

**ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ PHÒNG BỆNH
CỦA THẢO DƯỢC ĐỐI VỚI HAI LOÀI VI KHUẨN
Vibrio alginolyticus VÀ *Photobacterium damsela*
PHÂN LẬP TRÊN CÁ DÌA BỊ BỆNH XUẤT HUYẾT
TRONG ĐIỀU KIỆN THÍ NGHIỆM**

Nguyễn Thị Thu Giang¹, Hoàng Xuân Thành¹, Nguyễn Thị Huế Linh²,

Nguyễn Thị Xuân Hồng², Trần Nguyên Ngọc²,

Nguyễn Ngọc Phước², Nguyễn Đức Quỳnh Anh² *

¹ Trung tâm Khuyến nông thành phố Huế

² Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

*Email: nguyenducquynhanh@huan.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này thực hiện nhằm xác định khả năng phòng bệnh xuất huyết trên cá dĩa do vi khuẩn *Vibrio alginolyticus* (*V. alginolyticus*) và *Photobacterium damsela* (*P. damsela*) gây ra bằng một số loại thảo dược. Thử nghiệm khả năng kháng khuẩn của 5 loại cao chiết thảo dược trong dung môi nước gồm: Cỏ sữa lá nhỏ, diệp hạ châu, sài đất, cỏ mực và tía tô cho thấy, cỏ sữa lá nhỏ có tác dụng diệt khuẩn tốt nhất, tía tô không có khả năng kháng khuẩn đối với vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ tiêu diệt tối thiểu (MBC) của cao chiết các loại thảo dược trên đối với vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela* dao động từ 312 - 2.500 mg/L và từ 625 - 5.000 mg/L. Bổ sung cao chiết cỏ sữa lá nhỏ với nồng độ 1.250 mg/kg thức ăn không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cá và làm giảm tỷ lệ chết của cá khi nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* hoặc *P. damsela*.

Từ khóa: Cá dĩa, cao chiết thảo dược, *Photobacterium damsela*, *Vibrio alginolyticus*, xuất huyết.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá dĩa là một trong những loại thủy sản phổ biến và được ưa chuộng ở miền Nam Trung Quốc và Đông Nam Á do chất lượng thịt cá thơm ngon và giàu dinh dưỡng [1]. Ở Việt Nam, cá dĩa phân bố nhiều ở dọc bờ biển miền Trung, tập trung chủ yếu ở các tỉnh Bình Định, Quảng Nam và thành phố Huế [2]. Cá dĩa là đối tượng thủy sản có giá trị kinh tế cao và là đối tượng nuôi chủ lực ở vùng đầm phá Tam Giang - Cầu Hai, thành phố Huế, ngoài ra cá dĩa cũng là đối tượng được thành phố đưa vào khung các nhiệm vụ bảo tồn nguồn gen giai đoạn 2021 - 2025. Tuy nhiên, nghề nuôi cá dĩa trên thế giới chưa phát triển tương xứng với nhu cầu của thị trường do khó khăn về con giống và dịch bệnh [3].

Dịch bệnh được xem là một trong những yếu

tố hạn chế sự phát triển của nghề thủy sản, ảnh hưởng đến tăng trưởng, sản lượng nuôi và gây ra các tổn thất kinh tế, có thể lên đến 9,5 tỉ đô la Mỹ/năm [4, 5]. Do đó, kháng sinh và các loại thuốc thú y khác được sử dụng ngày càng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản để điều trị bệnh cũng như ngăn ngừa và giảm thiểu thiệt hại kinh tế [5]. Tuy nhiên, việc lạm dụng kháng sinh có thể dẫn đến sự xuất hiện của các chủng vi khuẩn kháng thuốc, sự tồn dư trong sản phẩm thủy sản, ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng đến sức khỏe con người [5, 6]. Vì vậy, trong những năm gần đây, việc sử dụng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản đã bị hạn chế, thay vào đó vắc xin phòng bệnh, sử dụng probiotics, các chất kích thích miễn dịch và chiết xuất thảo dược được xem như các giải pháp thay thế hợp lý [5, 7, 8]. Trong đó, các chất chiết xuất từ thực vật được đánh giá là một trong những

lựa chọn thay thế tốt nhất do có khả năng thúc đẩy sự tăng trưởng của vật nuôi, chống căng thẳng, kích thích sự thèm ăn, kích thích miễn dịch, khả năng kháng khuẩn cao và giá thành rẻ [5, 9, 10, 11, 12].

Hiện nay, nhiều loài thực vật phân bố khắp nơi trên thế giới đã được xác định có khả năng kháng các vi khuẩn gây bệnh và được sử dụng hoặc thử nghiệm trong phòng trị bệnh cho các đối tượng thủy sản như: Cây đậu sữa Mông Cổ (*Astragalus membranaceus*), dương xỉ (*Adiantum capillus veneris*), bạc hà (*Mentha longifolia* và *Mentha piperita*), hương thảo (*Rosmarinus officinale*) và rễ cây đinh lăng (*Radix rehmanniae preparate*), quả me (*Tamarindus indica*), cây củ cải Trung Quốc (*Rheum officinale*)... [5]. Ở Việt Nam, các nghiên cứu về khả năng kháng khuẩn của một số loại thực vật hay còn gọi là thảo dược đối với vi khuẩn gây bệnh ở động vật thủy sản cũng được công bố nhiều như: Cây xoan (*Melia azedarach*), sài đất (*Wedelia chinensis*), tỏi (*Allium sativum*), xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata*), cỏ mực (*Eclipta alba*), cây trâm bầu (*Combretum quadrangulare*)... [13]. Trong nghiên cứu này, 5 loại cao chiết thảo dược gồm: Cỏ sữa lá nhỏ (*Euphorbia thymifolia*), diệp hạ châu (*Phyllanthus urinaria*), sài đất (*Wedelia chinensis*), cỏ mực (*Eclipta prostrata*) và tía tô (*Perilla frutescens*) được sử dụng để đánh giá khả năng kháng vi khuẩn phân lập được từ cá dĩa và từ đó lựa chọn loại thảo dược có hiệu quả cao để thử nghiệm phòng bệnh trên cá dĩa giống.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thảo dược và dịch chiết thảo dược

