

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ ỨC CHẾ, DIỆT KHUẨN VÀ KHẢ NĂNG KÍCH THÍCH KHÁNG THUỐC CỦA CÁC LOẠI KHÁNG SINH VÀ CHẤT DIỆT KHUẨN THÔNG DỤNG LÊN VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus*

Lê Nguyễn Thiên Phúc¹, Nguyễn Minh Thành¹

¹ Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

* Email: lntphuc@hcmiu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu sử dụng 6 loại kháng sinh và 4 loại chất diệt khuẩn thông dụng nhằm đánh giá độ nhạy cảm và khả năng kháng thuốc của 2 chủng *Vibrio parahaemolyticus* phân lập từ ao nuôi tôm. Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm: Đường kính vòng vô khuẩn, nồng độ ức chế và diệt khuẩn tối thiểu và mô hình kích thích tạo chủng *V. parahaemolyticus* kháng kháng sinh và chất diệt khuẩn. Kết quả nghiên cứu có thể phân chia các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thành 4 nhóm: i) nhóm hiệu quả cao: Doxycycline, enrofloxacin, erythromycin, benzalkonium chloride (BKC); ii) nhóm hiệu quả trung bình: Iodine; iii) nhóm hiệu quả thấp: Ampicillin, chlorine, oxytetracycline, amoxicillin; iv) nhóm không hiệu quả: Cypermethrin. Kết quả của các nghiệm thức thí nghiệm khác biệt nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Kết quả kích thích tạo chủng *V. parahaemolyticus* kháng thuốc cho thấy 3 mô hình kháng thuốc riêng biệt. Nhóm ampicillin, amoxicillin, cypermethrin và chlorine có mô hình kháng tăng dần đều theo thời gian, kích thích khả năng tạo kháng nhanh và cao nên có tác dụng điều trị thấp và ngắn (5 - 10 ngày). Nhóm oxytetracycline, enrofloxacin và iodine duy trì hiệu quả với *V. parahaemolyticus* trong thời gian tương đối dài (14 - 28 ngày) trước khi dẫn đến tình trạng vi khuẩn kháng mạnh. Riêng nhóm doxycycline, erythromycin và BKC có hiệu quả diệt khuẩn rất cao và hiệu lực ổn định kéo dài. Nghiên cứu đã làm rõ hiệu quả diệt khuẩn của các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng và khả năng tạo ra các chủng kháng thuốc theo thời gian sử dụng. Kết quả nghiên cứu có thể định hướng sử dụng đúng các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn trong phòng ngừa và xử lý *V. parahaemolyticus* trong ao nuôi tôm.

Từ khóa: *Vibrio parahaemolyticus*, thuốc kháng sinh, chất diệt khuẩn, chủng kháng thuốc.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của Liên minh thủy sản toàn cầu, Ngành nuôi tôm ở Việt Nam đã đóng góp 15% tổng sản lượng của thế giới với 700 nghìn tấn năm 2019 [1]. Tuy nhiên, nuôi thâm canh mật độ cao dễ dẫn đến dịch bệnh, trong đó có bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND: Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease). Trong giai đoạn 2010 – 2016, tổng thiệt hại toàn cầu do AHPND được ước tính trên 44 tỷ USD, tỷ lệ chết sớm của tôm giai đoạn hậu ấu trùng có thể lên đến 100% chỉ trong 20 ngày sau khi thả giống [2]. *Vibrio parahaemolyticus* được xác định là nguồn gây bệnh khi phá hủy quá trình sinh năng lượng của tôm thông qua biến đổi các chu trình chuyển hoá amino axit, Krebs và quá

trình tạo đường, cũng như thay thế quá trình chuyển hoá chất béo và sản sinh các enzyme có trong gan [2].

Kháng sinh và thuốc diệt khuẩn đã và đang được sử dụng một cách rộng rãi để điều trị và phòng ngừa bệnh thủy sản, trong đó có AHPND, vì các chất này có hiệu quả trong thời gian ngắn nên giảm thiệt hại kinh tế và người nuôi có thể tiếp cận chúng một cách dễ dàng. Tuy nhiên, tình trạng lạm dụng kháng sinh và chất diệt khuẩn trong thời gian dài đã dẫn đến sự xuất hiện của các chủng vi khuẩn đa kháng thuốc làm giảm hoặc vô hiệu hoá thuốc, từ đó ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe con người và vật nuôi. Thống kê gần đây cho thấy, các kháng sinh thông dụng trong thủy sản

điển hình như nhóm β -lactam đều đã bị kháng mạnh, chỉ còn các kháng sinh thế hệ mới là duy trì được hiệu quả [3]. Nhằm giải quyết thiệt hại do AHPND gây ra, các nghiên cứu đánh giá hiệu quả các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng, đặc biệt là các loại được khuyến cáo dùng là rất cần thiết, nhất là trong việc đánh giá lại tác dụng thực tế của các loại thuốc và chất diệt khuẩn để khuyến cáo liều lượng sử dụng hữu hiệu.

Một số nghiên cứu gần đây về sử dụng kháng sinh trong phòng trị *Vibrio* spp. đã được công bố, điển hình như đánh giá công dụng một số kháng sinh trong nuôi tôm với tác nhân gây AHPND phân lập được từ đồng bằng sông Cửu Long [4] và khảo sát độ nhạy với kháng sinh của *Vibrio* spp. từ ao nuôi tôm chân trắng tại Indonesia [5]. Tuy nhiên, các công bố đều tập trung vào xác định độ nhạy cảm với thuốc của vi khuẩn hoặc đánh giá hiệu quả kháng sinh thông qua liều lượng ức chế và tiêu diệt. Hiện tại chưa có nghiên cứu toàn diện thực hiện theo hướng kích thích tạo ra các chủng kháng thuốc để khảo sát khả năng kháng của *V. parahaemolyticus* với từng loại thuốc khi sử dụng chúng trong thời gian dài. Ngoài ra, nghiên cứu hiệu quả các chất diệt khuẩn trong phòng trị *V. parahaemolyticus* cũng chưa được công bố. Mục tiêu của nghiên cứu này không chỉ đánh giá độ nhạy cảm của 2 chủng *V. parahaemolyticus* phân lập từ ao nuôi tôm và xác định liều lượng bị ức chế và tiêu diệt với 6 loại kháng sinh và 4 chất diệt khuẩn thông dụng, mà còn tiến hành khảo sát khả năng kháng thuốc của *V. parahaemolyticus* đối với từng loại thuốc khi được sử dụng trong thời gian dài.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Khu Thực nghiệm Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

2.2.1. Hoá chất và môi trường nuôi cấy

Kháng sinh (Sigma-Aldrich, UK) và thuốc diệt khuẩn (Himedia, Ấn Độ) dùng cho nghiên cứu này là hoá chất tinh khiết dạng thương mại. Môi

trường nuôi cấy và hoá chất (Sigma-Aldrich, UK) được chuẩn bị với nước khử ion và được khử khuẩn bằng phương pháp hấp vô trùng (121°C, 15 phút) hoặc màng lọc polypolyethersulphone kích cỡ 0,22 μ m của Millipore (Watford, UK).

