

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG THUỘC NHÓM VI KHUẨN SINH ACID LACTIC VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG NẤM *CANDIDA ALBICANS*

Lê Phương Linh¹, Hồ Thị Quỳnh¹, Lê Sỹ Phan Anh², Lê Thị Hải Yến¹, Nguyễn Thanh Hòa^{1*}

¹Trường Hóa và Khoa học sự sống, Đại học Bách khoa Hà Nội

²Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập, tuyển chọn các chủng thuộc nhóm vi khuẩn sinh acid lactic từ mẫu ruột gà tại chợ Hoàng Mai, Hà Nội và đánh giá khả năng đối kháng lại mầm bệnh “cơ hội” *Candida albicans*. Hoạt tính đối kháng của chủng phân lập với nấm men *Candida albicans* được thực hiện bằng phương pháp nhỏ giọt, đồng nuôi cấy trực tiếp chủng phân lập với nấm men và sử dụng dịch ly tâm loại sinh khối (Cell – Free Supernatants CFS) để đánh giá khả năng ức chế hình thành màng sinh học của *Candida albicans*. Kết quả cho thấy đã phân lập được 6 chủng vi khuẩn sinh acid lactic từ mẫu ruột gà dựa theo màu sắc, kích thước, hình thái khuẩn lạc và kích thước vòng hòa tan. Cả 6 chủng đều cho kết quả kháng nấm sơ bộ là khả quan và tiềm năng, trong đó chủng phân lập 1.1 cho hoạt tính kháng mạnh mẽ nhất. Kết quả giải trình tự vùng gen 16S rRNA cho thấy chủng phân lập 1.1 tương đồng gần nhất với loài *Lactobacillus pentosus*. Kết quả thí nghiệm đã cho thấy tiềm năng sinh học khi sử dụng chủng vi khuẩn sinh acid lactic trong việc phòng ngừa và chống lại bệnh nhiễm trùng nấm *Candida*.

Từ khóa: *Candida albicans*, kháng nấm, LAB, phân lập, vi khuẩn sinh acid lactic.

MỞ ĐẦU

Candida albicans (*C. albicans*) được biết đến là loài nấm men hội sinh sống phổ biến ở bề mặt niêm mạc miệng, da, đường ruột và bộ phận sinh dục của con người. Thông thường, *C. albicans* tồn tại ở trạng thái vô hại nhưng khi hệ vi sinh vật trong cơ thể con người bị xáo trộn, hàng rào miễn dịch bị tổn hại, chúng có thể thay đổi trạng thái và gây ra bệnh nhiễm trùng nấm đặc biệt nguy hại. Viêm âm đạo do nấm *Candida* là tình trạng phổ biến và được quan tâm nhiều nhất khi khoảng 70% phụ nữ ghi nhận từng bị viêm âm đạo do nấm ít nhất một lần trong đời và ước tính khoảng 8% phụ nữ có khả năng bị tái nhiễm nấm sau khi dừng điều trị (Jeanmonod *et al.*, 2024). Bệnh nhiễm trùng máu do *Candida* là nguyên nhân thứ tư gây nhiễm trùng máu bệnh viện ở Hoa Kỳ và thứ bảy ở châu Âu, với tỷ lệ gây tử vong chung được xác định là từ 22 – 75% (Barantsevich, Barantsevich, 2022). Hiện nay, các loại thuốc kháng nấm vẫn đang được sử dụng một cách khá hiệu quả, tuy nhiên tiềm ẩn về những tác động tới sức khỏe con người cũng như làm gia tăng khả năng kháng thuốc cho các chủng thuộc chi *Candida* vẫn là một vấn đề cần được quan tâm.

