

THIẾT LẬP BỘ SƯU TẬP VI KHUẨN KHÁNG THUỐC KHÁNG SINH CHLORAMPHENICOL TẠI KHOA THỦY SẢN, ĐẠI HỌC CẦN THƠ

Đặng Thị Hoàng Oanh¹, Đoàn Nhật Phương¹,
Nguyễn Minh Hậu¹ và Nguyễn Thanh Phương¹

ABSTRACT

*The use of antimicrobials in aquaculture for disease prophylactic and therapeutic treatment may lead to the development of antimicrobial resistant among bacterial pathogens infecting cultured animals and humans. Five fish species representing the diversity of important species cultured in the Mekong river delta, Viet Nam including Pangasius catfish (*Pangasius hypophthalmus*), Tilapia (*Oreochromis niloticus*), Common carp (*Cyprinus carpio*), Snakeskin gouramy (*Strichogaster pectoralis*) and giant gouramy (*Osphronemuss goramy*) were sampled for chloramphenicol (CHL) resistance bacteria during the period¹ between June to December, 2002. A total of 240 CHL resistant isolates and 50 CHL susceptible bacterial isolates were collected and preserved in cryopreservation system. Our collection includes 10 highly CHL resistant strains which growth was observed at 256 ppm CHL. These isolates have been using for a series of studies including taxonomy, susceptibility testing to antimicrobials used in aquaculture, epidemiological relationship amongst the collection of bacteria and the potential of genetic exchange between resistant and susceptible isolates. The generating data will be used to define strategic approaches to monitoring antibiotic resistance on fish farms.*

Keywords: Antibiotic resistance, aquaculture, chloramphenicol, bacteria, isolation.

Title: Isolation and preservation of chloramphenicol resistance bacteria from aquaculture farms in the Mekong River Delta, Viet Nam.

TÓM TẮT

*Sử dụng kháng sinh để phòng và trị bệnh trong nuôi thủy sản có thể dẫn đến sự hình thành các mầm bệnh vi khuẩn kháng kháng sinh và gây tác hại đến động vật nuôi và con người. Năm loài cá đại diện cho nhiều loài cá nuôi có giá trị kinh tế nuôi ở Đồng Bằng Sông Cửu Long gồm cá Tra (*Pangasius hypophthalmus*), cá rô phi (*Oreochromis niloticus*), cá chép (*Cyprinus carpio*), cá sặc rằn (*Trichogaster pectoralis*) và cá tai tượng (*Osphronemuss goramy*) đã được chọn thu mẫu để nghiên cứu vi khuẩn kháng thuốc Chloramphenicol (CHL) trong thời gian từ tháng 6 đến tháng 12 năm 2002. Có 240 dòng vi khuẩn kháng CHL và 50 dòng vi khuẩn nhạy với CHL đã được phân lập và lưu giữ trong hệ thống trữ vi khuẩn ở -70 °C (Cryopreservation system). Trong số này có 10 chủng phát triển được ở nồng độ 256 ppm CLH xếp vào nhóm kháng cao. Những chủng này dùng để thực hiện nhiều nghiên cứu tiếp theo như về phân loại, thử tính nhạy với các kháng sinh dùng trong nuôi thủy sản, mối quan hệ về dịch tể học giữa các chủng vi khuẩn sưu tầm và có thể dùng trong chuyển đổi gen giữa các chủng nhạy và kháng kháng sinh. Cơ sở dữ liệu của nghiên cứu này cũng sẽ được dùng trong xây dựng giải pháp quản lý và theo dõi sự kháng kháng sinh ở các cơ sở nuôi cá.*

Từ khóa: Antibiotic resistance, aquaculture, Chloramphenicol, bacteria, isolation.

1 GIỚI THIỆU

Nghề nuôi thủy sản ở vùng Đồng Bằng Sông Cửu Long đang phát triển rất nhanh. Sản lượng nuôi tôm cá đạt 670.562 tấn bao gồm 363.359 tấn tôm/cá nước ngọt và 307.333 tấn tôm cá nước mặn/lợ (Bộ Thủy sản, 2004). Tuy nhiên, khi nghề nuôi được thâm canh hóa

