

DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.142

## SỰ ẢNH HƯỞNG CỦA THỰC KHUẨN THỂ VÀ CÁC LOẠI CAO CHIẾT ĐỐI VỚI *Vibrio* spp.

Trương Thị Bích Vân\*, Võ Ngọc Trâm Anh, Nguyễn Thị Phương Uyên, Lê Văn Trọng, Đoàn Thị Thơm, Võ Thành Duy, Lưu Đoàn Minh Nhựt, Võ Thị Thiên Trúc, Nguyễn Hữu Trí và Tiêu Ngọc Thanh

Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trương Thị Bích Vân (email: [tbvan@ctu.edu.vn](mailto:tbvan@ctu.edu.vn))

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 26/05/2022

Ngày nhận bài sửa: 27/06/2022

Ngày duyệt đăng: 07/07/2022

### Title:

Effects of bacteriophages and herbal extract on *Vibrio* spp.

### Từ khóa:

Cao chiết, đa kháng thuốc thực khuẩn thể, *Vibrio* spp.  $\phi$ TT1H,  $\phi$ TT2H

### Keywords:

Bacteriophage, herbal extract multidrug-resistant, *Vibrio* spp.,  $\phi$ TT1H,  $\phi$ TT2H

### ABSTRACT

*Vibrio* spp. is the cause of bacterial diseases on aquatic products in general and shrimp in particular. Antibiotic treatments have produced multidrug-resistant strains of microorganisms. This study aims to evaluate the effect of herbal extracts and herbal extracts combined with bacteriophages on strains of *Vibrio* spp.. The study was carried out by two methods: Diffusion through agar well and spread by counting the number of bacteria. The results showed that, in the experiment of diffusion through the agar plate, most extracts and extracts combined with bacteriophages formed an inhibitory ring, which was statistically different from the control tetracycline 5 mg/mL. The results showed that most bacteriophages and extracts reduced the number of bacteria, however, pomegranate extract, phosphate head extract and  $\phi$ TT1H,  $\phi$ TT2H changed the density without statistical significance ( $p < 0.05$ ).

### TÓM TẮT

*Vibrio* spp. là nguyên nhân gây ra các bệnh vi khuẩn trên thủy sản nói chung và tôm nói riêng. Phương pháp điều trị bằng kháng sinh đã tạo ra các chủng vi sinh vật đa kháng thuốc. Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá ảnh hưởng của cao chiết và cao chiết kết hợp thực khuẩn thể đối với các dòng *Vibrio* spp. Nghiên cứu được thực hiện theo hai phương pháp là khuếch tán qua đĩa thạch và trải đếm so sánh mật số vi khuẩn. Kết quả cho thấy, ở thí nghiệm khuếch tán qua đĩa thạch, hầu hết cao chiết và cao chiết kết hợp thực khuẩn thể đều tạo vòng ức chế, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng tetracycline 5 mg/mL. Kết quả trải đếm cho thấy hầu hết các loại thực khuẩn thể và cao chiết đều làm giảm mật số vi khuẩn. Tuy nhiên, cao chiết lựu, cao chiết đầu lân và  $\phi$ TT1H,  $\phi$ TT2H làm thay đổi mật số không có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

## 1. GIỚI THIỆU

Nuôi trồng thủy sản là một ngành quan trọng và đang tăng trưởng trong nền kinh tế nông nghiệp của Việt Nam. Theo thống kê của Tổng cục Thủy sản, sản lượng nuôi trồng thủy sản năm 2021 ước đạt 4,65 triệu tấn, tăng 1,97% so với năm 2020, trong đó sản lượng tôm nuôi các loại đạt 970 nghìn tấn (Tổng cục Thủy sản, 2021). Tuy nhiên, hiện nay,

ngành nuôi tôm vẫn chịu tổn thất nặng nề do dịch bệnh đối với tôm. Một số loại mầm bệnh nguy hiểm như: bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND), bệnh phát sáng, đỏ thân, mòn kitin... vẫn xuất hiện ở nhiều vùng nuôi. Trong đó *Vibrio vulnificus*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio damsela*, *Vibrio alginolyticus* và *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* là nguyên nhân chủ yếu gây ra bệnh trên tôm (de Souza Valente & Wan, 2021).

Hiện nay, phương pháp phổ biến để xử lý bệnh do *Vibrio* spp. gây ra là sử dụng thuốc kháng sinh. Tuy nhiên, việc lạm dụng bất kỳ loại kháng sinh nào trong nuôi trồng thủy sản đều bị tổn hại do sự xuất hiện của các chủng vi khuẩn đa kháng thuốc. Về bản chất, vi khuẩn có thể đề kháng với các chất kháng khuẩn khác nhau hoặc chúng có thể kháng thuốc thông qua chuyển gen ngang (Aich et al., 2018). Do đó, trong những năm gần đây, việc tìm kiếm các hợp chất, cao chiết có tính kháng khuẩn đang được đẩy mạnh.

