

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG DIỆT VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus* CỦA CÁC CHẾ PHẨM THIÊN NHIÊN VÀ HIỆU QUẢ CỦA CÁC CHẾ PHẨM TRONG PHÒNG BỆNH TRÊN TÔM CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*)

Lê Nguyễn Thiên Phúc^{1,*}, 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 này được tiến hành để đánh giá và so sánh khả năng diệt vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* của 4 chế phẩm vi sinh thương mại (VS01, VS02, VS03 và VS04), 3 chế phẩm thảo dược (trầu không, rau má, húng quế) và 3 loại kháng sinh (amoxicillin, tetracycline, doxycycline) dựa vào các chỉ tiêu đường kính vòng vô khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu, khả năng diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus* đang tăng sinh và hiệu quả phòng bệnh của các chế phẩm trên ấu trùng tôm chân trắng *Litopenaeus vannamei* được gây cảm nhiễm bằng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Kết quả đánh giá đã phân loại các chế phẩm và kháng sinh thành 4 nhóm: i) nhóm có hiệu quả diệt khuẩn rất cao bao gồm 3 chế phẩm thảo dược và kháng sinh doxycycline; ii) nhóm có hiệu quả cao bao gồm: 3 chế phẩm vi sinh (VS01, VS02, VS03) và tetracycline; iii) nhóm có hiệu quả trung bình: Amoxicillin; iv) nhóm không có hiệu quả diệt khuẩn: Chế phẩm VS04. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hầu hết các chế phẩm thiên nhiên đều có hiệu quả cải thiện đáng kể tỷ lệ sống của tôm sau khi gây cảm nhiễm, trong đó 3 chế phẩm thảo dược có tỷ lệ sống cao nhất. Nghiên cứu này cung cấp các thông tin về tác dụng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* của các loại chế phẩm thiên nhiên và ứng dụng các chế phẩm thiên trong phòng bệnh trên tôm chân trắng.

Từ khóa: *V. parahaemolyticus*, chế phẩm vi sinh, dịch chiết thảo dược, kháng sinh, *Litopenaeus vannamei*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kháng sinh và chất diệt khuẩn đang được sử dụng rộng rãi trong kiểm soát bệnh thủy sản nhưng đồng thời gây ra nhiều vấn đề nghiêm trọng cho môi trường và sức khỏe cộng đồng. Vi khuẩn sinh và chất diệt khuẩn đầy nhanh quá trình hình thành các chủng vi khuẩn đa kháng thuốc có khả năng lan truyền theo chuỗi thực phẩm và gây hại cho người tiêu dùng. Nhiều nghiên cứu đã công bố các kháng sinh thông dụng như nhóm β -lactam đều gây ra các chủng *Vibrio* sp. kháng mạnh, chỉ các kháng sinh thế hệ mới là duy trì được hiệu quả diệt khuẩn [1]. Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được xác định là nguyên nhân chính gây ra bệnh hoại tử gan tụy cấp (acute

hepatopancreatic necrosis disease - AHPND) trên tôm, gây thiệt hại lên đến trên 16 tỷ USD trong 15 năm gần nhất và 80% thiệt hại xảy ra ở các nước xuất khẩu tôm hàng đầu tại châu Á, trong đó có Việt Nam [2]. Do đó, việc sử dụng các chế phẩm có nguồn gốc thiên nhiên thay thế kháng sinh ngày càng được quan tâm. Chế phẩm thảo dược có nguồn gốc từ dịch chiết thực vật đã được chứng minh có hiệu quả trong tiêu diệt vi khuẩn thủy sinh gây hại [3]. Trong đó, trầu không (*Piper betle*) [4], rau má (*Centella asiatica*) [3] và húng quế (*Ocimum basilicum*) [5] là các thảo dược dễ dàng tìm kiếm và được báo cáo có hiệu quả tiêu diệt các chủng vi khuẩn *Vibrio* sp. đa kháng thuốc kháng sinh. Ngoài ra, chế phẩm vi sinh có nguồn gốc là các lợi khuẩn *Lactobacillus* sp. và *Bacillus*

sp. cũng được chứng minh có tác dụng tiêu diệt và đối kháng vi khuẩn gây bệnh, tăng cường miễn dịch và cân bằng hệ vi sinh đường ruột, có tiềm năng thay thế kháng sinh trong kiểm soát bệnh do *Vibrio* sp. gây ra trên tôm [6].

Ở Việt Nam, vấn đề đa kháng thuốc kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản và các giải pháp thay thế an toàn cũng được quan tâm nghiên cứu. Ứng dụng dịch chiết tỏi và bột tỏi trong kiểm soát AHPND đã được công bố [7]. Việc bổ sung trấu không, rau má và tỏi trong chế độ dinh dưỡng cũng cho thấy cải thiện khả năng chống chịu của tôm chân trắng *V. parahaemolyticus* [8]. Tuy nhiên, các nghiên cứu nhằm so sánh chế phẩm có nguồn gốc tự nhiên đang có mặt trên thị trường để thay thế cho kháng sinh nhằm kiểm soát *V. parahaemolyticus* vẫn chưa có nhiều. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* của các chế phẩm vi sinh thương mại và các chế phẩm thảo dược có nguồn gốc tại địa phương. Khả năng diệt khuẩn của các chế phẩm thiên nhiên được so sánh với các kháng sinh thông dụng trong điều trị bệnh do *V. parahaemolyticus* gây ra. Nghiên cứu cũng đánh giá hiệu quả của các chế phẩm trong kiểm soát

bệnh trên ấu trùng tôm chân trắng gây cảm nhiễm bằng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại Khu Thực nghiệm Công nghệ Sinh học, Khoa 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 thương mại dùng cho nghiên cứu là dạng tinh khiết sản xuất bởi Sigma-Aldrich (Dorset, Liên hiệp Anh và Bắc Ireland). Tất cả môi trường nuôi cấy và hoá chất (Sigma-Aldrich, Liên hiệp Anh và Bắc Ireland) được chuẩn bị với nước đã khử ion và được hấp khử trùng (121°C, 15 phút) hoặc lọc qua màng polypolyethersulphone cỡ 0,22 µm (Millipore, Liên hiệp Anh và Bắc Ireland).