2.2.2. Vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*

Hai chủng *V. parahaemolyticus* dùng cho nghiên cứu: i) 2187 (gây bệnh AHPND) và ii) 2161 (không gây bệnh) là các chủng phân lập có nguồn gốc từ các ao nuôi ở miền Bắc Việt Nam, kiểm tra AHPND bằng phương pháp PCR và được cung cấp bởi Khoa Khoa học và Công nghệ, Đại học Suan Sunandha Rajabhat (Thái Lan). Chủng thuần được định kỳ duy trì trên môi trường thạch tryptic soy agar (TSA) có bổ sung 1% NaCl. Dịch vi khuẩn dùng cho các thí nghiệm được chuẩn bị theo phương pháp nuôi tăng sinh các khuẩn lạc được chọn lọc trong môi trường lỏng Mueller Hinton (MH) broth bổ sung 1% NaCl (30°C, 150 rpm) đến khi đạt giai đoạn hậu pha cấp số bằng phương pháp đo quang phổ ở 600 nm và so sánh với đường chuẩn sinh trưởng. Tế bào vi khuẩn được thu bằng phương pháp ly tâm (2.000 g, 10 phút, 4°C), rửa sạch 2 lần với dung dịch phốt phát-buffered saline (PBS) và pha loãng đến nồng độ CFU/mL cần sử dụng. Nồng độ dịch khuẩn được xác định bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) và kiểm tra chéo bằng cách pha loãng theo dãy nồng độ, cấy trên môi trường MH (30°C, 48 giờ) và đếm khuẩn lạc [6].

2.3. Bố trí thí nghiệm và thu thập số liệu

2.3.1. Khảo sát độ nhạy cảm của các chủng *V. parahaemolyticus* với các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng dựa trên chỉ tiêu đường kính vòng vô khuẩn

Phương pháp khuếch tán thuốc qua đĩa giấy của Bauer và cs (1966) [7] được dùng để khảo sát độ nhạy cảm của các chủng *V. parahaemolyticus* với các loại thuốc thông qua đánh giá tiêu chí đường kính vòng vô khuẩn (ZDI: Zone diameter of inhibition) của 6 nghiệm thức kháng sinh (oxytetracycline, ampicillin, amoxicillin, enrofloxacin, erythromycin, doxycycline) và 4 nghiệm thức chất diệt khuẩn thông dụng (chlorine, iodine, benzalkonium chloride,

cypermethrin). Trong đó, enrofloxacin và cypermethrin được bố trí thí nghiệm cho mục đích nghiên cứu để so sánh với các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng. Kết quả nghiên cứu của 2 chất này không được khuyến cáo sử dụng vì chúng thuộc danh mục kháng sinh không được phép sử dụng trong nuôi trồng thủy sản. Dung dịch gốc của các loại thuốc được chuẩn bị ở nồng độ 100 ppm và được pha loãng đến nồng độ thí nghiệm. Ở mỗi nghiệm thức, các đĩa giấy Whatman vô trùng (cỡ số 3) được nhúng đều vào dung dịch thuốc tương ứng (10 µg thuốc/đĩa giấy) và để khô tự nhiên. Sau đó đĩa giấy đã nhúng thuốc được đặt lên đĩa thạch MHA đã trải sẵn vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (10^7 CFU.mL⁻¹) và được ủ ở 30°C trong 24 giờ. Tất cả nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

ZDI xuất hiện được đo theo đơn vị milimét với thước đo kỹ thuật Mitutoyo 527-121. Độ nhạy cảm theo ZDI (phân loại theo 3 mức là kháng, trung bình và nhạy cảm) được đánh giá theo chuẩn CLSI của Viện Tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ: i) bộ quy chuẩn m100 cho erythromycin và doxycycline [8]; ii) bộ quy chuẩn m45 cho các thuốc còn lại [9].

2.3.2. Khảo sát độ nhạy cảm của các chủng *V. parahaemolyticus* với các loại thuốc thông dụng dựa vào chỉ tiêu nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu

2.3.2.1. Chỉ tiêu nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Phương pháp pha loãng theo quy trình chuẩn của CLSI [10] được sử dụng để xác định giá trị MIC. Cụ thể, 6 nghiệm thức kháng sinh (oxytetracycline, ampicillin, amoxicillin, enrofloxacin, erythromycin, doxycycline) và 4 nghiệm thức chất diệt khuẩn (chlorine, iodine, benzalkonium chloride – BKC, cypermethrin) được chuẩn bị tương ứng trong đĩa ELISA 96 giếng đáy phẳng với thể tích cuối cùng là 100 µL/giếng bằng kỹ thuật pha loãng nối tiếp. Vì vậy dung dịch sau có nồng độ gấp đôi dung dịch trước để mỗi loại thuốc đều có được dãy nồng độ cuối cùng là 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128; 256; 512; 1.024; 2.048; 4.096; 8.192; 16.384 ppm. Trong trường hợp kết quả MIC

của thuốc thu được ở mức 2 ppm, một dãy nồng độ thấp hơn sẽ được bố trí riêng cho thuốc đó cũng với kỹ thuật pha loãng nối tiếp: 0,0039; 0,0078; 0,0156; 0,0312; 0,0625; 0,0125; 0,025; 0,5; 1; 2 ppm nhằm tăng tính chính xác của thử nghiệm. Tiếp đến, 5 µL dịch gốc vi khuẩn ban đầu với nồng độ 10^7 CFU.mL⁻¹ được cho vào tất cả các giếng khảo sát. Đĩa được bọc kín bằng parafilm và ủ ở 30°C trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, nồng độ thấp nhất ức chế *V. parahaemolyticus* tăng trưởng trong mỗi dãy nồng độ khảo sát được xác định là MIC. Tất cả các nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

Đối chứng dương và đối chứng âm được chuẩn bị tương ứng gồm các giếng có môi trường dinh dưỡng lỏng hoặc ethanol và cho vào cùng lượng vi khuẩn ban đầu để ủ. Giếng có môi trường dinh dưỡng lỏng nhưng không cho dịch vi khuẩn ban đầu cũng được chuẩn bị để kiểm soát tình trạng tạp nhiễm. Độ nhạy cảm theo MIC (phân loại theo 3 mức là kháng, trung bình và nhạy cảm) cũng được đánh giá theo chuẩn CLSI của Viện Tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ: i) bộ quy chuẩn m100 cho erythromycin và doxycycline [8]; ii) bộ quy chuẩn m45 cho các thuốc còn lại [9].

2.3.2.2. Chỉ tiêu nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC)

Phương pháp trải đĩa theo quy trình chuẩn của CLSI [11] được dùng để tiếp tục xác định giá trị MBC. Cụ thể, trong dãy nồng độ khảo sát ở mỗi nghiệm thức, 20 µL dịch từ tất cả các giếng không có dấu hiệu tăng trưởng sau 24 giờ ủ sẽ được trải lên môi trường thạch MH và tiếp tục ủ ở 30°C trong 24 giờ. Nồng độ thuốc thấp nhất diệt được 99,9% dịch khuẩn gốc ban đầu được xác định là MBC. Tất cả các nghiệm thức cũng được lặp lại 6 lần.

