Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam 2026, 24(9): 1223-1232 https://doi.org/10.31817/tckhnnvn.2026.24. 9.06
vie.vjas.vn

ĐÁNH GIÁ TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA NANO BẠC XANH XUYÊN TÂM LIÊN NHẰM HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ BỆNH VIÊM DA MỦ TRÊN CHÓ

Dương Đức Hiếu[1*], Công Hồng Hạnh[2], Nguyễn Vũ Lan Anh[1,3], Đào Vũ Thanh Mai[1]

[1]Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[2]Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam
[3]P-Lab Vietnam Animal Healthcare

[*]Tác giả liên hệ: ddhieu@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 04.11.2025 Ngày chấp nhận đăng: 23.08.2026

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên đối với *Staphylococcus* spp. phân lập từ các trường hợp viêm da mủ trên chó. Trong tổng số 22 mẫu bệnh phẩm thu thập từ 22 chó mắc viêm da mủ, vi khuẩn được nuôi cấy phân lập trên môi trường Mannitol Salt Agar (MSA) và định danh bằng phương pháp PCR. Kết quả cho thấy *S. pseudintermedius* được xác định ở 11/22 mẫu, tương ứng 50,0% số ca bệnh. Kết quả khuếch tán trên thạch cho thấy chế phẩm nano bạc xanh có khả năng ức chế vi khuẩn *S. pseudintermedius* phân lập trong nghiên cứu. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của chế phẩm được xác định là 100 µg/ml, mở ra tiềm năng của chế phẩm nano bạc xanh trong việc hỗ trợ điều trị viêm da mủ trên chó.

Từ khóa: Nano bạc xanh, viêm da mủ, *S. pseudintermedius*, chó.

Evaluation of the Antibacterial Activity of Green Chireta (*Andrographis paniculata*) - Silver Nanoparticles for Supporting the Treatment of Pyoderma in Dogs

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the antibacterial activity of green chireta (*Andrographis paniculata)* - silver nanoparticles (green-synthesized silver nanoparticles) against *Staphylococcus* spp. isolated from cases of canine pyoderma. Among the 22 clinical specimens collected from 22 dogs with pyoderma, bacteria were isolated by culture on Mannitol Salt Agar (MSA) and identified using PCR. *S. pseudintermedius* was detected in 11 of 22 samples, corresponding to 50.0% of the cases. Agar diffusion assays demonstrated that the green-synthesized silver nanoparticles exhibited inhibitory effects against *S. pseudintermedius* isolates. The minimum bactericidal concentration (MBC) was determined to be 100 µg/ml, suggesting the potential of green silver nanoparticles as a supportive treatment for canine pyoderma.

Keywords: Green silver nanoparticles, pyoderma, S*. pseudintermedius*, dog.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm da mủ là một trong những căn bệnh da liễu nghiêm trọng và khá phổ biến ở chó. Phần lớn các ca bệnh có liên quan đến vi khuẩn *Staphylococcus pseudintermedius* (Lynch & cs., 2021; Lai & cs., 2022; Putriningsih & cs., 2023). Tỷ lệ phân lập chủng vi khuẩn này dao động từ 31-68% ở chó trưởng thành khỏe mạnh và thậm chí có thể lên tới 100% ở chó con (Loeffler & Lloyd, 2018). Bệnh viêm da mủ thường biểu hiện với các triệu chứng như ngứa ngáy, da đỏ, sưng tấy và đau. Nếu không điều trị sớm, căn bệnh có khả năng biến chứng nặng hơn. Khi đó, không chỉ sức khỏe và chất lượng sống của vật nuôi bị ảnh hưởng mà chi phí điều trị từ chủ nuôi cũng tăng đáng kể (Weese & van Duijkeren, 2010).

Một điểm đáng lo ngại là sự ghi nhận về đặc tính kháng kháng sinh, đặc biệt là với nhóm

kháng sinh methicillin của *S. pseudintermedius*. Tỷ lệ kháng methicillin của chủng vi khuẩn này đã được ghi nhận dao động từ 14% đến 66,5% (Grönthal & cs., 2017). Trong một khảo sát, tỷ lệ kháng oxacillin có thể lên tới 56,2% (Burke & Santoro, 2023). Đặc biệt, chủng vi khuẩn này còn có đặc tính kháng đa thuốc đối với các nhóm như aminoglycoside, lincosamide, macrolide, fluoroquinolone và tetracycline, với tỷ lệ lên đến 52,8% (Burke & Santoro, 2023). Những nghiên cứu về thực trạng kháng kháng sinh của chủng vi khuẩn này cho thấy việc điều trị các ca bệnh viêm da mủ trên chó không chỉ phức tạp và kéo dài mà còn tiềm ẩn nguy cơ tới sức khỏe cộng đồng.

Hiện nay, nano bạc xanh với đặc tính kháng khuẩn vốn có được xem như là một lựa chọn thay thế cho kháng sinh điều trị những ca bệnh nhiễm khuẩn trên chó. Nano bạc xanh với kích thước nano, được tổng hợp từ các hợp chất tự nhiên. Các hạt nano bạc có thể phá hủy màng tế bào vi khuẩn, ức chế sự phát triển của chúng và không tạo ra hiện tượng kháng thuốc (Ahmed & cs., 2016). Một số nghiên cứu cho thấy nano bạc xanh có hiệu quả diệt khuẩn mạnh, ít gây tác dụng phụ và được đánh giá là an toàn khi sử dụng trên chó. Vì vậy, việc áp dụng nano bạc xanh trong điều trị viêm da mủ có thể giúp giảm bớt tình trạng kháng kháng sinh và cải thiện hiệu quả điều trị (Wongstitwilairoong & cs., 2024).

Xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata*) là dược liệu quen thuộc trong y học cổ truyền, chứa hợp chất andrographolide có tác dụng kháng khuẩn, kháng viêm và chống oxy hóa. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh dịch chiết từ xuyên tâm liên ức chế các vi khuẩn gây bệnh ngoài da, kể cả chủng kháng methicillin có khả năng ngăn cản sự hình thành biofilm - yếu tố quan trọng giúp vi khuẩn kháng thuốc (Abubakar & cs., 2011; Hossain & cs., 2021).

Việc ứng dụng công nghệ nano kết hợp với dược liệu xuyên tâm liên đóng vai trò là chất khử ion bạc để tạo ra chế phẩm nano bạc xanh đã được chứng minh hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn dịch chiết đơn thuần, đồng thời có tác dụng chống oxy hóa, mở ra tiềm năng ứng dụng trong điều trị các bệnh viêm nhiễm và góp phần hạn chế tình trạng kháng kháng sinh (Abirami & cs., 2019).

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng kháng khuẩn của chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên đối với các chủng vi khuẩn *Staphylococcus* spp. phân lập từ chó mắc viêm da mủ, qua đó cung cấp thêm dữ liệu khoa học cho việc ứng dụng lâm sàng tại các phòng khám thú cưng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu mẫu

Nghiên cứu được tiến hành trong khoảng thời gian từ tháng 03/2024 đến tháng 09/2024. Chó ở nhiều lứa tuổi và giống khác nhau có những triệu chứng liên quan đến bệnh viêm da mủ như sự xuất hiện của mụn mủ hoặc vảy tiết, vùng da đỏ và viêm, rụng lông cục bộ, kèm theo mùi hôi, được tiếp nhận thăm khám và điều trị tại phòng khám thú y trên địa bàn Hà Nội. Tổng cộng 22 mẫu bệnh phẩm từ 22 ca bệnh viêm da mủ trên chó được thu thập. Mẫu bệnh phẩm là các mẫu dịch mủ được thu bằng tăm bông đựng trong các ống vô trùng và bảo quản mát ở nhiệt độ 2-4°C trong lọ đựng mẫu, sau đó được vận chuyển về phòng thí nghiệm để tiến hành nuôi cấy, phân lập trong vòng 48 giờ.

2.2. Phương pháp nuôi cấy, phân lập vi khuẩn *Staphylococcus* spp.

Vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường thạch Mannitol Salt Agar (Millipore, Đức) bằng phương pháp cấy ria theo mô tả của Sasaki & cs. (2010). Các khuẩn lạc nghi ngờ được lựa chọn dựa trên đặc điểm hình thái điển hình: khuẩn lạc dạng S, tròn, lồi, màu vàng hoặc trắng hồng.

2.3. Phương pháp PCR phân biệt các chủng *Staphylococcus aureus* và *Staphylococcus pseudintermedius*, xác định gen kháng methicillin (mecA)

Khuẩn lạc nghi ngờ được lấy ngẫu nhiên từ đĩa thạch phân lập các chủng vi khuẩn *Staphylococcus* spp. và được sử dụng để tách chiết DNA bằng bộ kit TopPURE DNA/RNA

Extraction Kit (HI-132) (Công ty TNHH Thiết bị ABT, Việt Nam). Sinh khối vi khuẩn được ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút trong 5 phút, sau đó huyền phù trong 200µl dung dịch đệm PBS và thêm 20µl Proteinase K. Tiếp đó, thêm 200µl dung dịch đệm VBL, vortex đều và ủ ở 72°C trong 10 phút. Sau khi thêm 200µl ethanol (96-100%), hỗn hợp được chuyển sang cột silica. Cột được rửa lần lượt bằng 500µl dung dịch đệm WB1 và hai lần với 500µl dung dịch đệm WB2, mỗi lần ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút trong 1 phút. Sau khi rửa, cột được ly tâm khô và tiến hành giải hấp DNA bằng 50µl dung dịch đệm EB. DNA thu được được bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng.

Phản ứng PCR trong nghiên cứu này được thực hiện với tổng thể tích 50µl, bao gồm 5µl DNA khuôn, 1µl (10µM) với mỗi loại mồi, 0,25µl TaKaRa Ex Taq HS, 5µl 10X Ex Taq Buffer, 4µl dNTP Mixture (TaKaRa Ex Taq Hot Start Version kit, Japan) và 34,75µl nước cất. Ba cặp mồi đặc hiệu được sử dụng trong phản ứng PCR nhằm xác định và phân biệt các chủng *Staphylococcus aureus* và *Staphylococcus pseudintermedius*, cũng như phát hiện gen kháng methicillin (*mecA*) (Bảng 1). Cặp mồi *mecA_F/mecA_R* được thiết kế để khuếch đại đoạn gen *mecA*, là gen kháng methicillin ở các loài thuộc chi *Staphylococcus* (Murakami & cs., 1991). Hai cặp mồi *au-F3/au-nucR* và *pse-F2/pse-R5*, lần lượt khuếch đại gen *nuc* đặc trưng của *S. aureus* và *S. pseudintermedius*, cho phép phân biệt hai loài này với độ đặc hiệu cao (Sasaki & cs., 2010). Chu trình nhiệt cho phản ứng PCR được tham khảo bởi nghiên cứu trước đó của Nguyen & cs. (2024). Sản phẩm của phản ứng PCR được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1,2%.

