HOẠT TÍNH KHÁNG VI KHUẨN GÂY BỆNH TRÊN CÁ CỦA MỘT SỐ CÂY THUỐC NAM Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Huỳnh Kim Diệu[1]

ABSTRACT

30 medicinal plants in Mekong delta were tested antibacterial activity to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) on Edwardsiella ictaluri, Edwardsiella tarda and Aeromonas hydrophila. The result showed that all tested medicinal plants had antibacterial activity (MIC=16-2048µg/ml). The greastest antibacterial activity against the experimented bacteria were Terminalia catappa, Psidium guajava, Piper betle and Melaleuca leucadendra (MIC=64-512 µg/ml). The greastest antibacterial activity against Aeromonas hydrophila was Terminalia catappa (MIC=128 µg/ml), against Edwardsiella ictaluri was Eleutherine bulbosa (MIC=16 µg/ml) and against Edwardsiella tarda was Ludwigia hyssopifolia (MIC=32 µg/ml). In those having significant antibacterial activity, Psidium guajava had best extract productivity (5,37%) and second Melaleuca leucadendra (3,37%). This study shows the potential to replace the antibiotics by medicinal plants in preventing and treating fish pathogens in future.

Keywords: medicinal plants, antibacterial activity, fish pathogens, extract productivity

Title: Antibacterial activity of some medicinal plants in the Mekong Delta of Viet Nam against common fish pathogens

TÓM TẮT

30 cây thuốc thuộc các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long, thường được dân gian sử dụng trị viêm nhiễm, được thử hoạt tính kháng khuẩn, xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) bằng phương pháp khuếch tán trên thạch và pha loãng trong thạch trên các chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá: Edwardsiella ictaluri, Edwardsiella tarda và Aeromonas hydrophila. Kết quả cho thấy các cây thuốc này đều có khả năng kháng khuẩn (MIC=16-2048µg/ml). Hoạt phổ mạnh trên cả 3 loại vi khuẩn thử nghiệm là Bàng, Ổi, Trầu không, Tràm (MIC=64-512 µg/ml). Tác động mạnh nhất trên Aeromonas hydrophila là Bàng (MIC=128 µg/ml); trên Edwardsiella ictaluri là Sâm đại hành (MIC=16 µg/ml); trên Edwardsiella tarda là Rau mương (MIC=32 µg/ml). Trong các cây có khả năng kháng khuẩn mạnh, cây Ổi có hiệu suất chiết xuất cao nhất (5,37%) và kế đến là cây Tràm (3,37%). Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng của cây thuốc nam có thể thay thế kháng sinh phòng trị bệnh cho cá trong tương lai.

Từ khóa: Cây thuốc nam, hoạt tính kháng khuẩn, vi khuẩn gây bệnh trên cá, hiệu suất chiết xuất

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngành thủy sản ở Việt Nam trong mười năm trở lại đây đã phát triển mạnh và giữ vai trò quan trọng trong xuất khẩu, đặc biệt là cá da trơn. Tuy nhiên, đi đôi với phát triển nuôi cá thì dịch bệnh cũng có điều kiện bùng phát mạnh và gây thiệt hại đáng kể, quan trọng là bệnh gan thận mủ và xuất huyết, nhiễm trùng huyết trên cá

[1] Khoa Nông Nghiệp & Sinh Học Ứng Dụng, Trường Đại học Cần Thơ

do *Edwardsiella ictaluri, Edwardsiella tarda* và *Aeromonas hydrophila,* gây tử vong đáng kể (Bùi Quang Tề *et al.*, 2004). Kháng sinh đã được sử dụng để phòng và trị bệnh, nhưng lại đưa đến hiện tượng kháng thuốc. Nghiêm trọng hơn, vi khuẩn còn gây hiện tượng truyền kháng cho các vi khuẩn gây bệnh cho người và sự tồn dư kháng sinh trong sản phẩm gây độc và gây dị ứng cho người và cũng là rào cản các doanh nghiệp Việt Nam trong xuất khẩu thủy sản. Do đó, khuynh hướng chung của thế giới và của Việt Nam nói riêng là quay về với thiên nhiên, nghiên cứu tìm ra những dược thảo thân thiện thay thế kháng sinh. Nước ta có nguồn dược thảo dồi dào, và dân gian đã từng sử dụng điều trị bệnh hiệu quả. Để góp phần tìm ra những cây cỏ có hoạt tính kháng sinh cao thay thế kháng sinh trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản, nghiên cứu được thực hiện.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

2.1 Vật liệu

- Cây thuốc nam: cây trưởng thành, được thu thập từ các tỉnh thuộc Đồng Bằng Sông Cửu Long, vào mùa nắng (từ tháng 1- 4).

