

**ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG BÁM DÍNH VÀ KHÁNG KHUẨN
Ở MỨC ĐỘ *IN VITRO* CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI SINH VẬT CÓ TIỀM NĂNG
SỬ DỤNG LÀM PROBIOTICS**

*Hồ Lê Quỳnh Châu, Hồ Trung Thông, Nguyễn Thị Khánh Quỳnh
Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế
Trần Thị Hoài
Chi cục Thú y Thừa Thiên Huế*

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã được tiến hành nhằm đánh giá tiềm năng về khả năng bám dính, kháng *E. coli* và *B. cereus* trong điều kiện *in vitro* của 9 chủng vi sinh vật: *B. pumilus* N1, *B. pumilus* B2/1, *B. clausii* B1, *B. clausii* B2/2, *L. suntoryeus* LIII, *E. faecium* LII3/1, *B. subtilis* LII4, *L. casei* LII5/1 và nấm men *S. cerevisiae* LA5. Kết quả cho thấy tất cả các chủng đều có khả năng tự bám dính, tỉ lệ bám dính cùng chủng cao nhất ở *S. cerevisiae* LA5 và thấp nhất ở *B. clausii* B1. Vi khuẩn sinh lactic và nấm men có khả năng bám dính trong cùng chủng cao hơn so với nhóm *Bacillus*. Có 4 chủng (*B. pumilus* B2/1, *B. clausii* B2/2, *L. suntoryeus* LIII, *L. casei* LII5/1) có khả năng bám dính đồng thời với vi khuẩn *E. coli* và *B. cereus*. Tỷ lệ bám dính giữa tế bào vi sinh vật thử nghiệm với vi khuẩn *E. coli* đạt giá trị cao nhất là 82,88% (*L. casei* LII5/1). *B. pumilus* B2/1, *L. suntoryeus* LIII và *S. cerevisiae* LA5 có khả năng bám dính tốt đối với *B. cereus* (49,87%; 47,13%; 48,47%). *B. clausii* B1, *B. clausii* B2/2 và *S. cerevisiae* LA5 không ức chế 2 loại vi khuẩn *E. coli* và *B. cereus*. Chủng *B. subtilis* LII4 và *B. pumilus* B2/1 đối kháng với *E. coli* nhưng không đối kháng *B. cereus*. Chủng *E. faecium* LII3/1 và *L. suntoryeus* LIII có khả năng đối kháng mạnh nhất đối với cả *E. coli* và *B. cereus*. Các thử nghiệm *in vivo* cần được tiến hành để khẳng định mức độ ảnh hưởng của các chủng vi sinh vật này trên động vật.

Từ khóa: bám dính, kháng khuẩn, probiotics, vi sinh vật

1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, hướng nghiên cứu về probiotics cũng đã được triển khai bởi một số nhóm nghiên cứu trong nước. Nhiều chủng vi sinh vật đã và đang được phân lập, tuyển chọn tiềm năng làm probiotics. Để góp phần đánh giá tiềm năng của các chủng vi sinh vật này, nghiên cứu này đã được tiến hành nhằm đánh giá khả năng bám dính và kháng một số vi khuẩn gây bệnh ở mức độ *in vitro* của một số chủng vi sinh vật có tiềm năng sử dụng làm probiotics cho lợn, tạo nguyên liệu cho việc sản xuất các chế phẩm probiotics sau này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Các chủng vi khuẩn *Bacillus pumilus* N1, *Bacillus pumilus* B2/1, *Bacillus clausii* B1, *Bacillus clausii* B2/2, *Lactobacillus suntoryeus* LII1, *Enterococcus faecium* LII3/1, *Bacillus subtilis* LII4, *Lactobacillus casei* LII5/1 và nấm men *Saccharomyces cerevisiae* LA5 được Phòng Thí nghiệm Trung tâm, Khoa Chăn nuôi - Thú y, Trường Đại học Nông Lâm Huế cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Đánh giá khả năng bám dính của các chủng vi sinh vật

