

XÁC ĐỊNH TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA VI KHUẨN LACTIC VỚI VI KHUẨN (*Streptococcus agalactiae*) PHÂN LẬP TỪ CÁ RÔ PHI (*Oreochromis niloticus*) BỆNH PHÙ MẮT VÀ XUẤT HUYẾT

Ngô Thị Ngọc Trân, Nguyễn Trọng Nghĩa và Đặng Thị Hoàng Oanh

Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 16/06/2015

Ngày chấp nhận: 26/02/2016

Title:

Determination of antibacterial character of Lactic acid bacteria to *Streptococcus agalactiae* isolated from haemorrhagic diseased tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Từ khóa:

Cá rô phi, *Streptococcus agalactiae*, vi khuẩn lactic

Keywords:

Tilapia, *Streptococcus agalactiae*, lactic bacteria

ABSTRACT

This study was conducted to determine lactic acid bacterial strains that can antagonize *Streptococcus agalactiae* bacteria, which causes pop eye and hemorrhage in tilapia, by using well diffusion method. Thirty bacterial strains which were isolated from diseased tilapia were identified as *S. agalactiae* based on morphology, physiological and biochemical characteristics along with PCR analysis. Eleven out of the fifteen lactic acid bacteria strains were capable of antagonize from two to eight *S. agalactiae* strains with inhibition zone from 6-20 mm. The result suggests further research prospects on using lactic acid bacteria for prevention and treatment of *S. agalactiae* in tilapia.

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện nhằm xác định khả năng kháng vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* gây bệnh phù mắt và xuất huyết ở cá rô phi của các dòng vi khuẩn lactic bằng phương pháp giếng khuếch tán. Ba mươi chủng vi khuẩn phân lập từ cá rô phi bệnh được định danh là *S. agalactiae* dựa trên các chỉ tiêu hình thái, sinh lý, sinh hóa và PCR. Trong số 15 chủng vi khuẩn lactic được thử nghiệm có 11 chủng có khả năng ức chế từ 2 đến 8 chủng trong số 30 chủng vi khuẩn *S. agalactiae* với đường kính vòng vô khuẩn dao động trong khoảng 6 đến 20 mm. Kết quả trên cho thấy triển vọng nghiên cứu tiếp theo về khả năng sử dụng các chủng vi khuẩn lactic này trong việc phòng trị bệnh do *S. agalactiae* trên cá rô phi.

Trích dẫn: Ngô Thị Ngọc Trân, Nguyễn Trọng Nghĩa và Đặng Thị Hoàng Oanh, 2016. Xác định tính kháng khuẩn của vi khuẩn lactic với vi khuẩn (*Streptococcus agalactiae*) phân lập từ cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) bệnh phù mắt và xuất huyết. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 42b: 48-55.

1 GIỚI THIỆU

Hiện nay, cá rô phi là đối tượng đang được nuôi rộng rãi ở Đồng bằng sông Cửu Long do chất lượng thịt ngon, giá trị dinh dưỡng cao và thị trường tiêu thụ ổn định. Diện tích nuôi cá rô phi đang dần được mở rộng và mô hình ngày càng đa dạng hơn. Tuy nhiên, việc nuôi thâm canh đối tượng này gặp phải trở ngại khá lớn đó là dịch bệnh xuất hiện ngày càng nhiều và lây lan trên diện rộng gây thiệt hại đáng kể cho người nuôi. Trong số các bệnh thường gặp trong nuôi cá rô phi thì

bệnh phù mắt và xuất huyết do nhóm vi khuẩn thuộc giống *Streptococcus* gây ra là phổ biến nhất (Đặng Thụy Mai Thy và Đặng Thị Hoàng Oanh, 2011).

Người nuôi thường sử dụng kháng sinh để trị bệnh. Nhưng do sử dụng không đúng loại thuốc, không đúng liều lượng hoặc sử dụng kháng sinh với mục đích phòng bệnh đã gây nên tình trạng vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh, hiệu quả điều trị không cao, gây ảnh hưởng cho người tiêu dùng và môi trường. Vì vậy, nhiều nghiên cứu được thực

hiện nhằm tìm ra giải pháp giúp hạn chế việc sử dụng kháng sinh. Trong đó, sử dụng vi khuẩn có khả năng kháng với vi khuẩn gây bệnh ở thủy sản ngày càng được quan tâm (Dung *et al.*, 2008; Dhanasekaran *et al.*, 2010; Abimbola *et al.*, 2011). Tuy nhiên, nghiên cứu về khả năng ức chế của vi khuẩn lactic đối với vi khuẩn gây bệnh phù mắt và xuất huyết trên cá rô phi vẫn còn hạn chế. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu về khả năng ức chế của vi khuẩn lactic đối với các chủng vi khuẩn gây bệnh phù mắt và xuất huyết trên cá rô phi và cung cấp thông tin khoa học làm cơ sở cho việc ứng dụng chế phẩm sinh học trong phòng trị bệnh thủy sản.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương pháp thu, phân lập và định danh vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* từ mẫu bệnh phẩm

