

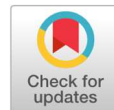


ISSN : 1859-1779

Nghiên cứu Dược học

Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh - Dược học;28(9):26-35

<https://doi.org/10.32895/hcjm.p.2025.09.03>



Nghiên cứu tác dụng của tinh dầu Bưởi trên sự xâm nhập tế bào của *Candida albicans*

Nguyễn Bảo Nghi¹, Hoàng Minh Quân², Lê Thu Hoài¹, Nguyễn Phước Vinh³,
Nguyễn Vũ Giang Bắc^{2,*}

¹Trung tâm Y sinh học phân tử, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Dược, Đại học Y Dược Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Khoa Dược, Trường Đại học Sức Khỏe, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Tóm tắt

Đặt vấn đề: *Candida albicans* là vi nấm đa hình, có khả năng bám dính và xâm nhập vào tế bào vật chủ để gây bệnh. Trong tình hình đề kháng gia tăng ở *C. albicans*, việc nghiên cứu tác dụng của các chất tự nhiên thay thế các chất kháng nấm là cần thiết. Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu về tác động của tinh dầu lên quá trình xâm nhiễm tế bào của vi nấm *C. albicans*.

Mục tiêu: Khảo sát tác dụng của tinh dầu Bưởi trên sự xâm nhập tế bào của *Candida albicans* bằng hai mô hình trước và sau khi tế bào bị xâm nhiễm bởi vi nấm.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu tiến hành khảo sát sự xâm nhiễm của *C. albicans* trên 2 dòng tế bào HEK (có nguồn gốc từ thận người) và tế bào A549 (tế bào biểu mô phổi người) dưới sự có mặt của tinh dầu Bưởi. Độc tính tế bào được đánh giá bằng phương pháp MTT và nhuộm PI, trong khi mức độ xâm nhập của vi nấm được định lượng bằng phương pháp đếm sống.

Kết quả: Tinh dầu Bưởi ở nồng độ $\geq 0,05\%$ có tác dụng làm tổn thương màng của tế bào động vật tùy thuộc vào nồng độ. Trên mô hình tiền xâm nhiễm, tinh dầu Bưởi có ái lực với vi nấm hơn tế bào động vật và tinh dầu ở nồng độ 0,1% cho tác dụng bảo vệ tế bào động vật hơn. Trên mô hình sau xâm nhiễm, tác dụng của tinh dầu lên vi nấm yếu hơn trên mô hình tiền xâm nhiễm, cho thấy quá trình xâm nhiễm giúp vi nấm chống lại tác dụng của tinh dầu Bưởi.

Kết luận: Tinh dầu Bưởi thể hiện hiệu quả kháng nấm trên cả hai mô hình thử nghiệm. Những kết quả này khẳng định tiềm năng ứng dụng của tinh dầu Bưởi như một tác nhân hỗ trợ trong phòng ngừa và điều trị nhiễm *C. albicans*.

Từ khóa: *C. albicans*, tinh dầu Bưởi; kháng nấm; mô hình xâm nhiễm; vi nấm

Ngày nhận bài: 25-08-2025 / Ngày chấp nhận đăng bài: 04-11-2025 / Ngày đăng bài: 15-11-2025

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Vũ Giang Bắc. Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam. E-mail: nguyenvugiangbac@ump.edu.vn

© 2025 Bản quyền thuộc về Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh.

Abstract

EVALUATION OF GRAPEFRUIT ESSENTIAL OIL ON HOST CELL INVASION BY *CANDIDA ALBICANS*

Nguyen Bao Nghi, Hoang Minh Quan, Le Thu Hoai, Nguyen Phuoc Vinh, Nguyen Vu Giang Bac

Background: *Candida albicans* is a polymorphic fungus capable of adhering to and invading host cells to cause infection. With the rising resistance of *C. albicans*, studying the effects of natural substances as alternatives to antifungal agents is necessary. However, few studies have examined the impact of essential oils on the cell invasion process of *C. albicans*.

Objective: To investigate the effect of grapefruit essential oil on the cell invasion of *Candida albicans* using two models: before and after host cell infection.

Materials and methods: The study evaluated the invasion of *C. albicans* in two cell lines: HEK (derived from human kidney) and A549 (human lung epithelial cells), in the presence of grapefruit essential oil. Cytotoxicity was assessed using the MTT assay and PI staining, while fungal invasion was quantified using viable cell counting.