Khả năng bám dính giữa các tế bào vi sinh vật thuộc cùng một chủng (tự bám dính)

Khả năng bám dính giữa các tế bào vi sinh vật thuộc cùng 1 chủng được xác định theo phương pháp của Del Re và cs. (2000) có cải tiến theo mô tả của Kos và cs. (2003). Vi sinh vật được nuôi trong 18 giờ ở 37°C trong môi trường MRS agar (đối với nhóm vi khuẩn sinh acid lactic) hoặc môi trường NA agar (đối với nhóm vi khuẩn *Bacillus*) và Hansen agar (đối với nấm men). Sinh khối tế bào vi khuẩn được thu bằng cách ly tâm 5000 vòng/phút trong 15 phút. Tế bào vi sinh vật được rửa 2 lần và tái huyền phù trong đệm PBS sao cho nồng độ dung dịch tế bào vi khuẩn đạt khoảng 10^8 CFU/ml. Sau đó, 4 ml dịch huyền phù tế bào được trộn đều trong 10 giây. Khả năng bám dính của các tế bào trong cùng 1 chủng được xác định trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau mỗi giờ, lấy 0,1 ml dịch nổi phía trên cho vào 1 ống nghiệm khác chứa 3,9 ml PBS và xác định mật độ quang của dung dịch ở bước sóng 600nm (OD_{600}).

$$\text{Khả năng tự bám dính (\%)} = (A_0 - A_t)/A_0 \times 100$$

Trong đó: A_0 : OD_{600} của dung dịch tế bào ở thời điểm $t = 0$ giờ

A_t : OD_{600} dung dịch tế bào ở các thời điểm $t = 1, 2, 3, 4$ và 5 giờ

Khả năng bám dính giữa các chủng vi sinh vật khác nhau

Khả năng bám dính giữa các chủng vi sinh vật nghiên cứu được xác định theo mô tả của Kos và cs. (2003). Phương pháp chuẩn bị mẫu cho thử nghiệm này được tiến hành như phương pháp thử nghiệm khả năng tự bám dính. Khả năng bám dính giữa 09 chủng vi sinh vật nêu trên với nhau và với vi khuẩn kiểm định (*E. coli* và *B. cereus*) được xác định bằng cách lấy 2 ml dịch huyền phù tế bào của mỗi chủng trộn đều trong 10 giây. Ống đối chứng chứa 4 ml dịch huyền phù tế bào của từng chủng vi khuẩn riêng biệt được chuẩn bị ở cùng thời điểm. Mật độ quang ở bước sóng 600nm của các dịch huyền phù được xác định ở 2 thời điểm: ngay sau khi trộn và sau khi ủ 5 giờ ở nhiệt độ phòng. Dung dịch được đem đo OD_{600} được chuẩn bị bằng cách lấy 0,1 ml dịch nổi phía trên cho vào 1 ống nghiệm khác chứa 3,9 ml PBS. Khả năng bám dính giữa các chủng

vi sinh vật khác nhau được tính toán theo công thức của Handley và cs. (1987):

Khả năng bám dính giữa các chủng khác nhau (%) = $\frac{[(Ax - Ay)/2] - A(x+y)}{[(Ax+Ay)/2]} \times 100$

