

PHÂN LẬP VI KHUẨN *Lactobacillus* CÓ TIỀM NĂNG PROBIOTIC TỪ ĐƯỜNG TIÊU HÓA GÀ

Nguyễn Phương Thúy^{1*}, Nguyễn Việt Khánh Hưng¹, Huỳnh Hải Long¹, Trần Hữu Hậu¹, Lê Thị Phương Thảo¹, Nguyễn Thị Bích Tiên², Nguyễn Ngọc Trai¹, Nguyễn Nhật Nam, Lê Quốc Duy¹

¹Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

²Phòng Quản trị - Thiết bị, Trường Đại học Trà Vinh

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm phân lập và đánh giá các chủng *Lactobacillus* probiotic tiềm năng từ đường ruột gà khỏe mạnh để ứng dụng trong chăn nuôi gia cầm bền vững tại Việt Nam. Ba mươi chủng phân lập đã được sàng lọc khả năng chịu acid và muối mật, hai yếu tố quan trọng của vi khuẩn probiotic. Chủng LC20 và LC16 thể hiện khả năng sống sót tốt nhất trong điều kiện khắc nghiệt. Trong số các chủng này, LC6 cho thấy hoạt tính kháng khuẩn mạnh mẽ chống lại các mầm bệnh gia cầm phổ biến (*E. coli*, *Staphylococcus aureus* và *Salmonella* sp.) đồng thời nhạy cảm với tất cả các loại kháng sinh được thử nghiệm. Phân tích phân tử xác định LC6 là *Lactobacillus farciminis*. *L. farciminis* LC6, với các đặc tính probiotic mong muốn và không có khả năng kháng kháng sinh, là ứng viên tiềm năng cho việc phát triển các giải pháp probiotic thay thế kháng sinh trong chăn nuôi gia cầm, góp phần cải thiện sức khỏe vật nuôi và nâng cao năng suất.

Từ khóa: Chịu đựng stress, chăn nuôi gà, *Lactobacillus*, probiotic.

MỞ ĐẦU

Ngành chăn nuôi gà Việt Nam đóng góp đáng kể vào nền kinh tế, nhưng cũng đối mặt với thách thức về an toàn thực phẩm và sức khỏe cộng đồng do lạm dụng kháng sinh. Xu hướng loại bỏ kháng sinh trong chăn nuôi đòi hỏi các giải pháp thay thế bền vững, trong đó probiotic là một hướng đi đầy hứa hẹn (Reuben *et al.*, 2021). Probiotic, đặc biệt là vi khuẩn acid lactic (LAB) như *Lactobacillus*, nổi bật với khả năng kháng khuẩn và an toàn, đã được chứng minh có lợi cho sức khỏe vật nuôi (Sood *et al.*, 2020). Nghiên cứu đã chỉ ra LAB phân lập từ gà có thể giảm tỷ lệ chết, ức chế vi khuẩn có hại, cải thiện tăng trưởng và sức khỏe đường ruột (Wang *et al.*, 2023). *Lactobacillus* đặc biệt thu hút sự chú ý nhờ đặc tính kháng khuẩn ở gà, trở thành ứng cử viên tiềm năng thay thế kháng sinh trong chăn nuôi gia cầm. Các nghiên cứu đã chứng minh *Lactobacillus* có thể tác động tích cực đến sự tăng trưởng của gà, đồng thời ức chế các mầm bệnh gia cầm phổ biến (Ndaywel *et al.*, 2023). Nhiều nghiên cứu trước đây đã khám phá tiềm năng probiotic của các chủng *Lactobacillus* phân lập từ ruột gà, cho thấy chúng có hoạt tính kháng khuẩn, khả năng chịu đựng môi trường khắc nghiệt và ổn định trong điều kiện khác nhau (Sirisopapong *et al.*, 2023). Dựa trên những kết quả này, nghiên cứu của chúng tôi tập trung phân lập và lựa chọn các chủng *Lactobacillus* probiotic từ đường ruột gà khỏe mạnh, nhằm tìm kiếm giải pháp thay thế kháng sinh hiệu quả, góp phần thúc đẩy chăn nuôi gia cầm bền vững tại Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Thu thập mẫu và phân lập vi khuẩn

