

PHÂN LẬP MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN CÓ HOẠT TÍNH KHÁNG SINH VÀ ỨNG CHẾ ENZYM XANTHINE OXIDASE TỪ ĐẤT RỪNG NGẬP MẶN GIO LINH, QUẢNG TRỊ

Phùng Thị Thùy Oanh, Hoàng Lê Tuấn Anh, Tôn Thất Hữu Đạt*

Viện Nghiên cứu Khoa học Miền Trung - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Hiện tượng kháng thuốc của các vi sinh vật gây bệnh và sự gia tăng acid uric máu gây ra bệnh gout đang đặt ra những nguy cơ đe dọa đến sức khỏe của con người trên toàn cầu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập và tuyển chọn một số chủng vi khuẩn có hoạt tính kháng sinh và ức chế enzym xanthine oxidase (XO) từ đất ngập mặn tỉnh Quảng Trị, nhằm định hướng cho việc tìm kiếm các hợp chất kháng sinh và chống bệnh gout mới. Từ các mẫu đất ngập mặn thu được, chúng tôi đã phân lập được 129 chủng vi khuẩn, trong đó 45 chủng vi khuẩn có hình thái khác nhau được lên men, tạo cao chiết ethyl acetate (EtOAc) và đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật và ức chế enzym XO. Kết quả thử hoạt tính cho thấy cận chiết EtOAc của 15 chủng thể hiện hoạt tính kháng đối với ít nhất một trong các chủng vi sinh vật kiểm định *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Candida albicans* ATCC10231 với giá trị nồng độ ức chế tối thiểu MIC = 32 - 256 µg/mL và cận chiết EtOAc của 26 chủng có hoạt tính ức chế enzym XO với tỷ lệ ức chế đạt $10,5 \pm 2,4\%$ - $96,2 \pm 5,6\%$ tại nồng độ thử nghiệm 500 µg/mL. Phân tích trình tự gen 16S rRNA cho thấy 5 chủng có hoạt tính cao thuộc các chi *Ruegeria*, *Pseudovibrio*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*.

Từ khóa: Hoạt tính kháng sinh, hoạt tính ức chế xanthine oxidase, rừng ngập mặn, vi khuẩn.

MỞ ĐẦU

Hiện tượng kháng thuốc kháng sinh đang là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên thế giới và là một trong những mối đe dọa nghiêm trọng đến sức khỏe của con người (Khan, Khan, 2016). Tốc độ kháng thuốc nhanh của các vi sinh vật gây bệnh đã làm suy giảm hiệu quả điều trị của các loại thuốc hiện có và dẫn đến sự thiếu hụt các loại thuốc kháng sinh mới để điều trị các bệnh nhiễm trùng liên quan đến vi sinh vật. Trong khi đó, bệnh gout đang ngày càng phổ biến và trở thành một vấn đề đáng quan tâm trên toàn thế giới (Kuo *et al.*, 2015). Sự gia tăng của acid uric không chỉ liên quan đến bệnh gout, mà còn làm tăng nguy cơ rối loạn tim mạch, sỏi thận và đái tháo đường (Pilemann-Lyberg *et al.*, 2019). Acid uric được tạo ra bởi enzym XO xúc tác cho quá trình oxy hóa hypoxanthine thành xanthine và tiếp tục oxy hóa xanthine thành acid uric (Rasaratnam, Christophidis, 1995). Do đó, liệu pháp ức chế enzym XO được xem là hướng tiếp cận chính trong phòng và điều trị bệnh gout.

Rừng ngập mặn được xem là một trong những hệ sinh thái giàu đa dạng sinh học trên thế giới. Trong hệ sinh thái này, cộng đồng vi sinh vật cũng rất đa dạng, trong đó vi khuẩn và vi nấm chiếm đến 91%, tảo và động vật nguyên sinh chỉ chiếm lần lượt 7% và 2% (Kathiresan, Bingham, 2001). Các nghiên cứu về các hợp chất có hoạt tính sinh học từ rừng ngập mặn cho thấy vi sinh vật rừng ngập mặn là một nguồn dược liệu đầy hứa hẹn bởi chúng có khả năng sản xuất ra các hợp chất thứ cấp có cấu trúc riêng với các hoạt tính sinh học rất đa dạng. Trong 5 năm gần đây (2014-2018) đã có hơn 160 hợp chất có hoạt tính mạnh với ($IC_{50}/MIC < 10 \mu M$ hoặc $10 \mu g/mL$) đã phân lập từ vi sinh vật rừng ngập mặn. Các hợp chất này có hoạt tính sinh học rất đa dạng, bao gồm hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, kháng vi rút, chống ung thư, kháng viêm, ức chế các enzym (Xu *et al.*, 2014; Ancheeva *et al.*, 2018).

