



## Bài báo nghiên cứu

# SÀNG LỌC, TUYỂN CHỌN BỘ CHỦNG VI KHUẨN LACTIC CÓ KHẢ NĂNG KHÁNG *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* KHÁNG METHICILLIN (MRSA)

*Nguyễn Tuyên Yên\**, *Nguyễn Thúy Hương*

Bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Bách khoa – ĐHQG TP HCM

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Tuyên Yên – Email: [tuyenyen1995@gmail.com](mailto:tuyenyen1995@gmail.com)

Ngày nhận bài: 26-11-2019; ngày nhận bài sửa: 09-12-2019; ngày duyệt đăng: 19-12-2019

## TÓM TẮT

*Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA) được mô tả có một khả năng đáp ứng nhanh chóng với từng nhóm kháng sinh mới với sự phát triển một cơ chế đề kháng, từ penicillin và methicillin, đến vancomycin và teicoplanin, và cho đến gần nhất là linezolid và daptomycin. Trong nghiên cứu này, từ bộ chủng vi khuẩn lactic (LAB), chúng tôi sàng lọc và tuyển chọn ra các chủng có hoạt tính kháng MRSA bằng phương pháp khuếch tán qua giếng thạch. Từ các chủng được chọn, tiến hành khảo sát các yếu tố kháng khuẩn bằng phương pháp loại suy. Kết quả cho thấy bacteriocin đóng vai trò chủ đạo trong dịch kháng khuẩn. Một chủng có hoạt tính mạnh nhất trong các chủng tuyển chọn dùng để nghiên cứu quá trình nuôi cấy đồng thời mô phỏng hoạt động trong môi trường dạ dày nhân tạo SGJ với các điều kiện tương tự như trong dạ dày trên hệ thống fermenter BIOFLO. Kết quả quan sát dưới kính hiển vi điện tử cho thấy chủng này có khả năng ức chế hình thành biofilm của MRSA. Chủng tuyển chọn được định danh là *Lactobacillus rhamnosus*.

**Từ khóa:** *Staphylococcus aureus*; MRSA; probiotic; *Lactobacillus rhamnosus*

## 1. Giới thiệu

*Staphylococcus aureus* kháng methicillin (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA) là bằng chứng cho sự tiến hóa thích nghi của vi khuẩn trong thời đại kháng sinh. Mặc dù, chủ yếu được phân lập từ môi trường bệnh viện, các chủng MRSA hiện đã phát triển ra môi trường xung quanh (Ahmed, & Bukhari, 2007). MRSA có thể gây ra một loạt các trường hợp nhiễm trùng, phổ biến nhất là nhiễm trùng da và mô mềm, sau đó là nhiễm trùng xâm nhiễm như viêm tủy xương, viêm màng não, viêm phổi, viêm đường tiêu hóa (Abdul, Siddiqui, & Koirala, 2018). Với việc tiếp nhận nhiều cơ chế đề kháng kháng sinh đa dạng, MRSA là một vấn đề sức khỏe cộng đồng đáng quan tâm trên toàn thế giới, gây ra bệnh tật và tử vong đáng kể và làm chi phí chăm sóc sức khỏe tăng cao. Chế phẩm từ vi sinh vật, cụ thể là probiotic là một trong những giải pháp được quan tâm và nghiên cứu. Giải pháp này tận dụng khả năng sinh trưởng và sản sinh các hợp chất kháng khuẩn của vi

---

**Cite this article as:** Nguyen Tuyen Yen, & Nguyen Thuy Huong (2019). Screening and selecting lactic acid bacteria strain resisting methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 16(12), 1065-1073.