Các loại thảo dược sử dụng trong nghiên cứu gồm: Cỏ sữa lá nhỏ, diệp hạ châu, sài đất, cỏ mực và tía tô. Thảo dược được thu gom nguyên cây tại thôn An Thành, xã Quảng Thành, huyện Quảng Điền, thành phố Huế, sau đó được rửa sạch và cắt nhỏ. Tiếp đến, các loại thảo dược được sấy trong 6 giờ ở nhiệt độ 70°C và xay mịn thành bột với máy xay Philips HR2221/00 (Hà Lan). Bột thảo dược được bảo quản kín trong tủ lạnh ở 4°C, dịch chiết của các loại thảo dược trong dung môi được thực hiện theo phương pháp của Châu Thùy Phương và

cs (2023) [13]. Cụ thể, 10 g bột mỗi loại thảo dược được trộn với 100 mL nước cất (tỷ lệ 1: 10) và được chưng cách thủy ở nhiệt độ 60 - 70°C trong 120 phút. Tiếp theo, dịch chiết được lọc thô, cô quay ở 60°C ở áp suất chân không với máy Rotavapor R-300 (Thụy Sĩ) đến khi thể tích còn lại là 20 mL (tương đương với 500 g/L) và được bảo quản ở 4°C cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2. Thiết kế và bố trí thí nghiệm

2.2.1. Phương pháp thu mẫu và phân lập vi khuẩn

- Phương pháp thu mẫu: Tiến hành thu mẫu chọn lọc cá dĩa có dấu hiệu bỏ ăn, bơi lội lờ đờ, mắt cá bị lồi, mờ đục, cơ thể cá có hiện tượng xuất huyết trên da, vây. Trong thời gian từ tháng 2/2024 - 4/2024, có tổng cộng 9 cá với các dấu hiệu bệnh lý như trên tại 3 hộ nuôi ở xã Phú Gia, huyện Phú Vang, thành phố Huế. Cá được thu sống và được vận chuyển trong thùng xốp có sự thoáng khí về Phòng thí nghiệm, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế để tiến hành phân tích. Khối lượng và chiều dài trung bình của cá đạt $206,8 \pm 27,3$ g và $22,8 \pm 3,3$ cm.

- Phương pháp phân lập: Phương pháp nuôi cấy và phân lập vi khuẩn được thực hiện theo mô tả của Phạm Thị Hải Yến và cs (2021) [14]. Cụ thể, cá được sát trùng bên ngoài cơ thể cá bằng cồn 70 độ, dùng dao và kéo tiệt trùng để giải phẫu cá, mô tả các dấu hiệu bệnh lý bên trong. Dùng que cấy nhựa vô trùng lấy mẫu trực tiếp từ thận và não cấy trên môi trường Tryptone Soya Agar (TSA, Himedia, Ấn Độ) bổ sung 1,5% NaCl (TSA+) và Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar (TCBS, Himedia, Ấn Độ). Vi khuẩn được nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C trong 24 - 48 giờ. Các khuẩn lạc rời chiếm ưu thế nằm trên đường cấy được chuyển sang môi trường TSA+ để phát triển thành các dòng thuần và định danh vi khuẩn.

- Phương pháp định danh vi khuẩn: Vi khuẩn phân lập được định danh theo mô tả của Buller (2014) [15] dựa vào đặc điểm hình thái và các phản ứng sinh hóa. Vi khuẩn được nhuộm Gram và thực hiện định danh bằng bộ kit API 20E với vi khuẩn Gram (-) và bộ kit API 20 Strep (Bio-Mérieux, Pháp) với vi khuẩn Gram (+) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.2.2. Phương pháp xác định giá trị liều gây chết 50% cá dìa (LD50) cảm nhiễm với vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*

- Chuẩn bị cá thí nghiệm: Trong thí nghiệm này, cá dìa có khối lượng 5 - 10 g, đồng đều về kích cỡ, khỏe mạnh được thu mua từ các hộ ương cá dìa giống ở thành phố Huế. Cá được nuôi thuần 7 ngày trong bể composite có thể tích 1 m³. Cá được kiểm tra sạch bệnh với vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela* bằng cách nuôi cấy vi khuẩn từ mẫu thận 5 cá ngẫu nhiên trên môi trường TCBS ở 28°C (với kết quả không có sự phát triển của vi khuẩn). Cá được cho ăn với lượng 3% khối lượng thân/ngày vào lúc 8 giờ và 15 giờ với thức ăn cho cá chēm (De Hues, Việt Nam). Sau đó cá được đưa vào các bể nhựa 120 L với 80 L nước biển sạch với hệ thống sục khí liên tục, mật độ cá 20 con/bể. Hàng ngày, bể nuôi được xi phông và thay nước từ 10 - 20%, độ mặn duy trì từ 18 - 20‰, pH 7,2 - 7,5, DO > 5 mg/L.

- Chuẩn bị vi khuẩn: Các chủng vi khuẩn *V. alginolyticus* (6 chủng) và *P. damsela* (3 chủng) phân lập từ cá dìa trong thí nghiệm trước được nuôi cấy tăng sinh trong môi trường Tryptic Soya Broth (TSB, Himedia, Ấn Độ) bổ sung 1,5% NaCl

(TSB+) ở 28°C với tốc độ lắc 160 vòng/phút trong 24 giờ. Mật độ vi khuẩn được đo ở bước sóng 600 nm trên máy quang phổ UV-VIS (U2900, Hitachi, Nhật Bản). Vi khuẩn được pha loãng về các nồng độ từ 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶ và 10⁷ CFU/mL để cảm nhiễm cho cá dìa.

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm xác định LD50 của 9 chủng vi khuẩn phân lập được thực hiện với các nghiệm thức như sau: Mỗi chủng vi khuẩn được bố trí 5 nghiệm thức, trong đó liều LD50 của từng chủng được xác định bằng cách tiêm cho mỗi con cá với liều 0,1 mL vi khuẩn có nồng độ từ 10³ - 10⁷ CFU/mL. Cá ở nghiệm thức đối chứng được tiêm 0,1 mL nước muối sinh lý 0,86% NaCl. Mỗi nghiệm thức được bố trí trong một bể nuôi có thể tích 120 L, mỗi bể chứa 10 cá thể. Tổng cộng có 46 nghiệm thức được thiết lập và tỷ lệ chết của cá được theo dõi trong vòng 14 ngày. Nồng độ vi khuẩn gây chết 50% cá thí nghiệm (LD50) được xác định theo công thức của Reed và Muench (1938) [16]: $LD50 = 10^{a-x}$, trong đó: a là số lũy thừa mà tại đó vi khuẩn gây cá chết thấp nhất (trên 50%); x được tính dựa vào công thức: $x = (Pa - 50)/(Pa - Pu)$ với: Pa là tỷ lệ chết cận trên và Pu là tỷ lệ chết cận dưới của liều gây chết 50%.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm xác định nồng độ vi khuẩn gây chết 50% (LD50) cá thí nghiệm