2.2.2. Chế phẩm vi sinh thương mại

Bốn chế phẩm vi sinh thương mại thông dụng trên thị trường Việt Nam được sử dụng cho nghiên cứu này, để đảm bảo tính bảo mật và khách quan, các chế phẩm được đánh số từ VS01 - VS04, với thành phần và định lượng vi sinh được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Các chế phẩm vi sinh thương mại, thành phần và định lượng vi sinh (theo nhãn công bố của nhà sản xuất)

Chế phẩm vi sinh	Thành phần vi sinh	Định lượng vi sinh (CFU×mL ⁻¹)
VS01	<i>Lactobacillus plantarum</i>	6,00 × 10 ⁸
	<i>Bacillus subtilis</i>	6,00 × 10 ⁸
	<i>Bacillus licheniformis</i>	6,00 × 10 ⁸
	Các chủng nấm men	
VS02	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4,00 × 10 ⁸
	<i>Bacillus subtilis</i>	4,00 × 10 ⁸
	<i>Bacillus licheniformis</i>	6,00 × 10 ⁸
	Yeast	
VS03	<i>Bacillus subtilis</i>	9,00 × 10 ⁸
	<i>Bacillus megaterium</i>	4,00 × 10 ⁸
	<i>Bacillus amiloliquefaciens</i>	7,08 × 10 ⁸
	<i>Bacillus licheniformis</i>	7,08 × 10 ⁸
	<i>Bacillus pumilus</i>	1,30 × 10 ⁸
VS04	<i>Bacillus subtilis</i>	5,00 × 10 ⁸
	<i>Bacillus licheniformis</i>	5,00 × 10 ⁸

2.2.3. Chuẩn bị chế phẩm thảo dược

Ba chế phẩm thảo dược: i) trầu không (*P. betle*), ii) rau má (*C. asiatica*) và iii) húng quế (*O. basilicum*) được chuẩn bị bằng phương pháp chiết xuất [8]. Thảo dược tươi được rửa sạch và loại bỏ các cành thừa, sau đó được cắt nhỏ, sấy khô (50°C, 24 giờ), nghiền và sàng thu bột mịn. Với mỗi loại chế phẩm, 250 g bột mịn thảo dược được chiết xuất bằng cách ngâm 7 ngày trong bình Duran chứa 1 L dung môi ethanol 95%, theo sau là 3 lần lọc bằng giấy lọc Whatman 42 µm. Dung dịch sau lọc được tiếp tục loại bỏ ethanol ở 75°C bằng máy cô quay chân không Hei-VAP Precision (Heildolph, Đức). Chế phẩm được lưu giữ ở nhiệt độ 4°C cho đến khi sử dụng.

2.2.4. Vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Chủng *V. Parahaemolyticus* 2187 sử dụng cho nghiên cứu được cung cấp bởi Khoa Khoa học và Công nghệ, Đại học Suan Sunandha Rajabhat (Thái Lan). Đây là chủng gây bệnh AHPND (đã kiểm tra bằng phương pháp PCR) có nguồn gốc được phân lập từ các ao nuôi ở miền Bắc Việt Nam. Chủng thuần được nuôi định kỳ trên môi trường thạch tryptic soy agar (TSA) có bổ sung 1% NaCl.

Dịch vi khuẩn sử dụng cho các thí nghiệm được chuẩn bị theo phương pháp nuôi tăng sinh. Ba khuẩn lạc được chọn ngẫu nhiên, cấy và nuôi (30°C, 150 rpm) trong môi trường lỏng tryptic soy broth (TSB) có bổ sung 1% NaCl đến khi đạt giai đoạn hậu pha cấp số thông qua việc xác định bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) ở 600 nm và so sánh với đường chuẩn sinh trưởng. Dịch khuẩn được quay ly tâm (2.000 g, 10 phút, 4°C) để thu tế bào vi khuẩn và tiếp tục rửa sạch 2 lần bằng dung dịch đệm phosphate-buffered saline (PBS). Tế bào vi khuẩn sau đó được pha đến nồng độ CFU×mL⁻¹ cần sử dụng của các nghiệm thức thí nghiệm. Nồng độ vi khuẩn được định lượng bằng phương pháp đo mật độ quang cùng phương pháp pha loãng theo dãy nồng độ và đếm khuẩn lạc sau khi nuôi cấy trên môi trường thạch Mueller Hinton (MH) (30°C, 24 giờ) [9].

2.2.5. Tôm thí nghiệm

Tôm chân trắng (*L. vannamei*) giai đoạn hậu ấu trùng PL12 (khối lượng: 0,012 ± 0,004 g; chiều dài: 8,0 ± 0,05 mm) có chất lượng tốt, khỏe mạnh được sử dụng cho thí nghiệm cảm nhiễm.

2.3. Thiết kế và bố trí thí nghiệm

2.3.1. Đánh giá khả năng diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

Bốn chế phẩm vi sinh thương mại (VS01, VS02, VS03, VS04), 3 chế phẩm thảo dược (trầu không, rau má, húng quế) được sử dụng để đánh giá khả năng diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus* bằng phương pháp khuếch tán thuốc qua đĩa giấy của Kirby-Bauer [10]. Ba loại kháng sinh (amoxicillin, tetracycline, doxycycline) được bố trí thí nghiệm để so sánh kết quả của các chế phẩm. Chỉ tiêu đánh giá là đường kính vòng vô khuẩn (ZDI: zone diameter of inhibition). Dung dịch gốc của các chế phẩm và kháng sinh được chuẩn bị ở nồng độ 100 ppm và được pha loãng đến nồng độ cần thiết cho thí nghiệm. Ở mỗi nghiệm thức, các đĩa giấy Whatman vô trùng (cỡ số 3) được thấm đều với chế phẩm hoặc kháng sinh đã pha nhằm tải lượng thuốc tương ứng 10 µg/đĩa giấy và để khô tự nhiên. Sau đó đĩa giấy đã thấm thuốc được bố trí trên đĩa thạch MH đã trải sẵn vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (10⁷ CFU×mL⁻¹) và được ủ (30°C, 24 giờ). Tất cả nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

2.3.2. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh với *V. parahaemolyticus*

- Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Giá trị MIC được xác định bằng phương pháp vi pha loãng theo quy trình chuẩn của CLSI [11]. Bốn chế phẩm vi sinh, 3 chế phẩm thảo dược và 3 loại kháng sinh được pha 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 để đảm bảo dung dịch sau có nồng độ gấp đôi dung dịch trước. Mỗi loại chế phẩm và kháng sinh đều có được dãy nồng độ cuối cùng là 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1.024, 2.048, 4.096 ppm. Sau đó, 5 µL dịch gốc vi khuẩn ban đầu với nồng độ 10⁷

CFU×mL⁻¹ được cho vào tất cả các giếng khảo sát. Đĩa được phủ kín bằng parafilm và ủ ở 30°C trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, nồng độ chế phẩm hay kháng sinh thấp nhất ức chế được sự tăng trưởng của *V. parahaemolyticus* trong mỗi dãy nồng độ khảo sát được xác định là giá trị MIC. Tất cả các nghiệm thức được lặp lại 6 lần.

