 DOI: 10.35382/18594816.1.38.2020.559

HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA CHIẾT XUẤT THẢO DƯỢC LÊN VI KHUẨN *Vibrio parahaemolyticus* GÂY BỆNH HOẠI TỬ GAN TỤY CẤP TÍNH TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamie*) TRONG ĐIỀU KIỆN IN VITRO

Nguyễn Chí Nguyện[1], Nguyễn Thị Hồng Nhi[2]

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF HERBAL EXTRACTS AGAINST Vibrio parahaemolyticus CAUSING ACUTE HEPATOPANCREATIC NECROSIS DISEASE (AHPND) IN WHITELEG SHRIMP (Litopenaeus vannamei) IN VITRO

Nguyen Chi Nguyen[1], Nguyen Thi Hong Nhi[2]

Tóm tắt – *Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của chiết xuất lá trứng cá, hành tây, thù lù bằng ethanol 90% và 70% đối với vi khuẩn Vibrio parahaemolyticus gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng (Litopenaeus vannamei) được thực hiện tại Khoa Nông nghiệp – Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh. Kết quả cho thấy, vòng kháng khuẩn của chiết xuất lá trứng cá ethanol 70% lớn nhất là 18,00 ± 0,00 mm, chiết xuất lá trứng cá bằng ethanol 90% là 17,33 ± 0,58 mm và chiết xuất dịch tươi là 13,00 ± 0,00 mm. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của chiết xuất lá trứng cá bằng ethanol 70% và 90% lần lượt là 5.120 mg/L, 10.240 mg/L. Giá trị MIC của chiết xuất hành tây bằng ethanol 70% và 90% là 40.960 mg/L, chiết xuất thù là bằng ethanol 70% và 90% là 81.920 mg/L. Kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt tính kháng khuẩn của chiết xuất lá trứng cá mạnh nhất và thấp nhất là chiết xuất của thù lù.*

Từ khóa: hành tây, hoạt tính kháng khuẩn, cây thù lù, cây trứng cá, Vibrio parahaemolyticus.

Abstract – *The antibacterial activity of herbal extracts to Vibrio parahaemolyticus causing acute hepatopancreatic necrosis disease in whiteleg shrimp (Litopenaeus vannamei) was studied and carried out in the School of Agriculture and Aquaculture, Tra Vinh University. The results showed that the inhibition zone of Muntingia calabura leaf extract with ethanol 70% was 18.00 ± 0.00mm, Muntingia calabura leaf extract with ethanol 90% was 17.33 ± 0.58 mm and Muntingia calabura fresh leaf extract was 13.00 ± 0.00 mm. Minimum inhibitory concentration (MIC) of Muntingia calabura leaf extract with ethanol 70% and 90% were 5.120 mg/L, 10.240 mg/L. MIC value of Al-*

[1]Sinh viên, Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

[2]Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

Ngày nhận bài: 21/10/2019; Ngày nhận kết quả bình duyệt: 17/3/2020; Ngày chấp nhận đăng: 25/6/2020

Email: 110316019@sv.tvu.edu.vn

[1]Student, School of Agriculture and Aquaculture, Tra Vinh University.

[2]School of Agriculture and Aquaculture, Tra Vinh University.

Received date: 21st October 2019; Revised date: 17th March 2020; Accepted date: 25th June 2020

lium cepa extract with ethanol 70% and 90% were 40.960 mg/L, Physalis angulata extract with ethanol 70% and 90% were 81.920 mg/L. The results showed that the antimicrobial activity was highest in the Muntingia calabura leaf extract and lowest in Physalis angulata extract.

Keywords: Allium cepa, antibacterial activity, Muntingia calabura, Physalis angulata, Vibrio parahaemolyticus.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm thẻ chân trắng là đối tượng có giá trị kinh tế cao, thị trường tiêu thụ rộng [1]. Ở Việt Nam, diện tích nuôi tôm thẻ chân trắng trên cả nước tính đến tháng 10/2019 là 99.740 ha. Sản lượng thu hoạch tôm thẻ chân trắng là 386.701 tấn [2].

Bệnh hoại tử gan tụy cấp tính được xem là bệnh nguy hiểm và gây ra nhiều thiệt hại đến sản lượng tôm nuôi trong những năm gần đây ở các nước Đông Nam Á và Mexico [3], [4].

