

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CHỦNG XẠ KHUẨN SINH KHÁNG SINH ỨC CHẾ SINH TRƯỞNG VI KHUẨN GRAM DƯƠNG

Đỗ Thị Hiền¹, Đỗ Bích Huệ², Nguyễn Mạnh Tuấn², Nguyễn Xuân Vũ^{1*}

¹Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên,

²Viện Khoa học Sự sống - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Từ 39 mẫu đất thu thập tại 2 địa điểm Núi Pháo, Đại Từ và Mỏ Sắt, Trại Cau thuộc tỉnh Thái Nguyên, chúng tôi tiến hành phân lập được 48 chủng xạ khuẩn sinh kháng sinh trong tổng số 379 chủng được lựa chọn, chiếm 12,66%. Trong số đó có 4/48 chủng (8,33%) thể hiện hoạt tính kháng cả 4 chủng vi khuẩn kiểm định (*Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6051A và *Bacillus anthracis* KEMB 211-146); 12/48 chủng (25%) có hoạt tính kháng lại 3 chủng vi khuẩn kiểm định; 13/48 chủng (27,08%) kháng lại 2 chủng vi khuẩn kiểm định và có 19/48 chủng (39,58%) chỉ kháng một loại vi khuẩn kiểm định. Trong số đó, chủng P5-1 thể hiện hoạt tính tốt nhất, có khả năng kháng lại cả bốn chủng vi khuẩn kiểm định. Khả năng sinh kháng sinh của chủng P5-1 mạnh nhất trong môi trường Gause I ở 7 ngày lên men.

Từ khóa: Chất kháng sinh, hoạt tính kháng sinh, xạ khuẩn.

Ngày nhận bài: 22/3/2019; Ngày hoàn thiện: 10/4/2019; Ngày duyệt đăng: 22/4/2019

ISOLATION AND SCREENING OF ACTINOMYCES SPECIES INHIBITS GRAM POSITIVE BACTERIA

Do Thi Hien¹, Do Bich Due², Nguyen Manh Tuan², Nguyen Xuan Vu^{1*}

¹University of Agriculture and Forestry - TNU

²Institute of Life Sciences - TNU

ABSTRACT

Forty-eight strains (12.66%) of antibiotic-producing bacteria were selected among 379 isolates from 39 soil samples collected at Nui Phao - Dai Tu and Mo Sat - Trai Cau, Thai Nguyen province. Among them, 4/48 strains (8.33%) exhibited to kill 4 bacteria tested, including *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6051A and *Bacillus anthracis* KEMB 211-146; 12/48 strains (25%) were able to inhibit 3 strains; 13/48 strains killed 2 strains and 19/48 strains (39.58%) were only killed 1 strains. Strain P5-1 showed the best antibacterial activities among the isolates. The strongest antibacterial activities of strain P5-1 revealed via using Gause I medium at 7 days of fermentation.

Keywords: Antibiotic, antibacterial activity, actinomycetes.

Received: 22/3/2019; Revised: 10/4/2019; Approved: 22/4/2019

* Corresponding author: Tel: 0912 281788, Email: nguyensexuanvu@tuaf.edu.vn

ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất kháng sinh (Antibiotic) là những chất được chiết xuất từ các vi sinh vật, nấm, được tổng hợp hoặc bán tổng hợp, có khả năng tiêu diệt vi khuẩn hay kìm hãm sự phát triển của vi khuẩn một cách đặc hiệu. Tuy nhiên sự xuất hiện các vi khuẩn đa kháng thuốc (MDR) như *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus...* tạo thành một vấn đề nghiêm trọng trong môi trường bệnh viện, đòi hỏi phải có kháng sinh mới với hoạt động phổ rộng [1]. *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA) là tác nhân gây bệnh cho một loạt các bệnh nhiễm trùng như nốt, viêm phổi, viêm tủy xương,... và đã phát triển đề kháng với phần lớn các kháng sinh thông thường [2]. Vào năm 2001, theo tổ chức y tế thế giới (WHO), việc kê đơn và lạm dụng kháng sinh quá mức đã dẫn đến sự kháng thuốc của nhiều mầm bệnh [3]. Ngày nay, các chủng kháng thuốc mới xuất hiện nhanh hơn, trong khi tốc độ phát hiện ra kháng sinh mới đã giảm đáng kể.

