

75% RH. The results showed that *N. californicus* had high predation capacity, especially feeding eggs of the small mite species; an adult female *N. californicus* could consume 8.70 - 8.80 prey eggs/day, and adult males ate 7.60 - 8.30 prey eggs/day. Predation capacities of other life stages of the predatory mite fed on each mite species were not significantly different. The life cycle of females (5.64 - 5.91 days) and the pre-adult sexual development time of males (4.04 - 4.10 days) of *N. californicus* fed on three mite pests did not differ distinctively. The size of adult females *N. californicus* fed on *P. citri* (0.509 × 0.455 mm) was significantly larger than that of female fed on the other two preys, however, the size of adult male was not significantly different. The results showed that, the predatory mite *N. californicus* could feed and develop normally on all three mite species on citrus.

**Keywords:** Predatory mite (*Neoseiulus californicus*), predation capacity, size, life cycle

Ngày nhận bài: 04/9/2020  
Ngày phản biện: 19/9/2020

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Nhung  
Ngày duyệt đăng: 24/9/2020

## KHẢO SÁT ĐỘ CẤP TÍNH CỦA KHÁNG SINH TRONG NƯỚC ĐẾN ẤU TRÙNG LƯỠNG CỤ

Đỗ Phương Chi<sup>1</sup>, Đinh Tiến Dũng<sup>1</sup>, Vũ Phạm Thái<sup>1</sup>,  
Hà Ngọc Hà<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thu Hà<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Ảnh hưởng của ba loại thuốc kháng sinh (Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin) lên ấu trùng *Hylarana guentheri* đã được đánh giá thông qua thử nghiệm độc cấp tính trong phòng thí nghiệm. Tác động được đánh giá bằng cách so sánh tỉ lệ biểu hiện bất thường và tỉ lệ tử vong của nòng nọc ở nhóm đối chứng với nhóm tiếp xúc với kháng sinh. Các biểu hiện bất thường quan sát thấy nhiều nhất ở cả ba kháng sinh là bơi mất thăng bằng, nằm nghiêng dưới đáy bình và chết. Khi tiếp xúc với kháng sinh nòng nọc có biểu hiện bất thường như bơi mất thăng bằng, nằm nghiêng dưới đáy bình, nổi trên mặt nước và chết. Nồng độ gây ảnh hưởng 50% nòng nọc thử nghiệm sau 96 giờ của Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin lần lượt là 1,13 và 4,18 và 6,12 mg/l. Nồng độ gây chết 50% sinh vật thử nghiệm sau 48 giờ của các kháng sinh lần lượt là 195,12 và 78,81 mg/l đối với Ciprofloxacin và Oxytetracyclin. Nòng nọc nhạy cảm hơn với Enrofloxacin hơn hai kháng sinh còn lại và nhạy cảm hơn hầu hết các loại động vật không xương sống và cá đối với cả ba kháng sinh.

**Từ khóa:** Ấu trùng lưỡng cư, kháng sinh Enrofloxacin, Ciprofloxacin, Oxytetracyclin, thử nghiệm độc cấp tính

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngoài việc sử dụng để điều trị bệnh cho con người, kháng sinh còn được sử dụng rộng rãi trong chăn nuôi và nuôi trồng thủy sản (NTTS). Ngoài ra, nước thải sinh hoạt và sử dụng phân chuồng, nước thải chăn nuôi khiến cho các dược chất xâm nhập vào đất, nước mặt, nước ngầm. Khoảng 50 - 90% kháng sinh sử dụng sẽ được đào thải, trong đó kháng sinh chiếm khoảng 5 - 30% tùy thuộc vào hình thức sử dụng thuốc, tuổi và loài động vật (Halling-Sørensen et al., 1998). Điều này có thể dẫn đến sự lan tràn của hiện tượng kháng kháng sinh đồng thời dư lượng kháng sinh tồn dư trong cơ thể sản phẩm NTTS cũng có thể có tác hại đối với sức khỏe người tiêu dùng. Nhiều sản phẩm NTTS xuất khẩu của nước ta phát hiện được dư lượng lớn các kháng sinh

Enrofloxacin, Ciprofloxacin, Oxytetracyclin (Trưởng et al., 2015, HU, 2016). Trong khi đó, Enrofloxacin và Oxytetracyclin là những thuốc kháng sinh được sử dụng rộng rãi trong thú y và NTTS, Ciprofloxacin là thuốc kháng sinh sử dụng phổ biến ở người mặc dù bị cấm trong thú y và NTTS (BNNPTNT, 2016).