Các loài cây thuốc được sử dụng rộng rãi trong nuôi trồng thủy sản là gừng (*Zingiber officinale*), hành (*Allium cepa*), tỏi (*Allium sativum*), nhân sâm Ấn Độ (*Whitania somnifera*), cỏ xạ hương (*Origanum heracleoticum* L.),... (Hodar et al., 2021). Nghiên cứu của Hoa và ctv. (2021) đã sử dụng chất chiết từ lá lựu để phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng. Kết quả cho thấy chế độ cho ăn bổ sung chất chiết lá lựu mức 2% giúp gia tăng tốc độ tăng trưởng ( $p > 0,05$ ), và một số chỉ tiêu miễn dịch không đặc hiệu ở tôm thẻ chân trắng ( $p < 0,05$ ). Chiết xuất ethanolic của *Couroupita guianensis* (cây đầu lân) và *Atalantia monophylla* có hoạt tính kháng khuẩn chống lại ba vi khuẩn Gram dương *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* và bốn vi khuẩn Gram âm *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* (Premalatha & Ramar, 2019). Hoạt tính kháng khuẩn của tỏi đã được nghiên cứu về sự ức chế *Vibrio* sp. phân lập từ mẫu nước ao nuôi tôm bằng phương pháp khuếch tán giếng, kết quả cho thấy *Vibrio* sp. cho thấy các mức độ nhạy cảm khác nhau với các nồng độ khác nhau của nước ép tỏi tươi. Vùng ức chế sự phát triển của vi khuẩn tăng lên khi tăng nồng độ nước ép tỏi tươi (Angela Mercy & Gopalakannan, 2018). Theo nghiên cứu của Kharisma et al. (2020) về chiết xuất lá bàng chống lại *Vibrio harveyi*, chiết xuất lá bàng có khả năng ức chế và tiêu diệt vi khuẩn *V. harveyi* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Theo Kharisma et al. (2020), lá cây trứng cá chứa nhiều flavonoid, tanin, triterpene, saponin và polifenol như chất chống oxy hóa, một chất chống vi khuẩn, các hợp chất phân cực trong saponin, flavonoid và tanin hoạt động như kháng khuẩn bằng cách phá hủy màng tế bào chất và giết chết tế bào biểu bì.

Việc sử dụng thực khuẩn thể (TKT) để điều trị các bệnh do vi khuẩn *Vibrio* spp. gây bệnh trên tôm đã và đang được nghiên cứu trong nhiều năm gần đây (Jun et al., 2018). Trong một nghiên cứu của Li et al. (2020), có thể xác định rằng, việc sử dụng kết hợp nhiều loại thực khuẩn thể là một cách an toàn

và khả thi để chống lại sự lây nhiễm vi khuẩn *Vibrio* (*V. alginolyticus*, *V. cyclitrophicus* và *V. splendidus*) ở hải sâm (*Apostichopus japonicus*). Theo kết quả nghiên cứu của Jun et al. (2016), nhận thấy sau khi điều trị dự phòng và điều trị bằng thực khuẩn thể pVp-1, tôm phục hồi đáng kể từ các tổn thương mô bệnh học do AHPND.

Chính vì vậy, việc nghiên cứu sự ảnh hưởng của cao chiết trứng cá, cao chiết lá bàng, dịch ép tỏi, cao chiết rau mương, cao chiết lựu và cao chiết quả đầu lân khi có và không có kết hợp với thực khuẩn thể đối với sự ức chế *Vibrio* spp. đã được thực hiện.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Các dòng *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae* của Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Các dòng thực khuẩn thể  $\phi$ 23L3,  $\phi$ TT1H,  $\phi$ TT2H,  $\phi$ 3A,  $\phi$ 23A,  $\phi$ 3F từ phòng Thí nghiệm Sinh học Phân tử, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Cao chiết trứng cá (*Muntingia calabura*), cao chiết bàng (*Terminalia catappa*), cao chiết lựu (*Punica granatum*), cao chiết quả đầu lân (*Couroupita guianensis*), cao chiết rau mương (*Ludwigia hyssopifolia*) và cao chiết tỏi (*Allium sativum* L.) được cung cấp từ Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ.

