

PHÂN LẬP VÀ NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH KHÁNG
STAPHYLOCOCCUS AUREUS KHÁNG METHICILLIN CỦA
CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN PHÂN LẬP TỪ TỈNH GIA LAI, VIỆT NAM

Huỳnh Đông Á^{1,2}, Trịnh Thái An³, Phạm Nguyễn Gia Huy³
Trần Thị Như³, Lê Truong Thắng^{2,4}, Nguyễn Hoàng Chương^{1*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Phân lập các chủng xạ khuẩn từ mẫu đất, nước, thực vật thu thập tại tỉnh Gia Lai và khảo sát hoạt tính kháng *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA) của chúng. **Phương pháp nghiên cứu:** Phân lập các chủng xạ khuẩn từ các mẫu đã thu thập bằng các phương pháp thường quy với môi trường chọn lọc xạ khuẩn. Hoạt tính kháng khuẩn được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán trên thạch. Chủng xạ khuẩn mục tiêu được định danh bằng phương pháp hình thái và sinh học phân tử. Thành phần hoá học từ cao chiết ethyl acetate được phân tích bằng phương pháp GC-MS. **Kết quả:** Có 52 chủng xạ khuẩn được phân lập; trong đó, chủng SS656 kháng MRSA là tốt nhất (đường kính vòng vô khuẩn: 19mm). Chủng này được định danh là *Streptomyces* sp. SS656 dựa vào phân tích hình thái và giải trình tự gen 16S rRNA. Ngoài MRSA, chủng xạ khuẩn này còn thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên một số vi khuẩn gây bệnh khác. Hoạt tính kháng khuẩn bền với nhiệt độ tới 100°C, ở độ pH 2 và pH 12, bền với protease và tia tử ngoại. Cao chiết ethyl acetate từ môi trường nuôi cấy SS656 cho thấy có 37 hợp chất đã biết. **Kết luận:** Chủng *Streptomyces* sp. SS656 phân lập từ tỉnh Gia Lai có tiềm năng cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra các chất chuyển hoá thứ cấp kháng MRSA.

Từ khoá: Phân lập; *Streptomyces*; Hoạt tính kháng khuẩn; Gia Lai; MRSA.

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

²Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Sinh học, Thành phố Hồ Chí Minh

³Trường Trung học phổ thông Lê Thánh Tông, tỉnh Gia Lai

⁴Đại học Quốc gia Đà Loan, Đà Bắc, Đà Loan

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Hoàng Chương (nhchuong@hcmus.edu.vn)

Ngày nhận bài: 15/11/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 10/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.564>

ISOLATION OF STREPTOMYCES STRAINS FROM GIA LAI PROVINCE OF VIETNAM AND STUDY ON THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Abstract

Objectives: To isolate *Streptomyces* strains from soil, water, and plant samples collected in Gia Lai province, and study their antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Methods:** *Streptomyces* strains were isolated by conventional methods, using *Streptomyces* specific culture media. Antimicrobial activity was examined by the agar dilution method. The targeted *Streptomyces* strain was identified by morphological and molecular characterization. The chemical composition of the ethyl acetate extract was analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Results:** 52 *Streptomyces* strains were isolated from the soil, water, and plant samples; among them, SS656 showed antimicrobial activity against MRSA with the largest inhibition zone of 19mm. This strain was identified as *Streptomyces* sp. SS656 by morphological characteristics and molecular marker with 16S rRNA. These *Streptomyces* strains also showed activity on several bacterial pathogens. The antimicrobial activity was stable at temperatures up to 100°C and at pH 2 and pH 12. Protease and ultraviolet showed no effect on the activity of SS656. The ethyl acetate extract from the SS656 culture medium showed 37 known compounds. **Conclusion:** *Streptomyces* sp. SS656 isolated from Gia Lai is promising for further studies to find secondary metabolites associated with antimicrobial activity to fight MRSA.