Enrofloxacin có nồng độ lên đến 0,300 mg/l (các sông ở Úc), nồng độ Ciprofloxacin vào khoảng 0,370 - 9,660 mg/l (sông Arc ở Pháp, sông Po, Olona và Lambro ở Ý) và Oxytetracyclin là 0,007 - 0,680 mg/l (các sông ở Úc, sông Arc ở Pháp; Po, Olona và Lambro của Ý; lưu vực sông Cache La Poudre và sông Choptank ở Mỹ) (Fatta-Kassinos et al., 2011). Hàm lượng kháng sinh Enrofloxacin và Ciprofloxacin lần lượt vào khoảng 0,002 - 0,073mg/l và 0,034 - 0,823 mg/l trong đó cao nhất ở hồ Trúc Bạch và hồ Ngọc Khánh,

<sup>1</sup> Trung tâm Phân tích và Chuyển giao công nghệ môi trường, Viện Môi trường nông nghiệp

<sup>2</sup> Bộ môn Công nghệ Môi trường, Khoa Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

thấp hơn ở Hồ Tây và hồ Yên Sở (Yên, 2018) có thể là do ảnh hưởng bởi nước thải sinh hoạt. Trong khi đó, nồng độ kháng sinh Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin gây ảnh hưởng đến 50% sinh vật

thí nghiệm (EC50) của các loài động vật không xương sống (ĐVKXS) lần lượt vào khoảng 80, 71 và 126 mg/l sau 48 giờ phơi nhiễm và còn thấp hơn nhiều ở các loài sinh vật khác.

**Bảng 1.** Giá trị EC50 của các kháng sinh đối với một số loại sinh vật

Kháng sinh	Đối tượng	Loài	Thời gian	Giá trị (mg/l)	Nguồn
Enrofloxacin	ĐVKXS	<i>M.macrocopa</i>	48 giờ	69	(Andrieu et al., 2015)
	Ốc	<i>P.canaliculata</i>	48 giờ	14,64	(Carraschi et al., 2011)
	ĐVKXS	<i>D.manga</i>	48 giờ	84,39	
Ciprofloxacin	ĐVKXS	<i>M.macrocopa</i>	48 giờ	71	(Andrieu et al., 2015)
	Cá	<i>G.holbrooki</i>	96 giờ	>60	(Martins et al., 2012)
Oxytetracyclin	Tảo	<i>P.subcapitata</i>	72 giờ	4,18	(Ji et al., 2012)
	Bèo tấm	<i>Lemna minor</i>	7 ngày	4,92	(Machado et al., 2016)
	ĐVKXS	<i>D.manga</i>	48 giờ	621,2	
		<i>M.macrocopa</i>	48 giờ	126,6	
Cá	<i>O.niloticus</i>	48 giờ	83,46		

Động vật lưỡng cư có vai trò quan trọng đối với hệ sinh thái (HST), nhiều loài ếch nhái là sinh vật chỉ thị cho môi trường. Các hóa chất, dược phẩm tồn tại trong môi trường ít nhiều sẽ gây ra những biến đổi đến quần thể động vật lưỡng cư từ đó gây ảnh hưởng đến HST, cả HST nước và HST đồng ruộng hoặc HST rừng. Ấu trùng lưỡng cư được sử dụng trong các thử nghiệm độc tính do chúng có số lượng lớn, dễ dàng thu được ở các thủy vực tự nhiên hoặc nuôi trong điều kiện nhân tạo; kích thước vừa phải để quan sát (OECD, 2009). Thời kì ấu trùng cho đến khi biến thái chúng sống hoàn toàn trong nước và có lớp da mỏng nên dễ dàng hấp thu các chất ô nhiễm (Blaustein et al., 1994). Do vậy, nghiên cứu này thử nghiệm trên ấu trùng loài *Hynarana guentheri* (hay *Rana guentheri*) với mục đích góp phần bổ sung thông tin cho nguồn dữ liệu độc tính của các kháng sinh Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin, phục vụ công tác đánh giá rủi ro của kháng sinh trong môi trường đối với HST thủy sinh.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Sinh vật thử nghiệm: Các ỏ trứng nòng nọc (*Hylarana guentheri*) đã thụ tinh được thu thập từ các bể nước mưa, chum vại sạch ngay sau khi cá thể bố mẹ rời đi. Mỗi ỏ trứng được đưa vào từng hộp và ấp trong nước sạch (nước ngầm được xử lý cơ học, không khử trùng bằng clo, sục khí trong 24 giờ) ở nhiệt độ 23°C - 26°C tại phòng thí nghiệm. Hộp nào có tỉ lệ trứng nở cao (>90%) sẽ được nuôi dưỡng để sử dụng cho thí nghiệm. Nòng nọc ở giai

đoạn 50 (khoảng 15 ngày sau thụ tinh), kích thước khoảng 18 - 20 mm thì được sử dụng cho thí nghiệm (Nieuwkoop, 1956). Chọn những con khỏe, kích thước đồng đều, không dị hình, không có dấu hiệu bệnh để làm thí nghiệm.

- Hóa chất thử nghiệm: Các kháng sinh hoạt chất kháng sinh Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin sử dụng thông qua sản phẩm thương mại lần lượt là Enrotril-APP (nồng độ 50.000 mg/l), CIPOLON (nồng độ 3.000 mg/l) và Hanoxyline LA (nồng độ 200.000 mg/l).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Bố trí và theo dõi thí nghiệm

Dãy thí nghiệm từ nước lầy nhiễm nhân tạo kháng sinh chứa lần lượt các hoạt chất Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin với dải nồng độ được chọn căn cứ giá trị EC50 của các kháng sinh trên một số loài sinh vật (bảng 1) như sau:

Enrofloxacin: 0; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50; 75 mg/l.

