

KHẢO SÁT CÔNG DỤNG ĐIỀU TRỊ TIÊU CHẢY DO KHÁNG SINH CỦA MỘT SỐ CHẾ PHẨM CHỨA PROBIOTIC TRÊN THỊ TRƯỜNG

Dương Thị Trúc Ly^{1}, Hà Phú Cường¹, Trần Mộng Tô Tâm¹, Nguyễn Đình Nga²*

1. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

2. Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

*Email: dttyl@ctump.edu.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Việc sử dụng các chế phẩm probiotic ngày càng phổ biến. Nhiều nghiên cứu về tính an toàn, tác dụng của các probiotic đã được tiến hành và công bố. Tuy nhiên có nhiều ý kiến cho rằng chất lượng và công dụng của các chế phẩm này hiện nay không được đảm bảo. **Mục tiêu nghiên cứu:** kiểm nghiệm và khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy do kháng sinh thực nghiệm trên mô hình chuột nhắt trắng của một số chế phẩm chứa probiotic đang lưu hành trên thị trường. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Tiến hành kiểm nghiệm một số chế phẩm chứa probiotic đang lưu hành trên thị trường bao gồm phân lập bằng kỹ thuật cấy vạch ba chiều; định danh dựa trên nhuộm Gram (phương pháp Hucker cải tiến), nhuộm kháng acid (phương pháp Ziehl - Neelsen), nhuộm bào tử (phương pháp Schaeffer - Fulton) và một số phản ứng sinh hóa; định lượng bằng phương pháp đo đĩa và phát hiện vi sinh vật gây bệnh. Chọn các sản phẩm định danh và định lượng đạt để khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy trên mô hình chuột nhắt được gây tiêu chảy bằng hỗn hợp kháng sinh streptomycin và lincomycin. **Kết quả:** Kiểm nghiệm 23 chế phẩm có 5 chế phẩm có thành phần và số lượng vi khuẩn đạt yêu cầu theo công bố trên nhãn chế phẩm. Khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy của 8 chế phẩm được lựa chọn cho thấy chuột ở các nhóm thử nghiệm có tỉ lệ chết thấp hơn và tỉ lệ khỏi bệnh cao hơn nhóm chứng dương, mức độ tăng cân chuột ở các nhóm thử cao hơn nhóm chứng dương với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). **Kết luận:** 18 trong tổng số 23 chế phẩm được khảo sát không đạt về định danh và/hoặc định lượng. 5 chế phẩm được chọn khảo sát tác dụng điều trị tiêu chảy do kháng sinh trên mô hình chuột nhắt trắng cho hiệu quả tốt.

Từ khóa: probiotic, kiểm nghiệm, tiêu chảy, kháng sinh.

ABSTRACT

SURVEYING THERAPEUTIC EFFECT ON DIARRHEA DUE TO ANTIBIOTICS OF SOME PROBIOTIC PRODUCTS ON MARKET

Duong Thi Truc Ly^{1}, Ha Phu Cuong¹, Tran Mong To Tam¹, Nguyen Dinh Nga²*

1. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

2. University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

Background: The using of probiotic products is more and more popular. Many researches of security and effect of probiotic have been done and published already. However, there are many ideas that the quality and effect of these products are not guaranteed. **Objectives:** The objective of this paper is analyzing the quality and surveying the effect on diarrhea due to antibiotics on white rat model of some probiotic products circulating on market. **Materials and methods:** Some products

containing probiotic strains on market was analyzed including isolation by streak plate method; qualification with Gram staining (modified Hucker method), acid-fast staining (Ziehl - Neelsen method), endospore staining (Schaeffer - Fulton method) and some biochemical reactions; quantification by pour plate technique and detection of pathogenic microorganisms. Some products which qualified about qualification and quantification were chosen for surveying effect on diarrhea due to antibiotics with model of diarrhetic rats due to combination of streptomycin and lincomycin.