Results: Grapefruit essential oil at concentrations $\geq 0.05\%$ caused membrane damage in animal cells in a dose-dependent manner. In the pre-invasion model, grapefruit essential oil exhibited greater affinity for the fungus than for host cells, with 0.1% concentration showing better protective effects on host cells. In the post-invasion model, the antifungal effect of the essential oil was weaker compared to the pre-invasion model, suggesting that the invasion process enables the fungus to resist the activity of grapefruit essential oil.

Conclusion: Grapefruit essential oil demonstrated antifungal activity in both experimental models. These findings confirm the potential application of grapefruit essential oil as a supportive agent in the prevention and treatment of *C. albicans* infections.

Keywords: *C. albicans*; grapefruit essential oil; antifungal; invasion model; yeast

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Candida albicans là nấm men cơ hội phổ biến, sống hoại sinh trong hệ vi sinh vật ở người, đặc biệt tại niêm mạc miệng, âm đạo và đường tiêu hóa. Trong điều kiện bình thường, *C. albicans* tồn tại ở dạng nấm men và ít gây ảnh hưởng đến chất lượng sống của con người. Tuy nhiên, khi hệ miễn dịch bị suy giảm hoặc cân bằng vi sinh bị phá vỡ, *C. albicans* có thể chuyển sang trạng thái gây bệnh. Đặc điểm của *C. albicans* là khả năng chuyển dạng hình thái từ nấm men sang dạng sợi nấm (hyphae) hoặc giả sợi (pseudohyphae). Dạng sợi này có khả năng bám dính mạnh vào tế bào chủ, tiết enzym ngoại bào như phospholipase, protease và hemolysin, từ đó phá vỡ hàng rào bảo vệ của biểu mô và xâm nhập sâu vào mô [1,2]. Quá trình xâm nhập này đóng vai trò quan trọng trong cơ chế gây bệnh, dẫn đến các bệnh lý nấm niêm mạc (như tưa miệng, viêm âm đạo do nấm) và thậm chí là nhiễm nấm huyết trong trường hợp nghiêm trọng [3].

Trong bối cảnh hiện nay, các thuốc kháng nấm được sử dụng trong điều trị *C. albicans* chủ yếu thuộc nhóm azol, polyen và echinocandin. Tuy nhiên, việc sử dụng kéo dài và rộng rãi các thuốc này đã dẫn đến sự xuất hiện của các chủng kháng thuốc, đồng thời làm gia tăng nguy cơ tác dụng phụ không mong muốn trên gan, thận hoặc gây rối loạn vi sinh vật bình thường [4,5]. Do đó, việc tìm kiếm và phát triển các hoạt chất tự nhiên có khả năng kháng nấm, an toàn và ít độc tính hơn đang trở thành một hướng nghiên cứu triển vọng.

Trong số các nguồn nguyên liệu tự nhiên, tinh dầu thực vật từ lâu đã được biết đến với nhiều hoạt tính sinh học đa dạng như kháng khuẩn, kháng nấm, chống viêm và chống oxy hóa [6,7]. Đặc biệt, tinh dầu Bưởi (*Citrus maxima*) là một trong những loại tinh dầu phổ biến ở Việt Nam và nhiều quốc gia châu Á, có giá trị ứng dụng cao cả trong dược phẩm, mỹ phẩm và thực phẩm. Thành phần hóa học chính của tinh dầu Bưởi bao gồm limonene, linalool, pinene, citral và một số hợp chất terpenoid khác [8]. Nhiều nghiên cứu trước đây

đã chỉ ra rằng các hợp chất này có khả năng phá vỡ màng tế bào vi sinh vật, ức chế sự phát triển và giảm khả năng sinh độc tố [9,10]. Tuy nhiên, các bằng chứng về tác động trực tiếp của tinh dầu Bưởi đối với cơ chế xâm nhập tế bào của *C. albicans* còn khá hạn chế.