Keywords: Isolation; *Streptomyces*; Antimicrobial activity; Gia Lai; MRSA.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Staphylococcus aureus là loại vi khuẩn gây ra nhiều loại nhiễm trùng nguy hiểm ở người, đặc biệt là các chủng *S. aureus* kháng methicillin (MRSA). Năm 2017, tổ chức Y tế Thế giới (WHO) đã xác định *S. aureus* nằm trong nhóm 12 vi khuẩn gây bệnh đòi

hỏi cấp thiết phải có các kháng sinh mới để điều trị [1]. Trong khi đó, số lượng kháng sinh mới được đưa vào điều trị nhiễm khuẩn trong lâm sàng đang bị thiếu hụt trầm trọng. Tình hình này đặt ra nhu cầu tìm kiếm các kháng sinh mới trở nên hết sức cần thiết. Trong số các nguồn cung cấp các chất

kháng khuẩn mới, vi sinh vật luôn là nguồn cung cấp kháng sinh nhiều nhất tính cho đến hiện nay, đặc biệt là nhóm xạ khuẩn vì hơn hai phần ba số kháng sinh sử dụng cho người và động vật có nguồn gốc vi sinh vật đến từ nhóm vi sinh vật này [2]. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi thực hiện: *Phân lập các chủng xạ khuẩn từ nguồn mẫu như đất, nước, thực vật thu thập tại tỉnh Gia Lai và khảo sát hoạt tính kháng MRSA của các chủng xạ khuẩn đã phân lập. Đồng thời, khảo sát một số đặc tính kháng khuẩn của chủng xạ khuẩn có hoạt tính kháng MRSA để làm nền tảng cho các nghiên cứu về sau nhằm tìm ra các loại kháng sinh mới kháng MRSA có nguồn gốc xạ khuẩn.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Vật liệu sinh học:* Mẫu đất, nước, thực vật được thu thập tại tỉnh Gia Lai. Chủng vi khuẩn gồm: *Edwardsiella ictaluri*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacea*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa* được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Sinh học, Thành phố Hồ Chí Minh.

* *Hoá chất:* Primer được cung cấp bởi Công ty Phù Sa Genomics (Việt Nam),

hoá chất được cung cấp bởi Bioline (Anh) và Xilong (Trung Quốc).

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thu thập mẫu đất, nước, thực vật:* Mẫu đất, nước, thực vật được thu thập tại các địa điểm xác định ở tỉnh Gia Lai với toạ độ được xác định bằng GPS. Tại địa điểm thu mẫu, mẫu đất được thu thập ở độ sâu 5 - 10cm dưới lớp đất mặt, mẫu nước được thu ở độ sâu 10 - 20cm, các bộ phận khác nhau của thực vật như rễ, thân, lá được thu riêng biệt. Tất cả các mẫu đất, nước, thực vật được cho vào các ống 50mL vô trùng và được chuyển đến phòng thí nghiệm để thực hiện công tác phân lập.

* *Phân lập các chủng xạ khuẩn:* Mẫu đất được pha loãng với nước muối 0,9% vô trùng, dịch pha loãng được cấy lên các đĩa môi trường Soya Flour Mannitol (SFM) chứa các kháng sinh như nalidixic acid (30 µg/mL), nystatin (50 µg/mL), cycloheximide (50 µg/mL). Mẫu nước được ly tâm loại dịch nổi và phần cặn được cấy lên trên môi trường SFM chứa kháng sinh như trên. Mẫu thực vật được xử lý theo phương pháp của Nguyễn Đăng Quân và CS để phân lập các chủng xạ khuẩn nội sinh [3]. Đĩa SFM chứa dịch phân lập từ mẫu đất, nước, thực vật được để ở 30°C cho đến khi các khuẩn lạc đặc trưng xạ khuẩn xuất hiện trên các đĩa môi trường này.

* *Khuếch tán trên thạch*: Khối thạch từ môi trường FM3 nuôi cấy các chủng xạ khuẩn ở 30°C trong 7 ngày được đặt trên môi trường Mueller-Hinton agar (MHA) đã cấy các vi khuẩn gây bệnh. Các đĩa MHA này được để ở 37°C trong 16 - 18 giờ và hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng cách đo đường kính vòng kháng khuẩn tại các khối thạch.