Riêng tại tỉnh Trà Vinh, tính đến tháng 3/2019, tổng sản lượng tôm thẻ chân trắng đạt 4.332 tấn, tăng 600 tấn so với cùng kì năm 2018. Tổng hộ nuôi tôm thẻ chân trắng bị thiệt hại là 773 hộ và diện tích tôm thẻ chân trắng bị thiệt hại là 258 ha [5]. Nguyên nhân gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính là do vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây ra [6]. Sự lạm dụng thuốc kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản đã gây ảnh hưởng xấu tới sức khỏe động vật nuôi, môi trường sinh thái và đặc biệt là tạo ra các chủng vi khuẩn kháng lại thuốc kháng sinh, làm giảm hiệu quả điều trị bệnh và tăng nguy cơ nhiễm khuẩn có khả năng kháng thuốc cho con người, động vật và tồn dư trong thịt động vật thủy sản [7].

Hiện nay, việc nghiên cứu hoạt chất kháng khuẩn có nguồn gốc thảo dược đang được quan tâm nhằm tạo ra các sản phẩm sử dụng trong phòng trị bệnh thân thiện với môi trường, đảm bảo an toàn thực phẩm, hạn chế việc lạm dụng các loại hóa chất, kháng sinh cấm sử dụng trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là giảm khả năng kháng thuốc của vi khuẩn [8], [9].

Bên cạnh đó, nhiều báo cáo đã ghi nhận hiệu quả của các loại thảo mộc như là chất khai vị và thúc đẩy tăng trưởng trong các loài thủy sản, giúp nông dân giảm chi phí đầu tư, tăng lợi nhuận [10].

Thù lù, hành tây và trứng cá là những cây thuốc có giá thành rẻ và phổ biến. Chúng chứa nhiều hợp chất quý như flavonoid, steroid, saponin, tannin và triterpen [11]. Tuy nhiên, chúng ta vẫn chưa có nghiên cứu nào xác định khả năng kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng của các thảo dược trên. Vì vậy, nghiên cứu 'Hoạt tính kháng khuẩn của chiết xuất thảo dược lên vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamie*) trong điều kiện in vitro' đã được thực hiện.

II. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Nguyễn Công Tráng và cộng sự [12] đã nghiên cứu xác định khả năng kháng *V. parahaemolyticus* của dịch trích lá, vỏ và hạt cây trâm bầu trong điều kiện in vitro. Nghiên cứu cho thấy dịch trích cây trâm bầu kháng *V. parahaemolyticus* mạnh với đường kính vòng kháng khuẩn trung bình 13,19 mm. Trong đó, dịch trích hạt cho tính kháng mạnh hơn dịch trích từ lá và vỏ với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 16,29 mm, 11,84 mm và 11,44 mm. Kết quả thử nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu MIC của dịch trích hạt trâm bầu đối với *V. parahaemolyticus* là 7,5 μL/mL.

Hồng Mộng Huyền và cộng sự [13] đã nghiên cứu khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của bảy loại chất chiết thảo dược thầu dầu, lưỡi rắn, mật gấu, chùm ngây, lược vàng, ô rô và sài đất. Hoạt tính kháng khuẩn, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của bảy loại cao chiết thảo dược được sàng lọc trên hai chủng vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus*. Kết quả ghi nhận hoạt tính kháng khuẩn *V.*

parahaemolyticus như sau: thầu dầu có vòng vô khuẩn là 17,5 ± 0,7 mm, lưỡi rắn có vòng vô khuẩn là 7,0 ± 0,0 mm, mật gấu có vòng vô khuẩn là 9,5 ± 0,7 mm, chùm ngây có vòng vô khuẩn là 9,0 ± 0,0 mm, lược vàng có vòng vô khuẩn là 7,5 ± 0,7 mm, ô rô có vòng vô khuẩn là 9,0 ± 1,4 mm và sài đất có vòng vô khuẩn là 8,0 ± 1,4 mm.

Tuy nhiên, chúng ta cần có nhiều công trình nghiên cứu xác định khả năng ức chế vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng của thảo dược. Từ đó, chúng ta tìm ra loài thảo dược có khả năng kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* tốt nhất và thay thế thuốc kháng sinh.

III. PHƯƠNG PHÁP VÀ PHƯƠNG TIỆN NGHIÊN CỨU

A. Thời gian và địa điểm thí nghiệm

Nghiên cứu được thực hiện từ ngày 01/01/2019 đến ngày 30/07/2019 tại Phòng Bệnh học Thủy sản, Khoa Nông nghiệp – Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh.

