

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA CAO CHIẾT LÁ CÂY THUỐC THƯỢNG (*PHAEANTHUS VIETNAMENSIS* BAN)

STUDY ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THUOC THUONG LEAF EXTRACTS (*PHAEANTHUS VIETNAMENSIS* BAN)

Bùi Thị Thơ*, Trần Quang Dân, Võ Châu Tuấn

Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng¹

*Tác giả liên hệ: bttho@ued.udn.vn

(Nhận bài: 20/5/2022; Chấp nhận đăng: 11/7/2022)

Tóm tắt - Thuốc Thượng (*Phaeanthus vietnamensis* Ban) là một loài cây thuốc quý hiếm và đặc hữu của Việt Nam. Theo kinh nghiệm dân gian và y học cổ truyền, lá Thuốc Thượng có nhiều tác dụng điều trị bệnh; Tuy nhiên, các nghiên cứu đánh giá hoạt tính sinh học của nó vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu này khảo sát tác dụng kháng khuẩn của cao chiết ethanol lá cây Thuốc Thượng trên 3 chủng vi khuẩn: Tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus*, trực khuẩn mủ xanh *Pseudomonas aeruginosa* và trực khuẩn *Escherichia coli*. Cao chiết lá cây Thuốc Thượng có khả năng ức chế rất yếu lên *E. coli*. Ngược lại, cao chiết lá Thuốc Thượng có khả năng ức chế mạnh lên sự sinh trưởng và phát triển của *S. aureus* (đường kính vòng kháng khuẩn đạt 17,25 mm tại nồng độ 800 mg/ml), và *P. aeruginosa* (13,25 mm), đặc biệt mức độ tác động của cao chiết lá Thuốc Thượng đến *S. aureus* cao hơn kháng sinh đối chứng Vancomycin (8,5 mm) và tương đương với các loại kháng sinh nhạy được sử dụng trong kháng sinh đồ.

Từ khóa - *Phaenanthus vietnamensis* Ban; Thuốc Thượng; kháng khuẩn; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*

1. Đặt vấn đề

Thuốc Thượng (*Phaeanthus vietnamensis* Ban) còn có tên Thuốc mọi, Da xà lắc, Thuốc dậu cà doong, thuộc họ Na (Annonaceae) có phân bố đặc hữu ở Việt Nam. Đây là loài cây gỗ nhỏ, dạng cây bụi, cao 2 -10 m, rễ, thân và lá có vị đắng. Theo kinh nghiệm dân gian và Đông y, lá được dùng làm thuốc vì nó có tác dụng chống viêm (chữa đau mắt, mụn nhọt, chữa tiêu chảy,... ở người và gia súc); Vỏ rễ và vỏ thân cùng với lá nấu cao dán chỗ mụn nhọt sưng tấy [1]. Tuy có phổ ứng dụng cao đối với nhiều loại bệnh nhưng những nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài cây này vẫn còn hạn chế. Bên cạnh đó, cây thuốc dân gian này vẫn chưa được khai thác đúng mức, phải đối mặt với nhiều nguy cơ như việc khai thác sử dụng không bền vững, bị mai một, thất truyền và quan trọng nhất là chưa có những bằng chứng khoa học để chứng minh tính hiệu quả trong điều trị bệnh của nó.

Trong những năm gần đây ở nước ta, tình trạng kháng thuốc kháng sinh gây cản trở lớn đến việc điều trị cũng như kiểm soát bệnh truyền nhiễm tại các cơ sở y tế và trong cộng đồng. Không chỉ riêng đối với Việt Nam nó còn tác động đến tất cả các nước trên thế giới, đặc biệt là trong thời đại toàn cầu hoá hiện nay. Hiện tại, mỗi năm thế giới có khoảng 700.000 người tử vong do kháng thuốc [2]. Theo dự đoán của Tổ chức y tế thế giới (WHO) đến năm 2050, cứ 3 giây sẽ có 1 người tử vong do các siêu vi khuẩn kháng

Abstract - Thuoc Thuong (*Phaeanthus vietnamensis* Ban) is a rare herbal medicine in Vietnam. According to folk experience and traditional medicine, Thuoc Thuong has many effects on disease treatment; However, researches on its biological activity assessment are still limited. In the present study, we investigated the antibacterial activity of ethanol extract from Thuoc Thuong leaves on three strains of bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*. The result showed that, ethanol extract from Thuoc Thuong leaf has a very weak inhibitory ability on *E. coli*, meanwhile it has strong inhibitory effect on the growth and development of *S. aureus* (17.25 mm) and *P. aeruginosa* (13.25 mm). Specifically, the effect of Thuoc Thuong extract on *S. aureus* was higher than Vancomycin control antibiotics (8.5 mm), and similar to other sensitive ones in antibiogramme.