### 2.2. Phương pháp

#### 2.2.1. Khảo sát sự tương tác giữa cao chiết và thực khuẩn thể đối với sự ức chế *Vibrio* spp. bằng phương pháp khuếch tán đĩa

Trong nghiên cứu này, sự tương tác của cao chiết và thực khuẩn thể đối với ức chế vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae* được xác định. Các dòng vi khuẩn được tăng sinh trong môi trường TSB 2% NaCl, trong 24 giờ ở 28°C. Sau đó, dịch huyền phù vi khuẩn được trải đều lên đĩa thạch TSA 2% NaCl và 2% agars. Tiếp theo, các đĩa thạch được khoan giếng có đường kính 6 mm, dùng micropipette hút lần lượt 25  $\mu$ L các nghiệm thức (tetracycline 5 mg/mL, cao chiết 50 mg/mL, thực khuẩn thể, thực khuẩn thể kết hợp cao chiết, nước, DMSO 30%) vào giếng, đợi khô. Đường kính vòng kháng khuẩn được đo bằng thước đo có đơn vị mm sau 24 giờ ủ mẫu ở 37°C.

#### 2.2.2. Khảo sát sự tương tác giữa cao chiết và thực khuẩn thể đối với sự ức chế *Vibrio* spp. bằng phương pháp trải đếm

Nhằm đánh giá sự thay đổi về mật số khuẩn lạc khi trải vi khuẩn trên môi trường TCBS, vi khuẩn

được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB 2% NaCl ở 28°C trong 24 giờ. Sau đó, chuẩn bị đĩa môi trường TCBS 2% agar. Vi khuẩn được pha loãng đến nồng độ thích hợp. Các nghiệm thức gồm: Đĩa 1: 100 µL huyền phù vi khuẩn (đối chứng); Đĩa 2: 100 µL huyền phù vi khuẩn và 2 µL TKT (để yên 30 phút); Đĩa 3: 100 µL huyền phù vi khuẩn và 2 µL cao chiết (để yên 60 phút); Đĩa 4: 100 µL huyền phù vi khuẩn và 2 µL cao chiết (để yên 60 phút), rồi tiếp tục cho thêm 2 µL TKT (để yên 30 phút). Nghiệm thức được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Các đĩa được ủ ở 28°C trong 24 giờ và đánh giá sự thay đổi về mật số khuẩn lạc.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Khảo sát tương tác giữa cao chiết và thực khuẩn thể lên sự ức chế *Vibrio* spp. bằng phương pháp khuếch tán đĩa

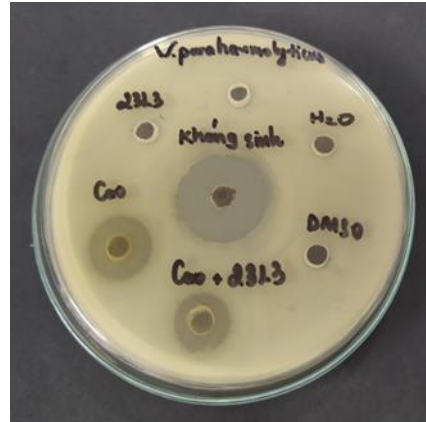
##### 3.1.1. Khảo sát tương tác giữa cao chiết trứng cá và $\phi$ 23L3 lên sự ức chế *V. parahaemolyticus*

Kết quả thống kê cho thấy đường kính vòng vô khuẩn khác biệt có ý nghĩa ở ba nghiệm thức là tetracycline, cao chiết trứng cá và  $\phi$ 23L3 kết hợp cao chiết trứng cá (Bảng 1, Hình 1). Nghiệm thức  $\phi$ 23L3 không xuất hiện vòng vô khuẩn nhưng khi  $\phi$ 23L3 kết hợp với cao chiết trứng cá lại cho vòng vô khuẩn có kích thước nhỏ hơn vòng vô khuẩn của cao chiết trứng cá. Một số nhà nghiên cứu cho rằng các thành phần kháng khuẩn có trong cao chiết thực vật như terpenoid, alkaloid và polyphenol tương tác với enzyme và protein của màng vi khuẩn gây ra sự phân tán của dòng proton về phía bên ngoài tế bào. Điều này dẫn đến sự chết của tế bào hoặc có thể ức chế enzyme sinh tổng hợp amino acid của vi khuẩn (Gill & Holley, 2006). Sự ức chế của cao chiết giúp TKT xâm nhiễm vào vi khuẩn dễ dàng hơn, cho kết quả hình thành nên vòng vô khuẩn. Trong thí nghiệm này, kháng sinh tetracycline thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn so với cao chiết trứng cá và cao chiết trứng cá kết hợp  $\phi$ 23L3.