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập và sàng lọc một số chủng vi khuẩn có hoạt tính kháng sinh và ức chế enzym XO từ đất rừng ngập mặn. Kết quả của nghiên cứu là cơ sở quan trọng cho việc nghiên cứu, phân lập các hợp chất mới có hoạt tính kháng sinh và ức chế XO từ vi sinh vật rừng ngập mặn, góp phần định hướng tìm kiếm các hợp chất mới phục vụ điều trị bệnh gout và giảm thiểu tình trạng kháng thuốc.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Các mẫu đất được thu thập từ rừng ngập mặn tại xã Gio Việt, huyện Gio Linh, Quảng Trị (tọa độ 16°53'12"B, 107°09'21Đ). Mẫu đất được chứa trong các ống Falcon 50 mL vô trùng và được giữ lạnh trong các thùng xốp đá để vận chuyển về phòng thí nghiệm. Các thí nghiệm được tiến hành tại Viện Nghiên cứu Khoa học miền Trung.

Phương pháp

Phân lập các vi khuẩn

Mẫu đất (10 g) được cho vào bình tam giác 250 mL có chứa 90 mL dung dịch nước cất, sau đó lắc đều để đồng nhất mẫu và để lắng cặn trong thời gian 10 phút. Hút phần dịch mẫu (nồng độ 10^{-1}) và tiếp tục pha loãng đến nồng độ 10^{-6} . Hút 100 μ L dịch mẫu đã được pha loãng và cấy trải lên các đĩa môi trường Nutrient Agar (NA) đã được chuẩn bị trước. Các đĩa được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong 24 - 48 giờ. Các khuẩn lạc có hình thái khác nhau sẽ được cấy chuyển sang môi trường mới để làm sạch và được bảo quản trong môi trường chứa 30% glycerol tại -80°C.

Tạo cặn chiết ethyl acetate từ dịch nuôi cấy vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn được nuôi lỏng trong bình tam giác có chứa 250 mL môi trường NA với tốc độ lắc 150 vòng/phút, nhiệt độ 37°C, trong 7 ngày. Dịch lên men sau đó được chiết bằng dung môi ethyl acetate với tỷ lệ 1:1 (5 lần) và cô quay dưới áp suất giảm để thu cặn chiết EtOAc.

Đánh giá khả năng kháng vi sinh vật của các cặn chiết EtOAc

Cặn chiết EtOAc của các chủng vi khuẩn phân lập được đánh giá khả năng kháng đối với 5 chủng vi sinh vật kiểm định, bao gồm vi khuẩn gram dương (*S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633), vi khuẩn gram âm (*P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922) và nấm men *C. albicans* ATCC 10231. Hoạt tính kháng sinh của cặn chiết được xác định bằng nồng độ ức chế tối thiểu (Dat et al., 2018). Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là nồng độ thấp nhất của mẫu thử có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi sinh vật.

Đánh giá khả năng ức chế enzym XO của các cặn chiết EtOAc

Hoạt tính chống bệnh gout được đánh giá thông qua khả năng ức chế XO dựa theo phương pháp của Nguyen và đồng tác giả (2004). Hỗn hợp phản ứng bao gồm 50 μ L dung dịch mẫu thử, 35 μ L dung dịch đệm phosphate 70 mM (pH = 7,5) và 30 μ L dung dịch enzym XO (0,01 U/mL). Hỗn hợp được ủ ở 25°C trong 15 phút, sau đó bổ sung 60 μ L xanthine (150 mM) để bắt đầu phản ứng. Dừng phản ứng bằng cách thêm 25 μ L HCl 1N và đo độ hấp thụ bằng máy quang phổ ở bước sóng 290 nm. Mẫu đối chứng được tiến hành tương tự nhưng dung dịch thử được thay bằng dung dịch đệm. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hoạt tính ức chế XO được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ ức chế (\%)} = (100 - B/A) \times 100\%$$

Trong đó: A và B là độ hấp thụ của mẫu đối chứng và mẫu thử.