¹ Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ

nhất là nuôi mật độ cao thì vấn đề dịch bệnh xảy ra thường xuyên hơn và thiệt hại cũng nhiều hơn. Hiện tại thuốc kháng sinh được người nuôi sử dụng rất rộng rãi để phòng và trị bệnh cho các đối tượng nuôi thủy sản. Hiện có 122 sản phẩm thuốc kháng sinh lưu hành trên thị trường dùng được dùng trong nuôi tôm (Nga, 2004) và 29 sản phẩm kháng sinh dùng được dùng trong nuôi cá da trơn (Tuấn, 2004 và Hải 2004). Sử dụng kháng sinh không đúng (lạm dụng sử dụng, sử dụng không đúng loại và liều sử dụng,...) trong nuôi thủy sản, trong đó có chloramphenicol (CHL) đã gây nên sự kháng thuốc của một số vi khuẩn có mặt trong các thủy vực ngày một gia tăng và không loại trừ khả năng kháng thuốc sẽ được chuyển sang vi khuẩn gây bệnh ở người. Vấn đề được đặt ra là việc áp dụng những biện pháp quản lý hiệu quả về sinh thái môi trường cũng như khống chế những ảnh hưởng do hiện tượng kháng thuốc gây nên.

Trong khuôn khổ của dự án Asiasist (mã số EU-ICA4-CT-2001-10028) do Cộng đồng chung Châu Âu (EU) tài trợ thông qua sự hợp tác nghiên cứu của các thành viên thuộc sáu quốc gia gồm Anh, Bỉ, Ý, Thái Lan, Mã Lai và Việt Nam. Trường Đại học Cần Thơ là thành viên chính thức của dự án tham gia các nội dung nghiên cứu bao gồm: (i) thiết lập bộ sưu tập các chủng vi khuẩn kháng chloramphenicol; (ii) xác định vị trí phân loại; (iii) định tít kiểu gen xác định quan hệ dịch tễ; (iv) lập kháng sinh đồ và nghiên cứu khả năng di chuyển gen kháng thuốc giữa các chủng vi khuẩn. Dữ liệu sẽ được sử dụng để đề xuất các giải pháp quản lý việc sử dụng chloramphenicol trong nuôi thủy sản nhằm ngăn ngừa sự phát tán gen kháng thuốc kháng sinh.

Trong phạm vi của báo cáo này chỉ trình bày kết quả phân lập vi khuẩn kháng chloramphenicol từ các hệ thống nuôi thủy sản ở vùng Đồng Bằng Sông Cửu Long và sự thiết lập bộ sưu tập vi khuẩn kháng chloramphenicol tại Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương pháp lưu trữ và phục hồi vi khuẩn

Lưu trữ và phục hồi vi khuẩn được dựa theo phương pháp của Huys (2002). Hệ thống cryobead (Microbank™, Pro-Lab Diagnostics, UK) được chọn sử dụng để lưu trữ vi khuẩn. Hệ thống này cho phép lưu trữ vi khuẩn ở nhiệt độ -70°C trong một thời gian dài mà không làm ảnh hưởng đến các đặc tính sinh học của chúng.

Vi khuẩn được cấy lên môi trường Iso-Sensitest Agar (ISA-Oxoid) có bổ sung 35 ppm CHL (Oxoid) và được ủ 24 giờ ở 28°C. Phân nửa số khuẩn lạc mọc trên đĩa ISA được thu bằng que cấy tiệt trùng và trữ vào ống cryobead và giữ ở -70°C. Sau 48 giờ vi khuẩn được phục hồi lên môi trường ISA ở 28°C để kiểm tra khả năng phục hồi và tính thuần chủng.

2.2 Chọn địa điểm thu mẫu

Địa điểm thu mẫu phân lập vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh được chọn dựa vào kết quả khảo sát chọn điểm. Những điểm được chọn thì mẫu thu phải có vi khuẩn phân lập được từ mẫu bùn và mẫu nước phát triển trên môi trường ISA có bổ sung 35 ppm CHL. Có 8 ao nuôi cá tra, chép, rô phi, tai tượng, sặc rần, tôm sú, tôm càng được chọn thu mẫu trong đợt khảo sát, nhưng chỉ có 5 ao nuôi cá tra, chép, rô phi, tai tượng và sặc rần được chọn thu mẫu. Tại ao thu mẫu sẽ thu ba điểm tại cống thoát nước, cống cấp nước và giữa ao. Có ba loại mẫu được thu là mẫu nước, mẫu bùn và mẫu cá. Nhịp thu mẫu là 3 tuần và thu bốn lần tại mỗi ao.

