

## KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG VI SINH VẬT GÂY BỆNH VÀ ĐỀ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA MỘT SỐ CHỦNG PROBIOTIC

Dương Thị Trúc Ly<sup>1\*</sup>, Ngô Vũ Quỳnh Hương<sup>1</sup>  
Trần Mộng Tố Tâm<sup>1</sup>, Trần Cát Đông<sup>2</sup>

1. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

2. Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

\*Email: dtty@ctump.edu.vn

### TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Các chế phẩm chứa probiotic được sử dụng ngày càng nhiều, tuy nhiên chất lượng của chúng chưa được kiểm soát chặt chẽ. Các chủng probiotic phải đạt các tiêu chuẩn về tính an toàn, đề kháng kháng sinh và đối kháng vi sinh vật gây bệnh. **Mục tiêu nghiên cứu:** khảo sát khả năng đối kháng vi sinh vật gây bệnh và đề kháng kháng sinh của một số chủng probiotic, áp dụng thử nghiệm đánh giá tính chất các chủng probiotic phân lập từ chế phẩm. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 16 chủng vi khuẩn *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus* và *Enterococcus* được khảo sát khả năng đối kháng vi sinh vật gây bệnh (phương pháp vạch thẳng vuông góc và khuếch tán), khả năng đề kháng kháng sinh (phương pháp đĩa khuếch tán, pha loãng trên thạch và sử dụng bộ kháng sinh đồ kỹ khí ATB ANA bioMérieux). **Kết quả:** 14 trong số 16 chủng thử nghiệm có khả năng đối kháng với các vi khuẩn gây bệnh thường gặp, tác động đối kháng mạnh thường do các vi khuẩn thuộc nhóm LAB (vi khuẩn sinh acid lactic) tạo ra. Các vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* cũng có khả năng đối kháng với các vi sinh vật gây bệnh Gram dương nhưng khả năng đề kháng kém hơn so với nhóm LAB thử nghiệm. Đa số probiotic khảo sát đều nhạy cảm với các loại

kháng sinh thông thường, mặc dù vẫn xuất hiện một vài chủng kháng thuốc. **Kết luận:** Qua quá trình khảo sát, đa số các chủng probiotic trong các chế phẩm đều mang các đặc tính có lợi mong muốn.

**Từ khóa:** probiotic, đối kháng vi sinh vật gây bệnh, đề kháng kháng sinh

## ABSTRACT

### SURVEYING ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOTIC ACTIVITY OF SOME PROBIOTIC STRAINS

Duong Thi Truc Ly<sup>1\*</sup>, Ngo Vu Quynh Huong<sup>1</sup>,  
Tran Mong To Tam<sup>1</sup>, Tran Cat Dong<sup>2</sup>

1. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

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

**Background:** Probiotic products are becoming widely consumed. However, their quality has not been controlled strictly. Probiotic strains must have standards of safety, antibiotic resistance and antimicrobial ability. **Objectives:** The objective of this paper is surveying antibacterial and antibiotic resistance activity of isolated probiotic and applying for isolated probiotic in some products. **Materials and methods:** 16 isolated strains of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus* and *Enterococcus* were surveyed antibacterial activity (cross streak method and agar well diffusion method), antibiotic resistance property (Agar disk diffusion, Agar dilution and ATB ANA test of bioMérieux). **Results:** The results showed that 14 out of 16 isolated strains are able to inhibit common pathogenic bacteria, strong antagonistic effect is usually caused by bacteria of LAB (lactic acid bacteria). *Bacillus* strains are also resistant to Gram positive pathogens but less resistant than experimental LAB. Most probiotic surveyed are susceptible to common antibiotics, in spite of some resistant cases. **Conclusion:** In this survey, most strains of probiotic products had required beneficial properties.