Hiện nay, nhiều nhà khoa học đang nghiên cứu các loại thuốc mới ức chế sinh trưởng các chủng vi khuẩn gây bệnh, chủ yếu có nguồn gốc xạ khuẩn [4], [5]. *Streptomyces* là một trong các chi tiềm năng thuộc nhóm xạ khuẩn, sản sinh đa dạng các loại kháng sinh khác nhau, với hơn 80% kháng sinh được biết trên thị trường có nguồn gốc từ chi *Streptomyces* [6].

Thái Nguyên là một vùng đất giàu khoáng sản, hệ sinh vật phong phú, các hoạt động khai thác khoáng sản diễn ra mạnh mẽ đã tác động đến môi trường hệ sinh thái và qua đó ảnh hưởng đến vi sinh vật trong đất. Do đó, chúng tôi tiến hành phân lập và tuyển chọn chủng xạ khuẩn có hoạt tính mạnh và khảo sát các điều kiện nuôi cấy của chủng xạ khuẩn tại khu vực đang chịu ảnh hưởng của hoạt động khai thác khoáng sản trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên.

VẬT LIỆU, MÔI TRƯỜNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**Vật liệu và môi trường nuôi cấy**

* *Mẫu đất*: 39 mẫu đất được thu thập từ 2 điểm Núi Pháo- Đại Từ và Mỏ Sắt- Trại Cau thuộc tỉnh Thái Nguyên.

* *Các chủng vi khuẩn kiểm định*: Bao gồm *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6051A và *Bacillus anthracis* KEMB 211-146, được cung cấp bởi ngân hàng bảo quản chủng trên thế giới: ATCC = American Type Culture Collection (Mỹ), KEMB: Korea Environmental Microorganisms Bank (Hàn Quốc). (*Bacillus anthracis* KEMB 211-146 là chủng không mang gene động lực gây bệnh truyền nhiễm)

* *Các loại môi trường được sử dụng*:

Môi trường phân lập xạ khuẩn: NA, ISP 4 (Kuster, 1959). Các môi trường đánh giá đặc điểm sinh lí: Gause I, Gause II, ISP1, ISP 5 (Pridham và Lyons, 1961), ISP 6 (Tresner và Danga, 1958), ISP 9 (Shirling and Gottlieb, 1966; Stanley and Holt, 1989).

Lựa chọn môi trường tối ưu: SCB (Kamal Rai, Sujan Khadka và Bidya Shrestha, 2018), MT7 (Cornick và McGuire, 1962), 301 (Bungonsiri Intra, Isada Mungsuntisuk, Takuya Nihira, Yasuhiro Igarashi, Watanalai Panbangred, 2011).

Các thí nghiệm được thực hiện tại phòng vi sinh, Viện Khoa học Sự sống, trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.

Phương pháp nghiên cứu*Lấy mẫu và phân lập xạ khuẩn:*

Mẫu được thu nhận từ các lớp đất cách bề mặt khoảng 5-10 cm, sau khi xử lí mẫu (loại bỏ rác, đá) tiến hành pha loãng đến nồng độ 10^{-6} . Sau đó, 100 μ l mỗi nồng độ dịch pha loãng (10^{-2} đến 10^{-6}) được cấy trải đồng thời lên môi trường thạch đĩa NA và ISP-4. Các đĩa này được nuôi ở 28 °C trong 3 tuần [7], [8]. Các chủng xạ khuẩn được tinh sạch đến khi thu nhận được khuẩn lạc tinh khiết được bảo quản trong glycerol với nồng độ cuối cùng 20% (v/v) ở -80 °C cho các thí nghiệm tiếp theo.

Sàng lọc các chủng sinh kháng sinh bằng phương pháp cấy chấm điểm (Crawford, 1993)

Sử dụng que cấy vô trùng cấy từng khuẩn lạc đã tinh sạch lên trên đĩa thạch đã được cấy

trái các vi khuẩn điểm định. Các đĩa này được nuôi ở 28 °C trong 48 h. Đọc kết quả dựa vào khoảng cách vòng vô khuẩn.