Định danh các chủng vi khuẩn dựa vào trình tự 16S rRNA

DNA tổng số của chủng vi khuẩn được tách chiết bằng PowerSoil DNA Isolation Kit (MoBio, Mỹ). Đoạn gen 16S rRNA của các chủng vi khuẩn được khuếch đại bằng PCR sử dụng cặp mồi: 27f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') và 1492r (5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3') và được giải trình tự bằng máy giải trình tự ABI PRISM 3100. Trình tự gen 16S rRNA của các chủng phân lập được so sánh với các trình tự gen trên cơ sở dữ liệu của ngân hàng gen (GenBank) bằng chương trình Blastn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) nhằm tìm ra các chủng có độ tương đồng cao với chủng nghiên cứu. Các trình tự được bắt cặp (alignment) theo thuật toán ClustalW. Cây phả hệ của các chủng nghiên cứu được xây dựng bằng phần mềm MEGA X theo thuật toán Neighbor-Joining với bootstrap 1000.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập các chủng vi khuẩn và tạo cặn chiết EtOAc

Từ các mẫu đất rừng ngập mặn Gio Việt, Gio Linh, Quảng Trị, 129 chủng vi khuẩn đã được phân lập và làm thuần, trong đó 45 chủng có hình thái khuẩn lạc khác nhau được lên men để tạo cặn chiết EtOAc. Với thể tích dịch nuôi cấy của mỗi chủng là 250 mL, sau khi chiết 5 lần với dung môi EtOAc, khối lượng cặn chiết EtOAc thu được từ mỗi chủng đạt 45,7 - 130,2 mg. Cặn chiết EtOAc thu được sau khi cô quay được sử dụng để thử hoạt tính kháng sinh và ức chế enzym XO.

Hoạt tính kháng sinh của các cặn chiết EtOAc

Cặn chiết EtOAc của các chủng vi khuẩn phân lập được hòa tan trong dimethyl sulfoxide (DMSO) và pha loãng ở các nồng độ khác nhau để đánh giá khả năng kháng đối với các chủng vi sinh vật kiểm định. Kết quả thử nghiệm (Bảng 1) cho thấy trong số cặn chiết EtOAc của 45 chủng vi khuẩn phân lập, cặn chiết của 15 chủng (33,3%) có hoạt tính kháng đối với ít nhất một chủng kiểm định với giá trị MIC từ 32 - 256 μ g/mL. Trong đó, 3 cặn chiết thể hiện hoạt tính kháng đối với 1 chủng kiểm định, 7 cặn chiết thể hiện hoạt tính kháng đối với 2 chủng kiểm định, 4 cặn chiết thể hiện hoạt tính kháng đối với 3 chủng kiểm định, và chỉ 1 cặn chiết thể hiện hoạt tính kháng đối với 4 chủng kiểm định. Hoạt tính kháng theo chủng kiểm định được giảm dần như sau: *B. subtilis* (60,0%), *S. aureus* (53,3%), *P. aeruginosa* (46,7%), *E. coli* (33,3%), *C. albicans* (26,7%).

CÔNG NGHỆ VI SINH VÀ LÊN MEN

Bảng 1. Nồng độ ức chế tối thiểu của các cặn chiết có hoạt tính ($\mu\text{g/mL}$)

Kí hiệu chủng	Gram dương		Gram âm		Nấm men
	<i>B. subtilis</i> ATCC6633	<i>S. aureus</i> ATCC25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>C. albicans</i> ATCC10231
SP4	128	-	-	-	-
SP7	-	64	64	-	128
SP9	-	128	64	64	-
SP11	-	-	-	32	-
SP14	64	-	-	-	256
SP16	64	128	-	32	-
SP21	256	-	32	-	-
SP27	64	128	-	32	-
SP29	32	64	-	-	-
SP30	-	-	32	-	128
SP32	128	-	128	-	-
SP36	256	128	64	64	-
SP39	-	128	-	-	64
SP40	64	32	-	-	-
SP44	-	-	64	-	-

Sàng lọc hoạt tính ức chế enzym XO của các chất chiết thô từ các chủng vi sinh vật