**Key words:** antibacterial, activity, antibiotic, probiotic, resistant.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Probiotic là những vi sinh vật sống mang lại lợi ích cho vật chủ bằng cách củng cố cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột. Tại Việt Nam cũng như nhiều nước trên thế giới, các chế phẩm có nguồn gốc probiotic với nhiều dạng bào chế khác nhau đã và đang được sử dụng phổ biến. Hầu hết những chế phẩm này được sử dụng bằng đường uống, khi đưa vào cơ thể các vi khuẩn probiotic chịu tác động trực tiếp bởi các yếu tố như pH acid của dịch vị, thành phần muối mật và các enzym tiêu hóa. Vì vậy, các chủng probiotic trong chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu về đặc điểm sinh học như khả năng sống sót khi đi qua ống tiêu hóa của vật chủ, bên cạnh đó cũng phải đạt các tiêu chuẩn về tính an toàn, tính đề kháng kháng sinh và tính đối kháng vi sinh vật gây bệnh. Hiện nay, nghiên cứu về những đặc tính đó chưa phát triển nhiều, nhiều nghiên cứu mang tính riêng lẻ trên một chủng probiotic nào đó trong khi hầu hết chế phẩm trên thị trường đều chứa nhiều chủng khác nhau. Trong phạm vi bài báo này, chúng tôi tiến hành các khảo sát đặc điểm có lợi bao gồm khả năng đối kháng vi sinh vật gây bệnh và đề kháng kháng sinh của một số chủng probiotic được phân lập và ứng dụng khảo sát tính chất một số chủng probiotic từ các chế phẩm đang lưu hành trên thị trường.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu:

Vi khuẩn *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. kefir*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*), *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. breve*), *Bacillus* (*B. clausii*, *B. coagulans*, *B.*

*licheniformis*, *B. polyfermenticus*, *B. subtilis*), *Streptococcus thermophilus* (*S. thermophilus*) và *Enterococcus* (*E. faecalis*, *E. faecium*) được phân lập từ chế phẩm trên môi trường thích hợp cho mỗi loại.

Vi khuẩn gây bệnh *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*), *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (MSSA), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S. aureus*) và *Salmonella typhi* (*S. typhi*) do Đại học Y Dược TP. HCM cung cấp.

Các chủng vi khuẩn gốc được bảo quản ở -80° C trong môi trường lỏng chứa 20% glycerol.

Phương pháp nghiên cứu:

Khảo sát khả năng đối kháng vi sinh vật gây bệnh [1]

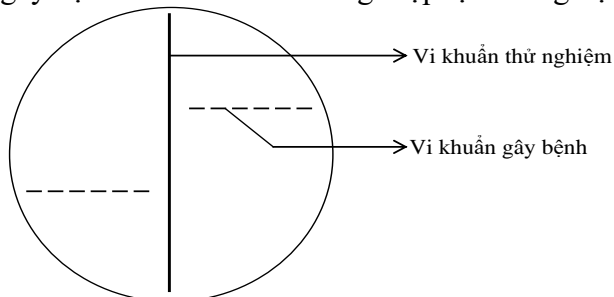
Phương pháp vạch thẳng vuông góc (áp dụng cho *Bacillus*)

Cấy vi khuẩn thử nghiệm vào môi trường thạch thích hợp, ủ tăng sinh, lấy 3-5 khuẩn lạc riêng lẻ cấy vào môi trường thạch lỏng, ủ hoạt hóa theo điều kiện ở bảng 1. So sánh độ đục với ống chuẩn McFarland và điều chỉnh để được huyền dịch có nồng độ 10<sup>8</sup> CFU/ml, sử dụng trong 15 phút.

Bảng 1. Điều kiện nuôi cấy thích hợp cho các chủng probiotic

Chi	Môi trường	Nhiệt độ ủ	Điều kiện ủ
<i>Enterococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bacillus</i>	TSB	37 °C	Hiếu khí
<i>Lactobacillus</i>	MRSB	37 °C	Vi hiếu khí
<i>Bifidobacterium</i>	MRSB + L-cystein	37 °C	Kỵ khí

Cấy chủng vi khuẩn cần thử nghiệm theo một đường dọc trên đĩa thạch MHA. Sau 48 giờ, cấy các chủng vi khuẩn gây bệnh theo các vạch thẳng góc với vi khuẩn thử nghiệm, cách 1-2 mm. Ủ 37° C trong 24 giờ. Đo khoảng cách giữa mép của vạch vi khuẩn thử nghiệm với chỗ vi sinh vật gây bệnh bắt đầu sinh trưởng. Lặp lại thử nghiệm 3 lần.