2.1.1 Phương pháp thu và phân lập vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* từ mẫu bệnh phẩm

Bảng 1: Các chủng vi khuẩn phân lập từ cá rô phi chọn nghiên cứu

STT	Mã PTN	STT	Mã PTN	STT	Mã PTN
1	B 1.1N (25.05.14)	11	K46 M2.2 (27.08.14)	21	C2.2 (14.09.14)
2	B 1.3N (25.05.14)	12	K46 M2.3 (27.08.14)	22	D3.1 (14.09.14)
3	B 3.1N (25.05.14)	13	K46 M2.4 (27.08.14)	23	M1.1 (14.09.14)
4	K46 L1.1 (27.08.14)	14	K46 M2.5 (27.08.14)	24	M1.3 (14.09.14)
5	K46 L1.2 (27.08.14)	15	K74 C1.1 (27.08.14)	25	CL 3.2 (30.09.14)
6	K46 L2.3 (27.08.14)	16	K74 D3.1 (27.08.14)	26	CL4.1 (30.09.14)
7	K46 M1.2 (27.08.14)	17	ĐT 1.1 (29.08.14)	27	CL4.2 (30.09.14)
8	K46 M1.3 (27.08.14)	18	C1.1 (14.09.14)	28	MT 3.2 (14.10.14)
9	K46 M1.4 (27.08.14)	19	C1.2 (14.09.14)	29	MT 3.4 (14.10.14)
10	K46 M2.1 (27.08.14)	20	C2.1 (14.09.14)	30	MT 4.2 (14.10.14)

2.1.2 Phương pháp định danh vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* từ mẫu bệnh phẩm

Xác định các chỉ tiêu hình thái, sinh lý và sinh hóa

Sau khi được lấy ra từ tủ -80°C, các chủng vi khuẩn được cấy lên môi trường thạch BHIA, ủ ở 37°C trong thời gian từ 36-48 giờ. Các chủng vi khuẩn thuần được sử dụng để xác định các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa (Bảng 3). Hình dạng, kích thước và tính rỗng của vi khuẩn được xác định bằng phương pháp nhuộm Gram. Tính di động của vi khuẩn được quan sát bằng cách nhỏ một giọt nước cất lên lam, trải đều lên lam một ít vi khuẩn, đập bằng lamén và quan sát bằng kính hiển vi ở vật kính 40X. Các đặc điểm sinh lý và sinh hóa được xác định dựa theo cẩm nang của Cowan và Steels (Barrow và Feltham, 1993).

Bốn mươi lăm mẫu cá rô phi bệnh được thu từ các ao nuôi thâm canh ở huyện Thạnh Phú, tỉnh Bến Tre. Mẫu được thu là những con cá lơ đờ, bơi lội mất phương hướng. Mẫu cá sau khi được vớt khỏi mặt nước thì tiến hành phân tích ngay và chỉ những mẫu bệnh phẩm còn sống mới được sử dụng để phân lập vi khuẩn. Trước khi phân lập vi khuẩn, mặt ngoài cơ thể cá được khử trùng bằng cồn 70° và lau sạch. Sau đó, tiến hành mổ cá bằng dao mổ, kéo tiết trùng. Dấu hiệu bệnh lý bên trong cơ thể cá được ghi nhận. Kế đến, dùng dao mổ tiết trùng rạch một đường trên thận. Đặt que cấy vào nơi vừa rạch, xoay nhẹ để lấy mẫu bệnh phẩm và cấy trên đĩa môi trường Brain heart infusion agar (BHIA, Merck). Đĩa cấy được ủ ở nhiệt độ khoảng 30-32°C trong 24 giờ. Các chủng vi khuẩn phân lập được trữ ở -80°C trong môi trường Brain heart infusion broth (BHIB, Merck) có 25% glycerol. Các chủng vi khuẩn nghiên cứu được trình bày ở Bảng 1.

Định danh vi khuẩn bằng phương pháp PCR

Chiết tách ADN của vi khuẩn: Các chủng vi khuẩn sau khi nuôi tăng sinh trong môi trường Brain heart infusion broth (BHIB, Merck) được chiết tách ADN dựa theo phương pháp của Bartie *et al.* (2006). 50 µl dung dịch vi khuẩn sau khi nuôi tăng sinh được chuyển sang ống eppendorf mới và cho vào 450 µl dung dịch TE (10 mM Tris – HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0). Hỗn hợp ủ ở 95°C trong 10 phút, làm lạnh nhanh trong nước đá. Ly tâm 1500 vòng/phút trong 5 phút để tách ADN và trữ ở -20°C cho đến khi sử dụng.