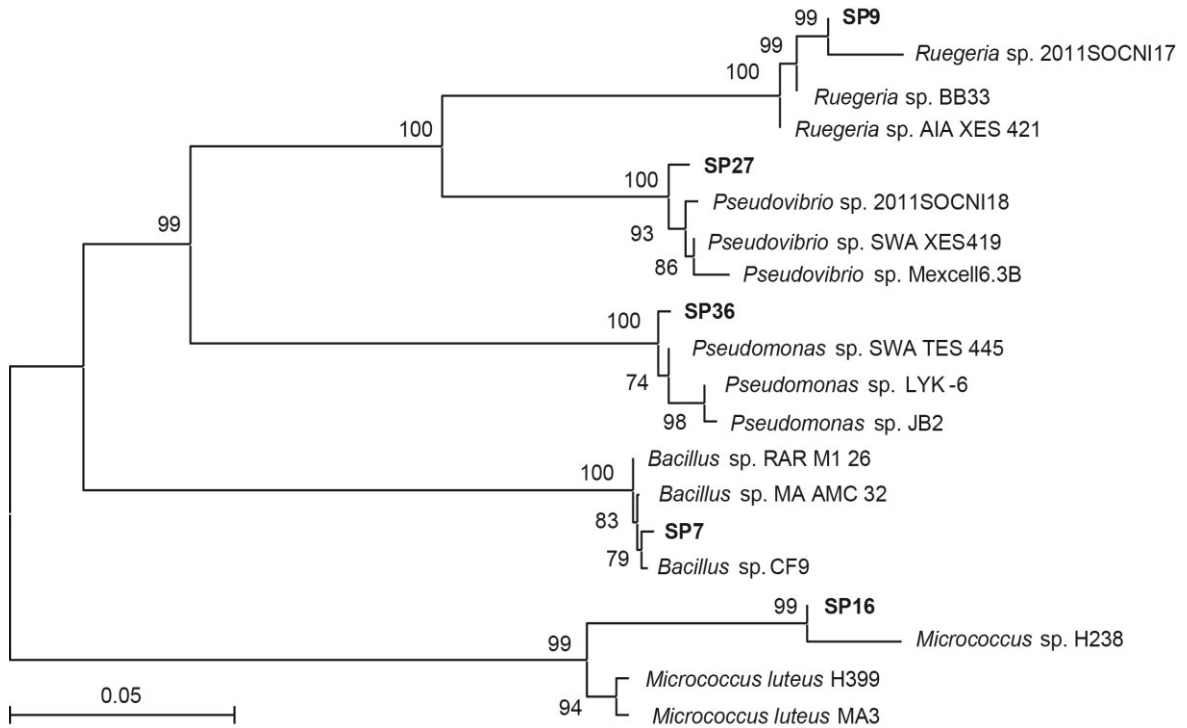
Cặn chiết EtOAc của các chủng vi khuẩn cũng được sử dụng để đánh giá khả năng ức chế enzym XO. Kết quả thử nghiệm (Bảng 2) cho thấy cặn chiết EtOAc của 26 chủng (57,8%) trong số 45 chủng được thử nghiệm có hoạt tính ức chế XO với tỷ lệ ức chế đạt $10,5 \pm 2,4\%$ - $96,2 \pm 5,6\%$ tại nồng độ thử nghiệm $500 \mu\text{g/mL}$. Trong số các cặn chiết có hoạt tính, cặn chiết của 13 chủng (50%) có tỷ lệ ức chế XO trên 50%.

Bảng 2. Khả năng ức chế XO của cặn chiết EtOAc của chủng vi khuẩn phân lập tại nồng độ thử nghiệm $500 \mu\text{g/mL}$