B. Phương pháp bố trí thí nghiệm

1) Phương pháp phân lập vi khuẩn từ mẫu tôm bệnh: Phân lập vi khuẩn *V. parahaemolyticus* dựa vào phương pháp của Pintoet et al. [14] và Lê Xuân Phương [15].

Tôm thẻ chân trắng có dấu hiệu bệnh lí, bệnh hoại tử gan tụy cấp tính được thu từ ao nuôi tại xã Mỹ Long Nam, huyện Cầu Ngang, tỉnh Trà Vinh. Các chủng vi khuẩn được chúng tôi phân lập và định danh theo phương pháp của Cowan and Steels (Barrow and Felthham, 1993) kết hợp với việc sử dụng bộ KIT API 20E (BioMerieux, Pháp). Việc phân lập và định danh chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được sử dụng trong nghiên cứu.

2) Kiểm tra gen độc lực của V. parahaemolyticus bằng phương pháp Realtime PCR: Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được kiểm tra gen độc lực gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính theo phương pháp realtime PCR bằng bộ kit của Công ty TNHH Công nghệ Sinh học Khoa Thương tại Trung tâm Phân tích – Kiểm nghiệm TVU, Trường Đại học Trà Vinh.

3) Phương pháp chiết xuất thảo dược: Việc chiết xuất thảo dược dựa vào phương pháp của Nguyễn Văn Đàn và cộng sự [16].

Chiết xuất thảo dược bằng ethanol: Thảo dược đem rửa sạch và phơi khô ($t^o \leq 50^oC$). Tiếp theo, thảo dược được xay nhuyễn và ngâm ethanol 90%, 70% (tỉ lệ ethanol và thảo dược là 4:1). Sau bảy ngày lọc qua giấy lọc, chúng tôi thu được cao chiết. Sau đó, cao chiết được đem phơi đến khi khô ($t^o \leq 50^oC$). Cao chiết được bảo quản nơi thoáng mát 4^oC.

Chiết xuất dịch tươi thảo dược: Thảo dược tươi được rửa sạch và để ráo nước. Tiếp theo, thảo dược được xay nhuyễn với nước 1,5% NaCl (tỉ lệ thảo dược và nước 1,5% NaCl là 1:1), sau đó, lọc lấy nước cốt. Dịch tươi được bảo quản trong tủ mát 4^oC không quá 24 giờ.

Hiệu suất (%) chiết xuất thảo dược được dựa theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam IV [17]:

Hiệu suất (%) = [khối lượng chất chiết xuất (g) / khối lượng mẫu cao chiết] * 100.

4) Phương pháp xác định khả năng kháng khuẩn của thảo dược qua khuếch tán trên giếng thạch: Phục hồi vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trong môi trường BHIB có bổ sung 1,5% NaCl. Mật độ vi khuẩn sẽ được xác định bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 610 nm. Khi mật độ vi khuẩn đạt 10^8 CFU/mL, chúng ta lắc đều bình chứa vi khuẩn, dùng pipet hút 100 μL vi khuẩn nhỏ vào giữa đĩa thạch môi trường BHIA, dùng que thủy tinh trải đều. Sau 15 phút tiến hành đục lỗ trên mặt thạch với đường kính 6 mm/lỗ đục cách nhau khoảng 20 mm và khoảng cách giữa lỗ với mép đĩa petri 10-15 mm. Mỗi đĩa petri (đường kính 100 mm) đục bốn lỗ.

Chúng ta dùng pipet hút 100 μL chiết xuất dịch tươi thảo dược nhỏ trực tiếp vào giếng thạch. Thảo dược ethanol 90% và thảo dược ethanol 70% được chiết xuất, đem pha loãng

với nước 1,5% NaCl (tỉ lệ thảo dược và nước 1,5% NaCl là 1 : 10). Sau đó, chúng ta hút 100 μL nhỏ vào giếng thạch (mỗi nghiệm thức lặp lại ba lần), đặt đĩa thạch vào tủ ấm ở điều kiện 37^{o}C. Sau 24 giờ, chúng ta tiến hành đọc kết quả bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn [18]-[20].