Results: There are 5 out of 23 products had composition and amount of probiotic strains as declaration on the label. Surveying the effect on diarrhea relating to antibiotics of these 5 products, the result showed that testing groups had the lower dead rate and higher treated rate than positive reference group, the level of weight increase of testing group was higher than positive reference group with statistically difference ($p < 0.05$). **Conclusions:** 18/23 products did not have quantification and/or qualification as declaration 5 qualified products about qualification and quantification had the ability of treating diarrhea due to antibiotics on model of rat.

Key words: probiotic, quality control, diarrhea, antibiotic.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Probiotic là những vi sinh vật sống mà khi đưa vào cơ thể với lượng thích hợp sẽ mang lại những lợi ích về sức khỏe cho vật chủ [9], [11]. Từ rất xưa con người đã biết sử dụng các vi sinh vật sống nhằm mục đích tăng cường sức khỏe cũng như phục vụ cho đời sống sinh hoạt của mình. Probiotic có nhiều tác dụng tốt đối với sức khỏe, đặc biệt là tác dụng trong điều trị các bệnh đường tiêu hóa như tiêu chảy, hội chứng ruột kích thích, viêm dạ dày-ruột, ... [7]. Khi sử dụng các kháng sinh phổ rộng (ampicillin, amoxicillin, cephalosporin, ...) hệ vi sinh vật đường ruột dễ bị mất cân bằng dẫn đến hậu quả là tiêu chảy. Khi đó, tác nhân gây bệnh *Clostridium difficile* phát triển với số lượng lớn và sinh ra chất độc gây tổn thương ruột. Thử nghiệm điều trị bằng *Lactobacillus* GG và một số probiotic khác cho thấy có hiệu quả giảm tiêu chảy. Việc sử dụng đều đặn probiotic hoặc kết hợp probiotic với prebiotic sẽ giảm nguy cơ và thời gian kéo dài của bệnh tiêu chảy ở trẻ em. Một số chủng probiotic làm giảm các tác nhân gây bệnh và mức độ nguy hiểm của bệnh tiêu chảy do virus, ngoài ra chúng còn giúp điều trị tiêu chảy cấp ở trẻ em do tác nhân Rotavirus [8], [10]. Trong phạm vi bài báo này chúng tôi tiến hành kiểm nghiệm một số chế phẩm probiotic đang lưu hành tại Việt Nam và khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy trên mô hình chuột nhắt được gây tiêu chảy bằng hỗn hợp kháng sinh streptomycin và lincomycin đối với các chế phẩm đạt định danh và định lượng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Chế phẩm probiotic: 23 chế phẩm chứa probiotic đang lưu hành trên thị trường (2 chế phẩm mua tại thành phố Hồ Chí Minh và 21 chế phẩm mua tại thành phố Cần Thơ).

Động vật thí nghiệm: chuột nhắt trắng giống Swiss mua từ Viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh, không phân biệt giới tính, có trọng lượng từ 18-22 gam.

Địa điểm nghiên cứu

Phòng thực tập Kiểm Nghiệm, Khoa Dược, trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

Phòng thực tập Vi Sinh, Khoa Y, trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

Phòng thực tập Dược Lý, Khoa Dược, trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

Mục tiêu nghiên cứu

Nội dung nghiên cứu bao gồm kiểm nghiệm chất lượng (phân lập, định danh, định lượng và phát hiện vi sinh vật gây bệnh) một số chế phẩm chứa probiotic đang lưu hành trên

thị trường và sau đó khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy do kháng sinh của các chế phẩm đạt tiêu chuẩn kiểm nghiệm.

Phương pháp nghiên cứu

Kiểm nghiệm chế phẩm chứa probiotic đang lưu hành [2], [3], [4], [5]

Phân lập bằng kỹ thuật cấy vạch ba chiều trên mặt thạch môi trường chọn lọc, ủ ở điều kiện thích hợp với từng loài vi khuẩn cần phân lập.

Tiến hành tăng sinh và thực hiện các phản ứng định danh: Nhuộm Gram bằng phương pháp Hucker cải tiến, nhuộm kháng acid bằng phương pháp Ziehl - Neelsen, nhuộm bào tử bằng phương pháp Schaeffer - Fulton, các phản ứng sinh hóa bao gồm phản ứng catalase (H_2O_2), thử khả năng di động (môi trường SIM), phản ứng lên men đường (chỉ thị tím bromocresol).