Key words - *Phaenanthus vietnamensis* Ban; Thuoc Thuong; anti-bacterial; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*

thuốc, tương đương với khoảng 10 triệu người mỗi năm. WHO xếp Việt Nam vào nhóm các nước có tỉ lệ kháng kháng sinh cao nhất thế giới [2]. Các vi sinh vật có tỷ lệ đề kháng ngày càng cao với các loại thuốc kháng sinh bao gồm: *Staphylococcus aureus* kháng methicillin, cầu khuẩn ruột kháng vancomycin, các loài *Shigella* và *Salmonella* đề kháng với nhiều loại kháng sinh, trực khuẩn gram âm đường ruột (loài *Klebsiella* và *Enterobacter*) kháng với β -lactam phổ mở rộng và *Streptococcus pneumoniae* kháng penicilin [3]. Tại Việt Nam, tác nhân vi khuẩn thường gặp trong các ca nhiễm khuẩn mắc phải bệnh viện và cả trên các bệnh nhân nhiễm khuẩn nằm tại bệnh viện là các vi khuẩn có tình trạng và khuynh hướng đa kháng (tức là kháng với ít nhất hai loại kháng sinh), kháng diện rộng (tức là chỉ còn nhạy với một loại kháng sinh) và kháng toàn bộ (tức là không còn kháng sinh nào nhạy cảm). Một số loại vi khuẩn kháng kháng sinh thường gặp là *Enterococcus faecium* kháng vancomycin, *Staphylococcus aureus* kháng methicillin, *Klebsiella pneumoniae* và *Enterobacter spp.* tiết ESBL/KPC/AmpC, *Acinetobacter baumannii* và *Pseudomonas aeruginosa* đa kháng [4].

Trong nghiên cứu này, khả năng kháng khuẩn của cao chiết lá cây Thuốc Thượng (*Phaeanthus vietnamensis* Ban) đối với 3 chủng vi khuẩn: Tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus*, trực khuẩn mủ xanh *Pseudomonas aeruginosa* và trực khuẩn *Escherichia coli* đã được nghiên cứu. Kết quả

¹ The University of Danang - University of Science and Education (Bui Thi Tho, Tran Quang Dan, Vo Chau Tuan)

sẽ cung cấp các dữ liệu khoa học đầu tiên về khả năng kháng khuẩn đa kháng của cây Thuốc Thượng, góp phần chứng minh giá trị của loài thảo dược tự nhiên này trong việc chăm sóc sức khỏe.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- *Nguyên liệu thực vật*: Đối tượng nghiên cứu là lá cây Thuốc Thượng (*Phaeanthus vietnamensis* Ban), được cung cấp bởi bệnh viện Y học Cổ truyền thành phố Đà Nẵng. Địa điểm thu hái mẫu tại huyện Quế Sơn, tỉnh Quảng Nam.

- *Chủng vi khuẩn*: Bao gồm 2 chủng vi khuẩn Gram âm: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* và 1 chủng vi khuẩn Gram dương *Staphylococcus aureus*. Các chủng vi khuẩn được cung cấp bởi Khoa Vi sinh lâm sàng - Bệnh viện C Đà Nẵng.

- *Động vật thí nghiệm*: Chuột nhắt trắng đực (6 tuần tuổi) được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế - IVAC, được nuôi trong cùng điều kiện, cùng chế độ dinh dưỡng trong suốt quá trình nghiên cứu tại phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học và Giải phẫu sinh lý người và động vật, khoa Sinh - Môi trường, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng.