STT	Nghiệm thức	Chủng vi khuẩn	Nồng độ vi khuẩn sử dụng (CFU/mL)
1	Nghiệm thức 1 - 5	<i>V. alginolyticus</i> CD1	10 ³ , 10 ⁴ , 10 ⁵ , 10 ⁶ và 10 ⁷ tương ứng với 5 nghiệm thức của mỗi chủng vi khuẩn
2	Nghiệm thức 6 - 10	<i>V. alginolyticus</i> CD2	
3	Nghiệm thức 11 - 15	<i>V. alginolyticus</i> CD3	
4	Nghiệm thức 16 - 20	<i>V. alginolyticus</i> CD4	
5	Nghiệm thức 21 - 25	<i>V. alginolyticus</i> CD5	
6	Nghiệm thức 26 - 30	<i>V. alginolyticus</i> CD6	
7	Nghiệm thức 31 - 35	<i>P. damsela</i> CD1	
8	Nghiệm thức 36 - 40	<i>P. damsela</i> CD2	
9	Nghiệm thức 41 - 45	<i>P. damsela</i> CD3	
10	Nghiệm thức đối chứng	Nước muối sinh lý 0,86% NaCl	0

2.2.3. Phương pháp đánh giá khả năng kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ tiêu diệt tối thiểu của một số loại thảo dược

- Chuẩn bị vi khuẩn: Chủng vi khuẩn *V. alginolyticus* CD2 và *P. damsela* CD5 có độc lực mạnh nhất (được xác định bằng liều gây chết LD50 thấp nhất trong thí nghiệm 2.2.2) được nuôi cấy tăng sinh trong môi trường TSB+ và pha loãng về 10^6 CFU/mL để thực hiện các thí nghiệm xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC - Minimum Inhibitory Concentration) và nồng độ tiêu diệt tối thiểu (MBC - Minimum Bactericidal Concentration).

- Phương pháp sàng lọc khả năng kháng khuẩn của cao chiết thảo dược: Phương pháp khuếch tán đĩa thạch được sử dụng để xác định khả năng kháng khuẩn của dịch chiết thảo dược lên vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela* trong môi trường TSA+. Lấy 100 μ L dung dịch huyền phù vi khuẩn ở nồng độ 10^6 CFU/mL dàn đều trên đĩa thạch MHA và để khô ở nhiệt độ phòng trong 3 - 5 phút. Tiếp theo, trên các đĩa thạch đó, đục 5 lỗ trên mặt thạch có đường kính 6 mm với khoảng cách thích hợp. Tại mỗi lỗ thạch nhỏ 0,1 mL dịch chiết thảo dược với nồng độ 50 g/L (được pha loãng tỷ lệ 1: 10 từ nồng độ gốc, ở mục 2.1) để xác định khả năng kháng khuẩn của các thảo dược. Đĩa thạch được ủ ở 28°C trong 24 giờ. Đường kính vòng kháng khuẩn xung quanh lỗ thạch được đo sau 24 giờ và khả năng kháng khuẩn của dịch chiết thảo dược được đánh giá dựa vào bảng 2.

Bảng 2. Mức độ kháng vi sinh vật của dịch chiết thảo dược [13]

Đường kính vòng kháng khuẩn vi sinh vật (mm)	Mức độ kháng vi sinh vật
≥ 15	Mạnh
7,5 - 15	Trung bình
$< 7,5$	Yếu
0	Không kháng

- Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ tiêu diệt tối thiểu (MBC): Giá trị MIC được xác định theo phương pháp pha loãng nồng độ trên đĩa 96 giếng theo CLSI (2014) [17]. Cụ thể, 100 μ L dung dịch vi khuẩn được đưa

vào từng giếng của đĩa 96 giếng chứa sẵn 100 μ L dung dịch cao chiết đã được pha loãng thành các nồng độ khác nhau theo cơ số 2 với dung dịch gốc ban đầu là nồng độ 5.000 mg/L cho đến 15,5 mg/L. Sau đó, bổ sung 20 μ L thuốc thử resazurin 0,01% vào mỗi giếng và nuôi cấy ở 28°C trong 24 giờ. 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 cao chiết ức chế được vi khuẩn. Nồng độ tiêu diệt tối thiểu MBC được xác định bằng phương pháp trải đĩa thạch. Lấy 20 μ L dịch thử nghiệm trên các giếng không có sự đổi màu của resazurin 0,01% từ thí nghiệm xác định MIC và nhỏ lên môi trường thạch TSA+ và ủ ở 28°C, quan sát sự phát triển của vi khuẩn sau 24 giờ. 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 (vi khuẩn không phát triển trên đĩa thạch).

2.2.4. Phương pháp đánh giá hiệu quả phòng bệnh của dịch chiết thảo dược lên cá da cam nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*

- Chuẩn bị thức ăn: Cao chiết cỏ sữa lá nhỏ (có khả năng kháng khuẩn tốt nhất) với nồng độ 1.250 mg/kg thức ăn (nồng độ MBC) được phun và trộn đều lên thức ăn. Sau đó thức ăn được áo ngoài với lòng trắng trứng gà và để khô ở nhiệt độ phòng và bảo quản ở 4°C trong tủ lạnh.

- Chuẩn bị vi khuẩn: Chủng vi khuẩn *V. alginolyticus* CD2 và *P. damsela* CD5 phân lập từ cá da cam trong các thí nghiệm trước được nuôi cấy tăng sinh trong môi trường TSB+ và được pha loãng về nồng độ LD50 để cảm nhiễm cho cá da cam.