2.4. Đánh giá khả năng kháng *Staphylococcus* spp. của chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên

2.4.1. Phương pháp khuếch tán trên thạch

Hỗn dịch vi khuẩn được chuẩn bị bằng cách trộn 2µl dịch vi khuẩn với 5ml môi trường BHI và ủ lắc ở 37°C cho đến khi đạt mật độ quang học OD_{600} = 0,5, tương ứng với khoảng 1×10^8 CFU/ml. Sau đó, 200µl dịch nuôi cấy được cấy trải đều lên bề mặt thạch Mueller-Hinton Agar (MHA). Chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên được điều chế thử nghiệm bởi TS. Công Hồng Hạnh và nhóm nghiên cứu từ Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Đây là chế phẩm dưới dạng dung dịch gồm các hạt nano bạc với kích thước 10-25nm, được tổng hợp thông qua phản ứng khử giữa dung dịch bạc nitrat và dịch chiết lá xuyên tâm liên, kết hợp bổ sung chất ổn định polyvinylpyrrolidone (PVP). Các mức nồng độ thử nghiệm (200, 100, 50 và 25 µg/ml) được xác định và chuẩn bị thông qua phương pháp pha loãng liên tiếp bậc 2 từ dung dịch gốc. Trong thử nghiệm khuếch tán trên thạch, 50µl dung dịch của từng nồng độ chế phẩm, cùng với nước cất (đối chứng âm), được nhỏ vào các lỗ đã đục sẵn trên đĩa nuôi cấy vi khuẩn. Các đĩa thạch sau đó được ủ ở 37°C trong khoảng 18-24 giờ. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần. Đường kính vòng vô khuẩn trong nghiên cứu này được xác định là đường kính vòng ức chế sau khi trừ đi đường kính lỗ đục (6mm), được đo bằng thước chia đơn vị milimet và kết quả được tham chiếu theo nghiên cứu của Abirami & cs. (2019).

Bảng 1. Danh sách cặp mồi cho phản ứng PCR

Tên loài	Gen đích	Trình tự mồi	Kích thước	Nguồn
Vi khuẩn *Staphylococcus* spp. có gen kháng kháng sinh	mecA_F mecA_R	AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC	533bp	Murakami & cs. (1991)
Staphylococcus aureus	au-F3 au-nucR	TCGCTTGCTATGATTGTGG GCCAATGTTCTACCATAGC	359bp	Sasaki & cs. (2010)
Staphylococcus pseudintermedius	pse-F2 pse-R5	TRGGCAGTAGGATTCGTTAA CTTTTGTGCTYCMTTTTGG	926bp	Sasaki & cs. (2010)

2.4.2. Phương pháp xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC)

Thí nghiệm được tiến hành nhằm xác định MBC của chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên đối với vi khuẩn *Staphylococcus* spp. phân lập được thông qua phương pháp pha loãng nồng độ trong môi trường lỏng (Balouiri & cs., 2016; Manandhar & cs., 2019). Thử nghiệm được thực hiện trên đĩa 96 giếng. Mỗi giếng gồm 50µl huyền dịch vi khuẩn có mật độ khoảng 1×10^8 CFU/ml và 50µl chế phẩm nano bạc xanh ở các nồng độ pha loãng gấp đôi liên tiếp bắt đầu từ 200 µg/ml giảm dần xuống 0,39 µg/ml. Giếng đối chứng âm chứa 50µl huyền dịch vi khuẩn có mật độ khoảng 1×10^8 CFU/ml và 50µl nước cất, đồng thời một giếng chỉ chứa 100µl môi trường BHI nhằm kiểm soát tạp nhiễm. Đĩa 96 giếng được ủ ở 37°C trong 24 giờ, sau đó được lấy ra nuôi cấy trên thạch MSA tiếp tục trong 24 giờ trong tủ ấm 37°C để kiểm tra khuẩn lạc. Thí nghiệm được lặp lại ba lần độc lập và kết quả được ghi nhận để xác định nồng độ thấp nhất của chế phẩm mà tại nồng độ đó không phát hiện khuẩn lạc sau 24 giờ nuôi cấy.

2.5. Xử lý số liệu

Kết quả thu được sau khi tiến hành thử nghiệm được xử lý trên phần mềm SPSS với kiểm định One-way ANOVA và hậu kiểm Tukey HSD ở mức tin cậy P <0,05.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

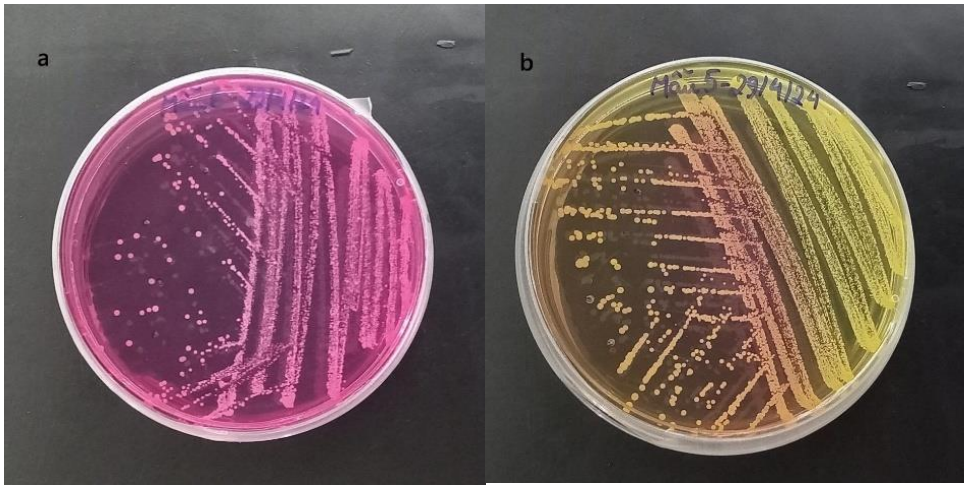
3.1. Kết quả phân lập, định danh *Staphylococcus* spp. gây bệnh viêm da mủ trên chó

Nuôi cấy 22 mẫu bệnh phẩm trên môi trường MSA cho thấy cả 22/22 mẫu đều xuất hiện khuẩn lạc đặc trưng của 2 chủng *Staphylococcus aureus* và *Staphylococcus pseudintermedius* (Hình 1). Điều này khẳng định sự hiện diện của *Staphylococcus* spp. trong tất cả các ca viêm da mủ trên chó.