Mẫu ruột non được lấy từ 50 gà khỏe mạnh, 4 tháng tuổi, tại thành phố Trà Vinh. 1 gram ruột non được đồng nhất trong 9 mL nước cất vô trùng bằng phương pháp vortex trong 5 phút. Dịch đồng nhất được pha loãng liên tục 10 lần, và 100 μ L dịch pha loãng được cấy trên đĩa thạch de Man, Rogosa, và Sharpe (MRS) (Himedia, Ấn Độ) bổ sung 0,05% xanh bromocresol (Sigma-Aldrich) và 0,05% muối mật (Sigma-Aldrich). Sau 48 giờ ủ kỵ khí ở 37°C, các khuẩn lạc có hình thái khác biệt được phân lập và nhuộm Gram và quan sát hình thái tế bào dưới kính hiển vi. Các chủng thuần được bảo quản trong 30% glycerol ở -80°C để phân tích tiếp (Risa *et al.*, 2020).

Thử nghiệm khả năng chịu acid và muối mật

Các chủng vi khuẩn phân lập được nuôi cấy qua đêm trong môi trường MRS ở 37°C. Sau đó, mỗi chủng được chuyển sang môi trường MRS mới và ủ thêm 24 giờ ở 37°C. Sinh khối vi khuẩn được thu bằng ly tâm (7.500 x g, 5 phút, 4°C), rửa hai lần bằng dung dịch PBS (pH 7.2) và tái huyền phù trong môi trường MRS mới. Nồng độ tế bào được điều chỉnh bằng máy đo quang phổ để đạt mật độ quang (OD) từ 0,5 đến 0,7 ở bước sóng 600 nm.

Khả năng chịu acid: 1 mL dịch huyền phù tế bào được thêm vào 9 mL môi trường MRS đã điều chỉnh pH đến 2,0, 4,0 và 6,5. Các ống nghiệm được ủ ở 37°C trong 4 giờ.

Khả năng chịu muối mật: 1 mL dịch huyền phù tế bào được thêm vào 9 mL môi trường MRS bổ sung các nồng độ muối mật khác nhau (0%, 0.15%, 0.3%). Các ống nghiệm được ủ ở 37°C trong 4 giờ.

Sau khi ủ, các mẫu được pha loãng liên tục (10^{-4} đến 10^{-7}) và cấy trên đĩa thạch MRS. Số lượng tế bào sống được xác định bằng cách đếm đơn vị hình thành khuẩn lạc (CFU) (Ramlucken *et al.*, 2020).

Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn

Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trong 3 ống nghiệm 10 ml (9 ml MRS/ ống) điều kiện kỵ khí ở 37°C trong 24 giờ. Dịch nổi được tách bằng ly tâm (ở 10,000 vòng/phút, 5 phút, ở 4°C) và sử dụng để đánh giá hoạt tính ức chế đối với *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, và *Salmonella* sp. bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Vùng ức chế rõ xung quanh giếng cấy cho thấy hoạt tính kháng khuẩn (Rossi *et al.*, 2021).

Nhận dạng phân tử các chủng *Lactobacillus*

DNA của các chủng vi khuẩn được ly trích bằng bộ kit DNeasy Blood and Tissue Kit, Qiagen. Nồng độ và độ tinh sạch của DNA được kiểm tra bằng đo quang phổ NanoDrop. Gen 16S rRNA được khuếch đại bằng PCR với cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTC-3') và U1492R (5'-TACGGTTACCTTGTTACGACT-3'). Chu kỳ nhiệt bao gồm biến tính ban đầu ở 94°C trong 3 phút, tiếp theo là 29 chu kỳ 94°C trong 45 giây, 53°C trong 60 giây và 72°C trong 90 giây, với bước kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 5 phút. Sản phẩm khuếch đại được kiểm tra trên gel agarose 2%. Sản phẩm PCR tinh sạch (Bioline, UK) được giải trình tự (Next Gen Scientific Co., Ltd, TP.HCM) và các trình tự thu được được phân tích bằng phần mềm BioEdit (phiên bản 7.0). Các trình tự đồng thuận được so sánh với cơ sở dữ liệu GenBank sử dụng NCBI BLAST để xác nhận định danh ở mức loài của các chủng phân lập (Mudawaroch và cs., 2023) (Mudawaroch *et al.*, 2023).

