

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ỨC CHẾ *IN VITRO* TRÊN VI KHUẨN GÂY BỆNH VIÊM TỬ CUNG BÒ CỦA THẢO DƯỢC BỒ CÔNG ANH KHI SỬ DỤNG PHỐI HỢP VỚI NANO BẠC

Nguyễn Thị Thanh Hà¹, Nguyễn Văn Thanh¹, Nguyễn Thanh Hải²

TÓM TẮT

Sử dụng thuốc kháng sinh để điều trị bệnh viêm tử cung bò đã để lại tồn dư kháng sinh và gây nguy cơ gia tăng tính kháng kháng sinh của vi khuẩn. Việc sử dụng thảo dược thay thế kháng sinh để điều trị bệnh này được đánh giá là giải pháp an toàn hơn, tuy nhiên thảo dược lại có nhược điểm là tác dụng thường kém hơn kháng sinh, dẫn đến tỷ lệ điều trị khỏi bệnh thấp hơn và thời gian điều trị kéo dài hơn. Trong những năm gần đây, nhiều công nghệ bào chế thuốc hiện đại đã được nghiên cứu thành công, điển hình là việc ứng dụng công nghệ nano đã và đang rất phát triển. Việc kết hợp công nghệ nano vào chế tạo các chế phẩm từ thảo dược đã giúp nâng cao hiệu quả dược lý của nhiều loại cây dược liệu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát tác dụng của việc phối hợp nano bạc với dịch chiết cây dược liệu bồ công anh dùng để ức chế vi khuẩn gây bệnh viêm tử cung bò. Kết quả nghiên cứu cho thấy sử dụng nano bạc với hàm lượng 25 ppm đã có tác dụng hiệp đồng làm tăng hiệu quả ức chế vi khuẩn của dịch chiết cây dược liệu bồ công anh.

Từ khóa: Viêm tử cung bò, bồ công anh, chiết xuất, nano bạc.

Study *in vitro* on effect of *Lactuca indica* L. extracts mixing together with silver nano for inhibiting bacteria isolated from cow metritis

Nguyen Thi Thanh Ha, Nguyen Van Thanh, Nguyen Thanh Hai

SUMMARY

The use of antibiotics in treating cow metritis leaved antibiotic residues and enhanced antibiotic resistance of bacteria. The use of herb medicines replacing antibiotics in treating cow metritis is recognized as a safer solution, however the herb medicines have some disadvantages, such as lower treatment efficacy, resulting in lower recovery percentage and longer treatment time. In the recent years, many modern pharmaceutical technologies have been studied successfully, such as application of nano technology have been fastly developed. The use of nano technology in producing herb medicines demonstrated to enhance the pharmacological effects of the medicinal plants. In this study, we investigated the effect of combining silver nano with extracts from *Lactuca indica* L., for inhibiting bacteria caused cow metritis. The studied results showed that additioning 25 ppm silver nano in to the extracts of *Lactuca indica* L. induced the synergism in enhancing significantly inhibitory effects on bacteria.

Keywords: Metritis, *Lactuca indica* L., extract, silver nano.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc sử dụng các thuốc kháng sinh để điều trị bệnh viêm tử cung cho bò tạo ra các yếu tố nguy cơ như tồn dư trong sản phẩm động vật và làm gia tăng tính kháng (Haimerl P *et al.*, 2017).

Do vậy, các nhà khoa học đang tập trung tìm kiếm các giải pháp khác nhằm thay thế cho vai trò của kháng sinh đối với loại bệnh này. Trong số đó, thực vật được coi là một giải pháp nhiều tiềm năng, bởi không chỉ hiệu quả, cây thuốc còn ưu việt ở tính an toàn, ít tác dụng phụ và ít nguy cơ kháng (Nguyễn Thị Thanh Hà và cs.,

¹ Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

2017). Đã có nhiều công trình nghiên cứu ứng dụng thảo dược trong điều trị bệnh viêm tử cung bò, sử dụng các cây sần đông, cận đông, bạch hoa xà, keo (Ahmed *et al.*, 2014), tòi (Sarkar *et al.*, 2006), sim (Marquez *et al.*, 2007), ích mẫu, đương quy, hồng hoa, cỏ gấu và mộc dược (Chao Li *et al.*, 2014). Kết quả của những nghiên cứu này cho thấy các bò dùng thảo dược để trị bệnh không chỉ có thời gian động dục lại sau đẻ ngắn hơn mà tỷ lệ thụ thai cũng cao hơn so với các bò dùng kháng sinh.