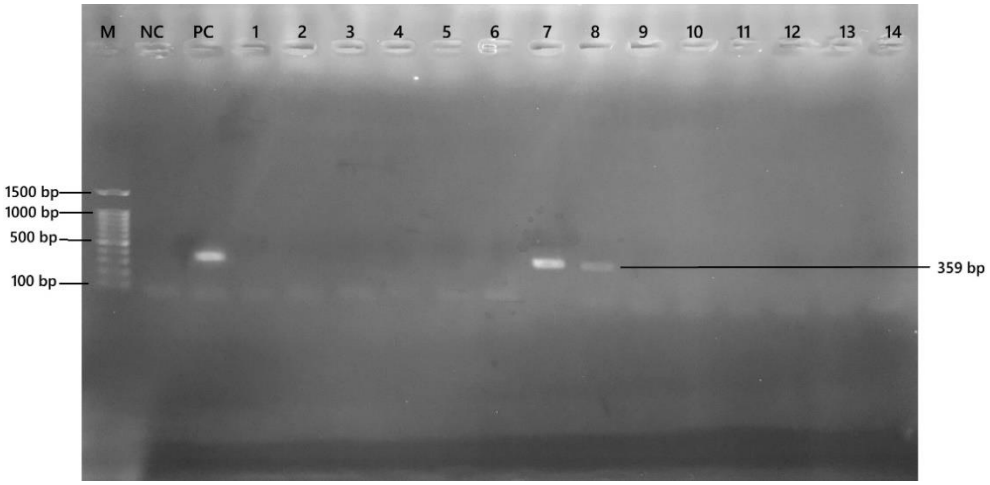
Bốn mươi bốn khuẩn lạc được chọn từ 22 mẫu bệnh phẩm (trung bình 2 khuẩn lạc được lấy ngẫu nhiên từ một mẫu bệnh phẩm) được phân tích định danh bằng PCR đã xác định được 2 chủng gây bệnh là *Staphylococcus pseudintermedius* và *Staphylococcus aureus* (Hình 2, 3).

Ngoài ra, kết quả PCR sử dụng cặp mồi mecA_F/mecA_R xác định tất cả các mẫu đều âm tính với vi khuẩn *Staphylococcus* mang gen kháng kháng sinh methicillin.

Kết quả tổng hợp ghi nhận *S. pseudintermedius* chiếm tỷ lệ cao nhất với 11/22 (50%) trường hợp, *S. aureus* chỉ được phát hiện ở một trường hợp (4,55%), trong khi 10/22 (45,45%) trường hợp ca bệnh khác ghi nhận các chủng *Staphylococcus* khác chưa được định danh (Bảng 2).

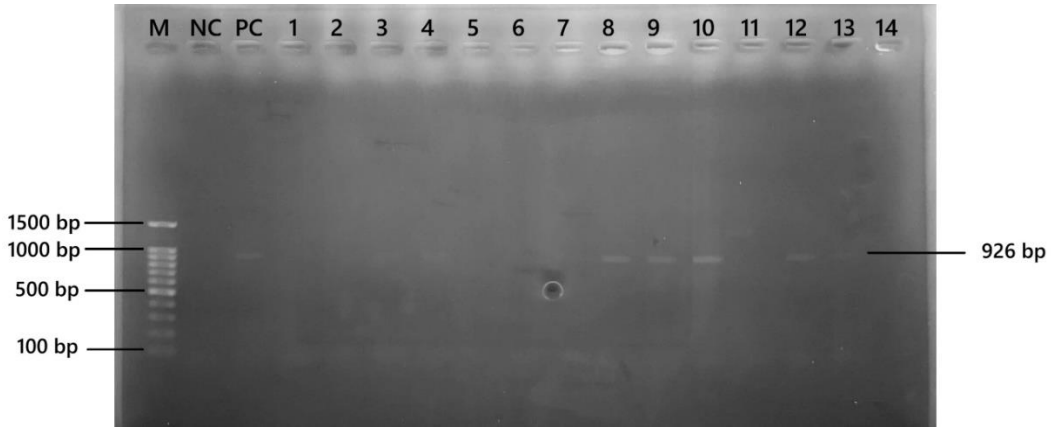


Hình 1. Kết quả nuôi cấy vi khuẩn trên thạch Mannitol Salt Agar cho khuẩn lạc *S. aureus* màu trắng hồng (1a)**, khuẩn lạc *S. pseudintermedius* màu vàng** (1b)



Ghi chú: M: Marker; NC: Đối chứng âm; PC: Đối chứng dương; 1-14: Mẫu sàng lọc; 7, 8: Mẫu dương tính với S. aureus, có kích thước phân tử 359bp.

Hình 2. Kết quả điện di DNA khuếch đại đối với nucgene MRSA sử dụng cặp mồi au-F3/au-nucR



Ghi chú: M: Marker; NC: Đối chứng âm; PC: Đối chứng dương; 1-14: Mẫu sàng lọc; 3, 4, 8, 9, 10, 12, 13: Mẫu dương tính với S. pseuintermedius, có kích thước phân tử 926bp.

