



# TÌNH HÌNH NHIỄM *VIBRIO* SPP. PHÂN LẬP TỪ THỦY SẢN VÀ NƯỚC NUÔI TẠI CÁI BÈ - TIỀN GIANG

HUỲNH NGỌC TRƯỜNG<sup>1</sup>

Công ty TNHH Phân tích Kiểm nghiệm Việt Tín

(Ngày đến tòa soạn: 28/5/2019; Ngày sửa bài sau phản biện: 18/8/2019;  
Ngày chấp nhận đăng: 30/8/2019)

## Tóm tắt

Để xác định tình hình nhiễm *Vibrio* spp. trên thủy sản thương phẩm và nước nuôi tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang, Việt Nam. Nghiên cứu phân lập 501 mẫu gồm 311 mẫu nước nuôi và 190 mẫu thủy sản thương phẩm. Kết quả cho thấy có 161 mẫu nước và 82 mẫu thủy sản có chứa 8 loài *Vibrio* spp., nhiều nhất là *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus* và *V. alginolyticus*.

**Từ khóa:** *Vibrio*, thủy sản, tỉnh Tiền Giang.

## 1. MỞ ĐẦU

Giống *Vibrio* thuộc họ *Vibrionaceae*, bộ *Vibrionales*, lớp *Gammaproteobacteria*, ngành *Proteobacteria*. Tất cả những loài vi khuẩn thuộc giống *Vibrio* đều là vi khuẩn kỵ khí tùy nghi và đa số phân bố trong môi trường nước mặn, nước lợ, vùng cửa sông [3]. Một số loài vi khuẩn thuộc nhóm *Vibrio* spp. đã được công bố là tác nhân gây bệnh nghiêm trọng ở một số động vật thủy sản [6]. Đối với cá, *Vibrio* spp. chủ yếu gây bệnh nhiễm khuẩn máu. Đối với tôm, *Vibrio* spp. gây bệnh phát sáng, đỏ đục thân, ăn mòn vỏ kitin. Một số trường hợp điển hình như *V. anguillarum* và *V. vulnificus* gây bệnh nhiễm khuẩn máu cá Chình [7]. *V. alginolyticus* gây nhiễm khuẩn máu cho cá Tráp và cá Mú [8].

Tiền Giang là một trong những địa phương có mô hình nuôi cá bè trên sông phát triển mạnh nhất vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Toàn tỉnh có hơn 1500 lồng bè, tập trung ở cồn Thới Sơn, Tân Long (Thành Phố Mỹ Tho) và một số khu vực ven sông Tiền của huyện Châu Thành, Cai Lậy, Cái Bè. Trong quá trình nuôi các loại thủy sản, người dân thường sử dụng rất nhiều loại kháng sinh vào các mục đích như chữa bệnh hay phòng bệnh. Trong đó, vi khuẩn *Vibrio* gây bệnh cho động vật thủy sản là đối tượng được người nuôi đối phó bằng kháng sinh rất nhiều. Việc sử dụng kháng sinh thường mang tính tự phát, không theo chỉ dẫn của chuyên gia hoặc cơ quan chức năng. Điều này dẫn đến tình trạng kháng kháng sinh và điều trị bệnh không hiệu quả.

Với mục đích khảo sát tình hình nhiễm *Vibrio* spp. trong nước nuôi và thủy sản thương phẩm nhằm giúp các hộ nuôi hoặc các chuyên gia nắm được tình hình để chữa bệnh và phòng bệnh cho thủy sản hiệu quả hơn, đề tài tiến hành phân lập trên 311 mẫu nước nuôi và 190 mẫu thủy sản thương phẩm tại tỉnh Tiền Giang.

<sup>1</sup> Điện thoại: 0936036028 Email: ngoctruongbio@gmail.com

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

#### 2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Các chủng *Vibrio* phân lập từ mẫu thủy sản thương phẩm và mẫu nước nuôi tại ao ở tỉnh Tiền Giang.

#### 2.1.2. Môi trường và hóa chất sử dụng nghiên cứu

Dung dịch pepton muối kiềm - ASPW. Môi trường Thiosulphate Citrate Bile Sucrose Agar - TCBS Môi trường Triphenyl tetrazolium Chloride Soya Tryptone - TSAT. Môi trường Trypticase Soya Agar 1,5% NaCl - TSA 1,5% NaCl.

Các môi trường trên được hấp khử trùng ở 121°C, 15 phút trước khi sử dụng.

Các hóa chất và môi trường cho xác định chủng *Vibrio* theo SMEWW 9260 H: 2017 “Phát hiện *Vibrio cholerae* trong nước” và theo “ISO/TS 21872-1,2: 2017 “Phát hiện các loài *Vibrio* spp. trong thực phẩm”

## 3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 3.1.1. Phương pháp lấy mẫu nước và mẫu thực phẩm thủy sản

Địa điểm thu mẫu: Mẫu được thu nhận và bảo quản từ các khu vực nuôi trồng thủy sản và các chợ huyện Cái Bè - tỉnh Tiền Giang.