Trong đó: Ax là OD₆₀₀ của chủng vi khuẩn x ở ống đối chứng

Ay là OD₆₀₀ của chủng vi khuẩn y ở ống đối chứng

A(x+y) là OD₆₀₀ của hỗn hợp 2 chủng vi khuẩn x và y

2.2.2. Khả năng đối kháng giữa vi sinh vật thử nghiệm với vi khuẩn gây bệnh

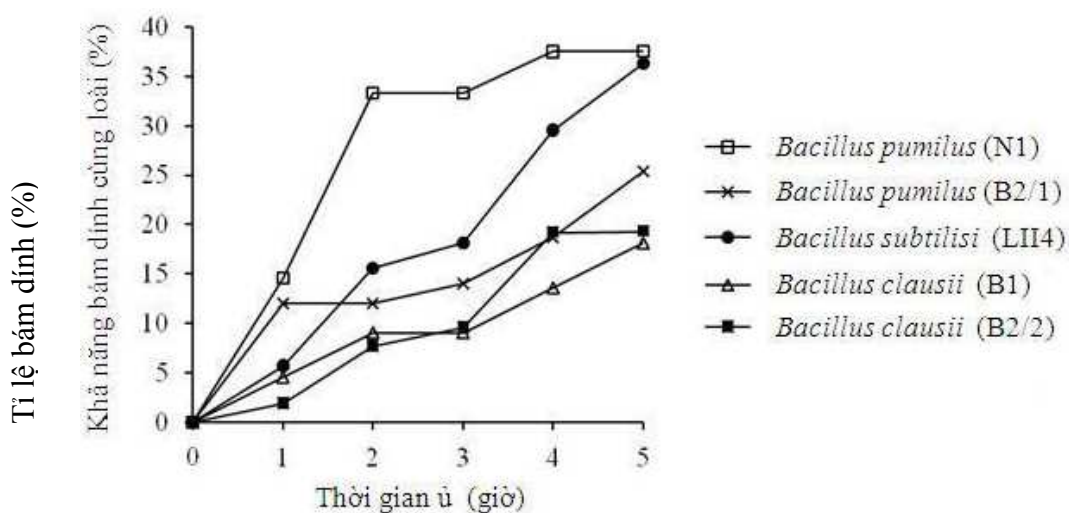
Khả năng kháng khuẩn của các chủng vi sinh vật thử nghiệm đối với các chủng vi khuẩn kiểm định (*E. coli* và *B. cereus*) được xác định theo phương pháp của De Angelis và cs. (2006), Aslim và cs. (2006). Vi sinh vật được nuôi cấy qua đêm (khoảng 16 - 18 giờ) trong môi trường lỏng trên máy lắc để đạt mật độ tế bào là 10⁸ CFU/ml. Sau đó, dung dịch tế bào vi khuẩn nuôi cấy được lọc qua màng cellulose có đường kính lỗ lọc 0,20 µm để loại bỏ hoàn toàn tế bào vi khuẩn. Các chủng vi sinh vật kiểm định (*E. coli* và *B. cereus*) có nồng độ từ 10⁶ - 10⁸ CFU/ml được cấy trải trên các đĩa môi trường NA agar với thể tích 100 µl. Sau đó, sử dụng các ống thép đã được vô trùng khoan các lỗ đường kính 5 mm trên các đĩa thạch. Dịch lọc của từng chủng vi sinh vật thử nghiệm được cho vào vào các lỗ thạch với thể tích 50 µl. Các đĩa thạch được ủ qua đêm ở 37°C. Khả năng kháng *E. coli* và *B. cereus* của các chủng vi sinh vật thử nghiệm được xác định dựa vào đường kính vòng vô khuẩn xuất hiện xung quanh lỗ thạch.

3. Kết quả và thảo luận

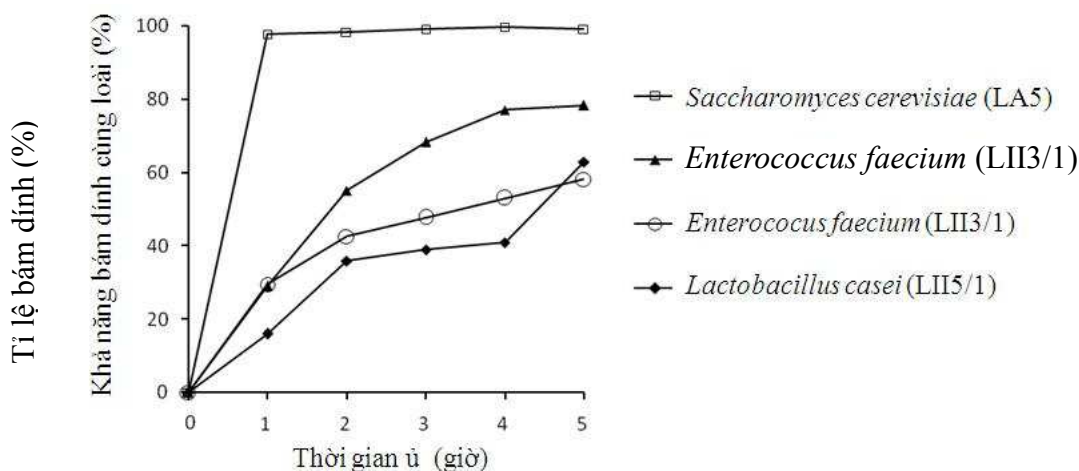
3.1. Khả năng bám dính giữa các tế bào thuộc cùng một chủng của vi sinh vật (tự bám dính)