Vi khuẩn sinh acid lactic (Lactic Acid Bacteria – LAB) là những vi khuẩn có khả năng sinh ra acid lactic trong quá trình sinh trưởng và phát triển. Bên cạnh khả năng sinh tổng hợp acid lactic, người ta đã nghiên cứu được những hợp chất khác cũng như một số đặc điểm khiến LAB trở nên tiềm năng trong việc sản xuất các chế phẩm probiotic hay các loại thực phẩm chức năng tốt cho sức khỏe như các acid hữu cơ, chất hoạt động bề mặt, exopolysaccharide, các chất giống bacteriocin (Bacteriocin – Like Substances), ... (Vazquez-Munoz, Dongari-Bagtzoglou, 2021). Có thể thấy, với những nguy hiểm luôn tiềm ẩn ở loài nấm men hội sinh này, cùng với việc tốc độ phát triển các phương pháp điều trị bệnh nấm *Candida* đang chậm lại, mong muốn có thể tìm ra các chế phẩm sinh học an toàn từ nhóm vi khuẩn sinh acid lactic, đặc biệt là LAB có khả năng kháng nấm *Candida* tốt là vô cùng cần thiết. Các nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực này sẽ mở ra những hướng đi hứa hẹn hơn cho việc sử dụng LAB/ hợp chất LAB trong công nghệ sinh học bảo vệ sức khỏe con người.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Mẫu ruột gà mới mổ được thu thập tại chợ Hoàng Mai, Hà Nội và chủng nấm men *C. albicans* ATCC10231 từ Trung tâm Vi sinh vật Công nghiệp – Viện Công nghiệp thực phẩm.

Phân lập vi khuẩn sinh acid lactic

Mẫu ruột gà được đồng nhất trong NaCl 0,9% vô trùng trong 30 phút sau đó pha loãng theo hệ số 10 tới các độ pha loãng 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} và tiến hành cấy trải lên đĩa thạch môi trường MRS bổ sung 0,5% CaCO_3 . Các đĩa thạch được nuôi ở điều kiện 37°C trong 48 giờ. Các khuẩn lạc riêng rẽ có hình thái khác nhau được lựa chọn để

cấy chuyển sang đĩa môi trường MRS CaCO₃ cho đến khi thu được các khuẩn lạc đồng nhất. Quan sát hình thái khuẩn lạc sau 48 giờ nuôi cấy nhằm ghi nhận hình dạng, kích thước, màu sắc khuẩn lạc. Sau khi đã phân lập thuần chủng, hình dạng tế bào các chủng vi khuẩn được quan sát dưới kính hiển vi quang học, đồng thời tiến hành các thí nghiệm đặc tính khác như thử nghiệm oxidase, catalase.

Xác định khả năng kháng *C. albicans* của các chủng phân lập

Các chủng phân lập được hoạt hóa qua đêm trong 8 mL môi trường lỏng MRS ở 37°C. Nhỏ 3 µL canh trường mỗi chủng (điều chỉnh về OD_{600nm} = 1) lên bề mặt đĩa thạch môi trường MRS, sau đó nuôi ở tủ ấm 37°C trong 24 giờ để giọt khuẩn lạc LAB phát triển. Cùng lúc đó, *C. albicans* được hoạt hóa qua đêm trong 10 mL môi trường lỏng YPD ở 30°C, 150 vòng/ phút. Canh trường nấm men được điều chỉnh về 1 – 5 x 10⁶ CFU/mL sau đó bổ sung 1% (v/v) vào môi trường YPD bán rắn (0,7% agar) ổn nhiệt ở 50°C. Phủ đều môi trường sau khi bổ sung nấm men lên bề mặt đĩa thạch đã nhỏ giọt vi khuẩn sau đó đem đi nuôi ở tủ ấm 30°C. Quan sát vòng ức chế, kháng nấm xuất hiện quanh bề mặt khuẩn lạc LAB. Khả năng ức chế sự phát triển nấm men *C. albicans* của các chủng phân lập được xác định như sau: ΔD = D – d, trong đó D là đường kính vòng ức chế (mm), d là đường kính khuẩn lạc LAB (mm) (Atanasov *et al.*, 2023).

Đồng nuôi cấy chủng phân lập và nấm men *C. albicans*

Chủng phân lập cho vòng ức chế tốt nhất thu được ở thí nghiệm trên được nuôi hoạt hóa qua đêm trong 8 mL môi trường lỏng MRS ở 37°C. Cùng lúc đó, *C. albicans* được hoạt hóa qua đêm trong 10 mL môi trường lỏng YPD ở 30°C, 150 vòng/ phút. Giá trị OD_{600nm} của canh trường vi khuẩn và nấm men được xác định và tính toán thể tích cấp vào 20 mL môi trường lỏng MRS sao cho giá trị OD_{600nm} cuối của nấm men và vi khuẩn là 0,1. Sau khi cấp giống, các bình tam giác được nuôi lắc ở 150 vòng/ phút, 37°C. Mẫu kiểm chứng là *C. albicans* và chủng phân lập được nuôi riêng rẽ trong các bình tam giác chứa 20 mL môi trường lỏng MRS. Buồng đếm hồng cầu được sử dụng để khảo sát số tế bào nấm men sinh trưởng và phát triển (Lima, 2019).