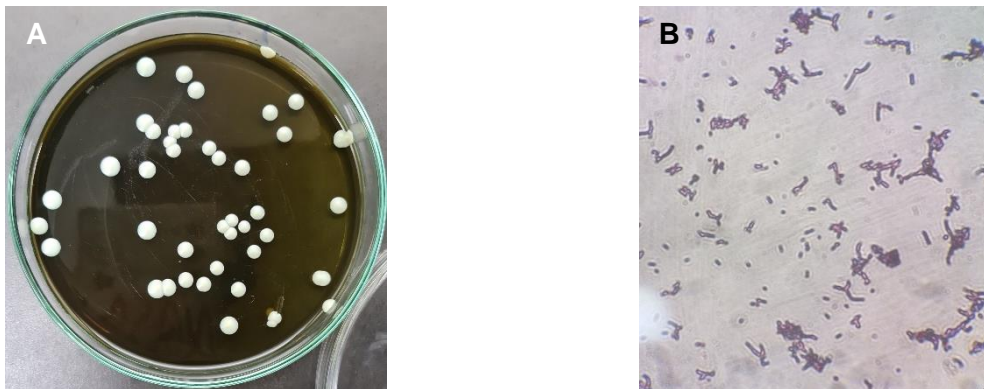
Phân tích thống kê

Kết quả được thể hiện dưới dạng trung bình và độ lệch chuẩn của ba lần lặp lại độc lập. Phân tích phương sai một chiều (ANOVA) được sử dụng để đánh giá sự khác biệt giữa các nhóm với mức ý nghĩa $p < 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập và định danh hình thái các chủng *Lactobacillus*

Từ 50 mẫu ruột gà, chúng tôi đã phân lập được 30 chủng vi khuẩn acid lactic (LAB) trên môi trường thạch MRS bổ sung xanh bromocresol và muối mật. Các chủng này đều có hình thái trực khuẩn hoặc cầu trực khuẩn Gram dương, không sinh bào tử, phù hợp với đặc điểm của chi *Lactobacillus* (Hình 1, Bảng 1).



Hình 1. Hình thái và nhuộm Gram của các chủng vi khuẩn phân lập

(A): Hình thái khuẩn lạc của chủng LC6 trên môi trường MRS agar (với 0.15% muối mật). (B): Nhuộm Gram của chủng LC6. Các tế bào có màu tím, hình que và không có bào tử.

Bảng 1. Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của 30 chủng vi khuẩn phân lập

Mã chủng vi khuẩn	Hình thái khuẩn lạc					Hình thái tế bào
	Hình dạng	Màu sắc	Kích thước	Độ nổi	Rìa	
LC1	Tròn	Trắng sữa	Lớn	Nhô	Lượn sóng	Gram dương - que dài
LC2	Tròn	Trắng trong	Nhỏ	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC3	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC4	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC5	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài

HỘI NGHỊ KHOA HỌC TOÀN QUỐC VỀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC 2024

LC6	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC7	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC8	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC9	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC10	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC11	Tròn	Trắng sữa	Lớn	Lồi	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC12	Tròn	Trắng đục	Nhỏ	Phẳng	Lượn sóng	Gram dương - que dài
LC13	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC14	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC15	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC16	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC17	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC18	Tròn	Trắng sữa	Vừa	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC19	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC20	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC21	Tròn	Trắng trong	Vừa	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC22	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC23	Tròn	Trắng trong	Nhỏ	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC24	Tròn	Trắng sữa	Vừa	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC25	Không đều	Trắng đục	Small	Phẳng	Lượn sóng	Gram dương - que dài
LC26	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC27	Tròn	Trắng sữa	Nhỏ	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC28	Không đều	Trắng sữa	Vừa	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn
LC29	Tròn	Trắng	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que dài
LC30	Tròn	Trắng sữa	Lớn	Nhô	Trơn	Gram dương - que ngắn

Khả năng chịu acid và muối mật

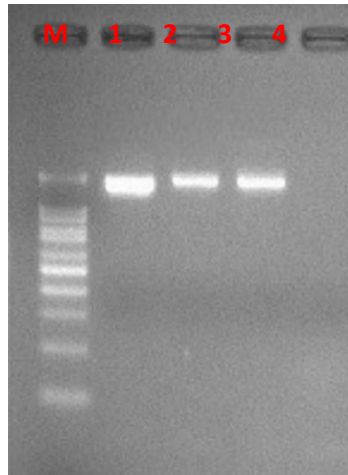
Kết quả đánh giá khả năng chịu acid (pH 2.0, 4.0 và 6.5) và muối mật (0%, 0.15% và 0.3%) cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các chủng *Lactobacillus*. Trong đó, LC20 và LC16 nổi bật với khả năng sống sót tốt nhất ở cả điều kiện pH thấp (pH 2.0) và nồng độ muối mật cao (0.3%). Khả năng này là yếu tố quan trọng để vi khuẩn probiotic có thể tồn tại và phát huy tác dụng trong môi trường khắc nghiệt của đường tiêu hóa (Bảng 2).