Khả năng tự bám dính của các tế bào vi sinh vật được trình bày ở đồ thị 1 và 2. Tỷ lệ bám dính giữa các tế bào vi sinh vật thuộc cùng 1 chủng có xu hướng tăng dần theo thời gian. Tuy nhiên, khả năng tự bám dính của các chủng vi khuẩn *Bacillus* kém hơn nhiều so với các chủng vi khuẩn sinh acid lactic và nấm men. Sau 5 giờ ủ ở nhiệt độ phòng, tỷ lệ bám dính giữa các tế bào cùng chủng đạt giá trị cao nhất ở chủng *S. cerevisiae* LA5 (99,09%) và thấp nhất ở chủng *B. clausii* B1 (18,18%). Các chủng thuộc nhóm vi khuẩn sinh acid lactic có khả năng tự bám dính đạt tỷ lệ khá cao, dao động từ 58,26% - 78,40% sau 5 giờ ủ ở nhiệt độ phòng.

Kết quả này chứng tỏ:



Đồ thị 1. Khả năng bám dính trong cùng chủng của vi khuẩn chi *Bacillus*



Đồ thị 2. Khả năng bám dính trong cùng chủng của vi khuẩn sinh lactic và nấm men

3.2. Khả năng bám dính giữa các chủng vi sinh vật khác nhau

Kết quả nghiên cứu khả năng bám dính giữa các chủng vi sinh vật thử nghiệm đối với các vi khuẩn gây bệnh như *E. coli* và *B. cereus* được trình bày ở bảng 1. Trong 9 chủng vi khuẩn thử nghiệm, có 4 chủng (*B. pumilus* B2/1, *B. clausii* B2/2, *L. suntoryeus* LIII1 và *L. casei* LII5/1) có khả năng bám dính đồng thời với vi khuẩn *E. coli* và *B. cereus*. Trong đó chủng *L. suntoryeus* LIII1 có tỷ lệ bám dính với *E. coli* và *B. cereus* gần như nhau (48,84% đối với *E. coli* và 47,13% đối với *B. cereus*). Tỷ lệ bám dính giữa tế bào vi sinh vật thử nghiệm với vi khuẩn *E. coli* đạt giá trị cao nhất là 82,88% (ở chủng *L. casei* LII5/1). Chủng *B. pumilus* B2/1 có khả năng bám dính tốt nhất đối với vi khuẩn *B. cereus*, tỷ lệ bám dính đạt 49,87%. Ngược lại, tuy cùng thuộc loài *B. pumilus* nhưng các tế bào chủng N1 không có khả năng bám dính với tế bào vi khuẩn *B. cereus*. Như vậy, có thể thấy sự sai khác đáng kể về khả năng bám dính với các vi khuẩn gây bệnh giữa các chủng trong cùng 1 loài.