2.2. Chuẩn bị cao chiết

Mẫu lá được sàng lọc để loại bỏ những lá sâu bệnh, cành nhỏ, và được làm khô tự nhiên. Sau đó, lá được nghiền mịn, rây qua mắt lưới 0,5mm và sử dụng để thí nghiệm ngay sau đó.

Mẫu lá được chiết theo phương pháp đun hồi lưu, sử dụng dung môi ethanol 70°, thời gian đun 3 giờ, nhiệt độ đun 70°C. Dung dịch thu được đem cô đặc bởi máy cô quay chân không (Stuart RE 400, Mỹ) với điều kiện 90 bar, 50°C, trong 1 giờ 45 phút. Cao lỏng được sấy khô ở nhiệt độ 60°C trong 72 giờ và bảo quản lạnh -4°C cho đến khi sử dụng.

2.3. Phương pháp nuôi cấy

Mẫu vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường MHA (Công ty Nam Khoa, Việt Nam). Đĩa petri chứa mẫu được ủ trong tủ ấm (Mermert IN55, Đức) trong vòng 24 - 48 giờ. Trên mỗi đĩa thạch môi trường MHA cấy dàn đều các vi sinh vật kiểm định khác nhau với nồng độ 10^6 CFU/ml. Mỗi đĩa petri đục 6 giếng thạch với đường kính 3 mm, trong đó 4 giếng chứa 100 μ l dịch cao chiết với các nồng độ lần lượt là 100, 200, 400, 600, 800 mg/ml, 1 giếng chứa 100 μ l DMSO 5% vô trùng (đối chứng), 1 giếng chứa kháng sinh đối chứng đặt ở trung tâm. Dịch cao chiết được hoà tan trong DMSO 0,5% và pha loãng trong nước cất vô trùng. Đĩa petri được để vào tủ lạnh 5 - 10 giờ cho kháng sinh và dịch chiết khuếch tán, sau đó ủ trong tủ ấm ở nhiệt độ 37°C. Đọc kết quả sau 24 giờ. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Đĩa kháng sinh là các đĩa giấy được tẩm kháng sinh với nồng độ theo quy định cho mỗi loại dùng thực hiện thử nghiệm kháng sinh đồ phát hiện sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn. Các loại kháng sinh (Công ty Nam Khoa, Việt Nam) được sử dụng trong thí nghiệm để thực hiện kháng sinh đồ bao gồm: Amoxicillin 20 μ g (Ac), Amikacin

30 μ g (Ak), Ampicillin 10 μ g (Am), Cefuroxime 30 μ g (Cu), Colistin 10 μ g (Co), Cefoperazone 30 μ g (Cs), Ceftriaxone 30 μ g (Cx), Cefepime 30 μ g (Cm), Ciprofloxacin 30 μ g (Ci), Cefotaxime 30 μ g (Ct), Cefoxitin 30 μ g (Cn), Clindamycin 2 μ g (cL), Ertapenem 10 μ g (En), Erythromycin 15 μ g (Er), Imipenem 10 μ g (Im), Levofloxacin 5 μ g (Lv), Meropenem 10 μ g (Me), Netilmicin 30 μ g (NI), Piperacillin 100 μ g (Pt), Vacomycin 30 μ g (Va).

Kết quả kháng khuẩn của kháng sinh được biện luận dựa vào mẫu biện luận kháng sinh đồ được cung cấp bởi Công ty Nam Khoa [5].

2.4. Phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn

Khả năng kháng vi sinh vật kiểm định của dịch cao chiết được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch của Hadacek và cộng sự [6]. Theo đó, hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được đánh giá bằng cách đo đường kính vòng ức chế vi sinh vật (ĐK) theo công thức ĐK (mm) = D - d, với D là đường kính vòng vô khuẩn và d là đường kính lỗ chứa dịch cao chiết hoặc khoanh giấy kháng sinh [7].

2.5. Phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC)

Lần lượt lấy 0,2 ml dịch vi khuẩn nồng độ 10^6 CFU/ml vào 8 ống nghiệm khác nhau chứa môi trường LB lỏng, thêm vào 0,2 ml dịch cao chiết lần lượt có nồng độ từ 100-800 mg/ml vào 8 ống nghiệm trên. Lấy 0,1 ml dịch trong mỗi ống nghiệm cấy trang lên đĩa thạch chứa môi trường LB rắn và đặt vào tủ ấm 37°C trong 24 giờ.

