

ĐẶC ĐIỂM CỦA VI KHUẨN ĐA KHÁNG PHÂN LẬP TỪ CÁC LOÀI CÁ CẢNH VÀ TIỀM NĂNG PHÒNG NGỪA BẰNG CÁC HỢP CHẤT TỰ NHIÊN

Nguyễn Thành Luân

Viện Khoa Học Ứng Dụng HUTECH, Đại học Công Nghệ Tp. Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Công nghiệp cá cảnh đang phát triển nhanh trên toàn thế giới, tuy nhiên cá cảnh cũng là nguồn phát tán và lây nhiễm các tác nhân gây bệnh từ cá sang người. Trong nghiên cứu này, các đặc điểm sinh học của 7 chủng vi khuẩn gram (+) phân lập được từ 4 loài cá cảnh đang nuôi và buôn bán tại Thành phố Hồ Chí Minh, bao gồm mức độ nhạy cảm của chúng với các loại kháng sinh và các hợp chất chiết xuất từ thực vật đã được khảo sát. Kết quả nghiên cứu cho thấy, có 6/7 chủng vi khuẩn đa kháng, kháng ít nhất 8/12 loại kháng sinh. Đối với các loại kháng sinh đã cấm sử dụng, 7 chủng vi khuẩn này đều nhạy cảm với ciprofloxacin, ofloxacin, và có rất ít chủng nhạy cảm với ampicillin (4/7), tetracyclin (1/7), và chloramphenicol (0/7). Trong số 6 chủng vi khuẩn được chọn, định danh bằng 16S rDNA, có 5 chủng cho kết quả định danh với mức tương đồng cao (>99,6% bằng NCBI blast) với *Enterococcus faecalis* JCM 5803. Hai hợp chất chiết từ thực vật TT1 và TT2 có thể ức chế 4 chủng vi khuẩn phân lập được từ cá koi Nhật Bản, cá chép vây rồng, và cá đầu lân. Đặc biệt là kết quả nghiên cứu cho thấy cá cảnh bị nhiễm vi khuẩn *E. faecalis* có thể là nguyên nhân phát tán gene kháng kháng sinh vào môi trường tự nhiên và gây ảnh hưởng xấu đến quần thể cá bản địa và sức khỏe con người. Việc sử dụng các hợp chất chiết xuất từ thực vật thay thế kháng sinh để phòng, trị bệnh cho cá cảnh sẽ là liệu pháp an toàn. Tuy nhiên, những cơ chế làm xuất hiện hiện tượng siêu kháng của vi khuẩn, sự ức chế vi khuẩn của dịch chiết thảo được cần được nghiên cứu tiếp theo.

Từ khóa: Cá cảnh, hợp chất chiết xuất từ thực vật, vi khuẩn đa kháng.

Characterization of multi-antibiotic resistant bacteria isolated from ornamental fishes and therapeutic potential of phytochemicals

Nguyen Thanh Luan

SUMMARY

The ornamental fish industry is developing rapidly in the worldwide. However, the ornamental fish also is the source for spreading the pathogens from fish to human. In this study, the biological characteristics of 7 Gram (+) bacteria strains isolated from 4 ornamental fish species in Ho Chi Minh City, including their susceptibility with antibiotics and plant extract substances (phytochemicals) was investigated. The studied result showed that there were 6 out of 7 multi-antibiotic resistant strains, resisted to at least 8/12 antibiotics. For the banned antibiotics, 7 above bacteria strains were susceptible with ciprofloxacin and ofloxacin, and very few strains were susceptible with ampicillin (4/7), tetracyclin (1/7), and chloramphenicol (0/7). There were 5 out of 6 randomly selected isolates were identified as *Enterococcus faecalis* by 16S rRNA gene sequencing (> 99,6% of similarity). There were 2 plant extract substances, such as TT1 and TT2, these substances could inhibit 4 bacterial strains isolated from Japanese koi, carp, and oranda goldfish. Particularly, the studied results showed the ornamental fish infected with *E. faecalis* could be the reason for spreading the antibiotic resistant genes into natural environment and causing the bad effects to the local fish population and human health. The use of phytochemicals replacing antibiotics in prophylaxis and therapy for ornamental fish would be the safe solution. However, mechanisms generating the occurrence of super resistance phenomenon and bacteria inhibition of the phytochemicals need to be further studied.