2.3.3. Chọn lọc chủng kháng và khảo sát mô hình kháng của các chủng *V. parahaemolyticus* với các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng

Phương pháp kích thích tạo chủng vi khuẩn kháng nối tiếp [6] được sử dụng để khảo sát khả năng kháng và mô hình kháng của các chủng *V. parahaemolyticus* khi liên tục phơi nhiễm với liều lượng ngay dưới ngưỡng ức chế của 6 loại kháng

sinh và 4 chất diệt khuẩn trong thời gian dài. Cụ thể, việc bố trí các dây nồng độ nhằm thiết lập điểm MIC cho các loại thuốc được thực hiện với các đĩa 96 giếng giống như mô tả ở mục 2.3.2. Sau mỗi 24 giờ ủ, 5 μ L dịch vi khuẩn từ giếng nuôi của ngày hôm trước có chứa nồng độ thuốc cao nhất ngay dưới điểm MIC nhưng vẫn có dấu hiệu sinh trưởng của vi khuẩn (giếng mục tiêu) được sử dụng để làm vi khuẩn gốc cho đợt bố trí MIC mới của ngày tiếp theo. Phần dịch còn lại trong các giếng mục tiêu của từng ngày sẽ được trữ đông ở -70°C trong dung dịch glycerol 15%. Quá trình này được lặp lại trong 30 ngày liên tiếp.

Sau khi kết thúc 30 ngày chọn chủng kháng, nhằm thiết lập mô hình kháng, thí nghiệm khảo sát toàn diện các mốc MIC của chủng gốc và các chủng kháng với các loại kháng sinh và thuốc diệt khuẩn được tiến hành với cùng bố trí như mô tả ở mục 2.3.2. Cụ thể, 10 nghiệm thức thuốc cũng được chuẩn bị tương ứng bằng pha loãng nối tiếp để có dây nồng độ cuối cùng là 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1.024, 2.048, 4.096, 8.192, 16.384 ppm. Sau đó, 5 μ L dịch gốc vi khuẩn của chủng *V. parahaemolyticus* gốc và của các chủng kháng từ các giếng mục tiêu đã được trữ đông qua từng ngày (đã được nuôi tăng sinh trở lại với nồng độ 10^7 CFU.mL $^{-1}$) được cho vào tất cả các giếng và ủ ở 30°C trong 24 giờ để xác định các mốc MIC. Tất cả các nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

Bảng 1. Đường kính vòng vô khuẩn (ZDI) và độ nhạy của hai chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) và 2161 (không gây bệnh) với 6 loại kháng sinh và 4 loại chất diệt khuẩn thông dụng

Kháng sinh và chất diệt khuẩn	Chủng VP2187 (gây bệnh AHPND)		Chủng VP2161 (không gây bệnh)	
	ZDI (mm)	Độ nhạy (chuẩn CLSI)	ZDI (mm)	Độ nhạy (chuẩn CLSI)
Nhóm 1				
Doxycycline	$36,9 \pm 0,17^a$	Nhạy cảm	$37,1 \pm 0,12^a$	Nhạy cảm
Enrofloxacin	$34,2 \pm 0,32^b$	Nhạy cảm	$34,0 \pm 0,06^b$	Nhạy cảm
Erythromycin	$33,2 \pm 0,23^c$	Nhạy cảm	$33,0 \pm 0,20^c$	Nhạy cảm
BKC	$28,1 \pm 0,12^c$	N/A	$30,0 \pm 0,25^d$	N/A
Nhóm 2				
Iodine	$21,0 \pm 0,12^g$	N/A	$19,0 \pm 0,15^h$	N/A

2.4. Phân tích thống kê

Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của tất cả các chỉ tiêu theo dõi được tính toán bằng phần mềm Excel (Microsoft 365 for macOS). Các nghiệm thức được so sánh và kết luận có khác biệt mang tính thống kê ($P < 0,05$) bằng phương pháp ANOVA một yếu tố và thử nghiệm Duncan bằng phần mềm SPSS 25 cho hệ điều hành macOS. Các số liệu % đều được chuyển đổi sang arsin của căn bậc 2.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát độ nhạy cảm của các chủng *V. parahaemolyticus* với các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng

3.1.1. Chỉ tiêu đường kính vòng vô khuẩn

Các kháng sinh và chất diệt khuẩn được khảo sát có khả năng diệt *V. parahaemolyticus*, trừ trường hợp của cypermethrin. Căn cứ kết quả ZDI, thuốc có thể được chia thành bốn nhóm dựa trên hiệu quả ức chế: i) nhóm 1: Hiệu quả cao, ii) nhóm 2: Hiệu quả trung bình, iii) nhóm 3: Hiệu quả thấp, và iv) nhóm 4: Không hiệu quả. Nhóm 1 và nhóm 2 có ZDI lần lượt cao gấp 3 lần và gấp 2 lần so với nhóm 3. ZDI các nghiệm thức chênh lệch nhau có tính thống kê ($P < 0,05$) (Bảng 1). Riêng chủng 2161 nhạy cảm với chlorine hơn chủng 2187.

Nhóm 3				
Ampicillin	13,1 ± 0,26 ⁱ	Kháng	3,2 ± 0,12 ⁿ	Kháng
Chlorine	12,1 ± 0,15 ^j	N/A	26,0 ± 0,31 ^t	N/A
Oxytetracycline	11,2 ± 0,25 ^k	Kháng	4,9 ± 0,21 ^m	Kháng
Amoxicillin	7,4 ± 0,32 ^l	Kháng	3,2 ± 0,26 ⁿ	Kháng
Nhóm 4				
Cypermethrin	0,0 ± 0,00 ^o	N/A	0,0 ± 0,00 ^o	N/A

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n=6). Các chữ cái khác nhau trong cùng cột và giữa các cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các nghiệm thức. Độ nhạy cảm đánh giá theo chuẩn CLSI của Viện Tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ. N/A: Chất diệt khuẩn không có chuẩn để đánh giá trong chuẩn CLSI.

