

HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA DỊCH CHIẾT TỪ CÂY CHÓ ĐÈ THÂN XANH (*Phyllanthus amarus*) ĐỐI VỚI VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus* VÀ *Vibrio* sp. GÂY BỆNH HOẠI TỬ GAN TỤY CẤP TRÊN TÔM CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)

Antibacterial activity of *Phyllanthus amarus* extracts towards acute hepatopancreatic necrosis disease in white leg shrimps (*Litopenaeus vannamei*) caused by *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio* sp.

Trần Vinh Phương^{1*}, Hoàng Thị Ngọc Hân¹, Đặng Thanh Long¹, Phạm Thị Hải Yến², Nguyễn Quang Linh^{1,3}

¹ Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế, Tinh lộ 10, Phú Thượng, Phú Vang, Thừa Thiên Huế, Việt Nam

² Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

³ Đại học Huế, 3 Lê Lợi, Huế, Việt Nam

Tác giả liên hệ Trần Vinh Phương (Thư điện tử: tvphuong@hueuni.edu.vn)
(Ngày nhận bài (received): 3–9–2019; Ngày chấp nhận đăng (accepted): 17–10–2019)

Tóm tắt. Bài báo trình bày khả năng kháng khuẩn của dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh (*Phyllanthus amarus*) đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* và *Vibrio* sp. gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi tại Thừa Thiên Huế. Kết quả cho thấy dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh nồng độ 250–1.000 mg/mL có đường kính vòng kháng khuẩn đối với *V. parahaemolyticus* là 16,6–21,4 mm và *Vibrio* sp. là 17,6–23,6 mm. Nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ tiêu diệt tối thiểu đối với *V. parahaemolyticus* và *Vibrio* sp. tương ứng là 125 và 500 mg/mL, và 62,5 và 250 mg/mL.

Từ khóa: khả năng kháng khuẩn, chiết xuất thảo dược, hoại tử gan tụy cấp

Abstract. This paper presents the antibacterial activity of *Phyllanthus amarus* extracts towards hepatopancreatic necrosis in white leg shrimps (*Litopenaeus vannamei*) caused by *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio* sp. in Thua Thien Hue, Vietnam. The results showed that the herbal extracts with a concentration of 250–1.000 mg/mL have an inhibitory diameter of 16.6–21.4 mm for *V. parahaemolyticus* and 17.6–23.6 mm for *Vibrio* sp. The minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration towards *V. parahaemolyticus* and *Vibrio* sp. are 125 and 500 mg/mL, and 62.5 and 250 mg/mL, respectively.

Keywords: Antibacterial activity, herbal extracts, hepatopancreatic necrosis

1 Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, nghề nuôi tôm đang đối mặt với nhiều khó khăn thách thức bao gồm cả dịch bệnh và sự ô nhiễm môi trường nước nuôi dẫn đến hiện tượng tôm chết hàng loạt trên diện rộng. Có nhiều nguyên nhân dẫn đến hiện tượng này, nhưng một trong những nguyên nhân ban đầu được xác

định là do bệnh hoại tử gan tụy cấp (Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease –AHPND) hay còn được gọi là hội chứng tôm chết sớm (Early Mortality Syndrome – EMS). Đây là bệnh do vi khuẩn gây ra. Bệnh này đã dẫn đến tỷ lệ tôm chết lên đến 100% trong quần thể cả tôm chân trắng (*L. vannamei*) và tôm sú (*Penaeus monodon*). Theo Loc Tran và cs., tác nhân chính được xác định là do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* [1]. Tương tự, Nguyễn Thị Thùy Giang và cs. đã xác định được 3 loài gồm *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* và *V. vulnificus* với tần suất bắt gặp cao nhất (>60%) ở các mẫu tôm bị bệnh hoại tử gan tụy. Trong đó, kết quả PCR đã xác định sự có mặt của chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được xem là tác nhân gây bệnh hoại tử gan tụy cấp [2].