5) Phương pháp thử nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu (MIC): Thảo dược được pha loãng với 1,5% NaCl theo các nồng độ 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L, 40 mg/L, 80 mg/L... 163.840 mg/L. Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được nuôi tăng sinh trong môi trường BHIB có bổ sung 1,5% NaCL. Mật độ vi khuẩn dung trong thí nghiệm là 10^8 CFU/ mL, thí nghiệm lặp lại ba lần. Sau 24 giờ, chúng ta đọc và ghi nhận kết quả [16].

C. Phương pháp xử lí số liệu

Các số liệu được xử lí thống kê sinh học bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 18.

D. Kết quả chiết xuất thảo dược

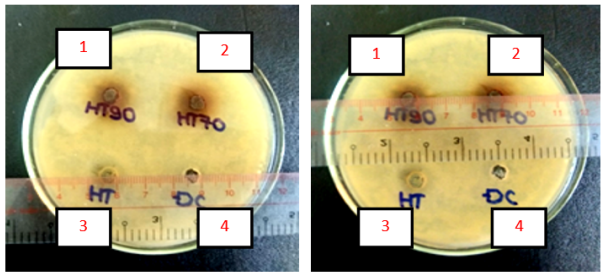
Bảng 1: Kết quả hiệu suất chiết xuất ethanol 70% và ethanol 90% của thảo dược

Loại dịch chiết	Khối lượng khô (g)	Khối lượng cao chiết (g)	Hiệu suất (%)
Lá trứng cá			
Ethanal 70%	200	38,24	19,12
Ethanal 90%	200	37,66	18,83
Hành tây			
Ethanal 70%	200	87,89	43,94
Ethanal 90%	200	66,86	33,43
Thù lù			
Ethanal 70%	200	50,85	25,42
Ethanal 90%	200	46,82	23,41

(Nguồn: Tác giả tổng hợp)

Hiệu suất chiết xuất từ ethanol 70% cao nhất là cao chiết hành tây (43,94%), thấp nhất là cao chiết lá trứng cá (19,12%). Đối với chiết xuất từ ethanol 90%, hiệu suất cao nhất ở hành tây (33,43%) và thấp nhất ở lá trứng cá (18,83%). Kết quả hiệu suất chiết xuất lá trứng cá từ dung môi ethanol cao hơn so với hiệu suất chiết xuất lá trứng cá từ dung môi nước (11,928 %) của Puguh et al. [21] Kết quả hiệu suất chiết xuất thù lù từ dung môi ethanol thấp hơn so với hiệu suất chiết xuất thù lù từ dung môi nước (29,44%) của Aina et al. [22]. Kết quả hiệu suất chiết xuất hành tây từ dung môi ethanol cao hơn so với hiệu suất chiết xuất hành tây từ dung môi ethyl acetate (1,64%) của Đỗ Thị Thanh Trung và cộng sự [23]. Phương pháp chiết xuất và dung môi khác nhau cho hiệu suất chiết xuất thu được khác nhau. Nguyên nhân là do các điều kiện nhiệt độ, thời gian sấy mẫu, mẫu thu hái những vùng khác nhau, thời gian thu hái khác nhau, loại dung môi. Các điều kiện này ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất, mức độ phá vỡ mô tế bào và giải phóng các chất có trong thảo dược [24].

E. Hoạt tính kháng khuẩn của thảo dược đối với vi khuẩn V. parahaemolyticus gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm



Hình 1: Khả năng ức chế vi khuẩn của hành tây

(Ghi chú: (1) thảo dược chiết xuất bằng ethanol 90%; (2) thảo dược chiết xuất bằng ethanol 70%; (3) dịch tươi: (4) đối chứng (-): 1,5% NaCl)

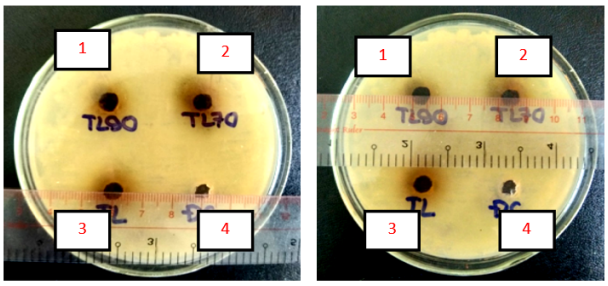
Kết quả thí nghiệm ở Bảng 2 cho thấy cao chiết lá trứng cá có đường kính kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* lớn hơn hành tây và thù lù, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Chiết xuất lá trứng cá bằng ethanol 70% cho kết quả cao nhất với đường kính kháng