Số lượng mẫu thu được gồm 311 mẫu nước nuôi trồng thủy sản và 190 mẫu thực phẩm thủy sản bao gồm các loài cá như cá mè đen, cá trắm cỏ, cá tra, cá diêu hồng, cá lóc... và tôm.

Mẫu nước: Dùng chai đã được hấp khử trùng ở 121°C, 15 phút và có bổ sung 0,1mL dung dịch 1,8% sodium thiosulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) vào bình trước khi khử trùng. Chọn 05 vị trí thu mẫu khác nhau theo đường chéo (04 mẫu ở 4 góc của ao và một mẫu ở giữa ao) trên một ao đối với ao nuôi có diện tích khoảng 1 hecta. Chọn 03 vị trí thu mẫu đối với ao nuôi khoảng 0,5 hecta (02 mẫu ở 2 góc của ao và một mẫu ở giữa ao). Các ao có diện tích nhỏ hơn 0,3 hecta lấy một điểm ở khoảng giữa ao nuôi. Mẫu được bảo quản cùng với đá khô, không được để đá khô tiếp xúc trực tiếp với mẫu và vận chuyển nhanh về phòng thí nghiệm để phân tích.

Mẫu thực phẩm thủy sản: Dùng dao, kéo vô trùng cho mẫu vào trong dụng cụ chứa vô trùng, khối lượng mẫu cần thu ít nhất là 100 g. Mẫu được lấy ở các ao nuôi và các chợ lân cận vùng nuôi. Mẫu bảo quản trong thùng được làm lạnh bằng đá khô, tránh việc đá khô tiếp xúc trực tiếp với mẫu. Mẫu được chuyển về phòng thí nghiệm và tiến hành phân tích chậm nhất là 12 giờ sau khi thu mẫu, hoặc trữ trong tủ lạnh -20°C đến khi phân tích.

#### Xử lý mẫu:

- Mẫu nước: Lấy 100 ml phần mẫu thử lọc qua màng lọc cho vào 100 ml môi trường tăng sinh ASPW. Ủ huyền phù ban đầu ở 35°C trong 6h - 8h.

- Mẫu thực phẩm thủy sản: dùng kéo vô trùng cắt 25g mẫu cho vào 225 mL môi trường tăng sinh ASPW, đồng nhất và ủ ở 37°C trong 6h - 8h.

### 3.1.2. Phương pháp phân tích và xác định *Vibrio* spp

Thực hiện phương pháp nuôi cấy truyền thống gồm các bước tăng sinh, tăng sinh chọn lọc, phân lập và thử nghiệm các đặc tính sinh hóa. Sau đó tham chiếu theo SMEWW 9260 H: 2017 - Phát hiện *Vibrio cholerae* trong nước” và theo “ISO/TS 21872-1,2: 2017 “Phát hiện các loài *Vibrio* spp. trong thực phẩm” để xác định loài *Vibrio* có trong mẫu [4].

*Vibrio* được phân lập trên môi trường chọn lọc thứ nhất TCBS. Các loài *Vibrio* được phân biệt



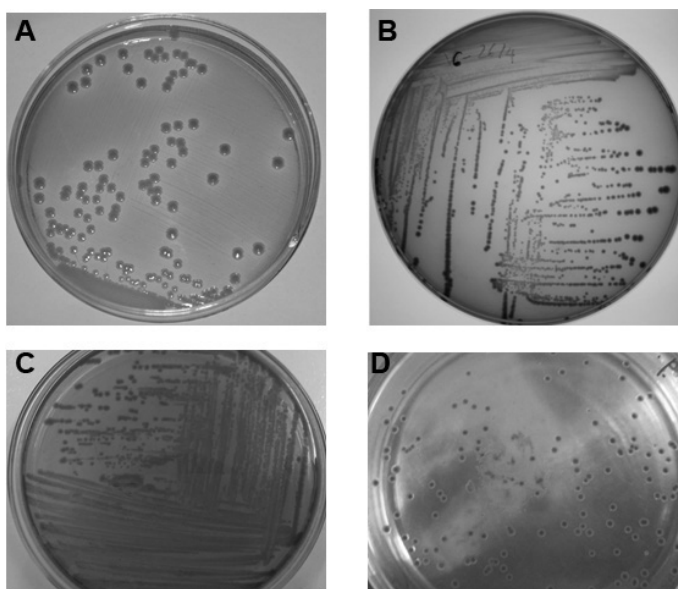
bằng đặc điểm các kiểu khuẩn lạc khác nhau thể hiện qua sự lên men của sucrose.