- Bố trí thí nghiệm: Cá sau khi nuôi thuần 1 tuần được chuyển vào các bể thí nghiệm với mật độ thả 20 con/bể, các điều kiện chăm sóc và nuôi dưỡng được bố trí như mục 2.2.2. Thí nghiệm được bố trí trong 15 bể nhựa, trong đó 6 bể cá được cho ăn với thức ăn được bổ sung thảo dược (cỏ sữa lá nhỏ với nồng độ MBC = 1.250 mg/kg thức ăn) và 9 bể cho ăn với thức ăn không bổ sung thảo dược. Sau 10 ngày cho ăn liên tục, cá được cảm nhiễm với vi khuẩn *V. alginolyticus* CD2 hoặc *P. damsela* CD5 (Bảng 2) bằng cách tiêm 0,1 mL huyền phù vi khuẩn nồng độ tương ứng là $1,2 \times 10^5$

và $3,2 \times 10^6$ CFU/mL (LD50 của 2 chủng này). Ở nghiệm thức đối chứng cá được tiêm 0,1 mL nước muối sinh lý (0,85% NaCl). Số cá chết được kiểm tra và vớt bỏ 2 lần/ngày, tỷ lệ chết được theo dõi

trong 14 ngày và được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ chết (\%)} = \frac{\text{Tổng số cá chết}}{\text{Tổng số cá thí nghiệm}} \times 100$$

Bảng 3. Bố trí thí nghiệm đánh giá khả năng phòng bệnh của dịch chiết cỏ sữa lá nhỏ trên cá địa cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*

Nghiệm thức	Thức ăn	Cảm nhiễm	Số bể
1	Bổ sung thảo dược (1.250 mg/kg thức ăn)	<i>V. alginolyticus</i> CD2	3
2	Không bổ sung thảo dược	<i>V. alginolyticus</i> CD2	3
3	Không bổ sung thảo dược	Không cảm nhiễm (0,1 mL NaCl 0,85%)	3
4	Bổ sung thảo dược (1.250 mg/kg thức ăn)	<i>P. damsela</i> CD5	3
5	Không bổ sung thảo dược	<i>P. damsela</i> CD5	3

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý dựa trên phần mềm SPSS phiên bản 23.0. So sánh giá trị trung bình của các nghiệm thức được thực hiện bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố Oneway ANOVA với phép thử Tukey Post hoc test với độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập và định danh vi khuẩn trên mẫu cá địa

Kết quả phân lập vi khuẩn từ 9 mẫu cá bệnh trên môi trường TCBS thu được 3 chủng vi khuẩn cho khuẩn lạc màu xanh và 6 chủng vi khuẩn cho khuẩn lạc màu vàng nuôi cấy từ mẫu thận của cá bệnh (khuẩn lạc không xuất hiện từ các mẫu não) (Bảng 4). Chỉ phân lập được 1 loại khuẩn lạc (màu vàng hoặc xanh) từ mỗi mẫu cá bệnh trên môi trường TCBS, không thấy xuất hiện đồng thời cả 2 dạng khuẩn lạc màu xanh và vàng trên các cá ở cùng 1 ao thu mẫu.

Bảng 4. Kết quả phân lập vi khuẩn từ mẫu cá bị bệnh

Ao nuôi	Số lượng mẫu	Số chủng vi khuẩn trên môi trường TCBS	
		Khuẩn lạc màu xanh	Khuẩn lạc màu vàng
1	3	3	0
2	3	0	3
3	3	0	3

Kết quả nhuộm Gram và kiểm tra các đặc điểm sinh lý sinh hóa dựa vào bộ kit API 20E đã xác định các chủng vi khuẩn có khuẩn lạc màu vàng và xanh trên môi trường TCBS lần lượt là vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*. Các đặc điểm về hình thái và sinh hóa được trình bày ở bảng 5.

V. alginolyticus là tác nhân gây bệnh thường gặp trên các đối tượng cá nuôi nước mặn, được báo cáo đầu tiên trên cá biển nuôi ở các nước Địa Trung Hải và sau đó là các nước châu Á. Vi khuẩn này được phân lập và báo cáo trên nhiều đối tượng

nuôi khác nhau bao gồm: Cá bớp (*Rachycentron canadum*), cá tráp bạc (*Pagrus auratus*), cá mú (*Epinephelus chlorostigma*), họ cá đối (*Mugilidae*), cá bon (*Scophthalmus maximus*), cá vược vàng (*Larimichthys crocea*), cá chẽm (*Lates calcarifer*), cá chẽm châu Âu (*Dicentrarchus labrax*) [18]. Ở Việt Nam, vi khuẩn này cũng được báo cáo là tác nhân gây bệnh lở loét xuất huyết trên cá bớp với các dấu hiệu bệnh đặc trưng như: Nhiễm trùng máu, xuất huyết, có thể gây chết đến 30% đàn cá nuôi [19, 20]. Nghiên cứu trên cá địa nuôi của Lê Văn Bảo Duy và cs (2015) [21] đã xác định tác nhân gây bệnh lở loét trên cá địa là vi

khuẩn *V. parahaemolyticus* và *V. tubiashii*. Tuy *V. alginolyticus* cảm nhiễm trên nhiều đối tượng cá biển, nhưng hiện nay vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về tác nhân này trên cá địa. Trong nghiên cứu này, các chủng *V. alginolyticus* phân lập được có đặc điểm hình thái, sinh hóa khá đồng nhất như có dạng hình que ngắn, di động, phản ứng dương tính với oxidase và catalase, không có khả năng thủy phân gelatine, có khả năng lên men đường glucose

trong điều kiện hiếu khí và yếm khí. Những đặc điểm này khá tương đồng với công bố của Lê Thanh Cần và Đặng Thị Hoàng Anh (2015) [22] về vi khuẩn *V. alginolyticus* phân lập được trên cá bóp bị bệnh tại thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa. Gần đây, kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Hải Yến và cs (2021) [14] cũng đã xác định vi khuẩn *V. alginolyticus* gây bệnh xuất huyết lở loét trên cá Hồng mỹ nuôi tại thành phố Huế.

Bảng 5. Đặc điểm hình thái và sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập được trên cá địa

Chỉ tiêu	<i>V. alginolyticus</i>			<i>P. damsela</i>		
	Buller (2014) [15]	Tỷ lệ % các chủng phân lập được (n = 6)		Buller (2014) [15]	Tỷ lệ % các chủng phân lập được (n = 3)	
		Dương tính	Âm tính		Dương tính	Âm tính
Nhuộm Gram	-	0	100	-	0	100
Hình dạng	Que	Que		Que	Que	
Kích thước (mm)	1 - 2	1 - 2		2 - 3	2 - 3	
Di động	+	100	0	+	100	0
TSA (1,5% NaCl)	+	Vàng kem		+	Vàng kem	
TCBS	Vàng	Vàng		Xanh	Xanh	
Sinh catalase	+	100	0	+	100	0
Sinh oxidase	+	100	0	-	0	100
Phản ứng lên men yếm khí	+	100	0	+	100	0
Phản ứng lên men hiếu khí	-	67	33	+	100	0
Beta galactosidase	-	0	100	-	0	100
Arginine	-	0	100	+	100	0
Lysine	+	100	0	-	0	100
Ornithine	-	0	100	-	0	100
Sử dụng citrate	-	0	100	-	0	100
Sinh H ₂ S	-	0	100	-	0	100
Sinh urease	-	50	50	+	67	33
Sinh tryptophane deaminase	-	0	100	+	100	0
Sinh indole	+	100	0	-	100	0
Phản ứng Voges – Proskauer	+	100	0	+	100	0
Sinh gelatinase	-	0	100	+	100	0
Sử dụng đường glucose	+	100	0	+	100	0
Mannitol	+	100	0	-	0	100
Inositol	-	0	100	-	0	100
Sorbitol	-	0	100	-	0	100
Rhamnose	-	0	100	-	0	100
Sucrose	+	100	0	-	0	100

Melibiose	-	0	100	-	0	100
Amygdaline	+	83	17	-	0	100
Arabinnose	-	0	100	-	0	100

Ghi chú: (+): Dương tính; (-): Âm tính.