Kí hiệu chủng	Tỷ lệ ức chế (%)	Kí hiệu chủng	Tỷ lệ ức chế (%)
SP2	$53,5 \pm 3,1$	SP26	$10,5 \pm 2,4$
SP5	$94,3 \pm 7,3$	SP27	$93,7 \pm 5,8$
SP7	$95,2 \pm 4,6$	SP28	$29,6 \pm 2,9$
SP9	$83,6 \pm 5,7$	SP29	$94,2 \pm 5,7$
SP11	$79,3 \pm 4,9$	SP32	$84,6 \pm 4,9$
SP12	$17,7 \pm 3,4$	SP33	$96,2 \pm 5,6$
SP13	$81,7 \pm 6,1$	SP36	$91,3 \pm 5,4$
SP16	$93,2 \pm 5,4$	SP38	$21,7 \pm 3,2$
SP17	$35,6 \pm 3,6$	SP39	$47,5 \pm 4,1$
SP19	$37,6 \pm 2,8$	SP40	$31,6 \pm 3,6$
SP23	$33,6 \pm 3,1$	SP41	$39,6 \pm 3,3$
SP24	$35,6 \pm 4,0$	SP43	$26,2 \pm 2,9$
SP25	$11,7 \pm 3,3$	SP45	$89,5 \pm 5,1$

Định danh các chủng vi khuẩn có hoạt tính

Các gen 16S rRNA của 5 chủng có hoạt tính kháng và ức chế XO tốt (SP7, SP9, SP16, SP27, SP36) đã được khuếch đại và giải trình tự để xây dựng cây phát sinh loài. Kết quả cho thấy trình tự 16S rRNA của các chủng phân lập có độ tương đồng cao (99,0 - 99,6%) đối với các trình tự gen của các chủng trên dữ liệu GenBank. Kết quả xây dựng cây phả hệ cho thấy các chủng nghiên cứu thuộc 5 chi, bao gồm *Ruegeria*, *Pseudovibrio*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus* (Hình 1), trong đó trình tự gen 16S rRNA của chủng SP7 tương đồng 99,6% với chủng *Bacillus* sp. MA AMC 32, trình tự gen 16S rRNA của chủng SP9 tương đồng 99,0% với chủng *Ruegeria* sp. 2011SOCNI17, trình tự gen 16S rRNA của chủng SP16 tương đồng ở mức 99,4% với chủng *Micrococcus* sp. H238, trình tự gen 16S rRNA của chủng SP27 tương đồng 99,0% với chủng *Pseudovibrio* sp. 2011SOCNI18 và trình tự gen 16S rRNA của chủng SP36 tương đồng ở mức 99,3% với chủng *Pseudomonas* sp. SWA TES 445.



Hình 1. Cây phả hệ giữa các chủng vi khuẩn có hoạt tính dựa trên trình tự 16S rRNA

Thảo luận

Rừng ngập mặn là một trong những hệ sinh thái có mức độ đa dạng sinh học cao, trong đó quần thể vi sinh vật cũng rất đa dạng và được xem là một nguồn tiềm năng của các hợp chất có hoạt tính sinh học. Trong nghiên cứu này chúng tôi đã phân lập một số chủng vi khuẩn có hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định và ức chế enzym XO từ các mẫu đất rừng ngập mặn tại xã Gio Việt, huyện Gio Linh, Quảng Trị, trong đó cận chiết EtOAc của 15 chủng có hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định và 26 chủng có hoạt tính ức chế enzym XO. Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy rằng vi sinh vật rừng ngập mặn có khả năng sản xuất ra các hợp chất có cấu trúc hóa học riêng biệt và hoạt tính sinh học mạnh và đa dạng, bao gồm hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, kháng virus, chống ung thư, ức chế các enzym (Xu *et al.*, 2014; Ancheeva *et al.*, 2018). Tại Việt Nam, Đỗ Mạnh Hào và Phạm Thế Thư (2010) cũng đã phân lập được 65 chủng vi khuẩn từ rừng ngập mặn và các đầm nuôi trồng thủy sản, vùng cửa sông ven biển Hải Phòng, trong đó có 9 chủng có hoạt tính đối kháng đối với *Vibrio parahaemolyticus* và 9 chủng có hoạt tính đối kháng đối với *V. fuonissi*. Hoàng Thị Hồng và Nguyễn Ngọc Phương (2013) phân lập được 55 chủng xạ khuẩn từ đất rừng ngập mặn Cần Giờ, trong đó 11 chủng xạ khuẩn có hoạt tính đối kháng đối với chủng nấm *Fusarium* sp. Dat và đồng tác giả (2019a) đã phân lập được 19 chủng vi khuẩn có hoạt tính kháng đối với các chủng *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* và *C. albicans* với MIC = 32 - 512 µg/mL và phát hiện được một số gen sinh tổng hợp các hợp chất thứ cấp từ các chủng vi khuẩn phân lập được từ trầm tích rừng ngập mặn Rú Chá, Thừa Thiên Huế. Tương tự, Dat *et al.* (2019b) cũng đã tiến hành phân lập và đánh giá hoạt tính sinh học của các chủng vi khuẩn nội sinh với thực vật ngập mặn *Rhizophora stylosa* (đước vôi), trong đó 14 chủng có hoạt tính kháng đối với các chủng *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* và *C. albicans* với MIC = 32 - 512 µg/mL và 12 chủng có hoạt tính chống oxy hóa với tỷ lệ quét gốc tự do ABTS và DPPH đạt 26,2% đến 71,5%. Các chủng vi khuẩn rừng ngập mặn có hoạt tính sinh học trong các