khuẩn; vì vậy, không những vi khuẩn này giúp phòng ngừa mà chúng còn có khả năng ức chế hay tiêu diệt các vi sinh vật gây bệnh. Barbara Karska-Wysocki (2010) tiến hành khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của vi khuẩn lactic (LAB) với MRSA từ 10 chủng phân lập từ lâm sàng, cũng như với chủng thông thường *Staphylococcus aureus* ATCC43300. Kết quả cho thấy các chủng MRSA phân lập từ lâm sàng nhạy cảm với các hoạt chất kháng khuẩn từ LAB. Trong khảo sát này, tác giả cũng tìm thấy sự cộng hưởng tác dụng kháng khuẩn ở hai chủng LAB (*L.acidophilus* CL1285 và *L.casei* LBC80R), với tỉ lệ kết hợp hai chủng LAB phù hợp, kết quả cho thấy có thể loại bỏ 99% MRSA sau 24h ủ ở 37°C. Tác giả Alebiosu, Adetoye và Ayeni (2017) thực hiện khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của bộ chủng LAB trên hàng loạt các vi khuẩn gây bệnh trong đó có MRSA, kết quả cho thấy dịch lên men đã loại sinh khối của chủng *L.fermentum* 008 và *L.plantarum* 9 có khả năng kháng MRSA với vùng ức chế lần lượt là 11 và 13mm. Hai chủng này sau đó được tiến hành khảo sát nuôi cấy đồng thời với MRSA, kết quả cho thấy MRSA bị ức chế hoàn toàn sau 72h. Một khả năng tiềm năng của vi khuẩn lactic là sản xuất bacteriocin. Bacteriocin có hoạt tính diệt khuẩn, đặc hiệu với tế bào prokaryote, và dễ dàng dùng các kĩ thuật sinh học phân tử nhằm gia tăng khả năng nhằm vào mục tiêu. Ngoài ra, bacteriocin có thể ứng dụng như một thuốc đặc hiệu với các vi khuẩn gây bệnh đặc trưng mà không ảnh hưởng đến hệ vi sinh vật có lợi. Tác giả Okuda cùng các cộng sự (2013) cũng đánh giá khả năng kháng khuẩn của nisin, nukacin ISK-1, lacticin Q chống lại biofilm của MRSA. Nukacin ISK-1 là một lantibiotic thuộc nhóm II, trong khi lacticin Q có phổ rộng và được xếp vào thành viên mới của nhóm II bacteriocin. Kết quả cho thấy trong khi kháng sinh vancomycin không hiệu quả trên biofilm của MRSA, lacticin Q và nisin cho thấy hoạt tính diệt khuẩn, nghiên cứu chỉ ra rằng bacteriocin làm hình thành các lỗ và dòng chảy ATP từ biofilm và đây là cơ chế quan trọng trong việc nhằm vào biofilm của MRSA.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sàng lọc và tuyển chọn bộ chủng LAB có khả năng kháng MRSA, đồng thời khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của chủng tuyển chọn và sự ức chế lên biofilm chủng gây bệnh.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bộ chủng vi khuẩn lactic: 29 chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ phân su và kefir, đã được lưu giữ và bảo quản ở Phòng Thí nghiệm Bộ môn Công nghệ Sinh học – Trường Đại học Bách khoa – ĐHQG TP HCM.

Vi sinh vật chỉ thị: *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA) có đặc điểm kháng với: Penicillin, Cefoxitin, Erythromycin, Clindamycin từ Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Sàng lọc và tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có hoạt tính kháng mạnh

Chủng vi khuẩn lactic được hoạt hóa trên môi trường MRS trong 24h ở 37°C. Sàng lọc khả năng kháng *Staphylococcus aureus* bằng phương pháp khuếch tán qua giếng thạch trên

môi trường BHI, ủ ở nhiệt độ 37°C trong 24h. Sau 24h, đọc kết quả thu được. Hoạt tính kháng của các chủng vi khuẩn lactic được xác định bằng đường kính vòng kháng khuẩn xung quanh giếng thạch trừ cho đường kính miệng giếng (Moulay, Balouiri, & Ibnsouda, 2016).