Keywords: Ornamental fish, plant extract substances (hytochemicals), multi-antibiotic resistant bacteria

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong năm 2018, Thành phố Hồ Chí Minh đã xuất khẩu 10,5 triệu cá cảnh (Ornamental fish) trị giá 12,7 triệu USD, tăng 14,8% về lượng và 10,6% về giá trị so với cùng kỳ năm ngoái (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.

Giống như các động vật nuôi cảnh khác, cá cảnh cũng dễ mắc các loại bệnh do vi khuẩn gây ra, phần lớn bao gồm các chi vi khuẩn Gram âm gây bệnh như: *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* và *Vibrio*; vi khuẩn Gram dương chủ yếu là *Streptococcus* (Walczak và cs 2017) và *Enterococcus* (Rahman và ctv., 2017). Các nguyên nhân góp phần làm cá mắc bệnh có thể do Stress môi trường nước, vận chuyển, mật độ nuôi cao, và dinh dưỡng không đầy đủ tạo điều kiện cho vi khuẩn bùng phát. Thực tế cho thấy mẫu nước từ các bể cá cảnh nhiễm rất nhiều vi khuẩn Gram dương, Gram âm, hiếu khí và kỵ khí (Trust, 1974). Sự vận chuyển, buôn bán các loài cá cảnh cũng như việc xử lý cá chết, nước thải hoặc các vật liệu khác từ bể cá là nguy cơ gây phát tán các tác nhân gây bệnh và từ đó làm tăng sự lây nhiễm trên người.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện đánh giá khả năng đa kháng (kháng 2 nhóm kháng sinh trở lên) của các chủng vi khuẩn phân lập từ 4 loài cá cảnh được nuôi phổ biến ở Việt Nam bao gồm cá Koi Nhật (*Cyprinus carpio var koi Linnaeus*, 1758), cá chép vây rồng (*Cyprinus carpio*), cá vàng ba đuôi (*Carassius auratus*), cá đầu lân (*Carassius auratus auratus*). Các chủng vi khuẩn được kiểm tra các đặc điểm về sinh lý, sinh hóa và được phân loại định danh bằng trình tự gene 16S rDNA. Đặc biệt, để tìm giải pháp phòng bệnh thay thế kháng sinh, các hợp chất tự nhiên chiết xuất từ thực vật được dùng để khảo sát hoạt tính kháng *in-vitro* các loài vi khuẩn phân lập trong nghiên cứu này. Kết quả nghiên cứu này sẽ đóng góp thông tin quan trọng về sự kháng kháng sinh và giải pháp phòng và điều trị bệnh trên cá cảnh bằng các hợp chất tự nhiên.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm thí nghiệm

Trong nghiên cứu này, việc phân lập, nuôi cấy, thử nghiệm độ nhạy kháng sinh và độc lực của các chủng vi khuẩn được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Thú y, Viện Khoa học Ứng dụng HUTECH, Trường Đại học Công nghệ Tp. HCM.

2.2. Cá thí nghiệm

Trong thí nghiệm đánh giá vi khuẩn đa kháng phân lập từ bốn loài cá cảnh (3 con/loài) có dấu hiệu lơ dờ, gần chết (hình 1) được thu từ cửa hàng cá cảnh ở Thủ Đức, Tp.HCM tháng 4 năm 2019, các mẫu lách, thận, và gan của mẫu cá được thu nhận vô trùng và cấy lên đĩa môi trường Trypton Soy agar (TSA, Himedia, India), và Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar (TCBS, TMMedia, India). Đĩa cấy được ủ 24 giờ, 28°C.

Trong thử nghiệm độc lực gây chết cá, cá Koi (~10g/con, 100 con) được mua từ trại cá Minh Lộc, Thủ Đức, có màu sắc tươi sáng, phản ứng linh hoạt được nuôi thích nghi 1 tuần trong hệ thống bể 300L, sục khí 24/24 giờ tại Phòng thí nghiệm Thú y.

2.3. Phân lập và định danh vi khuẩn

Vi khuẩn phát triển trên môi trường TSA và TCBS được làm thuần và kiểm tra các chỉ tiêu cơ bản như: nhuộm Gram, tính di động, oxidase, catalase, khả năng dung huyết. Vi khuẩn được định danh dựa vào trình tự gen 16S rDNA phân tích tại Phòng thí nghiệm Phù Sa, Cần Thơ. Các vi khuẩn được bảo quản trong môi trường TSA + 15% glycerol, -80°C. Các vi khuẩn được tăng sinh trên TSA 24 giờ, 28°C trước khi sử dụng cho thử nghiệm tiếp theo.

