; cho thấy áp lực chọn lọc kháng sinh cao có thể đã xuất hiện trong hệ thống nuôi cá cảnh tại Việt Nam. Tuy