Do đó, tác dụng của tinh dầu Bưởi lên sự xâm nhiễm vào tế bào của *C. albicans* được nghiên cứu ở 2 giai đoạn xâm nhiễm: thử nghiệm tiền xâm nhiễm khi vi nấm và tế bào được cho tiếp xúc cùng lúc với tinh dầu Bưởi, thử nghiệm hậu xâm nhiễm khi vi nấm được cho xâm nhiễm vào tế bào trong 2 giờ, sau đó tiếp xúc với tinh dầu Bưởi.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chủng vi sinh vật: *Candida albicans* ATCC 10231 được lưu trữ tại Bộ môn Vi sinh - Ký sinh, trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

Dòng tế bào: HEK293T (ATCC CRL-3216) và A549 (ATCC CCL-185) được lưu trữ tại Trung tâm Y sinh học phân tử, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị vi nấm và chất kháng nấm

Vi nấm được lưu trữ trong tủ âm sâu ở nhiệt độ -80 °C. Vi nấm được cấy phân lập trên đĩa thạch Yeast Peptone Glucose (YPG) Agar, ủ ở nhiệt độ 37 °C trong 48 giờ. Sau đó, tăng sinh vi nấm bằng cách lấy 1-3 khuẩn lạc thuần trên hộp thạch YPG chuyển vào môi trường YPG lỏng, sau đó đem ủ ở 37 °C trong 24 giờ. Chuẩn bị dịch treo vi nấm trong nước muối sinh lý 0,85% NaCl chứa 0,05% Tween 80, điều chỉnh mật độ vi nấm bằng cách đo mật độ quang học ở bước sóng 530 nm đến giá trị OD = 0,08 - 0,12 tương ứng với $1 - 2 \times 10^6$ tế bào/mL.

Tinh dầu Bưởi được chiết xuất bằng phương pháp cất kéo theo hơi nước và được xác định thành phần bằng phương pháp sắc ký khí kết hợp khối phổ (kết quả chưa công bố của cùng nhóm nghiên cứu) trong đó, tinh dầu Bưởi chứa > 35% limonen. Tinh dầu Bưởi được thử độc tính và khả năng

kháng nấm trên mô hình tế bào ở nồng độ khảo sát sau: 0,2%, 0,1%, 0,05%, và 0,025%.

2.2.2. Chuẩn bị tế bào thử nghiệm trên đĩa 96 giếng

Trong nghiên cứu này, tế bào thận phôi người HEK293T và tế bào ung thư phổi biểu mô tuyến của người A549 được sử dụng để khảo sát độc tính và khả năng kháng nấm của tinh dầu Bưởi.

Các dòng tế bào được nuôi duy trì và thử nghiệm trong môi trường Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Gibco, Mỹ) nồng độ đường cao có bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò (Fetal bovine serum - FBS) (Sigma Aldrich, Mỹ) 1% kháng sinh Penicillin-Streptomycin (eLabscience, Mỹ) và 2 mM L-glutamin (eLabscience, Mỹ) ở điều kiện 5% CO₂ ở nhiệt độ 37 °C.

Các dòng tế bào được nuôi cấy trong đĩa nuôi cấy tế bào 100 mm trong môi trường DMEM đã mô tả và sau khi đạt đến độ phủ khoảng 80%, tế bào được bóc tách bằng enzym 0,05 %Trypsin-EDTA để thu tế bào huyền phù. Tế bào sau khi thu được đếm mật độ trên buồng đếm hồng cầu. Mật độ gieo cấy mỗi giếng 96 giếng là 10^4 tế bào/giếng. Sau khi gieo, đĩa tế bào sẽ được đem đi ủ trong điều kiện 5% CO₂ ở nhiệt độ 37 °C đến khi độ phủ đạt 70-80%, thì tiến hành thử nghiệm các thí nghiệm sau [11].

2.2.3. Thử nghiệm khả năng kháng nấm trên mô hình tế bào

Khả năng kháng nấm tại giai đoạn tiền xâm nhiễm (Mô Hình 1)