Định lượng: Trộn đều 5 đơn vị chế phẩm, lấy lượng thuốc tương đương 1 đơn vị chế phẩm, pha loãng bằng nước muối sinh lý đến độ pha loãng thích hợp. Lấy chính xác một lượng dịch cho vào đĩa thạch môi trường sao cho lượng vi sinh vật lý thuyết nằm trong khoảng 25-250 cfu/đĩa. Mỗi lần định lượng thực hiện 2 đĩa, tiến hành định lượng 2 lần cho một chế phẩm. Ủ ở điều kiện thích hợp cho từng vi khuẩn. Đếm số khuẩn lạc và tính toán kết quả. Lượng vi sinh vật phải nằm trong khoảng 0,5-1,5 lần lượng vi sinh vật ghi trên nhãn.

Thử giới hạn vi sinh vật gây bệnh: Phân lập và thực hiện phản ứng sinh hóa tìm *C. albicans*, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *S. aureus*.

Khảo sát công dụng trị tiêu chảy của chế phẩm đạt định danh và định lượng

Chọn 5 chế phẩm đạt về định danh và định lượng, tiến hành khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy trên mô hình chuột nhất được gây tiêu chảy bằng hỗn hợp kháng sinh streptomycin và lincomycin. Thử nghiệm được tiến hành qua 2 giai đoạn: gây mô hình tiêu chảy bằng kháng sinh trên chuột và khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy của các chế phẩm đạt tiêu chuẩn kiểm nghiệm [1], [6].

Gây mô hình tiêu chảy bằng kháng sinh trên chuột

Cách tiến hành:

Chia chuột thành 6 nhóm, mỗi nhóm 10 con. Chọn 1 nhóm làm nhóm chứng âm, 5 nhóm còn lại làm các nhóm thử (nhóm thử A). Mỗi nhóm được nhốt trong một lồng riêng để thuận lợi cho việc quan sát và ghi nhận khối lượng.

- Nhóm thử A: chuột được gây tiêu chảy bằng cách cho uống hỗn hợp 2 kháng sinh: streptomycin 20 mg và lincomycin 30 mg/10 gam thể trọng chuột x 2 lần/ngày trong 6 ngày, theo dõi đến khi chuột trong các nhóm thử bị tiêu chảy.

- Nhóm chứng âm: cho chuột uống nước muối sinh lý 2 lần/ngày.

Đánh giá kết quả:

Chuột bị tiêu chảy khi quan sát thấy hậu môn chuột đỏ, phân lỏng và trọng lượng chuột giảm so với lúc bắt đầu thử nghiệm.

Khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy của chế phẩm

Cách tiến hành:

Chia chuột tiêu chảy ở giai đoạn gây mô hình tiêu chảy thành các nhóm, mỗi nhóm 6 con. Chọn ra 1 nhóm làm nhóm chứng dương, các nhóm còn lại làm nhóm thử (nhóm thử B). Tiến hành điều trị như sau:

- Nhóm thử B: cho chuột uống kháng sinh liều duy trì bằng ¼ liều gây tiêu chảy 1 lần/ngày + chế phẩm với liều 10^6 cfu/10 gam thể trọng chuột x 2 lần/ngày trong 4 ngày. Cho uống chế phẩm cách thời điểm cho uống kháng sinh ít nhất 3 giờ.

- Nhóm chứng dương: cho chuột uống kháng sinh liều duy trì bằng ¼ liều gây tiêu chảy 1 lần/ngày + nước muối sinh lý 2 lần/ngày.

Theo dõi hiệu quả điều trị tiêu chảy bằng cách quan sát phân chuột hàng ngày cho đến khi chuột hết tiêu chảy. Chuột được xem là hết tiêu chảy khi trọng lượng chuột tăng so với lúc bắt đầu điều trị, hậu môn chuột bình thường và phân chuột khô không chảy nước.