Trên thế giới hiện nay đang có xu hướng nghiên cứu và sử dụng các hợp chất thiên nhiên nguồn gốc từ thực vật, có hoạt tính kháng khuẩn và đặc biệt là có độ an toàn cao để thay thế cho các loại kháng sinh thông dụng đang bị đề kháng. Trước tình hình lạm dụng kháng sinh trong hoạt động nuôi trồng thủy sản đã gây nên hiện tượng kháng thuốc của vi khuẩn gây bệnh, do đó việc nghiên cứu chiết xuất các hoạt chất sinh học từ thực vật đã trở thành một trong những cách tiếp cận mới thay thế cho việc sử dụng kháng sinh như hiện nay, không những hạn chế dịch bệnh cho vật nuôi, góp phần phát triển nuôi trồng thủy sản bền vững mà còn an toàn cho người tiêu dùng cũng như thân thiện với môi trường sinh thái. Dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh có khả năng kháng các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* KC12.020; *V. parahaemolyticus* KC13.14.2 và *V. harveyi* KC13.17.15 gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm ở tất cả các nồng độ từ 1.000 đến 3.000 $\mu\text{g}/\text{đĩa}$. Kết quả này cũng chỉ ra rằng chiết xuất từ cây chó đẻ thân xanh và lá sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) là 2 loại thảo dược có khả năng kháng khuẩn mạnh nhất trong 5 loại thảo dược được thử nghiệm [3]. Dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh không những có khả năng kháng bệnh vi khuẩn mà chúng còn được nghiên cứu trong phòng trị bệnh do vi rút gây ra trên động vật thủy sản. Hoạt chất có trong cây *P. amarus* còn có hoạt tính mạnh chống lại vi rút gây bệnh đốm trắng (White spot syndrome virus) trên cua nước ngọt (*Paratelphusa hydrodomous*). Tỷ lệ sống của cua đạt 100% [4].

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Nguồn nguyên liệu cây chó đẻ thân xanh

Cây chó đẻ thân xanh được thu gom ở vùng gò đồi tại Thừa Thiên Huế. Đây là những cây trưởng thành với chiều cao trung bình $25,50 \pm 4,52$ cm, tương ứng với khối lượng trung bình $3,21 \pm 1,33$ g/cây. Cây có màu sắc xanh tươi, không dập nát. Nguyên liệu được rửa bằng nước sạch và sấy khô ở 50°C để đạt độ ẩm dưới 10%. Nguyên liệu khô của cây chó đẻ thân xanh sau đó được xay mịn và cho qua rây có kích thước $d = 1$ mm. Bột nguyên liệu được tiến hành bảo quản trong túi polyethylene đặt trong hộp nhựa kín, lưu trữ ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng và độ ẩm để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2 Chủng vi khuẩn *Vibrio* spp.

Các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và *Vibrio* sp. được xác định là tác nhân gây bệnh AHPND trên tôm chân trắng. Chúng được phân lập, định danh và lưu giữ ở nhiệt độ -80°C tại Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế. Sau đó, mẫu vi khuẩn thử nghiệm được phục hồi nuôi cấy tăng sinh trở lại trong môi trường Tryptic Soy Broth (TSB) có bổ sung 2% NaCl trong tủ ẩm lác 2 tầng (GFL 3032, hãng GFL) ở

37 °C với tốc độ lắc 180 vòng/phút trong 24 giờ. Mật độ vi khuẩn có trong huyền dịch sau khi nuôi cấy được xác định theo phương pháp đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 600 nm trên máy quang phổ UV-VIS (U2900, Hitachi, Nhật Bản). Mật độ vi khuẩn sẽ được điều chỉnh về 10^6 CFU/mL để thử kháng sinh đồ dựa trên mật độ vi khuẩn nuôi cấy ban đầu (OD = 1, tương đương mật độ vi khuẩn khoảng 10^8 CFU/mL).