Pha loãng *C. albicans* từ dịch nuôi qua đêm đến mật độ là 10^5 tế bào/mL trong môi trường nuôi cấy DMEM hoàn chỉnh. Sau đó, dịch vi nấm pha loãng được xử lý với tinh dầu Bưởi ở các nồng độ khảo sát. Đĩa tế bào sau khi đạt đến độ phủ yêu cầu sẽ tiến hành loại bỏ dịch nuôi cũ trong các giếng. Tiếp theo, cho 100 µL dịch vi nấm có bổ sung tinh dầu Bưởi vào các giếng tế bào, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 giếng. Ủ tế bào, vi nấm và tinh dầu chung với nhau trong 2 giờ trong điều kiện 5% CO₂ ở nhiệt độ 37 °C. Sau gây nhiễm, tế bào được quan sát trước và sau khi xử lý bằng kính hiển vi, xác định số lượng vi nấm nhiễm bằng phương pháp đếm khuẩn lạc đơn (CFU) trên môi trường thạch YPG. Ngoài ra, hoạt tính của tinh dầu Bưởi còn được ghi nhận bằng đánh giá mức độ

sống chết của tế bào nuôi cấy bằng phương pháp MTT và PI.

Khả năng kháng nấm tại giai đoạn sau nhiễm (Mô hình 2)

Tiến hành pha loãng dịch vi nấm *C. albicans* như đã mô tả phía trên. Loại bỏ dịch nuôi cũ trong từng giếng tế bào. Sau đó, cho 100 µL dịch vi nấm pha loãng vào các giếng, ủ trong tủ ẩm CO₂ trong 2 giờ. Quan sát sự thay đổi tế bào trước và sau khi xâm nhiễm bởi tế bào vi nấm dưới kính hiển vi. Sau khi để nấm xâm nhiễm trong 2 giờ, các giếng được rửa lại bằng PBS 1X 2 lần và tiến hành cho tinh dầu Bưởi đến nồng độ cuối cần khảo sát vào giếng tế bào, mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Tiếp đến đem đĩa tế bào có/không bổ sung tinh dầu Bưởi ủ trong 2 giờ trong điều kiện 5% CO₂ ở nhiệt độ 37 °C. Sau đó tiến hành các bước rửa, thu tế bào và tiến hành các thử nghiệm đánh giá số lượng vi nấm còn sống (CFU) và mức độ sống chết của tế bào bằng phương pháp MTT và PI như mô hình 1.

2.2.4. Xác định số lượng vi nấm *C. albicans* bằng phương pháp đếm sống

Sau các thử nghiệm hoạt tính theo mô hình 1 và 2, tiến hành rửa bỏ các tế bào vi nấm không xâm nhiễm/không bám trên tế bào bằng 100 µL PBS 1X, lặp lại bước rửa 2 lần. Tiếp đó, cho 30 µL dung dịch 0,05% Trypsin-EDTA vào các giếng tế bào, ủ trong 5 phút ở 37 °C nhằm thu các tế bào bám còn lại. Lốp tế bào bóc tách được thu trong ống eppendorf, sau đó tiến hành pha loãng liên tục và 100 µL của 2 nồng độ pha loãng cuối được trải đều trên đĩa thạch YPG để tạo khuẩn lạc đơn (CFU). Đĩa YPG sau khi trải được đem ủ ở nhiệt độ 37 °C, qua đêm. Số lượng tế bào vi nấm xâm nhiễm được xác định bằng cách đếm số lượng xuất hiện trên đĩa và so sánh với nhóm chứng âm [12].

2.2.5. Đánh giá mức độ sống của tế bào bằng thử nghiệm MTT

Thử nghiệm độc tính của tinh dầu Bưởi trên mô hình tế bào

Thử nghiệm MTT được thực hiện theo hướng dẫn của Tolesa và cộng sự [13] với một số điều chỉnh. Tinh dầu Bưởi được pha loãng trong môi trường nuôi cấy DMEM hoàn chỉnh để đạt được nồng độ khảo sát như trên. Đĩa tế bào sau khi đạt được độ phủ hơn 70%, tiến hành loại bỏ môi trường nuôi cũ. Sau đó, cho vào 100 µL dung dịch tinh dầu Bưởi pha loãng vào giếng, mỗi nồng độ được lặp lại 3 lần. Đối chứng âm là giếng được cho vào môi trường nuôi DMEM

thay vì tinh dầu Bưởi. Đĩa thử nghiệm được ủ trong 5% CO₂, 37 °C. Độc tính của tinh dầu Bưởi được khảo sát trong thời gian ngắn là 2 giờ.