Đọc kết quả: Số khuẩn lạc từ 1-3 khuẩn lạc/đĩa: Đây là nồng độ tối thiểu của cao chiết ức chế sự phát triển của vi khuẩn (MIC). Những đĩa không có sự phát triển của khuẩn lạc với nồng độ gần nồng độ ức chế tối thiểu nhất được xác định là nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) [8].

3. Kết quả và thảo luận

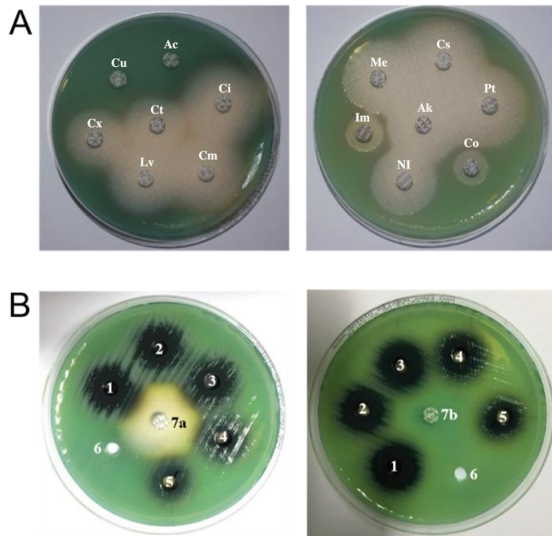
Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã sử dụng cao chiết tổng để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết trên 3 loại vi sinh vật kiểm định khác nhau. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết Thuốc Thượng được khảo sát ở các nồng độ khác nhau (100, 200, 400, 600, 800 mg/ml) trên 2 chủng vi khuẩn Gram âm: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* và 1 chủng vi khuẩn Gram dương *Staphylococcus aureus* bằng phương pháp khuếch tán qua giếng thạch. Khả năng kháng khuẩn được xác định dựa trên khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn thông qua việc quan sát và đo đường kính vòng vô khuẩn trên đĩa petri.

3.1. Tác dụng của cao chiết Thuốc Thượng lên *Pseudomonas aeruginosa*

Trong thí nghiệm này, kháng sinh đồ cho mỗi loại vi khuẩn được thực hiện để đánh giá mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn đó ở thời điểm nghiên cứu hiện tại. Ở mỗi thí nghiệm, nhóm tác giả dùng 2 loại kháng sinh khác nhau làm đối chứng. Hình 3.1A thể hiện kháng sinh đồ của *Pseudomonas aeruginosa*. Để đánh giá khả năng kháng kháng sinh của vi sinh vật kiểm định, đường kính vòng ức chế của *P. aeruginosa* được đo và đối chiếu với mẫu biện luận kháng sinh đồ của Công ty Nam Khoa [5].

Bảng 1. Khả năng kháng *Pseudomonas aeruginosa* của cao chiết Thuốc Thượng

Đối chứng	Nồng độ cao (mg/ml)	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)
-	800	13,25 ± 0,35
-	600	12,37 ± 0,53
-	400	11,00 ± 1,41
-	200	9,50 ± 0,70
-	100	7,25 ± 0,35
DMSO 5%	-	-
Meropenem (Me)	-	27,75 ± 0,35
Amoxicillin (Ac)	-	-

**Hình 1.** Khả năng kháng *Pseudomonas aeruginosa* của cao chiết Thuốc Thượng

(A) Kháng sinh đồ của *Pseudomonas aeruginosa*. (B) Cao chiết thuốc Thượng ức chế *P. aeruginosa* ở các nồng độ pha loãng khác nhau. (1) Cao chiết 800 mg/ml, (2) Cao chiết 600 mg/ml, (3) Cao chiết 400 mg/ml, (4) Cao chiết 200 mg/ml, (5) Cao chiết 100 mg/ml, (6) DMSO 5%, (7a) Kháng sinh Meropenem (Me), (7b) Kháng sinh Amoxicillin (Ac).