Hoạt tính kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn của các chủng *Lactobacillus* được đánh giá trên ba mầm bệnh gây bệnh phổ biến cho gia cầm: *E. coli*, *S. aureus* và *Salmonella* sp. (Bảng 3). Tất cả các chủng đều ức chế sự phát triển của *E. coli*, với đường kính vòng vô khuẩn từ $0,60 \pm 0,17$ cm (LC23) đến $4,63 \pm 3,51$ cm (LC11). Đối với *S. aureus*, LC28 cho thấy vòng vô khuẩn lớn nhất ($3,63 \pm 3,51$ cm), trong khi LC20 và LC22 không có hoạt tính ức chế. Đối với *Salmonella* sp., LC6 thể hiện khả năng ức chế mạnh nhất ($3,30 \pm 2,65$ cm), và LC26 không có khả năng ức chế. Hai chủng LC12 và LC6 cho thấy hoạt tính kháng khuẩn phổ rộng trên cả ba mầm bệnh.

Nhận dạng phân tử chủng *Lactobacillus*

Chủng LC6 được chọn để xác định loài bằng phương pháp giải trình tự gen 16S rRNA. Sau khi chạy PCR với các cặp mồi 27F và U1492R sản phẩm PCR được chạy điện di trên gel agarose 2,0% và thu một băng khoảng gần 1500 bp (Hình 4). Kết quả giải trình tự cho thấy chủng LC6 có độ tương đồng 99,64% với *Lactobacillus farciminis* trong cơ sở dữ liệu GenBank (Mã số PP946874). Dựa trên kết quả này, chủng LC6 được xác định là *Lactobacillus farciminis* và được đặt tên là *L. farciminis* LC6.



Hình 2. Khuếch đại DNA từ chủng LC6. (A): Sản phẩm vùng gen 16S rRNA khoảng 1500 bp trên gel agarose 2% với thang DNA 100 bp; M: Thang DNA chuẩn; Lane 1: Đối chứng dương; Lane 2-3: Mẫu; Lane 4: Đối chứng âm không DNA

Probiotic, đặc biệt là các chủng có nguồn gốc từ vật chủ, được coi là giải pháp thay thế kháng sinh tiềm năng trong chăn nuôi gia cầm (Ahmad *et al.*, 2022). Nghiên cứu này tập trung vào việc phân lập và đánh giá các chủng *Lactobacillus* từ đường ruột gà khỏe mạnh để tìm kiếm probiotic mới.

Ba mươi chủng vi khuẩn acid lactic (LAB) đã được phân lập thành công và xác định là *Lactobacillus* dựa trên các đặc điểm hình thái và nhuộm Gram. Hai chủng tiềm năng, LC20 và LC16, cho thấy khả năng sống sót tốt ở pH 2.0 và 0.3% muối mật, đáp ứng các tiêu chuẩn về khả năng chịu acid và muối mật của probiotic. Khả năng này rất quan trọng để probiotic tồn tại trong môi trường khắc nghiệt của đường tiêu hóa (Schmid *et al.*, 2016).

Các chủng phân lập cũng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn khác nhau chống lại *E. coli*, *Salmonella* sp. và *S. aureus*. LC12 và LC6 cho thấy hiệu quả ức chế mạnh nhất đối với cả ba mầm bệnh. Hoạt tính đối kháng này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về các chủng *Lactobacillus* từ gà và các nguồn khác (Cisek *et al.*, 2022).

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập được ba mươi chủng vi khuẩn. Trong đó, LC20 và LC16 nổi bật với khả năng sống sót tốt nhất ở cả điều kiện pH thấp (pH 2.0) và nồng độ muối mật cao (0.3%). Chủng LC6 thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh mẽ chống lại *E. coli*, *Salmonella* sp. và *S. aureus*. Kết quả định danh phân tử chủng LC6 là *Lactobacillus farciminis*. *L. farciminis* LC6, là một bước tiến đáng kể trong việc phát triển các giải pháp probiotic an toàn và hiệu quả cho ngành chăn nuôi gia cầm tại Việt Nam.

