

Khảo sát sự có mặt của các integron ở vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan thận mũ trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) nuôi thâm canh ở Đồng bằng sông Cửu Long

Quách Văn Cao Thi¹, Huỳnh Thị Diễm Trang², Từ Thanh Dung²

¹Trường Cao đẳng Cộng đồng Vĩnh Long, 112A Đinh Tiên Hoàng, Vĩnh Long, Việt Nam

²Bộ môn Bệnh học Thủy Sản, Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Cần Thơ, Ninh Kiều, Cần Thơ, Việt Nam

Nhận ngày 16 tháng 8 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 20 tháng 9 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 10 năm 2017

Tóm tắt: Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu khảo sát sự hiện diện và đặc điểm vùng gen cassette của các integron ở vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan thận mũ (GTM) trên cá tra nuôi thâm canh ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen, kết quả bài báo đã xác định 24/67 (chiếm tỷ lệ 35,82%) chủng vi khuẩn *E. ictaluri* dương tính với các integron nhóm 1. Trong khi đó, các integron nhóm 2 và 3 thì không được phát hiện ở tất cả các chủng vi khuẩn. Ngoài ra, nghiên cứu cũng đã xác định 7 vùng gen cassette với các kích thước là 0,65 kbp, 0,8 kbp, 0,95 kbp, 1,0 kbp, 1,2 kbp, 1,5 kbp và 2,5 kbp mã hóa cho các enzyme dihydrofolate reductase, aminoglycoside adenyltransferase, aminoglycoside N(6')-acetyltransferase và β -lactamase kháng lại nhiều loại kháng sinh khác nhau ở vi khuẩn *E. ictaluri*. Sự hiện diện của các integron nhóm 1 ở vi khuẩn *E. ictaluri* cho thấy khả năng vi khuẩn này có thể truyền gen kháng kháng sinh sang các loài vi khuẩn khác trong môi trường tự nhiên.

Từ khóa: *Edwardsiella ictaluri*, integron, kháng sinh, *Pangasianodon hypophthalmus*.

1. Đặt vấn đề

Cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) là 1 trong những loài cá da trơn nước ngọt được nuôi phổ biến nhất ở ĐBSCL. Tuy nhiên, do việc thâm canh hóa với mật số nuôi cao đã dẫn đến bệnh xảy ra thường xuyên hơn. Trong số các bệnh thường gặp trên cá tra thì bệnh GTM do vi khuẩn *E. ictaluri* xuất hiện phổ biến và gây nhiều thiệt hại cho người nuôi [1]. Khi

bệnh xảy ra, người nuôi thường hay sử dụng kháng sinh để điều trị [2]. Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh không đúng liều lượng và không đúng cách đã dẫn đến hiện tượng kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn [3]. Sự kháng thuốc của vi khuẩn đang là mối quan tâm lớn của cộng đồng do vi khuẩn có thể truyền gen kháng thuốc sang các loài vi khuẩn khác bởi yếu tố di truyền vận động được gọi là integron [4]. Các integron có khả năng nhận biết, bắt giữ 1 hay nhiều gen cassette: thường mang các gen kháng thuốc kháng sinh [5]. Cho đến nay, các nhà khoa học đã phát hiện 5 nhóm integron [5], trong đó các integron nhóm 1 và nhóm 2 xuất

* Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-985053605.

Email: qvethi@vlcc.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4527>

hiện phổ biến nhất ở các vi khuẩn Gram âm có kiểu hình đa kháng thuốc kháng sinh và được quan tâm do khả năng phát tán các gen kháng thuốc của chúng trong cùng loài và khác loài vi [6]. Hiện tại, đã có nhiều nghiên cứu về tình hình kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn *E. ictaluri* [7]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về sự hiện diện của các nhóm integron ở vi khuẩn này còn ít thông tin được đề cập đến. Xuất phát từ thực tế trên, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu khảo sát sự hiện diện và xác định đặc điểm vùng gen cassette của các integron ở vi khuẩn *E. ictaluri*.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguồn vi khuẩn

Tổng số 67 chủng vi khuẩn *E. ictaluri* sử dụng trong nghiên cứu này được phân lập từ các cơ quan gan, thận và tỷ tạng của cá tra bệnh GTM nuôi thâm canh ở ĐBSCL. Vi khuẩn được phân lập trên môi trường tryptic soy agar (TSA), định danh bằng bộ kit API 20E (BioMerieux, Pháp) và kỹ thuật PCR [8] kết hợp với giải trình tự gen. Các chủng vi khuẩn sau khi phân lập sẽ được thực hiện kháng sinh đồ với 15 loại kháng sinh: amoxicillin (AMO/10 μ g), ampicillin (AMP/10 μ g), cefotaxim (CTX/30 μ g), cefalexin (CEF/30 μ g), chloramfenicol (CHL/30 μ g), florfenicol (FFC/30 μ g), ciprofloxacin (CIP/5 μ g), enrofloxacin (ENR/5 μ g), norfloxacin (NOR/5 μ g), doxycycline (DOX/30 μ g), tetracycline (TET/30 μ g), gentamycin (GEN/10 μ g), streptomycin (STR/10 μ g), neomycin (NEO/30 μ g) và trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT/1,25/23,75 μ g) bằng phương pháp đĩa khuếch tán [9] và dựa theo tiêu chuẩn của Clinical and Laboratory Standards Institute [10] để xác định tính nhạy và kháng của vi khuẩn đối với các loại kháng sinh.

2.2. Khảo sát sự hiện diện của các integron

Để xác định các integron nhóm 1, 2 và 3, nghiên cứu sử dụng 3 cặp mồi sau: cặp mồi Int1F/Int1R [11], RB201/RB202 [12] và Int3F/Int3R [13] mã hóa gen integrase của các integron nhóm 1 (*IntI1*), nhóm 2 (*IntI2*) và nhóm 3 (*IntI3*) với kích thước lần lượt là 160, 393 và 979 bp (Bảng 1).

2.3. Khảo sát và giải trình tự vùng gen cassette của các integron nhóm 1 và 2

Các chủng vi khuẩn *E. ictaluri* dương tính với các integron nhóm 1 và 2 sẽ được chọn để xác định vùng gen cassette. Nghiên cứu sử dụng cặp mồi Hep58/Hep59 [14] và Hep 74/Hep [15] để khuếch đại vùng gen cassette của các integron nhóm 1 và 2 (Bảng 1).

2.4. Khảo sát vùng 3'-CS (3'-conserved segment) của các integron nhóm 1

Các cặp mồi qac-F/qac-R khuếch đại gen *qacE Δ 1* (kháng các hợp chất ammonium bậc 4) và cặp mồi *SulI-F/SulI-R* khuếch đại gen *sulI* (kháng các kháng sinh nhóm sulfonamide) nằm ở vùng 3'-CS của các integron nhóm 1 được khuếch đại bằng kỹ thuật PCR (Mazel *et al.*, 2000).