Đánh giá kết quả:

- Kết quả điều trị sẽ được đánh giá dựa trên 3 yếu tố: tỉ lệ chuột chết, tỉ lệ chuột khỏi tiêu chảy và mức độ tăng cân của chuột so với nhóm chứng dương.

- Dữ liệu về mức độ tăng cân của chuột được trình bày dưới dạng bảng số trung bình (Mean ± SEM), số liệu được thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 2010, sử dụng phép kiểm Anova Single Factor để so sánh sự khác biệt về mức độ tăng cân chuột giữa nhóm chứng dương và nhóm thử ($\alpha = 0,05$).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả kiểm nghiệm chế phẩm probiotic đang lưu hành

Tiến hành phân lập, định danh và định lượng 23 chế phẩm chứa probiotic đang lưu hành trên thị trường thu được kết quả cụ thể trình bày ở bảng 2.

Thử giới hạn vi sinh vật gây bệnh (bao gồm *C. albicans*, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* và *S. aureus*) cả 23 chế phẩm được thử nghiệm đều không phát hiện các vi sinh vật gây bệnh (không trình bày số liệu cụ thể trong phạm vi bài báo).

Bảng 1. Kết quả phân lập, định danh, định lượng các chế phẩm probiotic đơn chủng

STT	Mã CP	Loài	Phân lập	Định danh	Định lượng	Hàm lượng trên nhãn	Đánh giá
1	CP3	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$0,72.10^9$	10^9	Đạt
2	CP6	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$1,14.10^9$	$\geq 10^8$	Đạt
3	CP11	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$<3,00.10^6$	3.10^8	Không đạt
4	CP16	<i>B. subtilis</i>	+	+	$0,29.10^8$	$10^7 - 10^8$	Đạt
5	CP17	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$1,79.10^8$	10^8	Không đạt
6	CP23	<i>B. clausii</i>	+	+	$1,08.10^9$	10^9	Đạt

Bảng 2. Kết quả phân lập, định danh, định lượng các chế phẩm probiotic đa chủng

STT	Mã CP	Loài	Phân lập	Định danh	Định lượng	Hàm lượng trên nhãn	Đánh giá
1	CP1	<i>L. acidophilus</i>	-	-			Không đạt
		<i>B. subtilis</i>	+	+	$0,8.10^6$	$\geq 1,25.10^8$	
		<i>E. faecalis</i>	-	-			
2	CP2	<i>L. acidophilus</i>	-	-			Không đạt
		<i>B. longum</i>	-	-			
		<i>E. faecalis</i>	-	-			
3	CP4	<i>L. acidophilus</i>	-	-			Không đạt
		<i>S. thermophilus</i>	-	-			
4	CP5	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$0,70.10^8$	$10^7 - 10^8$	Không đạt
		<i>B. clausii</i>	+	+	$0,73.10^8$	$10^7 - 10^8$	
5	CP7	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$0,67.10^8$	10^9	Không đạt
		<i>L. casei</i>	+	+	$1,20.10^8$	10^9	
6	CP8	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$3,95.10^7$	10^8	Đạt
		<i>B. subtilis</i>	+	+	$2,30.10^7$	10^8	