Ngoài ra, nghiên cứu cũng đã xác định được 3 chủng phát triển trên môi trường TCBS có khuẩn lạc màu xanh, thuộc nhóm vi khuẩn Gram (-) hình que ngắn, có khả năng di động và thủy phân gelatine, có khả năng lên men đường glucose và được định danh là *P. damsela*. Vi khuẩn *P. damsela* là tác nhân gây bệnh nguy hiểm, có thể gây chết 80% cá bớp với các dấu hiệu lâm sàng như: Lở loét, xuất hiện các nốt trắng trên gan, thận [21, 23]. Trên thế giới, vi khuẩn này còn được

phân lập trên nhiều đối tượng nuôi khác nhau bao gồm: Cá chẽm châu Âu, cá tráp vàng, cá đối... ở Ai Cập, Tây Ban Nha, Hy Lạp, Italia, Thổ Nhĩ Kỳ và Tunisia [24].

3.2. Kết quả xác định liều gây chết LD50 trên cá địa cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*

Căn cứ vào tỷ lệ cá chết ở các nồng độ vi khuẩn khác nhau, giá trị LD50 được tính và trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Liều gây chết LD50 trên cá địa cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*

Chủng vi khuẩn	Mật độ vi khuẩn (CFU/m)	Số cá chết (con)	LD50 (CFU/mL)	Chủng vi khuẩn	Mật độ vi khuẩn (CFU/mL)	Số cá chết (con)	LD50 (CFU/mL)
<i>V. alginolyticus</i> CD1	10 ³	2	2,2 x 10 ⁵	<i>V. alginolyticus</i> CD6	10 ³	3	1,5 x 10 ⁵
	10 ⁴	4			10 ⁴	4	
	10 ⁵	7			10 ⁵	7	
	10 ⁶	8			10 ⁶	10	
	10 ⁷	10			10 ⁷	10	
<i>V. alginolyticus</i> CD2	10 ³	3	1,2 x 10 ⁵	<i>P. damsela</i> CD1	10 ³	1	3,2 x 10 ⁶
	10 ⁴	4			10 ⁴	3	
	10 ⁵	10			10 ⁵	4	
	10 ⁶	10			10 ⁶	6	
	10 ⁷	10			10 ⁷	7	
<i>V. alginolyticus</i> CD3	10 ³	3	3,2 x 10 ⁵	<i>P. damsela</i> CD2	10 ³	1	1,0 x 10 ⁷
	10 ⁴	4			10 ⁴	2	
	10 ⁵	6			10 ⁵	3	
	10 ⁶	8			10 ⁶	4	
	10 ⁷	9			10 ⁷	5	
<i>V. alginolyticus</i> CD4	10 ³	2	2,2 x 10 ⁵	<i>P. damsela</i> CD3	10 ³	2	1,0 x 10 ⁷
	10 ⁴	4			10 ⁴	2	
	10 ⁵	7			10 ⁵	3	
	10 ⁶	8			10 ⁶	4	
	10 ⁷	10			10 ⁷	5	
<i>V. alginolyticus</i> CD5	10 ³	2	1,8 x 10 ⁵				
	10 ⁴	4					
	10 ⁵	8					
	10 ⁶	9					
	10 ⁷	10					

Bảng 6 cho thấy, độc lực của các chủng vi khuẩn *V. alginolyticus* mạnh hơn so với các chủng vi khuẩn *P. damsela*, trong đó chủng *V. alginolyticus* CD2 và *P. damsela* CD1 có giá trị LD50 thấp nhất lần lượt là $1,2 \times 10^5$ và $3,2 \times 10^6$ CFU/mL. Do đó, hai chủng này được chọn để thực

hiện cho các thí nghiệm tiếp theo nhằm xác định khả năng kháng khuẩn của dịch chiết từ thảo dược và đánh giá hiệu quả sử dụng dịch chiết thảo dược trong phòng bệnh trên cá dìa.

3.3. Khả năng kháng khuẩn của dịch chiết thảo dược lên vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*

Bảng 7. Hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết thảo dược đối với vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*

Thảo dược	Đường kính vòng kháng khuẩn Trung bình $\pm$ Độ lệch chuẩn (mm)		Hiệu quả kháng	
	<i>V. alginolyticus</i>	<i>P. damsela</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>P. damsela</i>
Cỏ sữa lá nhỏ	$15,8^c \pm 0,2$	$20,2^c \pm 0,3$	Mạnh	Mạnh
Diệp hạ châu	$13,8^d \pm 0,2$	$16,2^d \pm 0,3$	Trung bình	Mạnh
Sài đất	$9,6^c \pm 0,6$	$11,2^b \pm 0,3$	Trung bình	Trung bình
Cỏ mực	$7,8^b \pm 0,9$	$13,2^c \pm 0,2$	Trung bình	Trung bình
Tía tô	$0,00^a \pm 0,00$	$0,00^a \pm 0,00$	Không kháng	Không kháng

Chú thích: Số liệu trình bày là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn; trên cùng một cột, các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Mạnh: ≥ 15 mm; trung bình: 7,5 - 15 mm; yếu: $< 7,5$; không kháng: = 0.

Trong 5 loại dịch chiết sử dụng, cỏ sữa lá nhỏ tạo đường kính vòng kháng khuẩn lớn nhất trên cả hai loại vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela* lần lượt là 15,8 và 20,2 mm (Bảng 7). Ngược lại, tía tô không có tác dụng kháng khuẩn, các loại cao chiết thảo dược từ sài đất và cỏ mực cho hiệu quả kháng trung bình, diệp hạ châu thể hiện khả năng kháng khuẩn mạnh đối với vi khuẩn *P. damsela* và mức độ kháng trung bình với vi khuẩn *V. alginolyticus*.