Những năm gần đây, công nghệ nano ra đời, con người đã chế tạo được bạc ở kích thước nano và ứng dụng của bạc cũng được đưa lên một tầm cao mới. Nghiên cứu đã chỉ ra rằng khi ở kích thước nano (từ 1 đến 100 nm), hoạt tính sát khuẩn của bạc tăng lên khoảng 50.000 lần so với bạc dạng khối (Rokhsareh Sadeghi *et al.*, 2012). Việc ứng dụng công nghệ nano vào sản xuất các sản phẩm từ thảo dược đang được coi là xu hướng mới, góp phần tăng cường tác dụng của cây thuốc.

Nhằm nâng cao khả năng ức chế vi khuẩn của dược liệu bồ công anh (một loại cây thuốc truyền thống chữa nhiễm khuẩn), chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu: “Đánh giá khả năng ức chế *in vitro* trên vi khuẩn gây bệnh viêm tử cung bò của thảo dược bồ công anh khi sử dụng phối hợp với nano bạc”. Mục đích của nghiên cứu là khảo sát tác dụng diệt khuẩn *in vitro* của các cao khô dịch chiết bồ công anh khi sử dụng đơn lẻ cũng như khi phối hợp với nano bạc, nhằm hướng đến việc tiếp cận nano bạc như là một biện pháp để tăng cường hiệu quả của các chế phẩm phòng trị viêm tử cung có nguồn gốc dược liệu.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Dược liệu và chiết xuất dược liệu

2.1.1. Dược liệu

Bồ công anh (*Lactuca indica* L.) khô đã qua sơ chế được thu mua từ các công ty dược liệu cổ truyền. Quá trình sơ chế được tiến hành theo quy trình sau: cây tươi thu hái về được rửa dưới

vòi nước sạch (2 - 3 lần), sau đó được sấy ở 40°C đến khô. Mẫu khô được tiếp tục nghiền thành bột mịn (< 0,05mm) và bảo quản trong túi nilong để ở các bình có hệ thống hút ẩm.

2.1.2. Chiết xuất

Bột dược liệu được chiết với từng loại dung môi có độ phân cực khác nhau, bao gồm: ethanol 70%, methanol, nước cất, ethyl acetate, n-butanol và n-hexan, sử dụng phương pháp ngâm tại nhiệt độ phòng theo tỷ lệ 1 g dược liệu/10 ml dung môi, mỗi ngày được lắc đảo 2 lần. Sau 72 giờ, tiến hành thu dịch chiết bằng cách lọc qua vải màn trước khi lọc bằng giấy lọc Whatman No.1. Dịch lọc sau đó được đem cô quay ở áp suất thấp để loại bỏ hết dung môi. Cao cô toàn phần được bảo quản trong tủ mát 4°C trong thời gian tối đa 3 tháng. Để có dịch chiết nồng độ 100 mg/ml, mỗi 1 g cao khô được trộn với 10 ml Dimethyl sulfoxide (DMSO) rồi khuấy cho tan hoàn toàn bằng đũa thủy tinh. Trước khi thí nghiệm với vi khuẩn, dung dịch gốc này sẽ được tiếp tục pha loãng cho đến các nồng độ cần thiết cũng bằng dung môi DMSO.

2.2. Phương pháp khảo sát tác dụng với vi khuẩn gây bệnh viêm tử cung

2.2.1. Vi khuẩn thí nghiệm

Vi khuẩn *Staphylococcus* spp. và *Streptococcus* spp. được phân lập trực tiếp từ dịch viêm tử cung bò và nuôi trên môi trường Luria-Bertani (LB) đặc và lỏng. Vi khuẩn được cấy trên đĩa thạch LB ủ ở 37°C trong 24 giờ, rồi chọn lấy các khuẩn lạc đơn. Khuẩn lạc đơn được tiếp tục nuôi cấy trong bình tam giác với môi trường LB lỏng, đặt trong tủ ấm 37°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút trong 12 - 14 giờ và thu lấy canh khuẩn. Trước khi thí nghiệm, nồng độ vi khuẩn trong canh khuẩn được xác định bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) tại bước sóng $\lambda = 600$ nm, và điều chỉnh cho đến nồng độ 10^8 tế bào/ml để cấy lên đĩa thạch.