Quy trình PCR phát hiện *S. agalactiae*: được thực hiện theo Dương Thành Long (2013) với trình tự đoạn môi: F1 (5' GAG TTT GAT CAT GGG TCA G 3') và IMOD (5' ACC AAC ATG TGT TAA TTA CTC 3'). Thành phần phản ứng PCR (25 µl) bao gồm: 14,2 µl nước cất, 5 µl dung dịch

PCR buffer 5X, 2 µl MgCl₂ 25mM, 0,5 µl dNTPs 10mM, 1 µl mỗi F1 10 pmol, 1 µl mỗi IMOD 10 pmol, 0,3 µl Taq DNA polymerase, 1 µl DNA vi khuẩn đã chiết tách. Chu kỳ nhiệt của phản ứng bao gồm: 95°C trong 5 phút; sau đó thực hiện 95°C trong 1 phút, 58°C trong 1 phút, 72°C trong 1 phút, lặp lại chu kỳ trên trong 35 lần; 7 phút ở 72°C.

Sản phẩm PCR sau khi khuếch đại được điện di trên gel 1% agarose (Abgene, UK) trong dung dịch đệm TAE 0.5X (10 mM Tris, 5 mM acetate, 0.1 mM EDTA). Kết quả điện di được ghi nhận

bằng bàn đọc UV. Căn cứ vào thang DNA chuẩn để xác định khối lượng phân tử. Sản phẩm khuếch đại đặc hiệu với DNA của vi khuẩn *S. agalactiae* là 220 bp.

2.2 Nguồn vi khuẩn lactic

Nguồn vi khuẩn lactic được sử dụng thuộc bộ sưu tập vi sinh vật của Bộ môn Bệnh học thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Thông tin về các chủng vi khuẩn lactic được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2: Đặc điểm các chủng vi khuẩn lactic được chọn nghiên cứu

Chủng	Khuẩn lạc	Gram	Hình dạng	Oxidase/ Catalase	Tan CaCO ₃	Bào tử	Dịch hóa gelatin	Indole
L1	1	+	Que dài	-/y	+	-	-	-
L2	1	+	Que dài	-/y	+	-	-	-
L3	1	+	Que dài	-/y	+	-	-	-
L4	1	+	Que dài	-/y	+	-	-	-
L5	1	+	Que dài	-/y	+	-	-	-
L6	1	+	Que dài, mảnh	-/y	+	-	-	-
L7	1	+	Oval lớn	-/y	+	-	-	-
L8	1	+	Que dài, mảnh	-/y	+	-	-	-
L9	1	+	Oval nhỏ	-/y	+	-	-	-
L10	1	+	Que dài	-/y	+	-	-	-
L11	1	+	Que dài	-/y	+	-	-	-
L12	1	+	Oval nhỏ	-/y	+	-	-	-
L13	1	+	Oval nhỏ	-/y	+	-	-	-
L14	1	+	Oval chuỗi	-/y	+	-	-	-
L15	1	+	Oval chuỗi	-/y	+	-	-	-

Ghi chú: (1) Trắng đục, tròn, lồi; (-): không hình thành bào tử, không dịch hóa gelatin, không sinh indol; (-/y): âm tính với oxidase và phản ứng yếu với catalase

2.2.1 Phục hồi vi khuẩn lactic

Vi khuẩn lactic được phục hồi trên môi trường thạch MRS (Merck) có bổ sung 1,5% CaCO₃, ủ ở 37°C trong 48 giờ. Vi khuẩn lactic được nhuộm Gram xác định tính thuần và thử khả năng đối kháng với các chủng vi khuẩn *S. agalactiae* gây bệnh phù mắt và xuất huyết trên cá rô phi.

2.2.2 Xác định tính kháng vi khuẩn *S. agalactiae* của vi khuẩn lactic

Khả năng kháng vi khuẩn *S. agalactiae* của vi khuẩn lactic được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch (*well diffusion agar*), gồm các bước: (1) Chuẩn bị dịch huyền phù vi khuẩn chỉ thị (*S. agalactiae*) trong dung dịch nước muối sinh lý (0.85% NaCl) để được dung dịch vi khuẩn có mật độ 10⁸CFU/ml (tương đương với ống Macfarlan số 3); (2) Cho 0,1ml dung dịch vi khuẩn chỉ thị vào đĩa tryptic soy agar (TSA, Merck) rồi trải đều bằng que thủy tinh, sau đó tạo những giếng