* *Định danh hình thái và phân tử chủng xạ khuẩn*: Đối với định danh hình thái, sinh khối chủng xạ khuẩn mục tiêu nuôi cấy trên môi trường SFM và Lysogeny Broth (LB) được chuyển lên lam kính và quan sát dưới kính hiển vi quang học với vật kính 40X và thị kính trong camera kỹ thuật số 5 Mp, hình ảnh thu nhận được xử lý bằng phần mềm Hayear. Đối với định danh phân tử, sinh khối chủng xạ khuẩn được tách chiết DNA bằng phương pháp phenol/chloroform. DNA bộ gen được sử dụng làm bản mẫu trong phản ứng PCR với cặp primer 27F-1492R nhằm nhân bản gen 16S rRNA [4]. Sản phẩm PCR được giải trình tự, hiệu chỉnh trình tự bằng phần mềm SnapGene Viewer và trình tự 16S rRNA của chủng xạ khuẩn được sử dụng để định danh nhờ công cụ 16S-based ID của trang web EZBioCloud.

* *Khảo sát tính bền của hoạt tính kháng khuẩn*: Dịch nuôi cấy SS656 trong môi trường FM3 được gia nhiệt

tại các nhiệt độ 60°C, 80°C, 100°C trong 60 phút; được điều chỉnh về pH 2 và pH 12. Dịch xạ khuẩn cũng được xử lý với proteinase K ở nồng độ 1 mg/mL và chiếu tia tử ngoại trong 60 phút. Mẫu dịch xạ khuẩn không xử lý được sử dụng như mẫu chứng dương. Dịch môi trường FM3 được xử lý với các điều kiện như trên được sử dụng làm mẫu chứng âm. Sau đó, tất cả các mẫu dịch được kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn.

* *Thu cao chiết ethyl acetate từ môi trường nuôi cấy SS656*: Sử dụng phương pháp chiết xuất ngấm kiệt bằng ethyl acetate đối với môi trường FM3 nuôi cấy chủng SS656 sấy khô. Dung môi ethyl acetate được làm bay hơi bằng phương pháp cô quay để thu nhận cao chiết.

* *Phân tích thành phần cao chiết ethyl acetate bằng GC-MS*: Quy trình phân tích được thực hiện theo công trình của Trần Hoàng Ngâu và CS [5].

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Phân lập và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn các chủng xạ khuẩn từ các mẫu đất, nước, thực vật thu thập tại tỉnh Gia Lai

Có 52 chủng xạ khuẩn đã được phân lập từ các mẫu đất, nước, thực vật. Thông tin phân lập và kết quả khảo sát kháng MRSA của 52 chủng xạ khuẩn được trình bày trong bảng 1.

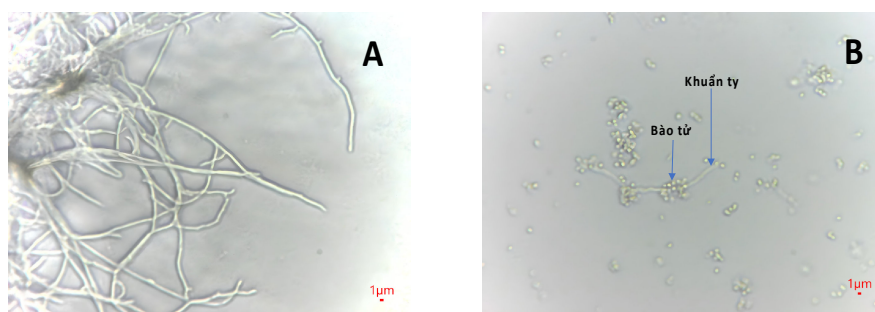
Bảng 1. Nguồn phân lập và kết quả kháng MRSA của 52 chủng xạ khuẩn.