Phương pháp xác định các đặc điểm sinh lí

Đặc điểm hình thái của chủng xạ khuẩn, gồm màu sắc của khuẩn ty khí sinh (KTKS), màu sắc của khuẩn ty cơ chất (KTCC), sự hình thành sắc tố melanin và khả năng đồng hóa nguồn cacbon được tiến hành theo phương pháp của Shirling và Gottlieb (1966). Nhiệt độ (10, 14, 30, 40, 45 °C), nồng độ NaCl (0-10%), pH (3-10) sử dụng môi trường nutrient lỏng được tiến hành để tìm điều kiện tối ưu cho chủng xạ khuẩn sinh trưởng; kết quả được theo dõi trong 7 ngày.

Phương pháp lựa chọn môi trường tối ưu cho chủng xạ khuẩn sinh kháng sinh

Dịch nuôi cấy chủng xạ khuẩn (1%, v/v) được cấy chuyển đến các bình 250 ml chứa 100 ml các môi trường khác nhau (Gause I, SCB, NB, 301, MT7), nuôi lắc 7 ngày ở 150 v/p, 28 °C. Dịch lên men được ly tâm ở 13,000 v/p, 4 °C loại bỏ sinh khối tế bào, sau đó nhỏ 60 µl

dịch ly tâm vào khoanh giấy (đường kính 6 mm) và được đặt vào các đĩa thạch đã cấy trái các vi khuẩn kiểm định. Kết quả được kiểm tra sau 24 giờ ở 37 °C

Phương pháp xác định thời gian tối ưu sinh kháng sinh:

Dịch nuôi cấy của chủng xạ khuẩn (1%, v/v) được cấy chuyển đến môi trường tối ưu nhất trong số Gause I, SCB, NB, 301, MT7. Dịch lên men (50 µl) được thu nhận từ 0 đến 10 ngày nuôi cấy ở 250 v/p, 28 °C và nhỏ vào các khoanh giấy, được đặt lên các đĩa thạch chứa đựng các chủng vi khuẩn kiểm định. Kết quả được kiểm tra sau 24 giờ ở 37 °C.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập và tuyển chọn các chủng xạ khuẩn

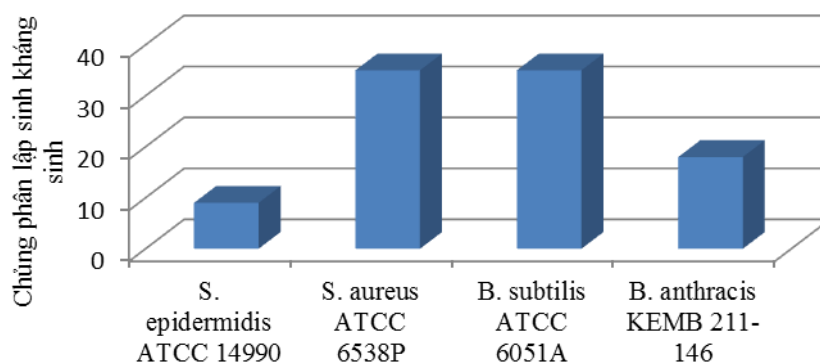
Từ 39 mẫu đất thu được chúng tôi đã phân lập được 379 chủng xạ khuẩn. Sử dụng phương pháp cấy chấm điểm lên bề mặt môi trường NA chứa đựng các chủng vi khuẩn kiểm định, chúng tôi đã xác định được 48/379 chủng (chiếm 12,66%) phân lập có khả năng sinh kháng sinh. Kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả sàng lọc các chủng xạ khuẩn đất sinh kháng sinh

Chủng phân lập	Hoạt tính kháng khuẩn (D-d, mm)			
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus anthracis</i>
	ATCC 14990	ATCC 6538P	ATCC 6051A	KEMB 211-146
KO1-3	-	10	-	-
KO2-7	-	14	18	10
KO5-9	-	8	6	-
KO2-29	-	-	6	-
KO5-14	-	10	6	-
KO5-19	-	-	7	-
KO5-24	-	9	6	-
KO5-26	-	10	7	-
CO3-12	-	9	-	-
CO3-15	-	-	6	-
ĐCO3-4	-	5	5	-
ĐCO3-5	-	9	7	6
ĐCO3-8	-	10	10	6
ĐCO3-11	-	7	9	-
ĐCO3-12	-	7	-	-
ĐCO3-13	-	12	7	-
ĐCO3-14	-	11	8	5
ĐCO3-15	-	11	8	6
ĐCO4-7	-	10	7	-
N5	4	8	8	7