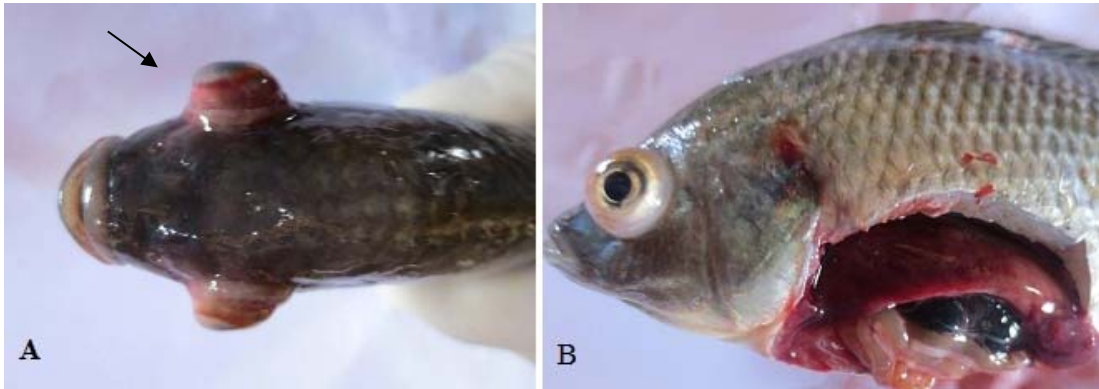
trên thạch với đường kính 6 mm bằng đầu tips vô trùng; (3) Vi khuẩn lactic được nuôi trong 5 ml môi trường MRS lỏng (Merck) trong điều kiện kỵ khí, ủ ở 37°C trong 48 giờ. Sau đó, ly tâm 1 ml dung dịch vi khuẩn lactic ở 10.000 vòng/phút ở 4°C trong 5 phút và thu phần dịch trong; (4) Lấy 80 µl phần dịch trong nhỏ vào mỗi giếng của đĩa thạch có chứa vi khuẩn chỉ thị, giữ đĩa trong 15 phút ở 4°C để cho dung dịch trong giếng khuếch tán vào thạch. Sau đó ủ đĩa ở 28°C trong 30-48 giờ và (5) Xác định tính kháng khuẩn của vi khuẩn lactic bằng cách đo đường kính vòng vô khuẩn quanh miệng giếng.

Tính kháng khuẩn được biểu hiện khi đường kính vòng vô khuẩn lớn hơn 2 mm (Ngô Thị Phương Dung và *ctv.*, 2011). So sánh khả năng kháng khuẩn của các dòng vi khuẩn lactic đối với các chủng vi khuẩn *S. agalactiae* dựa theo qui ước của Galindo (2004) (Trích dẫn từ Nguyễn Văn Thành và Nguyễn Ngọc Trai (2012).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Dấu hiệu bệnh lý

Cá bệnh thu ở các ao/bè có một số dấu hiệu bệnh lý đặc trưng như: (i) xuất huyết trên thân, hậu môn và các gốc vây, (ii) mắt lồi và đục, xuất huyết, (iii) xoang nội quan chứa dịch, mật sưng to, nội tạng xuất huyết, nhũn (Hình 1).



Hình 1: Dấu hiệu bệnh lý của cá lúc thu mẫu tại ao nuôi. A: mắt lồi, đục, xuất huyết. B: mắt lồi, xuất huyết; gan nhũn và xuất huyết, mật sưng to

Các chủng vi khuẩn đều là gram dương, hình cầu hay liên cầu (Hình 2), không có khả năng di động, phản ứng âm tính với oxidase và catalase, không có khả năng lên men glucose trong điều kiện

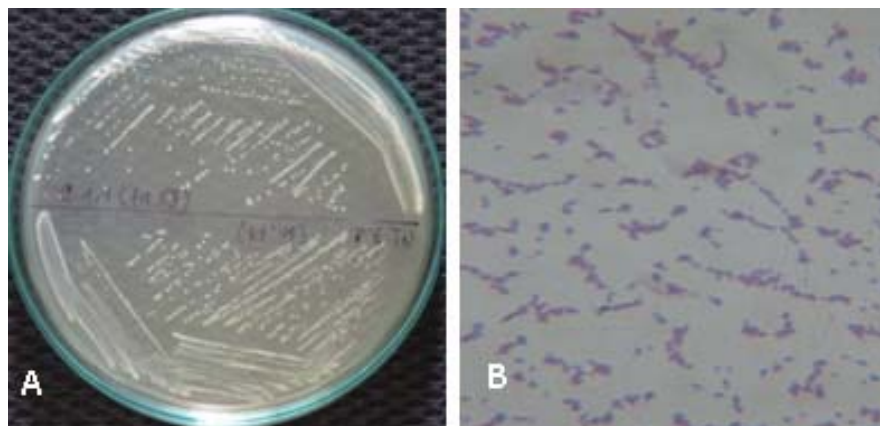
3.2 Phân lập và định danh vi khuẩn

Phân lập được 30 chủng vi khuẩn từ cá rô phi bệnh phù mắt và xuất huyết. Sau khi được cấy trên môi trường BHIA, ủ ở 37°C từ 36-48 giờ, vi khuẩn phát triển thành khuẩn lạc có màu trắng đục, hình tròn, lồi, đường kính 1 mm (Hình 2).

hiếu khí và kỵ khí (Bảng 3). Đặc điểm của các chủng vi khuẩn này phù hợp với mô tả *S. agalactiae* của Buller (2004).