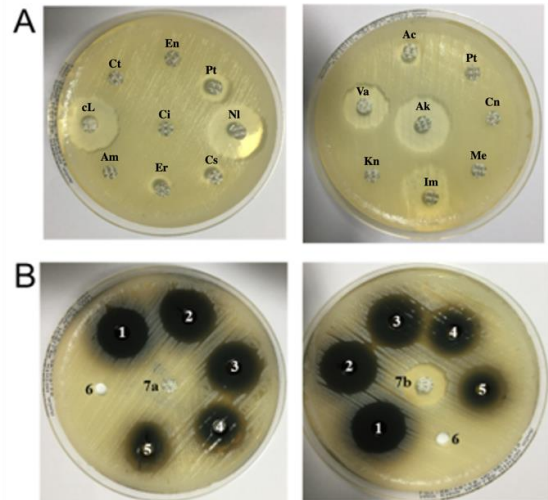
Kết quả thí nghiệm này cho thấy, mẫu *P. aeruginosa* kháng 6 loại kháng sinh bao gồm Ac, Cu, Cx, Co, Im, Ct và nhạy với các loại kháng sinh còn lại (Ak, Pt, Cs, Me, Lv, Ci, Cm, NI).

Để đánh giá mức độ tác động của cao chiết Thuốc Thượng lên *P. aeruginosa*, đồng thời so sánh mức độ tác động của cao chiết với tác động của kháng sinh dùng phổ biến hiện nay, thí nghiệm đã sử dụng 2 loại kháng sinh nhạy với *P. aeruginosa* là Meropenem (Me) và kháng sinh bị kháng Amoxicillin (Ac) làm đối chứng.

Khả năng đối kháng vi sinh vật kiểm định *P. aeruginosa* của cao chiết Thuốc Thượng được thể hiện qua Bảng 1 và Hình 1B. Kết quả cho thấy, cao chiết có khả năng ức chế *P. aeruginosa* ở các nồng độ khảo sát từ 100 mg/ml đến 800 mg/ml. Và khả năng kháng tăng dần theo chiều tăng của nồng độ cao chiết, vòng vô khuẩn đạt giá trị cao nhất tại nồng độ 800 mg/ml với đường kính đạt 13,25 mm. Trong khi đó, đường kính vòng vô khuẩn của kháng sinh đối chứng Amoxicillin là 0 mm và Meropenem đạt 27,75 mm. Kết quả này cho thấy, cao chiết Thuốc Thượng có khả năng tiêu diệt *P. aeruginosa* thấp hơn so với kháng sinh Meropenem.

3.2. Tác dụng của cao chiết Thuốc Thượng lên *Staphylococcus aureus*

Hình 2A thể hiện kháng sinh đồ của *Staphylococcus aureus*. Dựa vào mẫu biện luận kháng sinh đồ, kết quả thí nghiệm cho thấy, *S. aureus* kháng hết tất cả các loại kháng sinh được sử dụng (Ci, Ct, Er, Am, Cs, cL, En, Pt, Ac, Cn, Me, Im, Va, Ak, NI, Kn).

**Hình 2.** Khả năng kháng *Staphylococcus aureus* của cao chiết Thuốc Thượng

(A) Kháng sinh đồ của *S. aureus*. (B) Cao chiết thuốc Thượng ức chế *S. aureus* ở các nồng độ pha loãng khác nhau. (1) Cao chiết 800 mg/ml, (2) Cao chiết 600 mg/ml, (3) Cao chiết 400 mg/ml, (4) Cao chiết 200 mg/ml, (5) Cao chiết 100 mg/ml, (6) DMSO 5%, (7a) Kháng sinh Ciprofloxacin, (7b) Kháng sinh Vancomycin.

Để đánh giá mức độ tác động của cao chiết thuốc Thượng lên *S. aureus*, đồng thời cũng để so sánh tác động của cao chiết so với tác động của kháng sinh lên *S. aureus*, thí nghiệm này sử dụng kháng sinh nhạy với *S. aureus* là Vancomycin (Va) và kháng sinh bị kháng Ciprofloxacin (Ci) làm đối chứng.