2.2.2. *Khảo sát các yếu tố kháng khuẩn của các chủng tuyển chọn*

Khảo sát các yếu tố kháng khuẩn của các chủng vi khuẩn lactic đã tuyển chọn qua phương pháp loại suy thành phần kháng khuẩn. Dịch kháng khuẩn sẽ được xử lý để loại bỏ từng yếu tố kháng khuẩn. Từ đó, có thể xác định được các thành phần kháng khuẩn có mặt mà vi khuẩn khảo sát sản sinh. Các chủng vi khuẩn đã tuyển chọn được nuôi cấy trong môi trường MRS trong 24h ở 37°C. Các mẫu dịch chiết được khảo sát được lần lượt loại các yếu tố kháng khuẩn bao gồm: sinh khối, nồng độ acid, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, bacteriocin và mẫu đối chứng âm (môi trường MRS), mẫu đối chứng dương (vancomycin). Thực hiện khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết bằng phương pháp khuếch tán qua giếng thạch. Chi tiết phương pháp thực hiện thể hiện qua Bảng 1.

**Bảng 1.** *Khảo sát các yếu tố kháng khuẩn*

Giếng	Dịch bơm (150 µl/giếng)	Cách thực hiện	Mục đích
A	Dịch vi khuẩn lactic sau tăng sinh	Vi khuẩn được tăng sinh trong môi trường MRS trong 24 giờ	Kiểm tra sự ức chế trực tiếp của vi khuẩn và gián tiếp của các yếu tố khác
B	Dịch li tâm	Dịch A li tâm với tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút, loại bỏ sinh khối thu nhận dịch nổi, lọc màng vô khuẩn (0,2 µm)	Kiểm tra sự ức chế sau khi loại sinh khối tế bào sống
C	Dịch li tâm có pH7	Dịch B điều chỉnh pH7 bằng dung dịch NaOH 1M	Kiểm tra sự ức chế sau khi loại bỏ acid hữu cơ
D	Dịch li tâm đã loại bỏ protein	Dịch C bổ sung proteinase K (10 µg/ml)	Kiểm tra sự ức chế sau khi loại bỏ acid lactic và bacteriocin
G	Chứng âm (môi trường MRS)	Môi trường MRS lỏng	Đối chứng
H	Chứng dương (Vancomycin đối với MRSA)	Sử dụng dung dịch pha loãng ở nồng độ 10µg/ml	Hiện đang là thuốc điều trị MRSA

Từ các chủng có khả năng kháng MRSA, phân tích các yếu tố kháng khuẩn để chọn 1 chủng có ưu thế nhất, tiến hành gởi định danh cho khảo sát tiếp theo.

Chủng tuyển chọn được gửi định danh tại Công ti Nam Khoa Biotek bằng kỹ thuật giải trình tự gen 16S.

2.2.3. *Khảo sát quá trình nuôi cấy đồng thời, mô phỏng hoạt động trong môi trường dạ dày*

Nhằm khảo sát kháng MRSA, chủng tuyển chọn và MRSA được nuôi cấy đồng thời trong cùng môi trường dịch dạ dày nhân tạo SGJ (simulated gastric juice), đồng thời nuôi cấy riêng lẻ chủng tuyển chọn và MRSA làm đối chứng. Để mô phỏng gần thực tế điều kiện trong dạ dày, thí nghiệm được tiến hành trên hệ thống fermenter BIOFLO với các thông số: nhiệt độ 37°C, pH2.5, vi khuẩn hiếu khí, tỉ lệ 2 chủng trong nuôi cấy đồng thời là 1:1.

Xác định mật độ 2 chủng vi khuẩn qua phương pháp đếm khuẩn lạc với thời điểm theo dõi ở 0h, 6h, 12h, 18h và 24h.

Phân tích hình ảnh vi thể dưới kính hiển vi điện tử SEM. Tại các mốc thời điểm nuôi cấy 24h, 36h và 48h, chụp hình SEM của quá trình nuôi cấy đồng thời so sánh với đối chứng khi nuôi cấy MRSA riêng lẻ. Phân tích và so sánh sự hình thành biofilm từng thời điểm trên.