**Bảng 1. Đường kính trung bình vòng kháng khuẩn *V. parahaemolyticus***

Nghiệm thức	Đường kính kháng khuẩn (mm)
Tetracycline 5 mg/mL	21,000 <sup>a</sup> ± 1,000
Cao chiết trứng cá	13,333 <sup>b</sup> ± 0,577
Cao chiết trứng cá + $\phi$ 23L3	9,333 <sup>c</sup> ± 0,577

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )



**Hình 1. Kết quả khuếch tán qua đĩa của  $\phi$ 23L3 và cao chiết trứng cá với vi khuẩn *V. Parahaemolyticus***

##### 3.1.2. Khảo sát tương tác giữa cao chiết bàng và $\phi$ 3F lên sự ức chế *V. vulnificus*

Kết quả định tính mức ảnh hưởng của  $\phi$ 3F và cao chiết bàng đến *Vibrio* spp. qua phương pháp khuếch tán đĩa cho thấy  $\phi$ 3F không tạo được vòng vô khuẩn. Cao chiết bàng tạo vòng vô khuẩn kích thước 21,7 mm và cao chiết bàng +  $\phi$ 3F tạo vòng vô khuẩn có kích thước 23,4 mm, gần bằng đối chứng đương tetracycline có kích thước 24 mm (Bảng 2).

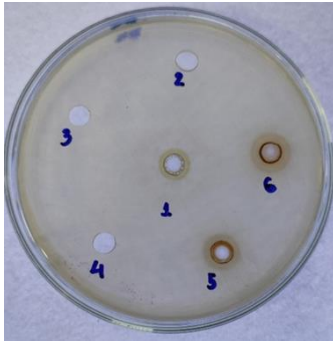
**Bảng 2. Đường kính trung bình vòng vô khuẩn dòng *V. vulnificus* với cao chiết bàng và  $\phi$ 3F**

Nghiệm thức	Đường kính kháng khuẩn (mm)
Tetracycline 5 mg/mL	23,333 <sup>a</sup> ± 0,577
Cao chiết bàng	21,667 <sup>b</sup> ± 0,577
Cao chiết bàng + $\phi$ 3F	22,333 <sup>ab</sup> ± 0,577

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

##### 3.1.3. Khảo sát tương tác giữa cao chiết lựu và $\phi$ TT1H lên sự ức chế *V. vulnificus*

Nghiệm thức cao chiết lựu và nghiệm thức cao chiết lựu kết hợp  $\phi$ TT1H đều tạo thành vòng vô khuẩn với dòng *V. vulnificus* (Hình 2). Cụ thể, kích thước các vòng vô khuẩn bằng hoặc lớn hơn so với vòng vô khuẩn của tetracycline 5 mg/mL (Bảng 3). Từ đó, cao chiết lựu có thể được sử dụng để ức chế sự phát triển của vi khuẩn *V. vulnificus* hoặc kết hợp cao chiết lựu với các phương pháp khác để tăng hiệu quả điều trị trên vi khuẩn *V. vulnificus*, giúp hạn chế việc sử dụng kháng sinh trong điều trị bệnh, giảm các trường hợp vi khuẩn đa kháng thuốc hiện nay.



**Hình 2. Vòng vô khuẩn của *V. vulnificus* ở các nghiệm thức**

Ghi chú: 1: Kháng sinh; 2: *V. vulnificus*; 3: DMSO 30%; 4: H<sub>2</sub>O; 5: *V. vulnificus* + cao chiết lựu +  $\phi$ TT1H; 6: Cao lựu

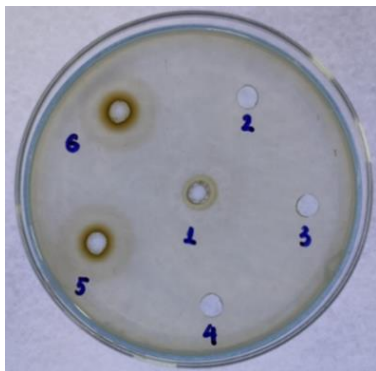
**Bảng 3. Đường kính trung bình vòng vô khuẩn dòng *V. vulnificus***

Nghiệm thức	Đường kính kháng khuẩn (mm)
Tetracycline 5 mg/mL	10 <sup>c</sup> ± 1,000
Cao chiết lựu	12,67 <sup>b</sup> ± 1,150
Cao chiết lựu + $\phi$ TT1H	14,33 <sup>a</sup> ± 0,600

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

3.1.4. Khảo sát tương tác giữa cao chiết đầu lựu và  $\phi$ TT2H lên sự ức chế *V. vulnificus*

Kết quả định tính cho thấy cao chiết quả đầu lựu có khả năng ức chế vi khuẩn *V. vulnificus*. Quan sát trên đĩa thạch, có thể thấy, sự hình thành vòng vô khuẩn, kích thước vòng vô khuẩn của tetracycline lớn hơn so với kích thước của nghiệm thức cao chiết quả đầu lựu và cao chiết quả đầu lựu tương tác  $\phi$ TT2H (Bảng 4, Hình 3).