2.4. Đánh giá khả năng đa kháng

Thử nghiệm độ nhạy với kháng sinh được thực hiện trên môi trường thạch Muller-Hinton Agar (HiMedia, India) theo phương pháp đĩa khuếch tán kháng sinh của Kirby-Bauer. Theo đó, dung dịch kháng sinh được bổ sung vào giếng (d = 6 mm, 40µl) đã chuẩn bị sẵn trên đĩa thạch trải đều vi khuẩn (10⁸CFU/ml, theo hướng dẫn của CLSI 2006). Các loại kháng sinh khảo sát trong nghiên cứu này bao gồm clindamycin, ampicillin, tetracyclin, amoxicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin,

erythromycin, deoxycylin, cefalaxin, ofloxacin, lincomycin, acid clavulanic và amoxicilin mua từ ông ty dược phẩm Mekophar, Việt Nam. Sau đó, các đĩa thạch được ủ 24 giờ ở 28°C và đường kính vòng kháng được đo, đánh giá theo các tiêu chí diễn giải do CLSI (2006) quy định.

2.5. Khả năng kháng khuẩn của chiết xuất thực vật

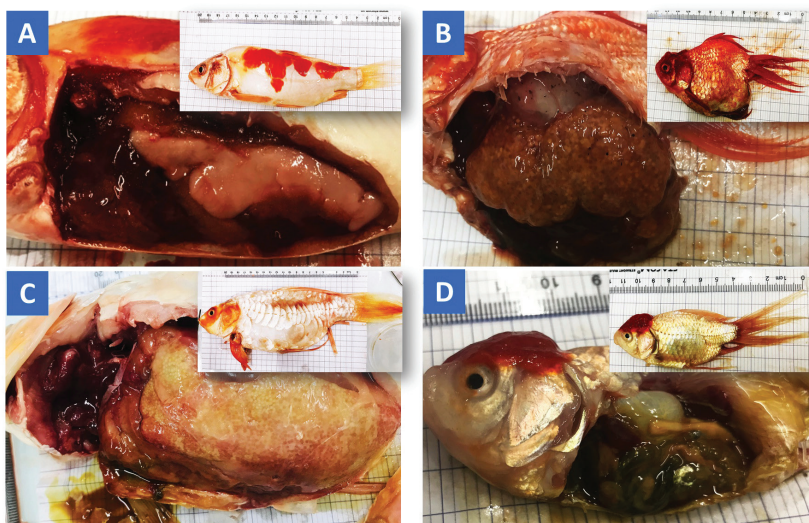
Các hợp chất tự nhiên TT1 và TT2 được chiết xuất tại phòng thí nghiệm thực vật, Viện Khoa học Ứng dụng HUTECH, Đại học Công nghệ Tp.HCM. Đối với mẫu chiết xuất TT1, bột lá cây thanh trà (*Bouea macrophylla* Griffith) TD1 thu nhận vào tháng 4-5/2019 tại Cần Thơ, được ngâm trong dung môi ethanol 70% kết hợp lắc ở tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10, tốc độ lắc 150 vòng/phút, trong 48 giờ. Dịch chiết được thu nhận sau khi lọc qua giấy lọc để loại bỏ cặn để chuẩn bị quá trình thu cao. Dịch chiết được cô quay chân không để thu cao. Đối với chiết xuất TT2 lá tía tô sau khi phơi khô được thực hiện ly trích bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước tham khảo theo phương pháp thủy phân của Majolo và ctv., (2016). Cao chiết TT1 và tinh dầu TT2 được bảo quản ở nhiệt độ 4°C. Các đĩa giấy (~6mm) vô trùng được thấm dịch cao chiết pha loãng với DMSO hoặc nước cất

vô trùng (0.1g/mL đối với cao chiết TT1) hoặc thấm trực tiếp (đối với dịch chiết TT2) được đặt trên bề mặt các đĩa thạch vi khuẩn đã được trải đều (10^8 CFU/ml), tham khảo theo phương pháp của Rahman và ctv., (2017). Đĩa giấy đối chứng thấm DMSO hoặc nước cất cô trùng. Các đĩa thạch được ủ 24 giờ ở 28°C.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa của vi khuẩn phân lập từ các loài cá cảnh