**3. Kết quả và thảo luận**

**3.1. Sàng lọc–tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có hoạt tính kháng mạnh**

Từ 29 chủng, trong đó 16 chủng phân lập từ kefir (được kí hiệu từ K1 đến K16) và 13 chủng phân lập từ phân su trẻ sơ sinh (kí hiệu từ S1 đến S13), theo quy ước của Herna’ndez (2005) chủng lactic có hoạt tính kháng mạnh khi có đường kính vòng kháng khuẩn  $\geq 15$ mm, qua sàng lọc bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch, tuyển chọn được 6 chủng vi khuẩn lactic có hoạt tính kháng mạnh với MRSA. Đó là các chủng: K3, K9, K10, K15, S11 và S13.

Để kiểm tra bản chất kháng khuẩn, thí nghiệm loại suy thành phần kháng khuẩn được tiến hành trên 6 chủng tuyển chọn trên.

**3.2. Khảo sát thành phần kháng khuẩn qua phương pháp loại suy**

Theo Pessione (2012), ngoài việc cạnh tranh dinh dưỡng với các vi khuẩn đối kháng, vi khuẩn lactic còn sản sinh ra các hợp chất kháng khuẩn bao gồm các acid hữu cơ (acid lactic, acid acetic, acid propionic), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> và bacteriocin. Việc thực hiện phương pháp loại suy thành phần kháng khuẩn nhằm xác định các yếu tố kháng khuẩn của chủng vi khuẩn khảo sát.

**Bảng 2. Kết quả loại suy của chủng tuyển chọn**

Chủng tuyển chọn	Đường kính vùng kháng khuẩn (D-d) (mm)			
	Dịch huyền phù (A)	Loại tế bào (B)	Loại acid (C)	Xử lí với Bacteriocin (D)
K3	15,67±0,58	15,33±0,58	3,67±0,58	0±0
K9	16,33±0,58	14,33±0,58	10,33±0,58	0±0
K10	15±0	14±0	8±1	0±0
K15	15±0	14±0	4,33±0,58	0±0
<b>S11</b>	<b>16,80±1,10</b>	<b>13,5±0,71</b>	<b>9,67±0,58</b>	<b>0±0</b>
S13	16±0	13,33±0,58	3,33±0,58	0±0

(G) Đối chứng âm: 0±0

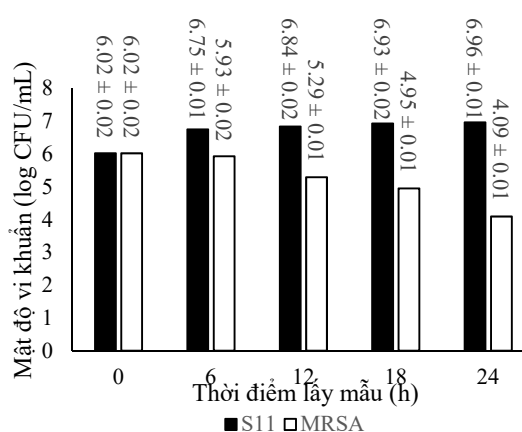
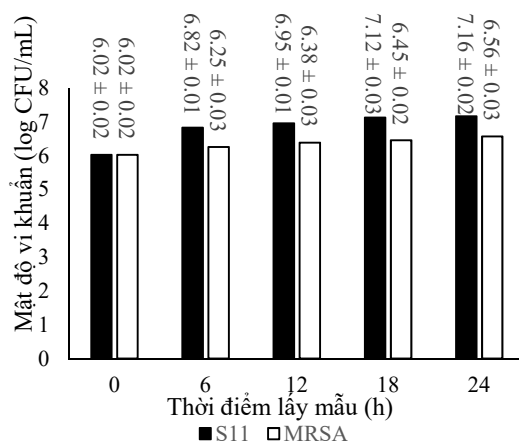
(H) Đối chứng dương: 16,02±0,55