Chuẩn bị dịch ly tâm loại sinh khối CFS

Chủng phân lập cho vòng ức chế tốt nhất được nuôi trong môi trường lỏng MRS ở 37°C trong 24 giờ. Canh trường vi khuẩn sau đó được ly tâm lạnh 10000 vòng/ phút trong 20 phút ở 4°C để thu phần dịch nổi sau ly tâm. Dịch ly tâm loại sinh khối sau đó được chia làm hai phần, với một phần giữ nguyên pH ban đầu và phần còn lại được trung hòa pH đến 7 bằng NaOH 3N. Lọc dịch bằng màng lọc 0,22 µm, thu và bảo quản ở -20°C.

Đánh giá khả năng ức chế hình thành màng sinh học *C. albicans* của dịch ly tâm loại sinh khối CFS

C. albicans được nuôi cấy qua đêm trong 10 mL môi trường lỏng YPD ở 30°C, 150 vòng/ phút. Hút 10 µL canh trường nấm men *C. albicans* (điều chỉnh về 10⁷ CFU/ mL) phân phối vào đĩa 96 giếng. Thêm 140 µL môi trường YPD bổ sung 2,5% glucose phủ lên trên các giếng. Bổ sung thể tích của dịch ly tâm CFS theo các nồng độ 40%, 1/2, 1/4 và 1/8 của nồng độ dịch CFS 40% vào các giếng. Giếng chứa *C. albicans* và môi trường không bổ sung CFS là kiểm chứng dương. Ủ giếng ở 35°C trong 48 giờ. Sau thời gian ủ, tiến hành rửa nhẹ các mẫu 3 lần với đệm Phosphate Buffered Saline (PBS, pH = 7) vô trùng. Để khô và cố định màng bằng 200 µL methanol 99% trong 15 phút. Tiến hành loại bỏ dung dịch methanol và để khô trong 5 phút. Màng sinh học được giữ bằng 200 µL thuốc nhuộm tím tinh thể Crystal Violet trong 5 phút. Các giếng sau đó được rửa nhẹ nhàng bằng nước cất vô trùng nhằm giữ lại các phần màng sinh học đã bắt thuốc nhuộm và để khô. Bổ sung 160 µL acid acetic 33% để hòa tan và giải phóng thuốc tím. Kết quả được quan sát và đo ở bước sóng 540nm. Khả năng ức chế hình thành màng sinh học của chủng phân lập được tính toán theo công thức sau: % ức chế hình thành màng sinh học = $(1 - \frac{OD_1}{OD_2}) \times 100\%$, trong đó OD₁ là độ hấp thụ của giếng chứa *C. albicans* có bổ sung dịch CFS, OD₂ là độ hấp thụ của giếng chứa *C. albicans* không bổ sung dịch CFS (García-Gamboa *et al.*, 2022).

Định danh vi khuẩn bằng kỹ thuật giải trình tự đoạn gen 16S rRNA

Chủng phân lập cho khả năng ức chế nấm mạnh nhất được chọn để tách chiết DNA tổng số và khuếch đại vùng gen 16S rRNA bằng cặp mồi đặc hiệu 27F và 1492R. Kết quả giải trình tự vùng gen 16S rRNA của vi khuẩn được so sánh với các trình tự trong ngân hàng dữ liệu của NCBI bằng công cụ BLAST. Tỷ lệ tương đồng với các trình tự trên cơ sở dữ liệu là cơ sở để định danh vi khuẩn đối kháng.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phân lập vi khuẩn sinh acid lactic