2.3 Phương pháp thu và xử lý mẫu nước

Tại các vị trí thu mẫu, mẫu nước được thu bằng chai tiệt trùng 50 ml và giữ lạnh trong suốt thời gian chuyển về phòng thí nghiệm để xử lý. Mẫu thu tại ba vị trí được trộn chung lại thành một mẫu nước, pha loãng 10 lần với nước muối sinh lý, sau đó 100 µl mẫu (ở 6 nồng độ từ 10^{-1} đến 10^{-6}) được tán lên đĩa ISA (có và không có bổ sung 35 ppm CHL) với ba lần lặp lại và ủ 24 h ở 28°C. Số khuẩn lạc tổng cộng được đếm trên những đĩa có số khuẩn lạc >20 và <200 và được tính bằng số khuẩn lạc/ml nước. Bốn khuẩn lạc từ đĩa ISA có bổ sung 35 ppm CHL và 4 khuẩn lạc từ đĩa ISA không có bổ sung 35 ppm CHL được chọn lấy và chúng được cấy lên môi trường ISA có và không có CHL để tách ròng trước khi trữ vào cryovial. Các chủng vi khuẩn được phân lập từ môi trường ISA không có CHL phải được cấy lên môi trường ISA có CHL để khẳng định chúng không có khả năng phát triển khi có CHL và sẽ được sử dụng làm các chủng vi khuẩn nhận gen kháng CHL trong các thí nghiệm chuyển gen kháng thuốc sau này.

2.4 Phương pháp thu và xử lý mẫu bùn

Mẫu bùn được thu bằng bộ dụng cụ thu mẫu làm bằng ống nhựa PVC do Viện Nghiên cứu Sức khỏe Động vật Thủy sản Thái Lan thiết kế. Tại mỗi vị trí thu mẫu trong ao, thu khoảng 100 g bùn theo phương pháp của Chinabut & ctv. (2003). Trong phòng thí nghiệm, pha loãng 1 g mẫu bùn từ mỗi vị trí thu mẫu trong 9 ml nước muối sinh lý. Sau đó lấy 3 ml dung dịch được pha loãng từ mỗi mẫu pha loãng trộn lại thành 9 ml mẫu bùn pha loãng của ao thu mẫu đó (3 mẫu/ao). Tiếp tục thao tác xử lý như mẫu nước. Số lượng vi khuẩn được tính bằng số khuẩn lạc/g bùn.

2.5 Phương pháp thu và xử lý mẫu sinh vật

Mẫu cá được thu còn sống và ướp lạnh để vận chuyển về phòng thí nghiệm. Số lượng cá thu ở mỗi ao tùy theo kích cỡ của chúng lúc thu mẫu sao cho có thể vớt lấy được 0,5 g vật chất trong ruột cá cho mỗi vị trí thu mẫu trong ao (3 mẫu/ao). Trong phòng thí nghiệm, pha loãng 0,5 g mẫu ruột từ mỗi vị trí thu mẫu trong 4,5 ml nước muối sinh lý. Sau đó lấy 3 ml dung dịch pha loãng từ mỗi mẫu pha loãng trộn lại thành 9 ml mẫu ruột pha loãng của điểm thu mẫu đó. Tiếp tục thao tác xử lý như mẫu bùn. Số lượng vi khuẩn được tính bằng số khuẩn lạc/g ruột cá.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hợp nhất và tiêu chuẩn hoá phương pháp lưu trữ vi khuẩn

Trước khi tiến hành thu mẫu và phân lập vi khuẩn kháng thuốc, phương pháp lưu trữ và phục hồi vi khuẩn được tiêu chuẩn và hợp nhất hoá giữa các phòng thí nghiệm tham gia nghiên cứu trong dự án. Các chủng vi khuẩn chuẩn bao gồm *Escherichia coli* LMG 8223; *Aeromonas hydrophila* LMG 2844; *Stenotrophomonas maltophilia* LMG 11098; *Vibrio harveyi* LMG 4044; *Acinetobacter junii* LMG 10577 và *Salmonella enteritidis* LMG 10395 được chuyển đến từ phòng thí nghiệm vi sinh vật học Đại học Gent, Bỉ (LMG). Tại phòng thí nghiệm vi khuẩn được phục hồi lên môi trường ISA, trữ vào hệ thống cryovial và giữ 48h ở nhiệt độ 70°C. Sau đó vi khuẩn được phục hồi từ cryovial trở lại trên môi trường ISA, kiểm tra tính thuần chủng và gửi lại Đại học Gent để kiểm tra tính thuần chủng, xác định vị trí phân loại và đánh giá sự đồng nhất của các chủng vi khuẩn chuẩn trong quá trình vận chuyển, tái phục hồi và lưu trữ ở các phòng thí nghiệm khác nhau. Mười chủng vi khuẩn chuẩn phục hồi tốt trong điều kiện phòng thí nghiệm của Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ và được lưu trữ trong hệ thống sưu tập vi khuẩn cryobead của Khoa. Sự hợp nhất và tiêu chuẩn hoá phương pháp lưu trữ và phục hồi vi khuẩn cho phép