2.3 Vật liệu khác

Sử dụng môi trường pepton kiềm đặc để thử khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và *Vibrio* sp. Môi trường được hấp khử trùng ở 121 °C trong 15 phút (MC-40L, Nhật Bản) và dùng để nuôi cấy thu dịch vi khuẩn. Môi trường pepton kiềm đặc được hấp tiệt trùng và để nguội tới 40–50 °C, đổ vào đĩa Petri có đường kính 9 cm với độ dày $4,0 \pm 0,2$ mm để thử kháng sinh đồ. Hai loại kháng sinh được sử dụng là doxycyclin (30 µg) và ampicillin (10 µg).

2.4 Phương pháp chiết xuất

Bột cây chó đẻ thân xanh (100 g) được ngâm trong ethanol 70% với tỷ lệ nguyên liệu:dung môi là 1:5 trong 48 giờ có khuấy đều. Dịch chiết lần 1 được thu nhận thông qua hệ thống lọc chân không (Rocker 300-LF31) trên giấy Whatman số 4 (code: 1004042, kích thước lỗ giấy 20–25 µm). Phần bã nguyên liệu sau đó tiếp tục ngâm trong ethanol 40% (1:5) trong 48 giờ, lọc lấy dịch chiết lần 2. Dịch chiết thu được của hai lần trộn lẫn lại với nhau và được cô thành cao ở 60 °C trên hệ thống cô quay chân không Heidolph của Đức. Cao được bảo quản trong tối ở nhiệt độ <math><10\text{ }^\circ\text{C}</math> và sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.5 Xác định khả năng kháng khuẩn của cao chiết

Tác dụng diệt khuẩn của dịch chiết dạng cao được kiểm tra bằng phương pháp kháng sinh đồ khuếch tán trên đĩa thạch của Kirby-Bauer. Các thao tác được thực hiện trong tủ cấy vô trùng Labcaire VLF-R. Huyền dịch chứa tế bào vi khuẩn (100 µL, 10^6 CFU/mL) được sử dụng để dàn đều trên đĩa thạch chứa môi trường pepton kiềm đặc đã được hấp khử trùng. Các đĩa giấy vô trùng ($d = 0,6$ mm) được đặt lên trên bề mặt đĩa thạch (4 đĩa mẫu; 1 đĩa đối chứng âm (đệm hòa tan cao chiết (H₂O)) và 1 đĩa đối chứng dương (kháng sinh)). Lấy 50 µL dung dịch hòa tan cao chiết ở các nồng độ 1.000; 750; 500 và 250 mg/mL và 50 µL doxycyclin (30 µg); 50 µL ampicillin (10 µg) (600 µg doxycyclin và 200 µg ampicillin, mỗi loại kháng sinh được hòa tan trong 1 mL nước cất riêng biệt để thành dung dịch) tẩm lên các đĩa giấy thí nghiệm. Đĩa sau đó được giữ nguyên trong tủ lạnh ở 4 °C trong 8 giờ để cho dịch chiết khuếch tán ra xung quanh đĩa giấy. Sau đó các đĩa thạch được ủ trong tủ ấm ở 37 °C trong 24 giờ. Mỗi thí nghiệm lặp lại 5 lần. Đo đường kính vòng kháng khuẩn sau 24, 48, 72 và 96 giờ.

2.6 Xác định nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ tiêu diệt tối thiểu

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC – Minimum Inhibitory Concentration) được xác định theo phương pháp của Satyajit và cs. [5]. Cho 100 µL dung dịch vi khuẩn vào từng giếng của đĩa 96 giếng chứa sẵn 100 µL dung dịch cao chiết được pha loãng thành các nồng độ khác nhau theo cơ số 2 với dung dịch gốc ban đầu

là 1.000 mg/mL cho đến 1/256 (2⁻⁸). Giếng đối chứng chứa 100 µL nước cất vô trùng dùng hòa tan cao chiết. Đĩa thí nghiệm sau đó được ủ ở 37 °C trong 24 giờ, sau đó bổ sung 20 µL thuốc thử resazurin 0,1% vào mỗi giếng. Quan sát sự đổi màu, ghi nhận giá trị MIC là nồng độ của giếng không làm đổi màu của thuốc thử resazurin ở nồng độ thấp nhất của dịch chiết ức chế được mật độ vi khuẩn.