#### Phương pháp khuếch tán

Lấy 3-5 khuẩn lạc riêng rẽ cấy vào môi trường thạch thích hợp, ủ tăng sinh ở 37° C trong môi trường lỏng với thời gian thích hợp theo bảng 2, ly tâm 6000 vòng/phút trong 30 phút. Thu dịch nổi, ly tâm 6000 vòng/phút trong 30 phút, hút dịch nổi, thu được dịch nuôi cấy. Lọc qua màng lọc 0,22 µm và bảo quản ở 4° C.

Bảng 2. Điều kiện thích hợp thu dịch kháng khuẩn cho các chủng probiotic

Chi	Môi trường	Thời gian ủ	Điều kiện ủ
<i>Enterococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bacillus</i>	TSB	48 giờ	Hiếu khí
<i>Lactobacillus</i>	MRSB	96 giờ	Vi hiếu khí
<i>Bifidobacterium</i>	MRSB + L-cystein	96 giờ	Kỵ khí

Pha loãng huyền dịch vi khuẩn gây bệnh đến nồng độ 10<sup>6</sup> CFU/ml, cho vào môi trường MHA vô khuẩn đã đun chảy hoàn toàn và để nguội đến 45-50° C, với nồng độ tương ứng 1 ml dịch vi sinh vật trong 100 ml môi trường, lắc đều. Đổ vào đĩa petri, để yên 45 phút

cho thạch khô hoàn toàn. Đục lỗ đường kính 6 mm trong bản thạch. Cho 100 µl dịch nuôi cấy vi khuẩn thử nghiệm vào các lỗ. Tiến hành song song với một lỗ chứng chứa môi trường nuôi cấy. Để yên khoảng 60 phút, ủ 37° C trong 24 giờ. Đo đường kính vùng ức chế vi khuẩn. Lặp lại thử nghiệm 3 lần.

*Khảo sát khả năng đề kháng kháng sinh*

Kháng sinh thử nghiệm: penicillin G, cephalothin, vancomycin, erythromycin, chloramphenicol.

*Phương pháp pha loãng trên thạch (áp dụng cho Bacillus) [5], [6]*

Hòa tan kháng sinh thành các dung dịch và trộn với môi trường MHA đã hấp tiệt trùng, để nguội đến 45-50 °C để được các nồng độ 256; 128; 64; 32; 16; 8;...; 0, 25; 0, 125; 0, 0625 µg/mL. Làm song song mẫu chứng không chứa kháng sinh. Chấm 1-2 µL huyền dịch vi khuẩn lên đĩa để đạt được mật độ khoảng 10<sup>4</sup>/chấm. Để khô ở nhiệt độ phòng, ủ 37° C trong 18 giờ và đọc kết quả. Chúng đối chứng là *S. aureus* ATCC 29213 để kiểm tra hoạt lực của kháng sinh thử nghiệm.

*Phương pháp dùng bộ test ATB ANA bioMérieux (áp dụng cho Bifidobacterim)*

Thực hiện khảo sát khả năng đề kháng kháng sinh với bộ test ATB ANA do hãng bioMérieux sản xuất, ủ kỵ khí ở 37° C trong 48 giờ và đọc kết quả.

*Phương pháp đĩa khuếch tán [2], [3], [4], [7]*

Dùng que bông vô trùng thấm huyền dịch vi khuẩn, quét trên mặt thạch thật đều và kín. Giữ yên các đĩa trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, đặt các đĩa giấy kháng sinh lên trên bề mặt môi trường đã đông đặc, ủ vi hiếu khí các đĩa petri ở 37° C trong 48 giờ. Đo đường kính vòng ức chế sinh trưởng và so sánh với bảng tiêu chuẩn về mức độ nhạy với kháng sinh theo Bauer.

Áp dụng qui trình khảo sát tính chất chế phẩm trên thị trường

Áp dụng qui trình khảo sát các chế phẩm probiotic đa chủng và đơn chủng trong đó có 3 chế phẩm chứa *L. acidophilus*, 1 chế phẩm chứa *L. casei*, 1 chế phẩm chứa *B. subtilis*, 1 chế phẩm chứa *B. clausii*. Mỗi chế phẩm tiến hành kiểm nghiệm trên 2 mẫu. Trộn đều 1 số đơn vị chế phẩm, cân lượng bột thuốc tương đương khối lượng trung bình 1 đơn vị chế phẩm. Pha loãng với nước muối sinh lý trong ống nghiệm vô khuẩn theo tỉ lệ bột thuốc : nước muối sinh lý (1:1). Dùng vòng cấy lấy dịch vừa pha, cấy vạch ba chiều lên môi trường, ủ ở điều kiện thích hợp cho từng loại vi khuẩn. Giữ chủng trong môi trường MRSB chứa 15% glycerin ở -20° C.