Bảng 1. Khả năng bám dính giữa các chủng vi sinh vật thử nghiệm đối với vi khuẩn *E. coli* và *B. cereus*

TT	Chủng vi sinh vật thử nghiệm	Khả năng bám dính (%)	
		<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>
1	<i>Bacillus pumilus</i> (N1)	0,93	-
2	<i>Bacillus pumilus</i> (B2/1)	2,29	49,87
3	<i>Bacillus clausii</i> (B1)	2,70	-
4	<i>Bacillus clausii</i> (B2/2)	7,53	2,08
5	<i>Bacillus subtilis</i> (LII4)	-	10,53
6	<i>Lactobacillus suntoryeus</i> (LII1)	48,84	47,13
7	<i>Lactobacillus casei</i> (LII5/1)	82,88	10,43
8	<i>Entorococcus faecium</i> (LII3/1)	-	19,92
9	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (LA5)	-	48,47

Ngoài ra, khả năng bám dính giữa các chủng vi sinh vật thử nghiệm với nhau cũng đã được xác định. Kết quả ở bảng 2 cho thấy hầu hết các chủng vi sinh vật thử nghiệm có khả năng bám dính với nhau, trong đó có 6 cặp vi sinh vật có khả năng bám dính đạt tỷ lệ hơn 57% (N1-LII4, N1-LII3/1, B2/1-LA5, B2/2-LA5, LII4-LA5 và LII1-LA5). Chủng *S. cerevisiae* LA5 có khả năng bám dính tốt đối với hầu hết các chủng vi sinh vật thử nghiệm (trừ *E. faecium* LII3/1). Tỷ lệ bám dính của *S. cerevisiae* LA5 đạt giá trị cao nhất đối với chủng *B. pumilus* B2/1 (76,42%). Kết quả bảng 2 cho thấy số liệu thu được của chúng tôi có nhiều điểm tương tự kết quả nghiên cứu của Kos và cs (2003).

Bảng 2. Khả năng bám dính giữa các chủng vi sinh vật thử nghiệm

Chủng vi sinh vật thử nghiệm	Khả năng bám dính (%)								
	N1	B2/1	B1	B2/2	LII4	LII1	LII5/1	LII3/1	LA5
<i>B. pumilus</i> (N1)	×	7,45	-	-	69,79	17,81	-	70,73	0,50
<i>B. pumilus</i> (B2/1)	7,45	×	-	-	7,23	23,68	19,63	23,68	76,42
<i>B. clausii</i> (B1)	-	-	×	-	-	48,24	-	28,77	12,12
<i>B. clausii</i> (B2/2)	-	-	-	×	2,24	26,50	43,69	-	62,58
<i>B. subtilis</i> (LII4)	69,79	7,23	-	2,24	×	5,47	21,93	6,88	68,31
<i>L. suntoryeus</i> (LII1)	17,81	23,68	48,24	26,50	5,47	×	41,86	45,36	57,35
<i>L. casei</i> (LII5/1)	-	19,63	-	43,69	21,93	41,86	×	-	36,84

<i>E. faecium</i> (LII3/1)	70,73	23,68	28,77	-	6,88	45,36	-	×	-
<i>S. cerevisiae</i> (LA5)	0,50	76,42	12,12	62,58	68,31	57,35	36,84	-	×

3.3. Khả năng kháng vi khuẩn *E. coli* và *B. cereus* của các chủng vi sinh vật thử nghiệm

Bảng 3. Khả năng kháng *E. coli* và *B. cereus* của các chủng vi sinh vật thử nghiệm