Bảng 3: Đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hoá của vi khuẩn phân lập từ cá rô phi bệnh phù mắt và xuất huyết

Chỉ tiêu	Chủng vi khuẩn(n=30)	Buller (2004)
Nhuộm Gram	Gram +	Gram +
Hình dạng	Hình cầu, liên cầu	Hình cầu, liên cầu
Di động	-	-
Sinh catalaza	-	-
Sinh oxidaza	-	-
Phản ứng lên men yếm khí	-	-
Phản ứng lên men hiếu khí	-	-



Hình 2: (trái) Khuẩn lạc trên môi trường BHIA. (phải) Kết quả nhuộm Gram

Kết quả phân tích PCR sử dụng cặp mồi F1/IMOD cho thấy tất cả 30 mẫu xuất hiện vạch ở vị trí 220 bp (Hình 3). Như vậy, các chủng vi

khảo phân lập được từ cá rô phi bệnh phù mắt và xuất huyết là *S. agalactiae*.



Hình 3: Kết quả điện di sản phẩm PCR phát hiện vi khuẩn *S. Agalactiae*. (M): Thang ADN 100 bp; (1): đối chứng âm; (2): đối chứng dương; (3-19): mẫu vi khuẩn phân lập từ cá bệnh

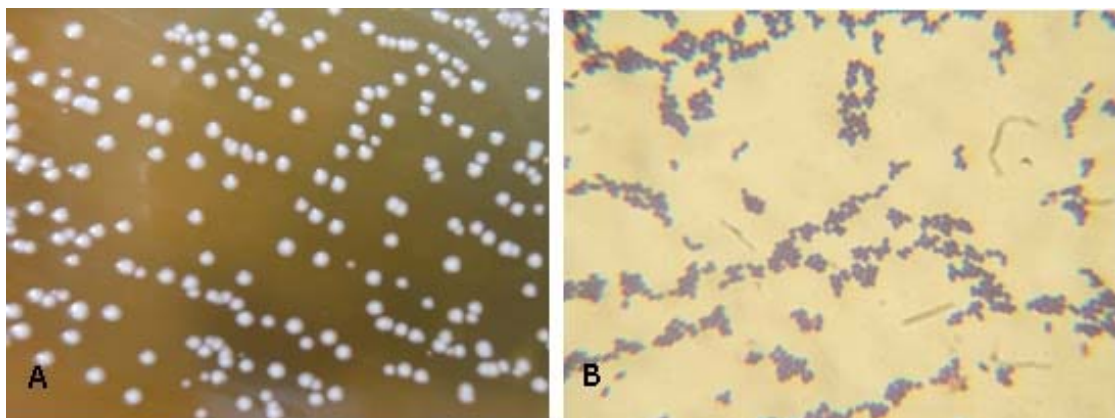
Kết quả xác định các đặc điểm hình thái sinh lý và sinh hóa nêu trên giống với kết quả nghiên cứu vi khuẩn *S. agalactiae* gây bệnh xuất huyết trên cá rô đồng và cá điêu hồng (Đặng Thị Hoàng Oanh và *ctv.*, 2012; Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Thanh Phương, 2012). Theo nghiên cứu của Đinh Thị Thúy (2007), nguyên nhân chủ yếu gây bệnh phù mắt, xuất huyết trên cá rô phi nuôi thâm canh là do vi khuẩn *Streptococcus*, bệnh thường xuất hiện vào mùa hè khi nhiệt độ nước cao và gây thiệt hại từ 7-10%. Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Thanh Phương (2012), xác định vi khuẩn *S. agalactiae* là tác nhân chính gây bệnh phù mắt và xuất huyết trên cá điêu hồng tại các bè nuôi thâm canh ở tỉnh Tiền Giang. Đồng Thanh Hà và *ctv.* (2012) đã ghi nhận dịch bệnh trên cá rô phi ở các tỉnh Hải Phòng, Hải Dương, Quảng Ninh, Bắc Ninh, Hà Giang và thành phố Hà Nội đã gây chết cá với tỷ lệ 90-100% là do vi khuẩn *S. agalactiae* gây ra. Ngoài ra, vi khuẩn *S. agalactiae* còn được

cho là nguyên nhân dẫn đến thiệt hại nghiêm trọng cho nghề nuôi cá rô phi (*Oreochromis sp.*) ở nhiều quốc gia trên thế giới với tỉ lệ tử vong cao trên 50% trong vòng từ 3-7 ngày (Yanong and Francis-Floyd, 2002) và có khả năng gây bệnh trên nhiều loài cá nước ngọt, lợ, mặn (Noga, 2010).