Trình tự các cặp mồi, chu kỳ và điều kiện phản ứng PCR phát hiện các gen trên được trình bày chi tiết ở Bảng 1. Phản ứng PCR được thực hiện trong thể tích 25 μ L gồm các thành phần: dung dịch đệm 1X PCR; 2,5 mM MgCl₂; 10 mM dNTPs; 2U *Taq* DNA polymerase; 20 pmol mồi xuôi và 20 pmol mồi ngược; DMSO (1%) và 20-40 ng ADN mẫu. Ngoài ra, sản phẩm PCR của 1 số chủng vi khuẩn dương tính với các nhóm integron, vùng gen cassette, gen *qacE Δ 1* và gen *sulI* được giải trình tự (mẫu gửi ở công ty Macrogen, Hàn Quốc) để xác nhận lại tính chính xác của phản ứng PCR.

Bảng 1. Trình tự nucleotide của các cặp mồi, chu kỳ và điều kiện phản ứng PCR phát hiện các integron nhóm 1, 2 và 3 và các gen liên quan

Tên mồi	Trình tự của các cặp mồi (5' → 3')	Kích thước (bp)	Chu kỳ và điều kiện phản ứng
Int1F	CAG TGG ACA TAA GCC TGT TC	160	94°C-30 giây, 55°C-30 giây, 72°C-30 giây (35 chu kỳ).
Int1R	CCC GAG GCA TAG ACT GTA		
RB201	GCA AAC GCA AGC ATT CAT TA	393	94°C-30 giây, 62°C-30 giây, 72°C-45 giây (30 chu kỳ).
RB202	ACG GAT ATG CGA CAA AAA GG		
Int3F	GCC TCC GGC AGC GAC TTT CAG	979	94°C-30 giây, 62°C-30 giây, 72°C-60 giây (30 chu kỳ).
Int3R	ACG GAT CTG CCA AAC CTG ACT		
Hep58	GGC ATC CAA GCA GCA AG	Variable *	94°C-1 phút, 55°C-1 phút, 72°C-5 phút (35 chu kỳ).
Hep59	AAG CAG ACT TGA CCT GA		
Hep 74	CGGGATCCCGGACGGCATGCACGATTTGTA	Variable *	94°C-1 phút, 55°C-1 phút, 72°C-5 phút (35 chu kỳ).
Hep 51	GAT GCC ATC GCA AGT ACG AG		
Qac-F	GGC TGG CTT TTT CTT GTT ATC G	287	94°C-30 giây, 56°C-30 giây, 72°C-60 giây (30 chu kỳ).
Qac-R	TGA GCC CCA TAC CTA CAA AGC		
Sul1-F	TGG TGA CGG TGT TCG GCA TTC	789	94°C-30 giây, 60°C-30 giây, 72°C-30 giây (30 chu kỳ).
Sul1-R	GCG AGG GTT TCC GAG AAG GTG		

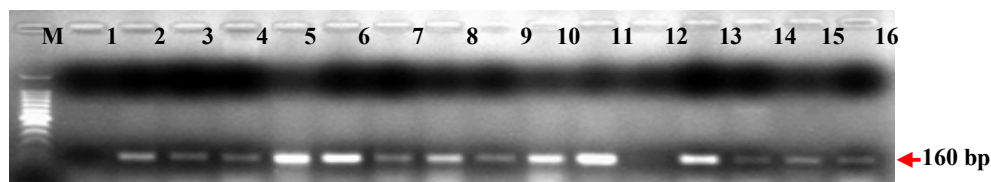
* Kích thước sản phẩm thay đổi tùy thuộc các gen cassette chèn vào.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Sự hiện diện của các integron nhóm 1, 2 và 3 ở vi khuẩn *E. ictaluri*

Bằng kỹ thuật PCR đã xác định 24/67 (chiếm 35,82%) chủng vi khuẩn *E. ictaluri* dương tính với gen *IntI1* (Hình 1 và Bảng 2). Kết quả giải trình tự và Blast trên ngân hàng Genbank cho thấy gen *IntI1* trong nghiên cứu tương đồng 98-100% với gen *IntI1* của vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* chủng B-2175P/15 (KY171972.1) và vi khuẩn *Riemerella anatipestifer* (FJ711659.1). Kết quả từ Bảng 2 cho thấy các chủng vi khuẩn *E. ictaluri* dương tính với các integron nhóm 1 đều có kiểu hình đa kháng với nhiều loại kháng sinh, đặc biệt là 100% các chủng dương tính đều có kiểu hình kháng với SXT. Kết quả này tương tự với báo cáo của nhiều tác giả trước đây [16-18]). Ngoài ra, tỷ lệ xuất hiện của các integron nhóm 1 ở vi khuẩn *E. ictaluri* cao hơn các nghiên cứu đã được báo cáo. Nghiên cứu của [19] cho thấy 14/63 (chiếm 22%) chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ các ao trên cá da trơn ở Mỹ dương tính

với các integron nhóm 1. Trong khi đó, nghiên cứu của [20] cho thấy 23% số chủng vi khuẩn *Pseudomonas* spp. phân lập trên cá hồi và trong bùn ở Australia có sự hiện diện của các integron nhóm 1 [21] đã phát hiện chỉ có 3 loài vi khuẩn *Aeromonas allosaccharophila*, *A. hydrophila* và *A. sobria* phân lập từ cá hồi (*Onchorynchus mykiss*) ở Mexico có các integron nhóm 1 với tỷ lệ là 6,2%. Tuy nhiên, các nghiên cứu khác cho thấy tỷ lệ xuất hiện các integron nhóm 1 cao hơn trong nghiên cứu này. Nghiên cứu của [22] cho thấy các integron nhóm 1 được tìm thấy ở 26/40 (chiếm 65%) chủng vi khuẩn *A. salmonicida* phân lập từ cá hồi ở Bắc Mỹ và Bắc Âu. Nghiên cứu của Jacobs and Chenia (2007) cho thấy các chủng vi khuẩn *Aeromonas* spp. phân lập từ các hệ thống nuôi thủy sản ở Nam Phi có tần số xuất hiện các integron nhóm 1 là 51,3%. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu của Lukkana *et al.* (2012) cho thấy vi khuẩn *A. hydrophila* phân lập từ cá rô phi (*Oreochromis nilotica*) nuôi ở Thái Lan có integron nhóm 1 hiện diện là 46% (23/50 chủng).



Hình 1. Kết quả PCR xác định các gen *IntI1* ở vi khuẩn *E. ictaluri* (M: thang chuẩn 100 bp plus; giếng 1: đối chứng âm; giếng 2-16: thứ tự các chủng vi khuẩn *E. ictaluri*: 1ED3, 4ED3, 7ED3, 8ED3, 11ED3, 12ED3, 13ED3, 7ED3, 20ED3, 21ED3, 22ED3, 2ED4, 3ED4, 6ED4 và 10ED4.