Chủng vi sinh vật thử nghiệm	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)					
	<i>E. coli</i>			<i>B. cereus</i>		
	10 ⁶ CFU/ml	10 ⁷ CFU/ml	10 ⁸ CFU/ml	10 ⁶ CFU/ml	10 ⁷ CFU/ml	10 ⁸ CFU/ml
<i>B. pumilus</i> (N1)	7,67 ± 0,17	-	-	-	-	-
<i>B. pumilus</i> (B2/1)	6,83 ± 0,17	6,50 ± 0,00	6,17 ± 0,17	-	-	-
<i>B. clausii</i> (B1)	-	-	-	-	-	-
<i>B. clausii</i> (B2/2)	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i> (LII4)	8,17 ± 0,44	7,00 ± 0,00	6,33 ± 0,33	-	-	-
<i>L. suntoryeus</i> (LIII1)	8,33 ± 0,33	8,00 ± 0,00	7,17 ± 0,17	8,33 ± 0,17	7,67 ± 0,33	7,33 ± 0,33
<i>L. casei</i> (LII5/1)	6,83 ± 0,17	-	-	6,50 ± 0,00	6,33 ± 0,17	6,17 ± 0,17
<i>E. faecium</i> (LII3/1)	7,67 ± 0,17	6,83 ± 0,17	6,67 ± 0,17	7,83 ± 0,17	7,67 ± 0,17	7,50 ± 0,00
<i>S. cerevisiae</i> (LA5)	-	-	-	-	-	-

Kết quả xác định khả năng kháng khuẩn của các chủng vi sinh vật thử nghiệm đối với các vi khuẩn kiểm định (*E. coli* và *B. cereus*) được trình bày ở bảng 3. Chỉ có 3/9 chủng vi sinh vật thử nghiệm hoàn toàn không có khả năng ức chế cả 2 loại vi khuẩn *E. coli* và *B. cereus* ở tất cả các nồng độ thí nghiệm, các chủng này bao gồm *B. clausii* B1, *B. clausii* B2/2, và *S. cerevisiae* LA5. Trong 9 chủng vi sinh vật thử nghiệm, có 2 chủng (*L. suntoryeus* LIII1 và *E. faecium* LII3/1) có khả năng kháng tốt với cả *E. coli* và *B. cereus* ở cả 3 mức nồng độ nêu trên. Trong đó, chủng *L. suntoryeus* LIII1 có khả năng đối kháng mạnh nhất đối với vi khuẩn *E. coli* và *B. cereus*, đường kính vòng vô khuẩn đạt 7,17 – 8,33 mm đối với *E. coli* và 7,33 – 8,33 mm đối với *B. cereus*. Sự đối kháng *E. coli* và *B. cereus* của *L. suntoryeus* LIII1 có xu hướng cao hơn sự đối kháng *E. coli* và *B. cereus* của *E. faecium* LII3/1.

Kết quả ở bảng 1 và bảng 3 cho thấy cả 3 chủng vi khuẩn thuộc nhóm sinh acid lactic (*L. suntoryeus* LIII1, *L. casei* LII5/1, *E. faecium* LII3/1) đều có khả năng bám dính

và ức chế cả 2 loài vi khuẩn kiểm định. Các đặc tính này cho thấy khả năng bám dính với các tác nhân gây bệnh của các chủng vi sinh vật thử nghiệm sẽ làm giảm tỷ lệ bám dính của tác nhân gây bệnh lên biểu mô, giảm khả năng phát triển và gây bệnh của chúng. Đồng thời, sự bám dính giữa vi sinh vật có lợi và tác nhân gây bệnh sẽ thúc đẩy các tế bào tiếp xúc gần nhau hơn, từ đó tạo điều kiện thuận lợi cho các hoạt chất có tác dụng kháng khuẩn do tế bào vi sinh vật có lợi tiết ra trong quá trình sinh trưởng tác động trực tiếp lên vi sinh vật gây bệnh, làm tăng hiệu quả bảo vệ vật chủ trước sự lây nhiễm.

4. Kết luận

Tất cả các chủng vi sinh vật thử nghiệm đều có khả năng bám dính giữa các tế bào với nhau trong cùng một chủng. Tuy vậy, khả năng này của các chủng thuộc chi *Bacillus* thấp hơn nhiều so với của các chủng vi khuẩn sinh lactic (18,18% - 37,55% so với 58,26% - 78,40%) và nấm men (99,09%). Sau 5 giờ ủ ở nhiệt độ phòng, tỉ lệ tự bám dính cao nhất đối với *S. cerevisiae* LA5 (99,09%) và thấp nhất đối với *B. clausii* B1 (18,18%). Trong cùng một loài, tỉ lệ tự bám dính của các chủng khác nhau có thể là khác nhau.