Bảng 2. Khả năng kháng *Staphylococcus aureus* của cao chiết Thuốc Thượng

Đối chứng	Nồng độ cao (mg/ml)	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)
-	800	17,25 ± 0,35
-	600	16,00 ± 1,41
-	400	15,25 ± 0,35
-	200	16,25 ± 1,06
-	100	16,25 ± 1,06
DMSO 5%	-	0
Vancomycin (Va)	-	8,50 ± 1,41
Ciprofloxacin (Ci)	-	0

Khả năng kháng vi sinh vật kiểm định *S. aureus* của cao chiết Thuốc Thượng được thể hiện qua Bảng 2 và Hình 2B. Kết quả cho thấy, cao chiết có khả năng ức chế *S. aureus* ở các nồng độ khảo sát từ 100 mg/ml đến 800 mg/ml. Và khả năng kháng gần như không thay đổi theo chiều tăng của nồng độ cao chiết. Tại nồng độ cao 800 mg/ml, đường kính vòng vô khuẩn đạt giá trị đạt 17,25 mm, và ở nồng độ cao chiết thấp nhất 100 mg/ml, đường kính vòng vô khuẩn đạt giá trị đạt 16,25 mm. Trong khi đó, đường kính vòng vô

khả năng kháng sinh đối chứng Ciprofloxacin là 0 mm và Vancomycin đạt 8,5 mm, giá trị chỉ bằng một nửa so với đường kính vòng vô khuẩn của cao chiết. Kết quả này cho thấy, tác dụng kháng *S. aureus* của cao chiết thuốc Thượng cao hơn so với tác dụng kháng khuẩn của các loại kháng sinh sử dụng trong thí nghiệm này.

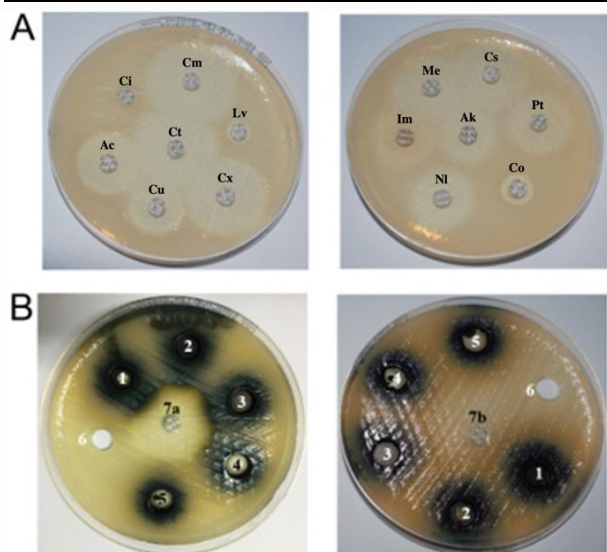
3.3. Tác dụng của cao chiết Thuốc Thượng lên *Escherichia coli*

Hình 3A thể hiện kháng sinh đồ của *Escherichia coli*. Để đánh giá khả năng kháng kháng sinh của *E. coli*, đường kính vòng ức chế của *E. coli* được đo và đối chiếu với mẫu biện luận kháng sinh đồ của Công ty Nam Khoa. Kết quả cho thấy, *E. coli* kháng mạnh trên 2 loại (Ci, Lv) và kháng yếu trên 3 loại kháng sinh (Cu, Im, Pt). Thí nghiệm sử dụng kháng sinh Meropenem (Me) và Ciprofloxacin (Ci) làm đối chứng.

Khả năng kháng vi sinh vật kiểm định *E. coli* của cao chiết Thuốc Thượng được thể hiện qua Bảng 3 và Hình 3B. Kết quả cho thấy, cao chiết có khả năng ức chế rất yếu vi sinh vật kiểm định *E. coli* ở các nồng độ khảo sát tăng dần từ 100 mg/ml đến 800 mg/ml. Ở các nồng độ cao chiết khác nhau đường kính vòng vô khuẩn dao động từ 0 - 4,75 mm. Đường kính vòng vô khuẩn của kháng sinh đối chứng Ciprofloxacin là 0 mm và Meropenem đạt 20,5 mm.