+ Lá:

- Mẫu thu tại thành phố Cần Thơ:

Bán tự mốc (*Hemigraphis glaucescens,* Họ Acanthaceae), Bàng (*Terminalia catappa,* Họ Combretaceae), Kim vàng (*Barleria lupulina,* Họ Acanthaceae), Ổi (*Psidium guajava,* Họ Myrtaceae), Từ bi (*Pluchea indica,* Họ Asteraceae).

- Mẫu thu tại tỉnh An Giang:

Dâu tằm (*Morus acidosa,* Họ Moraceae), Khổ qua (*Momordica charantia,* Họ Cucurbitaceae).

- Mẫu thu tại tỉnh Vĩnh Long:

Húng chanh (*Plectranthus amboinicus,* Họ Lamiaceae).

- Mẫu thu tại tỉnh Kiên Giang:

Mơ lông (*Paederia lanuginosa,* Họ Rubiaceae), Sống đời (*Kalanchoe pinnata,* Họ Crassulaceae), Trầu không (*Piper betle,* Họ Piperaceae).

- Mẫu thu tại tỉnh Tiền Giang:

Tràm (*Melaleuca leucadendra,* Họ Myrtaceae).

+ Thân và lá:

- Mẫu thu tại thành phố Cần Thơ:

Chó đẻ thân xanh (*Phyllanthus amarus*, Họ Phyllanthaceae), Cỏ hôi (*Ageratum conyzoides,* Họ Asteraceae), Cỏ lá xoài (*Struchium sparganophorum,* Họ Asteraceae), Cỏ mực (*Eclipta prostrata*, Họ Asteraceae), Cỏ sữa lá nhỏ (*Euphorbia thymifolia,* Họ Euphorbiaceae), Diếp cá (*Houttuynia cordata,* Họ Saururaceae), Rau dừa nước (*Ludwigia adscendens,* Họ Onagraceae), Rau mương (*Ludwigia hyssopifolia,* Họ Onagraceae) và Tía tô (*Perilla frutescens,* Họ Lamiaceae).

- Mẫu thu tại tỉnh Bạc Liêu:

Cỏ xước (*Achyranthes aspera,* Họ Amaranthaceae).

- Mẫu thu tại tỉnh Tiền Giang:

Rau má (*Centella asiatica,* Họ Mackinlayaceae), Sả (*Cymbopogon citratus*, Họ Poaceae).

- Mẫu thu tại tỉnh Vĩnh Long:

Rau sam (*Portulaca oleracea,* Họ Portulacaceae), Thuốc giòi (*Pouzolzia zeylanica,* Họ Urticaceae).

- Mẫu thu tại tỉnh Đồng Tháp:

Thân hành Sâm đại hành (*Eleutherine bulbosa*, Họ Iridaceae).

+ Thân, lá và hoa Cỏ bạc đầu (*Kyllinga monocephala*, Họ Cyperaceae) và Cỏ bạc đầu lá ngắn (*Kyllinga brevifolia*, Họ Cyperaceae) thu mẫu tại thành phố Cần Thơ.

+ Toàn cây Chua me đất hoa vàng (*Oxalis corniculata,* Họ Oxalidaceae) thu mẫu tại thành phố Cần Thơ.

- Chủng vi khuẩn: nguồn gốc từ viện Pasteur Tp Hồ Chí Minh: *Edwardsiella ictaluri, Edwardsiella tarda* và *Aeromonas hydrophila.*

- Hóa chất chính: Methanol, Tryptic soy broth, Mueller Hinton agar.

2.2 Phương pháp thí nghiệm

Cây thuốc thu hái vào buổi sáng (8-10 giờ), chuyển ngay đến phòng thí nghiệm trong ngày, được rửa sạch, sấy khô ở 50^{o}C, ngâm với methanol trong 5 ngày, lọc dịch chiết và chiết bằng máy cô quay tới cắn, được cao thô, dùng thử hoạt tính kháng khuẩn và xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC (minimum inhibitory concentration) (Nguyễn Văn Đàn và Nguyễn Viết Tựu, 1985).