3.1.2. Chỉ tiêu nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu

Giá trị MIC và MBC của thuốc được khảo sát biến thiên lớn tùy theo đặc tính từng loại thuốc và cũng được phân thành 4 nhóm như Mục 3.1.1: i) nhóm 1 (hiệu quả cao): Enrofloxacin, erythromycin, doxycycline, BKC với liều lượng để tiêu diệt hoàn toàn MBC (cả 2 chủng 2187 và 2161 đều lần lượt là 0,125; 1; 2; 0,000078 ppm) ngang bằng so với liều ức chế MIC (cả 2 chủng 2187 và 2161 đều lần lượt là 0,125; 1; 2; 0,000078 ppm); ii) nhóm 2 (hiệu quả trung bình): Iodine với MBC (chủng 2187 là 16 ppm; chủng 2161 là 16 ppm) cao hơn so với MIC (chủng 2187: 4 ppm; chủng 2161: 2

ppm); iii) nhóm 3 (hiệu quả thấp): Oxytetracycline, ampicillin, amoxicillin và chlorine với MBC (chủng 2187 lần lượt là 32, 256, 256, 512 ppm; chủng 2161 lần lượt là 128, 512, 512, 256 ppm) cao hơn so với MIC (chủng 2187 lần lượt là 16, 64, 128, 128 ppm; chủng 2161 lần lượt là 64, 256, 256, 32 ppm); iv) nhóm 4 (không hiệu quả): Cypermethrin với MBC (chủng 2187 là 8192 ppm; chủng 2161 là 16384 ppm) cao hơn một ít so với MIC (chủng 2187 là 1024 ppm; chủng 2161 là 2048 ppm) (Bảng 2 và 3). Chủng 2161 không gây bệnh có mức độ kháng cao hơn so với chủng 2187 gây bệnh.

Bảng 2. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) và độ nhạy (theo chuẩn CLSI) của chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) với 6 loại kháng sinh và 4 loại chất diệt khuẩn thông dụng

Kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng	Chủng VP2187 (gây bệnh AHPND)		Đánh giá độ nhạy chủng với kháng sinh (theo chuẩn CLSI)
	MIC (ppm)	MBC (ppm)	
Nhóm 1 (hiệu quả cao)			
Doxycycline	2 ± 0,00	2 ± 0,00	Nhạy cảm
Enrofloxacin	0,125 ± 0,00	0,125 ± 0,00	Nhạy cảm
Erythromycin	1 ± 0,00	1 ± 0,00	Nhạy cảm
BKC	0,000078 ± 0,00	0,000078 ± 0,00	N/A
Nhóm 2 (hiệu quả trung bình)			
Iodine	4 ± 0,00	16 ± 0,00	N/A

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

Nhóm 3 (hiệu quả thấp)			
Ampicillin	64 ± 0,00	256 ± 0,00	Kháng
Chlorine	128 ± 0,00	512 ± 0,00	N/A
Oxytetracycline	16 ± 0,00	32 ± 0,00	Kháng
Amoxicillin	128 ± 0,00	256 ± 0,00	Kháng
Nhóm 4 (không hiệu quả)			
Cypermethrin	1.024 ± 0,00	8.192 ± 0,00	N/A

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Khảo sát MIC và MBC được tiến hành với 6 lần lặp cho mỗi nghiệm thức (n=6). Độ nhạy cảm đánh giá theo chuẩn CLSI của Viện Tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ. N/A: Chất diệt khuẩn không có chuẩn để đánh giá trong chuẩn CLSI.

Bảng 3. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) và độ nhạy (theo chuẩn CLSI) của chủng *V. parahaemolyticus* 2161 (không gây bệnh AHPND) với 6 loại kháng sinh và 4 loại chất diệt khuẩn thông dụng

Kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng	Chủng VP2161 (không gây bệnh)		Đánh giá độ nhạy chủng với kháng sinh (theo chuẩn CLSI)
	MIC (ppm)	MBC (ppm)	
Nhóm 1 (hiệu quả cao)			
Doxycycline	2 ± 0,00	2 ± 0,00	Nhạy cảm
Enrofloxacin	0,125 ± 0,00	0,125 ± 0,00	Nhạy cảm
Erythromycin	1 ± 0,00	1 ± 0,00	Nhạy cảm
BKC	0,000078 ± 0,00	0,000078 ± 0,00	N/A
Nhóm 2 (hiệu quả trung bình)			
Iodine	2 ± 0,00	16 ± 0,00	N/A
Nhóm 3 (hiệu quả thấp)			
Ampicillin	256 ± 0,00	512 ± 0,00	Kháng
Chlorine	32 ± 0,00	256 ± 0,00	N/A
Oxytetracycline	64 ± 0,00	128 ± 0,00	Kháng
Amoxicillin	256 ± 0,00	512 ± 0,00	Kháng
Nhóm 4 (không hiệu quả)			
Cypermethrin	2.048 ± 0,00	16.384 ± 0,00	N/A

Ghi chú: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Khảo sát MIC và MBC được tiến hành với 6 lần lặp cho mỗi nghiệm thức (n = 6). Độ nhạy cảm đánh giá theo chuẩn CLSI của Viện Tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm và Lâm sàng Hoa Kỳ. N/A: Chất diệt khuẩn không có chuẩn để đánh giá trong chuẩn CLSI.

Tình trạng kháng thuốc của *V. parahaemolyticus* trên thủy sản ở miền Bắc Việt Nam cho thấy, 85,71% chủng phân lập kháng với ít nhất một loại kháng sinh, trong đó ampicillin gây kháng cao nhất (81,43%) [12]. Hiện tại, oxytetracycline, enrofloxacin và doxycycline được khuyến dùng trong điều trị nhiễm khuẩn nặng và kéo dài do *V. parahaemolyticus*. Tuy nhiên, chỉ có hiệu quả diệt khuẩn của enrofloxacin và doxycycline là tương đồng với nghiên cứu này.

Theo chuẩn đánh giá CLSI, hai chủng gốc *V. parahaemolyticus* 2187 và 2161 dùng cho nghiên cứu đều nhạy cảm với kháng sinh trong nhóm 1 nêu trên. Nhóm 1 bao gồm các kháng sinh thế hệ mới được đưa vào sử dụng trong trị bệnh do *Vibrio* spp. trên người và vật nuôi. Kết quả này có sự tương đồng với các công bố gần đây trên cá mú ở Malaysia cũng về độ nhạy của *Vibrio* spp. với erythromycin [13] và tôm chân trắng ở Indonesia cho trường hợp của doxycycline [5]. Tuy nhiên, độ nhạy của *V. parahaemolyticus* với enrofloxacin và erythromycin được công bố ở mức kháng là trái ngược với kết quả của nghiên cứu này [5].

Hai chủng vi khuẩn cũng cho độ nhạy ở mức kháng với thuốc nhóm 3, trong đó trường hợp giảm hiệu quả diệt khuẩn của các kháng sinh nhóm β -lactam như ampicillin và amoxicillin là có sự tương đồng với các nghiên cứu gần đây với *Vibrio* spp. trên tôm chân trắng tại Malaysia [14]. Ngược lại, công bố về kháng thuốc trên *Vibrio* spp. tại Nigeria vẫn khẳng định tính hiệu quả của hai loại kháng sinh này [15]. Một kháng sinh khác rất thông dụng trong nuôi trồng thủy sản là oxytetracycline cũng được báo cáo độ nhạy ở mức trung bình [15], [5], trong khi nghiên cứu hiện tại cho thấy, độ nhạy đã ở mức kháng.