Ciprofloxacin: 0; 1; 5; 10; 20; 25; 35; 50 mg/l.

Oxytetracyclin: 0; 5; 10; 50; 75; 100; 150; 300 mg/l.

Thể tích thí nghiệm: 1000 ml/bình; với quy định 1 cá thể/100 ml mẫu (OECD, 2009), số lượng sinh vật thí nghiệm là 10 cá thể/bình. Thí nghiệm trên 03 kháng sinh và 08 nồng độ được tiến hành đồng thời, toàn bộ thí nghiệm được lặp lại 03 lần ở các thời điểm khác nhau. Thí nghiệm được tiến hành với điều kiện ánh sáng tự nhiên thoáng khí, nhiệt độ 20°C - 23°C. Quan sát phản ứng của các cá thể thí nghiệm sau những khoảng thời gian nhất định:

30 phút; 1 giờ; 3 giờ; 6 giờ; 9 giờ; 12 giờ; 24 giờ; 36 giờ; 48 giờ; 72 giờ; 96 giờ thí nghiệm. Biểu hiện của nòng nọc thí nghiệm có thể bao gồm các dạng:

Biểu hiện bình thường: Bơi linh hoạt trong nước, đuôi vẫy nhịp nhàng; đáp ứng tốt với các kích thích, có hoạt động bề mặt (OECD, 2009).

Biểu hiện bất thường: Nằm nghiêng dưới đáy bình; nổi trên mặt nước; bơi mất thăng bằng; thiếu hoạt động bề mặt; không đáp ứng với các kích thích và chết. Ngoài ra các biểu hiện bất thường khác cũng được ghi lại để theo dõi: Cong vẹo trục đuôi; tổn thương xuất huyết; phù nề bụng và các dạng biểu hiện khác (OECD, 2009)

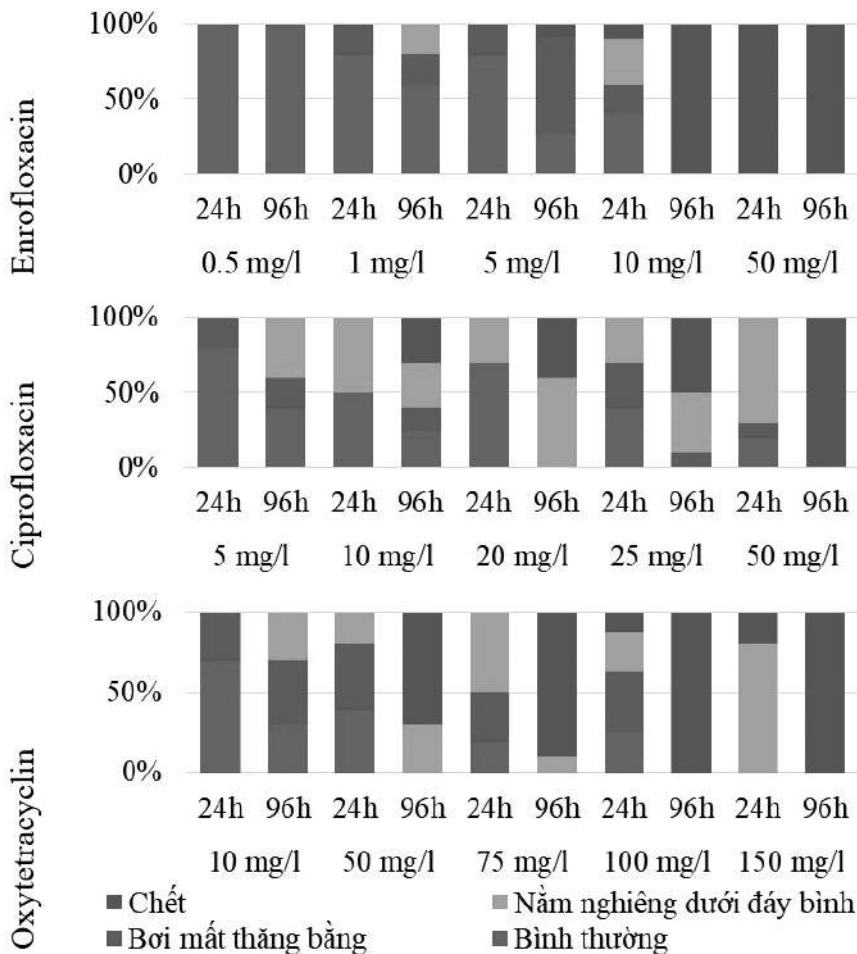
**2.2.2. Đánh giá kết quả**

Toàn bộ kết quả về biểu hiện của sinh vật thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng tỉ lệ phần trăm của biểu hiện trên tổng số cá thể thử nghiệm. Bằng cách sử dụng phương pháp hồi quy tuyến tính giữa logarit (nồng độ) và phần trăm ảnh hưởng quy đổi theo đơn vị xác suất – phương pháp Finney (1952) (Rand, 2020) để đánh giá độc tính thông qua nồng độ gây ảnh hưởng (EC) và nồng độ gây chết (LC).