Dùng phương pháp khuếch tán trên thạch (dựa vào đường kính vòng vô khuẩn) để thử hoạt tính kháng khuẩn và phương pháp pha loãng trong thạch để xác định MIC (tìm nồng độ thấp nhất ở đó vi khuẩn không mọc)(Trương Công Quyền *et al.*, 1986; Từ Minh Koóng *et al.*, 2001).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả chiết xuất cao thô

Kết quả chiết xuất cao thô được trình bày qua bảng 1

Bảng 1: Kết quả chiết xuất cao thô các cây thuốc

TT	Dược thảo	Trọng lượng tươi (g)	Trọng lượng cao (g)	Hiệu suất (%)	Ẩm độ cao(%)
1	Bán tự mốc	300	8,12	2,71	15,89
2	Bàng	560	9,62	1,72	12,43
3	Chó đẻ thân xanh	450	14,53	3,23	10,40
4	Chua me đất hoa vàng	400	7,74	1,93	16,57
5	Cỏ bạc đầu	500	11,81	2,36	17,22
6	Cỏ bạc đầu lá ngắn	600	7,14	1,19	12,60
7	Cỏ hôi	500	10,16	2,03	8,60
8	Cỏ lá xoài	800	13,85	1,73	17,87
9	Cỏ mực	600	12,76	2,12	7,97
10	Cỏ sữa lá nhỏ	450	14,39	3,20	10,40
11	Cỏ xước	320	10,00	3,13	3,52
12	Dâu tằm	500	17,13	3,43	4,37
13	Diếp cá	500	9,37	1,87	14,90
14	Húng chanh	900	8,17	0,91	13,26
15	Kim vàng	350	29,35	8,39	12,01
16	Khổ qua	500	14,74	2,95	8,40
17	Mơ lông	500	12,50	2,50	17,00
18	Ổi	500	26,87	5,37	11,04
19	Rau dừa nước	800	10,00	1,25	7,78
20	Rau má	440	10,40	2,36	13,15
21	Rau mương	700	20,00	2,86	6,73
22	Rau sam	700	9,54	1,36	15,81
23	Sả	450	16,40	3,47	6,38
24	Sâm đại hành	700	15,12	2,16	24,80
25	Sống đời	500	7,00	1,40	15,60
26	Thuốc giòi	600	7,63	1,27	16,81
27	Tía tô	600	7,90	1,32	9,30
28	Tràm	640	21,60	3,37	12,21
29	Trầu không	500	10,00	2	24,00
30	Từ bi	500	7,68	1,54	11,30

Qua bảng 1 cho thấy Kim vàng có hiệu suất chiết xuất cao nhất (8,39%), kế đến lần lượt là Ổi (5,37%), Sả (3,47%) và Tràm (3,37%) và thấp nhất là Húng chanh (0,91%).

3.2 Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn

Kết quả thăm dò hoạt tính kháng khuẩn các cây thuốc được trình bày qua bảng 2 và kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các cây thuốc được trình bày qua bảng 3.

Bảng 2: Kết quả thăm dò hoạt tính kháng khuẩn các cây thuốc nam

TT	Cây thuốc	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		Aeromonas hydrophila	*Edwardsiella ictaluri*	*Edwardsiella tarda*
1	Bán tự mốc	10	11	20
2	Bàng	19	18	30
3	Chó đẻ thân xanh	21	16	32
4	Chua me đất hoa vàng	-	17	18
5	Cỏ bạc đầu	-	14	12
6	Cỏ bạc đầu lá ngắn	-	13	8
7	Cỏ hôi	9	11	9
8	Cỏ lá xoài	-	14	15
9	Cỏ mực	11	24	32
10	Cỏ sữa lá nhỏ	24	20	37
11	Cỏ xước	-	-	-
12	Dâu tằm	-	8	7
13	Diếp cá	14	16	20
14	Húng chanh	6	9	9
15	Kim vàng	11	10	19
16	Khổ qua	-	15	13
17	Mơ lông	9	9	-
18	Ổi	17	21	20
19	Rau dừa nước	17	16	34
20	Rau má	-	10	12
21	Rau mương	17	17	35
22	Rau sam	9	9	9
23	Sả	-	14	14
24	Sâm đại hành	13	27	20
25	Sống đời	12	13	11
26	Thuốc giòi	6	9	9
27	Tía tô	15	15	14
28	Tràm	14	25	25
29	Trầu không	26	25	33
30	Từ bi	-	14	12