Đối chứng dương được bố trí chứa môi trường MH lỏng và cho cùng lượng vi khuẩn ban đầu để ủ. Đối chứng âm bao gồm các giếng chứa lượng ethanol tương đương nhằm thay thế cho môi trường dinh dưỡng và cũng được cho vào cùng lượng vi khuẩn ban đầu. Các giếng có chứa môi trường MH lỏng nhưng không cho dịch vi khuẩn cũng được chuẩn bị để kiểm soát tình trạng nhiễm.

- Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC)

Giá trị MBC được xác định bằng phương pháp trải đĩa theo quy trình chuẩn [12]. Với mỗi dãy nồng độ (miêu tả ở phần MIC) được khảo sát cho mỗi nghiệm thức chế phẩm và kháng sinh, 20 µL dịch từ tất cả các giếng không có dấu hiệu tăng trưởng của *V. parahaemolyticus* sau 24 giờ ủ sẽ được trải và nuôi trên môi trường thạch MH (30°C, 24 giờ). Nồng độ thuốc thấp nhất diệt được 99,9% vi khuẩn gốc ban đầu được xác định là MBC. Tất cả các nghiệm thức cũng được lặp lại 6 lần.

2.3.3. Đánh giá khả năng diệt khuẩn V. parahaemolyticus đang trong giai đoạn tăng sinh của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

Bốn chế phẩm vi sinh, 3 chế phẩm thảo dược và 3 loại kháng sinh được dùng để đánh giá khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* đang trong giai đoạn tăng sinh. Cụ thể, dịch khuẩn gốc (5×10⁷ CFU×mL⁻¹) được cho vào bình tam giác 100 mL chứa môi trường TSA. Từ đây, 2 nghiệm thức riêng rẽ được bố trí. Ở nghiệm thức 1, bình tam giác đã được chuẩn bị sẽ được ủ ở 30°C trong tủ ủ vi sinh có lắc ở tốc độ 150 vòng/phút để vi khuẩn phát triển trong 24 giờ. Tiếp đến, các chế phẩm và kháng sinh được bổ sung (nồng độ 16 ppm) nhằm đánh giá khả năng diệt khuẩn đang ở giai đoạn tăng sinh. Mức nồng độ bổ sung 16 ppm được chọn từ mức MIC cao nhất của các chế phẩm và kháng sinh có hiệu quả diệt khuẩn xác định được từ kết quả thí nghiệm. Ở nghiệm thức 2, các chế

phẩm và kháng sinh (nồng độ 16 ppm) được bổ sung ngay từ đầu cùng với dịch khuẩn gốc nhằm mục đích đánh giá khả năng hạn chế từ đầu lượng vi khuẩn tăng sinh. Các nghiệm thức đều được lặp lại 3 lần.

Thí nghiệm kéo dài trong 48 giờ, trong đó cứ mỗi 24 giờ thì lượng khuẩn có trong từng bình được xác định thông qua phương pháp đếm khuẩn lạc sau khi nuôi cấy trên môi trường thạch MH (30°C, 24 giờ) [9]. Đối chứng cũng được bố trí nuôi tăng sinh nhưng không bổ sung chế phẩm và kháng sinh.

2.3.4. Đánh giá hiệu quả phòng bệnh giai đoạn sớm trên tôm của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

Tôm ở giai đoạn hậu ấu trùng - PL12 được chọn ngẫu nhiên (50 cá thể/lần lặp) cho cảm nhiễm. Thí nghiệm cảm nhiễm được bố trí trong các đĩa petri vô trùng [13] bằng phương pháp ngâm trong dịch vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (0,8 × 10⁸ CFU×mL⁻¹) trong 10 phút và tiếp tục theo dõi trong 48 giờ [14]. Các chế phẩm và kháng sinh (nồng độ 16 ppm) được bổ sung vào các đĩa petri chứa hậu ấu trùng gây cảm nhiễm nhằm khảo sát hiệu quả bảo vệ. Sau đó, tôm và môi trường nước có chứa dịch vi khuẩn và chế phẩm hoặc kháng sinh được chuyển sang các bình nhựa thí nghiệm 500 mL ở môi trường nước độ mặn 12 ppt, có sục khí. Chế phẩm và kháng sinh tiếp tục được bổ sung thêm vào các bình nhựa thí nghiệm để duy trì nồng độ 16 ppm.

Các đối chứng cũng được bố trí theo cách tương tự: i) đối chứng dương: Tôm cảm nhiễm nhưng không bổ sung chế phẩm và kháng sinh và ii) đối chứng âm: Tôm không cảm nhiễm. Các nghiệm thức đều được lặp lại 3 lần. Tảo *Thalassiosira weissflogii* (10³ cell×mL⁻¹) được cho vào các bình thí nghiệm mỗi 2 giờ.

Tỷ lệ sống của tôm được ghi nhận khi kết thúc thí nghiệm. Tôm cảm nhiễm và đối chứng dương được kiểm tra nhiễm *V. parahaemolyticus* bằng phương pháp cấy và đếm khuẩn lạc trên thạch Thiosulfate–citrate–bile salts–sucrose (TCBS). Tôm có kích thước nhỏ nên toàn bộ cơ thể tôm được nghiền và pha loãng theo dãy nồng độ, trải trên đĩa thạch TCBS (30°C, 48 giờ) và đếm mật độ vi khuẩn tương ứng. Mẫu nước nuôi của đối chứng

âm cũng được xác nhận không tạp nhiễm *V. parahaemolyticus* với cùng phương pháp.