Chủng	Nguồn phân lập	Vòng kháng (mm)	Chủng	Nguồn phân lập	Vòng kháng (mm)
SS483	Đất thung lũng hồng	17	SS622	Rễ muồng	16
SS485	Nước thung lũng hồng	0	SS623	Rễ muồng	0
SS486	Nước thung lũng hồng	0	SS643	Nước sông Tul	0
SS494	Lá cỏ tranh	15	SS644	Nước sông Tul	0
SS501	Đất suối đá	0	SS646	Nước sông Tul	0
SS502	Đất suối đá	0	SS647	Đất núi chur mỗ	16
SS504	Rễ cây xấu hổ	17	SS648	Đất núi chur mỗ	0
SS505	Lá cây boom bay	15	SS649	Đất núi chur mỗ	0
SS506	Thân cây boom bay	14	SS651	Đất sông Ba	0
SS507	Rễ cây xấu hổ	15	SS652	Đất sông Ba	13
SS508	Thân cỏ tranh	14	SS653	Đất sông Ba	0
SS509	Đất thung lũng hồng	0	SS654	Lá Thầu dầu	0
SS510	Đất thung lũng hồng	0	SS655	Lá Thầu dầu	17
SS512	Đất thung lũng hồng	0	SS656	Lá Thầu dầu	19
SS516	Thân bèo tây	17	SS657	Lá Thầu dầu	16
SS517	Đất suối đá	0	SS658	Đất sông Tul	0
SS521	Đất suối đá	0	SS659	Đất sông Tul	0
SS522	Đất suối đá	0	SS660	Đất sông Tul	0
SS523	Lá ké hoa vàng	15	SS661	Đất sông Tul	0
SS524	Lá ké hoa vàng	14	SS662	Đất sông Tul	0
SS525	Lá ké hoa vàng	12	SS663	Rễ lạc tiên	0
SS588	Lá cỏ ngũ sắc	0	SS664	Rễ lạc tiên	0
SS589	Nước sông Ba	0	SS665	Rễ lạc tiên	0
SS590	Nước sông Ba	0	SS666	Rễ lạc tiên	0
SS591	Nước sông Ba	0	SS667	Rễ đậu	0
SS592	Nước sông Ba	0	SS668	Rễ đậu	0

Theo bảng 1, chủng xạ khuẩn SS656 thể hiện hoạt tính kháng MRSA tốt nhất khi cho đường kính vòng kháng khuẩn là 19mm trong khi các chủng xạ khuẩn còn lại cho đường kính vòng kháng khuẩn thay đổi từ 12 - 17mm. Như vậy, chủng xạ khuẩn SS656 được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

2. Định danh chủng SS656 bằng hình thái và phân tử

Hình thái ở mức tế bào của chủng xạ khuẩn SS656 quan sát dưới kính hiển vi quang học được trình bày trong hình 1. Thanh tỷ lệ (scale bar) trong hình 1 có kích thước là 1 μ m.



Hình 1. Dạng khuẩn ty phân nhánh (A) và dạng khuẩn ty và bào tử (B).

Chủng xạ khuẩn SS656 cho thấy tế bào có cấu tạo dạng khuẩn ty phân nhánh (Hình 1A), một số khuẩn ty biệt hoá thành chuỗi bào tử mang các bào tử tự do (Hình 1B). Kích thước của khuẩn ty và bào tử của chủng xạ khuẩn SS656 có kích thước xấp xỉ 1 μ m khi so sánh với thanh tỷ lệ. Đối với định danh phân tử, gen 16S rRNA của chủng SS656 được giải mã trình tự nucleotide và được cấp mã số truy cập là OR807558 trên GenBank. Khi phân tích bằng công cụ 16S-based ID, gen 16S rRNA của SS656 có độ tương đồng cao với nhiều chủng *Streptomyces* trong cơ sở dữ liệu EZBioCloud với độ tương đồng (similarity) trên 99% và độ hoàn chỉnh (completeness) trên 99% cho chiều dài 1.400 nucleotide. Với kết

quả định danh bằng hình thái và bằng gen 16S rRNA trong nghiên cứu này, chủng SS656 được đặt tên là *Streptomyces* sp. SS656. Theo đó, một số đặc tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* này được khảo sát trong các thí nghiệm tiếp theo.

3. Hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* sp. SS656

Ngoài MRSA, *Streptomyces* sp. SS656 cũng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên các vi khuẩn gây bệnh khác nhau bao gồm *E. ictaluri* (với đường kính vòng kháng khuẩn là 22mm), *A. hydrophila* (17mm), *E. aerogenes* (16mm), *E. coli* (15mm), *K. pneumoniae* (16mm), *A. baumannii* (18mm) và *E. cloacea* (15mm). Chủng *Streptomyces* sp. SS656 không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với *V. parahaemolyticus* và *P. aeruginosa*.