Từ kết quả loại suy cho thấy, các chủng K3, K9, K10, K15, S11 và S13 đối kháng với chủng MRSA qua các thành phần kháng khuẩn tồn tại trong dịch huyền phù. Ở các chủng tuyển chọn, đường kính vùng kháng khuẩn của dịch huyền phù là 15-17mm, sau khi loại tế bào sống giảm còn 13-16mm. Khi loại thành phần các acid hữu cơ, đường kính vùng kháng khuẩn của các chủng này giảm mạnh xuống còn 3-11mm, và sau khi loại bacteriocin, không còn tìm thấy hoạt tính kháng khuẩn. Điều này cho thấy thành phần kháng khuẩn của dịch huyền phù bao gồm nhiều yếu tố kháng khuẩn như tế bào sống, acid hữu cơ và bacteriocin, trong đó acid và bacteriocin đóng vai trò chủ đạo. Trong đó, yếu tố bacteriocin của chủng K9, K10 và S11 có đường kính vùng kháng khuẩn lớn (8-10mm). Chủng S11 có đường kính vùng kháng khuẩn của dịch huyền phù lớn nhất (16,8mm), kết quả này rất khả quan, theo nghiên cứu mới nhất của Jinal Bholra và Rama Bhadeka (2019) về sự đối kháng giữa LAB và tụ cầu khuẩn kháng kháng sinh, đường kính vòng kháng khuẩn lớn nhất của một chủng LAB đơn lẻ lên vi khuẩn chỉ thị là MRSA chỉ dừng lại ở  $13,6 \pm 0,50$  (*L. plantarum*). Do đó, chủng S11 được chọn để tiến hành các khảo sát tiếp theo.

Qua phân tích kết quả loại suy các yếu tố kháng khuẩn và so sánh với đối chứng dương là thuốc điều trị MRSA hiện nay, ưu thế thuộc về 2 chủng S11 và K9. Hoạt tính kháng khuẩn của 2 chủng này khác biệt không có ý nghĩa, nhưng nguồn gốc 2 chủng có khác nhau. S11 có nguồn gốc từ người (phân su trẻ sơ sinh) và K9 có nguồn gốc từ thực phẩm (kefir). Để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo sâu hơn, chúng tôi chọn chủng S11 vừa có ưu thế hơn vừa có nguồn gốc từ người để tiến hành định danh bằng phương pháp giải trình tự 16SDNA. Kết quả định danh xác định là chủng *Lactobacillus rhamnosus* với độ tương đồng 100%.

### 3.3. Khảo sát nuôi cấy đồng thời

Trong thí nghiệm này, đề tài tiến hành nuôi cấy riêng lẻ chủng S11 (*L.rhamnosus*) và MRSA để đánh giá được sự phát triển của từng chủng và nuôi cấy đồng thời 2 chủng: vi khuẩn lactic S11 (*L.rhamnosus*) và MRSA, từ đó có thể khảo sát tương tác giữa 2 chủng qua theo dõi mật độ vi khuẩn. Đề tài thiết kế với tỉ lệ giống *L.rhamnosus*: MRSA = 1:1 với mục đích khảo sát sự phát triển của 2 chủng khi nuôi cấy đồng thời. Trên thực tế, mật độ, tỉ lệ của MRSA thấp hơn rất nhiều so với tỉ lệ 1:1 vì chủng vi khuẩn gây bệnh nên số lượng sẽ không đạt đến mức cao như vậy. Trong giới hạn của đề tài, tỉ lệ này được dùng để khảo sát mô phỏng cho quá trình tương tác giữa 2 chủng.



**Hình 1.** Mật độ chủng S11 (*L.rhamnosus*) và MRSA nuôi cấy riêng lẻ trong môi trường giả lập dạ dày

**Hình 2.** Mật độ chủng S11 (*L.rhamnosus*) và MRSA qua quá trình nuôi cấy đồng thời với tỉ lệ 1:1

Tại thí nghiệm nuôi cấy đồng thời trong môi trường SGJ, nồng độ ban đầu của từng chủng là 6,02 log CFU/mL, sau 24h nồng độ chủng *L.rhamnosus* tăng lên 6,96 log CFU/mL nhưng vẫn thấp hơn so với thí nghiệm nuôi cấy riêng lẻ, nồng độ *L.rhamnosus* là 7,16 log CFU/mL. Mật độ *L.rhamnosus* nuôi cấy đồng thời với MRSA có tăng nhưng ít hơn khi nuôi cấy riêng lẻ là vì phải cạnh tranh dinh dưỡng với MRSA.