việc tiến hành sự hợp nhất và tiêu chuẩn hoá các phương pháp xác định vị trí phân loại, định týp, lập kháng sinh đồ, các thao tác chuyển gen nhằm thiết lập hệ thống dữ liệu về vi khuẩn kháng CHL.

3.2 Chọn địa điểm thu mẫu

Để chọn được các địa điểm thu mẫu đang nuôi các đối tượng nuôi thủy sản có giá trị kinh tế và có vi khuẩn phát triển trên môi trường ISA có bổ sung 35 ppm CHL, chúng tôi đã tiến hành các đợt thu mẫu khảo sát để chọn địa điểm ở các tỉnh Bạc Liêu, Sóc Trăng, Trà Vinh, Vĩnh Long và Cần Thơ. Trong số 20 điểm thu mẫu khảo sát, có 5 địa điểm thu mẫu được chọn và thu thập thông tin chi tiết (Bảng 1).

Bảng 1. Thông tin chi tiết về các địa điểm thu mẫu

Điểm thu mẫu	Thốt Nốt	Côn Ấu	Ô Môn	Tân Phú Thạnh Vĩnh Long	
Hệ thống nuôi	Cá-ao chuồng	Nuôi đơn	Cá-ao chuồng	Nuôi đơn	Nuôi đơn
Thủy vực	Nước ngọt	Nước ngọt	Nước ngọt	Nước ngọt	Nước ngọt
Loài nuôi	Cá chép (Cyprinus carpio)	Cá tra (Pangassius hypophthalmus)	Cá rô phi (Oreochromis niloticus)	Cá tai tượng (Osphronemus goramy)	Cá sặc rằn (Trichogaster pectoralis)
Vị trí thu mẫu (dùng GPS)	10°N 13' 44"; 105E 19' 24"	10°N 01' 24"; 105E 48' 41"	10°N 08' 18"; 105E 32' 59"	100N 03' 38"; 1050E 47' 25"	09°N 58' 56"; 105E 57' 24"
Phương thức thay nước	Theo triều	Theo triều	Theo triều	Theo triều	Theo triều
Sử dụng kháng sinh	Không	Oxytetracycline và sulfadiazine	Không	Không	Không
Mật độ thả nuôi con/m ²	5	20	5	6	10
Chỉ tiêu thủy hóa	T°: 29 °C pH: 6,8 TAN: 1,59 mg/l TSS: 57,4 mg/l	T°: 28,5 °C pH: 7,7 TAN: 3,27 mg/l TSS: 98,5 mg/l	T°: 29,5 °C pH: 7,36 TAN: 0,25 mg/l TSS: 34,4 mg/l	T°: 30 °C pH: 7,1 TAN: 1,6 mg/l TSS: 56,3 mg/l	T°: 30,5 °C pH: 7,2 TAN: 1.39 mg/l TSS: 52,4mg/l
Loại bùn đáy	Bùn pha sét	Cát-bùn	Cát-bùn	Bùn pha sét	Bùn pha sét

Chọn lựa địa điểm thu mẫu có ý nghĩa quyết định đến kết quả sưu tập các chủng vi khuẩn kháng CHL cũng như giá trị khoa học của các dữ liệu liên quan đến hiện tượng kháng thuốc của vi khuẩn trong mối quan hệ với đối tượng và môi trường nuôi. Điều đáng ghi nhận là đã không chọn được địa điểm thu mẫu có đối tượng nuôi là tôm sú hoặc tôm càng xanh thỏa mãn tiêu chí có vi khuẩn phát triển trên môi trường ISA có bổ sung 35 ppm CHL. Nguyên nhân có thể là do các ao nuôi tôm được cải tạo thường xuyên hơn các ao nuôi cá và có chu kỳ nuôi ngắn hơn. Mặt khác, quá trình xử lý nước cũng ảnh hưởng nhiều đến quần thể vi khuẩn có mặt trong ao nuôi tôm.