**III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Ảnh hưởng của các kháng sinh đến biểu hiện cấp tính của sinh vật thử nghiệm**

Thí nghiệm thử nghiệm độc cấp tính các kháng sinh Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin đối với nòng nọc ở các dải nồng độ khác nhau cho thấy, nòng nọc đều có những biểu hiện bất thường như bơi mất thăng bằng (nòng nọc bơi chao đảo rồi tự thả trôi, cắm đầu xuống đáy bình); nằm nghiêng dưới đáy bình (nằm hẳn một bên thân dưới đáy bình, nòng nọc có biểu hiện bình thường khi bắm vào bình thân và thân nòng nọc sẽ vuông góc 90° so với mặt phẳng), nổi trên mặt nước và chết. Bơi mất thăng bằng và nằm nghiêng dưới đáy bình là hai biểu hiện phổ biến nhất, bắt gặp ở cả ba loại kháng sinh trong thời gian thử nghiệm. Các biểu hiện thường gặp của đối tượng thử nghiệm hoàn toàn tương tự các biểu hiện được hướng dẫn quan sát trong thử nghiệm cấp tính trên ấu trùng lưỡng cư đối với chất độc nói chung (OECD, 2009) hoặc kết quả đánh giá ảnh hưởng của hóa chất bảo vệ thực vật (Hayes *et al.*, 2006) trên đối tượng này.

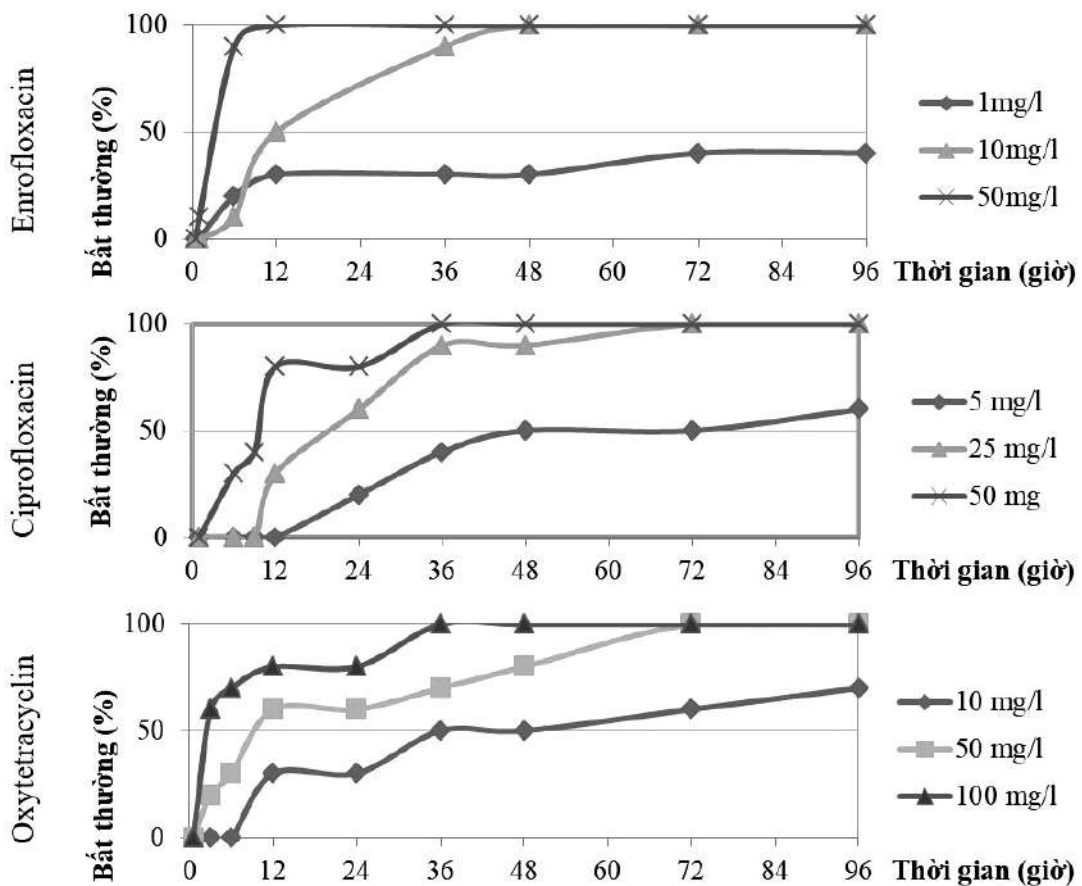


Hình 1. Tỷ lệ nòng nọc có biểu hiện bất thường sau 96 giờ theo dõi

Xét trên cùng một khoảng thời gian phơi nhiễm, tỉ lệ nòng nọc có biểu hiện bất thường tăng khi nồng độ kháng sinh tăng (Hình 1). Biểu hiện bất thường xuất ngay ở nồng độ 1 mg/l; 5 mg/l và 10 mg/l và bắt đầu xuất hiện cá thể bị chết ở nồng độ 5 mg/l; 10 mg/l và 50 mg/l sau 96 giờ tiếp xúc với lần lượt Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin.