Trong quá trình nuôi cấy riêng lẻ, nồng độ MRSA từ 6,02 log CFU/ml tại thời điểm ban đầu tăng lên 6,56 log CFU/mL do được phát triển trong môi trường không có khuẩn cạnh tranh. Ngược lại, mật độ của MRSA tại quá trình nuôi cấy đồng thời giảm xuống gần 2 log CFU/mL (từ 6,02 xuống 4,09 log CFU/mL). Điều này giải thích do sự có mặt của chủng *L.rhamnosus*. Vi khuẩn lactic này sinh trưởng mạnh, cạnh tranh về mật dinh dưỡng trong môi trường đối với MRSA giúp chúng gia tăng mật độ sau 24h nuôi cấy (từ 6,02 lên 6,96 log CFU/mL). Ngoài ra, hoạt tính kháng khuẩn mà chủng *L.rhamnosus* sản sinh cũng góp phần ức chế quá trình sinh trưởng của MRSA. Vì vậy, có thể kết luận chủng *L.rhamnosus* có khả năng ức chế sinh trưởng của MRSA trong môi trường SGJ và chủng *L.rhamnosus* có tiềm năng ứng dụng tạo chế phẩm probiotic vì chúng là vi sinh vật đường ruột có nguồn gốc từ người, sinh trưởng và phát triển tốt trong môi trường dịch dạ dày. Trong một nghiên cứu trước đây của Nieke Westerik và cộng sự (2018), *L.rhamnosus* cũng được biết đến với công dụng thay thế thuốc kháng sinh trong nhiễm trùng tiết niệu nhờ khả năng cạnh tranh tốt với vi khuẩn gây bệnh, an toàn trong sử dụng kể cả với phụ nữ có thai (Nieke, Kort, Sybesma & Reid, 2018).

### 3.4. Khảo sát khả năng ức chế hình thành biofilm qua phân tích hình ảnh

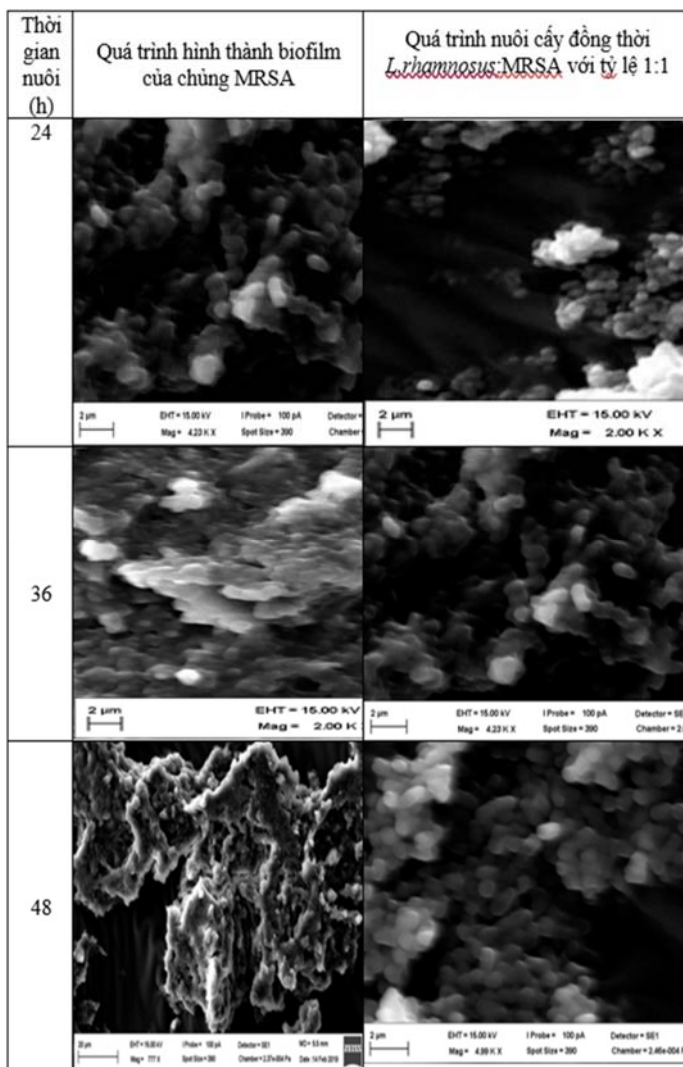
Biofilm có vai trò bảo vệ vật lí và hóa học cũng như bảo vệ vi khuẩn khỏi các hợp chất kháng khuẩn. Tác dụng của vi khuẩn lactic với sự bám dính của các tế bào MRSA là một trong những mục tiêu được quan tâm trong việc phá vỡ các giai đoạn ban đầu hình thành