Các chủng *B. pumilus* B2/1, *B. clausii* B2/2, *L. suntoryeus* LII1 và *L. casei* LII5/1 có khả năng bám dính đồng thời với vi khuẩn *E. coli* và *B. cereus*. Các chủng *B. subtilis* LII4, *E. faecium* LII3/1 và *S. cerevisiae* LA5 hoàn toàn không bám dính với *E. coli* nhưng bám dính với *B. cereus*. Ngược lại, *B. pumilus* N1 và *B. clausii* B1 không bám dính với *B. cereus* nhưng lại bám dính với *E. coli*. Tỉ lệ bám dính của *L. suntoryeus* LII1 với *E. coli* tương tự với tỉ lệ bám dính với *B. cereus* (48,84% so với 47,13%). Tỉ lệ bám dính giữa *L. casei* LII5/1 với *E. coli* đạt cao nhất trong số 9 chủng vi sinh vật thử nghiệm (82,88%). Trong cùng loài *B. pumilus*, sự bám dính của hai chủng N1 và B2/1 đối với *E. coli* và *B. cereus* là khác nhau. Trong số 9 chủng vi sinh vật thử nghiệm, hầu hết các chủng đều có khả năng bám dính với chủng khác. Chủng *S. cerevisiae* LA5 có khả năng bám dính tốt với 7/8 chủng còn lại (trừ *E. faecium* LII3/1).

Có 3/9 chủng vi sinh vật thử nghiệm (*B. clausii* B1, *B. clausii* B2/2 và *S. cerevisiae* LA5) hoàn toàn không có khả năng ức chế *E. coli* ở cả 3 nồng độ 10^6 , 10^7 và 10^8 CFU/ml. Các chủng *E. faecium* LII3/1, *L. suntoryeus* LII1, *B. subtilis* LII4, *B. pumilus* B2/1 có khả năng ức chế *E. coli* ở cả 3 mức nồng độ 10^6 , 10^7 , 10^8 CFU/ml. Các chủng *L. casei* LII5/1 và *B. pumilus* N1 có khả năng ức chế *E. coli* nhưng chỉ ở nồng độ 10^6 CFU/ml. Chủng *E. faecium* LII3/1 và *L. suntoryeus* LII1 có khả năng ức chế mạnh *E. coli* và cả *B. cereus* ở cả 3 mức nồng độ khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aslim B and Kilic E. *Some probiotics properties of vaginal Lactobacilli isolated from healthy women*. Japanese Journal of Infectious Diseases, 59, (2006), 249-253.
2. Conway P and Kjelleberg S. Protein-mediated adhesion of *Lactobacillus fermentum* strain 737 to mouse stomach squamous epithelium. *Journal of General Microbiology*, 135, (1989), 1175-1186.
3. De Angelis M, Siragusa S, Berloco M, Caputo L, Settanni L, Alfonsi G, Amerio M, Grandi A and Gobetti M. *Selection of potential probiotic lactobacilli from pig feces to be used as additives in pelleted feeding*. *Research in Microbiology*, 157, (2006), 792-801.
4. Del Re B, Busetto A, Vignola G, Sgorbati B and Palenzona DL. *Autoaggregation and adhesion ability in a Bifidobacterium suis strain*. *Letter in Applied Microbiology*, 27, (1998), 307-310.
5. Del Re B, Sgorbati B, Miglioli M and Palenzona D. *Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of Bifidobacterium logum*. *Letter in Applied Microbiology*, 31, (2000), 438-442.
6. Handley PS, Harty DWS, Wyatt JE, Brown CR, Doran JP and Gibbs ACC. A comparison of the adhesion, coaggregation and cell-surface hydrophobicity properties of the fibrillar and fimbriate strains of *Streptococcus salivarius*. *Journal of General Microbiology*, 133, (1987), 3207-3217.
7. Kimoto H, Kurisaki J, Tsuji NM, Ohmomo S and Okamoto T. Lactococci as probiotic strains: adhesion to human enterocyte-like Caco-2 cells and tolerance to low pH and bile. *Letters in Applied Microbiology*, 29, (1999), 313-316.
8. Kos B, Suskovic J, Vukovic, Simpraga M, Frece J and Matosic. *Adhesion and aggregation ability of probiotic strain Lactobacillus acidophilus M92*. *Journal of Applied Microbiology*, 94, (2003), 981-987.
9. Mäyrä-Mäukinen A, Manninen M and Gyllenberg H. *The adherence of lactic acid bacteria to the columnar epithelial cells of pigs and calves*. *Journal of Applied Microbiology*, 55 (2), (1983), 241-245.
10. Rani B and Khetarpaul N. Probiotic fermented food mixtures: Possible applications in clinical anti-diarrhoea usage. *Nutrition and Health*, 12(2), (1998), 97-105.
11. Reid G, McGroarty JA, Angotti R and Cook RL. *Lactobacillus inhibitor production against Escherichia coli and coaggregation ability with uropathogens*. *Canadian Journal of Microbiology*, 34(3), (1988), 344-351.