Trong khi đó, kết quả quan sát theo thời gian cho thấy có mối quan hệ tuyến tính giữa tỉ lệ nòng nọc có biểu hiện bất thường với thời gian tiếp xúc ở cùng một giá trị nhất định của nồng độ. Đối với Enrofloxacin, ở những nồng độ cao, nòng nọc có biểu hiện bất thường xuất hiện rất sớm chỉ sau 1h

thử nghiệm, với những nồng độ thấp hơn thì biểu hiện bất thường quan sát thấy sau 6h thử nghiệm. Với Ciprofloxacin, biểu hiện bất thường của nòng nọc quan sát thấy sau 6h thử nghiệm ở nồng độ cao nhất, còn những nồng độ thấp hơn thì nòng nọc biểu hiện bất thường xuất hiện sau khoảng từ 12 - 24 h. Với Oxytetracyclin, biểu hiện bất thường của nòng nọc quan sát thấy sau 1h ở nồng độ cao nhưng phải đến tận 12h mới xuất hiện ở các nồng độ thấp. Nhìn chung, so với nhiều chất hóa học khác ví dụ phân bón hóa học, thuốc bảo vệ thực vật (Hayes *et al.*, 2006, Mann *et al.*, 2009), kháng sinh tác dụng trên lưỡng cư chậm hơn đáng kể.



Hình 2. Biểu hiện bất thường của nòng nọc theo thời gian tiếp xúc với kháng sinh

Sự thay đổi biểu hiện bất thường của nòng nọc khi tiếp xúc với Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin phụ thuộc vào nồng độ và thời gian phơi nhiễm, điều này sẽ gây ảnh hưởng bất lợi cho chúng trong tự nhiên. Do đó, chúng có thể bị giảm khả năng bắt mồi, tự vệ và di chuyển đồng nghĩa với việc tăng khả năng bị các loài lớn hơn ăn thịt. Điều này sẽ là một vấn đề đối với HST khi nòng nọc là một mắt xích nằm ở giữa của nhiều chuỗi thức ăn (Blaustein *et al.*, 1994).

### 3.2. Ảnh hưởng cấp tính của nồng độ kháng sinh đối với nòng nọc

#### 3.2.1. Ảnh hưởng đến biểu hiện của nòng nọc

Bằng phương pháp probit (Rand, 2020), nghiên cứu này đã thiết lập các phương trình hồi quy tuyến tính giữa logarit của nồng độ hoạt chất với probit của tỉ lệ phần trăm số sinh vật bị ảnh hưởng để xác định được các giá trị EC. Theo đó, EC50 của Enrofloxacin vào khoảng 1,1 - 4,7 mg/l; EC50 của Ciprofloxacin là

4,1 - 22,3 mg/l và cao hơn là EC50 của Oxytetracyclin là 6,1 - 24,6 mg/l. Nồng độ gây ảnh hưởng đến sinh vật thí nghiệm cao nhất sau 24 giờ và thường giảm chậm từ 48 - 96 giờ (Bảng 2).

So với những kết quả nghiên cứu khác, giá trị EC50 của kháng sinh Enrofloxacin đối với nòng nọc thấp hơn so với các loại ĐVKXS và cá (Andrieu et al., 2015, Carraschi et al., 2011); giá trị EC50 của Ciprofloxacin thấp hơn các loại ĐVKXS và cá (Andrieu et al., 2015, Martins et al., 2012); giá trị

EC50 của Oxytetracyclin đối với nòng nọc thấp hơn so với các loại ĐVKXS và cao hơn các loại bèo tấm hay tảo (Ji et al., 2012, Machado et al., 2016). Nhìn chung, trong số các loài thủy sinh vật được chỉ ra trong các thử nghiệm ở trên thì nòng nọc kém nhạy cảm hơn các loài thực vật thủy sinh như tảo hay bèo tấm nhưng lại nhạy cảm hơn các loại động vật thủy sinh như ĐVKXS và cá. Điều này có khả năng là do lớp da mỏng dễ thẩm thấu của chúng khiến chúng nhạy cảm hơn khi tiếp xúc với các chất độc.

**Bảng 2.** Nồng độ gây ảnh hưởng của các kháng sinh đối với nòng nọc

Hoạt chất	Thời gian (giờ)	Phương trình	R <sup>2</sup>	Nồng độ ảnh hưởng (mg/l)			
				EC1	EC10	EC50	EC90
Enrofloxacin	24	$y=2,447x + 3,344$	0,860	0,52	1,42	4,74	15,84
	48	$y=2,067x + 4,619$	0,779	0,12	0,36	1,53	6,36
	72	$y = 1,983x + 4,712$	0,797	0,09	0,31	1,39	6,17
	96	$y=1,904x + 4,901$	0,783	0,06	0,24	1,13	5,30
Ciprofloxacin	24	$y= 1,168x + 3,425$	0,623	0,22	1,78	22,30	278,16
	48	$y = 2,506x + 2,923$	0,718	0,79	2,07	6,74	21,85
	72	$y = 3,608x + 2,576$	0,850	1,06	2,08	4,70	10,63
	96	$y = 3,396x + 2,888$	0,836	0,86	1,75	4,18	9,97
Oxytetracyclin	24	$y = 2,636x + 1,332$	0,782	3,22	8,05	24,63	75,33
	48	$y = 2,691x + 2,117$	0,874	1,60	3,94	11,78	35,23
	72	$y = 2,615x + 2,604$	0,846	1,06	2,67	8,24	25,45
	96	$y = 2,356x + 3,146$	0,847	0,62	2,72	6,12	21,39

Ghi chú: *x* - Lôgarit của nồng độ thử nghiệm; *y* - Giá trị probit của tỷ lệ phần trăm sinh vật có biểu hiện bị tác động.