2.2.2. Khảo sát tác dụng của dịch chiết với vi khuẩn

- Khảo sát tác dụng của các dịch chiết trên vi

khuẩn theo phương pháp khuếch tán trên thạch của Kirby-Bauer: hút 100 μ l canh khuẩn tại nồng độ 10^8 tế bào/ml rồi nhỏ vào giữa đĩa thạch và dùng que thủy tinh láng đều. Sau đó sử dụng các ống khâu có đường kính 6 mm để đục lỗ trên thạch rồi nhỏ vào mỗi lỗ 100 μ l dịch chiết cần khảo sát. Sau khi nuôi 37°C trong 24 giờ, tiến hành đo đường kính của vòng vô khuẩn tạo ra để đánh giá tác dụng kháng khuẩn của dịch chiết.

- Phương pháp đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn của nano bạc: nano bạc ở các nồng độ khác nhau được trộn với canh khuẩn rồi lấy 100 μ l hỗn hợp đó tráng trên đĩa thạch. Sau khi nuôi 24 giờ ở điều kiện 37°C , quan sát sự phát triển của khuẩn lạc để đánh giá ảnh hưởng của nano bạc lên vi khuẩn thí nghiệm. Nếu số lượng khuẩn lạc ở đĩa có bổ sung nano bạc ít hơn so với đĩa đối chứng (không bổ sung) thì nồng độ nano bạc đó được xác định là có gây ảnh hưởng lên vi khuẩn gây bệnh.

- Phương pháp đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung nano bạc đến tác dụng kháng khuẩn của dịch chiết: sử dụng phương pháp đục lỗ trên thạch, trong đó lỗ đối chứng là lỗ chỉ chứa dịch

chiết, còn lỗ thí nghiệm là lỗ chứa hỗn hợp của dịch chiết và nano bạc bổ sung theo tỷ lệ nhất định. Căn cứ vào độ lớn đường kính vòng vô khuẩn tạo ra khi chỉ sử dụng dịch chiết và khi sử dụng hỗn hợp dịch chiết với nano bạc để đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung nano bạc tới tác dụng kháng khuẩn của dược liệu.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát tác dụng kháng khuẩn của cao khô dịch chiết thảo dược sử dụng các dung môi khác nhau

3.1.1. Tác dụng ức chế vi khuẩn khi sử dụng dịch chiết tại nồng độ 100 mg/ml

Chúng tôi tiến hành chiết xuất thử nghiệm với các loại dung môi phổ biến thường dùng trong chiết xuất thực vật, bao gồm: ethanol 70%, methanol, nước cất, ethyl acetate, n – butanol và n – hexan. Sáu loại cao thu được sau khi loại hết các dung môi được hòa loãng đến nồng độ 100 mg/ml để khảo sát tác dụng kháng khuẩn theo phương pháp khuếch tán trên thạch. Kết quả đo đường kính vòng vô khuẩn được tổng hợp tại bảng 1.

Bảng 1. Kết quả đường kính vòng vô khuẩn (mm) tạo ra bởi cao khô bò công anh chiết xuất bằng các dung môi khác nhau tại nồng độ 100 mg/ml trên vi khuẩn *Staphylococcus spp.* và *Streptococcus spp.*

Dung môi	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
Ethanol 70%	25,21 \pm 1,18 ^a	24,11 \pm 2,01 ^a
Methanol	21,56 \pm 2,11 ^b	20,43 \pm 2,61 ^b
Nước cất	11,29 \pm 2,09 ^e	10,27 \pm 2,33 ^e
Ethyl acetate	19,94 \pm 1,99 ^c	18,04 \pm 2,09 ^c
n-butanol	18,19 \pm 1,67 ^c	17,15 \pm 1,91 ^d
n-hexan	17,95 \pm 2,12 ^d	16,05 \pm 1,32 ^d