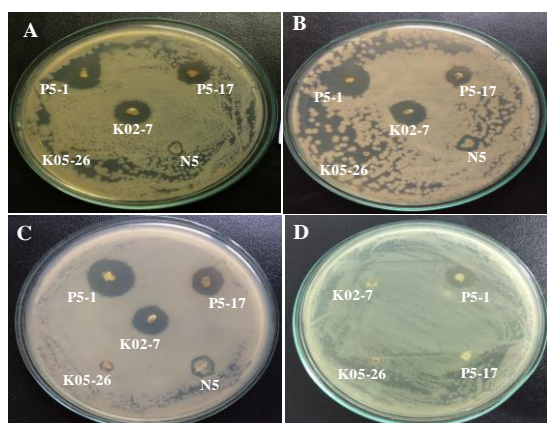
P2-1	17	14	11	7
P2-2	7	9	-	-
P2-3	-	-	10	-
P2-4	10	7	5	-
P2-9	7	9	5	10
P2-16	-	-	-	14
P2-17	10	17	7	-
P3-8	-	5	7	-
P3-9	-	6	-	-
P3-10	-	-	5	-
P3-11	-	5	-	-
P3-14	14	-	-	-
P3-15	-	5	-	-
P3-16	-	-	7	-
P1-4	-	10	-	5
P4-1	-	-	-	9
P4-5	-	4	-	-
P4-14	-	-	9	-
P4-16	-	-	6	6
P4-15	-	7	-	-
P5-1	6	17	33	15
P5-2	-	5	7	-
P5-3	-	4	14	6
P5-8	-	5	8	4
P-16	-	-	6	-
P5-17	-	6	13	9
P5-22	-	5	5	5
P7-7	14	-	9	9
n=48	9	35	35	18

Ghi chú: -, không sinh chất kháng khuẩn; D, đường kính vòng kháng khuẩn; d, đường kính đĩa giấy (6mm).



Hình 1. Số lượng các chủng xạ khuẩn phân lập ức chế sinh trưởng các chủng vi khuẩn kiểm định

Kết quả cho thấy số chủng xạ khuẩn phân lập ức chế sinh trưởng hai chủng *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P và *Bacillus subtilis* ATCC 6051A là nhiều nhất, 35/48 chủng (chiếm 72,92%). So với các kết quả đã công bố trước đây thì tỷ lệ này khá cao [7], [8], [9]. Có 4 chủng trong tổng số 48 chủng sinh kháng sinh tiềm năng ức chế được cả 4 chủng vi khuẩn kiểm định (Bảng 1). Trong số chủng, chủng P5-1 thể hiện hoạt tính kháng khuẩn tốt nhất, ức chế sinh trưởng cả 4 chủng vi khuẩn (Bảng 1, Hình 2). Do đó lựa chọn chủng P5-1 cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 2. Hoạt tính kháng khuẩn chủng xạ khuẩn phân lập sử dụng phương pháp cấy chấm điểm

(A: *Bacillus anthracis* KEMB 211-146, B: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, C: *Bacillus subtilis* ATCC 6051A, D: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990)

Đặc điểm hình thái, sinh lý sinh hóa chủng P5-1

* Đặc điểm hình thái của chủng xạ khuẩn P5-1:

Khuẩn lạc của chủng P5-1 trên môi trường Gause I ở 28 °C sau 7 ngày nuôi cấy có hình tròn lồi, màu xám, mép hình răng cưa; khuẩn ty khí sinh phát triển theo hình phóng xạ và

tạo thành các vòng tròn đồng tâm bao bên ngoài; khuẩn ty cơ chất có màu nâu xám.