4. Tính bền của hoạt tính kháng khuẩn từ chủng *Streptomyces* sp. SS656

Tính bền của hoạt tính kháng khuẩn từ chủng *Streptomyces* sp. SS656 đối với các yếu tố như nhiệt độ, pH, protease, tia tử ngoại được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Khảo sát tính bền hoạt tính kháng khuẩn của *Streptomyces* sp. SS656.

Dịch xử lý	Vòng kháng (mm)	Dịch xử lý	Vòng kháng (mm)
FM3 (không xử lý)	0	FM3 (xử lý pH 2)	0
FM3-SS656 (không xử lý)	17	FM3-SS656 (xử lý pH 2)	20
FM3 (xử lý 60°C)	0	FM3 (xử lý pH 12)	0
FM3-SS656 (xử lý 60°C)	16	FM3-SS656 (xử lý pH 12)	21
FM3 (xử lý 80°C)	0	FM3 (xử lý protease)	0
FM3-SS656 (xử lý 80°C)	16	FM3-SS656 (xử lý protease)	16
FM3 (xử lý 100°C)	0	FM3 (xử lý tia tử ngoại)	0
FM3-SS656 (xử lý 100°C)	15	FM3-SS656 (xử lý tia tử ngoại)	17

Hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* sp. SS656 bền với nhiệt độ đến 100°C, tuy có giảm còn 88,2% ở nhiệt độ này so với mẫu không xử lý. Hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* này tăng lên khi xử lý tại các pH 2 (17,6%) và pH 12 (23,5%) so với mẫu không xử lý pH. Ngoài ra, hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* sp. SS656 không bị ảnh hưởng bởi proteinase K và tia tử ngoại thể hiện qua phần trăm hoạt tính sau xử lý là tương đương với mẫu không xử lý với các yếu tố này. Trong các thí nghiệm khảo sát tính bền, các mẫu chứng âm là môi trường FM3 được xử lý đồng thời với các tác nhân nhiệt độ, pH, enzyme, tia tử ngoại đều không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn.

5. Phân tích thành phần hoá học có trong cao chiết ethyl acetate

Kết quả phân tích bằng GC-MS cho thấy có 37 hợp chất đã biết trong cao chiết ethyl acetate từ chủng *Streptomyces* sp. SS656.

Bảng 3. Thành phần hoá học của cao chiết ethyl acetate.

Tên chất	Tỷ lệ (%)	Tên chất	Tỷ lệ (%)
Benzene, propyl-	0,67	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	12,05
Benzene, 1-ethyl-3-methyl-	7,12	Erucic acid	7,77
Benzene, 1,2,3-trimethyl-	6,26	Octadecanoic acid	0,62
1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]-	0,03	Hexadecanoic acid, 1-[[[(2-aminoethoxy)hydroxyphosphinyl]oxy]methyl]-1,2-ethanediyl ester	0,60
Indane	0,42	9-Octadecenal, (Z)-	0,49
Benzene, 1-methyl-4-propyl-	0,34	Benzene, 2-ethyl-1,3-dimethyl-	0,84
9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester	2,26	Bicyclo[3.3.1]nonan-9-one, 1,2,4-trimethyl -3-nitro-, (2-endo,3-exo,4-exo)-(.,+.)-	1,34
Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-	0,47	Tetradecane	0,05
1,3-Cyclopentadiene, 1,2,3,4-tetramethyl-5-methylene-	0,08	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	0,93
Dodecane	0,05	1-Heptacosanol	0,83
Octadecanoic acid, 2-hydroxy-1,3-propanediyl ester	0,20	2,6-Dodecadien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, (E,E)-	6,15
trans-1,10-Dimethyl-trans-9-decalinol	ND	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	6,65
Benzene, 1,3,5-trimethyl-	12,38	3-Pyrrolidin-2-yl-propionic acid	4,24
Di-n-octyl phthalate	0,53	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	1,43
Pentadecanoic acid	10,52	8-Hexadecenal, 14-methyl-, (Z)-	0,49
Hexadecanoic acid, methyl ester	0,46	9-Octadecenamide, (Z)-	1,67
n-Hexadecanoic acid	20,36	Octadecane	0,07
Eicosanoic acid	6,24	9,12-Octadecadienoyl chloride (Z,Z)	1,76
Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol	1,61		