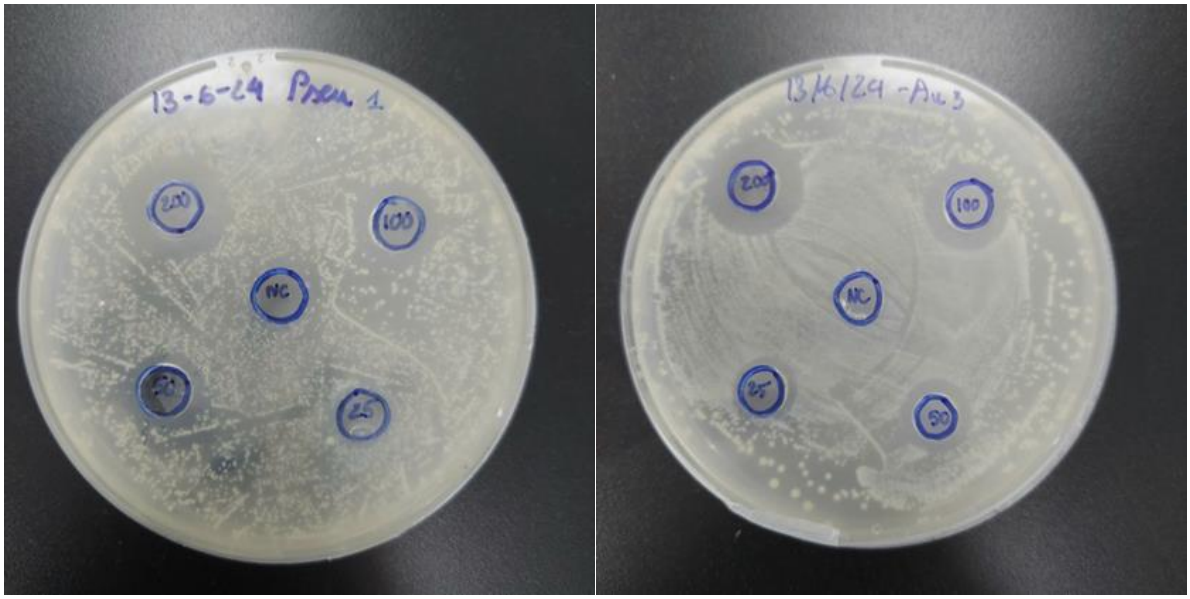
Hình 3. Kết quả điện di DNA khuếch đại đối với nucgene MRSP sử dụng cặp mồi pse-F2/pse-R5

3.2. Hoạt tính kháng khuẩn và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên đối với *S. pseudintermedius* và *S. aureus*

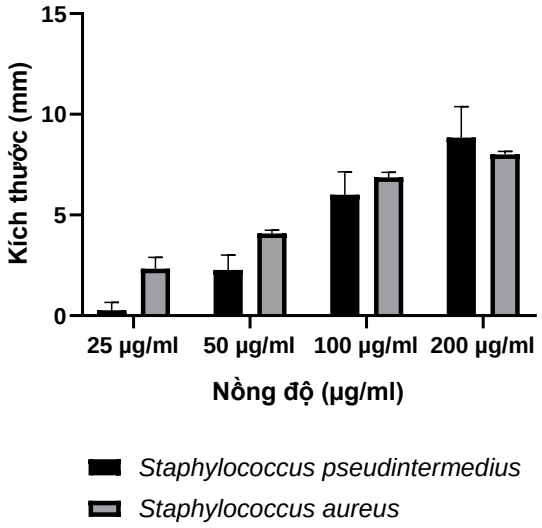
Phương pháp khuếch tán trên thạch được sử dụng để đánh giá khả năng kháng khuẩn của chế phẩm nano bạc xanh ở các nồng độ khác nhau (Hình 4). Kết quả phân tích cho thấy nồng độ chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên có ảnh hưởng đến khả năng ức chế sự phát triển của cả hai loài vi khuẩn *S. pseudintermedius* và *S. aureus* (P <0,001). Điều này chứng minh rằng hiệu quả kháng khuẩn phụ thuộc vào nồng độ chế phẩm: nồng độ càng cao thì kích thước vòng vô khuẩn càng lớn, đồng nghĩa với hiệu quả ức chế vi khuẩn càng mạnh (Hình 5). Cụ thể, nồng độ 200 µg/ml cho hiệu quả kháng khuẩn mạnh nhất và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với các nồng độ còn lại (P <0,01). Nồng độ 25 µg/ml mặc dù vẫn thể hiện hiệu quả ức chế nhất định nhưng mức độ còn thấp, đặc biệt đối với *S. pseudintermedius*.

Bảng 2. Kết quả định danh vi khuẩn bằng phương pháp PCR

Loài vi khuẩn	Số khuẩn lạc	Tỉ lệ (%)	Số ca bệnh	Tỉ lệ (%)
Staphylococcus pseudintermedius	16	36,6	11	50,00
Staphylococcus aureus	2	4,55	1	4,55
Chủng *Staphylococcus* khác	26	59,09	10	45,45
Chủng *Staphylococcus* có gen kháng methicillin	0	0	0	0
Tổng số	44	100	22	100



Hình 4. Kết quả kháng khuẩn của chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên ở hai loài vi khuẩn *S. pseudintermedius* và *S. aureus* khi sử dụng phương pháp khuếch tán trên thạch



Hình 5. Đường kính vòng vô khuẩn (kích thước trung bình ± độ lệch chuẩn, mm) **của chế phẩm nano bạc xanh ở các nồng độ khác nhau đối với hai chủng vi khuẩn *S. pseudintermedius* và *S. aureus***

Trên cơ sở hoạt tính kháng khuẩn ghi nhận trong thử nghiệm khuếch tán trên thạch, nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của chế phẩm được tiếp tục xác định đối với *S. pseudintermedius* và *S. aureus*. Kết quả cho thấy giá trị MBC đối với cả hai loài đều là 100 µg/ml.