Nồng độ tiêu diệt tối thiểu (MBC – Minimum Bactericidal Concentration) được xác định bằng phương pháp trải đĩa. Hút hết dịch thử nghiệm trên các giếng không có sự đổi màu của resazurin 0,1% được trải lên các đĩa môi trường thạch pepton kiềm đặc và được ủ ở 37 °C, sau 24 giờ quan sát sự sống sót của vi khuẩn. Giá trị MBC là nồng độ thấp nhất trong dãy nồng độ của cao chiết có thể tiêu diệt toàn bộ vi khuẩn trong giếng. Không có khuẩn lạc nào xuất hiện trên đĩa môi trường thạch. Đĩa môi trường đối chứng có khuẩn lạc vi khuẩn xuất hiện [5].

2.7 Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0, phân tích phương sai ANOVA một yếu tố để so sánh sự khác nhau về đường kính vòng kháng khuẩn. Kiểm định thống kê được thực hiện ở mức ý nghĩa $p \leq 0,05$, bằng phép thử LSD.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Tác dụng kháng khuẩn của dịch chiết cây chó đẻ thân xanh

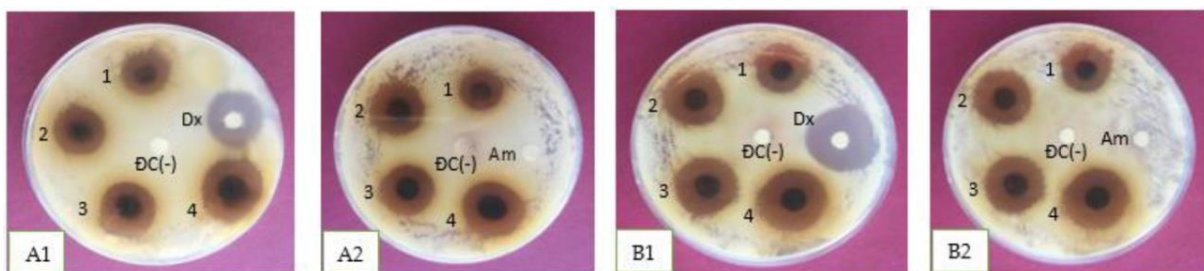
Kết quả thử nghiệm cho thấy dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh có khả năng kháng cả 2 chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và *Vibrio* sp. gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm chân trắng nuôi tại Thừa Thiên Huế. Đường kính vòng kháng khuẩn trung bình tăng dần theo nồng độ dịch chiết từ 250 đến 1.000 mg/mL, tương ứng với đường kính vòng kháng khuẩn từ 16,6 đến 21,4 mm đối với chủng *V. parahaemolyticus* và từ 17,6 đến 24,8 mm đối với chủng *Vibrio* sp. (Bảng 1).

Bảng 1. Đường kính vòng kháng khuẩn của dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh (mm)

Nồng độ dịch chiết	Mật độ tế bào vi khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn (X ± δ)	
		<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio</i> sp.
250 mg/mL		16,60 ^a ± 0,89	17,60 ^a ± 0,89
500 mg/mL		18,20 ^b ± 1,30	20,80 ^b ± 0,44
750 mg/mL		20,60 ^{cd} ± 0,89	23,20 ^c ± 0,44
1.000 mg/mL	10 ⁶ (CFU/mL)	21,40 ^d ± 0,55	23,60 ^{cd} ± 0,55
Dx (30 µg)		19,80 ^c ± 0,84	24,80 ^d ± 1,10
Am (10 µg)		0	0
ĐC (-)		0	0

Chú thích: các chữ cái a,b,c,d khác nhau trên cùng một cột thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); Dx là doxycyclin; Am là ampicilin; ĐC(-) là Đối chứng âm – nước cất vô trùng.

Dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh có khả năng kháng cả 2 chủng vi khuẩn được thử nghiệm và mức độ kháng phụ thuộc vào nồng độ của dịch chiết sử dụng, có nghĩa là nồng độ dịch chiết càng cao thì đường kính vòng kháng khuẩn càng lớn. Dịch chiết có khả năng kháng khuẩn thấp nhất ở nồng độ 250 mg/mL đối với *V. parahaemolyticus* và *Vibrio* sp. đạt lần lượt là 16,6 và 17,6 mm, thấp hơn có có nghĩa thống kê so với doxycylin (30 µg) đạt lần lượt tương ứng là 19,8 và 24,8 mm (Hình 1-A1 và 1-B1). Trong khi đó, ampicillin (10 µg) không có tác dụng kháng các chủng vi khuẩn thử nghiệm (Hình 1-A2 và 1-B2). Đường kính vòng kháng khuẩn của dịch chiết với 2 chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và *Vibrio* sp. ở nồng độ 750 và 1.000 mg/mL đạt lần lượt tương ứng là 20,6; 21,4 mm và 23,2; 23,6 mm và không khác biệt có nghĩa thống kê. Trong đó, chỉ đường kính vòng kháng khuẩn của dịch chiết trên chủng *V. parahaemolyticus* ở nồng độ 1.000 mg/mL (21,4 mm) là cao hơn so với kháng sinh doxycylin (30 µg) đạt 19,8 mm ($p < 0,05$). Điều này chứng tỏ khả năng kháng khuẩn của dịch chiết hoàn toàn có thể thay thế cho kháng sinh trong điều trị bệnh do *Vibrio* spp. gây bệnh AHPND trên tôm chân trắng. Ngoài cây chó đẻ thân xanh để phòng trị bệnh cho động vật thủy sản, thì rất nhiều loài thảo dược khác đã được nghiên cứu chiết xuất hoạt chất sinh học về khả năng kháng vi khuẩn *Vibrio* spp. cụ thể như: Đối với dịch chiết thô từ thân, lá thồm lồm (*Polygonum chinense* L.) với liều sử dụng 10 µg/mL (tương ứng với 200 µg/khoanh/20 mL) có đường kính vòng vô khuẩn đối vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh AHPND trên tôm nước lợ đạt 20,6 mm [6]. Trong khi đó, đối với dịch chiết hạt sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) ở nồng độ 30 µg/µL có đường kính vòng vô khuẩn trên các chủng *V. parahaemolyticus* KC13.14.2; *V. parahaemolyticus* KC12.02.0 và *Vibrio* sp. KC13.17.5 đạt lần lượt là 17,67; 18,00 và 19,33 mm [7]. Kết quả ghi nhận: Bảy loại cao chiết thảo dược có hoạt tính kháng khuẩn khác nhau, trong đó cao chiết từ cây thầu dầu (*Ricinus communis* L.) cho hiệu quả cao nhất với đường kính vòng kháng khuẩn trên 2 chủng *V. harveyi* gây bệnh phát sáng và *V. parahaemolyticus* gây bệnh AHPND trên tôm tương ứng là $18,0 \pm 1,4$ mm và $17,5 \pm 0,7$ mm, tuy nhiên ở thí nghiệm này tác giả không đề cập đến nồng độ pha loãng cao chiết (40 mg) trong bao nhiêu đơn vị thể tích dung dịch [8].