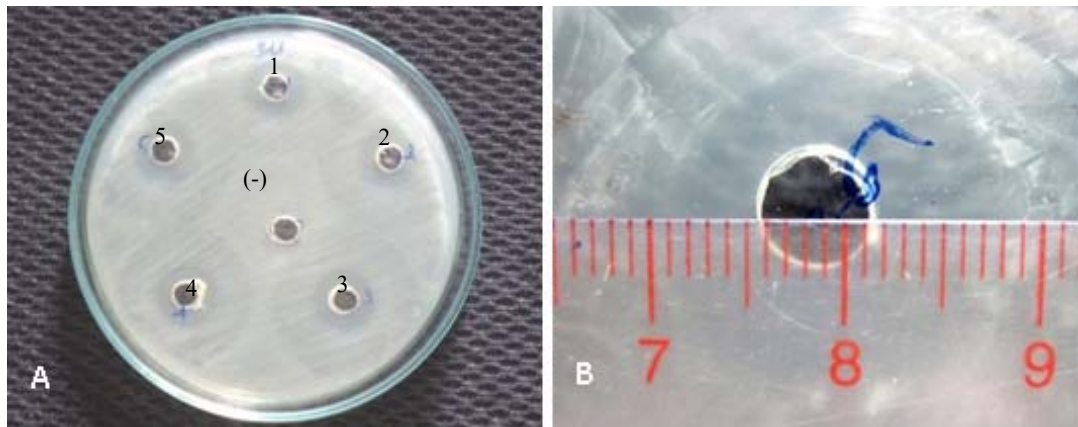
3.3 Khả năng kháng vi khuẩn *S. agalactiae* của các chủng vi khuẩn lactic

Mười lăm chủng vi khuẩn lactic sau khi được phục hồi trên môi trường thạch MRS có bổ sung 1,5% CaCO₃ trong 48 giờ, ủ ở 37°C trong điều kiện kỵ khí phát triển thành những khuẩn lạc hình tròn, màu trắng đục, bóng, bìa nguyên, đường kính từ 1-3 mm (Hình 4A), tất cả đều là vi khuẩn Gram dương (Hình 4B).

Tính đối kháng của các chủng vi khuẩn lactic với vi khuẩn *S. agalactiae* được thể hiện qua Hình 5.



Hình 4: A. Vi khuẩn lactic trên môi trường thạch MRS. B. Vi khuẩn bắt màu Gram +



Hình 5: A. Tính đối kháng của các chủng vi khuẩn lactic với vi khuẩn *S. agalactiae* (1-5: chủng vi khuẩn L1 – L5, (-): đối chứng âm). B. Đường kính vòng vô khuẩn

Các chủng vi khuẩn lactic tạo thành vòng vô khuẩn đối với từng chủng vi khuẩn *S. agalactiae* nhất định. Giá trị thể hiện tính kháng của các dòng lactic được thể hiện qua Bảng 4. Trong số 15 chủng vi khuẩn lactic được thử, có 4 chủng vi khuẩn không có khả năng ức chế đối với tất cả các chủng vi khuẩn *S. agalactiae* (đường kính vòng vô khuẩn < 1 mm), 10 chủng kháng yếu với từ 1 đến 12 chủng vi khuẩn *S. agalactiae* (đường kính vòng vô khuẩn từ 1 đến 5 mm), 11 chủng vi khuẩn lactic kháng trung bình đối với từ 2 đến 8 chủng vi khuẩn

S. agalactiae (đường kính vòng vô khuẩn từ 6 đến 20 mm) và không có chủng lactic nào có khả năng kháng mạnh đối với vi khuẩn *S. agalactiae*. Như vậy, trong 15 chủng lactic thì có 10 chủng lactic có khả năng ức chế ở cả 3 mức độ khác nhau (không kháng, kháng yếu, kháng trung bình) đối với từng chủng vi khuẩn *S. agalactiae* nhất định, 1 chủng ức chế ở 2 mức độ (kháng trung bình, không kháng) và 4 chủng không có khả năng ức chế đối với tất cả chủng vi khuẩn *S. agalactiae* (Bảng 4).