Trong khi đó, các integron nhóm 2 và 3 không được phát hiện ở tất cả các chủng vi khuẩn *E. ictaluri* trong nghiên cứu này. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy các integron nhóm 2 và 3 không được phát hiện ở nhiều loài vi khuẩn [23]. Cho đến nay, các integron nhóm 2 được tìm thấy chủ yếu ở vi khuẩn *E. coli* gây bệnh cho người, động vật và hiện diện trên các môi trường tự nhiên [24-25]. Nghiên cứu của [26] cho thấy 4/17 (chiếm 23,53%) chủng vi khuẩn *E. coli* có nguồn gốc từ người, động vật và thực phẩm có các integron nhóm 2. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu của [27] cho thấy chỉ có 10% các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ nước nuôi trồng thủy sản ở Iran có các integron nhóm 2. Cho đến nay, chưa có báo cáo nào về sự hiện diện của các integron nhóm 2 ở vi khuẩn *E. ictaluri*, kể cả các vi khuẩn khác của giống *Edwardsiella*. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Goldstein *et al.* (2001) cho thấy trong tổng số 59 chủng vi khuẩn *Edwardsiella* (gồm 11 chủng *E. ictaluri* và 48 chủng *E. tarda*) phân lập từ cá da trơn, lương và cá hồi không có sự hiện diện của các integron nhóm 2.

Các integron nhóm 3 được phát hiện lần đầu tiên bởi [28] từ chủng vi khuẩn *Serratia marcescens* TN9106 kháng carbapenem. Cho đến nay, rất ít loài vi khuẩn được báo cáo là có sự hiện diện của integron nhóm 3 và các integron nhóm này chỉ được báo cáo trên 1 vài loài vi khuẩn như *Alcaligenes xylosoxidans* [29], *Citrobacter freundii* [30], *E. coli* [31], *Klebsiella pneumoniae* [32], *P. aeruginosa* (Fluit and Schmitz, 2004), *Salmonella* spp [33] và *Enterobacter cloacae* [34]. Nghiên cứu của Jacobs and Chenia (2007) đã xác định 5/37 (chiếm 13.5%) chủng vi khuẩn *A. veronii*

biovar *sobria* phân lập từ các hệ thống nuôi thủy sản ở Nam Phi dương tính với cả 2 integron nhóm 2 và 3. Barraud *et al.* (2013) đã xác định các integron nhóm 3 từ vi khuẩn *Enterobacter cloacae* phân lập từ nước thải bệnh viện ở Pháp. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu của các tác giả [35] và Ndi and Barton (2012) thì không phát hiện các integron nhóm 3 ở các loài vi khuẩn thuộc giống *Aeromonas* như *A. hydrophila*, *A. veronii*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. dhakensis*, *A. jandaei*, *A. trota* và *A. media* và các loài vi khuẩn thuộc giống *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae* và *Pseudomonas* spp.).

3.2. Đặc điểm vùng gen cassette của các chủng *E. ictaluri* dương tính với integron nhóm 1

Kết quả khảo sát của đề tài cho thấy 7 vùng gen cassette (Hình 2) được khuếch đại ở tất cả 24 chủng vi khuẩn *E. ictaluri* dương tính với các integron nhóm 1 với các kích thước khoảng 0,65 kbp, 0,8 kbp, 0,95 kbp, 1,0 kbp, 1,2 kbp, 1,5 kbp và 2,5 kbp (Bảng 2). Vùng gen cassette được khuếch đại nhiều nhất trong nghiên cứu này là vùng có kích thước 1,2 kbp (8/24 chủng, chiếm 33,33%), kế đến là 1,5 kbp và 2,5 kbp (4/24 chủng, chiếm 16,67%), 1,0 kbp (3/24 chủng, chiếm 12,5%), 0,65 và 0,95 kbp (2/24 chủng, chiếm 8,33%) và thấp nhất là 0,8 kbp (1/24 chủng, chiếm 4,17%).

Các chủng vi khuẩn có vùng gen cassette được khuếch đại với các kích thước khác nhau được chọn để giải trình tự (Bảng 3). Kết quả Blast trên cơ sở dữ liệu NCBI cho thấy vùng gen cassette có kích thước 0,65 kbp mang gen *dfrA1*, mã hóa enzyme dihydrofolate reductase kháng đối với kháng sinh trimethoprim) tương

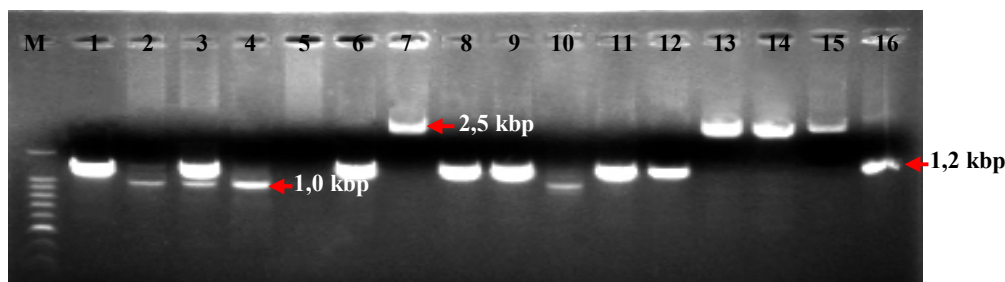
đồng 99% với gen *dfrA1* của vi khuẩn *A. jandaei* chủng M3 (KR270484.1) và vi khuẩn *A. hydrophila* chủng A-B12B (KM401409.1). Tương tự, kết quả giải trình tự của các vùng gen

cassette khác (0,8 kbp, 0,95 kbp, 1,0 kbp, 1,2 kbp, 1,5 kbp và 2,5 kbp) của vi khuẩn được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 2. Sự hiện diện các integron nhóm 1 và kiểu hình kháng thuốc của vi khuẩn *E. ictaluri*