Bảng 2. Khả năng chịu pH thấp của dòng vi khuẩn *Lactobacillus*

Mã chủng vi khuẩn	Mật số <i>Lactobacillus</i> (Log CFU/mL)											
	Độ pH						Nồng độ muối mật					
	pH 6.5 (Đối chứng)		pH 4		pH 2		0% (Đối chứng)		0.15%		0.30%	
LC1	7,59	± 0,11	7,20	± 0,17	5,10	± 0,17	7,59	± 0,11	5,40	± 0,17	4,43	± 0,51
LC2	7,66	± 0,10	7,26	± 0,24	5,20	± 0,17	7,66	± 0,10	5,79	± 0,10	0,00	± 0,00
LC3	8,97	± 0,01	6,49	± 0,20	0,00	± 0,00	8,97	± 0,01	5,63	± 0,06	0,00	± 0,00
LC4	7,83	± 0,13	6,82	± 0,04	4,73	± 0,05	7,83	± 0,13	5,10	± 0,17	0,00	± 0,00
LC5	7,76	± 0,15	6,33	± 0,35	5,10	± 0,17	7,76	± 0,15	5,59	± 0,11	0,00	± 0,00
LC6	8,34	± 0,05	7,95	± 0,16	5,86	± 0,03	8,34	± 0,05	5,20	± 0,35	0,00	± 0,00
LC7	7,53	± 0,21	7,06	± 0,06	5,26	± 0,24	7,53	± 0,21	4,23	± 0,40	0,00	± 0,00
LC8	7,79	± 0,10	7,10	± 0,17	5,26	± 0,01	7,79	± 0,10	5,36	± 0,10	4,43	± 0,51
LC9	7,65	± 0,16	7,33	± 0,35	4,73	± 0,05	7,65	± 0,16	5,62	± 0,15	4,16	± 0,28
LC10	7,30	± 0,30	7,26	± 0,24	5,80	± 0,02	7,30	± 0,30	5,77	± 0,07	5,09	± 0,05
LC11	7,69	± 0,09	7,52	± 0,07	6,28	± 0,02	7,69	± 0,09	5,72	± 0,12	4,84	± 0,10
LC12	9,07	± 0,01	8,98	± 0,03	6,18	± 0,03	9,07	± 0,01	5,40	± 0,02	0,00	± 0,00

HỘI NGHỊ KHOA HỌC TOÀN QUỐC VỀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC 2024

LC13	8,99	±	0,01	8,09	±	0,10	5,82	±	0,07	8,99	±	0,01	5,95	±	0,05	5,19	±	0,66
LC14	7,54	±	0,28	6,55	±	0,13	0,00	±	0,00	7,54	±	0,28	5,58	±	0,17	4,57	±	0,51
LC15	7,40	±	0,35	6,53	±	0,21	4,77	±	0,07	7,40	±	0,35	5,69	±	0,09	4,63	±	0,85
LC16	8,10	±	0,07	6,82	±	0,07	6,54	±	0,02	8,10	±	0,07	5,98	±	0,09	5,21	±	0,55
LC17	8,69	±	0,01	8,09	±	0,08	0,00	±	0,00	8,69	±	0,01	5,63	±	0,13	4,79	±	0,71
LC18	8,69	±	0,02	8,49	±	0,02	5,40	±	0,17	8,69	±	0,02	4,84	±	0,06	4,73	±	0,51
LC19	8,63	±	0,08	7,20	±	0,35	5,55	±	0,13	8,63	±	0,08	5,88	±	0,35	5,09	±	0,60
LC20	8,31	±	0,01	8,11	±	0,06	6,54	±	0,01	8,31	±	0,01	5,86	±	0,07	5,26	±	0,67
LC21	8,86	±	0,03	7,23	±	0,40	0,00	±	0,00	8,86	±	0,03	5,84	±	0,12	0,00	±	0,00
LC22	7,40	±	0,17	6,20	±	0,35	6,65	±	0,04	7,40	±	0,17	5,72	±	0,12	4,59	±	0,53
LC23	8,19	±	0,02	7,16	±	0,28	6,18	±	0,04	8,19	±	0,02	5,70	±	0,17	4,43	±	0,51
LC24	8,95	±	0,01	7,84	±	0,10	6,19	±	0,04	8,95	±	0,01	5,87	±	0,11	5,08	±	0,54
LC25	7,77	±	0,12	7,10	±	0,17	6,54	±	0,01	7,77	±	0,12	5,32	±	0,28	0,00	±	0,00
LC26	8,71	±	0,05	7,90	±	0,05	5,10	±	0,17	8,71	±	0,05	5,58	±	0,17	4,43	±	0,51
LC27	8,32	±	0,06	6,20	±	0,17	6,77	±	0,00	8,32	±	0,06	5,23	±	0,40	0,00	±	0,00
LC28	8,42	±	0,05	6,16	±	0,28	6,63	±	0,00	8,42	±	0,05	5,82	±	0,19	4,79	±	0,10
LC29	8,96	±	0,01	7,82	±	0,07	5,56	±	0,07	8,96	±	0,01	3,93	±	3,41	4,73	±	0,51
LC30	9,02	±	0,01	7,30	±	0,30	5,77	±	0,07	9,02	±	0,01	6,22	±	0,03	4,69	±	0,65