Kháng sinh từ lâu đã được sử dụng rộng rãi để kiểm soát và điều trị *V. parahaemolyticus* trong nuôi trồng thủy sản, nhưng *V. parahaemolyticus* đã kháng lại nhiều loại kháng sinh và thuốc diệt khuẩn thông dụng, gây nhiều thiệt hại kinh tế và ảnh hưởng sức khỏe cộng đồng. Tuy nhiên, mức độ kháng thuốc của các chủng vi khuẩn đang tồn tại trong ao nuôi vẫn còn ít được quan tâm, đặc biệt là với các chủng đã có khả năng kháng thuốc.

Ngoài ra, các chất diệt khuẩn thường được người dân sử dụng do chi phí thấp, nhưng chưa có quy chuẩn CLSI để đánh giá độ kháng của vi khuẩn đối với các chất này. Do đó, đánh giá mức độ kháng của *V. parahaemolyticus* với các chất diệt khuẩn là cần thiết.

3.2. Khảo sát khả năng kháng và mô hình kháng của các chủng *V. parahaemolyticus* với các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn thông dụng

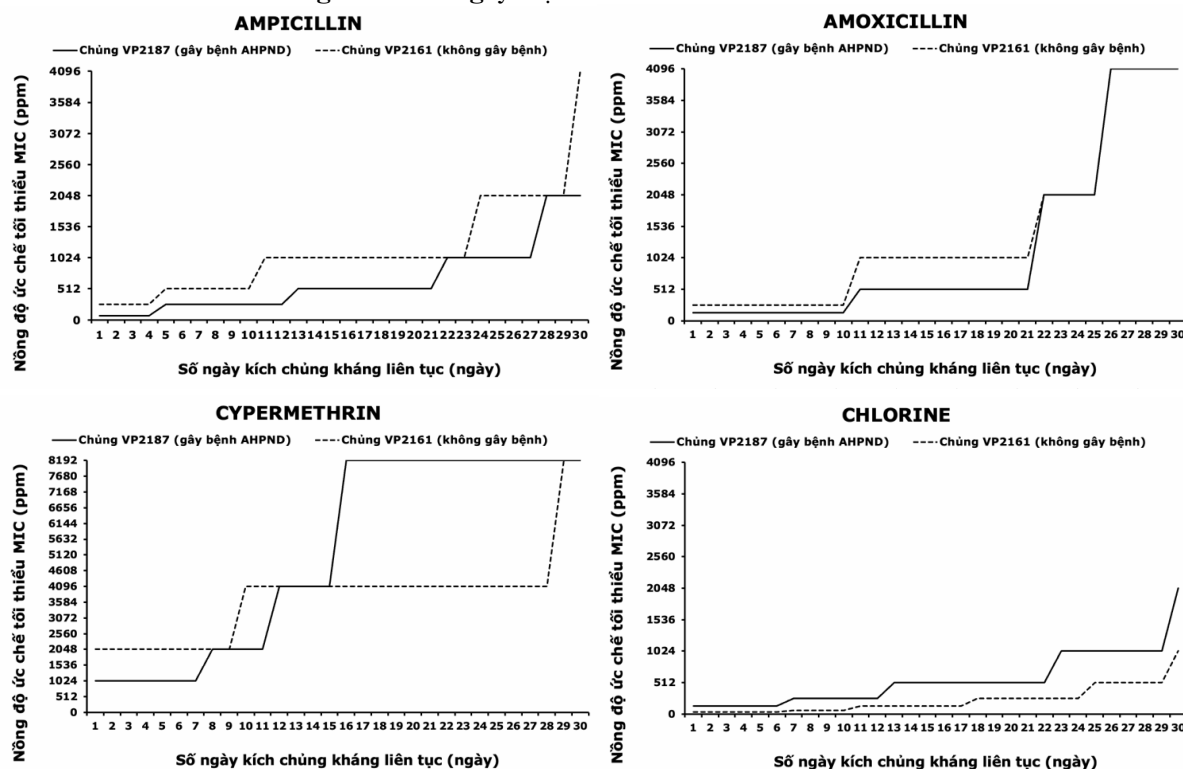
3.2.1. Mô hình kháng 1: Ampicillin, amoxicillin, cypermethrin và chlorine

Sau 30 ngày chọn chủng kháng với 2 loại kháng sinh và 2 chất diệt khuẩn, mô hình kháng cho thấy mức độ kháng tăng dần theo thời gian và kích thích khả năng tạo kháng cao trên *V. parahaemolyticus*. Khi kết thúc thí nghiệm, nồng độ MIC cuối và số lần tăng so với MIC gốc lần lượt là: i) ampicillin (chủng 2187: 2.048 ppm - gấp 32 lần; chủng 2161: 4.096 ppm - gấp 16 lần); ii) amoxicillin (chủng 2187: 4.096 ppm - gấp 32 lần; chủng 2161: 4.096 ppm - gấp 16 lần); iii) cypermethrin (chủng 2187: 8.192 ppm - gấp 8 lần; chủng 2161: 8.192 ppm - gấp 4 lần); iv) chlorine (chủng 2187: 2.048 ppm - gấp 16 lần; chủng 2161: 1.024 ppm - gấp 32 lần) (Hình 1). Kết quả chỉ ra 4 loại thuốc trên có hiệu quả điều trị thấp và không phù hợp cho phác đồ lâu dài. Ở mỗi mức nồng độ sử dụng, thuốc chỉ có thể ức chế duy trì trong một khoảng thời gian giới hạn theo chu kỳ từ 5 - 10 ngày trước khi phải dùng liều cao hơn. Sự khác nhau trong mô hình kháng là do bản chất thuốc khác nhau dẫn đến cơ chế ức chế và tiêu diệt vi khuẩn khác nhau, cũng như do bản chất chủng vi khuẩn và nguồn gốc chủng [16].

Việc tạo thời gian dài tiếp xúc giữa vi khuẩn và thuốc mà không có hiệu quả tiêu diệt triệt để sẽ dẫn đến việc hình thành các cơ chế kháng thuốc. Điển hình như kháng sinh nhóm β -lactam ức chế quá trình tạo màng tế bào [17]. Tuy nhiên, *V. parahaemolyticus* sinh β -lactamase phân giải thuốc, gắn kết protein transpeptidase làm giảm hiệu quả thâm nhập của thuốc và giảm ái lực giữa protein và thuốc là những nguyên nhân chính khiến ampicillin và amoxicillin giảm hiệu quả [5]. Chlorine là thuốc diệt khuẩn được sử dụng rộng

rãi trong chuẩn bị ao nuôi hoặc xử lý bệnh cấp tính và chất này vẫn cho thấy tác dụng tốt hơn cypermethrin. Tuy nhiên, độ hữu dụng vẫn giảm dần theo thời gian do vi khuẩn có khả năng kháng thuốc. Thuốc trừ sâu cypermethrin có tác dụng rất thấp trong ức chế khuẩn khi phải dùng trong thời gian dài ở liều cao gây độc hại cho vật nuôi và môi trường. Chất này cũng thúc đẩy khả năng kháng thuốc nhanh hơn ở chủng vi khuẩn gây bệnh

AHPND (sớm hơn 13 ngày) so với chủng không gây bệnh khi so sánh với 3 loại thuốc còn lại. Điều này phù hợp với các nghiên cứu phát hiện chlorine có tính oxy hoá mạnh nhưng lại dễ bị vi khuẩn kháng thông qua phản ứng chống quá trình sốc oxy hoá [18] và cypermethrin gây phản ứng SOS dẫn đến vi khuẩn khoá các cơ chế truyền tải thuốc qua màng tế bào [19].