Ghi chú: -: không phân biệt rõ

Bảng 3: Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các cây thuốc

TT	Cây thuốc	Nồng độ ức chế tối thiểu (µg/ml)		
		Aeromonas hydrophila	***Edwardsiella ictaluri***	***Edwardsiella tarda***
1	Bán tự mốc	2048	1024	1024
2	Bàng	128	128	128
3	Chó đẻ thân xanh	512	1024	128
4	Chua me đất hoa vàng	2048<MIC<4096	2048	2048
5	Cỏ bạc đầu	2048	2048	2048
6	Cỏ bạc đầu lá ngắn	2048	128	2048
7	Cỏ hôi	1024	1024	1024
8	Cỏ lá xoài	2048<MIC<4096	1024	1024
9	Cỏ mực	2048	512	256
10	Cỏ sữa lá nhỏ	512	1024	64
11	Cỏ xước	>4096	4096	4096
12	Dâu tằm	2048<MIC<4096	1024	1024
13	Diếp cá	1024	1024	512
14	Húng chanh	2048<MIC<4096	2048	2048
15	Kim vàng	1024	1024	1024
16	Khổ qua	2048<MIC<4096	1024	1024
17	Mơ lông	2048	2048	2048<MIC<4096
18	Ổi	256	128	128
19	Rau dừa nước	512	1024	64
20	Rau má	2048<MIC<4096	1024	1024
21	Rau mương	1024	1024	32
22	Rau sam	2048	2048	2048
23	Sả	2048<MIC<4096	512	1024
24	Sâm đại hành	2048	16	64
25	Sống đời	1024	512	2048
26	Thuốc giòi	2048<MIC<4096	2048	2048
27	Tía tô	2048	2048	2048
28	Tràm	512	64	64
29	Trầu không	256	256	128
30	Từ bi	2048	128	1024

Kết quả bảng 2 cho thấy tất cả các cây thuốc thử nghiệm đều có khả năng kháng các vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*, *Edwardsiella tarda* và *Aeromonas hydrophila* (đường kính vòng vô khuẩn d= 6-37mm) (trừ cây Cỏ xước không thể hiện rõ vòng vô khuẩn). Qua kết quả trên cho thấy cây Cỏ sữa lá nhỏ có đường kính vòng vô khuẩn lớn nhất (d=37mm), kế đến Rau mương (d=35mm), Trầu không (d=33mm), Cỏ mực và Chó đẻ thân xanh (d=32mm), Bàng (d=30mm).

Sau kết quả thăm dò hoạt tính kháng khuẩn, các cây thuốc được tiếp tục xác định nồng độ ức chế tối thiểu. Tuy nhiên, do tùy thuộc vào độ khuếch tán của các loại cao thô trên thạch nên kết quả vòng vô khuẩn có chút sai khác với kết quả xác định MIC. Kết quả bảng 3 cho thấy các cây thuốc đều có khả năng ức chế sự phát triển của các vi khuẩn thử nghiệm với MIC= 16-2048 µg/ml và hầu hết các cây thuốc đều tác động mạnh nhất trên *Edwardsiella tarda,* kế đến *Edwardsiella ictaluri* và kém hơn trên *Aeromonas hydrophila.* Nhưng Sâm đại hành lại tác động rất mạnh trên *Edwardsiella ictaluri* (MIC= 16 µg/ml) hơn hẳn *Edwardsiella tarda* (MIC= 64 μg/ml). Theo thứ tự các cây Bàng, Ổi, Trầu không, Tràm, Sâm đại hành, Cỏ sữa lá nhỏ, Rau dừa nước, Rau mương và Cỏ mực có hoạt phổ kháng khuẩn mạnh nhất trong các cây thuốc thử nghiệm. Tác động mạnh trên cả 3 loại *Aeromonas hydrophila, Edwardsiella ictaluri* và *Edwardsiella tarda* là Bàng (MIC=128 μg/ml), kế đến Trầu không (MIC=128-256 μg/ml). Tác động mạnh trên *Edwardsiella ictaluri* là Sâm đại hành (MIC= 16 μg/ml), kế đến Tràm (MIC= 64 μg/ml). Còn tác động mạnh trên *Edwardsiella tarda* là Rau mương (MIC= 32 μg/ml), kế đến Tràm, Sâm đại hành, Rau dừa nước và Cỏ sữa lá nhỏ (MIC= 64 μg/ml).