* Đặc điểm nuôi cấy chủng xạ khuẩn P5-1:

Chủng P5-1 sinh trưởng tốt trên các môi trường Gause I, Gause II, ISP-1 và ISP-6; sinh trưởng yếu hơn trên môi trường ISP-4 và ISP-5. Khuẩn ty khí sinh có màu xám trên môi trường Gause I, Gause II, ISP-1, ISP-4; vàng chanh-xám trên môi trường ISP-5, ISP-6 có màu xám trắng. Khuẩn ty cơ chất có sự thay đổi đa dạng trên các môi trường nuôi cấy, môi trường Gause I có màu xám, xám nhạt trên môi trường Gause II, ISP-1 và ISP-6 (màu vàng chanh), ISP-4 (màu vàng cam) và ISP-5 (màu nâu). Không phát hiện sắc tố melanin sinh ra bởi chủng P5-1 ở tất cả các môi trường được sử dụng (Bảng 2). Đối chiếu kết quả các đặc điểm hình thái, sinh lý của chủng P5-1 cho thấy chủng P5-1 mang đầy đủ các đặc điểm chung của xạ khuẩn và được xếp vào nhóm xạ khuẩn *Streptomyces* theo khóa phân loại của Bergey (1963).

Bảng 2. Đặc điểm nuôi cấy của chủng P5-1 trên các loại môi trường nuôi cấy ở 28°C sau 21 ngày

Môi trường	Sinh trưởng	Đặc điểm khuẩn lạc	Sắc tố		
			KTKS	KTCC	Melanin
Gause I	+++	Khuẩn lạc tròn, mép hình răng cưa, bề mặt lồi, đường kính khoảng 4 mm	Xám	Xám	K
Gause II	+++	Khuẩn lạc tròn đều, bề mặt lồi, đường kính khoảng 4 mm	Xám	Xám nhạt	K
ISP-1	+++	Khuẩn lạc tròn đều, bề mặt lồi, đường kính khoảng 4 mm	Xám	Vàng chanh	K
ISP-4	++	Khuẩn lạc tròn, có mép răng cưa, bề mặt lồi, đường kính khoảng 3 mm	Xám	Vàng cam	K
ISP-5	++	Khuẩn lạc tròn, có mép răng cưa, bề mặt phẳng, đường kính khoảng 3,6 mm	Vàng chanh-xám	Nâu	K
ISP-6	+++	Khuẩn lạc tròn, có mép răng cưa, bề mặt phẳng, đường kính khoảng 3,6 mm	Xám trắng	Vàng chanh	K

Ghi chú: +++, sinh trưởng tốt; ++, sinh trưởng trung bình; K. không sinh sắc tố melanin.

(Thí nghiệm được định tính trong vòng 7 ngày theo dõi: Nếu chủng sinh trưởng từ 0-3 ngày: +++; từ 4-5 ngày: ++; từ 6-7 ngày: +).

* Ảnh hưởng của nguồn cacbon lên khả năng sinh trưởng của chủng xạ khuẩn P5-1:

Với 5 loại nguồn đường khác nhau (bổ sung trên môi trường cơ bản ISP 9) ở nồng độ 1% (w/v) được kiểm tra cho thấy chủng P5-1 có khả năng đồng hóa tốt D-glucose, succarose, mannitol và lactose; nhưng yếu hơn với xenlulose.

Bảng 3. Hoạt tính kháng khuẩn của chủng P5-1 trên các môi trường lên men khác nhau

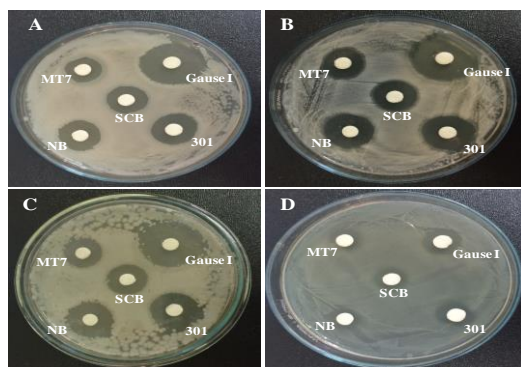
Các vi khuẩn kiểm định	Hoạt tính kháng khuẩn (D-d, mm)				
	MT7	301	NB	Gause I	SCB
<i>Bacillus anthracis</i> KEMB 211-146	8	11	11	18	9
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051A	10	13	13	18	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	10	13	13	19	10
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 1499	4	4	4	6	4

* Ảnh hưởng của nhiệt độ, pH, và muối lên khả năng sinh trưởng của chủng P5-1

Chủng P5-1 phát hiện sinh trưởng từ 14 đến 40 °C (tối ưu ở 30 °C), không sinh trưởng ở 10 và 45 °C. Đối với pH môi trường, chủng P5-1 có khả năng sinh trưởng từ 4 đến 9 (tối ưu ở pH= 7), không phát hiện sinh trưởng ở pH ≤3 hoặc ≥10. Chủng P5-1 có khả năng chống chịu ở nồng độ NaCl 4% (tối ưu cho sinh trưởng từ 0-1%).