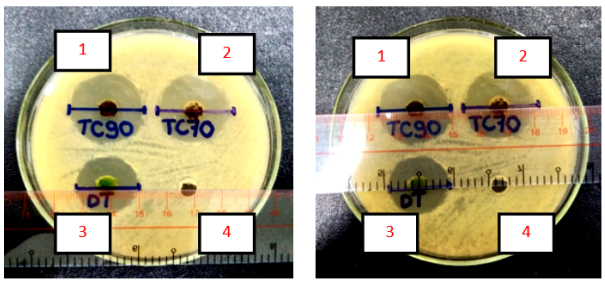
Bảng 2: Khả năng kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* của các loại chiết xuất từ lá trứng cá, hành tây và thù lù

Loại thảo dược	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)
Trứng cá	
Ethanol 70%	18,00 ± 0,00^{c}
Ethanol 90%	17,33 ± 0,58^{c}
Dịch tươi	13,00 ± 0,00^{b}
Hành tây	
Ethanol 70%	0 ± 0^{a}
Ethanol 90%	0 ± 0^{a}
Dịch tươi	0 ± 0^{a}
Thù lù	
Ethanol 70%	0 ± 0^{a}
Ethanol 90%	0 ± 0^{a}
Dịch tươi	0 ± 0^{a}
Đối chứng (-): NaCl 1.5%	0
P	0

(Nguồn: Tác giả tổng hợp)
(Ghi chú: Các giá trị trong bảng là trung bình và độ lệch chuẩn, các giá trị trong cùng một cột có các kí tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,005))



Hình 2: Khả năng ức chế vi khuẩn của thù lù
(Ghi chú: (1) thảo dược chiết xuất bằng ethanol 90%; (2) thảo dược chiết xuất bằng ethanol 70%; (3) dịch tươi: (4) đối chứng (-): 1,5% NaCl)



Hình 3: Khả năng ức chế vi khuẩn của lá trứng cá
(Ghi chú: (1) thảo dược chiết xuất bằng ethanol 90%; (2) thảo dược chiết xuất bằng ethanol 70%; (3) dịch tươi: (4) đối chứng (-): 1,5% NaCl)

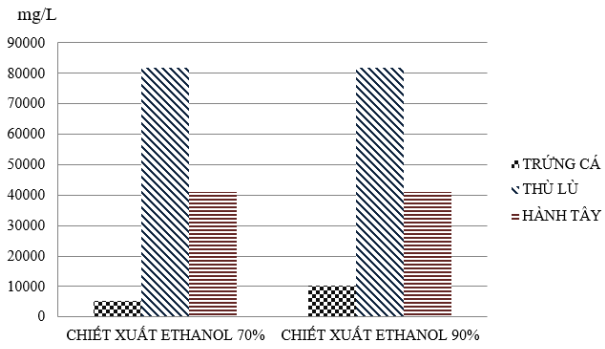
khuẩn lớn nhất đạt 18,00 ± 0,00 mm, tiếp theo lần lượt là chiết xuất lá trứng cá ethanol 90% với vòng vô khuẩn là 17,33 ± 0,58 mm và dịch tươi là 13,00 ± 0,00 mm. Đường kính vòng kháng khuẩn của chiết xuất lá trứng cá ethanol 70% khác biệt có ý nghĩa thống kê so với dịch tươi nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê với chiết xuất lá trứng cá ethanol 90% ($p < 0,05$).

Khả năng kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* của chiết xuất lá trứng cá ethanol 70% và ethanol 90% có đường kính kháng khuẩn lớn hơn so với nghiên cứu của Hồng Mộng Huyền và cộng sự [13] đối với bảy loại chiết xuất thảo dược: thầu dầu, lưỡi rắn, mật gấu, chùm ngây, lược vàng, ô rô và sài đất, vòng kháng khuẩn lần lượt như sau: 17,5 ± 0,7 mm, 7,0 ± 0,0 mm, 9,5 ± 0,7 mm 9,0 ± 0,0 mm, 7,5 ± 0,7 mm, 9,0 ± 1,4 mm và 8,0 ± 1,4 mm.