STT	Mã CP	Loài	Phân lập	Định danh	Định lượng	Hàm lượng trên nhân	Đánh giá
7	CP9	<i>L. acidophilus</i>	-	-			Không đạt
		<i>B. longum</i>	-	-			
		<i>E. faecalis</i>	+	+	$<1,00.10^6$	$\geq 10^8$	
8	CP10	<i>L. acidophilus</i>	-	-			Không đạt
		<i>L. kefır</i>	-	-			
9	CP12	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$<1,00.10^6$	$2,5.10^8$	Không đạt
		<i>L. rhamnosus</i>	+	+	$1,43.10^8$	$2,5.10^8$	
		<i>B. bifidum</i>	+	+	$0,69.10^8$	$1,25.10^8$	
		<i>B. longum</i>	+	+	$3,65.10^6$	$1,25.10^8$	
		<i>E. faecium</i>	+	+	$2,28.10^8$	$2,5.10^8$	
10	CP13	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$0,21.10^8$	10^8	Không đạt
		<i>B. breve</i>	+	+	$<1,00.10^5$	$0,5.10^8$	
		<i>B. longum</i>	-	-			
		<i>E. faecium</i>	+	+	$9,87.10^8$	10^8	
11	CP14	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$0,56.10^5$	$10^6 - 10^7$	Không đạt
		<i>L. kefır</i>	+	+	$0,65.10^5$	$10^6 - 10^7$	
12	CP15	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$0,99.10^8$	3.10^8	Không đạt
		<i>S. thermophilus</i>	-	-			
13	CP18	<i>L. acidophilus</i>	-	-			Không đạt
		<i>S. thermophilus</i>	+	+	$0,35.10^5$	10^7	
14	CP19	<i>L. acidophilus</i>	-	-			Không đạt
		<i>S. thermophilus</i>	+	+	$0,33.10^6$	$\geq 10^8$	
15	CP20	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$0,72.10^8$	$\geq 10^8$	Không đạt
		<i>B. longum</i>	+	+	$<1,00.10^6$	$\geq 10^8$	
		<i>E. faecalis</i>	+	+	$2,96.10^8$	$\geq 10^8$	
16	CP21	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$<1,00.10^6$	$\geq 10^8$	Không đạt
		<i>B. subtilis</i>	+	+	$<1,00.10^6$	$\geq 10^8$	
		<i>E. faecalis</i>	+	+	$0,06.10^8$	$\geq 10^8$	
17	CP22	<i>L. acidophilus</i>	+	+	$<0,50.10^7$	$\geq 10^9$	Không đạt
		<i>L. casei</i>	+	+	$0,21.10^9$	$\geq 10^9$	
		<i>L. plantarum</i>	-	-			
		<i>E. faecium</i>	+	+	$0,14.10^9$	$\geq 10^9$	

Kết quả khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy của chế phẩm đạt định danh và định lượng

Chọn 5 chế phẩm có kết quả định danh và định lượng đạt gồm CP3, CP6, CP8, CP16, CP23 để khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy trên mô hình chuột thử nghiệm.

Kết quả gây mô hình tiêu chảy bằng kháng sinh trên chuột

Tiến hành gây mô hình tiêu chảy trên chuột bằng hỗn hợp kháng sinh streptomycin và lincomycin. Kết quả sau 6 ngày theo dõi được trình bày ở bảng 3 và bảng 4.

Bảng 3. Số lượng chuột còn sống và số lượng chuột tiêu chảy qua các ngày (số chuột tiêu chảy/số chuột còn sống)

Ngày	Nhóm chứng âm	Nhóm thử A					Tổng
		1	2	3	4	5	
1	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50
2	0/10	0/9	0/9	0/9	0/10	0/10	0/47

Ngày	Nhóm chứng âm	Nhóm thử A					Tổng
		1	2	3	4	5	
3	0/10	0/7	0/8	0/9	0/10	0/9	0/43
4	0/10	0/6	0/6	2/7	0/10	0/7	2/36
5	0/10	2/6	1/5	4/7	4/10	1/7	12/35
6	0/10	5/5	4/4	6/6	8/8	7/7	30/30

Bảng 4. Mức độ tăng cân chuột ở các nhóm (gam)

Ngày	Nhóm chứng âm	Nhóm thử A				
		1	2	3	4	5
1	1,61±0,27	0,33±0,12	1,76±0,29	0,29±0,40	0,24±0,22	0,78±0,34
2	1,23±0,10	-0,17±0,38	0,55±0,43	-0,60±0,22	0,92±0,30	1,16±0,46
3	0,86±0,15	-0,40±0,55	-0,90±0,44	-1,37±0,26	-0,36±0,29	-0,17±0,26
4	0,69±0,14	-0,60±0,28	-0,76±0,33	-0,90±0,16	-1,69±0,23	-1,37±0,18
5	0,81±0,19	-0,10±0,23	-0,92±0,32	-0,58±0,22	-0,29±0,20	-0,20±0,30
6	0,84±0,12	-0,78±0,33	-1,15±0,53	-0,43±0,29	-0,28±0,18	-0,77±0,26

Ở nhóm chứng không có chuột chết, khối lượng chuột tăng dần trong quá trình thử nghiệm. Ở các nhóm thử có chuột chết và khối lượng chuột tăng trong 1 đến 2 ngày đầu sau đó giảm dần trong quá trình thử nghiệm.