Bảng 3. Khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh của các dòng *Lactobacillus* phân lập

Mã chủng vi khuẩn	<i>Escherichia coli</i> (cm)			<i>Staphylococcus aureus</i> (cm)			<i>Salmonella</i> sp. (cm)		
LC1	2,00	±	0,40	1,53	±	0,21	1,77	±	0,21
LC2	1,57	±	0,21	1,50	±	0,17	1,63	±	0,45
LC3	1,90	±	0,66	2,60	±	0,61	1,63	±	0,06
LC4	1,80	±	0,20	1,53	±	0,21	1,63	±	0,32
LC5	1,57	±	0,67	0,73	±	0,06	1,27	±	0,42
LC6	3,00	±	1,73	2,67	±	1,15	4,00	±	2,65
LC7	2,00	±	0,30	1,90	±	0,17	1,53	±	0,31
LC8	3,10	±	2,52	3,10	±	1,65	1,90	±	0,46
LC9	1,60	±	0,20	1,57	±	0,25	1,40	±	0,50
LC10	1,93	±	0,12	1,30	±	0,10	1,67	±	0,31
LC11	5,33	±	3,51	1,67	±	0,58	3,67	±	3,79
LC12	3,67	±	3,79	4,00	±	4,36	3,00	±	2,65
LC13	1,97	±	0,31	1,50	±	0,36	1,90	±	0,36
LC14	1,60	±	0,20	1,87	±	0,23	1,50	±	0,10
LC15	1,57	±	0,06	2,33	±	0,21	2,33	±	0,38
LC16	1,47	±	0,31	2,80	±	1,06	1,23	±	0,06
LC17	1,90	±	0,46	1,60	±	0,17	1,60	±	0,44
LC18	1,70	±	0,46	2,43	±	0,72	1,70	±	0,36
LC19	1,73	±	0,21	2,03	±	0,21	1,37	±	0,15
LC20	4,00	±	2,65	0,00	±	0,00	3,33	±	2,08
LC21	1,83	±	0,21	1,77	±	0,21	1,90	±	0,53
LC22	3,67	±	2,52	0,00	±	0,00	3,33	±	2,08
LC23	1,30	±	0,17	1,47	±	0,12	1,83	±	0,45
LC24	1,60	±	0,17	1,73	±	0,12	1,97	±	0,40

LC25	2,67	±	2,08	1,00	±	0,00	3,67	±	2,52
LC26	1,67	±	0,58	2,00	±	2,65	0,00	±	0,00
LC27	1,50	±	0,17	2,00	±	0,10	1,37	±	0,35
LC28	1,33	±	0,31	4,33	±	3,51	3,33	±	2,08
LC29	1,43	±	0,50	1,63	±	0,32	2,13	±	0,31
LC30	1,43	±	0,51	1,53	±	0,12	1,93	±	0,47