Lá trứng cá chứa hợp chất flavonoid, tanin, saponin. Theo Cushine et al. [25], hầu hết các hợp chất flavonoid có tác dụng kháng khuẩn do nó kìm hãm và ngăn sự phân chia của vi khuẩn, ức chế enzym transpeptid, ngăn quá trình tổng hợp mucopeptid (yếu tố tạo nên sự bền vững thành vi khuẩn), khi hợp chất flavonoid gắn lên màng vi khuẩn làm thay đổi tính thấm của màng, ức chế quá trình tổng hợp acid nucleic và RNA của vi khuẩn

và ức chế sự hoạt động của hyaluronidase (enzym giúp cho vi khuẩn tấn công sang các tế bào lân cận). Bên cạnh đó, các vòng carbon sáu cạnh có gắn các nhóm OH cũng gây ảnh hưởng đến thành tế bào vi khuẩn. Các nhóm hợp chất này sẽ xuyên qua thành tế bào vi khuẩn sau đó bám chặt vào những cấu trúc ở kích thước phân tử trong tế bào vi sinh vật như protein và glycoprotein, điều này làm rối loạn quá trình sinh tổng hợp của các vi sinh vật đó gây chết vi sinh vật [26].

F. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của chiết xuất thảo dược lên vi khuẩn V. parahaemolyticus gây bệnh bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm



Hình 4: Kết quả nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của chiết xuất thảo dược

Kết quả thí nghiệm với chiết xuất ethanol 70% giá trị MIC thấp nhất ở chiết xuất lá trứng cá (5.120 mg/L) và cao nhất là chiết xuất thù lù (81.920 mg/L). Chiết xuất ethanol 90% giá trị MIC thấp nhất ở chiết xuất lá trứng cá (10.240 mg/L) và cao nhất là chiết xuất thù lù (81.920 mg/L). Khả năng kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* của chiết xuất lá trứng cá cao hơn so với nghiên cứu của Hồng Mộng Huyền và cộng sự [13], nồng độ MIC của cây thầu dầu là 2,5 mg/mL. Ngoài ra, nghiên cứu cây chó đẻ thân xanh trên vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính cho thấy: kết quả MIC là 125 mg/mL [27]. Cao chiết của cây chó đẻ thân xanh đối với vi khuẩn V. parahaemoliticus giá trị MIC bằng 312 mg/mL [28].

IV. KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ

Chiết xuất lá trứng cá ethanol 70% có đường kính vòng kháng khuẩn lớn nhất đạt 18,00 ± 0,00 mm. Tiếp theo, chiết xuất lá trứng cá ethanol 90% là 17,33 ± 0,58 mm và chiết xuất dịch tươi là 13,00 ± 0,00 mm.

Giá trị MIC của chiết xuất lá trứng cá ethanol 90%, chiết xuất lá trứng cá ethanol 70% lần lượt là 5.120 mg/L, 10.240 mg/L. Chiết xuất hành tây bằng ethanol 90%, 70% là 40.960 mg/L. Chiết xuất thù lù ethanol 90%, 70% là 81.920 mg/L.

Thí nghiệm nghiên cứu thảo dược kháng *V. parahaemolyticus* trong điều kiện in vitro. Do đó, chúng ta cần nghiên cứu gây cảm nhiễm và thăm dò hiệu quả của chiết xuất lá trứng cá kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng; xác định liều lượng thảo dược hợp lí đưa vào thức ăn trong quá trình phòng trị bệnh trong môi trường thí nghiệm và ngoài thực địa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] VFS. *Báo cáo ngành Thủy sản. Phòng Nghiên cứu phân tích* (Vietfirst Securitiest). Công ty Cổ phần chứng khoán Nhất Việt. 2018.

[2] Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. *Sản xuất thủy sản 10 tháng đầu năm tăng 5,5%*. Viện Kinh tế và Quy hoạch thủy sản. 2019.

[3] Eduardo M. Leano, Mohan C.V., Early Mortality Syndrome (EMS)/ Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS): An emrging threat in the Asian shrimp industry NACA, Bangkok, ThaiLand. *FAO Fisheries and Aquaculture Report*. 2012;1053:54.

[4] Panakorn S. Opinion article: more on early mortality syndrome in the shrimp. *Aquaculture Asia Pacific*. 2012;8(1): 8-10.

[5] Cục Thống kê Trà Vinh. *Tình hình kinh tế - xã hội tỉnh Trà Vinh quý I năm 2019*. 2019.

[6] Tran L, Nunan L, Redman R M, Mohney L L, Pantoja C. R, Fitzsimmons K, Lightner D V. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Dis. Aquat*. 2013.

[7] Brown J. Antibiotics: their use and abuse in aquaculture. *World Aquac*. 1989;20(2):34 - 43.