BÀN LUẬN

52 chủng xạ khuẩn đã phân lập trong nghiên cứu này đều mọc được trên môi trường chứa kháng sinh ức chế vi khuẩn Gram âm (nalidixic acid) và ức chế nhóm nấm mốc (cycloheximide và nystatin). Trên môi trường nuôi cấy, các chủng xạ khuẩn này đều biểu hiện dạng khuẩn ty cơ chất ăn sâu vào mặt thạch và có khuẩn ty khí sinh biệt hoá thành các bào tử với nhiều màu sắc khác nhau. Đây là các đặc trưng hình thái của vi khuẩn *Streptomyces* được mô tả trong nghiên cứu trước [6]. Trong số 52 chủng xạ khuẩn, chủng SS656 cho hoạt tính kháng MRSA tốt nhất nên được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo. Đầu tiên, chủng xạ khuẩn này được định danh là *Streptomyces* sp. SS656 dựa vào quan sát hình thái dưới kính hiển vi quang học và dựa trên gen 16S rRNA. Đây cũng là các phương pháp thường quy để định danh các chủng xạ khuẩn. Kết quả định danh SS656 trong nghiên cứu này cho thấy chủng xạ khuẩn SS656 thuộc chi *Streptomyces* nhưng kết quả này chưa cho phép định danh đến mức loài (species). Để định danh chính xác đến mức loài thì cần các nghiên cứu định danh đa pha (polyphasic taxonomy) bao gồm xác định các đặc điểm hình thái, sinh trưởng, đặc tính vi sinh, sinh hoá của chủng xạ khuẩn; phân tích

các thành phần cấu trúc nên thành và màng tế bào của chủng xạ khuẩn; phân tích bộ gen của chủng xạ khuẩn [7]. Chủng *Streptomyces* sp. SS656 cho thấy phổ kháng khuẩn tương đối rộng khi kháng được 7/9 vi khuẩn gây bệnh và thuộc nhiều loại khác nhau như vi khuẩn Gram dương (MRSA) và Gram âm (các vi khuẩn còn lại trừ MRSA); cầu khuẩn (MRSA), xoắn khuẩn (*V. parahaemolyticus*), trực khuẩn (các vi khuẩn còn lại); vi khuẩn gây bệnh động vật (*E. ictaluri*, *A. hydrophila*), vi khuẩn gây bệnh trên người (*E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. cloacea*). Đặc tính kháng khuẩn phổ rộng của một chất kháng khuẩn có ưu điểm để điều trị các bệnh nhiễm trùng khi chưa xác định cụ thể vi khuẩn gây nhiễm (empiric therapy) hoặc điều trị bệnh nhiễm gây ra bởi nhiều vi khuẩn gây bệnh khác nhau. Như vậy, đặc tính phổ kháng khuẩn của SS656 trong nghiên cứu này giúp định hướng cho việc sử dụng các hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn của chủng xạ khuẩn này trong tương lai. Bên cạnh phổ kháng khuẩn, tính bền trong hoạt tính kháng khuẩn đối với một số tác nhân lý, hoá, sinh học cũng được quan tâm vì các tác nhân này có ảnh hưởng lớn đến hoạt tính kháng khuẩn trong quá trình phân lập hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn bằng các