Ghi chú: Các ký tự khác nhau (gồm a, b, c, d, e) trong cùng một cột được sử dụng để biểu đạt những khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) khi xử lý bằng hàm one-way ANOVA và Tukey post hoc test

Kết quả thí nghiệm cho thấy cả 6 loại cao thảo dược khi chiết xuất với các dung môi khác nhau đều có hình thành đường kính vòng vô khuẩn nhưng với độ lớn khác nhau (bảng 1). Theo Kchaou *et*

al. (2013) và Do *et al.* (2014), điều này được giải thích là do mỗi dung môi có đặc điểm riêng về khả năng hòa tan những thành phần có hoạt tính sinh học của thực vật. Trong nghiên cứu này, việc chiết

xuất bằng dung môi ethanol và methanol đem lại hiệu quả ức chế vi khuẩn mạnh hơn các dung môi khác, thể hiện ở đường kính vòng vô khuẩn lớn hơn với cả 2 vi khuẩn thử nghiệm là *Staphylococcus* spp. và *Streptococcus* spp. (bảng 1). Kết quả của chúng tôi phù hợp với nhận định của Cowan (1999), trong đó khẳng định ethanol và methanol có khả năng hòa tan tốt những hoạt chất tạo nên tác dụng kháng khuẩn của thực vật, điển hình là nhóm tinh dầu và những hợp chất hữu cơ bão hòa.

3.1.2. Tác dụng ức chế vi khuẩn của dịch chiết ethanol và methanol khi sử dụng hệ nồng độ pha loãng

Bằng phương pháp khuếch tán trên thạch sử dụng dịch chiết tại nồng độ 100 mg/ml, chúng

tôi đã sơ bộ nhận thấy cao thu được từ hai loại dung môi là ethanol 70% và methanol là có hiệu quả kháng khuẩn tốt nhất (bảng 1). Tuy nhiên, để so sánh chi tiết hơn và tìm ra được chính xác dung môi ưu việt nhất, chúng tôi tiếp tục tiến hành pha loãng hai loại cao này đến những nồng độ thấp hơn, bao gồm: 50; 25; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39; 0,2 và 0,1 mg/ml; và thử nghiệm khả năng ức chế vi khuẩn của cả những nồng độ thấp hơn này theo phương pháp khuếch tán trên thạch. Căn cứ vào sự xuất hiện hay không xuất hiện vòng vô khuẩn, chúng tôi có thể so sánh chi tiết hơn hoạt tính kháng khuẩn của hai loại cao tại mỗi nồng độ. Kết quả cụ thể được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Sự hình thành vòng vô khuẩn của dịch chiết bồ công anh với hai dung môi ethanol 70% và methanol tại các nồng độ khác nhau

Dược liệu	Vi khuẩn	Cao khô dịch chiết sử dụng dung môi	Sự xuất hiện của vòng vô khuẩn									
			Hệ số pha loãng dịch chiết (nồng độ tương ứng- mg/ml)									
			1/2 (50)	1/4 (25)	1/8 (12,5)	1/16 (6,25)	1/32 (3,13)	1/64 (1,56)	1/128 (0,78)	1/256 (0,39)	1/512 (0,2)	1/1024 (0,1)
Bồ công anh	Sta. spp	Ethanol 70%	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
		Methanol	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Strep. spp	Ethanol 70%	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
		Methanol	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ghi chú:(+): có vòng vô khuẩn rõ, (±): có vòng vô khuẩn nhưng không rõ, (-): không có vòng vô khuẩn, Sta: *Staphylococcus*, Strep: *Streptococcus*