Hình 1. Mô hình kháng theo nồng độ ức chế tối thiểu MIC (ppm) của 2 chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) và 2161 (không gây bệnh) khi liên tục phơi nhiễm với liều lượng dưới ngưỡng ức chế của ampicillin, amoxicillin, chlorine và cypermethrin trong thời gian 30 ngày

Ghi chú: Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Khảo sát mô hình kháng được tiến hành với 6 lần lặp cho mỗi nghiệm thức ($n = 6$).

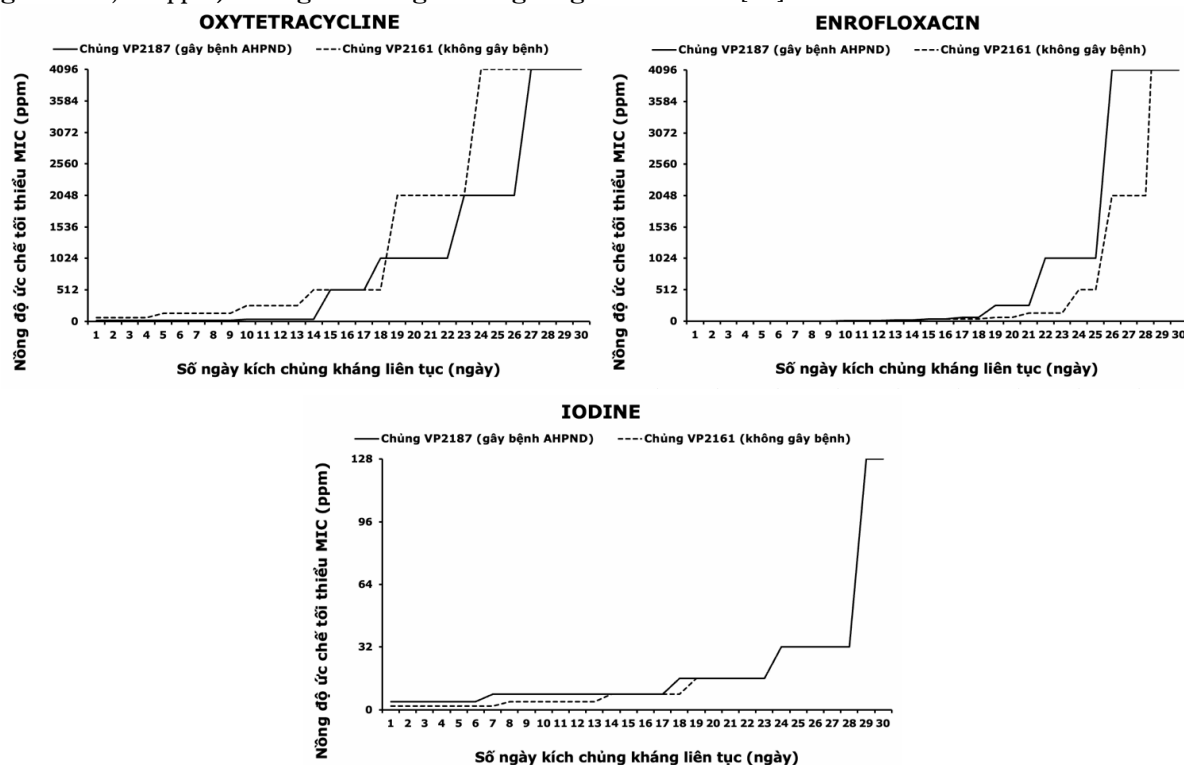
3.2.2. Mô hình kháng 2: Oxytetracycline, enrofloxacin và iodine

Oxytetracycline, enrofloxacin và iodine có khả năng duy trì hiệu quả với *V. parahaemolyticus* trong thời gian tương đối dài trước khi dẫn đến đề kháng: i) oxytetracycline: 14 ngày; enrofloxacin: 18 ngày; iii) iodine: 28 ngày. Khi kết thúc thí nghiệm, nồng độ MIC cuối và số lần tăng so với MIC gốc lần lượt là: i) oxytetracycline (chủng 2187: 4.096 ppm - gấp 256 lần; chủng 2161: 4.096 ppm - gấp 64

lần); ii) enrofloxacin (chủng 2187: 4.096 ppm - gấp 32.768 lần; chủng 2161: 4.096 ppm - gấp 32.768 lần); iii) iodine (chủng 2187: 128 ppm - gấp 32 lần; chủng 2161: 128 ppm - gấp 64 lần) (Hình 2). Kết quả này có thể được giải thích do các cơ chế tác động mạnh của các loại thuốc trên lên *V. parahaemolyticus*. oxytetracyclin ức chế quá trình sản sinh protein ở vi khuẩn [20], enrofloxacin ức chế DNA gyrase từ đó ngăn chặn quá trình nhân đôi DNA [21] và iodine làm oxy hoá dẫn đến làm

mất tính năng hoặc phân hủy các thành phần quan trọng của tế bào vi khuẩn [22]. Tuy nhiên, sau thời gian ức chế có hiệu quả thì cả ba chất đều gây kháng thuốc. Đặc biệt, enrofloxacin là kháng sinh mới có độ nhạy tốt với *V. parahaemolyticus* (MIC gốc chỉ 0,125 ppm) nhưng khi dùng dưới ngưỡng

trong thời gian dài vẫn gây ra kháng ở mức rất cao (4.096 ppm sau 30 ngày). Nguyên nhân có thể lý giải từ việc các thuốc trên đều có cùng cơ chế bị vi khuẩn kháng là khoá vận chuyển thuốc qua màng tế bào, từ đó hạn chế gần như phần lớn tác động của thuốc [23].