2.4. Thu thập số liệu

2.4.1. ZDI

ZDI được đo theo đơn vị milimét với thước đo kỹ thuật Mitutoyo 527-121. Độ nhạy cảm theo ZDI với 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 doxycycline [15] và ii) bộ quy chuẩn m45 cho amoxicillin và tetracycline [16].

2.4.2. Tỷ lệ sống

Tỷ lệ sống tôm sau cảm nhiễm được thu thập khi kết thúc thí nghiệm sau 48 giờ.

$$\text{Tỷ lệ sống (\%)} = \frac{\text{Số lượng tôm còn sống}}{\text{Số lượng tôm thả ban đầu}} \times 100$$

2.5. 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 % được chuyển đổi sang arsin của căn bậc 2.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá độ nhạy cảm của *V. parahaemolyticus* với các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

3.1.1. Đánh giá khả năng tạo vòng vô khuẩn của các chế phẩm và kháng sinh

Bảng 2. ZDI, MIC, MBC và độ nhạy (theo chuẩn CLSI) của chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) với các loại chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

Chế phẩm và kháng sinh	Chủng VP2187 (gây bệnh AHPND)			
	ZDI (mm)	MIC (ppm)	MBC (ppm)	Độ nhạy (chuẩn CLSI)
Chế phẩm vi sinh				
VS01	17,0 ± 0,35 ^f	8,0 ± 0,00	64 ± 0,00	N/A
VS02	18,7 ± 0,15 ^e	8,0 ± 0,00	32 ± 0,00	N/A
VS03	12,2 ± 0,38 ^g	16,0 ± 0,00	128 ± 0,00	N/A
VS04	0,0 ± 0,00 ^j	2.048 ± 0,00	4.096 ± 0,00	N/A
Chế phẩm thảo dược				
Trầu không	26,1 ± 0,15 ^b	1,0 ± 0,00	2,0 ± 0,00	N/A
Rau má	24,8 ± 0,47 ^c	2,0 ± 0,00	4,0 ± 0,00	N/A

ZDI của 3 chế phẩm thảo dược đều cho thấy tác dụng diệt *V. parahaemolyticus* và cao hơn đáng kể ($P < 0,05$) so với 3 chế phẩm vi sinh (VS01, VS02, VS03). Chế phẩm VS04 không có tác dụng. Trong các kháng sinh sử dụng để so sánh, chỉ doxycycline có tác dụng diệt *V. parahaemolyticus* vượt trội ($37,0 \pm 0,35$ mm), trong khi tetracycline và amoxicillin đều có tác dụng diệt kém hơn các chế phẩm vi sinh và thảo dược. Tất cả khác biệt giữa các nghiệm thức đều có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) (Bảng 2).

3.1.2. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh với *V. parahaemolyticus*

Nhóm chế phẩm thảo dược có giá trị MIC và MBC thấp hơn so với nhóm chế phẩm vi sinh. Riêng giá trị MIC và MBC của chế phẩm VS04 rất cao (MIC: $2.048,0 \pm 0,00$ ppm; MBC: $4.096,0 \pm 0,00$ ppm) cho thấy, chế phẩm này không có tác dụng ức chế hoặc diệt khuẩn *V. parahaemolyticus*. Trong các kháng sinh, chỉ doxycycline có MIC và MBC thấp (cùng $2,0 \pm 0,00$ ppm), trong khi các giá trị này của tetracycline và amoxicillin đều cao hơn các chế phẩm khác. Riêng tetracycline có giá trị MIC cao hơn giá trị này của các chế phẩm, nhưng giá trị MBC cao hơn so với giá trị của chế phẩm thảo dược và tương đương hoặc thấp hơn giá trị của chế phẩm vi sinh (Bảng 2).

Húng quế	$22,6 \pm 0,40^d$	$1,0 \pm 0,00$	$2,0 \pm 0,00$	N/A
Kháng sinh				
Amoxicillin	$7,4 \pm 0,30^i$	$128,0 \pm 0,00$	$256,0 \pm 0,00$	Kháng
Tetracycline	$11,3 \pm 0,40^h$	$16,0 \pm 0,00$	$32,0 \pm 0,00$	Kháng
Doxycycline	$37,0 \pm 0,35^a$	$2,0 \pm 0,00$	$2,0 \pm 0,00$	Nhạy cảm

Ghi chú: Số liệu trình bày: giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n=6$). Các chữ cái khác nhau trong cùng cột chỉ tiêu ZDI 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: Các chế phẩm vi sinh và thảo dược không có chuẩn để đánh giá theo chuẩn CLSI.

Kết quả ZDI, MIC và MBC của các chế phẩm thảo dược là tương đồng với kết quả của các nghiên cứu gần đây cho từng loại thảo dược trên *Vibrio* spp. nhằm đánh giá tính diệt khuẩn của chúng: i) trâu không (*P. betle*) trên *V. paraharmolyticus* đa kháng thuốc tại Mexico [4], rau má (*C. asiatica*) trên một số khuẩn thủy sinh gây hại như: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* và *V. paraharmolyticus* tại Ấn Độ [3]; húng quế (*O. basilicum*) cũng trên *V. paraharmolyticus* ở Malaysia [5]. Tuy nhiên, cơ chế tác động là đa dạng do sự có mặt của nhiều hợp chất có tính kháng khuẩn và oxy hóa vẫn còn chưa được nghiên cứu cụ thể. Các chế phẩm vi sinh trong nghiên cứu này cũng cho thấy khả năng tạo vòng vô khuẩn, từ đó chỉ ra khả năng ức chế và diệt *V. parahaemolyticus*. Tuy lợi khuẩn được báo cáo có tác động tốt lên vật nuôi thông qua nhiều cơ chế gián tiếp như tăng cường miễn dịch, cân bằng vi sinh đường ruột, cạnh tranh thức ăn và môi trường sống, nghiên cứu gần đây đã chỉ ra nhiều chủng *Lactobacillus* sp. và *Bacillus* sp. được phối trộn trong chế phẩm vi sinh thương mại còn cho thấy khả năng sản sinh các chất bacteriocin có thể tiêu diệt trực tiếp vi khuẩn trên đĩa thạch [17].