Sau ủ, loại bỏ dịch thử và rửa lại bằng 100 µL dịch đệm PBS 1X. Sau đó cho vào 100 µL dung dịch thử MTT (0,5 mg/mL) đã được pha loãng trong DMEM. Đĩa được ủ trong 4 giờ trong tủ ẩm CO₂ để tạo tinh thể formazan. Tiếp đó, loại bỏ dung dịch nhuộm MTT và hoà tan tinh thể tím bằng dung môi DMSO 100% trên máy lắc biên độ trong 15 phút đến khi hoà tan hết tinh thể. Ghi nhận sự khác biệt về khả năng sống của tế bào bằng máy đo mật độ quang học (Varioskan LUX, Thermo Fisher) ở bước sóng 570 nm.

Mức độ sống của tế bào được tính theo công thức sau:

$$\frac{OD_{mẫu thử}}{OD_{chứng âm}} \times 100\%$$

Đánh giá mức độ sống của tế bào trước sự xâm nhiễm của vi nấm

Sau mỗi mô hình, các giếng được rửa ba lần bằng dung dịch PBS 1X. Sau đó, thực hiện các bước thực hiện thử nghiệm MTT như mô tả phía trên.

2.2.6. Đánh giá mức độ tổn thương màng tế bào bằng thử nghiệm Propidium iodide (PI)

Propidium iodide (PI) là một thuốc nhuộm huỳnh quang liên kết với DNA nhưng không thể xuyên qua màng tế bào nguyên vẹn. Do đó, PI thường được sử dụng để đánh giá tính toàn vẹn của màng tế bào và xác định các tế bào chết hoặc bị tổn thương màng [14]. Để kiểm tra khả năng xâm nhập của *C. albicans* vào tế bào người cũng như tác động của tinh dầu Bưởi lên đối tượng nghiên cứu, sự khuếch tán của PI sau khi nhiễm vi nấm có và không xử lý thuốc được theo dõi. Quy trình thực hiện được tham khảo theo Crowley và cộng sự [15]. Đĩa chứa các tế bào đã nhiễm theo mô hình trên được rửa hai lần bằng dung dịch PBS 1X, sau đó 50 µL dung dịch PI (10 µg/mL) được thêm vào mỗi giếng. Đĩa được ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút trong điều kiện lắc nhẹ và tránh ánh sáng. Sau thời gian ủ, tín hiệu huỳnh quang được ghi nhận tại bước sóng 488 - 617 nm bằng máy đo tín hiệu huỳnh quang (Varioskan LUX, Thermo Fisher). Chứng âm là tế bào động vật không nhiễm vi nấm và không được tiếp xúc với tinh dầu Bưởi.

2.2.7. Đánh giá thống kê

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần độc lập. Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm GraphPad Prism (phiên bản 9.0) trên hệ điều hành Windows (La Jolla, CA). Phép phân tích phương sai một chiều (one-way ANOVA) được sử dụng để so sánh dữ liệu giữa nhóm xử lý và nhóm không xử lý tại các nồng độ khác nhau.