3.3 Kết quả phân lập và sự thiết lập bộ sưu tập vi khuẩn kháng chloramphenicol

Tổng số có ba trăm chủng vi khuẩn được phân lập từ 5 điểm thu mẫu trong thời gian từ tháng 6/2002 đến tháng 12/2002 theo nhịp thu mẫu là 3 tuần (Bảng 2). Trong đó, 50 chủng vi khuẩn không phát triển trên môi trường thạch có CHL sẽ được sử dụng làm vi khuẩn nhận gen kháng thuốc trong các thao tác chuyển gen. Trong quá trình phân lập chúng tôi sưu tập được 10 chủng vi khuẩn có khả năng phát triển trên môi trường ISA có bổ sung 256 ppm CHL để sử dụng cho mục đích khám phá gen qui định khả năng thích ứng của vi

khuẩn với hàm lượng CHL cao trong môi trường. Các chủng vi khuẩn này được phân lập từ các ao nuôi cá kết hợp với nuôi gia cầm và ao nuôi đã được sử dụng hơn 5 năm.

Bộ sưu tập các chủng vi khuẩn phân lập được thiết lập tại Khoa Thủy sản và đăng ký vào bộ sưu tập của dự án theo các đặt mã số là: **C-V-S-P-p-T-x** hoặc **N-V-S-P-p-T-x**

Với:

C = khuẩn lạc phân lập trên môi trường ISA có bổ sung 35 ppm CHL

N = khuẩn lạc phân lập trên môi trường ISA không có CHL

V = Việt Nam

S = Điểm thu mẫu (TN: Thốt Nốt; OM: Ô môn; CA: Cồn ấu; TP: Tân Phú Thạnh; VL: Vĩnh Long

P = thứ tự ao thu (A, B, C,)

p = lượt thu mẫu (1-4)

T = loại mẫu (W: mẫu nước, S: mẫu bùn và O: mẫu cá)

x = số của khuẩn lạc (1-12).