Kết quả bảng 2 cho thấy so với dịch chiết methanol, dịch chiết ethanol 70% khi pha loãng đến các nồng độ thấp hơn vẫn cho tác dụng ức chế sự phát triển của vi khuẩn (thể hiện ở việc có tạo ra đường kính vòng vô khuẩn). Cụ thể, dịch chiết ethanol pha loãng đến nồng độ 6,25 mg/ml vẫn có tác dụng ức chế vi khuẩn *Streptococcus* và pha loãng đến nồng độ 3,13 mg/ml vẫn có tác dụng ức chế vi khuẩn *Staphylococcus*; trong khi dịch chiết methanol pha loãng đến các nồng độ này thì không còn tác dụng ức chế nữa. Kết hợp với bảng 1, chúng tôi kết luận rằng dung môi ethanol 70% là

dung môi ưu việt nhất để chiết xuất các thành phần có tác dụng kháng khuẩn từ cây bồ công anh. Kết quả này tương đồng với các công bố trước đây của Wang *et al.* (2014) và Nguyen Thanh Hai *et al.* (2018). Cũng theo các tác giả này, sở dĩ ethanol thường đem lại hiệu quả tốt trong chiết xuất thực vật bởi dung môi này có độ tương thích và khả năng hòa tan tốt nhiều thành phần có hoạt tính của thảo dược. Căn cứ vào kết quả này, chúng tôi quyết định sử dụng dung môi ethanol 70% để chiết xuất cao trong các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Khảo sát khả năng ức chế vi khuẩn *Streptococcus* spp. và *Staphylococcus* spp. của nano bạc

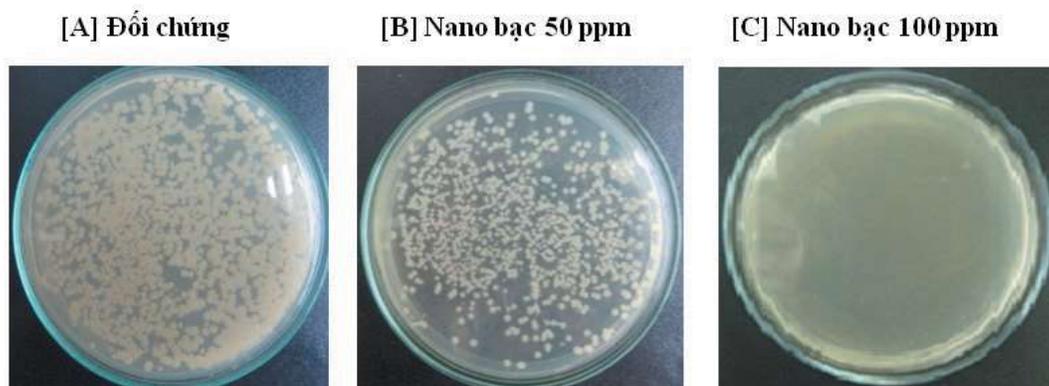
Trong thí nghiệm này, nano bạc được pha loãng đến các nồng độ khác nhau rồi trộn trực

tiếp với canh khuẩn và cấy trên môi trường thạch. Sau 24 giờ nuôi cấy, đĩa thạch được lấy ra để quan sát và đánh giá mức độ phát triển của vi khuẩn so với đĩa đối chứng. Kết quả được thể hiện ở bảng 3 và hình 1.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nano bạc tại các nồng độ khác nhau lên sự hình thành khuẩn lạc của vi khuẩn *Streptococcus* spp. và *Staphylococcus* spp.

Vi khuẩn	Đối chứng	Hệ số pha loãng nano bạc (nồng độ nano bạc tương ứng - ppm)			
		2 ⁰ (100)	2 ⁻¹ (50)	2 ⁻² (25)	2 ⁻³ (12,5)
<i>Streptococcus</i> spp.	Phát triển tốt	Có	Có	Không	Không
<i>Staphylococcus</i> spp.	Phát triển tốt	Có	Có	Không	Không
Đối chứng	100 ppm	50 ppm	25 ppm		

Ghi chú: Không: Sự phát triển của các khuẩn lạc là không khác biệt so với đĩa đối chứng, Có: Sự phát triển của các khuẩn lạc là có khác biệt so với đĩa đối chứng.