Lựa chọn môi trường lên men tối ưu sinh tổng hợp kháng sinh cho chủng P5-1

Chủng P5-1 được tiến hành lên men sử dụng 5 môi trường khác nhau, bao gồm Gause I, SCB, NB, 301 và MT7 ở cùng điều kiện. Tất cả các môi trường sử dụng đều phù hợp cho sinh tổng hợp kháng sinh tiêu diệt các chủng vi khuẩn kiểm định, trong đó môi trường Gause I là tối ưu nhất cho chủng P5-1 sinh kháng sinh so với các môi trường còn lại.



Hình 3. Hoạt tính kháng khuẩn của chủng P5-1 ở các môi trường lên men trên các môi trường kiểm định khác nhau

(A: *Bacillus anthracis* KEMB 211-146; B: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; C: *Bacillus subtilis* ATCC 6051A; D: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1499)

Xác định thời gian lên men tối ưu sinh kháng sinh của chủng P5-1

Môi trường Gause I được sử dụng trong thí nghiệm này, hoạt chất kháng sinh trong dịch

lên men được thu nhận và thử trực tiếp từ 0 đến 10 ngày với hai chủng vi khuẩn kiểm định ở nồng độ ~10⁴ CFU/ml là *Bacillus anthracis* KEMB 211-146 và *Bacillus subtilis* ATCC 6051A (Mục tiêu của thí nghiệm này là xác định thời gian chất kháng sinh sinh ra cao nhất, nên chúng tôi chỉ tiến hành kiểm tra với 2 chủng thay vì cả 4 chủng). Kết quả thí nghiệm cho thấy hoạt tính kháng sinh được sinh tổng hợp tăng dần từ 0 đến 7 ngày lên men và có xu hướng giảm sau 7 ngày. Như vậy, hoạt chất kháng sinh đối với chủng xạ khuẩn P5-1 sử dụng môi trường Gause I đạt cực đại ở 7 ngày lên men.

KẾT LUẬN

Với 39 mẫu đất được thu thập, sử dụng đồng thời hai môi trường NA và ISP-4 phân lập được 48 chủng xạ khuẩn có khả năng sinh kháng sinh trong tổng số 379 chủng được lựa chọn (chiếm 12,66%); tìm được 4/48 (8,33%) chủng xạ khuẩn phân lập ức chế sinh trưởng cả 4 chủng vi khuẩn kiểm định, trong đó chủng P5-1 thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất.

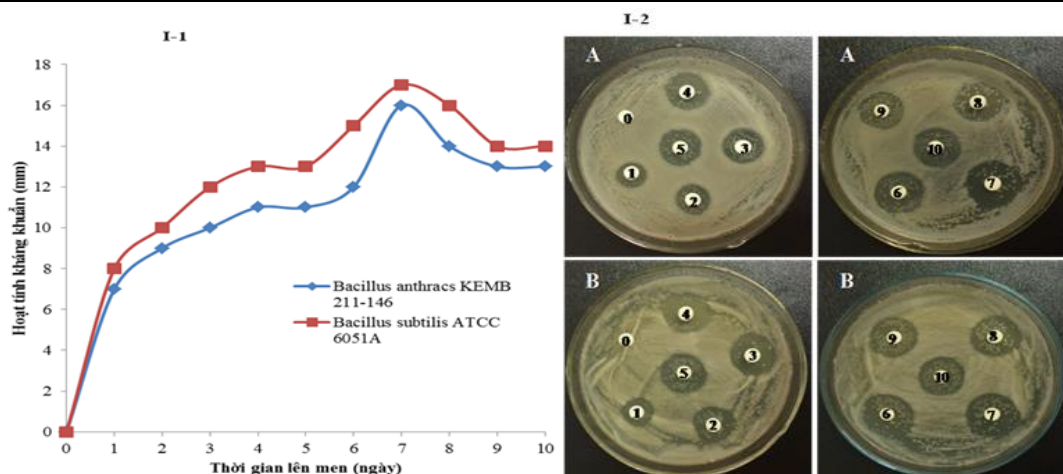
Chủng P5-1 có khả năng sinh trưởng tốt trên môi trường Gause I, Gause II, ISP-1 và ISP-6. Khuẩn lạc của chủng xạ khuẩn P5-1 trên môi trường Gause I ở 28°C sau 7 ngày nuôi cấy có hình tròn lồi, màu xám, mép hình răng cưa; khuẩn ty khí sinh phát triển theo hình phóng xạ và tạo thành các vòng tròn đồng tâm bao bên ngoài; khuẩn ty cơ chất có màu nâu xám.