3.2. Đánh giá khả năng diệt khuẩn *V. parahaemolyticus* đang trong giai đoạn tăng sinh của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

3.2.1. Nghiệm thức 1

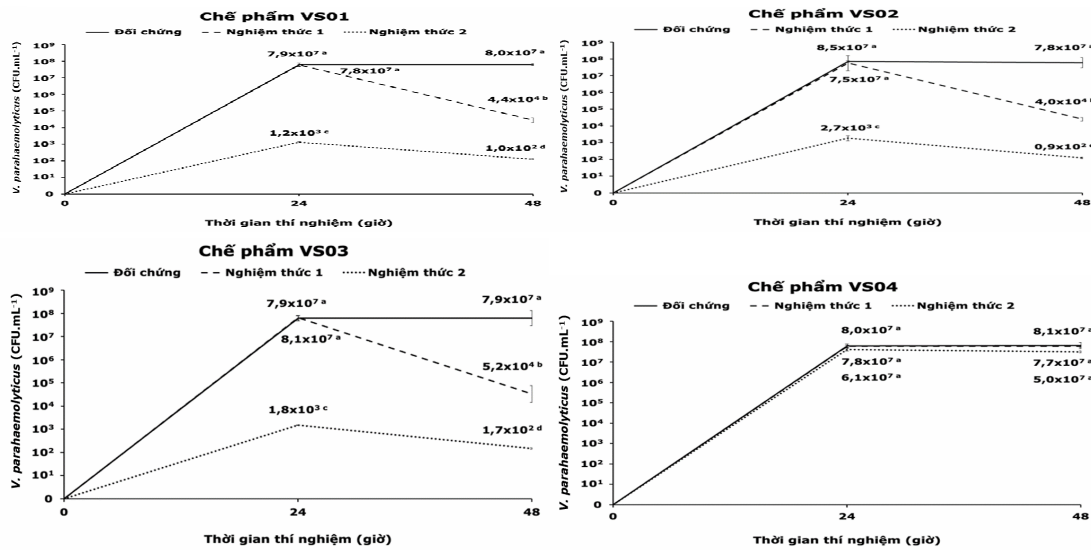
Sau 48 giờ thí nghiệm, các chế phẩm thảo dược và chế phẩm vi sinh có hiệu quả (mục 3.1.) đều cho thấy khả năng diệt và làm giảm đáng kể ($P < 0,05$) lượng *V. parahaemolyticus* đang tăng

sinh (dao động $1,8 \times 10^2 - 5,2 \times 10^4$ CFU $\times$ mL $^{-1}$) so với lượng ban đầu và so với đối chứng ($7,5 \times 10^7 - 8,2 \times 10^7$ CFU $\times$ mL $^{-1}$) khi các chế phẩm được bổ sung ở thời điểm 24 giờ sau khi nuôi tăng sinh. Trong đó, trâu không và húng quế có tác dụng diệt khuẩn cao nhất (nồng độ vi khuẩn lần lượt còn $1,5 \times 10^2$ CFU $\times$ mL $^{-1}$ và $1,8 \times 10^2$ CFU $\times$ mL $^{-1}$) ($P < 0,05$). Chế phẩm VS04 không có tác dụng diệt khuẩn (Hình 1 và 2).

Trong các kháng sinh so sánh, doxycycline và tetracycline có tác dụng diệt *V. parahaemolyticus* cao (lần lượt giảm nồng độ vi khuẩn còn $0,9 \times 10^2$ CFU $\times$ mL $^{-1}$ và $2,8 \times 10^3$ CFU $\times$ mL $^{-1}$), trong khi amoxicillin có tác dụng diệt khuẩn kém (nồng độ còn đến $1,2 \times 10^6$ CFU $\times$ mL $^{-1}$) (Hình 3)

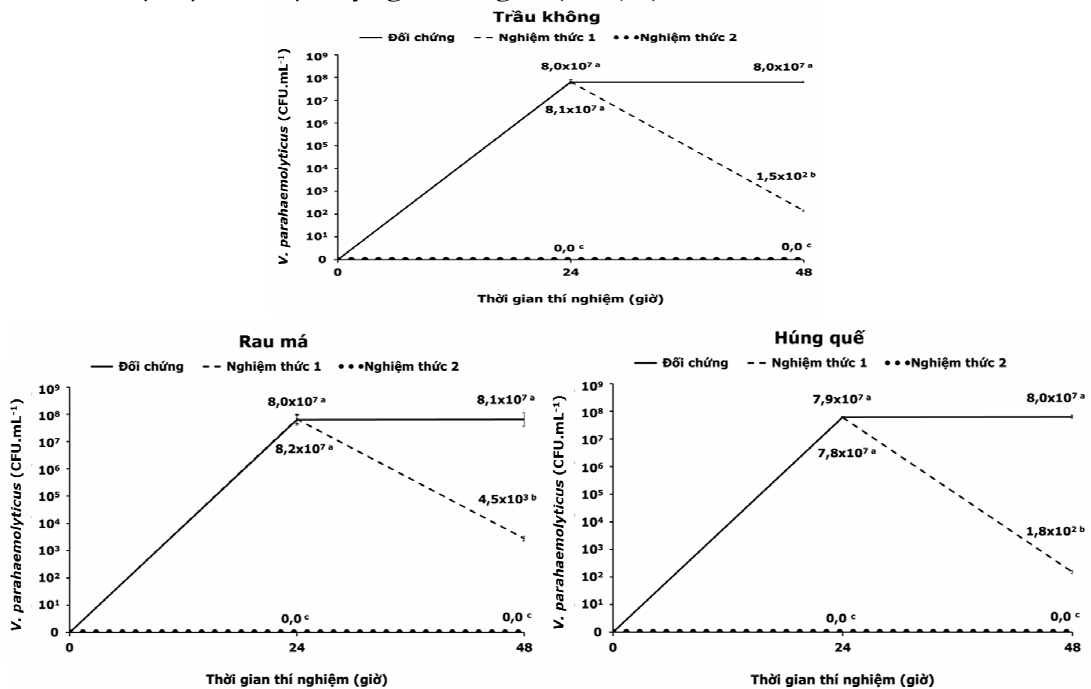
3.2.2. Nghiệm thức 2

Khi được sử dụng ngay từ đầu, hiệu quả diệt khuẩn của các chế phẩm và kháng sinh có thể được chia thành ba nhóm sau 48 giờ thí nghiệm. Nhóm có hiệu quả diệt khuẩn rất cao bao gồm cả 3 chế phẩm thảo dược và kháng sinh doxycycline có khả năng diệt hoàn toàn *V. parahaemolyticus*. Nhóm có hiệu quả diệt khuẩn cao bao gồm 3 chế phẩm vi sinh (VS01, VS02, VS03) và kháng sinh tetracycline có khả năng làm giảm đáng kể và duy trì lượng khuẩn *V. parahaemolyticus* trong môi trường thấp, dao động $0,9 \times 10^2 - 2,7 \times 10^3$ CFU $\times$ mL $^{-1}$. Amoxicillin cho hiệu quả diệt khuẩn trung bình ($1,2 \times 10^4 - 2,3 \times 10^4$ CFU $\times$ mL $^{-1}$). VS04 không có hiệu quả trong diệt khuẩn. Tất cả khác biệt giữa các nghiệm thức đều có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) (Hình 1, 2, 3).