nghiên cứu trên chủ yếu thuộc các chi *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudovibrio*, *Pseudomonas*. Trong khi hoạt tính đối kháng của vi khuẩn rừng ngập mặn được nghiên cứu khá nhiều, chưa có nghiên cứu nào về hoạt tính ức chế enzym XO từ vi khuẩn rừng ngập mặn. Nghiên cứu này là nghiên cứu đầu tiên báo cáo về hoạt tính ức chế enzym XO từ vi khuẩn rừng ngập mặn. Các nghiên cứu trước đây cho thấy một số chủng vi khuẩn phân lập từ các mẫu đất, nước biển cũng như các chủng vi khuẩn probiotic như *Agrobacterium aurantiacum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Acetobacter* spp., *Gluconobacter* spp., *Alcaligenes aquamarinus* và *Bacillus cereus* cũng có hoạt tính ức chế enzym XO với tỷ lệ ức chế đạt 30 - 80% (Suahara *et al.*, 1977; Izumida *et al.*, 1997; Chen *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2018).

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập và tuyển chọn được một số chủng vi khuẩn có khả năng kháng vi sinh vật và ức chế enzym XO từ trầm tích rừng ngập mặn ven biển ở Quảng Trị. Cận chiết EtOAc của 15 chủng có hoạt tính kháng đối với ít nhất một trong các chủng vi sinh vật kiểm định *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 10231 với giá trị MIC = 32 - 256 µg/mL và cận chiết EtOAc của 26 chủng có hoạt tính ức chế enzym XO với tỷ lệ ức chế đạt 10,5% - 96,2% tại nồng độ 500 µg/mL. Phân tích trình tự gen 16S rRNA cho thấy các chủng vi khuẩn có hoạt tính cao thuộc các chi *Ruegeria*, *Pseudovibrio*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*.