4. THẢO LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy sự hiện diện của vi khuẩn thuộc giống *Staphylococcus* trong tất cả các ca viêm da mủ trên chó được khảo sát (22/22). Trong nhóm tác nhân này, *Staphylococcus pseudintermedius* là loài chiếm ưu thế nhất, với tỷ lệ ghi nhận ở 50% ca bệnh, trong khi *S. aureus* chỉ được phát hiện ở một trường hợp duy nhất (4,55%) và các chủng *Staphylococcus* spp. chưa định danh chiếm 45,45% số ca bệnh còn lại. Tỷ lệ này cho thấy sự khác biệt nhất định so với một số nghiên cứu đã công bố trước đó. Cụ thể, Rafatpanah & cs. (2020) tại Iran ghi nhận *S. epidermidis* chiếm ưu thế (51,16%) trong các ca viêm da mủ, trong khi *S. pseudintermedius* chỉ chiếm 6,97%. Ngược lại, các nghiên cứu tại Nhật Bản (Onuma & cs., 2012) và Úc (Saputra & cs., 2017) lại xác định *S. pseudintermedius* là loài chiếm ưu thế tuyệt đối với tỷ lệ lần lượt là 76% và 70% trong các trường hợp chó mắc viêm da mủ. Tại Việt Nam, Nguyễn Thị Lan Anh & cs. (2023) cũng phát hiện *Staphylococcus* spp. hiện diện trong 81,40% số chó có triệu chứng viêm da mủ, trong đó *S. pseudintermedius* chiếm tỷ lệ cao nhất (42,99%), kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Tỷ lệ ghi nhận các chủng loài *Staphylococcus* spp. khác nhau trên các ca bệnh viêm da mủ trên chó có thể xuất phát từ nhiều nguyên nhân, bao gồm điều kiện khí hậu, sinh thái, đặc thù hệ vi sinh vật ở từng khu vực địa lý hay phương pháp định danh vi khuẩn của từng nghiên cứu. Các nước nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới ẩm như Việt Nam ghi nhận tỷ lệ *S. pseudintermedius* cao, tuy nhiên, một số vùng ôn đới khô hạn như Iran lại là nơi các loài tụ cầu khuẩn âm tính với coagulase - Staphylococcus coagulase-negative (CoNS) như *S. epidermidis* chiếm ưu thế (Rafatpanah & cs., 2020). Ngoài ra, sự khác biệt trong phương pháp định danh vi khuẩn cũng đóng vai trò quan trọng: nhiều nghiên cứu trước đây dựa trên thử nghiệm sinh hóa hoặc API Staph kit dễ nhầm lẫn giữa *S. pseudintermedius* và *S. aureus* (Bannoehr & cs., 2009; Bond & Loeffler, 2012), trong khi nghiên cứu này của chúng tôi sử dụng định danh phân tử PCR đặc hiệu, giúp tăng độ chính xác trong nhận diện loài (Sasaki & cs., 2010; Bannoehr & Guardabassi, 2012).

Mặc dù vậy, 45,45% ca bệnh ghi nhận dương tính với *Staphylococcus* spp. khác chưa được định danh trong nghiên cứu này. Việc phát hiện tỷ lệ cao các chủng chưa định danh gợi ý sự đa dạng sinh học đáng kể trong hệ vi sinh vật da của chó tại Việt Nam, là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về dịch tễ học phân tử nhằm xác định sự phân bố các chủng loài *Staphylococcus* spp. gây bệnh viêm da mủ trên chó tại Việt Nam.

Về hoạt tính kháng khuẩn của nano bạc xanh xuyên tâm liên, kết quả khuếch tán trên đĩa thạch và MBC trong nghiên cứu này cho thấy chế phẩm có tác dụng kháng khuẩn, diệt khuẩn rõ rệt đối với cả *S. pseudintermedius* và *S. aureus*, với nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) được xác định là 100 µg/ml. Kết quả này tương đồng với nhiều công bố công bố trước đây của các tác giả Saratha & cs. (2018), Abirami & cs. (2019) khi chứng minh chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên không chỉ có khả năng ức chế *S. aureus* mà còn có hiệu quả kháng khuẩn với nhiều loài vi khuẩn gây bệnh khác như *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris* và *Pseudomonas aeruginosa*. Cơ chế kháng khuẩn của nano bạc xanh đã được nhiều nghiên cứu làm sáng tỏ. Các hạt AgNPs kích thước nhỏ (< 100nm) làm tăng diện tích tiếp xúc với tế bào vi khuẩn, giải phóng ion Ag^+ gắn vào màng tế bào, gây biến tính protein, phân hủy lipid và tạo gốc oxy hóa tự do (ROS), dẫn đến tổn thương DNA và chết tế bào (Prabhu & Poulose, 2012; Ahmed & cs., 2016; Zahoor & cs., 2021). So với nano bạc tổng hợp hóa học,

nano bạc xanh có ưu điểm thân thiện môi trường, không sử dụng dung môi độc hại, đồng thời các hợp chất sinh học trong dịch chiết thực vật (flavonoid, diterpenoid, polyphenol) đóng vai trò khử và ổn định hạt bạc, giúp tăng độ bền, giảm độc tính và nâng cao hoạt tính sinh học (Ahmed & cs., 2016). Đặc biệt, nano bạc xanh xuyên tâm liên chứa andrographolide - một diterpenoid lactone có tác dụng kháng khuẩn, kháng viêm và chống oxy hóa mạnh (Kotakadi & cs., 2014), tạo hiệu ứng hiệp đồng với ion bạc, giúp chế phẩm có hiệu lực diệt khuẩn cao hơn so với nano bạc xanh từ các dược liệu khác như neem (*Azadirachta indica*) hay hương nhu tía (*Ocimum sanctum*) (Hossain & cs., 2021; Raghupathi & cs., 2022).