Hình 1. Khả năng diệt chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) đang trong giai đoạn tăng sinh của 4 chế phẩm vi sinh thương mại (VS01, VS02, VS03, VS04) theo chỉ tiêu biến động về lượng khuẩn (CFU×mL⁻¹) trong 48 giờ khảo sát

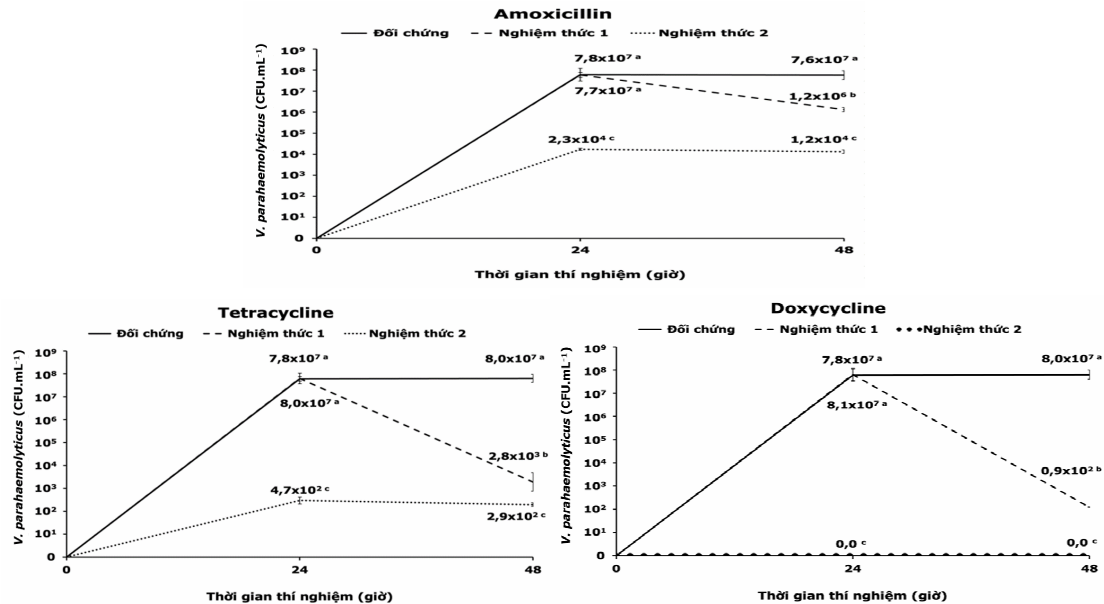
Ghi chú: Đối chứng: Không dùng chế phẩm/kháng sinh; nghiệm thức 1: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào sau 24 giờ tăng sinh; nghiệm thức 2: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào trước khi tiến hành tăng sinh. Số liệu trình bày: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3). Các chữ cái khác nhau trong cùng một hình thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 2. Khả năng diệt chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) đang trong giai đoạn tăng sinh của 3 chế phẩm thảo dược: i) trầu không (*Piper betle*), ii) rau má (*Centella asiatica*) và iii) húng quế (*Ocimum basilicum*) theo chỉ tiêu biến động về lượng khuẩn (CFU×mL⁻¹) trong 48 giờ khảo sát

Ghi chú: Đối chứng: Không dùng chế phẩm/kháng sinh; nghiệm thức 1: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào sau 24 giờ tăng sinh; nghiệm thức 2: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào trước khi tiến hành tăng sinh.

Số liệu trình bày: Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n=3$). Các chữ cái khác nhau trong cùng một hình thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 3. Khả năng diệt chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) đang trong giai đoạn tăng sinh của 3 loại kháng sinh: i) amoxicillin, ii) tetracycline và iii) doxycycline theo chỉ tiêu biến động về lượng khuẩn (CFU $\times$ mL⁻¹) trong 48 giờ khảo sát

Ghi chú: Đối chứng: Không dùng chế phẩm/kháng sinh; nghiệm thức 1: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào sau 24 giờ tăng sinh; nghiệm thức 2: Chế phẩm/kháng sinh được cho vào trước khi tiến hành tăng sinh.

Số liệu trình bày: Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n=3$). Các chữ cái khác nhau trong cùng một hình thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Ở nghiệm thức 1, các chế phẩm hoặc kháng sinh được bổ sung sau khi vi khuẩn *V. parahaemolyticus* đã tăng sinh được 24 giờ. Tất cả các chế phẩm (trừ chế phẩm VS04) đều có khả năng làm giảm đáng kể lượng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* với mức độ khác nhau, tùy thuộc loại chế phẩm. Các kháng sinh sử dụng để so sánh cũng cho kết quả tương tự. Tuy nhiên, nghiệm thức 2 đã chỉ ra các chế phẩm hoặc kháng sinh được sử dụng ngay từ đầu có khả năng ức chế tối đa lượng vi khuẩn, có thể đạt được trong giai đoạn tăng sinh. Các chế phẩm thảo dược chứa nhiều hợp chất tự nhiên có hoạt tính cao như: Piperidine, eugenyl acetate và chlorogenic axit... đã chứng minh có khả năng diệt khuẩn hoàn toàn tương

đương với các kháng sinh mà ít hoặc không gây ra hiện tượng kháng thuốc [4].