Tổng cộng 7 chủng vi khuẩn phân lập từ gan, thận và lách của các mẫu cá nghi nhiễm bệnh (Hình 1) đều phát triển được trên môi trường TSA nhưng không phát triển được trên môi trường TCBS. Các chủng thuần được kiểm tra các đặc điểm về hình thái, sinh lý, sinh hóa do các khuẩn lạc mọc dày và xuất hiện khuẩn thuần sau 24 - 36 h ủ ở nhiệt độ 28°C. Vi khuẩn phân lập đều là các tế bào vi khuẩn có khả năng kháng mạnh với NaCl (Bảng 1), cụ thể so với các chủng khác, duy nhất chủng CN-T có khả năng kháng NaCl 8%. Các chủng có khả năng ly giải hồng cầu bao gồm KOI-T, CN-T, và BĐ-T (β -hemolysis).



Hình 1. Các biểu hiện bệnh ở mẫu cá cảnh trong nghiên cứu này. Triệu chứng gồm dịch khoang bụng ở cá KOI nhật (A); gan sưng to, cơ quan hoại tử ở cá ba vàng ba đuôi (B), cá chép nhật (C), cá đầu lân (D). Các khuẩn lạc mọc đồng nhất trên môi trường TSA.

Bảng 1. Đặc điểm sinh lý sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập từ một số loài cá cảnh

Đặc điểm KOI-L	Các chủng phân lập từ cá cảnh						
		KOI-T	KOI-G	CN-T	CN-G	ĐL-T	BĐ-G
Kháng NaCl	7%	+	+	+	+	+	+
	8%	+	+	+	+	+	+
	9%	-	-	-	+	-	-
Hemolysis (5%)		ND	β	γ	β	γ	β
Gram		+	+	+	+	+	+

+, kháng NaCl; -, không kháng NaCl

ND: không thực hiện; β : ly giải hồng cầu kiểu β haemolysis; γ : không ly giải hồng cầu

3.2. Kết quả thử độ nhạy cảm với kháng sinh

Kết quả kiểm tra độ nhạy của 7 chủng với 12 loại kháng sinh đã cho kết quả 6/7 chủng kháng ít nhất 8 loại kháng sinh (Bảng 1). Mặc

dù các chủng đều nhạy cảm với ciprofloxacin và ofloxacin (0/7), cả hai loại kháng sinh này đã bị cấm sử dụng trong sản xuất kinh doanh thủy sản và thú y (bảng 2).

Bảng 2. Đặc điểm nhạy cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn phân lập từ một số loài cá cảnh

Kháng sinh	Nồng độ	Tình trạng [#]	Các chủng phân lập từ cá cảnh						
			KOI-L	KOI-T	KOI-G	CN-T	CN-G	ĐL-T	BĐ-G
Clindamycin	10 μ g	-	R	R	R	R	R	R	R
Ampicillin	10 μ g	Cấm	R	R	S	S	S	R	S
Tetracyclin	30 μ g	Cấm	R	R	R	R	R	R	S
Amoxicillin	25 μ g	Hạn chế	R	R	R	R	R	R	S
Chloramphenicol	30 μ g	Cấm	R	R	R	R	S	S	S
Ciprofloxacin	5 μ g	Cấm	R	R	I	I	R	R	I
Erythromycin	15 μ g	Hạn chế	S	S	S	S	S	S	S
Doxycycline	30 μ g	-	R	R	R	R	R	I	R
Cefalexin	30 μ g	-	R	R	R	R	R	R	R
Ofloxacin	5 μ g	Cấm ^s	R	R	R	R	R	R	R
Lincomycin	15 μ g	Hạn chế	S	S	S	S	S	S	S
Acid clavulanic và amoxicilin	20 + 10 μ g	-	R	R	R	R	R	R	R
Ratio (R/12)			10	10	8	8	8	8	5

*, following Biorad disc test with strain *E. coli* ATCC 25922; +, kháng NaCl; -, không kháng NaCl

S = nhạy cảm, I = kháng trung gian, R = Kháng; # Thông tư số 10/2016/TT-BNNPTNT ngày 01/6/2016 và § Thông tư số 15/2009/TT-BNN ngày 17/03/2009 của Bộ Nông nghiệp và PTNT;