Bảng 4: Đường kính vòng tròn vô trùng của các chủng vi khuẩn lactic thử nghiệm đối với vi khuẩn *S. agalactiae*

Chủng vi khuẩn lactic	Số chủng vi khuẩn <i>S. agalactiae</i>		
	Không kháng $d < 1$ mm	Kháng yếu $1 \leq d \leq 5$ mm	Kháng trung bình $6 \leq d \leq 20$ mm
L1	15	8	7
L2	14	8	8
L3	15	8	7
L4	13	10	7
L5	13	10	7
L6	18	6	6
L7	17	6	7
L8	30	0	0
L9	28	0	2
L10	30	0	0
L11	24	1	5
L12	14	9	7
L13	10	12	8
L14	30	0	0
L15	30	0	0

Ghi chú: d được tính theo công thức $d = d_1 - d_2$ với d_1 là đường kính vòng vô khuẩn và d_2 là đường kính miệng giếng (6 mm)

Vi khuẩn lactic (Lactic Acid Bacteria: LAB) lần đầu tiên được tìm thấy trên sữa nhờ vào các nghiên cứu của Metchnikoff (1908), Sandine *et al.* (1972) và Carr *et al.* (2002). Sau đó, LAB dần

được phát hiện trong thực phẩm hay các sản phẩm lên men như sữa, thịt, rau quả, đồ uống và các sản phẩm bánh mì (Beasley, 2004). Từ đó, LAB được ứng dụng rộng rãi trong các sản phẩm probiotic

như sữa chua, nem chua, rau cải muối chua... Đặc biệt, nhiều nghiên cứu về vi khuẩn lactic được thực hiện vì có khả năng ức chế các vi khuẩn khác, giúp tăng sức đề kháng cho vật chủ. Nghiên cứu của Ouwehand và Vesterlund (2004) đã xác định tế bào vi khuẩn lactic chứa các hợp chất có tính kháng khuẩn như reuterin, reutericyclin, acid 2-Pyrrolidone-5- carboxylic và trong quá trình sinh trưởng đã tạo ra thêm những thành phần kháng khuẩn khác bao gồm acid lactic, bacteriocin, CO₂, H₂O₂ và diacetyl.

Gatesoupe (1994) cho thấy vi khuẩn lactic đã làm tăng sức đề kháng của ấu trùng cá bơn, giúp chống lại mầm bệnh *Vibrio*. Trịnh Hùng Cường (2011) phân lập được vi khuẩn *Lactobacillus* sp. trên tôm sú nuôi công nghiệp có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh *Vibrio* sp. Nguyễn Ngọc Trai (2011) phân lập được một số chủng *Lactobacillus* sp. có khả năng ức chế vi khuẩn *E. ictaluri* và *A. hydrophila*. Dương Thị Kim Loan (2013) cũng xác định được vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* có khả năng kháng với vi khuẩn *E. ictaluri*.

Kết quả kiểm tra khả năng kháng khuẩn của các chủng vi khuẩn lactic đối với vi khuẩn *S. agalactiae* bằng phương pháp giếng khuếch tán, trong đề tài này cũng cho thấy trong quá trình sinh trưởng vi khuẩn lactic đã sinh ra các sản phẩm có hoạt tính kháng khuẩn có tác động ức chế sự sinh trưởng của vi khuẩn *S. agalactiae*.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Mười một (11) chủng vi khuẩn lactic, trong tổng số 15 chủng thử nghiệm, được xác định có khả năng ức chế ít nhất là 2 chủng và nhiều nhất là 8 chủng trong số 30 chủng vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* phân lập từ cá rô phi bệnh phù mắt và xuất huyết. Đường kính vòng vô khuẩn của các chủng lactic dao động trong khoảng 6 đến 20 mm. Kết quả trên cho thấy triển vọng nghiên cứu tiếp theo về khả năng sử dụng các chủng vi khuẩn lactic trong việc phòng trị bệnh do *S. agalactiae* trên cá rô phi.

LỜI CẢM ƠN

Các nội dung nghiên cứu trong báo cáo được thực hiện từ nguồn kinh phí nghiên cứu của Bộ môn Bệnh học Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ và kinh phí hỗ trợ sinh viên nghiên cứu khoa học của Công ty TNHH UV Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abimbola E., J. Adeyemo and S. T. Ogunbanwo. 2011. Influence of growth

condition and nutritional requirements on the production of hydrogen peroxide by lactic acid bacteria. African Journal of Microbiology Research Vol. 5(15), 4 August, 2011, pp. 2059-2066.