Chủng P5-1 sinh trưởng tốt trong các môi trường có D-glucose, succarose, mannitol, và lactose; phát hiện sinh trưởng ở pH 4-9 (pH tối ưu ở 7), 14-40 °C (nhiệt độ tối ưu 30 °C) và ở nồng độ NaCl 0-4% (tối ưu ở 0-1%).

Gause I là môi trường tối ưu cho chủng P5-1 sinh tổng hợp hoạt chất kháng sinh ở 7 ngày lên men.

Bảng 4. Hoạt tính kháng khuẩn chủng P5-1 theo thời gian lên men

Chủng vi khuẩn kiểm định	Hoạt tính kháng khuẩn (D-d, mm) theo thời gian lên men (ngày)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Bacillus anthracis</i> KEMB 211-146	0	7	9	10	11	11	12	16	14	13	13
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051A	0	8	10	12	13	13	15	17	16	14	14

**Hình 3.4.** Hoạt tính kháng khuẩn chủng P5-1 trong môi trường Gause I theo thời gian lên men I-2

(A: *Bacillus anthracis* KEMB 211-146, B: *Bacillus subtilis* ATCC 6051A; I-1: Hoạt tính kháng sinh từ chủng P5-1 theo thời gian lên men; I-2: Hoạt tính kháng khuẩn từ dịch lên men (50 μ l/mỗi khoanh giấy) của chủng P5 1)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. G. V. Doern, M. A. Pfaller, M. E., "Erwin The prevalence of fluoroquinolone resistance among clinically significant respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States and Canada—1997 results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program", *Diagn Microbiol Infec Dis.*, 32, pp. 313–316, 1998.
- [2]. M. C. Enright, "The evolution of a resistant pathogen—the case of MRSA", *Curr. Opin. Pharmacol.*, 3, pp. 474–479, 2003.
- [3]. WHO, *Global strategy for containment of antimicrobial resistance*. Geneva: WHO; CDS/CSR/DRS/2001, 2001.
- [4]. P. Kekuda, K. S. Shobha, R. Onkarappa, "Fascinating diversity and potent biological activities of actinomycete metabolites", *Pharm Res.*, 3, pp. 250–256, 2010.
- [5]. M. Oskay, A. U. Tamer, C. Azeri, "Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey", *Afr. J.*

Biotechnol., 3, pp. 441–446, 2004.

- [6]. P. R. E. de Lima, I. R. da Silva, M. K. Martins, "Antibiotics produced by *Streptomyces*", *Braz J. Infect. Dis.*, 16, pp. 466–471, 2012.
- [7]. Vi Thị Đoàn Chính, *Tuyển chọn và nghiên cứu xạ khuẩn có khả năng đối kháng với một số chủng vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện*, Báo cáo tổng kết đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ. Mã số: B2009-TN07-02, 2011.
- [8]. Vi Thị Đoàn Chính, Trịnh Ngọc Hoàng, Trịnh Đình Khá, Vũ Thị Lan, *Nghiên cứu sự phân bố của xạ khuẩn sinh chất kháng sinh phân lập từ đất Thái Nguyên*, Báo cáo khoa học Hội nghị toàn quốc NCCB trong khoa học sự sống, tr.433 – 437, 2007.
- [9]. Bùi Thị Việt Hà, *Nghiên cứu xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* sinh chất kháng sinh chống nấm gây bệnh thực vật ở Việt Nam*, Luận án tiến sĩ sinh học, Hà Nội, 2006.