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahmad R, Yu YH, Hsiao FSH, Dybus A, Ali I, Hsu HC, Cheng YH (2022). Probiotics as a Friendly Antibiotic Alternative: Assessment of Their Effects on the Health and Productive Performance of Poultry. *Ferment*, 8(12): 672.
- Cisek AA, Bąk I, Stefańska I, Binek M (2022). Selection and optimization of high-yielding DNA isolation protocol for quantitative analyses of methanogenic archaea. *Microorganisms*, 10(3): 523.
- Mudawaroch RE, Setiyono S, Yusiati L M, Suryanto E (2023). Molecular identification of lactic acid bacteria from broiler chicken meat. *Agroindustrial J*. 10(2): 101-107.
- Ndaywel ON, Nsiala GO, Ntumba LT, Banze T, Musibono DE, Biey EM (2023). Isolation and characterization of *Lactobacillus* strains with probiotic potential from dairy products. *Asian J Environ Ecol*, 22(2): 70-78.
- Ramlucken U, Roets Y, Ramchuran SO, Moonsamy G, van Rensburg CJ, Thantsha MS, Laloo R (2020). Isolation, selection and evaluation of *Bacillus* spp. as potential multi-mode probiotics for poultry. *J Gen Appl Microbiol*, 66(4): 228-238.
- Risa YK, Harimurti S, Widodo W (2020). Screening for probiotic of lactic acid bacteria isolated from the digestive tract of a native Aceh duck (*Anas platyrhynchos*). *Biodiversitas*, 21(7).
- Rossi E, La Rosa R, Bartell JA, Marvig RL, Haagensen JAJ, Sommer LM, Molin S, Johansen HK (2021). *Pseudomonas aeruginosa* adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. *Nat Rev Microbiol*, 19(5): 331-342.
- Schmid A, Neumann H, Karrasch T, Liebisch G, Schäffler A (2016). Bile acid metabolome after an oral lipid tolerance test by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *PLoS ONE*, 11(2): e0148869.
- Sirisopapong M, Shimosato T, Okrathok S, Khempaka S (2023). Assessment of lactic acid bacteria isolated from the chicken digestive tract for potential use as poultry probiotics. *Anim Biosci*, 36(8): 1209.
- Sood U, Gupta V, Kumar R, Lal S, Fawcett D, Rattan S, Poinern GEJ, Lal R (2020). Chicken gut microbiome and human health: Past scenarios, current perspectives, and futuristic applications. *Indian J Microbiol*, 60: 2-11.
- Wang L, Lin Z, Ali M, Zhu X, Zhang Y, Li S, Li K, Kebzhai F, Li J (2023). Effects of lactic acid bacteria isolated from Tibetan chickens on the growth performance and gut microbiota of broiler. *Front Microbiol*, 14: 1171074.

ISOLATION AND SELECTION OF PROBIOTIC *Lactobacillus* STRAINS FROM CHICKEN INTESTINAL TRACT

Nguyen Phuong Thuy^{1*}, Nguyen Viet Khanh Hung¹, Huynh Hai Long¹, Tran Huu Hau¹,
Le Thi Phuong Thao¹, Nguyen Thi Bich Tien², Nguyen Ngoc Trai¹, Nguyen Nhat Nam¹, Le Quoc Duy¹

¹School of Agriculture and Aquaculture, Tra Vinh University.

²Equipment Administration Department, Tra Vinh University.

SUMMARY

The escalating demand for sustainable poultry production in Vietnam necessitates the exploration of alternatives to antibiotic growth promoters. This study investigated the probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from the intestinal tract of healthy chickens. Thirty isolates were screened for their resilience to acidic and bile salt conditions, key characteristics of probiotic bacteria. LC20 and LC16 strains demonstrated exceptional tolerance to these harsh environments. Subsequently, the selected strains were evaluated for their antimicrobial activity against common poultry pathogens (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* sp.). Strain LC6 exhibited both potent antimicrobial activity and sensitivity to all tested antibiotics. Molecular identification through PCR and 16S rRNA gene sequencing confirmed LC6 as *Lactobacillus farciminis* and was named *Lactobacillus farciminis* LC6. Identifying *L. farciminis* LC6, a strain possessing desirable probiotic traits and lacking antibiotic resistance, signifies a promising step towards developing effective and sustainable probiotic interventions in Vietnamese poultry farming. This could contribute to improved animal health, reduced reliance on antibiotics, and enhanced productivity in the poultry industry.

Keywords: *Lactobacillus*, Probiotic, stress tolerance, chicken.

* Author for correspondence: Tel: 02943855246; Email: npthuy@tvu.edu.vn