Kết quả nghiên cứu này khá tương đồng với công bố của Trần Vinh Phương và cs (2019) [24], theo đó dịch chiết từ cây diệp hạ châu (*P. amarus*) có khả năng kháng tốt đối với hai loại vi khuẩn thuộc chi *Vibrio* là *V. parahaemolyticus* và *Vibrio* sp. gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) và của Phạm Thị Hải Yến và cs (2021) [14] trên *V. alginolyticus* gây bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*). Một nghiên cứu khác trên vi khuẩn *V. harveyi* của Hồng Mộng Huyền và cs (2018) [25] đã cho thấy, dịch chiết từ cây sài đất có khả năng kháng khuẩn ở mức trung bình. Gần đây, Trần Nguyên Ngọc và cs (2023) [26] đã báo cáo cao

chiết sài đất có tác dụng diệt khuẩn mạnh với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Cỏ mực cũng được xác định có khả năng kháng khuẩn tốt đối với 10/12 chủng vi khuẩn đã phân lập từ 30 mẫu ruột tôm sú [27] hay vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* phân lập trên cá rô phi [13].

Theo Nguyễn Xuân Hải và Nguyễn Thị Thanh Mai (2015) [28], thành phần hóa học trong cây cỏ sữa lá nhỏ có syringaresinol, flavonoid, umbelliferone, brevifolin metyl carboxylat, (6R)-dehydrovomifoliol, loliolide, axit vanillic và axit gentisic, trong đó hợp chất flavonoid được biết đến là một thành phần có tính kháng khuẩn mạnh. Trong nuôi trồng thủy sản, Huỳnh Kim Diệu (2010) [29] đã xác định cỏ sữa lá nhỏ có khả năng kháng khuẩn mạnh trên các vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan thận mủ, xuất huyết, nhiễm khuẩn trên cá tra.

Từ kết quả sàng lọc khả năng kháng khuẩn của các loại dịch chiết cỏ sữa lá nhỏ, diệp hạ châu, sài đất và cỏ mực được chọn để xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC và nồng độ tiêu diệt tối thiểu MBC, kết quả được trình bày ở bảng 8. Kết quả ở bảng 8 cho thấy, cỏ sữa lá nhỏ có khả năng kháng

khuẩn tốt nhất với nồng độ MIC/MBC đối với vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela* lần lượt là 312/625 mg/L và 625/1.250 mg/L thấp nhất so với điệp hạ châu (625/2.500), sài đất (2.500/5.000 và 1.250/5.000) và cỏ mực (2.500/5.000). Tỷ lệ

MBC/MIC của 4 loại cao chiết trên đều có giá trị ≤ 4 , do đó có thể kết luận rằng, dịch chiết của cỏ sữa lá nhỏ, điệp hạ châu, sài đất và cỏ mực đều có khả năng diệt khuẩn theo Canillac và Mourey (2001) [30].

Bảng 8. Nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ tiêu diệt tối thiểu của cao chiết thảo dược lên vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*

Loại thảo dược	Mật độ vi khuẩn (CFU/mL)	<i>V. alginolyticus</i>			<i>P. damsela</i>		
		MIC (mg/L)	MBC (mg/L)	MBC/MIC	MIC (mg/L)	MBC (mg/L)	MBC/MIC
Cỏ sữa lá nhỏ	10 ⁶	312	625	2	625	1.250	2
Điệp hạ châu		625	2.500	4	625	2.500	4
Sài đất		2.500	5.000	2	1.250	5.000	4
Cỏ mực		2.500	5.000	2	625	2.500	4

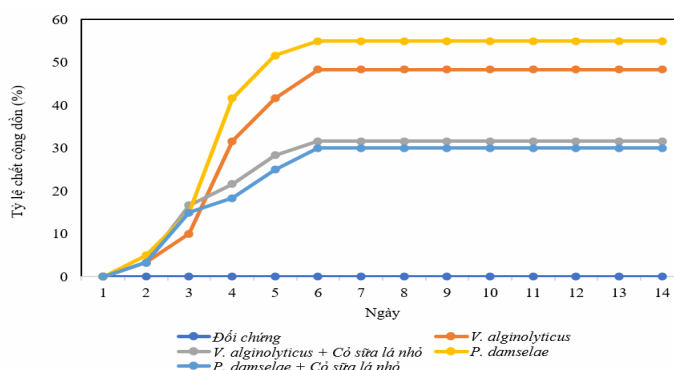
Kết quả nghiên cứu trên tương đồng với kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Hải Yến và cs (2021) [14], theo đó cao chiết điệp hạ châu có khả năng tiêu diệt vi khuẩn *V. alginolyticus* gây bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ với tỷ lệ MBC/MIC có giá trị từ 2 - 4. Ngoài ra, đối với vi khuẩn khác trong chi *Vibrio*, *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm chân trắng, điệp hạ châu và sài đất cũng thể hiện tác dụng diệt khuẩn với tỷ lệ MBC/MIC ≤ 4 [23, 26]. Nghiên cứu của Châu Thùy Phương và cs (2023) [13] cho thấy, cao chiết cỏ mực có khả năng tiêu diệt vi khuẩn *S. agalactiae* với tỉ lệ MBC/MIC = 2. Mặc dù, cỏ sữa lá nhỏ có tính kháng khuẩn cao đối với chủng *V. alginolyticus* và *P. damsela* nhưng các công bố về loại thảo dược này vẫn còn hạn chế. Từ kết quả thí nghiệm này, dịch chiết cỏ sữa lá nhỏ được sử dụng trong thí nghiệm phòng bệnh của cao chiết thảo dược trên cá địa với hai loại vi khuẩn phân lập được là *V. alginolyticus* và *P. damsela*.

3.4. Hiệu quả phòng bệnh của cao chiết thảo dược trên cá địa cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela*

Dịch chiết cỏ sữa lá nhỏ có tác dụng diệt khuẩn tốt nhất với 2 chủng vi khuẩn phân lập được trên cá địa, vì vậy dịch chiết từ thảo dược này (nồng độ 1.250 mg/kg thức ăn) được sử dụng trong thí nghiệm phòng bệnh trên cá địa cảm

nhiễm *V. alginolyticus* hoặc *P. damsela*. Trước khi gây bệnh thực nghiệm, cá được cho ăn thức ăn có bổ sung dịch chiết cỏ sữa lá nhỏ liên tục trong 10 ngày, trong thời gian này 100% cá thí nghiệm không có biểu hiện bất thường, do vậy có thể kết luận, bổ sung cỏ sữa lá nhỏ với nồng độ 1.250 mg/kg thức ăn an toàn cho cá địa giống kích cỡ 5 - 10 g. Tỷ lệ chết của cá sau khi cảm nhiễm được theo dõi trong 14 ngày, kết quả được thể hiện ở hình 1.