[8] Cos P, Vlietinck A.J., Berghe D.V., Maes L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof of concept'. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;106(3):290 – 302.

[9] Mahesh B., Satish S. Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences*. 2008;4:839-843.

[10] Trị Thủy. *Các nghiên cứu thảo mộc trong nuôi trồng thủy sản*. Truy cập từ: https://tepbac.com/tin-tuc/full/Cac-nghien-cuu-thao-moc-trong-nuoi-trong-thuy-san-22402.html [Ngày truy cập: 25/03/2020].

[11] Su Y. C., Liu C. Vibrio parahaemolyticus: a concern of seafood safety. *Food Microbiology*. 2007; 24, 549e558. 75.

[12] Nguyễn Công Tráng, Ngô Thị Kim Cúc, Phan Ngọc Thịnh. Khả năng kháng Vibrio parahaemolyticus của dịch trích cây trâm bầu (Combretum quadrangulare) trong điều kiện in vitro. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học An Giang*. 2018;19(1):1-6.

[13] Hồng Mộng Huyền, Võ Tấn Huy, Trần Thị Tuyết Hoa. Hoạt tính kháng khuẩn của một số cao chiết thảo dược kháng vi khuẩn gây bệnh ở tôm nuôi. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2018;Số chuyên đề: Thủy sản(2):143-150.

[14] Angela Di Pinto, Valentina Terio, Lucia Novello, Giuseppina Tantillo. Comparison between thiosulphate-citrate-bile salt sucrose (TCBS) agar and CHROMagar Vibrio for isolating Vibrio parahaemolyticus. *Food Control xxx*. 2010;1 e 4.

[15] Lê Xuân Phương. *Thí nghiệm vi sinh vật học*. Hà Nội: Nhà Xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội; 2008.

[16] Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu. *Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc*. Thành phố Hồ Chí Minh: Nhà Xuất bản Y học; 1985.

[17] Bộ Y tế. *Dược điển Việt Nam IV*. Hà Nội: Nhà Xuất bản Y học Hà Nội; 2009; PL1.1.

[18] Marie B. Coyle. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. *Library of Congress Cataloging-in-Publication Data*. 2005.

[19] Mary Jane Ferraro. *Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices*. 2009;49(11):1749-1755.

[20] Schillinger V., Luke, K.K. Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from meat. *Appl. Environ*. 1989; 55:1091-1096.

[21] Puguh Surijowar, Sarwiyono, Imam Thohari, Aswah Ridhowi. Quantitative and qualitative phytochemicals analysis of Muntingia calabura. Ethnopharm. *Ternak Tropikat Journal of Tropical Animal Production*. 2014;15(2):7-14.

[22] S.A. Aina, A.D. Banjo, O.A. Lawal, K. Jonathan. Efficacy of Some Plant Extracts on Anopheles gambiae Mosquito Larvae. *Academic Journal of Entomology 2*. 2009;(1):31-35.

[23] Đỗ Thị Thanh Trung, Phạm Thị Vui, Nguyễn Huyền Trang, Phạm Vinh Hoa, Nguyễn Thị Thanh Thi, Phạm Thị Lương Hằng, Phạm Bảo Yên. Đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn Helicobacter pylori của một số dịch chiết thảo dược Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Việt Nam*. 2018;60(7):23-27.

[24] Lê Phượng Hiệp. *Khảo sát khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh mụn trứng cá Propionibacterium acnes của cao chiết từ cây Trứng cá (Muntingia calabura L)* [Khóa luận tốt nghiệp]. Trường Đại học Tây Đô; 2017.

[25] Cushnie, Andrew. Antimicrobial activity of flavonoid. *International Journal of Antimicrobial Agent*. 2005;26:343-356.

[26] Immin P., Sinning C. H. and Meyer A. Drugs, their targets and the nature and number of drug targets. *Drug Discovery*. 2006;5:821-834.

[27] 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 để thân xanh (Phyllanthus amarus) đối với vi khuẩn Vibrio parahaemolitycus 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*. 2019;128(1E):99-106.

[28] Hai Thanh Nguyen, Lua T.Dang, Hanh Thi Nguyen, Hai Ha Hoang, Ha Thi Ngoc Lai, Ha Thi Thanh Nguyen. Screening antibacterial effects of Vietnamese plant extracts against pathogens caused acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimps. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018;11(5):77.