**Hình 3. Vòng vô khuẩn của *V. vulnificus* ở các nghiệm thức**

Ghi chú: 1: Kháng sinh; 2: *V. vulnificus*; 3: DMSO 30%; 4: H<sub>2</sub>O; 5: *V. vulnificus* + cao chiết đầu lựu +  $\phi$ TT2H; 6: Cao chiết đầu lựu

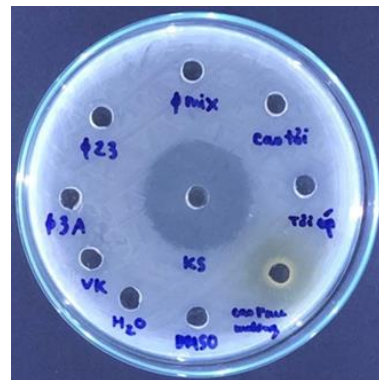
**Bảng 4. Đường kính trung bình vòng vô khuẩn dòng *V. vulnificus* với CDL và  $\phi$ TT2H**

Nghiệm thức	Đường kính kháng khuẩn (mm)
Tetracycline 5 mg/mL	9,67 <sup>a</sup> ± 0,58
Cao chiết đầu lựu	5,33 <sup>b</sup> ± 0,58
Cao chiết đầu lựu + $\phi$ TT2H	4,33 <sup>c</sup> ± 0,58

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

3.1.5. Khảo sát tương tác giữa cao chiết rau mương và dịch tỏi ép lần lượt với  $\phi$ 3A và  $\phi$ 23A lên sự ức chế *V. cholerae*

Khảo sát khả năng tạo vòng vô khuẩn của cao chiết tỏi, dịch tỏi ép và cao chiết rau mương khi có và không có tương tác với TKT lên sự ức chế vi khuẩn *V. cholerae* được xác định bằng phương pháp khuếch tán đĩa. Kết quả cho thấy cao chiết rau mương và dịch tỏi ép có khả năng tạo vòng vô khuẩn với dòng *V. cholerae* (Hình 4, Bảng 5)



**Hình 4. Vòng vô khuẩn của cao chiết tỏi, dịch tỏi ép, TKT và cao chiết rau mương với vi khuẩn *V. cholerae***

Kết quả thí nghiệm cho thấy cao chiết tỏi không có khả năng ức chế *V. cholerae*. Tuy nhiên, khi sử dụng dịch tỏi ép đã tạo vòng vô khuẩn 7,00<sup>b</sup> ± 1.000 mm. Từ đây, có thể thấy, hoạt tính kháng khuẩn của chất chiết xuất từ thực vật phụ thuộc vào sinh vật thí nghiệm và phương pháp chiết xuất.

**Bảng 5. Đường kính trung bình vòng vô khuẩn của dòng *V. cholerae***

Nghiệm thức	Đường kính (mm)
Tetracycline	22,33 <sup>a</sup> ± 0,577
Dịch tỏi ép	7,00 <sup>b</sup> ± 1,000
Cao chiết rau mương	13,33 <sup>c</sup> ± 0,577
Cao chiết tỏi	-

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ); (-) không tạo vòng vô khuẩn

**3.2. Khảo sát tương tác giữa cao chiết và thực khuẩn thể lên sự ức chế *Vibrio* spp. bằng phương pháp trải đếm**

**3.2.1. Khảo sát tương tác giữa cao chiết trứng cá và  $\phi$ 23L3 lên sự ức chế *V. parahaemolyticus***

Kết quả trải đếm qua ba lần lặp lại khác biệt có ý nghĩa thống kê. Cụ thể, mật số vi khuẩn giảm từ 46% đến 72% khi có sự xuất hiện của  $\phi$ 23L3 và cao chiết trứng cá. Mật số vi khuẩn khi có sự kết hợp giữa  $\phi$ 23L3 và cao chiết trứng cá giảm đáng kể nhất (Bảng 6).