Chủng vi khuẩn	Kiểu hình kháng thuốc của vi khuẩn	KT vùng gen cassette (kbp)	Gen được mã hóa	Gen <i>qacEA1</i>	Gen <i>Sul1</i>
1ED3	CFL-CTX-CHL-FFC-ENR-DOX-TET-NEO-STR-SXT	1,0	<i>aadA1</i>	+	+
4ED3	AMO-AMP-CFL-CTX-CHL-FFC-CIP-ENR-NOR-DOX-TET-NEO-GEN-SXT	2,5	<i>blaVIM-1- aadB- dfrA1</i>	+	+
7ED3	CFL-CTX-CHL-FFC-ENR-NOR-DOX-TET-NEO-GEN-SXT	1,2	<i>dfrA27</i>	-	-
8ED3	CFL-CHL-FFC-ENR-TET-NEO-STR-SXT	1,0	<i>aadA1</i>	+	+
11ED3	FFC-STR-SXT	0,65	<i>dfrA1- OrfC</i>	-	-
12ED3	CHL-FFC-TET-STR-NEO-SXT	0,95	<i>aadA2</i>	+	+
13ED3	CHL-FFC-DOX-TET-STR-SXT	0,95	<i>aadA2</i>	-	-
17ED3	CFL-CHL-FFC-CIP-ENR-NOR-DOX-TET-NEO-STR-GEN-SXT	2,5	<i>blaVIM-1- aadB- dfrA1</i>	+	+
20ED3	AMP-CHL-FFC-ENR-NOR-TET-NEO-STR-SXT	1,5	<i>dfrA1-aacA4</i>	+	+
21ED3	AMP-CHL-FFC-CIP-ENR-NOR-DOX-TET-STR-GEN-SXT	2,5	<i>blaVIM-1- aadB- dfrA1</i>	+	+
22ED3	CHL-FFC-CIP-TET-SXT	0,65	<i>dfrA1</i>	-	-
2ED4	AMP-CHL-FFC-TET-STR-GEN-SXT	0,8	<i>dfrA7</i>	-	-
3ED4	CHL-FFC-TET-STR-SXT	1,2	<i>dfrA27</i>	+	+
6ED4	CHL-FFC-TET-STR-SXT	1,2	<i>dfrA27</i>	+	+
10ED4	CHL-FFC-ENR-TET-SXT	1,2	<i>dfrA27</i>	+	+
15ED4	CHL-FFC-TET-STR-SXT	1,2	<i>dfrA27</i>	+	+
17ED4	AMP-CHL-FFC-CIP-ENR-NOR-DOX-TET-STR-SXT	1,5	<i>dfrA1-aacA4</i>	+	+
19ED4	CFL-CTX-CHL-FFC-CIP-ENR-NOR-TET-STR-GEN-SXT	1,5	<i>dfrA1-aacA4</i>	-	-
25ED4	CHL-FFC-ENR-NOR-TET-STR-GEN-SXT	1,0	<i>aadA1</i>	+	+
26ED4	CHL-FFC-CIP-ENR-NOR-TET-NEO-STR-SXT	1,5	<i>dfrA1-aacA4</i>	+	+
29ED4	AMP-CTX-CHL-FFC-CIP-ENR-NOR-TET-NEO-GEN-SXT	2,5	<i>blaVIM-1- aadB- dfrA1</i>	-	-
32ED4	CHL-FFC-CIP-TET-STR-GEN-SXT	1,2	<i>dfrA27</i>	+	+
33ED4	CHL-FFC-TET-NEO-STR-GEN-SXT	1,2	<i>dfrA27</i>	+	+
35ED4	CHL-FFC-ENR-NOR-DOX-TET-SXT	1,2	<i>dfrA27</i>	+	+

KT: kích thước, +: dương tính, -: âm tính.



Hình 2. Kết quả PCR xác định vùng gen cassette của các chủng vi khuẩn *E. ictaluri* dương tính với các integron nhóm 1 (M: thang chuẩn 100 bp plus; giếng 2, 4, 10 (KT 1,0 kbp): thứ tự các chủng *E. ictaluri*: 1ED3, 8ED3, 25ED3; giếng 1, 3, 6, 8, 9, 11, 12, 16 (KT 1,2 kbp): thứ tự các chủng *E. ictaluri*: 7ED3, 3ED4, 10ED4, 5ED4, 32ED4, 33ED4 và 35ED4; giếng 7, 13, 14, 15 (KT 2,5 kbp): thứ tự các chủng *E. ictaluri*: 4ED3, 17ED3, 21ED3 và 29ED4; giếng 5: đối chứng âm).

Bảng 3. Kết quả so sánh trình tự các vùng gen cassette của 2 loài vi khuẩn trên ngân hàng NCBI

Gen cassette (kbp)	<i>E. ictaluri</i>	Gen mã hóa	Enzyme mã hóa	Kháng sinh
0,65	2/24	<i>dfrA1</i>	Dihydrofolate reductase	Trimethoprim
0,8	1/24	<i>dfrA7</i>	Dihydrofolate reductase	Trimethoprim
0,95	2/24	<i>aadA2</i>	Aminoglycoside adenytransferase	Streptomycin spectinomycin
1,0	3/24	<i>aadA1</i>	Aminoglycoside adenytransferase	Streptomycin và spectinomycin
1,2	8/24	<i>dfrA27</i>	Dihydrofolate reductase	Trimethoprim
1,5	4/24	<i>dfrA1</i> và <i>aacA4</i>	Dihydrofolate reductase và aminoglycoside N(6')-acetyltransferase	Trimethoprim và các kháng sinh nhóm aminoglycoside
2,5	4/24	<i>blaVIM-1</i> , <i>aadB</i> và <i>dfrA1</i>	β -lactamase, aminoglycoside-2'adenyltransferase và dihydrofolate reductase	β -lactam, nhóm aminoglycoside và trimethoprim

Cho đến nay, có hơn 100 vùng gen cassette khác nhau đã được phát hiện ở các integron và hầu hết chúng đều mã hóa cho kiểu hình kháng thuốc của vi khuẩn [36]. Kết quả nghiên cứu này cho thấy có 7 vùng gen cassette (Bảng 2&3) được tìm thấy ở 24 chủng vi khuẩn *E. ictaluri* và phần lớn các vùng gen cassette trong nghiên cứu đều mã hóa cho tính kháng kháng sinh trimethoprim (gen *dfrA27*: 16/54 chủng, gen *dfrA1*: 5/54 chủng), *dfrA7* (1 chủng) và aminoglycoside (gen *aadA1*: 7/54 chủng, gen *aadA2* và *aacA4* (8/54 chủng)). Kết quả nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu trước đây cho thấy phần lớn các vùng gen cassette liên kết với integron nhóm 1 của nhiều loài vi khuẩn mang gen kháng với aminoglycoside, sulfonamide và trimethoprim [37]. Tuy nhiên,

sự khác nhau về tỷ lệ xuất hiện cũng như sự kết hợp, sắp xếp của các gen trong vùng gen cassette ở các vi khuẩn cho đến nay vẫn chưa được chứng minh.

Cho đến nay, ít nhất 40 gen *dfr* đã được xác định ở các loài vi khuẩn [38]. Trong số đó, các gen *dfr* như *dfrA1*, *dfrA5*, *dfrA6*, *dfrA7*, *dfrA12*, *dfrA13*, *dfrA14*, *dfrA15*, *dfrA16*, *dfrA17*, *dfrA21*, *dfrA22*, *dfrA25* và *dfrA27* đã được tìm thấy trên các integron nhóm [39-42]. Các gen *dfrA1*, *dfrA7* và *dfrA27* được phát hiện ở vi khuẩn *E. ictaluri* trong nghiên cứu này đều nằm trong vùng gen cassette của các integron nhóm 1. Vùng gen cassette mang gen *dfrA1* đã được báo cáo trên nhiều loài vi khuẩn và được cho là vùng gen hiện diện phổ biến nhất ở vi khuẩn [43-45]. Nghiên cứu của Schmidt *et al.*

(2001a&b) và Miko *et al.* (2005) cho thấy gen *dfrA1* xuất hiện với tỷ lệ cao ở các loài vi khuẩn *Aeromonas* và *Salmonella enterica*. Tuy nhiên, nghiên cứu của Jacobs and Chenia (2007) phát hiện chỉ có 2 chủng vi khuẩn trong nghiên cứu có gen *dfrA1*. Nghiên cứu của Lukkana *et al.* (2012) cũng cho kết quả tương tự khi chỉ xác định gen *dfrA1* trên 3 chủng vi khuẩn *A. hydrophila* AH146, AH199 và AH173 [46] đã xác định gen *dfrA1* từ 2 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ máu các bệnh nhân ở 1 bệnh viện của Tây Ban Nha. Nghiên cứu của Saenz *et al.* (2010) cũng đã xác định gen *dfrA1* từ 1 chủng vi khuẩn *E. coli* (thu thập từ các nguồn khác nhau như từ người, động vật và thực phẩm) trong số 13 chủng dương tính với các integron nhóm 1 nhưng không có vùng 3'-CS. Gần đây, kết quả nghiên cứu của [47] cũng đã xác định gen *dfrA1* ở vi khuẩn *E. coli* từ nước bề mặt ở Brazil.