Giá trị nồng độ an toàn tham chiếu thấp hơn EC1 (nồng độ ảnh hưởng tới 1% sinh vật thí nghiệm) ở 96 giờ của Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin lần lượt là 0,06; 0,86 và 0,62 mg/l, mặc dù cao hơn một số hồ Hà Nội (Yên, 2018) nhưng thấp hơn một số sông hồ nhiễm kháng sinh trên thế giới (Fatta-Kassinos et al., 2011), do đó chưa thể khẳng định sự an toàn của kháng sinh dư thừa trong nước đến quần thể ấu trùng lưỡng cư trong tự nhiên.

**3.2.2. Ảnh hưởng đến tỷ lệ tử vong của nòng nọc**

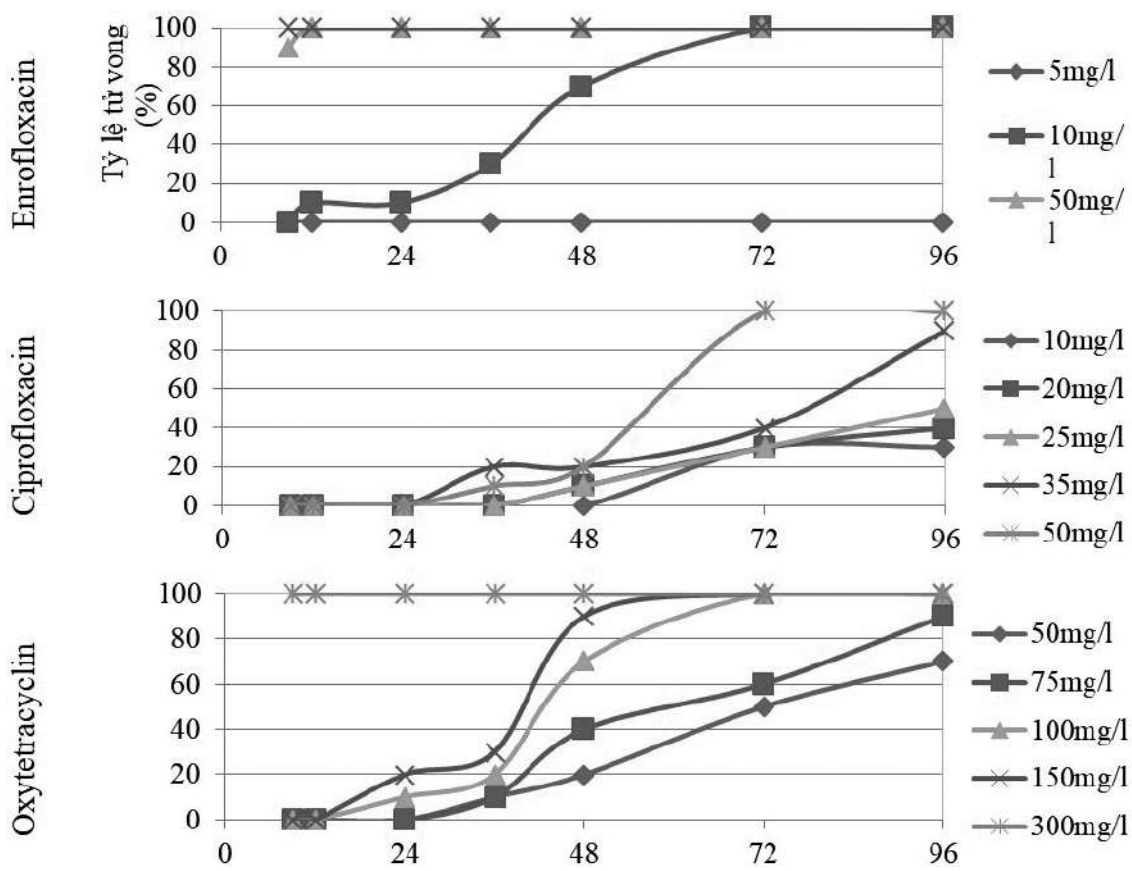
Kết quả theo dõi tỷ lệ tử vong của nòng nọc cho thấy tỷ lệ tử vong phụ thuộc nồng độ kháng sinh và thời gian phơi nhiễm. Thời điểm sớm nhất phát hiện có cá thể thí nghiệm tử vong là 9 giờ, sau đó tỷ lệ tử vong tăng dần theo thời gian và theo nồng độ kháng sinh. Nòng nọc tử vong toàn bộ tại nồng độ

thấp nhất là 10; 50 và 100 mg/l sau 72h và ở nồng độ cao nhất là 75; 50 và 300 mg/l sau 9; 72 và 9h đối với đối với lần lượt Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin (Hình 3). Ở các cá thể chết trong thử nghiệm với cả 03 kháng sinh, biểu hiện thường gặp đều là cong vẹo trục đuôi (ở nồng độ thấp) và mất sắc tố toàn thân, hoại tử nhanh (ở nồng độ cao). Các biểu hiện này tương đồng với kết quả thử nghiệm của nhiều tác giả khác khi cho nòng nọc tiếp xúc với chất độc hữu cơ (Hayes et al., 2006, Mann et al., 2009).