biofilm (Field et al., 2018). Phân tích hình ảnh dưới kính hiển vi điện tử cho thấy quá trình hình thành biofilm của mẫu MRSA đơn lẻ và mẫu MRSA nuôi cấy đồng thời chủng *L.rhamnosus* tỉ lệ 1:1 trong khảo sát trên (Mục 3.3).

Kết quả quan sát cho thấy đối với mẫu tế bào MRSA đơn lẻ, sau 24h các tế bào bắt đầu liên kết với nhau thành cụm tế bào liên kết chặt chẽ, sau 36h các cụm tế bào này bám dính lên giá thể tạo nên cấu trúc ổn định cho biofilm, đến 48h, biofilm phát triển hoàn toàn. Ở mẫu nuôi cấy đồng thời *L.rhamnosus* và MRSA, sau 24h vẫn xuất hiện các cụm tế bào, nhưng không thấy có sự liên kết thành màng biofilm sau 36h và 48h.

Từ đó, có thể chỉ ra rằng, việc bổ sung dịch chiết chủng *L.rhamnosus* có tác dụng làm chậm quá trình hình thành biofilm hoàn chỉnh. Cụ thể hơn, các hợp chất mà chủng *L.rhamnosus* sản sinh đã làm giảm đi sự bám dính của các tế bào MRSA, từ đó khiến cho biofilm khó được hình thành. Trong nghiên cứu của Pimentel-Filho cùng các cộng sự (2014) báo cáo rằng, nisin và bovicin làm cho bề mặt ưa nước hơn và sự thay đổi năng lượng trên bề mặt giữa polystyren và vi khuẩn làm ngăn chặn sự bám dính. Vì vậy, việc sửa đổi tính kỵ nước của bề mặt phi sinh học cũng như bề mặt vi khuẩn nhờ bacteriocin có thể cản trở giai đoạn bám dính trong quá trình hình thành biofilm.

Kết quả phân tích hình ảnh cho thấy, chủng *L.rhamnosus* có tiềm năng ức chế hình thành biofilm.