C₂₅₆ = khuẩn lạc phân lập trên môi trường ISA có bổ sung 256 ppm CHL

Bảng 2. Danh mục các chủng vi khuẩn kháng chloramphenicol thuộc bộ sưu tập

STT	Mã số	STT	Mã số	STT	Mã số	STT	Mã số
1.	C-V-TN-A-1-W-1	76.	C-V-CA-A-3-W-4	151.	C ₂₅₆ -OM-A-4-O-3	226.	C-V-VL-A-4-S-02
2.	C-V-TN-A-1-W-2	77.	C-V-CA-A-3-S-1	152.	C ₂₅₆ -OM-A-4-O-4	227.	C-V-VL-A-4-S-03
3.	C-V-TN-A-1-W-3	78.	C-V-CA-A-3-S-2	153.	C ₂₅₆ -OM-A-4-O-5	228.	C-V-VL-A-4-S-04
4.	C-V-TN-A-1-W-4	79.	C-V-CA-A-3-S-3	154.	C ₂₅₆ -OM-A-4-O-6	229.	C-V-VL-A-4-O-01
5.	C-V-TN-A-1-S-1	80.	C-V-CA-A-3-S-4	155.	N-V-TN-A-1-W-1	230.	C-V-VL-A-4-O-02
6.	C-V-TN-A-1-S-2	81.	C-V-CA-A-3-O-1	156.	N-V-TN-A-1-W-2	231.	C-V-VL-A-4-O-03
7.	C-V-TN-A-1-S-3	82.	C-V-CA-A-3-O-2	157.	N-V-TN-A-2-W-3	232.	C-V-VL-A-4-O-04
8.	C-V-TN-A-1-S-4	83.	C-V-CA-A-3-O-3	158.	N-V-TN-A-1-S-1	233.	C-V-TP-A-1-W-01
9.	C-V-TN-A-1-O-1	84.	C-V-CA-A-3-O-4	159.	N-V-TN-A-1-S-2	234.	C-V-TP-A-1-W-02
10.	C-V-TN-A-1-O-2	85.	C-V-CA-A-4-W-1	160.	N-V-TN-A-1-S-3	235.	C-V-TP-A-1-W-03
11.	C-V-TN-A-1-O-3	86.	C-V-CA-A-4-W-2	161.	N-V-TN-A-2-S-4	236.	C-V-TP-A-1-W-04
12.	C-V-TN-A-1-O-4	87.	C-V-CA-A-4-W-3	162.	N-V-TN-A-1-O-1	237.	C-V-TP-A-1-S-01
13.	C-V-TN-A-2-W-1	88.	C-V-CA-A-4-W-4	163.	N-V-TN-A-1-O-2	238.	C-V-TP-A-1-S-02
14.	C-V-TN-A-2-W-2	89.	C-V-CA-A-4-S-1	164.	N-V-TN-A-2-O-3	239.	C-V-TP-A-1-S-03
15.	C-V-TN-A-2-W-3	90.	C-V-CA-A-4-S-2	165.	N-V-CA-A-1-W-1	240.	C-V-TP-A-1-S-04
16.	C-V-TN-A-2-W-4	91.	C-V-CA-A-4-S-3	166.	N-V-CA-A-1-W-2	241.	C-V-TP-A-1-O-01
17.	C-V-TN-A-2-S-1	92.	C-V-CA-A-4-S-4	167.	N-V-CA-A-1-W-3	242.	C-V-TP-A-1-O-02
18.	C-V-TN-A-2-S-2	93.	C-V-CA-A-4-O-1	168.	N-V-CA-A-1-S-1	243.	C-V-TP-A-1-O-03
19.	C-V-TN-A-2-S-3	94.	C-V-CA-A-4-O-2	169.	N-V-CA-A-1-S-2	244.	C-V-TP-A-1-O-04
20.	C-V-TN-A-2-S-4	95.	C-V-CA-A-4-O-3	170.	N-V-CA-A-1-S-3	245.	C-V-TP-A-2-W-01
21.	C-V-TN-A-2-O-1	96.	C-V-CA-A-4-O-4	171.	N-V-CA-A-2-S-4	246.	C-V-TP-A-2-W-02
22.	C-V-TN-A-2-O-2	97.	C-V-OM-A-1-W-1	172.	N-V-CA-A-1-O-1	247.	C-V-TP-A-2-W-03
23.	C-V-TN-A-2-O-3	98.	C-V-OM-A-1-W-2	173.	N-V-CA-A-1-O-2	248.	C-V-TP-A-2-W-04
24.	C-V-TN-A-2-O-4	99.	C-V-OM-A-1-W-3	174.	N-V-CA-A-1-O-3	249.	C-V-TP-A-2-S-01
25.	C-V-TN-A-3-W-1	100.	C-V-OM-A-1-W-4	175.	N-V-OM-A-1-W-1	250.	C-V-TP-A-2-S-02
26.	C-V-TN-A-3-W-2	101.	C-V-OM-A-1-S-1	176.	N-V-OM-A-1-W-2	251.	C-V-TP-A-2-S-03
27.	C-V-TN-A-3-W-3	102.	C-V-OM-A-1-S-2	177.	N-V-OM-A-2-W-3	252.	C-V-TP-A-2-S-04
28.	C-V-TN-A-3-W-4	103.	C-V-OM-A-1-S-3	178.	N-V-OM-A-1-S-1	253.	C-V-TP-A-2-O-01
29.	C-V-TN-A-3-S-1	104.	C-V-OM-A-1-S-4	179.	N-V-OM-A-1-S-2	254.	C-V-TP-A-2-O-02
30.	C-V-TN-A-3-S-2	105.	C-V-OM-A-1-O-1	180.	N-V-OM-A-2-S-3	255.	C-V-TP-A-2-O-03
31.	C-V-TN-A-3-S-3	106.	C-V-OM-A-1-O-2	181.	N-V-OM-A-2-S-4	256.	C-V-TP-A-2-O-04
32.	C-V-TN-A-3-S-4	107.	C-V-OM-A-1-O-3	182.	N-V-OM-A-1-O-1	257.	C-V-TP-A-3-W-01
33.	C-V-TN-A-3-O-1	108.	C-V-OM-A-1-O-4	183.	N-V-OM-A-1-O-2	258.	C-V-TP-A-3-W-02
34.	C-V-TN-A-3-O-2	109.	C-V-OM-A-2-W-1	184.	N-V-OM-A-2-O-3	259.	C-V-TP-A-3-W-03
35.	C-V-TN-A-3-O-3	110.	C-V-OM-A-2-W-2	185.	C-V-VL-A-1-O-01	260.	C-V-TP-A-3-W-04
36.	C-V-TN-A-3-O-4	111.	C-V-OM-A-2-W-3	186.	C-V-VL-A-1-O-02	261.	C-V-TP-A-3-S-01
37.	C-V-TN-A-4-W-1	112.	C-V-OM-A-2-W-4	187.	C-V-VL-A-1-O-03	262.	C-V-TP-A-3-S-02
38.	C-V-TN-A-4-W-2	113.	C-V-OM-A-2-S-1	188.	C-V-VL-A-1-O-04	263.	C-V-TP-A-3-S-03
39.	C-V-TN-A-4-W-3	114.	C-V-OM-A-2-S-2	189.	C-V-VL-A-1-O-05	264.	C-V-TP-A-3-S-04
40.	C-V-TN-A-4-W-4	115.	C-V-OM-A-2-S-3	190.	C-V-VL-A-1-O-06	265.	C-V-TP-A-3-O-01