Bảng 3. Bảng mã hóa chế phẩm thử nghiệm

Số thứ tự	Mã chế phẩm	Thành phần
1	A1	<i>L. acidophilus</i>
2	A2	<i>L. acidophilus</i>
3	A3	<i>L. acidophilus</i>
4	C	<i>L. casei</i>
5	L	<i>B. clausii</i>
6	S	<i>B. subtilis</i>

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Khả năng đối kháng vi sinh vật gây bệnh

Kết quả nghiên cứu cho thấy có 14 trong 16 chủng probiotic khảo sát có khả năng kháng lại các vi khuẩn Gram dương thử nghiệm (trừ 2 chủng *Bacillus*), nhưng chỉ có 10

trong 16 chủng khảo sát có khả năng kháng các vi khuẩn Gram âm thử nghiệm, chủ yếu là các chủng *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *E. faecium*.

Bảng 4. Kết quả khảo sát khả năng kháng vi sinh vật gây bệnh của *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* và *S. thermophilus* (đường kính vòng vô khuẩn (mm))\*

	<i>E. coli</i>	<i>MRSA</i>	<i>S. typhi</i>	<i>MSSA</i>
<i>L. acidophilus</i>	23	20, 3	20, 7	20
<i>L. casei</i>	21	19, 7	20, 3	22, 3
<i>L. kefir</i>	23, 6	20, 6	17, 3	24, 3
<i>L. plantarum</i>	25, 7	13, 7	0	19, 3
<i>L. rhamnosus</i>	26, 7	22, 3	23, 3	23, 7
<i>B. bifidum</i>	21, 3	17, 7	26	24
<i>B. breve</i>	21	17, 3	24, 3	25, 3
<i>B. longum</i>	24, 3	26	24, 3	27, 7
<i>E. faecalis</i>	0	19, 6	0	22, 3
<i>E. faecium</i>	17	21, 3	24, 7	21, 3
<i>S. thermophilus</i>	22	16	0	16

\* Kết quả phương pháp khuếch tán

Bảng 5. Kết quả khảo sát khả năng kháng vi sinh vật gây bệnh của *Bacillus* (đường kính vòng vô khuẩn và độ dài vùng vô khuẩn (mm))

	<i>E.coli</i>		<i>MRSA</i>		<i>S. typhi</i>		<i>MSSA</i>	
	K	V	K	V	K	V	K	V
<i>B. clausi</i>	0	3, 3	14, 7	7	0	2, 6	13	9, 7
<i>B. coagulans</i>	0	9	0	13, 7	0	3, 3	0	10, 3
<i>B. licheniformis</i>	0	9	15	13	0	4, 3	16	16
<i>B. polifermenticus</i>	0	6	13	5	0	3	0	5
<i>B. subtilis</i>	0	8	0	12	0	1, 7	18, 7	9

K: Kết quả phương pháp khuếch tán

V: Kết quả phương pháp vạch thẳng vuông góc

Khả năng đề kháng kháng sinh

Đa số các chủng probiotic khảo sát đều nhạy cảm với các kháng sinh thử nghiệm. Tuy nhiên, một số vi khuẩn cho thấy khả năng đề kháng với kháng sinh được trình bày trong bảng 5. *S. thermophilus* đề kháng với 3 kháng sinh vancomycin, cefotaxim, clarythromycin.