Cảm nhiễm cá địa giống với vi khuẩn *P. damsela* và *V. alginolyticus* đã gây chết lần lượt là 55% và 48,33% số cá thí nghiệm. Cá nhiễm bệnh có dấu hiệu bơi lơ dờ, giảm ăn và có hiện tượng xuất huyết ở gốc vây, trong khi cá ở nghiệm thức đối chứng có tỷ lệ sống 100% và không thể hiện dấu hiệu bất thường. Tái phân lập vi khuẩn từ mẫu bệnh phẩm (thận) cho kết quả là *V. alginolyticus* và *P. damsela*, điều này có thể khẳng định, hai chủng này là tác nhân gây bệnh trên cá địa bị xuất huyết. Ở nghiệm thức cho cá ăn thức ăn bổ sung cao chiết cỏ sữa lá nhỏ đã làm giảm tỷ lệ chết của cá cảm nhiễm (30 - 31,67%) so với các nghiệm thức không bổ sung (48,33 - 55%), chứng tỏ cỏ sữa lá nhỏ có vai trò bảo vệ cá trước các vi khuẩn gây bệnh. Tuy nhiên, hiệu quả phòng bệnh trong thí nghiệm này vẫn còn thấp, do đó nghiên cứu cần mở rộng khảo sát khoảng nồng độ và thời gian sử dụng để khuyến cáo biện pháp phòng bệnh thích hợp cho người nuôi.



Hình 1. Tỷ lệ chết của cá địa cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* hoặc *P. damsela*

4. KẾT LUẬN

Cao chiết cỏ sữa lá nhỏ, điệp hạ châu, sài đất có tác dụng kháng khuẩn đối với vi khuẩn *V. alginolyticus* và *P. damsela* phân lập từ cá địa có triệu chứng xuất huyết trên da, vây nuôi tại đầm phá Tam Giang. Trong đó, cỏ sữa lá nhỏ có khả năng kháng khuẩn tốt nhất với giá trị nồng độ MIC lần lượt là 312 và 625 mg/L; nồng độ MBC là 625 và 1.250 mg/L.

Bổ sung cao chiết cỏ sữa lá nhỏ vào thức ăn của cá địa giống ở nồng độ 1.250 mg/kg thức ăn không gây độc và chết cá, đồng thời giảm tỷ lệ chết của cá thí nghiệm khi cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus* hoặc *P. damsela*.

LỜI CẢM ƠN

Đây là kết quả của dự án khoa học và công nghệ cấp tỉnh được ngân sách nhà nước thành phố Huế đầu tư mã số TTH.2021-KC.27. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ và tài trợ của dự án.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Huang, X., Li, Q., Li, W., Han, C., Yang, Y., Huang, Z. & Lin, H. (2024). Rabbitfish (*Siganus oramin*) gut microbiota description of farmed and wild specimens. *Aquaculture Reports*, 35, 101928. Doi: 10.1016/j.aqrep.2024.101928
- Van Bao Duy, L. (2017). *Live food and use of probiotics in rabbit fish (Siganus guttatus Bloch, 1787) larviculture*. Doctoral dissertation, Ghent University.
- Chat, T. T., Huy, N. D., Hoa, T. T., Bossier, P. & Manh, H. N. (2024). Synbiotics of *Pediococcus pentosaceus* and Fructooligosaccharide enhances

the growth rate, enzymatic digestion, feed efficiency, hematological profiles and lysozyme activity of golden rabbitfish (*Siganus guttatus*). *Aquaculture Reports*, 36, 102176.

- Ramesh, D. & Souissi, S. (2018). Antibiotic resistance and virulence traits of bacterial pathogens from infected freshwater fish, Labeo rohita. *Microbial pathogenesis*, 116, 113 - 119.

- Dadras, F., Velisek, J. & Zuskova, E. (2023). An update about beneficial effects of medicinal plants in aquaculture: A review. *Veterinární medicína*, 68(12), 449 - 463.

- Novais, C., Campos, J., Freitas, A. R., Barros, M., Silveira, E., Coque, T. M ... & Peixe, L. (2018). Water supply and feed as sources of antimicrobial-resistant *Enterococcus* spp. in aquacultures of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Portugal. *Science of the Total Environment*, 625, 1102 - 1112.

- Van Wyk, A. S. & Prinsloo, G. (2020). Health, safety and quality concerns of plant-based traditional medicines and herbal remedies. *South African Journal of Botany*, 133, 54 - 62.

- Austin, B. & Newaj-Fyzul, A. (Eds.) (2017). *Diagnosis and control of diseases of fish and shellfish*. Chichester, UK: Wiley. 320 pp.

- Gharraei, A., Jorjani, H. E., Harijani, J. M. & Miandare, H. K. (2020). Effects of *Tribullus terrestris* extract on masculinization, growth indices, sex determination reversal and steroid hormones level in Zebra fish (*Danio rerio*). *International Aquatic Research*, 12(1), 22 - 29.

- Abd El-Gawad, E. A., El Asely, A. M., Soror, E. I., Abbass, A. A. & Austin, B. (2020). Effect of

dietary *Moringa oleifera* leaf on the immune response and control of *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Aquaculture International*, 28, 389 - 402.

11. Mo, W. Y., Lun, C. H. I., Choi, W. M., Man, Y. B. & Wong, M. H. (2016). Enhancing growth and non-specific immunity of grass carp and Nile tilapia by incorporating Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lycium barbarum*) into food waste based pellets. *Environmental Pollution*, 219, 475 - 482.

12. Rufchaei, R., Hoseinifar, S. H., Mirzajani, A. & Van Doan, H. (2017). Dietary administration of *Pontogammarus maoticus* extract affects immune responses, stress resistance, feed intake and growth performance of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology*, 63, 196 - 200.

13. Châu Thùy Phương, Hồ Thị Kim My, Nguyễn Thị Quỳnh Nga, Trương Thị Thùy Duyên, Nguyễn Anh Xuân, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Ngọc Phước (2023). Nghiên cứu khả năng kháng vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* của các loại cao chiết thảo dược trên cá rô phi (*Oreochromis* sp.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế*, 7(1), 3452 - 3464.