Ngoài ra, tất cả 7/7 chủng đều cho thể hiện khả năng kháng clindamycin, doxycycline, cefalaxin và lincomycin. Đặc biệt, 7/7 chủng kháng hoàn

toàn (đường kính vòng kháng = 0) với kháng sinh lincomycin (hạn chế sử dụng). Trong khi đó, 6/7 chủng kháng hoàn toàn với kháng sinh

clindamycin, 5/7 chủng kháng hoàn toàn với kháng sinh erythromycin (hạn chế sử dụng). Đối với các loại kháng sinh đã cấm sử dụng, 4/7 chủng nhạy cảm với ampicillin, 1/7 chủng nhạy cảm với tetracyclin, 3/7 chủng kháng trung gian (I) với chloramphenicol. Kết quả cho thấy cần có những khảo sát cụ thể hơn trên số lượng lớn chủng phân lập từ thủy sản kháng các loại kháng sinh hạn chế và chưa hạn chế để có những biện pháp đề phòng phù hợp như nâng cao mức độ cảnh báo hoặc cấm sử dụng các loại kháng sinh đang hạn chế hiện nay.

3.3. Kết quả giải trình tự 16S rDNA

Các sản phẩm PCR khuếch đại trình tự 16S rDNA của 6 vi khuẩn (bảng 3) được phân tích và định danh bằng công cụ RDP SEQMATCH (<http://rdp.cme.msu.edu/>) (Cole và ctv, 2014). Kết quả cho thấy, chủng CN-T, CN-G, KOI-T, ĐL-T, và BÐ-L có mức độ tương đồng cao nhất với *Enterococcus faecalis* JCM 5803 (type strain). Mỗi quan hệ phát sinh loài giữa các vi khuẩn phân lập từ cá cảnh và cá rô đồng thương phẩm (thu được từ nghiên cứu trước đây của chúng tôi) cho thấy *E. faecalis* có thể đóng vai trò trung gian gây bệnh và phát tán gen kháng kháng sinh và gen độc lực giữa các loài thủy sản.

Bảng 3. Đặc điểm phân tử của các vi khuẩn phân lập từ cá cảnh

Mã	Loài cá	Cơ quan	RDP Sematch®	Độ tương đồng ^s
CN-T	Chép Nhật	Thận	<i>Enterococcus faecalis</i> (T); JCM 5803	99,65%
CN-G	Chép Nhật	Gan	<i>Enterococcus faecalis</i> (T); JCM 5803	99,62%
KOI-G	Koi	Gan	<i>Bacillus cereus</i> (T); ATCC 14579	99,60%
KOI-T	Koi	Thận	<i>Enterococcus faecalis</i> (T); JCM 5803	99,82%
ĐL-T	Đầu lân	Thận	<i>Enterococcus faecalis</i> (T); JCM 5803	99,80%
BÐ-T	Ba đuôi	Thận	<i>Enterococcus faecalis</i> (T); JCM 5803	100%

^s, dựa vào kết quả blast nucleotide <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

[@], <http://rdp.cme.msu.edu/> (Cole và ctv., 2014)



Hình 2. Các sản phẩm PCR khuếch đại trình tự 16S rDNA của các vi khuẩn phân lập từ cá cảnh và cá rô đồng trong nghiên cứu khác của chúng tôi được thức hiện so sánh bằng phần mềm Mega 7

Kết quả định danh các chủng *E. faecalis* phù hợp với các nghiên cứu gần đây báo cáo rằng *E. faecalis* là chủng đa kháng và được xem như một trong những nguyên nhân quan trọng gây bệnh ở cá (ví dụ như cá rô phi ở Ai Cập (Petersen và Dalsgaard, 2003), Thái Lan (Ahmed và ctv., 2013; Abou El-Geit và ctv., 2013)), ảnh hưởng nghiêm trọng đến các hoạt động nuôi trồng thủy sản trên toàn thế giới (Arias và ctv., 2012; Rahman và ctv, 2017), và đặc biệt có khả năng phát tán và gây bệnh trên người (Lebreton và ctv, 2014).