Bảng 6. Kết quả khảo sát khả năng đề kháng kháng sinh của *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *S. thermophilus* (đường kính vòng vô khuẩn (mm))

Kháng sinh thử nghiệm		<i>L.a</i>	<i>L.c</i>	<i>L.k</i>	<i>L.p</i>	<i>L.r</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. thermophilus</i>
Penicillin	Vòng vô khuẩn	20	27	33	22	32	22	27	25
	Độ nhạy	I	S	S	I	S	S	S	S
Erythromycin	Vòng vô khuẩn	12	27	36	19	41	12	22	-
	Độ nhạy	R	S	S	S	S	R	I	-
Vancomycin	Vòng vô khuẩn	20	0	28	19	0	25	19	17
	Độ nhạy	S	R	S	S	R	S	S	S

Kháng sinh thử nghiệm		<i>L.a</i>	<i>L.c</i>	<i>L.k</i>	<i>L.p</i>	<i>L.r</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. thermophilus</i>
Chloramphenicol	Vòng vô khuẩn	28	28	34	29	38	25	21	-
	Độ nhạy	S	S	S	S	S	S	S	-
Cephalothin	Vòng vô khuẩn	19	18	30	18	22	31	15	-
	Độ nhạy	S	I	S	I	S	S	I	-
Cefotaxim	Vòng vô khuẩn	-	-	-	-	-	-	-	11
	Độ nhạy	-	-	-	-	-	-	-	R
Clarithromycin	Vòng vô khuẩn	-	-	-	-	-	-	-	10
	Độ nhạy	-	-	-	-	-	-	-	R
Levofloxacin	Vòng vô khuẩn	-	-	-	-	-	-	-	21
	Độ nhạy	-	-	-	-	-	-	-	S
Clindamycin	Vòng vô khuẩn	-	-	-	-	-	-	-	18
	Độ nhạy	-	-	-	-	-	-	-	S

Ba chủng *Bifidobacterium* khảo sát đều đề kháng với metronidazol. Kết quả cụ thể được trình bày ở bảng 6.

Bảng 7. Kết quả khảo sát khả năng đề kháng kháng sinh của *Bifidobacterium*

Kháng sinh	c/C (mg/l)	Độ nhạy		
		<i>B. bifidum</i>	<i>B. breve</i>	<i>B. longum</i>
Penicillin	0,5 - 2	I	I	S
Amoxicillin + acid clavulanic	4/2 - 8/4	S	S	S
Piperacillin	32 - 64	S	S	S
Piperacillin + tazobactam	32/4 - 64/4	S	S	S
Ticarcillin + acid clavulanic	32/2 - 64/2	S	S	R
Cefoxitin	16 - 32	I	S	S
Cefotetan	16 - 32	R	R	S
Imipenem	4 - 8	I	S	S
Clindamycin	2 - 4	S	S	S
Chloramphenicol	8 - 16	S	I	S
Metronidazol	8 - 16	R	R	R
Amoxicillin	2 - 4	S	S	S
Amoxicillin	16	S	S	S
Amoxicillin + acid clavulanic	16/2	S	S	S
Ticarcillin	64	S	S	S
Metronidazol	4	R	R	R

Khảo sát tính chất chế phẩm trên thị trường

Kết quả khảo sát đặc tính các chủng probiotic phân lập từ các chế phẩm lưu hành trên thị trường cho thấy hầu hết các chủng phân lập được từ chế phẩm đều có đặc tính tương tự với các chủng probiotic khảo sát, trừ *L. acidophilus*.

Bảng 8. Kết quả khả năng đối kháng vi khuẩn gây bệnh (đường kính vòng vô khuẩn mm)

Vi khuẩn gây bệnh	A1 K	A2 K	A3 K	C K	L K	L V	S K	S V
<i>E.coli</i>	23	22, 3	19	25, 2	0	2, 7	0	2, 7
MRSA	22, 3	22	20, 3	20, 3	0	5, 7	15, 6	9, 7
<i>S.typhi</i>	24	25, 6	24, 7	26	0	0	0	3, 6
MSSA	21	23, 3	25	22, 3	0	4, 3	14	8, 3

K: Kết quả phương pháp khuếch tán

V: Kết quả phương pháp vạch thẳng vuông góc

Bảng 9. Kết quả khả năng đề kháng kháng sinh trong chế phẩm

Kháng sinh thử nghiệm	A1	A2	A3	C	L	S
Penicillin	I	I	R	S	-	-
Ampicillin	-	-	-	-	R	S
Erythromycin	R	I	S	S	R	S
Vancomycin	S	S	S	R	S	S
Chloramphenicol	S	S	S	S	-	-
Cephalothin	S	S	S	S	-	-
Cefotaxim	-	-	-	-	S	S
Ciprofloxacin	-	-	-	-	S	S