Hình 1. Khuẩn lạc *Staphylococcus* spp. mọc trên đĩa [A] đối chứng và có thêm nano bạc với nồng độ [B] 50ppm và [C] 100 ppm

Kết quả cho thấy tại nồng độ 100 ppm và 50 ppm, nano bạc có làm giảm số lượng khuẩn lạc quan sát được trên đĩa thí nghiệm (so với đĩa đối chứng không có nano bạc) (bảng 3 và hình 1). Tuy nhiên ở nồng độ từ 25 ppm trở xuống, nano bạc không còn tạo ra bất cứ ảnh hưởng gì lên sự phát triển của vi khuẩn nữa. Đối chiếu với nghiên cứu trước đây của Nguyen Thanh Hai *et al.* (2018), chúng tôi nhận thấy vi khuẩn *Staphylococcus* spp. và *Streptococcus* spp. đề kháng mạnh với nano bạc hơn vi khuẩn

Xanthomonas oryzae pv. *Oryzae* (bị ức chế tại nồng độ 6,25 ppm). Từ kết quả thí nghiệm này, chúng tôi quyết định sử dụng nồng độ 25 ppm để khảo sát tác dụng hiệp đồng của nano bạc với dịch chiết dược liệu ở các thí nghiệm tiếp theo, bởi bản thân nano bạc tại nồng độ này là không gây ảnh hưởng lên vi khuẩn *Staphylococcus* spp. và *Streptococcus* spp.

3.3. Khảo sát tác dụng ức chế vi khuẩn khi phối hợp nano bạc với dịch chiết

Trong thí nghiệm này, nano bạc được sử dụng ở nồng độ 25 ppm và trộn với dịch chiết tại các nồng

độ khác nhau thành tổng dung lượng là 100 μ l. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Sự hình thành vòng vô khuẩn khi sử dụng nano bạc 25 ppm kết hợp với dịch chiết bồ công anh (dung môi ethanol 70%) tại các nồng độ khác nhau

Vi khuẩn	Nano bạc	Hệ số pha loãng dịch chiết (nồng độ tương ứng - mg/ml)									
		1/2 (50)	1/4 (25)	1/8 (12,5)	1/16 (6,25)	1/32 (3,13)	1/64 (1,56)	1/128 (0,78)	1/256 (0,39)	1/512 (0,20)	1/1024 (0,10)
<i>Staphylococcus</i>	Không	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Có	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Streptococcus</i>	Không	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Có	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Ghi chú: (+): có quan sát thấy đường kính vòng vô khuẩn; (-): không quan sát thấy đường kính vòng vô khuẩn

Từ bảng 4, chúng tôi thấy việc bổ sung nano bạc vào dịch chiết dược liệu bồ công anh làm tăng khả năng ức chế vi khuẩn của dịch chiết. Cụ thể: khi sử dụng riêng dịch chiết bồ công anh thì tại nồng độ 0,39 mg/ml, chúng tôi đã không còn quan sát thấy sự xuất hiện của vòng vô khuẩn đối với vi khuẩn *Streptococcus* spp. nữa. Tuy nhiên, khi có sự kết hợp với nano bạc thì tại nồng độ này và cả nồng độ thấp hơn (0,2 mg/ml), dịch chiết vẫn còn tạo được vòng vô khuẩn trên vi khuẩn *Streptococcus* spp. Kết quả thí nghiệm này của chúng tôi tương đồng với các nghiên cứu trước đây, trong đó khẳng định tác dụng hiệp đồng của nano bạc với dịch chiết trà không (*Piper betle*) (Gioi *et al.*, 2017), sài đất (*Wedelia chinensis* Osbeck Merr), mò hoa trắng (*Clerodendrum viscosum* Vent.), đơn mặt trời (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.), huyền diệp (*Polyathia longifolia* var. *Pendula*) và tô mộc (*Caesalpinia sappan* L) (Nguyen Thanh Hai *et al.*, 2018) trên vi khuẩn gây bệnh.

Các đặc tính kháng khuẩn của bạc bắt nguồn từ tính chất hóa học của ion Ag^{2+} . Ion này có khả năng liên kết mạnh với peptidoglycan, là thành phần cấu tạo nên lớp

vỏ của tế bào vi khuẩn, đồng thời ức chế khả năng vận chuyển oxy vào bên trong tế bào và do đó kìm hãm hoặc tiêu diệt chúng. Theo cách này, sự hiệp đồng của nano bạc với dịch chiết có thể được giả thiết là do nano bạc có kích thước nhỏ, có khả năng liên kết mạnh và phá vỡ đi tính tự vệ của cấu trúc thành tế bào, giúp các tác nhân kháng khuẩn khác như phytoncid của dược liệu dễ xâm nhập vào bên trong tế bào vi khuẩn và phát huy tác dụng (Patra JK và Baek KH, 2017).