Trong khi đó, gen *dfrA27* mặc dù xuất hiện với tỷ lệ cao nhất (16/54 chủng) trong số các gen *dfr* được phát hiện trong nghiên cứu này nhưng vùng gen cassette chỉ mang gen này được báo cáo lần đầu tiên ở vi khuẩn như *E. coli* [48, 49] ở Trung Quốc và Hàn Quốc và *V. cholera* ở Trung Quốc (Sun *et al.*, 2010). Do đó, các nghiên cứu tiếp theo cần được thực hiện để làm sáng tỏ nguồn gốc cũng như sự hiện diện phổ biến của gen này trong số các gen kháng trimethoprim được phát hiện ở vi khuẩn *E. ictaluri* trong nghiên cứu này. Tương tự, vùng gen cassette chỉ mang gen *dfrA7* được tìm thấy chỉ ở 1 chủng vi khuẩn *E. ictaluri*. Kết quả nghiên cứu phù hợp với nhiều báo cáo trước đây cho thấy vùng gen cassette mang gen *dfrA7* được tìm thấy ở vi khuẩn *Salmonella enterica* (Miko *et al.*, 2005), *E. coli* [50-52], *Proteus* sp. (Shah *et al.*, 2014), *Kluyvera* sp. và *Pantoea* sp. (Mokracka *et al.*, 2012), *Shigella* spp [53]. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của [54] cho thấy trong số các gen *dfr* được phát hiện ở các vi khuẩn thuộc họ *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Shigella* spp. và *Salmonella* spp.) thì gen chiếm tỷ lệ cao nhất là *dfrA7* (49%), trong khi đó tỷ lệ xuất hiện của gen *dfrA1* là 17%.

Vùng gen cassette chứa 2 gen *aadA1* và gen *aadA2* đã được tìm thấy trên nhiều loài vi khuẩn khác nhau [55-57]. Lee *et al.* (2008) đã tìm thấy gen *aadA1* và gen *aadA2* ở vi khuẩn *Aeromonas* spp. từ các mẫu máu và vết thương của bệnh nhân ở Đài Loan. Nghiên cứu của van Essen-Zandbergen *et al.* (2007) cho kết quả tương tự khi 2 gen *aadA1* và gen *aadA2* được xác định ở 2 loài vi khuẩn *Salmonella* spp. và *E. coli*. Gen *aadA2* trong nghiên cứu của Lukkana *et al.* (2011) được xác định ở 4/14 chủng vi khuẩn *A. hydrophila*. Canal *et al.* (2016) cũng đã xác định gen *aadA1* ở vi khuẩn *E. coli* từ nước bề mặt ở Brazil. Kết quả nghiên cứu của [58] đã xác định 2 gen *aadA1* và *aadA2* từ các vi khuẩn Gram âm phân lập ở các bệnh viện của Palestin. Cũng trên các vi khuẩn Gram âm có nguồn gốc từ các mẫu nước ở Ba Lan, [59] đã xác định gen *aadA1* ở các vi khuẩn *A. hydrophila*, *Pasteurella multocida* và *E. coli*. Trong khi đó, 2 vùng gen cassette có kích thước 1,5 và 2,5 mang 2 gen *dfrA1-aacA4* (8/54 chủng) hoặc 3 gen *blaVIM-1-aadB-dfrA1* (9/54 chủng) trong nghiên cứu này chưa được nhiều nghiên cứu công bố. Cho đến nay, vùng gen cassette *blaVIM-1-aadB-dfrA1* chỉ được báo cáo ở vi khuẩn *Providencia vermicola* từ các bệnh nhân bị tiêu chảy ở Ấn [60].

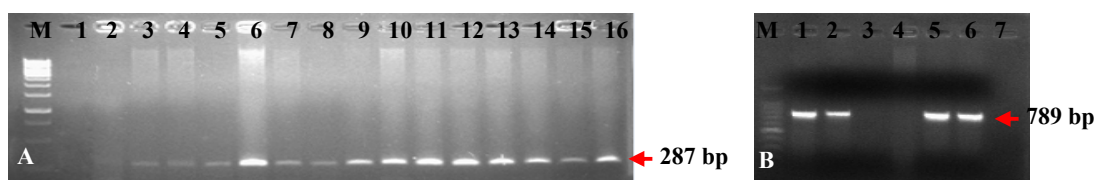
3.3. Khảo sát vùng 3'-conserved segment (CS) của các integron nhóm 1

Kết quả PCR cho thấy 17/24 chủng (chiếm 70,83%) *E. ictaluri* dương tính với các integron nhóm 1 mang cả 2 gen *qacEΔ1* (Hình 3) và gen *sull* (Hình 4). Kết quả giải trình tự cho thấy gen *qacEΔ1* trong nghiên cứu tương đồng 99-100% với gen *qacEΔ1* của vi khuẩn *K. pneumoniae* (AB894355.1), *P. putida* chủng BF25 (KY047415.1), *Variovorax* sp. chủng BF19 (KY047414.1), *Ochrobactrum* sp. chủng BF02 (KY047413.1) và vi khuẩn *Alcaligenes* sp. chủng BF42 (KY047417.1). Tương tự, kết quả giải trình tự gen *sull* cũng cho thấy gen này tương đồng 100% với gen *sull* trên plasmid R388 (X12869.1). Ngoài ra, qua kết quả nghiên cứu cũng cho thấy không có bất kỳ chủng vi khuẩn *E. ictaluri* chỉ có gen *qacEΔ1* hoặc gen

sull. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nhiều báo cáo cho thấy các vi khuẩn dương tính với các integron thì đa phần đều có vùng 3'-CS mang 2 gen *qacEAI* và gen *sull* [61]. Trong khi đó, 7/24 (chiếm 29,17%) chủng vi khuẩn còn lại trong nghiên cứu cho thấy vùng 3'-CS mang 2 gen *qacEAI* và gen *sull* không được khuếch đại (Bảng 2).