Hình 1. Tác dụng kháng khuẩn của dịch chiết cây chó đẻ thân xanh

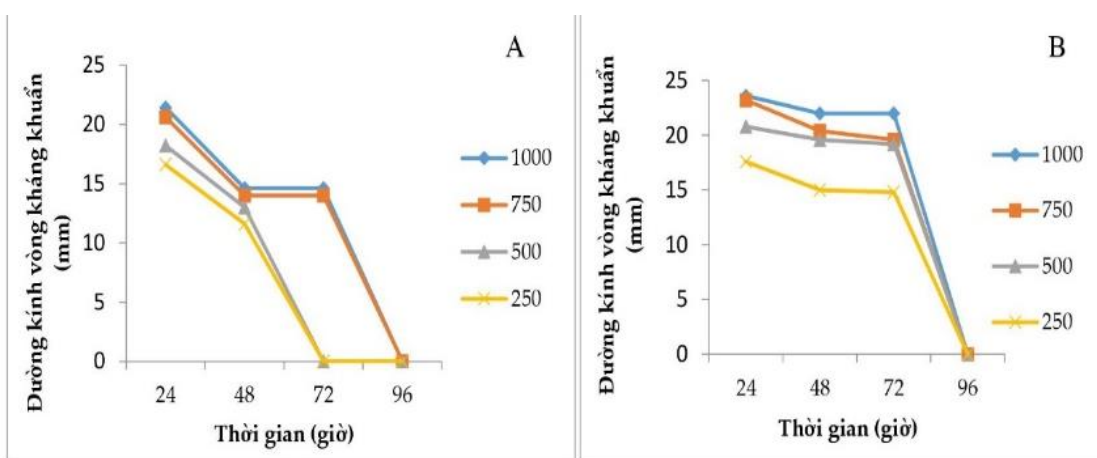
Chú thích: A1, A2: Vi khuẩn *V. parahaemolyticus*; B1, B2: Vi khuẩn *Vibrio* sp.; 1, 2, 3, 4: các nồng độ dịch chiết 250, 500, 750, 1.000 mg/mL; Dx: doxycylin; Am: ampicilin; ĐC(-): Đối chứng âm – nước cất vô trùng.

3.2 Khả năng kháng khuẩn của dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh theo thời gian

Khả năng kháng khuẩn của dịch chiết cây từ cây chó đẻ thân xanh giảm dần theo thời gian, thể hiện ở sự giảm dần của đường kính vòng kháng khuẩn cho đến một thời điểm dịch chiết hoàn toàn không còn khả năng kháng khuẩn (Hình 2). Kết quả cho thấy khả năng kháng các chủng vi khuẩn gây bệnh ở mật độ 10^6 CFU/mL của dịch chiết đều giảm dần theo thời gian. Cụ thể đối với chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở nồng độ 250 mg/mL và 500 mg/mL đã nhận thấy sự phát triển trở lại của vi khuẩn ở 72 giờ (Hình 2A). Trong khi đó, ở chủng vi khuẩn *Vibrio sp.*, đường kính vòng kháng khuẩn cũng giảm dần theo thời gian, nhưng vi khuẩn bắt đầu phát triển trở lại ở tất cả các nồng độ dịch chiết ở 96 giờ (Hình 2B). Lúc này, các nghiệm thức đều không còn khả năng kháng khuẩn đối với ở tất cả các chủng vi khuẩn thử nghiệm. Điều này có thể là do vi khuẩn đã dần thích nghi với môi trường thử nghiệm và cũng có thể là do hàm lượng và hoạt tính của các hoạt chất có trong dịch chiết đã giảm theo thời gian.

3.3 Xác định nồng độ ức chế và nồng độ tiêu diệt vi khuẩn của dịch chiết cây chó đẻ thân xanh

Nồng độ ức chế tối thiểu là nồng độ thấp nhất trong dãy nồng độ thử nghiệm của các dịch chiết có thể ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn (không làm đổi màu resazurin). Do đó, nồng độ ức chế tối thiểu càng thấp thì khả năng kháng khuẩn càng cao. Nồng độ tiêu diệt tối thiểu là nồng độ thấp nhất trong dãy nồng độ của dịch chiết có thể tiêu diệt toàn bộ vi khuẩn trong giếng, không có khuẩn lạc nào xuất hiện trên đĩa môi trường thạch.