Aeromonas hydrophila, Edwardsiella ictaluri và *Edwardsiella tarda* là những vi khuẩn gây bệnh phổ biến trên cá, gây thiệt hại đáng kể, lại kháng rất nhiều kháng sinh. *Aeromonas hydrophila* gây bệnh đốm đỏ và tỉ lệ tử vong 30-70% (đối với cá tra, cá ba sa giai đoạn giống có thể lên đến 100%) (Bùi Quang Tề *et al.*, 2004) và kháng nhiều kháng sinh mạnh như Ampicillin (100%), Tetracycline (26%), Oxacillin (100%), Bacitracin (100%), Streptomycin (26%), Clindamycin (43%), Nalidixic acid (26%), novobiocin (87%), Rifampicin (4%), Vancomycin (9%)…(Orozoval *et al.*, 2008). Còn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan thận mủ trên cá da trơn, tỉ lệ tử vong thường 60-70% (có khi lên đến 100%) và đã kháng rất nhiều kháng sinh như kháng với Colistin (>90%), flumequin (8%), Oxolinic acid (6%), Streptomycin (83%), Oxytetracycline (81%), Trimethoprim (73%) (Tu Thanh Dung *et al.*, 2008). *Edwardsiella tarda* gây nhiễm khuẩn máu trên cá da trơn, gây áp xe gan thận, gây bệnh trên tôm càng xanh và kháng nhiều kháng sinh như Oxacillin, Rifamycin, Lincomycin, Polymyxin B, colistin (Ingo and Bernd, 2001).

Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn của các cây thuốc đã vạch ra hướng mới, nghiên cứu sử dụng cây thuốc nam điều trị bệnh do *Aeromonas hydrophila, Edwardsiella ictaluri* và *Edwardsiella tarda* gây ra trên cá thay thế kháng sinh. Như vậy, sẽ hạn chế được sử dụng kháng sinh tân dược, giảm được sự kháng thuốc gây ảnh hưởng đến điều trị bệnh cho người, tránh được sự tồn dư kháng sinh trong sản phẩm, tốt cho sức khỏe con người và giảm được rào cản trong xuất khẩu thủy sản.

Bên cạnh khả năng tác động trên vi khuẩn gây bệnh trên cá, các cây này còn có khả năng tác động trên các vi khuẩn gây bệnh cho người và gia súc như: *Shigella, Salmonella spp., Proteus spp., Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Klebsiella spp., Streptococcus faecalis, Streptococcus pneumoniae, Bacillus pyocyaneus, Bacillus diphteriae* (Đỗ Tất Lợi, 2003; Đỗ Huy Bích *et al.*, 2004).

Trong các cây có hoạt tính kháng khuẩn mạnh thì cây Ổi có hiệu suất chiết xuất cao nhất (5,37%) và kế đến là cây Tràm (3,37%), đây cũng là tiềm năng để khai thác đại trà hai cây thuốc này.

4 KẾT LUẬN

Tóm lại, các cây thuốc nam Bàng, Ổi, Trầu không, Tràm, Sâm đại hành, Cỏ sữa lá nhỏ, Rau dừa nước, Rau mương và Cỏ mực đã thể hiện khả năng kháng khuẩn mạnh trên các vi khuẩn gây bệnh gan thận mủ, xuất huyết, nhiễm khuẩn huyết trên cá. Hi vọng trong tương lai các cây thuốc này sẽ thay thế kháng sinh trong phòng trị bệnh cho cá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bùi Quang Tề, Đỗ Thị Hòa, Nguyễn Hữu Dũng và Nguyễn Thị Muội (2004), *Bệnh học thủy sản*, NXB Nông Nghiệp, trang 215-239

Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thuận Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiển, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn và Viện Dược Liệu (2004). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Tập I, II. NXB Khoa Học và Kỹ Thuật Hà Nội.

Đỗ Tất Lợi (2003), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, Hà Nội.

Ingo S. and Bernd W. (2001), Natural antibiotic susceptibility of *Edwardsiella tarda, Edwardsiella ictaluri and E. hoshinae, Antimicrobial agents and chemotherapy* 45(8): 2245-2255.

Nguyễn Văn Đàn và Nguyễn Viết Tựu (1985), Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc, NXB Y học thành phố Hồ Chí Minh.

Orozoval P., Chikova V., Kolarova V., Nenova R., Konovska M. and Najdenskil H. (2008), Antibiotic resistance of potentially pathogenic *Aeromonas* strains, *Trakia journal of sciences*, 6: 71-77.

Trương Công Quyền, Vũ Công Thuyết và cộng tác viên (1986), *Thực hành dược khoa*, NXB Y học, trang 505-507.

Từ Minh Koóng và cộng tác viên (2001), *Kỹ thuật sản xuất dược phẩm*, Tập I, Trường Đại học Y dược Hà Nội.

Tu Thanh Dung, Freddy H., Nguyen A.T., Patric S., Margo B. and Annemie D. (2008), Antimicrobial susceptibility pattern of *Edwardsiella ictaluri* isolates from natural outbreaks of Bacillary necrosis of *Pangasianodon hypophthalmus* in Vietnam, *Microbial drug resistance*, 14(4): 311-316.