Bảng 3. Khả năng kháng *Escherichia coli* của cao chiết Thuốc Thượng

Đối chứng	Nồng độ cao (mg/ml)	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)
-	800	4,75 ± 0,35
-	600	4,00 ± 0,70
-	400	4,50 ± 0,70
-	200	4,25 ± 0,35
-	100	0
DMSO 5%	-	0
Meropenem (Me)	-	20,5 ± 0,70
Ciprofloxacin (Ci)	-	0



Hình 3. Khả năng kháng *Escherichia coli* của cao chiết Thuốc Thượng (A) Kháng sinh đồ của *E. coli*. (B) Cao chiết thuốc Thượng ức chế *E. coli* ở các nồng độ pha loãng khác nhau. (1) Cao chiết 800 mg/ml, (2) Cao chiết 600 mg/ml, (3) Cao chiết 400 mg/ml, (4) Cao chiết 200 mg/ml, (5) Cao chiết 100 mg/ml, (6) DMSO 5%, (7a) Kháng sinh Meropenem (Me), (7b) Kháng sinh Ciprofloxacin (Ci)

Bảng 4. Giá trị MIC và MBC của cao chiết Thuốc Thượng trên 3 loại vi khuẩn

Vi khuẩn	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MBC/MIC
<i>P. aeruginosa</i>	62,5	125	2
<i>S. aureus</i>	62,5	125	2
<i>E. coli</i>	250	500	2

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy, nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của cao chiết thuốc Thượng đối với *P. aeruginosa* và *S. aureus* là như nhau, lần lượt ở các nồng độ 62,5 và 125 mg/ml, đối với *E. coli* lần lượt là 250 và 500 mg/ml.

4. Bàn luận

Hiện nay, tình hình kháng kháng sinh đang trở thành vấn nạn trong ngành y tế và chăn nuôi. Bởi vi khuẩn tiến hóa và biến đổi không ngừng theo thời gian trong khi các loại thuốc kháng sinh mới không thể theo kịp tốc độ tiến hóa của vi sinh vật. Trong thực tế, việc điều trị bệnh ở các cơ sở y tế gặp nhiều khó khăn do việc sử dụng thuốc tùy tiện của bệnh nhân mà vi khuẩn đột biến thành các dạng kháng kháng sinh vô cùng phức tạp, có nhiều mẫu bệnh phẩm kháng hầu hết tất cả các loại kháng sinh. Bởi vậy, việc tìm kiếm nguồn kháng sinh thảo dược từ tự nhiên vừa hiệu quả vừa an toàn đang có xu hướng gia tăng.

Trong thí nghiệm này, cao chiết ethanol lá cây Thuốc Thượng được sử dụng để đánh giá tác động kháng khuẩn trên 3 chủng vi khuẩn bao gồm *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli*.

Kết quả cho thấy, trong 3 chủng vi khuẩn nói trên, cao chiết Thuốc Thượng tỏ ra rất hiệu quả trong việc ức chế sự sinh trưởng - phát triển của vi khuẩn tụ cầu vàng *S. aureus*. Đáng nói, đây là chủng tụ cầu kháng lại hết 15 loại kháng sinh được sử dụng trong kháng sinh đồ, cũng là các loại kháng sinh phổ biến được dùng hiện nay tại các cơ sở y tế trong nước. Ở nồng độ cao 800 mg/ml, đường kính vòng ức chế của cao chiết đạt 17,25mm, chỉ số này cao gấp đôi so với đường kính vòng ức chế của kháng sinh nhạy với *S. aureus* là Vancomycin (8,5 mm). Điều này cho thấy, Thuốc Thượng là một thảo dược đầy tiềm năng có thể thay thế kháng sinh trong việc điều trị bệnh liên quan đến vi khuẩn tụ cầu vàng đa kháng *S. aureus* hiện nay.