12. Salminen S, Bouley C, Boultron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau MC, Roberfroid M and Rowland I. *Functional food science and gastrointestinal physiology and functional*. British Journal of Nutrition, 80, (1998), 147-171.
13. Todorov SD, Mollendorff JW, Moelich E, Muller N, Witthuhn RC and Dicks LMT. *Evaluation of potential probiotic properties of Enterococcus mundtii, its survival in Boza and in situ bacteriocin production*. Food Technology and Biotechnology, 47(2), (2009), 178-191.
14. Tuomola E, Crittenden R, Playne M, Isolauri E and Salminen S. *Quality assurance criteria for probiotics bacteria*. American Journal of Clinical Nutrition, 73, (2001), 393-398.

STUDY ON AGGREGATION ABILITY AND ANTIBACTERIAN CHARACTERISTICS IN *IN VITRO* CONDITIONS OF NINE MICROORGANISM STRAINS WITH POTENTIALS AS PROBIOTICS

*Ho Le Quynh Chau, Ho Trung Thong, Nguyen Thi Khanh Quynh
College of Agriculture and Forestry, Hue University
Tran Thi Hoai
Department of Veterinary Medicine of Thua Thien Hue Province*

SUMMARY

This study was done to evaluate the probiotic potentials through aggregation ability and inhibition to E. coli and B. cereus of 9 following microbial strains: B. pumilus N1, B. pumilus B2/1, B. clausii B1, B. clausii B2/2, L. suntoryeus LIII, E. faecium LII3/1, B. subtilis LII4, L. casei LII5/1 and S. cerevisiae LA5. The results showed that all of the tested strains had autoaggregation ability, the highest in S. cerevisiae LA5 and the lowest in B. clausii B1. The lactic acid-producing bacteria and yeast had a higher autoaggregation ability in comparison with Bacillus species. Four strains including B. pumilus B2/1, B. clausii B2/2, L. suntoryeus LIII and L. casei LII5/1 had the coaggregation ability both with E. coli and B. cereus. The highest ratio of coaggregation with E. coli was 82,88% for L. casei LII5/1. B. pumilus B2/1, L. suntoryeus LIII and S. cerevisiae LA5 had good coaggregation to B. cereus (49,87%; 47,13%; 48,47%, respectively). B. clausii B1, B. clausii B2/2 and S. cerevisiae LA5 did not inhibit the development of both E. coli and B. cereus. B. subtilis LII4 and B. pumilus B2/1 inhibited the development of E.coli but produced no effect on B. cereus. Amongst nine tested strains, E. faecium LII3/1 and L. suntoryeus LIII most strongly inhibited E. coli and B. cereus. Experiments in in vivo conditions should be done to determine effects of these microbial strains and their combinations on animals.

Key words: *aggregation, antibacterian, microorganism, probiotics.*