Giá trị MBC của chế phẩm trong nghiên cứu này (100 µg/ml) khá tương đồng với kết quả của Phromphen & cs. (2024), khi phức hợp nano bạc - xuyên tâm liên (*A. paniculata*) được ghi nhận có nồng độ diệt khuẩn *S. aureus* ở mức 78,13 µg/ml. Đáng chú ý, nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng nếu sử dụng đơn lẻ, cả hạt nano bạc sinh học lẫn dịch chiết xuyên tâm liên đều đòi hỏi nồng độ diệt khuẩn rất cao với chủng *S. aureus* DMST 8840 lần lượt là 156,25 µg/ml và 2.500 µg/ml. Tương tự, theo nghiên cứu của Abubakar & cs. (2011), nồng độ diệt khuẩn với *S. aureus* của dịch chiết xuyên tâm liên dao động từ 300 đến 400 µg/ml. Như vậy, chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên có hiệu lực kháng khuẩn mạnh hơn so với các chế phẩm dạng dịch chiết thông thường. Sự khác biệt này có thể do hiệu ứng hiệp đồng của xuyên tâm liên với ion bạc làm gia tăng hiệu quả diệt khuẩn của chế phẩm.

Mặc dù hiệu quả kháng *Staphylococcus* spp. của chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên đã được ghi nhận trong nghiên cứu này, việc ứng dụng trực tiếp lên cơ thể động vật cần được tiếp cận một cách cẩn trọng. Cơ chế tác động của hạt nano bạc liên quan mật thiết đến khả năng làm thay đổi tính thấm của màng tế bào, gây stress oxy hóa và làm suy giảm chức năng ty thể (Zahoor & cs., 2021); do đó, các hạt nano này cũng có nguy cơ gây độc tính tế bào lên màng tế bào của vật chủ (Wongstitwilairoong & cs., 2024). Vì vậy, việc xác định ngưỡng liều lượng an toàn - nơi nồng độ đủ để diệt khuẩn nhưng không gây hại cho mô da - là yêu cầu bắt buộc trước khi đặt vấn đề thử nghiệm lâm sàng. Chẳng hạn, trong quá trình phát triển thuốc bôi ngoài da cho chó, Wongstitwilairoong & cs. (2024) đã tiến hành đánh giá độc tính của nano bạc sinh học trên nguyên bào sợi da chó nguyên phát và xác định được nồng độ 0,5 mg/ml (500 µg/ml) là giới hạn an toàn, không làm giảm tỉ lệ sống sót của tế bào da xuống dưới 50% trong vòng 24 giờ điều trị. Vậy nên định hướng của các nghiên cứu tiếp theo là tiến hành thử nghiệm độc tính *in vitro* của chế phẩm nano bạc xuyên tâm liên trên các dòng tế bào da động vật nhằm thiết lập chính xác liều lượng an toàn, tạo cơ sở khoa học vững chắc trước khi bước vào giai đoạn thử nghiệm lâm sàng trên các ca bệnh viêm da mủ thực tế.

5. KẾT LUẬN

Trong số các vi khuẩn thuộc giống *Staphylococcus* được phát hiện trong nghiên cứu này, *S. pseudintermedius* là loài được ghi nhận với tỷ lệ cao nhất ở các trường hợp chó mắc viêm da mủ. Chế phẩm nano bạc xanh xuyên tâm liên đã thể hiện hoạt tính kháng khuẩn rõ rệt đối với *S. pseudintermedius* và *S. aureus*, cho thấy tiềm năng ứng dụng cao trong công tác điều trị, đặc biệt trong bối cảnh tỷ lệ kháng kháng sinh ngày càng tăng. Tuy nhiên, trước khi định hướng ứng dụng lâm sàng, các nghiên cứu chuyên sâu về đánh giá độc tính *in vitro* cần được thực hiện nhằm xác định giới hạn liều lượng an toàn của chế phẩm trên mô da động vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahmed S., Ahmad M., Swami B.L. & Ikram S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. Journal of Advanced Research. 7(1): 17-28.

Abirami T., Govindarajulu B. & Karthikeyan J. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using

aqueous leaf extract of *Andrographis paniculata* and evaluation of their antibacterial efficacy. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 8(3): 385-390.

Abubakar S., Ahmed Q.U., Samah O.A. & Omar M.N. (2011). Bacteriostatic and bactericidal activities of *Andrographis paniculata* extracts on skin disease-causing pathogenic bacteria. Journal of Medicinal Plants Research. 5(1): 7-14.

Balouiri M., Sadiki M. & Ibnsouda S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis. 6(2): 71-79.

Bannoehr J. & Guardabassi L. (2012). *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. Veterinary Dermatology. 23(4): 253-66, e51-2.

Bannoehr J., Franco A., Iurescia M., Battisti A. & Fitzgerald J. R. (2009). Molecular Diagnostic Identification of *Staphylococcus pseudintermedius*. Journal of Clinical Microbiology. 47(2).

Bond R. & Loeffler A. (2012). What's happened to *Staphylococcus intermedius*? Taxonomic revision and emergence of multi-drug resistance. Journal of Small Animal Practice. 53: 147-154.

Burke M. & Santoro D. (2023). Prevalence of multidrug-resistant coagulase-positive staphylococci in canine and feline dermatological patients over a 10-year period: a retrospective study. Microbiology (Reading). 169(2).