Hình 2. Mô hình kháng theo nồng độ ức chế tối thiểu MIC (ppm) của 2 chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) và 2161 (không gây bệnh) khi liên tục phơi nhiễm với liều lượng dưới ngưỡng ức chế của oxytetracycline, enrofloxacin và iodine trong thời gian 30 ngày

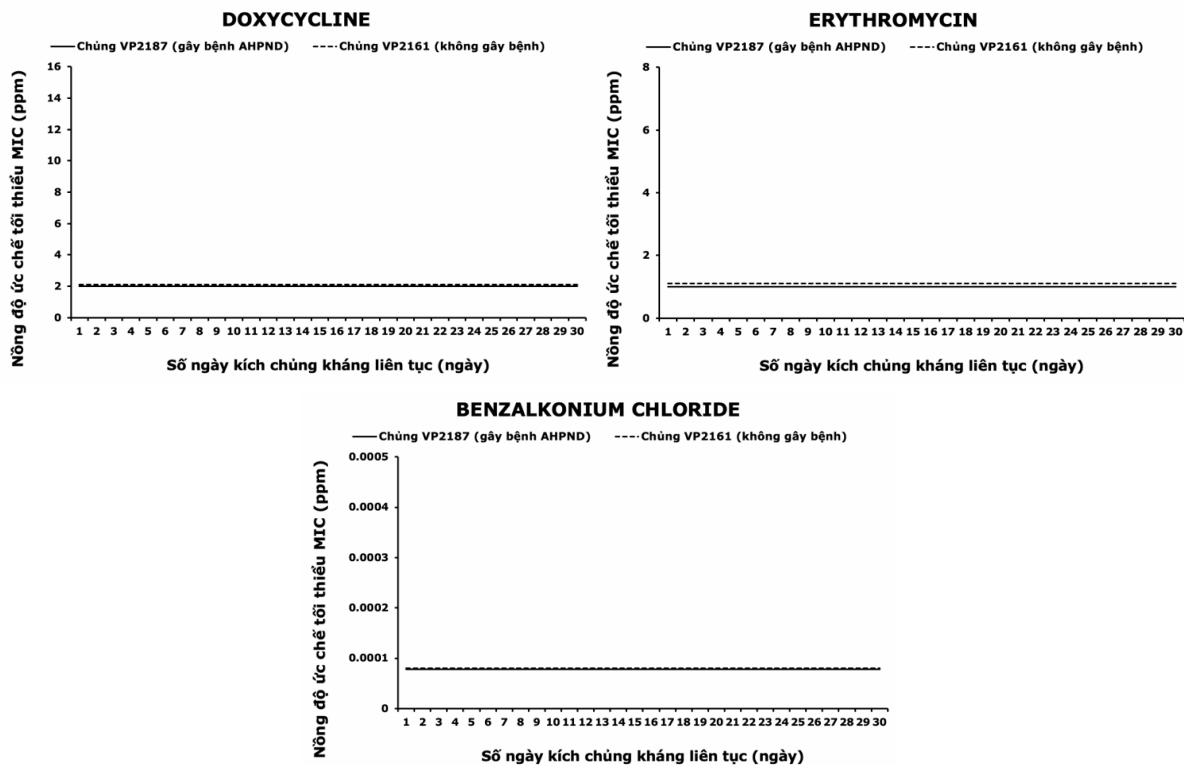
Ghi chú: giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Khảo sát mô hình kháng được tiến hành với 6 lần lặp cho mỗi nghiệm thức ($n=6$).

3.2.3. Mô hình kháng 3: Doxycycline, erythromycin, benzalkonium chloride

Mô hình kháng của doxycycline, erythromycin và BKC cho thấy đây là những loại thuốc có hiệu quả rất cao trong ức chế các chủng *V. parahaemolyticus* thử nghiệm. MIC của thuốc đều duy trì không đổi như mức MIC gốc trong suốt quá trình kích chủng kháng 30 ngày và không có kết quả chọn lọc được chủng kháng. Tương tự như mô hình kháng 2, cả ba loại thuốc đều có cơ chế diệt khuẩn mạnh mẽ trên *V. parahaemolyticus*. Chất diệt khuẩn BKC thay đổi tính chất màng bán thấm của vi khuẩn, từ đó gây

hiện tượng xuất bào của các chất thành phần dẫn đến khả năng tiêu diệt mạnh và nhanh. Tuy thuộc hai nhóm kháng sinh khác nhau nhưng doxycycline và erythromycin đều ức chế sinh tổng hợp protein vi khuẩn, nhưng cũng cùng có chung cơ chế để vi khuẩn kháng được đó là khoá vận chuyển thuốc qua màng tế bào [23]. Tuy nhiên, kết quả khả quan ở nghiên cứu này có thể được lý giải do đây là các loại kháng sinh mới, chưa được sử dụng rộng rãi và được kiểm soát sử dụng chặt chẽ trong y tế và chăn nuôi. Ngoài ra, liều lượng của doxycycline và erythromycin được sử dụng đúng nên cũng không gây tích lũy dư lượng thuốc

và giảm khả năng tạo chủng kháng so với oxytetracyclin, từ đó vẫn còn bảo toàn được hiệu quả diệt khuẩn.



Hình 3. Mô hình kháng theo nồng độ ức chế tối thiểu MIC (ppm) của 2 chủng *Vibrio parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) và 2161 (không gây bệnh) khi liên tục phơi nhiễm với liều lượng dưới ngưỡng ức chế của doxycycline, erythromycin, benzalkonium chloride trong thời gian 30 ngày

Ghi chú: Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Khảo sát mô hình kháng được tiến hành với 6 lần lặp cho mỗi nghiệm thức ($n = 6$).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được mức độ hiệu quả của doxycycline, erythromycin và BKC trong ức chế và tiêu diệt các chủng *V. parahaemolyticus* có nguồn gốc trong ao nuôi tôm, đặc biệt là khi sử dụng các thuốc này để điều trị trong thời gian dài lên đến 30 ngày mà không gây ra tình trạng kháng thuốc. Các loại thuốc còn lại được khảo sát đều có hiệu quả điều trị thấp và có nguy cơ gây kháng thuốc cao, đặc biệt là thuốc trừ sâu cypermethrin. Kết quả của nghiên cứu này chỉ được khảo sát trong điều kiện phòng thí nghiệm. Nghiên cứu tiếp theo cần bố trí thí nghiệm trong điều kiện ao nuôi thực tế để có thể khuyến cáo các loại kháng sinh và chất diệt khuẩn phù hợp trong phòng trị *V. parahaemolyticus*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anderson, J. L., Valderrama, D., Jory, D. E. (2019). GOAL 2019: Global shrimp production review. Retrieved November 4, 2019, from <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/goal-2019-global-shrimp-production-review>.
2. Tang, K. F. J., Bondad-Reantaso, M. G. (2019). Impacts of acute hepatopancreatic necrosis disease on commercial shrimp aquaculture. *Reviews in Science and Technology*, 38(2):477-490. English, French, Spanish. doi: 10.20506/rst.38.2.2999. PMID: 31866681.
3. Ronald, L., Emmanuel Joseph, R., Alfaro, A. C. (2020). Antibiotic use in aquaculture, policies and regulation, health and environmental risks: A review of the top 15 major producers. *Reviews in Aquaculture*, 12:640–663.