Lời cảm ơn: Công trình này được hỗ trợ tài chính bởi Đề tài độc lập cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam: “Nghiên cứu hoạt tính sinh học và các gen sinh tổng hợp các chất thứ cấp từ vi sinh vật rừng ngập mặn tại khu vực miền Trung”, mã số ĐL0000.02/19-20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chen SJ, Chen Y-L, Hsu HY, Wann SY (2016). Novel strains of *lactobacillus rhamnosus* and its metabolites for use in inhibiting xanthine oxidase and treating gout. *Patent US2016/0051602AD*.
- Chen SJ, Chen Y-L, Hsu HY, Wann SY (2018). Novel *acetobacter* and *gluconobacter* strains and their metabolites for use in inhibiting xanthine oxidase. *Patent US2016/0051596A1*.
- Dat TTH, Hong TT, Dung TTK, Hoa NP, Cuong PV, Binh PT, Dat NT, Cuc NTK (2018). Screening of antimicrobial producing bacteria associated with sponge and isolation of secondary metabolites from selected strain. *Proceedings of National Conference on Biotechnology 2018, Hanoi, 2018, pp. 774-779. Publishing House for Science and Technology, Hanoi*.
- Dat TTH, Oanh PTT, Tam VTT, Anh HLT (2019a). Antimicrobial activities of bacteria isolated from the coastal mangrove sediment in Thua Thien Hue. *Proceedings of National Scientific Forum 2019: Marine Biology and Sustainable Development, Hai Phong, 2019, pp. 971-980. Publishing House for Science and Technology, Hanoi*.
- Dat TTH, Oanh PTT, Tam VTT, Anh HLT (2019b). Antimicrobial and antioxidant activity of bacterial endophytes isolated from leaves of the mangrove plant *Rhizophora stylosa*. *Aca J Biol*, 41(4): 91-99.
- Đỗ Mạnh Hào, Phạm Thế Thư (2010). Một số kết quả nghiên cứu về vi sinh vật tại vùng ven biển Hải Phòng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ biển*, 10(1): 51-65.
- Hoàng Thị Hồng, Nguyễn Ngọc Phương (2013). Phân lập và tuyển chọn chủng xạ khuẩn từ rừng ngập mặn Cần Giờ kháng nấm *Fusarium* sp. *Tạp chí Khoa học Đại học Sư phạm TP. HCM*, 51: 59-71.
- Izumida H, Adachi K, Mihara A, Yasuzawa T, Sano H (1997). Hydroxyakalone, a novel xanthine oxidase inhibitor produced by a marine bacterium, *Agrobacterium aurantiacum*. *J Antibiotics*, 50: 916-918.
- Kathiresan K, Bingham BL (2001). Biology of mangroves and mangrove ecosystems. *Adv Mar Biol*, 40: 81-251.
- Khan SN, Khan AU (2016). Breaking the spell: combating multidrug resistant 'superbugs'. *Front Microbiol*, 7: 174.
- Kuo CF, Grainge MJ, Zhang W, Doherty M (2015). Global Epidemiology of Gout: Prevalence, Incidence and Risk Factors. *Nat Rev Rheumatol*, 11:649-662.
- Nguyen MTT, Awale S, Tezuka Y, Tran QL, Watanabe H, Kadota S (2004). Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Vietnamese Medicinal Plants. *Biol Pharm Bull*, 27(9): 1414-1421.
- Pilemann-Lyberg S, Hansen TW, Tofte N, Winther SA, Theilade S, Ahluwalia TS, Rossing P (2019). Uric Acid Is an Independent Risk Factor for Decline in Kidney Function, Cardiovascular Events, and Mortality in Patients With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, 42(6): 1088-1094.
- Rasaratnam I, Christophidis N (1995). Gout: A disease of plenty. *Aust Fam Physician*, 24(5): 849-851.
- Suahara N, Nogi K, Yokogawa K (1977). Production of xanthine oxidase inhibitor, 2,8-Dihydroxy adenine by *Alcaligenes aquamarinus*. *Agric Bioll Chem*, 41: 1103-1109.
- Xu DB, Ye WW, Han Y, Deng ZY, Hong K (2014). Natural products from mangrove actinomycetes. *Marine Drugs*, 12: 2590-2613.

ISOLATION OF BACTERIA WITH ANTIMICROBIAL AND XANTHINE OXIDASE INHIBITORY ACTIVITIES FROM MANGROVE SOIL IN GIO LINH, QUANG TRI

Phung Thi Thuy Oanh, Hoang Le Tuan Anh, Ton That Huu Dat*

MienTrung Institute for Scientific Research, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

SUMMARY

The drug resistance of the pathogenic microorganisms and the increase in blood uric acid causing gout are posing threats to human health globally. In this study, we isolated and screened the bacterial strains with antimicrobial and xanthine oxidase (XO) inhibitory activities from the coastal mangrove in Quang Tri to discover novel antibiotics and antigout compounds. From the collected mangrove soil samples, we isolated 129 bacterial strains, of which 45 strains with different morphological characteristics were fermented to prepare ethyl acetate (EtOAc) extracts and assessed antimicrobial and XO inhibitory activities. Bioassays showed that the EtOAc extracts of 15 strains exhibited antimicrobial activity against at least one of the reference strains of *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Candida albicans* ATCC10231 with minimum inhibitory concentration (MIC) of 32 - 256 µg/mL. Furthermore, the EtOAc extracts of 26 strains exhibited XO inhibitory activity with inhibition rates from $10.5 \pm 2.4\%$ to $96.2 \pm 5.6\%$ at the extract concentration of 500 µg/mL. Analysis of 16S rRNA gene sequences of highly active strains showed that these strains belonged to the genera *Ruegeria*, *Pseudovibrio*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*.

Keywords: Bacteria, antimicrobial activity, mangrove forest, xanthine oxidase inhibitory activity.

* Author for corresspondence: Tel: +84-949492778; Email: huudat96@gmail.com