Hình 2. Khả năng kháng khuẩn của dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh theo thời gian đối với từng loại vi khuẩn (A) *V. parahaemolyticus*; (B) *Vibrio sp.*

Bảng 2. Nồng độ ức chế tối thiểu và diệt khuẩn tối thiểu của dịch chiết

Vi khuẩn	<i>V. parahemolyticus</i>	<i>Vibrio sp.</i>
MIC (mg/mL)	125	62,5
MBC (mg/mL)	500	250
MBC/MIC	4	4

Nồng độ ức chế tối thiểu của dịch chiết đối với chủng vi khuẩn *V. parahemolyticus* đạt 125 mg/mL, trong khi đó giá trị MIC đối với chủng *Vibrio* sp. khá thấp đạt 62,5 mg/mL. Điều này cho thấy khả năng ức chế của dịch chiết đối với vi khuẩn *Vibrio* sp. là tốt hơn so với vi khuẩn *V. parahemolyticus* (Bảng 2). Kết quả ghi nhận giá trị MIC của cao chiết từ nghệ (*Curcuma longa* Linn.) được chiết xuất trong ethanol trên các chủng *V. harveyi*, *V. cholera*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* và *V. fluvialis* chỉ đạt lần lượt là 0,47; 0,47; 0,94; 0,47; 3;75 và 0,47 mg/đĩa [9].

Bên cạnh đó, các chủng vi khuẩn được thử nghiệm bị ức chế đều phát triển trở lại ở nồng độ dịch chiết từ 62,5 đến 125 mg/mL khi được đưa vào môi trường nuôi cấy, nhưng tất cả các chủng vi khuẩn đều bị tiêu diệt hoàn toàn ở nồng độ 250 và 500 mg/mL. Theo Canillac và Mourey (trích dẫn theo Hồng Mộng Huyền [8]), nếu tỷ lệ MBC/MIC ≤ 4 thì chiết xuất được xem là có khả năng diệt khuẩn. Nếu tỉ lệ này lớn hơn 4 thì chúng chỉ có tác dụng kìm hãm sự phát triển của vi khuẩn [10]. Như vậy, kết quả nghiên cứu này cho thấy dịch chiết từ cây chó đẻ thân xanh có khả năng ức chế và tiêu diệt các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và *Vibrio* sp. gây bệnh AHPND trên tôm chân trắng, được thể hiện tỷ lệ MBC/MIC đều bằng 4. Cao chiết của cây *P. amarus* đối với 2 chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và *V. harveyi* đều có MIC bằng 312 mg/mL và MBC bằng 625 mg/mL, tương ứng với tỷ lệ MBC/MIC = 2 [3]. Trong khi đó, chiết xuất từ cây thầu dầu (*Ricinus communis* L) có giá trị MIC đối với vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm rất thấp chỉ đạt 1,25 và 2,5 mg/mL, tương ứng với tỷ lệ MBC/MIC đều bằng 2 [8]. Giá trị MIC của tinh dầu *Eucalyptus globulus* trên một số chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. đạt từ 7,812 đến 125 mg/mL [11].