4. Dang, O. T. H., Truong, P. Q., Nguyen, P. T. (2022). Antibacterial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from shrimp farms located in east coastal region of the Mekong Delta, Viet Nam. *Can Tho University Journal of Science*, 14(2):1 - 7
5. Yudiati, E, Subagiyo, S., Azhar, Nu. (2021). Antimicrobial susceptibility and minimum inhibition concentration of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and *Vibrio harveyi* isolated from a white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) pond. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 763. 012025. 10.1088/1755-1315/763/1/012025.
6. Le, P. N. T., Desbois, A. P. (2017). Antibacterial Effect of Eicosapentaenoic Acid against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*: Killing Kinetics, Selection for Resistance, and Potential Cellular Target. *Marine Drugs*, 15(11): 334. <https://doi.org/10.3390/md15110334> <https://doi.org/10.3390/md15110334>
7. Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4):493-496. PMID: 5325707.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 28th Edn. *CLSI: Wayne, PA, USA*, p.38.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2010). Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria, Approved Guideline—Second Edition. *CLSI: Wayne, PA, USA*, p.30
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2009). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard M07-A8. *CLSI: Wayne, PA, USA*.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. (1999). Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved Guideline M26-A Vol. 19 No. 18. *CLSI: Wayne, PA, USA*.
12. Vu, T. T. T., Hoang, T. T. H., Fleischmann, S., Pham, H. N., Lai, T. L. H., Cam, T. T. H., Truong, L. O., Le, V. P., & Alter, T. (2022). Quantification and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in retail seafood in Hanoi, Vietnam. *Journal of Food Protection*, 85(5): 786–791. <https://doi.org/10.4315/JFP-21-444>
13. Mohamad, N., Mohd Roseli, F. A., Azmai, M. N. A., Saad, M. Z., Md Yasin, I. S., Zulkiply, N. A., Nasruddin, N. S. (2019). Natural Concurrent Infection of *Vibrio harveyi* and *V. alginolyticus* in Cultured Hybrid Groupers in Malaysia. *Journal of Aquatic Animal Health*, 31: 88 - 96. <https://doi.org/10.1002/aah.10055>
14. Muthukrishnan S., Defoirdt, T., Ina-Salwany, M. Y., Yusoff, F. M., Shariff, M., Ismail, S. I., Natrah, I. (2019). *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* causing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) isolated from Malaysian shrimp ponds. *Aquaculture*, 511: 734227
15. Beshiru, A., Okareh, O. T., Okoh, A. I., Igbinosa, E. O. (2020). Detection of antibiotic resistance and virulence genes of *Vibrio* strains isolated from ready-to-eat shrimps in Delta and Edo States, Nigeria. *Journal of Applied Microbiology*, 129(1): 17 - 36. doi: 10.1111/jam.14590. Epub 2020 Feb 3. PMID: 31977129.
16. Cao, Q., Zhang, C., Guo, Q., Ren, C., Li, Y., Adil Farooq, M. (2022). Enhancement of *Vibrio parahaemolyticus* resistance and immune responses in *Exopalaemon carinicauda* by synergistic bacteriostasis of *Crataegus pinnatifida* Bunge and oxytetracycline. *Journal of the World Aquaculture Society*, 53(6):1183–1196. <https://doi.org/10.1111/jwas.12903>.
17. Waxman, D. J., Strominger, J. L. (1983). Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of beta-lactam antibiotics. *Annual Review of Biochemistry*, 52: 825 - 69. doi: 10.1146/annurev.bi.52.070183.004141. PMID: 6351730.
18. Tong, C., Hu, H., Chen, G., Li, Z., Li, A., Zhang, J. (2021). Chlorine disinfectants promote microbial resistance in *Pseudomonas* sp.

Environmental Research, 199: 111296, ISSN 0013 - 9351.

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111296>.

19. Qiu, D., Ke, M., Zhang, Q., Zhang, F., Lu, T., Sun, L., Qian, H. (2022). Response of microbial antibiotic resistance to pesticides: An emerging health threat. *Science of The Total Environment*, 850: 158057, ISSN 0048 - 9697. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158057>.

20. Chukwudi, C. U. (2016). rRNA Binding Sites and the Molecular Mechanism of Action of the Tetracyclines. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(8): 4433 - 4441. doi: 10.1128/AAC.00594-16. PMID: 27246781; PMCID: PMC4958212.

21. Grabowski, Ł., Gaffke, L., Pierzynowska, K., Cyske, Z., Choszcz, M., Węgrzyn, G., Węgrzyn, A. (2022). Enrofloxacin—The Ruthless Killer of

Eukaryotic Cells or the Last Hope in the Fight against Bacterial Infections. *International Journal of Molecular Sciences*, 23: 3648. 10.3390/ijms23073648.

22. Eggers, M. (2019). Infectious Disease Management and Control with Povidone Iodine. *Infectious Diseases and Therapy*. 8(4):581-593. doi: 10.1007/s40121-019-00260-x. Epub 2019 Aug 14. Erratum in: *Infectious Diseases and Therapy*, 2019 Aug 22; PMID: 31414403; PMCID: PMC6856232.

23. Urban-Chmiel, R., Marek, A., Stepień-Pyśniak, D., Wieczorek, K., Dec, M., Nowaczek, A., Osek, J. (2022). Antibiotic Resistance in Bacteria-A Review. *Antibiotics (Basel)*, 11(8): 1079. doi: 10.3390/antibiotics11081079. PMID: 36009947; PMCID: PMC9404765.

EVALUATION OF THE EFFICACY OF COMMON ANTIBIOTICS AND DISINFECTANTS AGAINST *V. parahaemolyticus* AND THEIR RESISTANCE STIMULATION DEGREE

Le Nguyen Thien Phuc¹, Nguyen Minh Thanh¹

¹ International University, Vietnam National University Ho Chi Minh City

Summary

This study evaluated the antibacterial susceptibility and the antibiotic resistance of two *Vibrio parahaemolyticus* isolates from shrimp ponds using 6 antibiotics and 4 disinfectants. Main parameters included the zone diameter of inhibition, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration, and resistant patterns of *V. parahaemolyticus* towards drugs. Results of susceptibility categorized all drugs into 4 groups: i) high efficiency: doxycycline, enrofloxacin, erythromycin, benzalkonium chloride (BKC); ii) intermediate efficiency: iodine; iii) low efficiency: ampicillin, chlorine, oxytetracycline, amoxicillin; iv) inefficiency: cypermethrin. Differences of all treatments were statistically significant ($P < 0,05$). Results from the stimulation for antibiotic resistance of *V. parahaemolyticus* indicated three typical resistant patterns. The group of ampicillin, amoxicillin, cypermethrin and chlorine showed extremely low and short efficacy (5 - 10 days) with a gradual increase in resistance. Meanwhile, oxytetracycline, enrofloxacin and iodine maintained a relatively stable efficacy (14 - 28 days) prior to the sudden increase in resistance. Exceptionally, doxycycline, erythromycin and BKC expressed high efficacy in inhibiting and killing *V. parahaemolyticus* and did not stimulate the antibiotic resistance within the test time. The study revealed an insight into the actual efficacy of common antibiotics and disinfectants against *V. parahaemolyticus* and their resistance stimulation degree. Results can orientated proper uses of drugs in prevention and treatment of *V. parahaemolyticus* in the shrimp farms.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*, antibiotics, disinfectants, resistant strains.

Ngày nhận bài: 29/3/2024

Ngày chuyển phản biện: 12/4/2024

Ngày thông qua phản biện: 29/4/2024

Ngày duyệt đăng: 10/6/2024