Như vậy, các integron nhóm 1 không có vùng 3'-CS (được gọi là atypical integron) trong nghiên cứu hiện diện với tỷ lệ thấp hơn các integron nhóm 1 có vùng 3'-CS (được gọi là typical integron). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Vinué *et al.* (2008) cho thấy chỉ

có 4/26 chủng vi khuẩn *E. coli* có nguồn gốc từ người dương tính với các integron nhóm 1 không có vùng 3'-CS. Tuy nhiên, nghiên cứu của [62] cho thấy các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập từ thịt và các sản phẩm của thịt lại ở Thụy Điển có các integron nhóm 1 không có gen *sull* chiếm tỷ lệ cao (9/29 chủng dương tính các integron nhóm 1). Trong nghiên cứu của [63] cho thấy tất cả các chủng vi khuẩn *E. ictaluri* dương tính với các integron nhóm 1 đều không có vùng 3'-CS. Nghiên cứu của [64] cho thấy các chủng vi khuẩn *E. coli* có nguồn từ người, động vật và thực phẩm cũng không có gen *qacEAI* và gen *sull*.



Hình 3. A. Kết quả xác định gen *qacEAI* ở các chủng vi khuẩn *E. ictaluri* (M: thang chuẩn 1 kbp; giếng 1: đối chứng âm; 2-16: thứ tự các chủng *E. ictaluri*: 1ED3, 4ED3, 8ED3, 12ED3 và 17ED3, 20ED3, 21ED3, 3ED4, 6ED4, 10ED4, 15ED4, 17ED4, 25ED4, 26ED4 và 32ED4). B. Gen *sull* của các chủng vi khuẩn *E. ictaluri* (M: thang chuẩn 100 bp plus; giếng 1, 2, 5 và 6: thứ tự các chủng *E. ictaluri* gồm: 1ED3, 4ED3, 8ED3 và 12ED3; giếng 7: đối chứng âm; giếng 3 và 4: mẫu âm tính).

4. Kết luận và khuyến nghị

4.1. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định sự hiện diện của các integron nhóm 1 ở 24/67 (chiếm 35,82%) chủng vi khuẩn *E. ictaluri* bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen. Trong khi đó, các integron nhóm 2 và 3 thì không được phát hiện ở tất cả các chủng vi khuẩn. Ngoài ra, đề tài cũng đã xác định 7 vùng gen cassette khác nhau, mã hóa cho các enzyme dihydrofolate reductase, aminoglycoside adenylyltransferase, aminoglycoside N(6')-acetyltransferase và β -lactamase kháng lại nhiều loại kháng sinh ở vi khuẩn *E. ictaluri*.

4.2. Khuyến nghị

Cần tiếp tục nghiên cứu khả năng tiếp hợp và truyền gen kháng thuốc của vi khuẩn *E.*

ictaluri đối với các loài vi khuẩn gây bệnh trên cá tra và vi khuẩn khác trong môi trường ao nuôi.

Tài liệu tham khảo

- [1] Dung, T.T., N.T.N. Ngọc, N.Q. Thịnh, D.T.M. Thy, N.A. Tuan, A. Shinn and M. Crumlish, Common diseases of *Pangasius* Catfish farmed in Vietnam. *Global Aquaculture Advocate*, 11 (2008): 76-77.
- [2] Phu T.M., N.T. Phuong, T.T. Dung, D.M. Hai, V.N. Son, A. Rico, J.H. Clausen, H. Madsen, F. Murray and A. Dalsgaard, An evaluation of fish health-management practices and occupational health hazards associated with *Pangasius* catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) aquaculture in the Mekong Delta, Vietnam. *Aquaculture Research*, 47 (2015): 2778-2794.
- [3] Nguyễn Thiện Nam, Phạm Thanh Hương, Trần Duy Phương và Từ Thanh Dung, Nghiên cứu sự đa kháng thuốc của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*

- gây bệnh trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, số 14b (2010): 200-210.
- [4] Davies, J. and D. Davies, Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74 (2010): 417-433.
- [5] Cambray, G., A.M. Guerout and D. Mazel, Integrons. *Annual Review of Genetics*, 44 (2010): 141-166.
- [6] White, P.A., C.J. McIver and W.D. Rawlinson, Integrons and gen cassettes in the Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45 (2001): 2658-2661.
- [7] Quách Văn Cao Thi, Từ Thanh Dung và Đặng Phạm Hòa Hiệp, Hiện trạng kháng thuốc kháng sinh trên hai loài vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* và *Aeromonas hydrophila* gây bệnh trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. Số chuyên đề: Thủy sản, 2 (2014): 7-14.
- [8] Sakai, T., K. Yuasa, M. Sano and T. Iida, Identification of *Edwardsiella ictaluri* and *E. tarda* by Species-Specific Polymerase Chain Reaction Targeted to the Upstream Region of the Fimbrial Gene. *Journal of Aquatic Animal Health*, 21 (2009): 124-132.
- [9] Bauer, A.L., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris and M. Turck, Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45 (1996): 493-496.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second information supplement, M100-S22, Vol. 32 No. 3, Replaces M100-S21, Vol. 31 No. 1. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087, 2012.
- [11] Koeleman, J.G.M., J. Stoof, M.W. Van Der Bijl, C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls and P.H.M. Savelkoul, Identification of epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* by integrase gene PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 39 (2001): 8-13.
- [12] Barlow, R.S., J.M. Pemberton, P.M. Desmarchelier and K.S. Gobius, Isolation and characterization of integron-containing bacteria without antibiotic selection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48 (2004): 838-842.
- [13] Mazel, D., B. Dychinco, V.A. Webb and J. Davies, Antibiotic resistance in the ECOR collection: integrons and identification of a novel *aad* gene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44 (2000): 1568-1574.
- [14] Levesque, C., L. Piche, C. Larose and P.H. Roy, PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39 (1995): 185-191.
- [15] White P.A., Christopher J. McIver, Yi-Mo Deng, William D. Rawlinson, Characterisation of two new gene cassettes, *aadA5* and *dfrA17*. *FEMS Microbiology Letters*, 182 (2000): 265-269.
- [16] Jacobs, L. and H.Y. Chenia, Characterization on integrons and tetracycline resistance determinants in *Aeromonas* spp. isolated from South African aquaculture systems. *International Journal of Food Microbiology*, 114 (2007): 295-306.
- [17] Lukkana, M., J. Wongtavatchai, and R. Chuanchuen, Class 1 Integrons in *Aeromonas hydrophila* isolates from farmed Nile Tilapia (*Oreochromis nilotica*). *The Journal of Veterinary Medical Science*, 4 (2011): 435-440.
- [18] Nguyen H.N.K., V.T.T. Hao, N.H. Thinh, P.M. Smooker, J. Shimeta and P.J. Coloe, Molecular characterization of antibiotic resistance in *Pseudomonas* and *Aeromonas* isolates from catfish of the Mekong Delta, Vietnam. *Veterinary Microbiology*, 171 (2014): 397-405.
- [19] Nawaz, M., A.A. Khan, S. Khan, K. Sung, K. Kerdahi and R. Steele, Molecular characterization of tetracycline resistant genes and integrons from avirulent strains of *Escherichia coli* isolated from catfish. *Foodborne Pathogens and Disease*, 5 (2009): 553-559.
- [20] Ndi, L.O. and M.D. Barton, Resistance Determinants of *Pseudomonas* species from Aquaculture in Australia. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 3 (2012):1-6.
- [21] Vega-Sanchez V., F. Latif-Eugenin, E. Soriano-Vargas, R. Beaz-Hidalgo, M.J. Figueras, Ma.G. Aguilera-Arreola and G. Castro-Escarpulli, Re-identification of *Aeromonas* isolates from rainbow trout and incidence of class 1 integron and b-lactamase genes. *Veterinary Microbiology*, 172 (2014): 528-533.
- [22] Schmidt, A.S., M.S. Bruun, I. Dalsgaard and J.L. Larsen., Incidence, distribution and spread of tetracycline resistance determinants and integron associated antibiotic resistance genes motile *Aeromonads* from a fish farming environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (2001a): 5675-5682.
- [23] Lee M.F., C.F. Peng, Y.H. Lin, S.R. Lin and Y.H. Chen, Molecular diversity of class 1 integrons in human isolates of *Aeromonas* spp. from southern Taiwan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 61 (2008): 343-349.