- Barrow, G. I. and R. K. A. Feltham. 1993. Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria, 3rd edn. Cambridge University Press, Cambridge. 262.
- Bartie, K., D. T. H. Oanh, G. Huys, C. Dickson, M. Cnockaert, J. Swings, N. T. Phuong and A. Teale. 2006. Ứng dụng REP-PCR và PFGE để định tít vi khuẩn kháng chloramphenicol phân lập tại các trại nuôi thủy sản ở Đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Công nghệ Sinh học. 4 (1): 31-40.
- Buller, N.B. 2004. Bacteria from fish and other aquatic animals: a practice identification manual, 361 pp.
- Carr, F.J., D. Hill and N. Maida. 2002. The lactic acid bacteria: A literature survey. Crit. Rev. Microbiol. 28, 281-370.
- Dương Thành Long. 2013. Thử nghiệm qui trình PCR phát hiện vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* trên cá điêu hồng (*Oreochromis* sp.). Luận văn Thạc sĩ. Trường Đại học Cần Thơ.
- Dương Thị Kim Loan. 2013. Phân lập và đánh giá khả năng kháng khuẩn của vi khuẩn lactic đối với vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan thận mù trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Luận văn tốt nghiệp cao học ngành Nuôi trồng thủy sản. Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
- Dhanasekaran, D, Subhasish Saha, N. Thajuddin, M. Rajalakshmi and A. Panneerselvam. 2010. Probiotics effect of *Lactobacillus* isolates against bacterial pathogens in fresh water fish. Journal of Coastal Development, Volume 13, Number 2, February 2010: 103-112.
- Tu Thanh Dung, Haesebrouck F, Tuan N.A, Sorgeloos P, Baele M. and Decostere A, 2008. Antimicrobial Susceptibility Pattern of *Edwardsiella ictaluri* isolates from natural outbreaks of Bacillary Necrosis of *Pangasianodon hypophthalmus* in Vietnam. Microb. Drug Res. 14, 311-316.
- Đặng Thụy Mai Thy và Đặng Thị Hoàng Oanh. 2011. Đặc điểm mô bệnh học ở cá điêu hồng (*Oreochromis* sp.) nhiễm vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* trong điều kiện

- thực nghiệm. Kỷ yếu Hội nghị Khoa học Thủy sản Trường Đại học Cần Thơ.
- Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Thanh Phương. 2012. Phân lập và xác định đặc điểm của vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* từ cá điêu hồng (*Oreochromis sp.*) bệnh phù mắt và xuất huyết. Tạp chí khoa học, số 22c: 203-212.
- Đinh Thị Thúy. 2007. Nghiên cứu các bệnh nguy hiểm thường gặp ở cá rô phi nuôi thâm canh. Thông tin KHCN & Kinh tế Thủy sản 12 Trang.
- Đồng Thanh Hà, Nguyễn Việt Khuê và Nguyễn Thị Hạnh. 2010. Một số đặc điểm của *Streptococcus agalactiae*, tác nhân gây bệnh Streptococcosis trên cá rô phi ở miền Bắc Việt Nam. Trung tâm nghiên cứu quan trắc cảnh báo môi trường và phòng ngừa dịch bệnh thủy sản miền Bắc- Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I.
- Gatesoupe F. J. 1994. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic *Vibrio*. Aquatic Living Resources. 7: 277-282.
- Metchnikoff, E. 1908. Prolongation of life: Optimistic studies, pp. 161-183. William Heinemann, London.
- Noga, E.J. 2010. Fish disease, diagnosis and treatment. Blackwell Publishing, p.199–201.
- Ngô Thị Phương Dung, Huỳnh Thị Yến Ly và Huỳnh Xuân Phong. 2011. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn lactic có khả năng sinh chất kháng khuẩn. Tạp chí khoa học, số 19a: 176-184.
- Nguyễn Văn Thành và Nguyễn Ngọc Trai. 2012. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn *Lactobacillus sp.* có khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh gan thận mù và đốm đỏ trên cá tra. Tạp chí khoa học, số 23a: 224-234.
- Ouweland, Arthur and Satu Vesterlund. 2004. Antimicrobial Components from Acid lactic Bacteria. Acid lactic bacteria. University of Turku, Finland, 375-397.
- Sandine, W.E., P.C. Radich, P.R. Elliker. 1972. Ecology of the lactic streptococci. A review. J. Milk Food. Techn. 35, 176-185.
- Shea Beasley. 2004. Isolation, identification and exploitation of lactic acid bacteria from human and animal microbiota. Academic Dissertation in Micribiology. University of Helsinki. Helsinki Finland.
- Trịnh Hùng Cường. 2011. Phân lập vi khuẩn *Lactobacillus sp.* Trên tôm sú công nghiệp có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh *Vibrio sp.*. Luận văn tốt nghiệp cao học ngành Công nghệ sinh học. Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
- Yanong, P.E. R and R. Francis-Floyd. 2002. Streptococcal infections of fish. Insstitute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida.5pp.