phương pháp sắc ký, là một trong những bước đầu tiên trong quá trình phát triển thuốc kháng sinh mới có nguồn gốc vi sinh vật [8]. Nếu hoạt tính kháng khuẩn của một chủng *Streptomyces* không vượt qua các khảo sát ban đầu về tính bền này thì các bước tiếp theo trong quá trình phát triển thuốc kháng sinh mới sẽ không được áp dụng. Kết quả khảo sát tính bền cho thấy các hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* sp. SS656 có tiềm năng để được nghiên cứu tiếp theo trong quá trình phát triển thuốc mới. Ở *Streptomyces*, hoạt tính kháng khuẩn có thể do một hoặc nhiều hợp chất thứ cấp quy định như trong trường hợp của *Streptomyces ambofaciens* với ít nhất 5 hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng vi sinh vật là spiramycin, congocidine, sambomycin, kinamycin và antimycin [9]. Nhằm góp phần xác định chất chuyển hoá thứ cấp có hoạt tính kháng khuẩn ở chủng *Streptomyces* sp. SS656, chúng tôi thực hiện việc phân tích thành phần hoá học của cao chiết ethyl acetate bằng GC-MS. Cao chiết ethyl acetate vẫn thể hiện hoạt tính kháng MRSA chứng tỏ các hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng khuẩn không bị mất đi trong quá trình chiết xuất và chúng có thể là một hoặc nhiều hợp chất

trong số 37 hợp chất được nhận diện bằng GC-MS ở bảng 3. Kết quả phân tích thành phần hợp chất bằng GC-MS trong nghiên cứu này là cơ sở cho các nghiên cứu xác định những hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng khuẩn từ chủng *Streptomyces* sp. SS656 trong các nghiên cứu tiếp theo.

KẾT LUẬN

Chủng *Streptomyces* sp. SS656 cho hoạt tính kháng MRSA tốt nhất trong số 52 chủng xạ khuẩn phân lập từ các mẫu đất, nước, thực vật thu thập tại tỉnh Gia Lai. Ngoài MRSA, chủng xạ khuẩn này còn thể hiện hoạt tính kháng một số vi khuẩn gây bệnh ở người và động vật khác. Hoạt tính kháng khuẩn của *Streptomyces* sp. SS656 bền với các yếu tố nhiệt độ, độ pH, protease và tia tử ngoại. Phân tích thành phần cao chiết ethyl acetate từ môi trường nuôi cấy SS656 cho thấy có 37 hợp chất đã biết. Chủng *Streptomyces* sp. SS656 có tiềm năng cho các nghiên cứu phát hiện hợp chất kháng khuẩn kháng MRSA về sau.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Sinh học đã cung cấp vật liệu, hoá chất và thiết bị để thực hiện nghiên cứu. Các tác giả không có bất kỳ xung đột lợi ích nào trong công bố này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tacconelli E. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva, Switzerland: WHO; 2017.
2. Berdy J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *J. Antibiot.* 2012; 65:385-395.
3. Nguyen QD, Truong PM, Vo TNT, Chu TDX, Nguyen CH. Draft genome sequence data of *Streptomyces* sp. SS1-1, an endophytic strain showing cytotoxicity against the human lung cancer A549 cell line. *Data in Brief.* 2020; 30(8):105497.
4. Frank JA, Reich CI, Sharma S, Weisbaum JS, Wilson BA, Olsen GJ. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. *Appl Environ Microbiol.* 2008 Apr; 74(8):2461-2470.
5. Ngau TH, Ngoc TTB, Nhi LTY, Chuong NH, Thao DTP. Anticancer property of marine coral-derived *Streptomyces* sp. SS162 against A549 lung adenocarcinoma cancer cells. *J Appl Pharm Sci.* 2023; 13(10):188-198.
6. Manteca A, Fernandez M, Sanchez J. Mycelium development in *Streptomyces antibioticus* ATCC11891 occurs in an orderly pattern which determines multiphase growth curves. *BMC Microbiol.* 2005 Sep 15; 5:51.
7. Yu Y, Fu Y, Guo X, Yan R, Wang H, Zhao J, Wang X, Zhang J, Xiang W. *Streptomyces durbertensis* sp. nov., isolated from saline-alkali soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2018 Nov; 68(11):3635-3640.
8. Hughes D, Karlén A. Discovery and preclinical development of new antibiotics. *Ups J Med Sci.* 2014 May; 119(2):162-169.
9. Bertrand Aigle, Sylvie Lautru, Dieter Spiteller, Jeroen S Dickschat, Gregory L Challis, Pierre Leblond, Jean-Luc Pernodet, Genome mining of *Streptomyces ambofaciens*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2014 February; 41(2):251-263.