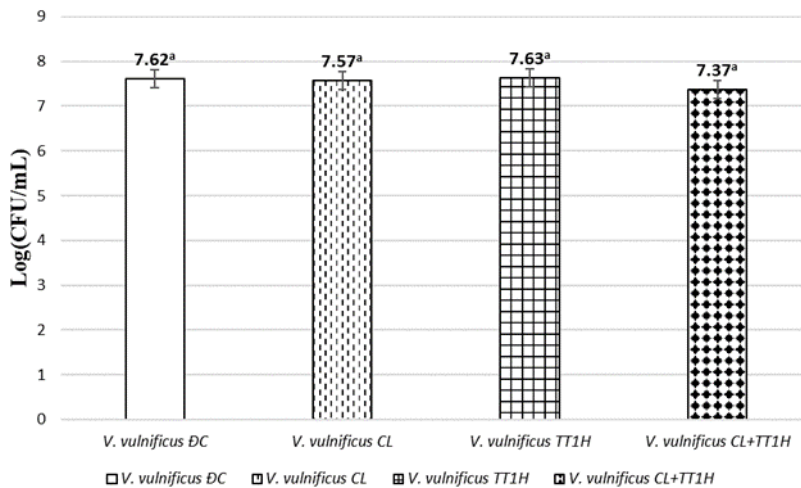
**Bảng 6. Mật số trung bình vi khuẩn khi có và không có tương tác thực khuẩn thể và cao chiết**

Nghiem thức	Mật số vi khuẩn (Log CFU/mL)
<i>V. parahaemolyticus</i>	6,614 <sup>a</sup> ± 0,016
<i>V. parahaemolyticus</i> + $\phi$ 23L3	6,252 <sup>b</sup> ± 0,100
<i>V. parahaemolyticus</i> + Cao chiết trứng cá	6,355 <sup>bc</sup> ± 0,017
<i>V. parahaemolyticus</i> + Cao chiết trứng cá + $\phi$ 23L3	6,124 <sup>c</sup> ± 0,062

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

**3.2.2. Khảo sát tương tác giữa cao chiết bàng và  $\phi$ 3F lên sự ức chế *V. vulnificus***

Kết quả cho thấy các nghiệm thức đều khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), trong đó, nghiệm thức



**Hình 5. Biểu đồ thể hiện mật số vi khuẩn của *V.vulnificus* khi có và không có kết hợp cao chiết và TKT**

ĐC: đối chứng; CL: Cao chiết lựu; TT1H:  $\phi$ TT1H

Kết quả thí nghiệm cho thấy thực khuẩn thể và cao chiết có khả năng ức chế vi khuẩn khác nhau, phụ thuộc vào đối tượng nghiên cứu và phương pháp

có bổ sung cao chiết bàng làm mật số vi khuẩn giảm đáng kể nhất (Bảng 7). Kết quả tương đồng với thí nghiệm của Kharisma et al. (2020) khi thực hiện thử hoạt tính của cao chiết lá bàng trên dòng vi khuẩn *V. harveyi*. Kết quả nghiên cứu này cho thấy nồng độ tối thiểu của dịch chiết lá bàng có thể ức chế vi khuẩn *V. harveyi* là 1,56% và nồng độ có khả năng tiêu diệt là 3,12%. Điều này chứng tỏ rằng lá bàng có thể được sử dụng như một nguồn nguyên liệu kháng *Vibrio* spp.

**Bảng 7. Mật số vi khuẩn khi có và không có kết hợp  $\phi$ 3F và cao chiết lá bàng**

Nghiem thức	Mật số vi khuẩn (Log CFU/mL)
<i>V. vulnificus</i>	7,68 <sup>a</sup> ± 0,01
$\phi$ 3F	7,21 <sup>b</sup> ± 0,05
Cao chiết bàng	6,96 <sup>c</sup> ± 0,03
Cao chiết bàng + $\phi$ 3F	7,22 <sup>b</sup> ± 0,04

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

**3.2.3. Khảo sát tương tác giữa cao chiết lựu và  $\phi$ TT1H lên sự ức chế *V. vulnificus***

Kết quả đánh giá mật số khuẩn lạc ở các nghiệm thức cho thấy khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) (Hình 5).

thực hiện. Hoạt động kháng khuẩn của nước ép lựu phụ thuộc vào sinh vật thử nghiệm. Kết quả nghiên cứu của Haghayeghi et al., 2013 cho thấy nước ép

lưu ỨC chế hai loài Gram âm là *Helicobacter pylori* và *V. parahaemolyticus*. Hoạt tính kháng khuẩn của nước ép lưu phụ thuộc vào sinh vật thử nghiệm và phương pháp chiết xuất (Haghayeghi et al., 2013).