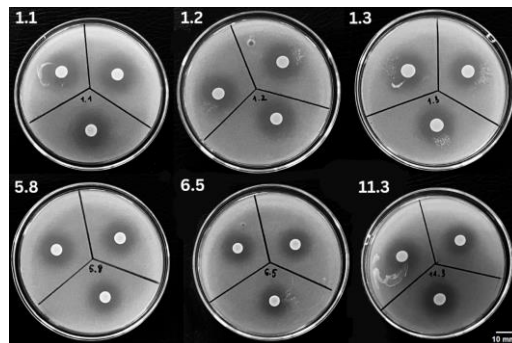
Kết quả thí nghiệm đã phân lập được 6 chủng vi khuẩn sinh acid lactic dựa trên đặc điểm về kích thước và hình thái khuẩn lạc, kích thước vòng hòa tan quan sát được sau 48 giờ nuôi cấy. Chủng phân lập đa số có hình thái khuẩn lạc tròn, bề mặt nhẵn đến hơi lồi và màu từ trắng sữa đến trắng sữa hơi vàng. Hình thái tế bào được quan sát ở độ phóng đại 1000 lần cho thấy đa số có dạng hình que và hình que ngắn, đều ghi nhận là Gram dương, có thử nghiệm oxidase và catalase âm tính. Các đặc điểm hình thái, sinh hóa của các chủng phân lập được thể hiện ở bảng 1 dưới đây.

Bảng 1. Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của chủng phân lập sau 2 ngày nuôi cấy

Chủng	Đường kính vòng hòa tan (mm)	Đường kính khuẩn lạc (mm)	Hình thái khuẩn lạc	Hình thái tế bào
1.1	10	4	Tròn, bề mặt hơi lồi, bóng, trắng sữa hơi vàng	Hình que, Gram dương
1.2	4	1,5	Tròn, bề mặt lồi, bóng, trắng sữa hơi ánh vàng	Hình que ngắn, nổi đôi, Gram dương
1.3	5	2,5	Tròn, bề mặt nhẵn, bóng, trắng hơi vàng	Hình que, nổi chuỗi, Gram dương
5.8	5	2	Tròn, bề mặt lồi, trắng sữa	Hình que ngắn, nổi đôi, Gram dương
6.5	4	2,5	Tròn, bề mặt lồi, bóng, trắng hơi vàng	Hình que, Gram dương
11.3	7	3	Tròn, bề mặt hơi lồi, bóng, trắng sữa	Hình que ngắn, nổi đôi, Gram dương

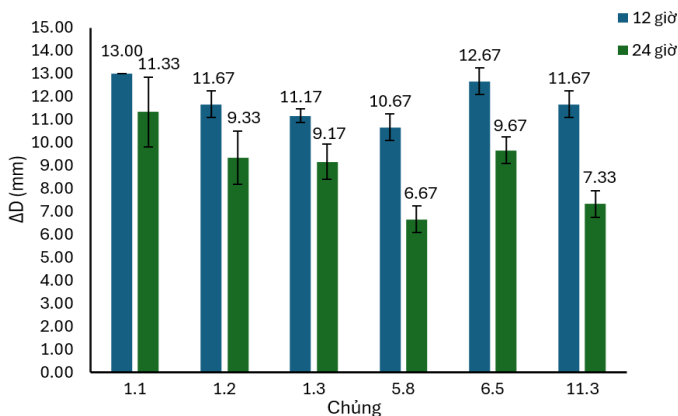
Khả năng kháng *C. albicans* của các chủng phân lập

Sau quá trình phân lập, sáu chủng LAB được đánh giá khả năng kháng nấm sơ bộ sử dụng phương pháp đổ thạch hai lớp. Kết quả cho thấy cả sáu chủng bước đầu đều cho hoạt tính kháng nấm với khoảng vùng trong xung quanh bề mặt giọt vi khuẩn là vùng xảy ra sự ức chế và ngoài vùng đó nấm men vẫn có sự phát triển bình thường (Hình 1).