4 Kết luận

Cao chiết từ cây chó đẻ thân xanh có khả năng kháng cả 2 chủng vi khuẩn *V. parahemolyticus* và *Vibrio* sp. gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm chân trắng nuôi tại Thừa Thiên Huế ở các nồng độ từ 250 đến 1.000 mg/mL. Khả năng kháng khuẩn của dịch chiết giảm dần theo thời gian thử nghiệm từ cho đến 96 giờ, trong đó chủng vi khuẩn *V. parahemolyticus* đã phát triển trở lại ở 72 giờ ở nồng độ từ 250–500 mg/mL, đối với chủng vi khuẩn *Vibrio* sp. phát triển trở lại sau 96 giờ ở tất cả các nồng độ thử nghiệm. Nồng độ ức chế tối thiểu đối với chủng *V. parahemolyticus* là 125 mg/mL và chủng *Vibrio* sp. là 62,5 mg/mL; tỷ lệ MBC/MIC của cả 2 chủng đều bằng 4, chứng tỏ dịch chiết có khả năng ức chế và tiêu diệt vi khuẩn *V. parahemolyticus* và *Vibrio* sp. được thử nghiệm.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được Bộ Giáo dục và Đào tạo tài trợ thông qua đề tài thuộc Chương trình khoa học và công nghệ cấp Bộ mã số CT-2018-DHH-07.

Tài liệu tham khảo

1. Loc T, Linda N, Rita MR, Leone LM, Carlos RP, Kevin F, Donald VL. Determination of the infectious nature of the agent of cute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Dis Aquat Organ*. 2013 Jul 09; 105(1):45-55. <https://doi.org/10.3354/dao02621>.
2. Giang NTT, Toàn PV, Hùng PQ. Hội chứng hoại tử gan tụy ở tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi thương phẩm tại Ninh Thuận. *Tạp chí Khoa học – Công nghệ Thủy sản*. 2016 3 15;1:32-40.
3. Hai TN, Lua TD, Hanh TN, Hai HH, Ha TNL, Ha TTN. Screening antibacterial effects of Vietnamese plant extracts against pathogens caused acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimps. *Asian journal of pharmaceutical and Clinical Research*. 2018 May;11(5):77-83. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i5.23618>.
4. Sundaram D, Kesavan K, Kumaravel H, Mohammed RF, Tohru M, Toshiaki I, Raja S. Protective efficacy of active compounds from *Phyllanthus amarus* against white spot syndrome virus in freshwater crab (*Paratelphusa hydrodomous*). *Aquaculture Research*. 2014 Dec 01;47(7):2061-2067. <https://doi.org/10.1111/are.12660>.
5. Satyajit D. S, Lutfun N, Yashodharan K. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals, *Elsevier*. 2007 Aug;42(4):321-324. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2007.01.006>.
6. Hạnh TTM, Yến PT, Huyền PT, Lê HTM, Minh PTH, Lâm ĐT, et al. Tác dụng diệt khuẩn của thân lá Thồm lồm (*Polygonum chinense* L.) đối với vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp ở tôm nuôi nước lợ. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 2017 6;17(6):19-24.
7. Lụa ĐT, Hà LTN, Hải NT. Tác dụng diệt khuẩn của dịch chiết lá sim và hạt sim (*Rhodomyrtus tomentosa*) đối với vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm nước lợ. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 2015 10 12;13(7):1101-1108.
8. Huyền HM, Huy VT, Hoa TTT. Hoạt tính kháng khuẩn của một số cao chiết thảo dược kháng vi khuẩn gây bệnh trên tôm nuôi. *Tạp chí Khoa học trường Đại học Cần Thơ*. 2018 7 30;54(2):143-150. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2018.047>
9. Lawhavit OA, Sincharoenpokai P, Sunthornandh P. Effects of ethanol tumeric (*Curcuma longa* Linn.) extract against shrimp pathogenic *Vibrio* spp. and on growth performance and immune status of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Kasetsart Journal (Natural Science)*. 2011 Jan;45(1):70-77.
10. Canillac N, Mourey A. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and *coliform bacteria*. *Food Microbiology*. 2001 Jun;18(3):261-268. <https://doi.org/10.1006/fmic.2000.0397>
11. Joon WP, Mitchell W, Gang JH. Antimicrobial activity of essential oil of *Eucalyptus globulus* against fish pathogenic bacteria. *Lab Anim Res*. 2016 Jun 24;32(2):87-90. <https://doi.org/10.5625/lar.2016.32.2.87>