Hình 3. Quá trình phát triển biofilm của MRSA

#### 4. Kết luận

Trong bối cảnh MRSA ngày càng kháng với nhiều loại thuốc kháng sinh, nghiên cứu về khả năng kháng với MRSA của chủng *L.rhamnosus* có tiềm năng ứng dụng cao, thay thế cho chiến lược điều trị bằng kháng sinh liều cao và kháng sinh thế hệ mới hiện nay. Cụ thể, khảo sát in vitro cho thấy hoạt tính kháng khuẩn cao, khảo sát trên mô hình mô phỏng khi nuôi cấy đồng thời cho thấy có tác dụng làm giảm mật số MRSA sau 24h và quan sát dưới kính hiển vi điện tử cho thấy chủng này có khả năng ức chế hình thành biofilm của MRSA. Từ đó, *L.rhamnosus* có tiềm năng hỗ trợ điều trị và phòng ngừa trường hợp nhiễm MRSA.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdul, Siddiqui, H., & Koirala, J. (2018). *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)*.
- Alebiosu, K. M., Adetoye, A. & Ayeni, F.A. (2017). Antimicrobial activities of lactic acid bacteria against *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia vermicola*, *Alcaligenes faecalis* and methicillin resistant *S. aureus*. *West African Journal of Pharmacy*, 28(2), 132-142.
- Ahmed, S., & Bukhari, S. Z. (2007). Prevalence of methicillin resistance among *Staphylococcus aureus* isolates in Pakistan and its clinical outcome. *Hospital Infection journal*, 67(1), 101-102.
- Bazo, M., Karska-Wysocki, B., & Smoragiewicz, W. (2010). Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microbiological Research*, 165(8), 674-686.
- Cardell, E., Zarate, V., & Hernandez, D. (2005). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF711, a bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus plantarum* TF711. *Journal of Applied Microbiology*, 99(1), 77-84.
- Field, D., Mathur, H., Mary C. Rea, Paul D. Cotter, Hill, C., & Paul, R. P. (2018). *Fighting biofilms with lantibiotics and other groups of bacteriocins*. *Biofilms and Microbiomes*.
- Jinal, B., & Bhadeka, R. (2019). In vitro synergistic activity of lactic acid bacteria against multi-drug resistant staphylococci. *BMC Complement Altern Med.*, 19, 70.
- Moulay, S., Balouiri, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.
- Nieke, W., Kort, R., Sybesma, W., & Reid, G. (2018). *Lactobacillus rhamnosus* Probiotic Food as a Tool for Empowerment Across the Value Chain in Africa. *Front Microbiol.*, 9, 1501.
- Okuda, K., Zendo, T., Sugimoto, S., Iwase, T., Tajima, A., Yamada, S., Sonomoto, K., & Mizunoe, Y. (2013). Effects of bacteriocins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. *Antimicrob Agents Chemother*, 57(11), 5572-5579.
- Pimentel-Filho Nde, Martins, M. C., Nogueira, G. B., Mantovani, H. C., & Vanetti, M. C. (2014). Bovicin HC5 and nisin reduce *Staphylococcus aureus* adhesion to polystyrene and change the hydrophobicity profile and Gibbs free energy of adhesion. *International Journal of Food Microbiology*, 190, 1-8.



**SCREENING AND SELECTING LACTIC ACID BACTERIA STRAIN RESISTING  
METHICILLIN RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA)**

**Nguyen Tuyen Yen\*, Nguyen Thuy Huong**

*Department of Biotechnology, Ho Chi Minh City University of Technology – VNU-HCM*

*\*Corresponding author: Nguyen Tuyen Yen – Email: tuyenyen1995@gmail.com*

*Received: November 26, 2019; Revised: December 09, 2019; Accepted: December 19, 2019*

**ABSTRACT**

*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) has been described as having a rapid response to each new class of antibiotics with the development of a resistance mechanism, from penicillin and methicillin to vancomycin and teicoplanin, and, to the nearest, linezolid and daptomycin. In this study, from lactic acid bacteria (LAB) strains, strains having the most effective resistance to MRSA were selected by the wells diffusion method. From the selected strains, analogizing antibacterial factors was applied to investigate its mechanism. The results show that bacteriocin plays a key role in antibacterial fluid. A strain with the strongest activity in the selected strains was used to study the effectiveness between the selected strain and MRSA by culturing in a simulated gastric juice medium on the BIOFLO fermenter system with the same condition as human stomach. Observations under electron microscopy shows that this strain is capable of inhibiting MRSA biofilm formation. The selected strain was identified as Lactobacillus rhamnosus.*

**Keywords:** *Staphylococcus aureus; MRSA; probiotic; Lactobacillus rhamnosus*