Hình 1. Khả năng kháng nấm *C. albicans* của các chủng phân lập

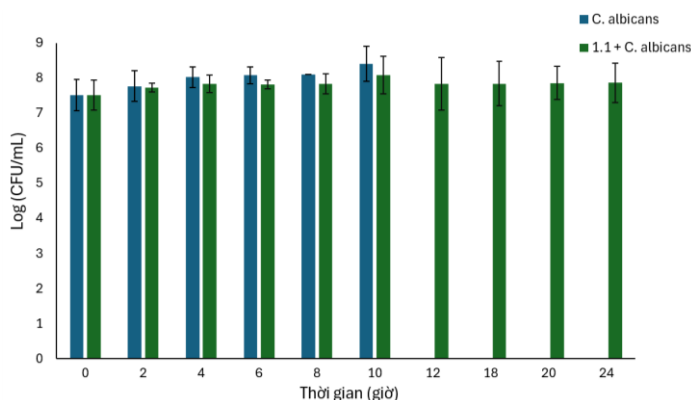
Kết quả được quan sát sau 12 giờ nuôi cấy và 24 giờ nuôi cấy nhằm kiểm tra hoạt tính ức chế và khả năng kéo dài thời gian ức chế nấm men của các chủng phân lập. Hình 2 cho thấy chủng 1.1 sau 12 và 24 giờ đều cho hoạt tính kháng nấm mạnh mẽ nhất với khả năng ức chế nấm tương ứng là 13 và 11,33 mm. Kết quả có phần tiềm năng và khả quan hơn so với nghiên cứu của tác giả Nguyễn Tăng Phú và Nguyễn Thị Liên (2019) khi sử dụng 48 dòng vi khuẩn LAB được phân lập từ mẫu sữa mẹ và phân trẻ em chỉ ghi nhận 1 dòng vi khuẩn HF4.2 có khả năng kháng lại *C. albicans* với ΔD là 5,67 mm (Phú, Liên, 2019). Chủng 1.1 cho khả năng kháng tốt nhất được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Khả năng ức chế sự phát triển nấm men *C. albicans* của các chủng phân lập sau 12 và 24 giờ

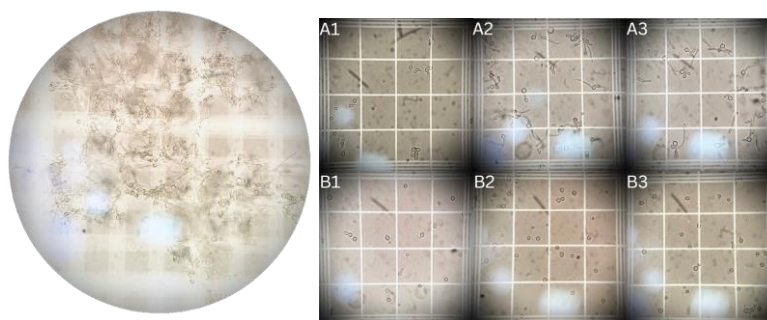
Kết quả đồng nuôi cấy chủng phân lập với nấm men *C. albicans*

Ảnh hưởng trực tiếp giữa chủng phân lập 1.1 với nấm men *C. albicans* trong quá trình sinh trưởng được thử nghiệm sử dụng phương pháp đồng nuôi cấy. Có thể thấy đã có sự ức chế phát triển nấm men khi cùng nuôi cấy với chủng 1.1, điều đó được thể hiện qua việc số lượng tế bào nấm men qua các giờ đều phát triển chậm hơn so với mẫu kiểm chứng *C. albicans*. Tại thời điểm từ 2 – 10 giờ, mẫu kiểm chứng (*C. albicans*) có số lượng tế bào tăng từ 7,77 log lên 8,41 log (tăng 0,64 log), trong khi đối với mẫu đồng nuôi cấy (1.1 + *C. albicans*), giá trị tế bào ghi nhận tăng từ 7,73 log lên 8,08 log (tăng 0,35 log). Có thể thấy, trong quá trình phát triển, LAB gây ra sự cạnh tranh về dinh dưỡng, sinh ra acid hữu cơ làm giảm pH môi trường, cũng như có thể đã tiết ra các hợp chất khác từ đó có tác động đến mầm bệnh và làm giảm sự sinh trưởng của chúng. Bên cạnh đó, sau 24 giờ nuôi cấy, giá trị số tế bào sống của *C. albicans* khi cùng nuôi với chủng 1.1 duy trì ở khoảng 7,87 log (Hình 3).