41.	C-V-TN-A-4-S-1	116.	C-V-OM-A-2-S-4	191.	C-V-VL-A-1-O-07	266.	C-V-TP-A-3-O-02
42.	C-V-TN-A-4-S-2	117.	C-V-OM-A-2-O-1	192.	C-V-VL-A-1-O-08	267.	C-V-TP-A-3-O-03
43.	C-V-TN-A-4-S-3	118.	C-V-OM-A-2-O-2	193.	C-V-VL-A-1-O-09	268.	C-V-TP-A-3-O-04
44.	C-V-TN-A-4-S-4	119.	C-V-OM-A-2-O-3	194.	C-V-VL-A-1-O-10	269.	C-V-TP-A-4-W-01
45.	C-V-TN-A-4-O-1	120.	C-V-OM-A-2-O-4	195.	C-V-VL-A-1-O-11	270.	C-V-TP-A-4-W-02
46.	C-V-TN-A-4-O-2	121.	C-V-OM-A-3-W-1	196.	C-V-VL-A-1-O-12	271.	C-V-TP-A-4-W-03
47.	C-V-TN-A-4-O-3	122.	C-V-OM-A-3-W-2	197.	C-V-VL-A-2-W-01	272.	C-V-TP-A-4-W-04
48.	C-V-TN-A-4-O-4	123.	C-V-OM-A-3-W-3	198.	C-V-VL-A-2-W-02	273.	C-V-TP-A-4-S-01
49.	C-V-CA-A-1-W-1	124.	C-V-OM-A-3-W-4	199.	C-V-VL-A-2-W-03	274.	C-V-TP-A-4-S-02
50.	C-V-CA-A-1-W-2	125.	C-V-OM-A-3-S-1	200.	C-V-VL-A-2-W-04	275.	C-V-TP-A-4-S-03
51.	C-V-CA-A-1-W-3	126.	C-V-OM-A-3-S-2	201.	C-V-VL-A-2-S-01	276.	C-V-TP-A-4-S-04
52.	C-V-CA-A-1-W-4	127.	C-V-OM-A-3-S-3	202.	C-V-VL-A-2-S-02	277.	C-V-TP-A-4-O-01
53.	C-V-CA-A-1-S-1	128.	C-V-OM-A-3-S-4	203.	C-V-VL-A-2-S-03	278.	C-V-TP-A-4-O-02
54.	C-V-CA-A-1-S-2	129.	C-V-OM-A-3-O-1	204.	C-V-VL-A-2-S-04	279.	C-V-TP-A-4-O-03
55.	C-V-CA-A-1-S-3	130.	C-V-OM-A-3-O-2	205.	C-V-VL-A-2-O-01	280.	C-V-TP-A-4-O-04
56.	C-V-CA-A-1-S-4	131.	C-V-OM-A-3-O-3	206.	C-V-VL-A-2-O-02	281.	N-V-VL-A-2-W-01
57.	C-V-CA-A-1-O-1	132.	C-V-OM-A-3-O-4	207.	C-V-VL-A-2-O-03	282.	N-V-VL-A-2-W-02
58.	C-V-CA-A-1-O-2	133.	C-V-OM-A-4-W-1	208.	C-V-VL-A-2-O-04	283.	N-V-VL-A-2-W-03
59.	C-V-CA-A-1-O-3	134.	C-V-OM-A-4-W-2	209.	C-V-VL-A-3-W-01	284.	N-V-VL-A-1-S-01
60.	C-V-CA-A-1-O-4	135.	C-V-OM-A-4-W-3	210.	C-V-VL-A-3-W-02	285.	N-V-VL-A-1-S-02
61.	C-V-CA-A-2-W-1	136.	C-V-OM-A-4-W-4	211.	C-V-VL-A-3-W-03	286.	N-V-VL-A-2-S-03
62.	C-V-CA-A-2-W-2	137.	C-V-OM-A-4-S-1	212.	C-V-VL-A-3-W-04	287.	N-V-VL-A-2-S-04
63.	C-V-CA-A-2-W-3	138.	C-V-OM-A-4-S-2	213.	C-V-VL-A-3-S-01	288.	N-V-VL-A-1-O-01
64.	C-V-CA-A-2-W-4	139.	C-V-OM-A-4-S-3	214.	C-V-VL-A-3-S-02	289.	N-V-VL-A-1-O-02
65.	C-V-CA-A-2-S-1	140.	C-V-OM-A-4-S-4	215.	C-V-VL-A-3-S-03	290.	N-V-VL-A-1-O-03
66.	C-V-CA-A-2-S-2	141.	C-V-OM-A-4-O-1	216.	C-V-VL-A-3-S-04	291.	N-V-TP-A-2-W-01
67.	C-V-CA-A-2-S-3	142.	C-V-OM-A-4-O-2	217.	C-V-VL-A-3-O-01	292.	N-V-TP-A-2-W-02
68.	C-V-CA-A-2-S-4	143.	C-V-OM-A-4-O-3	218.	C-V-VL-A-3-O-02	293.	N-V-TP-A-2-W-03
69.	C-V-CA-A-2-O-1	144.	C-V-OM-A-4-O-4	219.	C-V-VL-A-3-O-03	294.	N-V-TP-A-2-S-01
70.	C-V-CA-A-2-O-2	145.	C ₂₅₆ -VL-A-1-O-1	220.	C-V-VL-A-3-O-04	295.	N-V-TP-A-2-S-02
71.	C-V-CA-A-2-O-3	146.	C ₂₅₆ -VL-A-1-O-2	221.	C-V-VL-A-4-W-01	296.	N-V-TP-A-2-S-03
72.	C-V-CA-A-2-O-4	147.	C ₂₅₆ -VL-A-1-O-3	222.	C-V-VL-A-4-W-02	297.	N-V-TP-A-2-S-04
73.	C-V-CA-A-3-W-1	148.	C ₂₅₆ -VL-A-1-O-4	223.	C-V-VL-A-4-W-03	298.	N-V-TP-A-3-O-01
74.	C-V-CA-A-3-W-2	149.	C ₂₅₆ -OM-A-4-O-1	224.	C-V-VL-A-4-W-04	299.	N-V-TP-A-3-O-02
75.	C-V-CA-A-3-W-3	150.	C ₂₅₆ -OM-A-4-O-2	225.	C-V-VL-A-4-S-01	300.	N-V-TP-A-3-O-03