14. Phạm Thị Hải Yến, Nguyễn Duy Quỳnh Trâm, Nguyễn Anh Hiếu, Nguyễn Quang Linh (2021). Khả năng kháng khuẩn của cao chiết từ cây diệp hạ châu (*Phyllanthus amarus*) đối với vi khuẩn *Vibrio alginolyticus* gây bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*). *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế: Kỹ thuật và Công nghệ*: 130(2A), 67 - 79.

15. Buller, N. B. (2014). *Bacteria and fungi from fish and other aquatic animals: a practical identification manual*. Cabi Publishing, Wallingford, UK.

16. Reed, L. J. and Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Epidemiology*, 27(3), 493-497.

17. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute (2014). Methods for antimicrobial disk

susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals, approved guideline VET-03A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, N. J. 26(03).

18. Ahangarzadeh, M., Houshmand, H., Kakoolaki, S., Sepahdari, A., Ghorbanpoor, M., Ajdari, A. & Sadr, A. S. (2022). Efficiency of monovalent *Vibrio alginolyticus* formaldehyde-killed vaccine on the immune responses and protection of Asian seabass (*Lates calcarifer*) juveniles against Vibriosis. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 21(6), 1367 - 1382.

19. Nguyễn Thị Thúy An, Trần Ngọc Hải, Từ Thanh Dung (2013). Phân lập vi khuẩn *Vibrio* trên cá bớp (*Rachycentron canadum*) bị lở loét. Hội nghị khoa học Thủy sản toàn quốc lần thứ IV: 406 - 410.

20. Nguyễn Bảo Trung, Từ Thanh Dung (2018). Nghiên cứu bệnh vi khuẩn trên cá bớp (*Rachycentron canadum*) nuôi lồng ở tỉnh Kiên Giang. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 54, 60 - 67.

21. Lê Văn Bảo Duy, Dương Thị Thủy, Nguyễn Ngọc Phước, Trương Thị Hoa, Nguyễn Đức Quỳnh Anh (2015). Nồng độ ức chế tối thiểu (Minimal Inhibitory Concentration -MIC) của một số loại kháng sinh đến vi khuẩn phân lập được từ cá địa thương phẩm mắc bệnh lở loét (*Siganus guttatus*, Bloch, 1787). *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế: Chuyên san Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 104(5), 112 - 118.

22. Lê Thanh Cần, Đặng Thị Hoàng Anh (2015). Một số đặc điểm bệnh học trên cá bớp (*Rachycentron canadum* lineaus, 1766) nuôi thâm canh tại Nha Trang. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 38, 53 - 60.

23. Eissa, A. E., Abou-Okada, M., Alkurdi, A. R. M., El Zlitne, R. A., Prince, A., Abdelsalam, M. & Derwa, H. I. (2021). Catastrophic mass mortalities caused by *Photobacterium damsela* affecting farmed marine fish from Deebea Triangle, Egypt. *Aquaculture Research*, 52(9), 4455 - 4466.

24. Trần Vinh Phương, Hoàng Thị Ngọc Hân, Đặng Thanh Long, Phạm Thị Hải Yến, Nguyễn Quang Linh (2019). Hoạt tính 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*). *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế: Khoa học tự nhiên*, 128(1E), 99 - 106.

25. Hồng Mộng Huyền, Võ Tấn Huy, Trần Thị Tuyết Hoa (2018). Hoạt tính kháng khuẩn của một số cao chiết thảo dược kháng vi khuẩn gây bệnh ở tôm nuôi. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 54, 143 - 150.

26. Trần Nguyên Ngọc, Ngô Lý Lai, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Ngọc Phước, Nguyễn Quang Linh (2023). Khả năng kháng khuẩn của cao chiết sài đất (*Wedelia chinensis*) lên vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* phân lập từ tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) bị bệnh hoại tử gan tụy cấp. *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế: Chuyên san Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 132(3B), 5 - 18.

27. Đái Thị Xuân Trang, Võ Thị Tú Anh (2015). Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết cỏ mực (*Eclipta alba*) đối với vi khuẩn được phân lập từ ruột tôm sú (*Penaeus monodon*). *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 37(1se): 261 - 266.

28. Nguyễn Xuân Hải, Nguyễn Thị Thanh Mai (2015). Thành phần hóa học của cây cỏ sữa lá nhỏ. *Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, 20(3), 331 - 337.

29. Huỳnh Kim Diệu (2010). Hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh trên cá của một số cây thuốc nam ở đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 15, 222 - 229.

30. Canillac, N. & Mourey, A. (2001). Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excels* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology*, 18(3), 261 - 268.

EVALUATION OF EFFECTIVENESS OF DISEASE PREVENTION BY USING HERBAL EXTRACTS AGAINST *Vibrio alginolyticus* AND *Photobacterium damsela*, ISOLATED FROM HAEMORRHAGIC DISEASED RABBITFISH IN EXPERIMENTAL CONDITIONS

Nguyen Thi Thu Giang¹, Hoang Xuan Thanh¹, Nguyen Thi Hue Linh²,

Nguyen Thi Xuan Hong², Tran Nguyen Ngoc²,

Nguyen Ngoc Phuoc², Nguyen Duc Quynh Anh²

¹ Centre of Agricultural extension of Thua Thien Hue province

² Faculty of Fisheries, Hue University of Agriculture and Forestry, Hue University

Summary

This study was aimed to evaluate the potential for disease prevention using some herbal extracts against the pathogens *Vibrio alginolyticus* and *Photobacterium damsela* causing hemorrhagic disease in cultured gold rabbitfish. Antibacterial activity against *V. alginolyticus* and *P. damsela* of five herbal extracts in water-based solvents consisting of *Euphorbia thymifolia*, *Phyllanthus urinaria*, *Wedelia chinensis*, *Eclipta prostrata* and *Perilla frutescens* indicated that *E. thymifolia* extract (ETE) exhibited the strongest effect, while *Perilla frutescens* showed no antibacterial activity. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of these herbal extracts ranged from 312 to 2,500 mg/L and from 625 to 5,000 mg/L, respectively. Supplementing the fish feed with ETE at a concentration of 1,250 mg/kg did not affect the fish's survival rate and reduced the mortality of fish challenged with *V. alginolyticus* or *P. damsela*.

Keywords: Rabbitfish, herbal extracts, *Photobacterium damsela*, *Vibrio alginolyticus*, haemorrhage.

Ngày nhận bài: 10/01/2025

Ngày chuyển phản biện: 4/02/2025

Ngày thông qua phản biện: 19/02/2025

Ngày duyệt đăng: 28/02/2025