Hình 3. Kết quả đồng nuôi cấy chủng phân lập 1.1 và *C. albicans*

Có thể kết luận rằng, sự tác động của LAB 1.1 đã giúp ức chế sự sinh trưởng và phát triển của *C. albicans*, và khả năng ức chế này được kéo dài đến 24 giờ theo dõi. Kết quả mẫu kiểm chứng *C. albicans* chỉ được ghi nhận đến thời điểm 10 giờ do trong quá trình nuôi cấy ghi nhận có sự thay đổi hình thái từ nấm men sang dạng nấm men chuyển đổi sợi nấm – một yếu tố độc lực quan trọng của *C. albicans*. Trạng thái tồn tại ở cả dạng nấm men và dạng nấm men chuyển đổi sợi nấm đã được quan sát thấy kể từ sau 2 giờ nuôi cấy. Từ sau thời điểm 10 giờ, trạng thái sợi nấm chiếm ưu thế hơn, dẫn đến khó khăn trong việc quan sát và đếm tế bào khi sử dụng buồng đếm hồng cầu. Tại thời điểm 24 giờ, dạng sợi nấm phát triển và tạo thành các pellet gần như bao phủ lên buồng đếm hồng cầu (Hình 4).



Hình 4. Hình thái tế bào nấm quan sát bằng buồng đếm hồng cầu

(Ghi chú: Bên trái: Hình thái tế bào sợi nấm *C. albicans* ở mẫu kiểm chứng tại thời điểm 24 giờ

Bên phải: A1, A2, A3: Mẫu kiểm chứng *C. albicans* tại các thời điểm 0, 12, 24 giờ

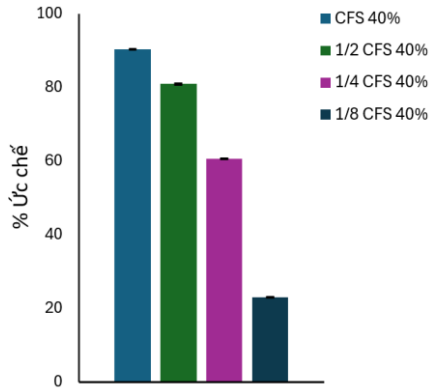
B1, B2, B3: Mẫu đồng nuôi cấy 1.1 + *C. albicans* tại các thời điểm 0, 12, 24 giờ)

Ngược lại, đối với *C. albicans* khi đồng nuôi cấy cùng chủng phân lập 1.1, không quan sát thấy hiện tượng chuyển hình thái giữa nấm men – sợi nấm. Hình thái tế bào nấm men tồn tại duy nhất và duy trì trong suốt 24 giờ theo dõi (Hình 4). Điều này cho thấy trong quá trình nuôi cấy, bên cạnh việc ức chế sự phát triển của nấm men, chủng phân lập 1.1 còn biểu hiện khả năng ức chế hình thành sợi nấm của *C. albicans*. Được cho là một yếu tố độc lực quan trọng của *C. albicans*, trạng thái sợi nấm đóng vai trò tiên quyết trong việc bám dính và xâm lấn vào các tế bào biểu mô, từ đó dẫn đến tổn thương các mô. Chính vì vậy, hạn chế hình thành sợi nấm được cho là một mục tiêu hấp dẫn trong việc điều trị và giúp cân bằng, duy trì trạng thái hội sinh của nấm men *C. albicans*.

Khả năng ức chế hình thành màng sinh học của dịch ly tâm loại sinh khối CFS

Việc điều trị nhiễm nấm *Candida* một phần gặp khó khăn do khả năng hình thành màng sinh học trên các bề mặt sinh học và phi sinh học của chúng. Trong thí nghiệm này, các nồng độ khác nhau của dịch CFS sẽ được bổ

sung và thử khả năng ức chế hình thành màng sinh học dựa vào phương pháp nhuộm màu tím tinh thể crystal violet. Kết quả thí nghiệm thể hiện ở hình 5 dưới đây cho thấy tất cả các nồng độ chiết suất của dịch CFS đều cho khả năng ức chế hình thành màng sinh học *C. albicans*. Theo đó, khả năng ức chế tốt nhất được ghi nhận khi bổ sung thêm dịch CFS 40%, với kết quả giảm hình thành màng sinh học lên tới khoảng 90,25%. Với các nồng độ 1/2, 1/4 và 1/8 CFS 40%, kết quả thu được giảm dần là 80,87%; 60,62% và 22,96%. Kết quả thể hiện là tương đối khả quan khi đánh giá ở giá trị 1/4 dịch CFS 40% bổ sung, khả năng ức chế hình thành màng sinh học vẫn đạt được tới 60%.