#### IV. BÀN LUẬN

##### Khả năng đối kháng vi sinh vật gây bệnh

Kết quả khảo sát cho thấy tất cả các chủng *Lactobacillus* thử nghiệm đều có khả năng đối kháng các vi khuẩn gây bệnh thường gặp, tương tự *Enterococcus*. Khả năng kháng vi khuẩn Gram dương tương đương với khả năng kháng vi khuẩn Gram âm. Khả năng kháng khuẩn này có được là nhờ quá trình lên men lactic của vi khuẩn biến đổi cơ chất thành acid lactic làm giảm pH, ức chế các loại vi sinh vật gây bệnh và lên men thối. Các acid hữu cơ được sinh ra bởi vi khuẩn lactic chủ yếu là acid lactic và acid acetic, các acid này góp phần làm giảm pH tiêu diệt các vi khuẩn có hại. Các chủng *Bacillus* có hoạt tính kháng lại một số vi khuẩn gây bệnh điển hình gồm cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm và phương pháp phù hợp hơn cho thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn là phương pháp vạch thẳng vuông góc. Trong môi trường sử dụng phương pháp vạch thẳng vuông góc, *Bacillus* cạnh tranh dinh dưỡng và vị trí với các vi khuẩn gây bệnh, do đó chúng làm xuất hiện sự kháng khuẩn. Chủng *S. thermophilus* khảo sát có khả năng kháng lại các vi khuẩn gây bệnh Gram dương như MSSA, MRSA và Gram âm như *E. coli*. Kết quả tương tự như nghiên cứu của Mel'nikova và Koroleva (1975) [8] về sự đối kháng các vi khuẩn Gram âm, tuy nhiên có điểm khác biệt là chủng *S. thermophilus* khảo sát không có khả năng kháng lại *S. typhi*. Cũng như các loài vi khuẩn khác thuộc nhóm LAB, các *Bifidobacterium* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh theo các cơ chế tương tự. Theo O. A. Poltavskaya đây là các vi khuẩn có khả năng sinh ra nhiều chất kháng khuẩn có hoạt tính cao [10]. Hơn nữa, khả năng đối kháng của *Bifidobacterium* quyết định sự tồn tại lâu dài và bền bỉ của chúng trong đường ruột của con người, đặc tính này đã thúc đẩy nhiều nghiên cứu về việc sản xuất nhiều chế phẩm chứa *Bifidobacterium* mặc dù loài này được phát hiện và nghiên cứu sau những loài sinh vật có lợi khác dùng làm probiotic

### Khả năng đề kháng kháng sinh

Đa số các chủng *Lactobacillus* thử nghiệm đều nhạy cảm với 5 loại kháng sinh thử nghiệm. Tuy nhiên, một số vi khuẩn cho thấy khả năng đề kháng với kháng sinh như *L. acidophilus* kháng với erythromycin, *L. casei* và *L. rhamnosus* kháng với vancomycin. Một trường hợp xuất hiện đề kháng trung gian với doxycyclin của *E. faecalis*. Các kháng sinh bị đề kháng đặt ra vấn đề về nguồn gốc của gen kháng thuốc tồn tại trong các chủng *Enterococcus* nghiên cứu để đảm bảo tính an toàn khi sử dụng. Ba kháng sinh vancomycin, cefotaxim, clarythromycin đều bị đề kháng bởi *S. thermophilus* và đề kháng trung gian với kháng sinh nhóm lincosamid (clindamycin) và penicillin. Kết quả này cho thấy có thể có sự gia tăng chủng đề kháng với nhiều loại kháng sinh hơn so với trước đây. Các nghiên cứu của Charteris và Miteva cho thấy sự đề kháng của *S. thermophilus* mang gen nằm trên ADN và là sự đề kháng tự nhiên, một đề kháng có lợi đến một loạt các kháng sinh quan trọng trên lâm sàng để phát triển liệu pháp kết hợp probiotic với kháng sinh [7], [9]. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy đa số các chủng *Bacillus* thử nghiệm nhạy với các kháng sinh thử nghiệm. Tuy có một số khác biệt về MIC của các kháng sinh thử nghiệm đối với các nghiên cứu trước nhưng mức độ nhạy cảm với kháng sinh vẫn không thay đổi. Cả ba chủng *Bifidobacterium* khảo sát đều đề kháng với metronidazol và một số đề kháng với nhóm  $\beta$ -lactam. Nhiều nghiên cứu cho thấy sự đề kháng với metronidazol là đề kháng tự nhiên. Sự phát triển của các loài *Bifidobacterium* đề kháng kháng sinh ở ruột già, đặc biệt là metronidazol - một kháng sinh phổ rộng - đang được quan tâm do chúng có thể chiếm các hốc sinh thái bị bỏ trống sau khi dùng kháng sinh, ngăn cản xâm nhập bởi các loài gây bệnh.