Trên môi trường TCBS: *V. cholerae* và *V. alginolyticus* lên men đường sucrose nên các khuẩn lạc có màu vàng, ngược lại *V. parahaemolyticus* và *V. vulnificus* không thể lên men sucrose nên khuẩn lạc có màu xanh.

### 4. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 4.1. Phân lập và xác định các chủng *Vibrio spp.*

Mẫu nước trong ao nuôi và thủy sản thương phẩm được thu nhận tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang, được phân tích tại phòng Vi sinh. Mẫu được đồng nhất và tăng sinh trong môi trường muối kiềm, sau đó được nuôi cấy trên môi trường chọn lọc TCBS và TSAT. Các khuẩn lạc nghi ngờ trong hai môi trường này được nuôi cấy phục hồi trên TSA chứa 1% NaCl, sau đó được nuôi cấy khẳng định trong các môi trường sinh hóa.



**Hình 1.** Hình thái khuẩn lạc các chủng *Vibrio spp.* trên môi trường chọn lọc

Hình 1 A: Khuẩn lạc *V. Cholerae* hi có màu vàng trên môi trường TCBS; Hình 1 B: Khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* có màu xanh trên môi trường TCBS; Hình 1 C: Khuẩn lạc *V. vulnificus* có màu xanh trên môi trường TCBS; Hình 1 D: Khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* có màu nâu đỏ trên môi trường TSAT.

Sau khi phát hiện vi khuẩn và định danh bằng các thử nghiệm sinh hóa, kết quả cho thấy trong 501 mẫu nước và thủy sản thương phẩm có 243 mẫu xuất hiện *Vibrio*. Có 08 loài *Vibrio* được định danh. Các loài này hiện diện với tần số khác nhau trong mẫu.

**Bảng 1.** Các phép thử sinh hóa phân biệt các loài *Vibrio spp*

Phép thử	<i>V. cholerae</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. fluvialis</i>
Oxidaza	+	+	+	+	+
Sinh khí (glucoza)	-	-	-	-	-
Lactoza	-	-	-	+	-

Phép thử	<i>V. cholerae</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. fluvialis</i>
Sacaroza	+	-	-	-	+
ODC	+	+	+	+	-
LDC	+	+	+	+	-
ADH	-	-	-	-	+
Thủy phân ONPG	+	+	-	+	+
Sinh indol	+	+	+	+	+
Sinh trường trong nước pepton với					
0 % NaCl	+	+	-	-	-
2 % NaCl	+	+	+	+	+
6 % NaCl	-	-	+	+	+
8 % NaCl	-	-	+	-	-
10 % NaCl	-	-	-	-	-

**4.2. Tỷ lệ các chủng *Vibrio spp.* phân lập được**

Bảng 2 cho thấy tỷ lệ các chủng phân lập trên 501 mẫu. Trong đó, chủng *V. parahaemolyticus* gây bệnh xuất huyết, lở loét cho cá và bệnh gan tụy cấp cho tôm xuất hiện nhiều nhất (70/501). Đặc biệt, loài này xuất hiện trong cá thương phẩm là 29/190 mẫu thủy sản khảo sát, chiếm tỷ lệ 15,3%, cao hơn so với trong mẫu nước (41/311), chiếm 13,2%, kể đến là *V. mimicus* (43 mẫu) và *V. alginolyticus* (39 mẫu). Loài *V. metschnikovii* hiện diện rất ít, chỉ 6 mẫu trên 501 mẫu phân tích.

**Bảng 2.** Tần số xuất hiện các chủng *Vibrio spp.*

Các loài <i>Vibrio</i> phân lập được	Số chủng phát hiện		Tổng mẫu phát hiện
	Mẫu nước	Sản phẩm thủy sản	
<i>V. mimicus</i>	24 (7,7%)	19 (10,0%)	43
<b><i>V. parahaemolyticus</i></b>	<b>41 (13,2%)</b>	<b>29 (15,3%)</b>	<b>70</b>
<i>V. alginolyticus</i>	29 (9,3%)	10 (5,3%)	39
<i>V. furnissii</i>	16 (5,2%)	4 (2,1%)	20
<i>V. cholerae</i>	17 (5,5%)	9 (4,7%)	26
<i>V. fluvialis</i>	12 (3,9%)	5 (2,6%)	17
<i>V. vulnificus</i>	16 (5,2%)	6 (3,2%)	22
<i>V. metschnikovii</i>	6 (1,9%)	0	6
<b>Số mẫu phát hiện/số mẫu kiểm tra</b>	<b>161/311</b>	<b>82/190</b>	<b>243/501</b>



Tổng số mẫu khảo sát: 501 mẫu có 243 mẫu nhiễm *Vibrio spp.*. Trong đó mẫu nước nuôi trồng thủy sản là 311 mẫu có 161 mẫu phát hiện *Vibrio spp.*. Mẫu sản phẩm thủy sản là 190 mẫu có 82 mẫu nhiễm *Vibrio spp.*