3.4. Độc lực của vi khuẩn *E. faecalis* trên cá

Các yếu tố độc lực đóng một vai trò quan trọng trong khả năng gây bệnh của các chủng enterococci bao gồm chất kết tụ (agg, asal), cytolysin (cyl), gelatinase (gelE), protein ngoại bào (esp), bám collagen (ace, acm), và yếu tố bám giống kháng nguyên viêm nội tâm mạc (efaAfs và efaAfm) (Ben Braïek và O., Smaoui, 2019). Trong đó, các chủng vi khuẩn *E. faecalis* có khả năng tiết ra lantibiotic enterocins (class I) là cytolysin, một loại hemolytic bacteriocins (β -haemolysin). Khả năng gây chết do nhiễm vi khuẩn *Enterococcus* sản xuất cytolysin cao hơn năm lần so với nhiễm vi khuẩn *Enterococcus* không sản xuất noncytolysin. Bên cạnh sự hiện diện của các yếu tố quyết định độc lực, sự kháng kháng sinh đóng vai trò quan trọng vào khả năng gây bệnh của các chủng enterococcal. Đặc điểm độc tính và kháng kháng sinh trong enterococci được báo cáo là do cơ chế chuyển gen ngang hoặc dọc và thu nhận vật liệu di truyền. Sự chuyển gen ngang của đảo bệnh 150 kb (pathogenicity island) có chứa khoảng 100 operon mã hóa cho các gen độc lực (độc tố, cytolysin, protein bề mặt và chất kết tụ) được mô tả trong *E. faecalis* bởi một plasmid để đáp ứng với pheromone.

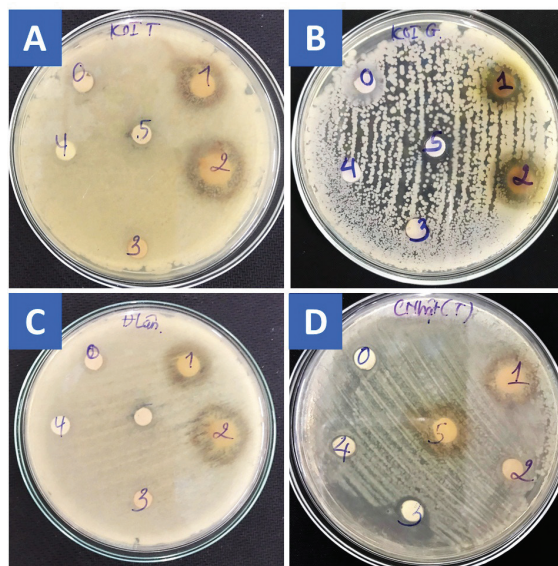
Phù hợp với kết quả ly giải hồng cầu (bảng 1), Kết quả gây nhiễm nhân tạo trên cá Koi bằng chủng *E. faecalis* KOI-T gây chết cá với các dấu hiệu lâm sàng và tổn thương sau khi chết như xuất huyết, xói mòn đuôi (hình 3). Các biểu hiện lâm sàng và kháng kháng sinh cũng được thấy ở các chủng *E. faecalis* trong nghiên cứu trước đây như Rahman và ctv., (2017).



Hình 3. Biểu hiện lâm sàng của mẫu cá Koi gây nhiễm nhân tạo với vi khuẩn đa kháng *E. faecalis* KOI-T với liều 105 CFU/con ở xoang bụng.

3.5. Tính kháng khuẩn của các dược chất thực vật

Các kết quả được mô tả trên hình 4 cho thấy, chiết xuất thực vật TT1 có khả năng ức chế sự phát triển của 4 chủng phân lập từ cá cảnh bao gồm KOI-T, KOI-G, ĐL-T, và CN-T. Trong khi đó, TT2 chỉ có khả năng kháng 2 chủng KOI-G và CN-T. Kết quả này tạo tiền đề cho các mô hình nghiên cứu điều trị bệnh cá cảnh, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho việc ứng dụng chiết xuất từ loài cây này trong điều trị các bệnh nhiễm khuẩn trên các loài thủy sản khác.



Hình 4. Hoạt tính kháng của chiết xuất TT1 và TT2 trên các chủng phân lập từ cá cảnh bệnh
(A) Chiết xuất TT1 (1, 2) kháng chủng KOI-T;
(B) TT1 (12) và TT2 (5) kháng chủng KOI-G;
(C) TT1 (1, 2) kháng ĐL-T;
(D) TT1 (1, 5) và TT2 (3) kháng CN-T; (0) là đối chứng DMSO.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rằng 7 chủng phân lập từ 4 loài cá cảnh đều là các vi khuẩn gram dương, kháng ít nhất 6% NaCl và là các chủng đa kháng. 6/7 chủng kháng ít nhất 8/12 loại kháng sinh. Đối với các loại kháng sinh đã cấm sử dụng, có rất ít chủng nhạy cảm ampicillin, tetracyclin, và chloramphenicol. Chúng tôi đề nghị cần có những khảo sát trên số lượng lớn các chủng vi sinh gây bệnh trên cá/ cá cảnh để nâng cao hình thức cảnh báo vì khi các chủng vi khuẩn đa kháng này phát tán gene kháng sẽ có thể đặc biệt khó kiểm soát. Cuối cùng, phải hết sức cẩn thận trong việc xử lý cá chết, nước thải hoặc các vật liệu khác từ bể cá, vì nhiều bệnh của cá cảnh có thể lan vào tự nhiên và ảnh hưởng đến quần thể cá bản địa và sức khỏe con người (Cabello và ctv, 2013).