### Tính chất chế phẩm trên thị trường

Các chế phẩm được khảo sát đều có khả năng đối kháng với vi khuẩn gây bệnh, phù hợp với công bố của nhà sản xuất. Về khả năng đề kháng kháng sinh, một số chủng cùng loài cho kết quả đường kính vòng kháng khuẩn không giống nhau. Nguyên nhân có thể là do nguồn gốc khác nhau của các chủng được sử dụng trong chế phẩm, nghĩa là tuy cùng thuộc một loài nhưng chúng lại có phân loài khác nhau nên có thể có đặc điểm không giống nhau.

## V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát đặc tính có lợi của 16 chủng probiotic và các chủng được phân lập từ các chế phẩm thuốc và thực phẩm chức năng đang lưu hành trên thị trường, gồm có 5 chủng *Lactobacillus*, 3 chủng *Bifidobacterium*, 5 chủng *Bacillus*, 1 chủng *Streptococcus* và 2 chủng *Enterococcus*. Qua khảo sát khả năng đối kháng vi sinh vật gây bệnh và đề kháng kháng sinh hầu hết các chủng có tính chất phù hợp với yêu cầu của vi khuẩn probiotic theo quy định, tác động đối kháng mạnh thường do các vi khuẩn thuộc nhóm LAB tạo ra. Các chế phẩm đạt yêu cầu an toàn khi sử dụng. Tuy nhiên, cần có nghiên cứu nhiều hơn về khả năng đề kháng kháng sinh của các chủng probiotic, hạn chế khả năng truyền gen đề kháng kháng sinh cho các vi sinh vật gây bệnh.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Vi Sinh (2013), *Giáo trình thực tập vi sinh công nghệ*, Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, pp.14-17.
2. Bộ môn Vi Sinh (2010), *Giáo trình thực tập vi sinh học*, Khoa Y, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ, tr. 10-13, pp.30-43.
3. Phạm Hùng Vân, Phạm Thái Bình (2013), *Kháng sinh, đề kháng kháng sinh, kỹ thuật kháng*



*sinh đồ các vấn đề thường gặp*, Nhà xuất bản Y Học, Tr.103-127.

4. Clinical and Laboratory Standards Institute, (2008) “Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria”, *Approved guideline* vol 26, pp. 14-15.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (2012), “Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically”, *Approved standard*.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (2014), “Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing”, *Approved standard*.
7. Charteris W.P., Kelly P.M., Morelli L., Collins J. K. (1998), “Antibiotic susceptibility of potentially probiotic Lactobacillus species”, *Journal of Food Protection*, Vol. 61, pp. 1636-1643.
8. Mel’nikova E. U., Koroleva N. S. (1975), “Capacity of Lb. bulgaricus and Str. Thermophilus starter to produce antibiotic substances”, *Journal of Dairy Sciences*, Vol. 37(7), pp. 4329-4332.
9. Miteva V., Stefanova T.Z., Takova T.Z., Grigorova R. (1991), “Isolation and characterisation of plasmids from different strains of Lactobacillus bulgaricus and Streptococcus thermophilus”, *Acta Microbiologica Bulgarica*, Vol. 27, pp. 3-8.
10. Poltavska O. A., Kovalenko N. K. (2012), “Antimicrobial activity of Bifidobacterial bacteriocin- like substances”, *Mikrobiolohichnyi Zhurnal (Microbiological Journal)*, Vol. 74 (5), pp. 32-42.

(Ngày nhận bài: 25 / 2/2020 - Ngày duyệt đăng: 18 / 6 /2020)

---