Tương tự, các chế phẩm vi sinh được cấu thành bởi một lượng lớn các lợi khuẩn có khả năng tiết bacteriocin, cạnh tranh đối kháng với hại khuẩn như *V. parahaemolyticus*, đồng thời giúp cân bằng hệ vi sinh đường ruột, tăng cường hệ miễn dịch và tăng trưởng. Chế phẩm vi sinh có thể dễ dàng áp dụng trong ao nuôi nên phù hợp trong kiểm soát lâu dài AHPND [18]. Tuy nhiên, hiện tượng chết sớm ở tôm do bệnh AHPND gây ra, thảo dược với cơ chế tác động trực tiếp mang lại hiệu quả diệt khuẩn tức thì cao hơn vì chế phẩm vi sinh cần nhiều thời gian hơn để tương tác với vật nuôi [6].

3.3. Đánh giá hiệu quả phòng bệnh trên tôm cảm nhiễm của các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

Tỷ lệ sống cao nhất của tôm ngay sau cảm nhiễm thuộc về 3 nghiệm thức thảo dược (trầu không: $36,7 \pm 3,06\%$; rau má: $33,3 \pm 1,15\%$; húng quế $34,7 \pm 2,31\%$) và doxycycline ($34,7 \pm 1,15\%$), theo sau là tetracycline ($30,0 \pm 0,00\%$) ($P < 0,05$). Ba chế phẩm vi sinh có tỷ lệ sống thấp hơn (VS01: $26,7 \pm 1,15\%$; VS02: $26,0 \pm 2,00\%$; VS03: $23,3 \pm 2,31\%$) nhưng vẫn cao hơn VS04 ($14,7 \pm 1,15\%$) và đối chứng dương ($14,0 \pm 2,0\%$) ($P < 0,05$). Đối chứng âm có tỷ lệ sống $83,3 \pm 2,31\%$ (Bảng 3).

Trong nghiên cứu trước đây, trầu không và rau má được báo cáo giúp cải thiện khả năng chống chịu của tôm chân trắng với *V. parahaemolyticus* trong thời gian dài sau cảm nhiễm [8]. Kết quả nghiên cứu này ngoài việc bổ sung thêm húng quế như một giải pháp thay thế kháng sinh thì còn xác nhận khả năng hạn chế gây chết tức thì cho tôm sau cảm nhiễm của tất cả chế phẩm thảo dược và một số chế phẩm vi sinh. Trong 3 kháng sinh, doxycycline và tetracycline vẫn cho thấy khả năng diệt khuẩn hiệu quả. Tuy nhiên, việc sử dụng lâu dài các kháng sinh cần phải cân nhắc vì có thể tạo ra các chủng vi khuẩn kháng thuốc. Điều này không xảy ra khi sử dụng các chế phẩm thảo dược hoặc vi sinh.

Chế phẩm VS04 tuy cho thấy kết quả chưa khả quan về diệt vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trong nghiên cứu này, nhưng điều này có thể được lý giải: i) do đặc tính của 2 chủng lợi khuẩn cấu thành sản phẩm không có đặc tính tiết bacteriocine do đó chưa phù hợp để dùng trong việc kiểm soát và tiêu diệt *V. parahaemolyticus* và ii) thành phần chế phẩm có ít chủng vi sinh có lợi hơn cũng như ít hơn về nồng độ vi sinh tổng so với 3 chế phẩm còn lại. Do đó, kết quả nghiên cứu chỉ ra chế phẩm VS04 sẽ phù hợp hơn cho mục tiêu làm sạch hữu cơ, giảm khí độc, giảm sự phát triển của tảo cũng như bổ sung vi sinh có lợi cho ao nuôi nhằm cạnh tranh với vi khuẩn có hại.

Thí nghiệm cảm nhiễm diễn ra trong 48 giờ và tỷ lệ chết của đối chứng dương đạt mức cao, 86%. Điều này là tương đồng với nghiên cứu cảm nhiễm với *V. parahaemolyticus* trong 48 giờ nhằm khảo sát ảnh hưởng của biofloc lên tôm chân trắng [15],

khi mà tôm đối chứng đạt mức tỷ lệ chết lên đến 100%. Trong nghiên cứu này, mật độ *V. parahaemolyticus* tổng số kiểm tra trên tôm đối chứng sau cảm nhiễm đếm được ở mức cao ($6,89 \times 10^6 \pm 0,18 \times 10^6$ CFU $\times$ g $^{-1}$), chỉ ra tỷ lệ chết cao là do *V. parahaemolyticus*. Trong khi đó, mẫu nước nuôi của đối chứng âm cho kết quả âm tính với *V. parahaemolyticus*. Nghiên cứu hiện tại chỉ mới khảo sát hiệu quả bảo vệ của các chế phẩm và kháng sinh trong thời gian ngắn 48 giờ sau cảm nhiễm. Các nghiên cứu tiếp theo cần thực hiện kéo dài sau gây cảm nhiễm để đánh giá đầy đủ khả năng diệt khuẩn của các chế phẩm sau cảm nhiễm nhằm mô phỏng chính xác hơn điều kiện sản xuất thực tế.

Bảng 3. Tỷ lệ sống (%) của tôm chân trắng sau khi cảm nhiễm với chủng *V. parahaemolyticus* 2187 (gây bệnh AHPND) và được xử lý với các chế phẩm vi sinh, chế phẩm thảo dược và kháng sinh

Chế phẩm và kháng sinh	Tỷ lệ sống (%)
Chế phẩm vi sinh	
VS01	$26,7 \pm 1,15^d$
VS02	$26,0 \pm 2,00^d$
VS03	$23,3 \pm 2,31^d$
VS04	$14,7 \pm 1,15^e$
Chế phẩm thảo dược	
Trầu không	$36,7 \pm 3,06^b$
Rau má	$33,3 \pm 1,15^b$
Húng quế	$34,7 \pm 2,31^b$
Kháng sinh	
Amoxicillin	$23,3 \pm 2,31^d$
Tetracycline	$30,0 \pm 0,00^c$
Doxycycline	$34,7 \pm 1,15^b$
Đối chứng dương	$14,0 \pm 2,0^e$
Đối chứng âm	$83,3 \pm 2,31^a$

Ghi chú: Số liệu trình bày: Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n = 3$). Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đánh giá được tác dụng của các chế phẩm thảo dược (trầu không, rau má, húng quế) và các chế phẩm vi sinh thương mại phổ biến