- [24] Goldstein, C., M.D. Lee, S. Sanchez, C. Hudson, B. Phillips, B. Register, M. Grady, C. Liebert, A.O. Summers, D.G. White, and J.J. Maurer, Incidence of class 1 and 2 integrases in clinical and commensal bacteria from livestock, companion animals, and exotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45 (2001): 723-726.
- [25] Kim, S., S.H. Kim, J. Kim, J.H. Shin, B.K. Lee, and M.S. Park, Occurrence and distribution of various genetic structures of class 1 and class 2 integrons in *Salmonella enterica* isolates from foodborne disease patients in Korea for 16 years. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8 (2010): 319-324.
- [26] Saenz Y., L. Brinas, E. Dominguez, J. Ruiz, M. Zarazaga, J. Vila and C. Torres, Mechanisms of Resistance in Multiple-Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Strains of Human, Animal, and Food Origins. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 48 (2004): 3996-4001.
- [27] Tajbakhsh E., F. Khamesipour, R. Ranjbar and I.C. Ugwu, Prevalence of class 1 and 2 integrons in multi-drug resistant *Escherichia coli* isolated from aquaculture water in Chaharmahal Va Bakhtiari province, Iran. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14 (2015): 37.
- [28] Arakawa, Y., M. Murakami, K. Suzuki, H. Ito, R. Wacharotayankun, S. Ohsuka, N. Kato and M. Ohta, A novel integron-like element carrying the metallo-beta-lactamase gene blaIMP. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39 (1995): 1612-1615.
- [29] Fluit, A.C. and F.J. Schmitz, Resistance integrons and super-integrons. *Clinical Microbiology and Infection*, 10 (2004): 272-288.
- [30] Tchuente S.P.L., T. Stalder, S. Venditti, A. Ngandjio, C. Dagot, M.C. Ploy and O. Barraud, Characterisation of class 3 integrons with oxacillinase gene cassettes in hospital sewage and sludge samples from France and Luxembourg. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48 (2016): 431-434.
- [31] Kargar M., Z. Mohammadalipour, A. Doosti, S. Lorzadeh and A. Japoni-Nejad, High Frequency of Class 2 and 3 Integrons Related to Drug-Resistance in Clinical Isolates of Diarrheagenic *E. coli* in Iran. *Osong Public Health and Research Perspective*, 5 (2014): 193e198.
- [32] Correia M., F. Boavida, F. Grosso, M.J. Salgado, L.M. Lito, J.M. Cristino and A.M. Duarte, Molecular characterization of a new class 3 integron in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47 (2003): 2838-2843.
- [33] Ploy M.C., D. Chainier, N.H. Tran Thi, I. Poilane, P. Cruaud, F. Denis, A. Collignon and T. Lambert, Integron-associated antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serovar typhi from Asia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47 (2003): 1427-1429.
- [34] Barraud O., M. Casellas, C. Dagot and M.C. Ploy, An antibiotic-resistant class 3 integron in an *Enterobacter cloacae* isolate from hospital effluent. *Clinical Microbiology and Infection*, 19 (2013): E306-E308.
- [35] Ndi, O.L. and M.D. Barton, Incidence of class 1 integron and other antibiotic resistance determinants in *Aeromonas* spp. from rainbow trout farms in Australia. *Journal of Fish Diseases*, 34 (2011): 589-599.
- [36] Fluit, A.C., and F.J. Schmitz, Class 1 integrons, gen cassettes, mobility, and epidemiology. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18 (1999): 761-770.
- [37] Yan H., L. Li, M. Zong, M.J. Alam, S. Shinoda and L. Shi, Occurrence and characteristics of class 1 and 2 integrons in clinical bacteria isolates from patients in South China. *Journal of Health Science*, 56 (2011): 442-450.
- [38] Roberts M.C., S. Schwarz and H.J.M. Aarts, Erratum: acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Frontiers in Microbiology*, 3 (2012): 384.
- [39] Miko A., K. Pries, A. Schroeter and R. Helmuth, Molecular mechanisms of resistance in multidrug-resistant serovars of *Salmonella enterica* isolated from foods in Germany. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56 (2005): 1025-1033.
- [40] Peirano G., Y. Agersø, F.M. Aarestrup, E.M.F. dos Reis and D. dos Prazeres Rodrigues, Occurrence of integrons and antimicrobial resistance genes among *Salmonella enterica* from Brazil. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58 (2006): 305-309.
- [41] Agersø Y., G. Peirano and F.M. Aarestrup, *dfrA25*, a novel trimethoprim resistance gene from *Salmonella Agona* isolated from a human urine sample in Brazil. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58 (2006): 1044-1047.
- [42] Sun J., M. Zhou, Q. Wu and Y. Ni, Characterization of two novel gene cassettes, *dfrA27* and *aadA16*, in a non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* isolate from China. *Clinical Microbiology and Infection*, 16 (2010): 1125-1129.
- [43] van Essen-Zandbergen A., H. Smith, K. Veldman and D. Mevius, Occurrence and characteristics of class 1, 2 and 3 integrons in *Escherichia coli*,