Kết quả khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy của chế phẩm đạt định danh và định lượng

Tiến hành thử nghiệm và theo dõi sau 4 ngày, kết quả tỉ lệ chuột chết và tỉ lệ chuột hết tiêu chảy được trình bày trong bảng 5 và bảng 6.

Bảng 5. Tỉ lệ chuột chết ở các nhóm sau 4 ngày điều trị

Nhóm thử B	CP3	CP6	CP8	CP16	CP23	Chứng dương
Số chuột ban đầu	6	6	6	6	6	6
Số chuột sống	6	6	6	6	6	4
Số chuột chết	0	0	0	0	0	2
Tỉ lệ chuột chết	0%	0%	0%	0%	0%	33,33%

Bảng 6. Tỉ lệ chuột hết tiêu chảy ở các nhóm sau 4 ngày điều trị (%)

Nhóm thử B	CP3	CP6	CP8	CP16	CP23	Chứng dương
Ngày 1	0	0	0	0	0	0
Ngày 2	33,33	33,33	0	0	50	0
Ngày 3	100	83,33	66,67	83,33	83,33	0
Ngày 4	100	100	100	100	100	16,67

Sau 4 ngày điều trị, ở nhóm chứng dương cân nặng trung bình của chuột giảm dần. Trong khi ở các nhóm thử được sử dụng probiotic cân nặng chuột nói chung tăng. Kết quả được trình bày trong bảng 7.

Bảng 7. Mức độ tăng cân trung bình từng ngày trong 4 ngày điều trị (gam)

Nhóm thử B	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
CP3	0,60*±0,23	1,67*±0,16	1,68*±0,24	1,22*±0,09
CP6	-0,67±0,64	1,20±0,39	1,13*±0,22	1,67*±0,50
CP8	-1,50±0,18	0,67±0,38	1,55*±0,49	1,35*±0,26
CP16	1,00*±0,48	0,67±0,70	1,80*±0,19	0,92*±0,19
CP23	-0,17±0,42	0,90±0,51	1,17*±0,17	0,77*±0,26
Chứng dương	-0,13±0,15	0,00±0,80	-0,04±0,17	-0,10±0,19

* khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng trong cùng ngày (p < 0,05)

IV. BÀN LUẬN

Kiểm nghiệm chế phẩm probiotic đang lưu hành

Trong 23 chế phẩm khảo sát có 6 chế phẩm đơn chủng và 17 chế phẩm đa chủng. Kết quả phân lập cho thấy một số chế phẩm không phân lập được vi khuẩn, nhiều chế phẩm đa chủng chỉ có một hoặc một vài vi khuẩn được tìm thấy so với thành phần vi khuẩn ghi trên nhãn. Qua quá trình kiểm nghiệm bao gồm định danh và định lượng các chủng probiotic được ghi trên nhãn của 23 chế phẩm khảo sát, kết quả cho thấy có 5 chế phẩm đạt và 18 chế phẩm không đạt định danh, định lượng. Kết quả trên phân nào cho thấy các chế phẩm probiotic đang lưu hành trên thị trường có nhiều chế phẩm không đạt về định danh hoặc định lượng hoặc cả định danh và định lượng so với công bố trên nhãn sản phẩm.

Khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy của các chế phẩm đạt định danh và định lượng Gây mô hình tiêu chảy bằng kháng sinh trên chuột

Sau khi tham khảo tài liệu, chúng tôi lựa chọn sử dụng phối hợp 2 kháng sinh streptomycin và clincomycin đường uống để gây tiêu chảy trên chuột. Khi phối hợp 2 kháng sinh này bằng đường uống có thể tiêu diệt hệ vi khuẩn đường ruột, nhất là lincomycin có khả năng tiêu diệt các vi khuẩn kỵ khí trong ruột già. Sự mất cân bằng của hệ vi khuẩn đường ruột cũng tạo cơ hội cho các vi khuẩn có hại phát triển nhất là *Clostridium difficile*, 2 yếu tố trên kết hợp lại gây ra tiêu chảy và làm cho chuột giảm thể trọng [1].

Kết quả thực nghiệm cho thấy từ ngày thứ 2 trọng lượng chuột bắt đầu giảm, đến ngày thứ 6 tất cả chuột ở các nhóm thử A đều bị tiêu chảy. Trong khi đó, chuột ở nhóm chứng âm được cho uống nước muối sinh lý nên không bị tiêu chảy và khối lượng chuột tăng liên tục trong các ngày thử nghiệm. Như vậy chúng tôi đã xây dựng được mô hình tiêu chảy do kháng sinh trên chuột và tiếp tục tiến hành khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy của chế phẩm.

Khảo sát công dụng điều trị tiêu chảy của chế phẩm đạt định danh và định lượng

Sau 4 ngày điều trị, có sự khác biệt rõ rệt về tỉ lệ chuột chết giữa nhóm chứng không điều trị và các nhóm cho uống chế phẩm. Các nhóm thử B được điều trị bằng chế phẩm đều không có chuột chết mặc dù chuột vẫn uống kháng sinh liều duy trì. Ngược lại ở nhóm chứng, do chuột vẫn uống kháng sinh duy trì nhưng không được điều trị nên không khỏi tiêu chảy và có 1/3 số chuột trong nhóm chết do tiêu chảy. Cho thấy các chế phẩm thử nghiệm có khả năng làm giảm tỉ lệ chết ở chuột tiêu chảy do kháng sinh.

Sau 4 ngày điều trị có sự khác biệt rõ rệt về tỉ lệ chuột khỏi bệnh giữa nhóm chứng dương và các nhóm thử. Ở nhóm chứng dương do không được điều trị nên tỉ lệ chuột khỏi bệnh sau 4 ngày theo dõi chỉ có 16,67%, còn ở các nhóm thử tất cả chuột đều hết tiêu chảy hoàn toàn sau 4 ngày điều trị. Cho thấy các chế phẩm thử nghiệm có khả năng điều trị tiêu chảy trên chuột bị tiêu chảy do kháng sinh.

Tiêu chí cuối cùng để đánh giá khả năng điều trị tiêu chảy của các chế phẩm là mức độ tăng cân trung bình của chuột sau 4 ngày điều trị. Nhìn chung sự khác biệt về mức độ tăng cân của các nhóm thử so với nhóm chứng là tương tự nhau. Đối với nhóm chứng, cân nặng chuột giảm dần sau 4 ngày theo dõi. Đối với các nhóm thử, ngày đầu tiên cân nặng trung bình của chuột giảm, sang ngày thứ 2 cân nặng trung bình bắt đầu tăng lên nhưng chưa khác biệt so với nhóm chứng, 2 ngày cuối cùng cân nặng trung bình của chuột tiếp tục tăng và mức độ tăng cân có sự khác biệt có ý nghĩa so với nhóm chứng (qua phân tích ANOVA).