Kết quả nghiên cứu không phát hiện vi khuẩn *V. harveyi* gây bệnh phát sáng trên tôm hay *V. carchariae* tại vùng nghiên cứu. Hai loại vi khuẩn này hiện diện trong ao nuôi tôm ở Cần Thơ đã được báo cáo trước đây [1], [2]. Nghiên cứu này cũng không phát hiện *V. anguillarum* gây nhiễm trùng máu cá. Trong các nghiên cứu về thành phần loài *Vibrio* gây bệnh trên tôm của tác giả Hoàng Oanh [2] và Tuyết Hoa [4] không thấy xuất hiện *V. metschnikovii*, nhưng được tìm thấy trong nghiên cứu loài này trên cá da trơn [6]. Như vậy có thể thấy loài vi khuẩn này hiện diện chủ yếu trên cá mà chưa thấy trên tôm.

### 5. KẾT LUẬN

Trong 501 mẫu khảo sát, đề tài đã phân lập được 243 chủng *Vibrio* hiện diện trong mẫu, thuộc 08 loài. Trong đó có 43 chủng là *V. mimicus*, 70 chủng là *V. parahaemolyticus*, 39 chủng là *V. alginolyticus*, 20 chủng là *V. furnissii*, 26 chủng là *V. cholerae*, 17 chủng là *V. fluvialis*, 22 chủng là *V. vulnificus* và 06 chủng là *V. metschnikovii*.

Như vậy, tỷ lệ hiện diện của *Vibrio spp.* trong thủy sản và nước nuôi rất cao (48,5%). Vì vậy, các cơ quan quản lý cần thông tin rộng rãi tình trạng nhiễm *Vibrio* gây bệnh trong nuôi trồng thủy sản tại Tiền Giang nói riêng và các địa phương khác nói chung, giúp các cơ quan chức năng, trung tâm khuyến nông khuyến cáo người dân cách xử lý môi trường nuôi trong phòng và trị bệnh cho động vật thủy sản một cách hiệu quả hơn.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. GARP - Nhóm nghiên cứu Quốc gia của Việt Nam (2010), “Phân tích thực trạng: Sử dụng kháng sinh và kháng kháng sinh ở Việt Nam”, Hà Nội, Việt Nam.
2. Đặng Thị Hoàng Oanh, Đoàn Nhật Phương, Nguyễn Thị Thu Hằng và Nguyễn Thanh Phương (2006), “Xác định vị trí phân loại và khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* phát sáng phân lập từ hậu ấu trùng tôm sú (*Penaeus monodon*)”, *Tạp chí nghiên cứu khoa học*, tr. 42 – 52.
3. Bùi Quang Tề (2006), “Bệnh học thủy sản”, Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I, phần 2, Nhà Xuất Bản Bắc Ninh.
4. SMEWW 9260 H: 2017- Phát hiện *Vibrio cholerae* trong nước, ISO/TS 21872 (2017) Part 1: Detection of potentially enteropathogenic *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus* và ISO/TS 21872 (2007) Part 2: Detection of species other than *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae*.
5. Samira Sarter, Hoang Nam Kha Nguyen, Le Thanh Hung, Jérôme Lazard, Didier Montet (2007), “Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish”, *Food Control* 18, 1391-1396.
6. Austin, B. & D.A. Austin (1993), “Bacterial fish pathogens, Diseases in farmed and wild fish” 2<sup>nd</sup> edn. Ellis Horwood Ltd., Chichester.
7. Biosca, E. G., C. Amaro, C. Esteve, E. Alcaide & E. Garay (1991), “First record of *Vibrio vulnificus* biotype 2 from diseased European eel, *Anguilla anguilla* L”, *Journal of Fish Diseases*, 14: 103-109.
8. Lee, K.K. (1995), “Pathogenesis studies on *Vibrio alginolyticus* in the grouper, *Epinephelus malabaricus*”, *Microbial Pathogenesis*, 19: 39-48.

*Summary***PREVALANCE OF *VIBRIO SPP.* ISOLATED FROM AQUACULTURE AND ENVIRONMENT IN CAI BE DISTRICT, TIEN GIANG PROVINCE*****HUYNH NGOC TRUONG****Viet Tin Analysis Testing Company Limited*

The prevalence of *Vibrio spp.* in commercial seafood and the aquaculture water collected in Cai Be district, Tien Giang province, Viet Nam was studied. More than five hundred samples including 311 aquaculture water samples and 190 seafood samples were collected and analyzed. The results showed that there were 161 water samples and 82 seafood samples containing 8 species of *Vibrio spp.* Among those *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, and *V. alginolyticus* were the most abundant.

**Keywords:** *Vibrio*, aquaculture, Tien Giang province.