Hình 5. Khả năng ức chế hình thành màng sinh học *C. albicans* của dịch ly tâm CFS từ chủng phân lập 1.1

Tác giả Zeinab S. Hashem và Ahmed S. Hashem (2021) khi nghiên cứu về khả năng ức chế hình thành màng sinh học của các loài *Candida* sử dụng dịch CFS của *Lactobacillus plantarum* và *Lactobacillus acidophilus* cho hiệu quả trung bình là từ 50 – 72% và 74 – 85% (Hashem, Hashem, 2021). García-Gamboa và đồng tác giả (2022) khi bổ sung 50% dịch CFS của *Lactobacillus rhamnosus* cho thấy hiệu quả giảm hình thành màng sinh học đạt 88,25% (García-Gamboa et al., 2022). Nhìn chung, hoạt tính ức chế hình thành màng sinh học của dịch CFS có thể liên quan đến một số khả năng như hình thành các acid hữu cơ gây acid hóa nội bào, ảnh hưởng đến sự trao đổi chất của tế bào, cũng như tiết ra các chất có khả năng thay đổi tính chất lý hóa của bề mặt như chất hoạt động bề mặt sinh học, ... Kết quả bước đầu chứng minh khả năng tồn tại các hợp chất có tác dụng ức chế sự hình thành màng sinh học, và hiệu quả ức chế là khá tiềm năng.

Kết quả định danh vi khuẩn bằng kỹ thuật giải trình tự đoạn gen 16S rRNA

Kết quả so sánh trình tự vùng gen 16S rRNA của chủng phân lập 1.1 với trình tự gen của các loài vi khuẩn khác trong cơ sở dữ liệu GenBank của NCBI cho thấy, trình tự vùng gen 16S rRNA của chủng 1.1 có độ tương đồng cao nhất với trình tự của loài vi khuẩn *Lactobacillus pentosus* (*L. pentosus*). Peptide TV35B có chiều dài trung bình được tinh chế từ *L. pentosus* chính là 1 trong 2 hợp chất bản chất protein có khả năng kháng nấm *C. albicans* đã được công bố và ghi nhận cho đến nay (Magnusson, 2003). García-Hernández và đồng tác giả (2016) cũng đã phân lập được một chủng *L. pentosus* LB-31 từ phân gà cho thấy hoạt tính kháng khuẩn mạnh mẽ cũng như khả năng chịu được muối mật và pH thấp (García-Hernández et al., 2016).

Bảng 2. Kết quả so sánh trình tự 16S rRNA của chủng phân lập 1.1

Tên chủng	Mã truy cập	Độ bao phủ	Độ tương đồng
<i>Lactobacillus pentosus</i> F087A	MT846003.1	100%	99,93%
<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> HBUAS59039	QM301925.1	100%	99,86%
<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> 15261	MW463767.1	100%	99,86%