Bằng phương pháp đã dẫn, thử nghiệm không xác định được các nồng độ gây chết của Enrofloxacin (có thể là một giá trị nằm trong khoảng 10 - 50 tại 24 giờ và khoảng 5-10 mg/l tại 48 và 96 giờ), trong khi LC50 (48 giờ) của Ciprofloxacin và Oxytetracyclin lần lượt là 195,12 và 78,81 mg/l; LC50 (96 giờ) của

chúng là 17,49 và 24,60 mg/l. Như vậy, nếu liều lượng sử dụng các kháng sinh là như nhau trên một đơn vị thể tích nước mặt hoặc tải lượng thải của kháng sinh là như nhau trên cùng một đối tượng thủy vực tiếp

nhận, độ độc cấp tính của Enrofloxacin có thể thấp hơn của Oxytetracyclin và Ciprofloxacin, độ độc của Oxytetracyclin thấp hơn Ciprofloxacin đối với ấu trùng lưỡng cư.



Hình 3. Tỷ lệ tử vong của nòng nọc khi tiếp xúc với các chất kháng sinh

Bảng 3. Nồng độ gây chết của các kháng sinh đối với nòng nọc

Hoạt chất	Thời gian (giờ)	Phương trình	R <sup>2</sup>	Nồng độ gây chết (mg/l)		
				LC10	LC50	LC90
Ciprofloxacin	48	Y = 1,319X + 1,979	0,815	20,88	195,12	1823,05
	96	Y = 4,951X - 1,154	0,766	9,64	17,49	31,73
Oxytetracyclin	24	Y = 9,578X - 15,92	0,922	112,33	152,79	207,87
	48	Y = 5,108X - 4,688	0,99	44,26	78,81	140,34
	96	Y = 3,381X + 0,297	0,67	10,28	24,6	58,81

Có cùng xu thế với sự khác biệt về nồng độ gây ảnh hưởng (EC50), kết quả cho thấy nòng nọc nhạy cảm hơn cá *Pmesopotamicus* và *H. Eques* đối với Enrofloxacin (với LC50 48 giờ là 100-116,7 mg/l) (Carraschi et al., 2011), nhạy cảm hơn giáp xác nước mặn *Artemia parthenogenetica* với Oxytetracyclin (với LC50 tại 24-48 giờ là 806-871 mg/l) hoặc cá *Oryzias latipes* (với LC40 tại 24-48 giờ là 215,4 và 110,1 mg/l) (Ji et al., 2012, Ferreira et al., 2007).

IV. KẾT LUẬN

Khi tiếp xúc với kháng sinh, nòng nọc có biểu hiện bất thường như bơi mất thăng bằng, nằm nghiêng dưới đáy bình, nổi trên mặt nước và chết. Với kháng sinh Enrofloxacin nòng nọc còn có biểu hiện cong vẹo trực đuôi ở nồng độ cao. Nồng độ gây ảnh hưởng 50% nòng nọc thử nghiệm sau 96 giờ của Enrofloxacin, Ciprofloxacin và Oxytetracyclin lần lượt là 1,13 và 4,18 và 6,12 mg/l. Nồng độ gây

chết 50% sinh vật thử nghiệm sau 48 giờ của các kháng sinh lần lượt là 195,12 và 78,81 mg/l đối với Ciprofloxacin và Oxytetracyclin. Nồng độ nhạy cảm hơn với Enrofloxacin hơn hai kháng sinh còn lại và nhạy cảm hơn hầu hết các loại động vật không xương sống và cá đối với cả ba kháng sinh.