Bên cạnh đó, cao chiết Thuốc Thượng cũng có hiệu quả điều trị trên chủng *P. aeruginosa*. Trục khuẩn mũ xanh *P. aeruginosa* kháng 6 loại kháng sinh trong kháng sinh đồ (Ac, Cu, Cx, Co, Im, Ct), và nhạy với kháng sinh đối chứng Meropenem với đường kính đạt 27,75 mm. Trong khi đó, vòng vô khuẩn của cao chiết Thuốc Thượng đạt giá trị cao nhất tại nồng độ 800 mg/ml với đường kính là 13,25 mm. Điều này cho thấy cao chiết có tác dụng ức chế lên trục khuẩn mũ xanh đa kháng, nhưng hiệu quả ức chế thấp hơn kháng sinh Meropenem.

Trục khuẩn *Escherichia coli* trong thí nghiệm cũng kháng 5 loại kháng sinh (Ci, Lv, Cu, Im, Pt). Cao chiết Thuốc Thượng hầu như không có tác dụng ức chế lên *E. coli*.

Đến nay, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết Thuốc Thượng. Hiện chỉ có nghiên cứu của tác giả Trần Công Luận và cộng sự [9] đã

thực hiện thử nghiệm cao chloroform từ cành và lá Thuộc Thượng cho kết quả kháng khuẩn (mg/ml) trên bốn chủng *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA), *S. aureus* ATCC 25953 (MSSA) lần lượt là 6,25; 12,5; 3,125; 3,125. Cao n-butanol cho kết quả kháng khuẩn (mg/ml) trên bốn chủng vi sinh vật trên lần lượt là 6,25; 3,125; 3,125; 3,125 [8]. Kết quả của tác giả cho thấy tác dụng kháng khuẩn của cao chloroform và cao n – butanol mạnh hơn so với cao tổng ethanol trong thí nghiệm này (MIC đạt 62,5 mg/ml đối với *P.aeruginosa*, *S. aureus* và 250 mg/ml đối với *E. coli*). Tuy nhiên, việc so sánh này chỉ mang tính tương đối bởi đối tượng vi sinh vật ở 2 nghiên cứu là khác nhau. Thí nghiệm này sử dụng các chủng vi sinh đa kháng kháng sinh.

5. Kết luận

Các kết quả thí nghiệm khẳng định rằng:

- Cao chiết ethanol lá cây Thuộc Thượng ở nồng độ 100 mg/ml đến 800 mg/ml có khả năng ức chế mạnh lên sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus* và trực khuẩn mũ xanh *Pseudomonas aeruginosa* đa kháng.

- Cao chiết ethanol lá cây Thuộc Thượng ở nồng độ 100 mg/ml đến 800 mg/ml có khả năng ức chế yếu lên sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn *Escherichia coli* đa kháng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Viện khoa học công nghệ Việt Nam, Liên minh Bảo tồn thiên nhiên Quốc tế, *Sách đỏ Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và công nghệ, 2007, tr. 56.
- [2] Jim O'Neill J., "Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nation", *Review on Antimicrobial Resistance*, 2014.
- [3] Conly J., "Antimicrobial resistance in Canada", *CMAJ*, 167, 2002, pp. 885-891.
- [4] Phạm Hùng Vân, "Đề kháng kháng sinh và các cơ chế đề kháng kháng sinh hiện nay", *Thời sự Y học*, số 03, 2017, tr. 37-42.
- [5] Phạm Thái Bình, Phạm Hùng Vân, *Mẫu biên luận kháng sinh đồ*, Công ty TNHH và dịch vụ Nam Khoa, 2019.
- [6] Hadacek F., Greger H., "Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice", *Phytochem Anal.*, 11, 2000, pp 137-147.
- [7] Lương Thị Mỹ Ngân, Lê Thị Kim Lan, "Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết lá và hoa dâm bụt *Hibiscus rosa-sinensis* L. lên *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Klebsiella pneumoniae*", *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, tập 2 (số 1), 2018, tr. 19.
- [8] Lorian, V., *Antibiotics in laboratory medicine*, In J. F. Acar, & F. W. Goldstein (Eds.), *Disk susceptibility test*, (4th ed), 1995.
- [9] Trần Công Luân, Huỳnh Thị Ngọc Lan, Bùi Thanh Phong, Đặng Ngọc Phái, "Khảo sát tác dụng kháng khuẩn của các cao chiết từ cây thuốc Thượng (*Phaeanthus Vietnamensis* Ban)", *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, tập 19 (số 5), 2015, tr. 165-168.