Hossain S., Urbi Z., Karuniawati H., Mohiuddin R.B., Moh Qrimida A., Allzrag A.M.M., Ming L.C., Pagano E. & Capasso R. (2021). *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees: An Updated Review of Phytochemistry, Antimicrobial Pharmacology, and Clinical Safety and Efficacy. Life (Basel). 11(4).

Kotakadi V.S., Gaddam S.A., Subba Rao Y., Prasad T.N., Varada Reddy A. & Sai Gopal D.V. (2014). Biofabrication of silver nanoparticles using *Andrographis paniculata*. European Journal of Medicinal Chemistry. 73: 135-40.

Lai C.H., Ma Y.C., Shia W.Y., Hsieh Y.L. & Wang C.M. (2022). Risk Factors for Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus* Species Isolated from Dogs with Superficial Pyoderma and Their Owners. Veterinary Sciences. 9(7).

Loeffler A. & Lloyd D.H. (2018). What has changed in canine pyoderma? A narrative review. The Veterinary Journal. 235: 73-82.

Lynch S.A. & Helbig K.J. (2021). The Complex Diseases of *Staphylococcus pseudintermedius* in Canines: Where to Next? Veterinary Sciences. 8(1).

Manandhar S., Luitel S. & Dahal R.K. (2019). *In Vitro* Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria. Journal of Tropical Medicine. 2019: 1895340.

Murakami K., Minamide W., Wada K., Nakamura E., Teraoka H. & Watanabe S. (1991). Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. Journal of Clinical Microbiology. 29.

Nguyễn Thị Lan Anh, Võ Phương Vy, Nguyễn Tuấn Hy, Bùi Nguyễn Thanh Vy, Đào Huyền Trân & Nguyễn Thanh Lãm (2023). Phân lập *Staphylococcus* trên chó viêm da tại thành phố Hồ Chí Minh. Kỷ yếu Hội nghị Khoa học Chăn nuôi - Thú y toàn quốc.

Nguyen Pham Thao Nhi, Bui Nguyen Thanh Vy, Nguyen Thuy Y Vi, Nguy Ho Hoang Tho, To My Quyen, Dao Huyen Tran, Nguyen Tran Phuoc Chien, Nguyen Khanh Thuan, Nguyen Thi Lan Anh & Lam Thanh Nguyen (2024). Multiplex PCR for simultaneous identification and differentiation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. Veterinary Integrative Sciences. 23(1).

Onuma K., Tanabe T. & Sato H. (2012). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from healthy dogs and dogs affected with pyoderma in Japan. Veterinary Dermatology. 23(1): 17-22, e5.

Phromphen P., Phoophat P., Sukatta U., Rugthaworn P., Rungruangkitkrai N., Tuntariyanond P., Chartvivatpornchai N., Sichola P., Boonyarit J., Apipatpapha T. & Chollakup R. (2024). Enhancement of Antibacterial Silk Face Covering with the Biosynthesis of Silver Nanoparticles from Garcinia mangostana Linn. Peel and *Andrographis paniculata* Extract and a Bacterial Cellulose Filter. Coatings. 14(4): 379.

Prabhu S. & Poulose E.K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. International Nano Letters. 2(32).

Putriningsih P.A.S., Phuektes P., Jittimanee S. & Kampa J. (2023). Methicillin-resistant *Staphylococci* in canine pyoderma in Thailand. Veterinary World. 16(11): 2340-2348.

Rafatpanah S., Rad M., Movassaghi A.R. & Khoshnegah J. (2020). Clinical, bacteriological and histopathological aspects of firsttime pyoderma in a population of Iranian domestic dogs: a retrospective study. Iranian Journal of Veterinary Research. 21(2).

Raghupathi C.H., Kumar A.V., Singh S., Kumar M.S., Shirisha A., Krishnaiah N. & Kumar A.P. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using

Azadirachta indica and *Ocimum sanctum* and assessment of its antimicrobial activity against isolates and pure culture of *Escherichia coli*. The Pharma Innovation Journal. 11(4): 320-330

Saputra S., Jordan D., Worthing K.A., Norris J.M., Wong H.S., Abraham R., Trott D.J. & Abraham S. (2017). Antimicrobial resistance in coagulase-positive staphylococci isolated from companion animals in Australia: A one year study. PLoS One. 12(4): e0176379.

Sasaki T., Tsubakishita S., Tanaka Y., Sakusabe A., Ohtsuka M., Hirotaki S., Kawakami T., Fukata T. & Hiramatsu K. (2010). Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. Journal of Clinical Microbiology. 48(3): 765-9.

Saratha V., Subasri S., Usharani S. (2018). Synthesis of silver nanoparticles from *Andrographis paniculata* and evaluation of their antibacterial activity. Innovare Journal of Life Sciences. 6(1).

Weese J.S. & van Duijkeren E. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. Veterinary Microbiology. 140(3-4): 418-29.

Wongstitwilairoong N., Jermnark U., Paochoosak N., Limsivilai O., Chimnoi W., Yohannes Y.B., Ikenaka Y. & Saengtienchai A. (2024). Effect of Java plum (*Syzygium cumini*) leave extract and a silver nanoparticles synthesis on pathogens in skin diseases of dogs. Open veterinary journal. 14(10): 2662-2677.

Zahoor M., Nazir N., Iftikhar M., Naz S., Zekker I., Burlakovs J., Uddin F., Kamran A.W., Kallistova A., Pimenov N. & Ali Khan F. (2021). A Review on Silver Nanoparticles: Classification, Various Methods of Synthesis, and Their Potential Roles in Biomedical Applications and Water Treatment. Water. 13(16): 2216.