KẾT LUẬN

Từ mẫu ruột gà mua tại chợ Hoàng Mai, Hà Nội, kết quả đã phân lập được 6 chủng vi khuẩn sinh acid lactic. Thử nghiệm cho thấy cả 6 chủng đều cho hoạt tính kháng nấm *C. albicans* với khả năng ức chế nấm từ 9,33 – 13 mm sau 12 giờ quan sát. Chủng phân lập 1.1 thể hiện khả năng ức chế tốt nhất quan sát được sau 12 và 24 giờ nuôi cấy. Tương tác trực tiếp giữa chủng 1.1 và nấm men *C. albicans* cũng đã được nghiên cứu và kết quả cho thấy khả năng ức chế sự phát triển của *C. albicans*. Bên cạnh đó, chủng phân lập 1.1 cũng thể hiện hoạt tính ức chế hình thành sợi nấm xâm lấn của *C. albicans*, qua đó cho thấy tiềm năng trong việc tác động và ức chế các yếu tố độc lực quan trọng của *C. albicans*. Dịch ly tâm loại sinh khối của chủng phân lập 1.1 cũng cho thấy tiềm năng trong việc ức chế hình thành màng sinh học – một yếu tố độc lực khác của chủng nấm men gây bệnh này. Hệ số ức chế cao nhất lên tới 90% đối với dịch ly tâm được giữ nguyên chưa qua xử lý. Kết quả định danh chủng 1.1 xác định sự tương đồng gần nhất với loài *L. pentosus*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Atanasov N, Evstatieva Y, Nikolova D (2023). Antagonistic Interactions of Lactic Acid Bacteria from Human Oral Microbiome against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Microorganisms*, 11(6): 1604.
- Barantsevich N, Barantsevich E (2022). Diagnosis and Treatment of Invasive Candidiasis. *Antibiotics*, 11(6): 718.
- Lima CDA (2019). Physiological studies of co-cultivating *Candida albicans* or *Candida glabrata* in the presence of *Lactobacillus reuterii*. *MSc thesis. Institute for Bioengineering and Biosciences, Instituto Superior Técnico Av. Rovisco Pais 1, Lisboa, Portugal.*
- García-Gamboa R, Domínguez-Simi M, Gradilla-Hernández MS, Bravo J, Moya A, Ruiz-Álvarez B, González-Avila M (2022). Anticandidal and Antibiofilm Effect of Synbiotics including Probiotics and Inulin-Type Fructans. *Antibiotics*, 11(8): 1135.
- García-Hernández Y, Pérez-Sánchez T, Boucourt R, Balcázar JL, Nicoli JR, Moreira-Silva J, Rodríguez Z, Fuertes H, Nuñez O, Albelo N, Halaihel N (2016). Isolation, characterization and evaluation of probiotic lactic acid bacteria for potential use in animal production. *Res Vet Sci*, 108: 125–132.
- Hashem ZS, Hashem AS (2021). An in vitro study on the antifungal and antibiofilm activities of probiotic bacteria against *Candida* species isolated from orthodontic appliances and dental caries. *Novel Research in Microbiology Journal*, 5(2): 1176–1193.
- Jeanmonod R, Chippa V, Jeanmonod D (2024). Vaginal Candidiasis. *StatPearls*.
- Magnusson J (2003). Antifungal activity of lactic acid bacteria. *Doctor's dissertation. Swedish University of Agricultural Sciences.*
- Phú NT, Liên NT (2019). ĐÁNH GIÁ TIỀM NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA VI KHUẨN ACID LACTIC PHÂN LẬP TỪ SỮA MẸ VÀ PHÂN TRỂ EM. *Tạp Chí Khoa Học Trường Đại Học Cần Thơ*, 55(2): 41–48.
- Vazquez-Munoz R, Dongari-Bagtzoglou A (2021). Anticandidal Activities by *Lactobacillus* Species: An Update on Mechanisms of Action. *Frontiers in Oral Health*, 2: 689382.

ISOLATION, SELECTION OF LACTIC ACID BACTERIA STRAINS AND EVALUATION OF THEIR ANTIFUNGAL ACTIVITY AGAINST *CANDIDA ALBICANS*

Le Phuong Linh¹, Ho Thi Quynh¹, Le Sy Phan Anh², Le Thi Hai Yen¹, Nguyen Thanh Hoa^{1*}

¹School of Chemistry and Life Sciences, Hanoi University of Science and Technology

²Faculty of Biology, Hanoi University of Science

SUMMARY

The research focused on isolating and selecting of lactic acid bacteria from chicken intestines obtained from Hoang Mai market, Hanoi and evaluating their antagonistic effect on the opportunistic pathogen *Candida albicans*. The antagonistic activity of the isolated strains was assessed using the dual agar overlay method, co – culture technique, and the cell – free supernatants (CFS) was also used to evaluate the ability to inhibit biofilm formation of *Candida albicans*. The results showed that 6 strains of lactic acid bacteria were isolated based on color and size of colony morphology and size of the calcium solubilization. All 6 strains exhibited promising antifungal results, with strain 1.1 demonstrating the strongest activity. Through 16S rRNA sequencing analysis, the strain 1.1 was most closely related to *Lactobacillus pentosus*. The experimental results indicate the biotechnological potential of using lactic acid bacteria in preventing *Candida* fungal infections.

Keywords: *Candida albicans*, antifungal, LAB, isolation, lactic acid bacteria.

* Author for correspondence: Tel: 0374869808; Email: hoa.nguyenthanh@hust.edu.vn