Mặc dù các dịch chiết thực vật TT1 và TT2 có hiệu quả kháng 4 chủng phân lập từ cá Koi, chép Nhật và đầu lân (Hình 2), chúng lại không có hoạt tính trên một số chủng khác và chủng phân lập từ cá vàng ba đuôi trong nghiên cứu này. Do đó, các hướng nghiên cứu tiếp theo cần khảo sát hiệu quả bảo vệ cá của các loại dịch chiết thực vật trên mô hình cá cũng như quy mô trang trại để tiến tới việc thay thế kháng sinh dự phòng và chữa bệnh trong nuôi trồng thủy sản bằng giải pháp an toàn. Ngoài ra, các cơ chế làm xuất hiện hiện tượng siêu kháng, ức chế của dịch chiết thảo dược, cũng như các đặc điểm phân tử của các gene kháng thuốc, cũng cần được phân tích.

Lời cảm ơn: Quỹ nghiên cứu Khoa học và công nghệ, Trường Đại học Công nghệ, Tp. HCM đã tài trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abou El-Geit, E.N., Saad, T.T., Abdo, M.H., Mona, S.Z., 2013. Microbial infections among some fishes and crustacean species during blooming phenomenon in Qaroun Lake-Egypt. *Life Sci. J.* 2, 10.
- Ahmed, M.E. & El-Refaei, 2013. Studies on major bacterial diseases affecting fish; tilapia *Oreochromis niloticus*, catfish, *Clarias gariepinus* and mullets in Port Said, Egypt with special references to its pathological alterations. *Researcher* 5, 5–14.
- Arias, C.A. & Murray, B.E., 2012. The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* 10, 266–278.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M., 1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 36:493-49.
- Ben Braïek, O., Smaoui, S., 2019. Enterococci: between emerging pathogens and potential probiotics. *BioMed Research International*, Article ID 5938210.
- Cabello, F.C, Godfrey, H.P., Tomova, A., Ivanova, L., Dölz, H., Millanao, A., Buschmann, A.H., 2013. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environ. Microbiol.* 15:1917–1942.
- CLSI., 2006. Methods for antimicrobial disk susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals. Approved guideline VET03-A. *Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania.*
- Cole, J.R., Wang, Q., Fish, J.A., Chai, B., McGarrell, D.M., Sun, Y., Brown, C.T., Porras-Alfaro, A., Kuske, C.R., Tiedje, J.M., 2014. Ribosomal Database Project: Data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Research.* 42(Database issue): D633-42.
- Lebreton F., Rob J. L. Willems, and Michael S. Gilmore., 2014). Enterococcus diversity, origins in nature, and gut colonization. Enterococci: From commensals to leading causes of drug resistant infection. Edited by: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N. Boston
- Petersen, A., Dalsgaard, A., 2003. Antimicrobial resistance of intestinal *Aeromonas* spp. and *Enterococcus* spp. in fish cultured in integrated broiler-fish farms in Thailand. *Aquaculture* 219, 71–82.
- Rahman, M., Rahman, M.M., Deb, S.C., Alam, M.S., Alam, M.J., Islam, M.T., 2017. Molecular identification of multiple antibiotic resistant fish pathogenic *Enterococcus faecalis* and their Control by Medicinal Herbs. *Scientific reports* 7(1), 3747.
- Trust, T.J., Bartlett K.H., 1974. Occurrence of potential pathogens in water containing ornamental fishes. *Applied Microbiology* 28(1):35-40.
- Walczak, N., Puk, K., Guz, L., 2017. Bacterial flora associated with diseased freshwater ornamental fish. *Journal of veterinary research* 61(4), 445–449.

Ngày nhận 4-10-2019

Ngày phản biện 20-11-2019

Ngày đăng 1-12-2019