**Bảng 8. Mật số vi khuẩn khi có và không có kết hợp  $\phi$ TT2H và cao chiết quả đầu lân (CĐL)**

Nghiệm thức	Mật số vi khuẩn (Log CFU/mL)
<i>V. vulnificus</i>	7,63 <sup>a</sup> ± 0,30
<i>V. vulnificus</i> + $\phi$ TT2H	7,32 <sup>ab</sup> ± 0,16
<i>V. vulnificus</i> + CĐL	7,28 <sup>ab</sup> ± 0,23
<i>V. vulnificus</i> + $\phi$ TT2H+ CĐL	7,19 <sup>b</sup> ± 0,15

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

3.2.4. *Khảo sát tương tác giữa cao chiết đầu lân và  $\phi$ TT2H lên sự ức chế *V. vulnificus**

Kết quả đánh giá mật số vi khuẩn ở các nghiệm thức cho thấy khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Điều này có thể được giải thích do TKT ở giai đoạn tiềm tan (TKT ôn hòa) nên không làm giảm số lượng vi khuẩn. Nguyên nhân thứ hai có thể do vi khuẩn có xu hướng kháng lại tác nhân bên ngoài bằng cách tạo các lớp vi khuẩn chồng lên nhau khi có sự tấn công của TKT ở bề mặt, nhờ đó, vi khuẩn bên trong vẫn được bảo vệ và phát triển (Eriksen et al., 2018).

3.2.5. *Khảo sát tương tác giữa cao chiết rau mương và dịch tòi ép lần lượt với  $\phi$ 3A và  $\phi$ 23A lên sự ức chế *V. cholerae**

Kết quả khảo sát khả năng tương tác của dịch tòi ép và cao chiết rau mương với vi khuẩn *V. cholerae* ở ba lần lặp lại cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa (Hình 6, Bảng 9, Bảng 10).

**Bảng 9. Mật số vi khuẩn có và không có kết hợp cao chiết rau mương và dịch tòi ép**

Nghiệm thức	Mật số vi khuẩn (Log CFU/mL)
<i>V. cholerae</i>	9,432 <sup>a</sup> ± 0,062
Dịch tòi ép	9,353 <sup>b</sup> ± 0,019
Cao chiết rau mương	9,247 <sup>c</sup> ± 0,003

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Aich, N., Ahmed, N., & Paul, A. (2018). Issues of Antibiotic Resistance in Aquaculture Industry and Its Way Forward. *International Journal of*

**Bảng 10. Ảnh hưởng của TKT và cao chiết kết hợp TKT lên mật số vi khuẩn *V. cholerae***

Nghiệm thức	Mật số vi khuẩn (Log CFU/mL)
<i>V. cholerae</i>	8,240 <sup>a</sup> ± 0,020
<i>V. cholerae</i> + $\phi$ 3A	7,817 <sup>abc</sup> ± 0,096
<i>V. cholerae</i> + dịch tòi ép+ $\phi$ 3A	7,490 <sup>cd</sup> ± 0,318
<i>V. cholerae</i> +cao chiết rau mương+ $\phi$ 3A	7,213 <sup>d</sup> ± 0,308
<i>V. cholerae</i> + $\phi$ 23	7,470 <sup>cd</sup> ± 0,367
<i>V. cholerae</i> +dịch tòi ép+ $\phi$ 23	8,010 <sup>ab</sup> ± 0,494
<i>V. cholerae</i> + cao chiết rau mương + $\phi$ 23	7,547 <sup>bcd</sup> ± 0,107

Ghi chú: các giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

Kết quả khảo sát khả năng tương tác của TKT, cao chiết kết hợp TKT đối với vi khuẩn *V. Cholerae*. Khi so sánh với nghiệm thức chỉ có *V. cholerae* (ĐC), dịch tòi ép kết hợp  $\phi$ 3A và  $\phi$ 23; cao chiết rau mương kết hợp  $\phi$ 3A và  $\phi$ 23 cho khác biệt lớn về hiệu quả ức chế mật số vi khuẩn khi có sự kết hợp và sử dụng đơn lẻ các loại cao chiết và thực khuẩn thể.

**4. KẾT LUẬN**

Khi so sánh ảnh hưởng giữa cao chiết và cao chiết kết hợp thực khuẩn thể đều cho khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Đánh giá ảnh hưởng của cao chiết và cao chiết tương tác thực khuẩn thể đối với mật số vi khuẩn *Vibrio* cho thấy hầu hết đều làm giảm mật số vi khuẩn có ý nghĩa thống kê. Trong đó, đánh giá sự ảnh hưởng của  $\phi$ 23L3 và cao chiết trứng cá đối với dòng *V. parahaemolyticus*, các nghiệm thức đều làm giảm mật số vi khuẩn cho khác biệt có ý nghĩa thống kê. Đặc biệt, mật số giảm nhiều nhất khi kết hợp  $\phi$ 23L3 và cao chiết trứng cá. Đối với dòng vi khuẩn *V. vulnificus*, khi có sự tương tác giữa cao chiết bèo và  $\phi$ 3F làm ức chế mật số *V. vulnificus* so với đối chứng. Tuy nhiên, khi cho tương tác giữa cao chiết lưu và  $\phi$ TT1H hoặc cao chiết quả đầu lân và  $\phi$ TT2H thì không làm ức chế mật số vi khuẩn *V. vulnificus*.