4 KẾT LUẬN

Tổng số 240 chủng vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh Chloramphenicol và 50 chủng vi khuẩn nhạy với kháng sinh chloramphenicol đã được phân lập từ các hệ thống nuôi và cá nuôi hiện được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm bệnh học Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Chúng sẽ là nguồn mẫu vật tốt cho các nghiên cứu tiếp theo trong tương lai.

TÀI LIỆU KHAM KHẢO

- Bộ Thủy sản. Kết quả nuôi trồng thủy sản năm 2003 và kế hoạch và giải pháp thực hiện năm 2004. 2004.
- Chinabut S., T. Somsiri, F.Md. Yusoff, Dang thi Hoang Oanh, S. Mohamed , G. Huys, K. Barti. Nguyen Thanh Phuong, J. Swings and A. Teal. A simple device for sampling soft pond bottom sediment. Submitted to Journal of Aquaculture). 2003.
- Hải, N.N. Điều tra kỹ thuật và tình hình sử dụng thuốc và hóa chất trong ương cá Tra (*Pangasius hypophthalmus*) giống. Luận văn tốt nghiệp Đại học. Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. 2002.
- Huys, G. Preservation of bacteria using commercial cryopreservation systems. Standard Operating Procedure, Asiaresist. 2002.
- Nga, N.T.P. Phân tích tình hình phân phối và sử dụng thuốc trong nuôi thủy sản tại Sóc Trăng, Bạc Liêu và Cà Mau. Luận án thạc sĩ Nuôi trồng thủy sản. Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. 2004.
- Tuấn, P.T. Khảo sát bước đầu về tình hình sử dụng thuốc và hóa chất trong nghề nuôi cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) thâm canh ở Đồng Tháp. Luận văn tốt nghiệp Đại học. Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. 2004.