(VS01, VS02, VS03 và VS04) trong việc tiêu diệt hại khuẩn *V. parahaemolyticus*, đặc biệt là trong việc giảm thiểu lượng lớn vi khuẩn *V. parahaemolyticus* và giúp hạn chế tỷ lệ chết của tôm. Nghiên cứu cũng cung cấp thông tin tham khảo cho người nuôi tôm về các chế phẩm thảo dược và chế phẩm vi sinh có hiệu quả trong phòng bệnh và thay thế kháng sinh trong quản lý bệnh do *V. parahaemolyticus* gây ra trên tôm thẻ chân trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Zhang, F., Zhang, J., Li, G., Chen, X., Huang, H., Xu, C., Chi, H. (2024). Antibiotic resistance and genetic profiles of *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from farmed pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in ningde regions. *Microorganisms*, 12:152. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010152>.
2. Hong, X., Lu, L., Xu, D. (2016). Progress in research on acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture International*, 24: 577 – 593. <https://doi.org/10.1007/s10499-015-9948-x>.
3. Banerjee, S., Chakraborti, J., Panda, S., Bandyopadhyay, P. K. (2011). Antibacterial effect of some locally available plant extracts against some fish pathogenic bacteria. *22nd National Congress of Parasitology*, 265 - 270.
4. Acosta-Smith, E., Leon-Sicairos, N., Tiwari, S., Flores-Villaseñor, H., Canizalez-Roman, A., Kumavath, R., Ghosh, P., Azevedo, V., Barh, D. (2019). *Piper betel* compounds piperidine, eugenyl acetate, and chlorogenic acid are broad-spectrum anti-Vibrio compounds that are also effective on MDR strains of the pathogen. *Pathogens*, 8(64). doi:10.3390/pathogens8020064.
5. Hossain, A. M., Kabir, M. J., Salehuddin, S. M., Mizanur Rahman, S. M., Das, A. K., Singha, S. K., Alam, M. K., Rahman, A. (2010). Antibacterial properties of essential oils and methanol extracts of sweet basil *Ocimum basilicum* occurring in Bangladesh. *Pharmaceutical Biology*, 48(5): 504 - 511.
6. Baharuddin, N-A., S., Ghani, W-A., Othman, S. F. C., Nawi, M. F., Haziyaamin, T., Hamid, T. A. (2024). The effect of supplementation of *Lactococcus lactis* strain as probiotic on the growth and survival of *Litopenaeus vannamei*. *Notulae Scientia Biologicae*, 16(1): 11641. DOI:10.15835/nsb16111641.
7. Pham, H. T. H., Quach, T. V. C., Nguyen, T. P., Nguyen, L. T. (2023). Multi-antibiotics resistance phenotype of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolated from acute hepatopancreatic necrosis disease in *Litopenaeus vannamei* farmed in the Mekong Delta. *Journal of the world aquaculture society*, 54: 1070 – 1087. Doi: 10.1111/jwas.12945.
8. Lê Nguyễn Thiên Phúc, Nguyễn Minh Thành (2022). Đánh giá ảnh hưởng của các loại thảo dược lên tăng trưởng, tỷ lệ sống và chất lượng thịt của tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 8(2): 73 - 80.
9. 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>.
10. 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.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (2009). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved atandard M07-A8. *CLSI: Wayne, PA, USA*.
12. 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*.
13. Vikash, K., Mathieu, W., Margarida, L. T., Peter, B. (2020). Biofloc-based enhanced survival of *Litopenaeus vannamei* upon AHPND-causing *Vibrio parahaemolyticus* challenge is partially mediated by reduced expression of its virulence genes. *Frontiers in microbiology*, 11.
14. Tran, L., Nunan, L., Redman, R. M., Mohney, L. L., Pantoja, C.R., Fitzsimmons, K.

- (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of aquatic organisms*, 105(1): 45 – 55. <https://doi.org/10.3354/dao02621> PMID: 23836769.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (2018). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th Edn. *CLSI: Wayne, PA, USA*, p.38.
16. 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.
17. Hamid, T. A. T. H., Khairil, I. A. Z., Mohammed, A. (2020). Lactococcus lactis strains from intestinal organ of black tips shark *Carcharhinus limbatus* producing nisin-like bacteriocin active against shrimp and fish pathogens (*Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus*). *Journal of microbiology, biotechnology and food science*, 10(3). <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.10.3.354> - 360.
18. Anee, I. J., Alam, S., Begum, R.A., Shahjahan, R. M., Khandaker, A. M. (2021). The role of probiotics on animal health and nutrition. *The journal of basic and applied zoology*, 82(1): 52. <https://doi.org/10.1186/s41936-021-00250-x>.

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL CAPABILITY OF BIOPRODUCTS AGAINST *Vibrio parahaemolyticus* AND THEIR EFFECTIVENESS IN DISEASE PREVENTION FOR WHITE LEG SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)

Le Nguyen Thien Phuc¹, Nguyen Minh Thanh¹

¹ International University, Vietnam National University Ho Chi Minh City

Summary

This study evaluated the antibacterial activity of 4 commercial probiotics (VS01, VS02, VS04 and VS04), 3 herbal bioproducts (*P. betle*, *C. asiatica*, *O. basilicum*) against *V. parahaemolyticus* in comparison with 3 common antibiotics (amoxicillin, tetracycline, doxycycline) via zone diameter of inhibition, minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration, capability in the reduction of enumerating pathogens and the protection of the white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *V. parahaemolyticus*. Results showed that bioproducts and antibiotics can be categorized into 4 groups regarding antimicrobial activity: i) very high: *P. betle*, *C. asiatica*, *O. basilicum* and doxycycline; ii) high: probiotic VS01, VS02, VS03 and tetracycline; iii) moderate: amoxicillin; and iv) non-effective: probiotic VS04. Most of the bioproducts significantly improved the survival of challenged post larvae ($P < 0.05$) in which the 3 herbal products showed the highest results. The study provided more information on the antibacterial capability of bioproducts against *V. parahaemolyticus* and their application in the control of shrimp diseases.

Keywords: *V. parahaemolyticus*, probiotics, herbal extract, antibiotics, *Litopenaeus vannamei*.

Ngày nhận bài: 6/5/2024

Ngày gửi phản biện: 6/6/2024

Ngày thông qua phản biện: 3/7/2024

Ngày duyệt đăng: 25/7/2024