

Xây dựng qui trình định lượng 6 loài *Lactobacillus* trong chế phẩm sinh học (*L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*)

Trần Thị Ánh Nguyệt^{1*}, Vũ Diệu Thu, Lê Văn Khánh,
Phùng Đức Duy, Nguyễn Uyên Vy, Đỗ Thị Phượng

¹Trung tâm Kỹ thuật Đo lường Chất lượng 3, PTN Vi sinh –
GMO, Hồ Chí Minh, Việt Nam

Tóm tắt

Hiện nay, chế phẩm sinh học (probiotic) đã và đang được sử dụng ngày càng phổ biến trong nhiều lĩnh vực khác nhau. Việc kiểm soát số lượng lợi khuẩn trong các sản phẩm probiotic là cần thiết vì mỗi sản phẩm cần duy trì mật độ lợi khuẩn tối thiểu mới có thể phát huy tác dụng. Việc công bố và đánh giá chất lượng các sản phẩm chế phẩm sinh học chứa *Lactobacillus* hiện nay còn nhiều hạn chế do các kỹ thuật xác nhận đến loài chưa đáp ứng. Nghiên cứu này nhằm xây dựng qui trình định lượng 6 loài *Lactobacillus* chính dùng trong chế phẩm sinh học bao gồm *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*. Qui trình tổng thể bao gồm 2 bước: định lượng *Lactobacillus* spp. sử dụng môi trường thạch MRS và khẳng định tới loài *Lactobacillus* bằng phương pháp MALDI TOF MS. Phương pháp MALDI TOF MS được kiểm tra xác nhận trên 27 chủng *Lactobacillus* có nguồn gốc khác nhau, bao gồm 9 chủng có nguồn gốc ATCC và 18 chủng phân lập từ các mẫu probiotic đã được xác nhận trước bằng bộ kit API[®]50 CHL hoặc giải trình tự 16S rRNA và một số các chủng khác thường được sử dụng trong mẫu probiotic. Kết quả cho thấy độ chọn lọc mục tiêu, độ chọn lọc loại trừ đều cho kết quả 100% phù hợp. Kết quả xác nhận giá trị sử dụng phương pháp định lượng tới loài *Lactobacillus* thông qua nghiên cứu nhiều yếu tố cho thấy phương pháp đạt yêu cầu về độ đúng tương đối, độ chính xác, độ chụm nội bộ S_{IR} với S_{IR} dao động từ 0.09 đến 0.15 đối với từng loài *Lactobacillus* được nghiên cứu. Như vậy, phương pháp đã xây dựng đáp ứng các yêu cầu về mặt kỹ thuật

Từ khóa: *Lactobacillus*, MALDI TOF.

* Tác giả liên hệ: Trần Thị Ánh Nguyệt (E-mail: nguyet.tta@quatest3.com.vn, SĐT:0909142994)/

* Corresponding author: Tran Thi Anh Nguyet (E-mail: nguyet.tta@quatest3.com.vn./Tel: 0909142994)

Developing a quantification method for enumerating six major *Lactobacillus* species in probiotic products (*L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*)

Tran Thi Anh Nguyet^{1†}, Vu Dieu Thu, Le Van Khanh,

Phung Duc Duy, Nguyen Uyen Vy, Do Thi Phuong

¹ Quality Assurance And Testing Center 3, Microbiology GMO
Laboratory, Ho Chi Minh, Viet Nam

Abstract

Currently, probiotics have been increasingly used in many different fields, especially *Lactobacillus* strains. It is essential to control the number of beneficial microorganisms in probiotic products, as each product must maintain a minimum concentration of target strains to be effective. The publication and evaluation of the quality of probiotic products containing *Lactobacillus* are currently limited due to the lack of precise species-level identification techniques. This study aims to develop a quantification method for enumerating 6 major *Lactobacillus* species commonly used in probiotics including *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*. The overall process involves 2 steps: quantification of *Lactobacillus* spp. using MRS agar and confirmation of *Lactobacillus* at species level by MALDI TOF MS. The verification of confirmation method by using MALDI TOF MS was conducted on 27 different *Lactobacillus* strains, including 9 ATCC strains and 18 isolated strains from various probiotics sources, which had been previously confirmed at species level by using the API®50 CHL kit or 16S rRNA sequencing and other strains which often use in the probiotic. The results demonstrated that both inclusivity and exclusivity tests showed 100% concordance. The validation of the quantitative method for enumerating *Lactobacillus* species through factorial study revealed that the method met the requirements for relative trueness, accuracy profile, in-house precision (S_{IR}) with S_{IR} value ranging from 0.09 to 0.15 for each studied *Lactobacillus* species. In conclusion, the developed method met the technical requirements.

Keywords: *Lactobacillus*, MALDI TOF.

† Tác giả liên hệ: Trần Thị Ánh Nguyệt (E-mail: nguyet.tta@quatest3.com.vn, SĐT:0909142994)/

* Corresponding author: Tran Thi Anh Nguyet (E-mail: nguyet.tta@quatest3.com.vn./Tel: 0909142994)