Từ các kết quả trên cho thấy chuột được uống chế phẩm chứa probiotic, các lợi khuẩn sẽ được bổ sung, giúp cân bằng hệ vi khuẩn đường ruột, đồng thời chúng tiết ra các enzym tiêu hóa giúp hỗ trợ quá trình tiêu hóa và hấp thu, tiết ra các chất ức chế các tác nhân gây tiêu chảy, từ đó giúp chuột dần dần hết tiêu chảy, phục hồi cân nặng và tăng cân dần. Tuy nhiên ở ngày đầu tiên của thử nghiệm, vi khuẩn bổ sung chưa kịp phát triển và phát huy hết tác dụng nên cân nặng của chuột còn giảm hoặc chỉ tăng nhẹ. Sang ngày thứ 2, các vi khuẩn bắt đầu phát triển tốt và phát huy tác dụng. Hệ vi khuẩn được cân bằng, các yếu tố gây nên tiêu chảy bị ức chế nên cân nặng chuột bắt đầu tăng, chuột bắt đầu khỏi tiêu chảy và sau 4 ngày điều trị toàn bộ chuột ở các nhóm thử đã hết tiêu chảy hoàn toàn và không có chuột chết. Ở nhóm chứng, do chuột phải uống kháng sinh liều duy trì và không được điều trị nên tình trạng tiêu chảy không được cải thiện, chuột tiếp tục giảm cân. Tiêu chảy kéo dài làm cho chuột mất nước và chất điện giải dẫn đến chuột chết.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát khả năng điều trị tiêu chảy do kháng sinh của một số chế phẩm chứa probiotic đang lưu hành trên thị trường. Qua khảo sát, có 18 trong tổng số 23 chế phẩm được khảo sát không phân lập được vi khuẩn, phân lập được vi khuẩn nhưng không đúng như công bố trên nhãn sản phẩm hoặc số lượng vi khuẩn không đạt so với công bố trên nhãn sản phẩm. 5 chế phẩm đạt về định danh và định lượng có hiệu quả tốt trong điều trị tình trạng tiêu chảy do kháng sinh thực nghiệm trên mô hình chuột nhắt trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thị Thu Hằng (2013), *Dược lực học*, Nhà xuất bản Phương Đông, tr. 744-746, 760-761.
2. Dương Thị Trúc Ly, Nguyễn Thanh Nhân, Nguyễn Đình Nga, Trần Thanh Nhân, Trần Cát Đông (2015), Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm một số chế phẩm probiotic có chứa chủng *Bacillus*, *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, Phụ bản Tập 19, số 3, tr. 311-317.
3. Dương Thị Trúc Ly, Nguyễn Phương Thảo, Nguyễn Đình Nga, Trần Thanh Nhân, Trần Cát Đông (2015), Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm một số chế phẩm probiotic có chứa chủng *Bifidobacterium*, *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, Phụ bản Tập 19, số 3, tr. 304-310.
4. Dương Thị Trúc Ly, Trần Mộng Tố Tâm, Nguyễn Đình Nga, Trần Thanh Nhân, Trần Cát Đông (2016), Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm chế phẩm probiotic chứa *Enterococcus* và *Streptococcus*, *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ*, số 3-4, tr. 89-95.
5. Dương Thị Trúc Ly, Trần Hữu Trí, Phạm Minh Hữu Tiến (2014), Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm một số chế phẩm probiotic có chứa chủng *Lactobacillus*, *Tạp chí Y học thực hành* số 944, tr. 59-62.
6. Vũ Thanh Thảo, Nguyễn Minh Thái, Nguyễn Thị Linh Giang, Trần Hữu Tâm, Trần Cát Đông (2014), Nghiên cứu đặc tính probiotic của *Bacillus subtilis* BS02, *Tạp chí Y học thực hành*, Tập 907 số 3, tr. 22-24.
7. Cynthia L. Sears (2005), A dynamic partnership: Celebrating our gut flora, *Anaerobe* Vol. 11, pp. 247-255.
8. D. A. Russell, G. F. Fitzgerald, C. Stanton (2011), Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria, *International Journal of Food Microbiology*, pp. 88-105.
9. J. Paulo Sousa e Silva, Ana C. Freitas (2014), *Probiotic Bacteria*, pp. 12-14.
10. Tripta Bansal, Sanjay Garg (2008), Probiotics: From Functional Foods to Pharmaceutical Products, *Current Pharmaceutical Biotechnology*, pp. 267-287.

11. Vijaya K. Gogineni, Lee E. Morrow, Philip J. Gregory, Mark A. Malesker (2013), Probiotics: History and Evolution, *Journal of Ancient Diseases and Preventive Remedies*, Volume 1 (2), pp. 1-7.

Ngày nhận bài: 06/08/2020 - Ngày duyệt đăng: 14/09/2020