**LỜI CẢM ƠN**

Nghiên cứu này được hoàn thành với sự hỗ trợ từ đề tài nghiên cứu khoa học do Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ quốc gia (NAFOSTED) tài trợ (Mã số đề tài: Mã số: 106.04-2019.335).

*Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(08), 26–41. <https://doi.org/10.20546/IJCMAS.2018.708.004>

- Angela Mercy, A., & Gopalakannan, A. (2018). Antibacterial Activity of Fresh Garlic Juice against *Vibrio* sp. Isolated from Shrimp Farm Water: An in vitro Study. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(05), 485–489. <https://doi.org/10.20546/IJCMAS.2018.705.060>
- de Souza Valente, C., & Wan, A. H. L. (2021). *Vibrio* and major commercially important vibriosis diseases in decapod crustaceans. *Journal of Invertebrate Pathology*, 181, 107527. <https://doi.org/10.1016/J.JIP.2020.107527>
- Eriksen, R. S., Svenningsen, S. L., Sneppen, K., & Mitarai, N. (2018). A growing microcolony can survive and support persistent propagation of virulent phages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(2), 337–342. <https://doi.org/10.1073/pnas.1708954115>
- Gill, A. O., & Holley, R. A. (2006). Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *International Journal of Food Microbiology*, 108(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2005.10.009>
- Haghighy, K., Shetty, K., & Labbé, R. (2013). Inhibition of Foodborne Pathogens by Pomegranate Juice. [https://Home.Liebertpub.Com/Jmf, 16\(5\), 467–470](https://Home.Liebertpub.Com/Jmf,16(5),467-470). <https://doi.org/10.1089/JMF.2012.0233>
- Hoa, T. T. T., Huyền, H. M., Việt, L. Q., & Tuấn, N. T. (2021). Sử dụng thức ăn bổ sung chất chiết lá lựu (*Punica granatum*) phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 57, 160–168. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.075>
- Hodar, A., Vasava, R., Mahavadiya, D., Joshi, N., Kumar, V., & Harshad, S. (2021). Herbs and herbal medicines: a prominent source for sustainable aquaculture, 24, 719–732.
- Jun, J. W., Han, J. E., Giri, S. S., Tang, K. F. J., Zhou, X., Aranguren, L. F., Kim, H. J., Yun, S., Chi, C., Kim, S. G., & Park, S. C. (2018). Phage application for the protection from cute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in *Penaeus vannamei*. *Indian Journal of Microbiology*, 58(1), 114–117. <https://doi.org/10.1007/S12088-017-0694-9>
- Jun, J. W., Han, J. E., Tang, K. F. J., Lightner, D. v., Kim, J., Seo, S. W., & Park, S. C. (2016). Potential application of bacteriophage pVp-1: Agent combating *Vibrio parahaemolyticus* strains associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp. *Aquaculture*, 457, 100–103. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2016.02.018>
- Kharisma, A., Tjahjaningsih, W., & Sigit, S. (2020). Determination of minimum inhibitory and minimum bactericidal concentration of ketapang (*Terminatia catappa*) leaves extract against *Vibrio harveyi*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 441(1), 012012. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/441/1/012012>
- Li, Z., Ren, H., Li, Q., Murtaza, B., Li, X., Zhang, J., & Xu, Y. (2020). Exploring the effects of phage cocktails in preventing *Vibrio* infections in juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) farming. *Aquaculture*, 515, 734599. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2019.734599>
- Premalatha, S., & Ramar, G. (2019). Anti-bacterial properties of fractions isolated from *Couroupita guianensis* and *Atalantia monophylla*. ~ 542 ~ *The Pharma Innovation Journal*, 8(1), 542–547. [www.thepharmajournal.com](http://www.thepharmajournal.com)
- Tổng cục thủy sản (2021). *Tôm Việt Nam 2021: Sản lượng nuôi tăng, xuất khẩu ước đạt 3,8 tỷ USD*. <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/tin-t%E1%BB%A9c/-tin-v%E1%BA%AFn/doc-tin/016572/2021-12-13/tom-viet-nam-2021-san-luong-nuoi-tang-xuat-khau-uoc-dat-38-ty-usd>