Dải nồng độ thí nghiệm của Enrofloxacin quá rộng và không đủ chi tiết để xác định LC50 trên ấu trùng của *Hylarana guentheri*. Ngoài ra, các ảnh hưởng mãn tính, ảnh hưởng lâm sàng và trao đổi chất... không được xem xét trong nghiên cứu này. Do vậy, cần có nghiên cứu chi tiết hơn để chứng thực tác động của các kháng sinh trên loài thử nghiệm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- HU - Khoa Cơ khí, Đại học Nông lâm, Đại học Huế., 2016. Xác định dư lượng các kháng sinh oxytetracycline, tetracycline và chlortetracycline trong tôm thẻ chân trắng nuôi tại xã Điện Môn, huyện Phong Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). *Hue University Journal of Science (HU JOS)*, 121.
- Andrieu M., Rico A., Phu TM., Phuong NT., Van Den Brink PJ., 2015. Ecological risk assessment of the antibiotic enrofloxacin applied to *Pangasius* catfish farms in the Mekong Delta, Vietnam. *Chemosphere*, 119, 407-414.
- Blaustein AR., Wake DB., Sousa WP., 1994. Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation biology*, 8, 60-71.
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2016. Danh mục thuốc thú y được phép lưu hành, cấm sử dụng ở Việt Nam, công bố mã HS đối với thuốc thú y nhập khẩu được phép lưu hành tại Việt Nam. *Thông tư số 10/2016/TT-BNNPTNT ngày 7/16/2016*.
- Carraschi SP., Shiogiri NS., Venturini FP., Da Cruz C., Girio A., Machado Neto JG., 2011. Acute Toxicity and Environmental Risk of Oxytetracycline and Florfenicol Antibiotics to Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Boletim do Instituto de Pesca Sao Paulo*, 37, 115-122.
- Fatta-Kassinos D., Meric S., Nikolaou A., 2011. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 399, 251-275.
- Ferreira CSG., Nunes BA., De Melo Henriques-Almeida JM., Guilhermino L., 2007. Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67, 452-458.
- Halling-Sørensen B., Nielsen SN., Lanzky P., Ingerslew F., Lützhøft HH., Jørgensen S., 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review. *Chemosphere*, 36, 357-393.
- Hayes TB., Case P., Chui S., Chung D., Haffele C., Haston K., Lee M., Mai VP., Marjuoa Y., Parker J., 2006. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? *Environmental health perspectives*, 114, 40-50.
- Ji K., Kim S., Ham S., Seo J., Lee S., Park Y., Choi K., Kho YL., Kim PG., Park J., 2012. Risk assessment of chlortetracycline, oxytetracycline, sulfamethazine, sulfathiazole, and erythromycin in aquatic environment: are the current environmental concentrations safe? *Ecotoxicology*, 21, 2031-2050.
- Machado A., Americo-Pinheiro J., Carraschi S., Cruz C., Machado Neto J., 2016. Acute toxicity and environmental risk of oxytetracycline antibiotic for tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Daphnia magna*, and *Lemna minor*. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria E Zootecnia*, 68, 1244-1250.
- Mann RM., Hyne RV., Choung CB. & Wilson SP., 2009. Amphibians and agricultural chemicals: review of the risks in a complex environment. *Environmental pollution*, 157, 2903-2927.
- Martins N., Pereira R., Abrantes N., Pereira J., Goncalves F., Marques C., 2012. Ecotoxicological effects of ciprofloxacin on freshwater species: data integration and derivation of toxicity thresholds for risk assessment. *Ecotoxicology*, 21, 1167-1176.
- Nieuwkoop PD., 1956. Normal table of *Xenopus laevis*. *Daudin*, 162-203.
- OECD, 2009. The Amphibian Metamorphosis Assay. *OECD guideline for the Testing of Chemicals*, No. 231, 33.
- Rand GM (ed), 2020. *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment*, CRC press.
- Trương HN., Thanh TTN., Dũng NT, 2015. Tình hình nhiễm và tỉ lệ kháng thuốc của *Vibrio* spp. phân lập từ thủy sản và nước nuôi tại Tiền Giang. *Tạp chí Khoa học*, 157.
- Yên PTT, 2018. *Nghiên cứu đánh giá dư lượng một số chất kháng sinh trong nước và động vật thủy sinh trong một số hồ Hà Nội*. Luận văn tốt nghiệp trường Đại học Bách Khoa Hà Nội.

## Acute toxicity testing of antibiotics to amphibian larvae

Do Phuong Chi, Dinh Tien Dzung, Vu Pham Thai,  
Ha Ngoc Ha, Nguyen Thi Thu Ha

### Abstract

The effects of three antibiotics (Enrofloxacin, Ciprofloxacin and Oxytetracycline) on *Hylarana guentheri* larvae (tadpoles) were assessed through laboratory acute toxicity tests. Tadpoles were exposed to different test concentrations using standard laboratory static assays over a 96-hour period. The effect was assessed by comparing the incidence of abnormalities and mortality of tadpoles in the control group with the antibiotic exposure group. The most common abnormalities observed in all three antibiotics were loss of balance, lying on the bottom of the bottle, and death. Incidence of abnormalities and death was significantly affected by the concentration and duration of exposure. EC50 (96 hours) of Enrofloxacin, Ciprofloxacin and Oxytetracyclin were 1.13 and, 4.18 and 6.12 mg/l, respectively. LC50 (48 hours) of Ciprofloxacin and Oxytetracyclin were 195.12 and 78.81 mg/l, respectively. Tadpoles were more sensitive to Enrofloxacin than the other antibiotics and more sensitive than most of invertebrates and fish to all studied antibiotics.

**Keywords:** Acute toxicity testing, amphibian larvae, Ciprofloxacin, Enrofloxacin, Oxytetracycline

Ngày nhận bài: 01/6/2020  
Ngày phản biện: 20/7/2020

Người phản biện: PGS. TS. Nguyễn Văn Công  
Ngày duyệt đăng: 24/9/2020