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

- Kết luận: Từ các kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy việc bổ sung nano bạc (liều 25 ppm) vào dịch chiết bồ công anh - ethanol tạo ra tác dụng hiệp đồng, tăng cường được khả năng ức chế vi khuẩn của thảo dược trên vi khuẩn *Staphylococcus* spp. và *Streptococcus* spp. phân lập từ dịch viêm tử cung bò.

- Kiến nghị: Cần có các nghiên cứu tiếp theo tiến hành thử nghiệm lâm sàng trên bò mắc bệnh viêm tử cung, nhằm khảo sát tác dụng hiệp đồng giữa dịch chiết bồ công anh với nano bạc trên *in vivo*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmed F., Saxena M. và Maini S, 2014. A herbal intrauterine infusion “Araskshaliquid” for treatment of reproductive disorders in cows. *The International Journal of Pharmaceutical Research and Bioscience*. 3(2): 42-48.
2. Chao Li, Xiansong Wang, Feng Chen, Chunlei Zhang, Xiao Zhi, Kan Wang, Daxiang Cui, 2013. The antifungal activity of graphene oxide-silver nanocomposites. *Biomaterials*. 34:3882–3890.
3. Cowan MM., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 12: 564-82.
4. Do Q.D., Angkawijaya A. E., Tran-Nguyen P. L., 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22(3): 296–302.
5. Gioi D. H. and Hai N. T., 2017. Antibacterial effect of the silver nanoparticles and Piper betle leaf extracts on *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* which cause bacterial leaf blight of rice. *Science and Technology Journal of Agriculture and Rural Development*. 3(4): 49-57.
6. Haimerl P., Arlt S., Borchardt S., 2017. Heuwieser W. Antibiotic treatment of metritis in dairy cows – A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*. 100(5): 3783 – 3795.
7. Kchaou W., Abbes F., Blecker C., Attia H. and S. Besbes, 2013. Effects of extraction solvents on phenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *Industrial Crops and Products*. 45: 262–269.
8. Marquez A., Gonzalez M., Bonges H., Juarez M, 2007. Effects of intrauterine administration *Montanoa tomentosa* extracts upon postpartum metritis in dairy cows. *Cameroon Journal of experimental Biology*. 3(1): 46-49.
9. Nguyen Thanh Hai , Dang Hoang Trang and Nguyen Thi Thanh Ha, 2018. Herbal extracts in combination with nanosilver inhibit blight disease caused by *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* in rice. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*. 1(4): 270-280.
10. Nguyễn Thị Thanh Hà, Nguyễn Thanh Hải, Nguyễn Nam Phương, Nguyễn Văn Thanh, 2017. Tác dụng diệt khuẩn *in vitro* của cao khô dịch chiết thảo dược trên vi khuẩn *Staphylococcus* spp. và *Streptococcus* spp. phân lập từ dịch viêm tử cung bò. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 15(7): 876-884.
11. Patra JK and Baek KH, 2017. Antibacterial activity and synergistic antibacterial potential of biosynthesized silver nanoparticles against foodborne pathogenic bacteria along with its anticandidal and antioxidant effects. *Front Microbiology*. 8: 167.
12. Rokhsareh Sadeghi, Parviz Owlia, Roya Yaraee, Fatemeh Sharif, Ferial Taleghani, 2012. An *in vitro* assessment of antimicrobial and cytotoxic effects of nanosilver. *J Med Bacteriol*. 1(3,4): 44-52.
13. Sarkar S. và R.L.Stoms, 2006. Biodiversity conservation planning tools: Present status and challenges for the future. *Annual review of Environment and resources*. 311: 123-159.
14. Wang Y. L., Li P., Guo K. J., Chen L. Y. and Tong Q., 2014. Isolation and identification of chemical constituents of *Excoecaria cochinchinensis* Lour. *Natural Product Research and Development*. 1: 47-49.

Ngày nhận 11-7-2020

Ngày phản biện 2-8-2020

Ngày đăng 1-11-2020