- Salmonella* and *Campylobacter* spp. in the Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59 (2007): 746-750.
- [44] Vinué, L., Y. Sáenz, S. Somalo, E. Escudero, M.A. Moreno, F. Ruiz-Larrea, and C. Torres, Prevalence and diversity of integrons and associated resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates of healthy humans in Spain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62 (2008): 934-937.
- [45] Shah S.Q.A., F.C. Cabello, T.M. L'Abée-Lund, A. Tomova, H.P. Godfrey, A.H. Buschmann and H. Sørum, Antimicrobial resistance and antimicrobial resistance genes in marine bacteria from salmon aquaculture and non-aquaculture sites. *Environmental Microbiology*, 16 (2014): 1310-1320.
- [46] Vinué L., Y. Sáenz, B. Rojo-Bezares, I. Olarte, E. Undabeitia, S. Somaloa, M. Zarazaga and C. Torres, Genetic environment of sul genes and characterisation of integrons in *Escherichia coli* isolates of blood origin in a Spanish hospital. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35 (2010): 492-496.
- [47] Canal N., K.L. Meneghetti, C.P. de Almeida, M. da Rosa Bastos, L.M. Otton and G. Corcão, Characterization of the variable region in the class 1 integron of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from surface water. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47 (2016): 337-344.
- [48] Wei Q., X. Jiang, Z. Yang, N. Chen, X. Chen, G. Li and Y. Lu, *dfra27*, a new integron-associated trimethoprim resistance gene from *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63 (2009): 405-419.
- [49] Shin H.W., J. Lim, S. Kim, J. Kim, G.C. Kwon and S.H. Koo, Characterization of Trimethoprim-Sulfamethoxazole Resistance Genes and Their Relatedness to Class 1 Integron and Insertion Sequence Common Region in Gram-Negative Bacilli. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25 (2015): 137-142.
- [50] Karczmarczyk M., Y. Abbott, C. Walsh, N. Leonard and S. Fanning, Characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates from animals presenting at a University Veterinary Hospital. *Applied and Environmental Microbiology*, 77 (2011): 7104-7112.
- [51] Mokracka J., R. Koczura and A. Kaznowski, Multiresistant *Enterobacteriaceae* with class 1 and class 2 integrons in a municipal wastewater treatment plant. *Water Research*, 46 (2012): 3353-3363.
- [52] Bagré T.S., B. Sambe-Ba, H.B. Ibrahim, G.B. Tchamba, R. Dembélé, A.A. Wane, E. Bako, A.S. Traoré, N. Barro1 and A. Gassama-Sow, Isolation and characterization of enteropathogenic and enterotoxinogenic *Escherichia coli* from dairy products consumed in Burkina Faso. *African Journal of Microbiology Research*, 11 (2017): 537-545.
- [53] Mandomando I., D. Jaintilal, M.J. Pons, X. Valles, M. Espasa, L. Mensa, B. Sigauque, S. Sanz, J. Sacarlal, E. Macete, F. Abacassamo, P.L. Alonso and J. Ruiz, Antimicrobial Susceptibility and Mechanisms of Resistance in *Shigella* and *Salmonella* Isolates from Children under Five Years of Age with Diarrhea in Rural Mozambique. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53 (2009): 2450-2454.
- [54] Frank T., V. Gautier, A. Talarmin, R. Bercion and G. Arlet, Characterization of sulfonamide resistance genes and class 1 integron gene cassettes in *Enterobacteriaceae*, Central African Republic (CAR). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59 (2007): 742-745.
- [55] nfante B., M. Grape, M. Larsson, C. Kristiansson, L. Pallecchic, G.M. Rossolinic and G. Kronvalla, Acquired sulfonamide resistance genes in faecal *Escherichia coli* from healthy children in Bolivia and Peru. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25 (2005): 308-312.
- [56] Kadlec, K. and S. Schwarz, Analysis and distribution of class 1 and class 2 integrons and associated gen cassettes among *Escherichia coli* isolates from swine, horses, cats and dogs collected in the BfT-GermVet monitoring study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62 (2008): 469-473.
- [57] Shaheen B.W., O.A. Oyarzabal and D.M. Boothe, The role of class 1 and 2 integrons in mediating antimicrobial resistance among canine and feline clinical *E. coli* isolates from the US. *Veterinary Microbiology*, 144 (2010): 363-370.
- [58] Kotlarska E., A. Łuczkiwicz, M. Pisowacka and A. Burzyński, Antibiotic resistance and prevalence of class 1 and 2 integrons in *Escherichia coli* isolated from two wastewater treatment plants, and their receiving waters (Gulf of Gdansk, Baltic Sea, Poland). *Environmental Science and Pollut ion Research*, 22 (2015): 2018-2030.
- [59] Koczura R., A. Semkowska and J. Mokracka, Integron-bearing Gram-negative bacteria in lake waters. *Letters in Applied Microbiology*, 59 (2014): 514-519.
- [60] Rajpara N., B.M.R.N.S. Kutar, R. Sinha, D. Nag, H. Koley, T. Ramamurthy and A.K. Bhardwaj, Role of integrons, plasmids and SXT elements in

- multidrug resistance of *Vibrio cholerae* and *Providencia vermicola* obtained from a clinical isolate of diarrhea. *Frontiers in Microbiology*, 6 (2015): 1-11.
- [61] Lin M., X. Wu, Q. Yan, Y. Ma, L. Huang, Y. Qin and X. Xu, Incidence of antimicrobial-resistance genes and integrons in antibiotic-resistant bacteria isolated from eels and aquaculture ponds. *Diseases of Aquatic Organisms*, 120 (2016): 115-123.
- [62] Sunde M., Prevalence and characterization of class 1 and class 2 integrons in *Escherichia coli* isolated from meat and meat products of Norwegian origin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56 (2005): 1019-1024.
- [63] Dung, T.T., F. Haesebrouck, P. Sorgeloos, N.A Tuan and F. Pasmans, IncK plasmid-mediated tetracyclin resistance in *Edwardsiella ictaluri* isolates from diseased freshwater catfish in Vietnam. *Aquaculture*, 295 (2009): 157-159.
- [64] Saenz Y., L. Vinue, E. Ruiz, S. Somalo, S. Martinez, B. Rojo-Bezares, M. Zarazaga and C. Torres, Class 1 integrons lacking *qacEA1* and *sull* genes in *Escherichia coli* isolates of food, animal and human origins. *Veterinary Microbiology*, 144 (2010): 493-497.

Survey on the Presence of Integrons in *Edwardsiella ictaluri*, the Causative Agent of Bacillary Necrosis on Intensively Farmed Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in the Mekong Delta

Quach Van Cao Thi¹, Huynh Thi Diem Trang², Tu Thanh Dung²

¹Vinh Long Community College, 112A Dinh Tien Hoang, Vinh Long, Vietnam

²Department of Pathology, College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University, Ninh Kieu, Can Tho, Vietnam

Abstract: The purpose of this research was to evaluate the presence of the integrons and characterise the gene cassette regions in *E. ictaluri* that causes bacillus necrosis of *Pangasius* on striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in the Mekong Delta. By using PCR technique and gene sequencing, the finding identified 24/67 (35,82%) class 1 integron-positive *E. ictaluri* strains. Meanwhile, no class 2 and 3 integrons were detected in the study. Besides, our result also found many different gene cassette regions (0,65 kbp, 0,8 kbp, 0,95 kbp, 1,0 kbp, 1,2 kbp, 1,5 kbp and 2,5 kbp) encoding to dihydrofolate reductase, aminoglycoside adenylyltransferase, aminoglycoside N(6')-acetyltransferase and β -lactamase enzymes resistant to different antibiotics in *E. ictaluri*. The presence of the mobile genetic elements (class 1 integrons) in *E. ictaluri* in this research showed the ability that bacteria can transfer antimicrobial resistance genes to other bacteria in the aquatic environment. Therefore, using antibiotics for disease prevention in aquaculture should be managed more strictly.

Keywords: Antibiotic, *Edwardsiella ictaluri*, integron, *Pangasianodon hypophthalmus*.