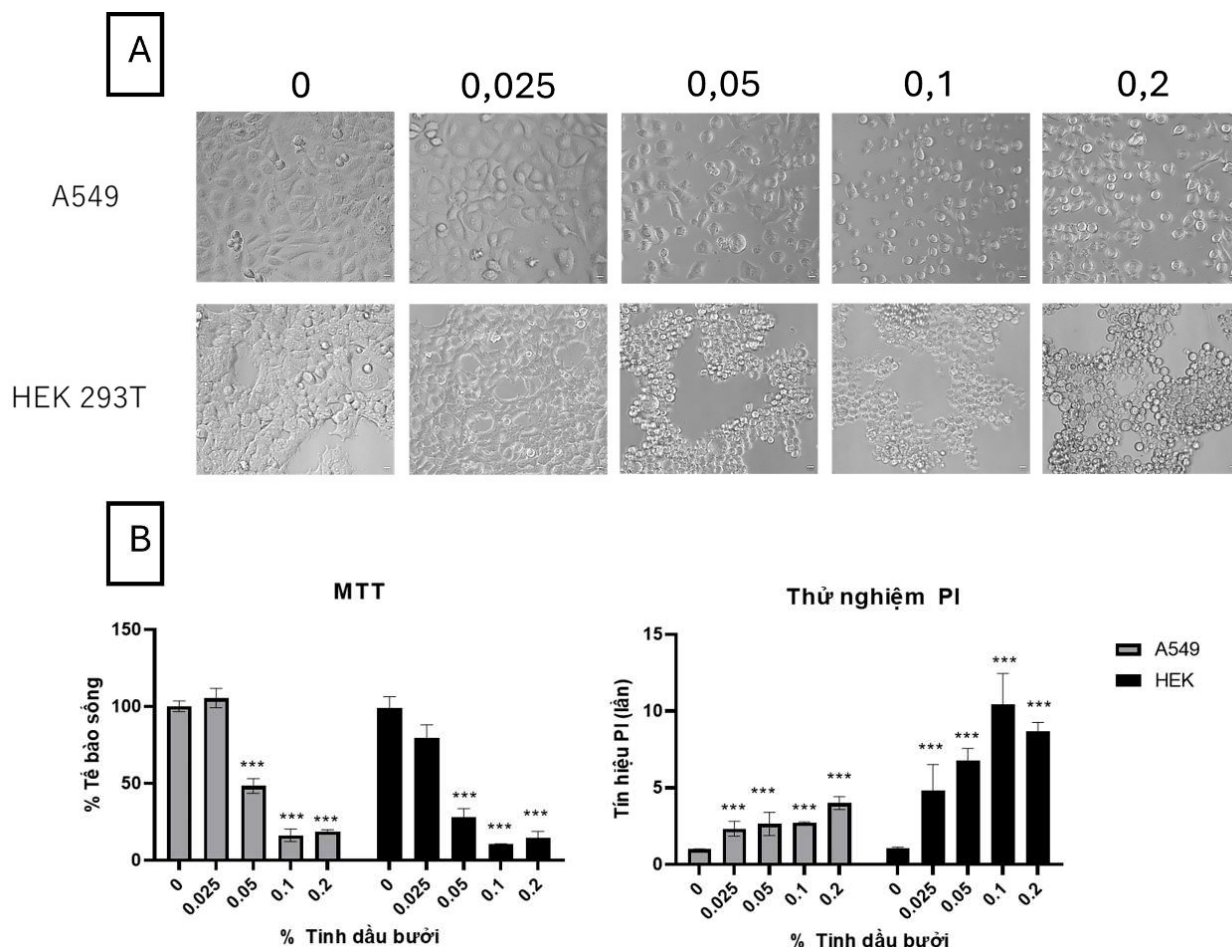
3. KẾT QUẢ

3.1. Hoạt tính của tinh dầu Bưởi trên tế bào HEK và A549

Hình thái tế bào sau khi tiếp xúc với tinh dầu Bưởi trong 2 giờ được trình bày trong Hình 1A. Sau đó tỷ lệ sống của tế bào được khảo sát bằng thử nghiệm MTT và mức độ toàn vẹn của tế bào được khảo sát bằng thử nghiệm PI được trình bày trong Hình 1B. Kết quả cho thấy, ở nồng độ 0,025%, tinh dầu Bưởi ít làm giảm số lượng tế bào sống (thử nghiệm MTT

khác nhau không có ý nghĩa) nhưng vẫn làm hư hại một phần màng tế bào (thử nghiệm PI khác nhau có ý nghĩa thống kê). Khi tăng nồng độ lên 0,05% thì tỷ lệ tế bào sống giảm rõ rệt xuống dưới 50% và tỷ lệ hư hại màng tế bào lên gấp 3 lần (với tế bào A549) và 6 lần (với tế bào HEK) so với nhóm chứng không xử lý của từng nhóm tế bào. Và khi tăng nồng độ lên 0,1% thì tỷ lệ sống giảm xuống dưới 10%, trong khi hư hại màng không tăng đáng kể ở nhóm A549, tăng mạnh ở nhóm tế bào HEK. Do đó, tinh dầu Bưởi có tác dụng làm hư hại màng tế bào HEK và A549, khi tăng nồng độ tinh dầu, màng hư hại nghiêm trọng dẫn chết gây chết tế bào.

Hình thái tế bào (A) và mức độ sống và tín hiệu PI của tế bào (B) sau 2 giờ được ủ với tinh dầu bưởi ở các nồng độ khác nhau. Tất cả dữ liệu được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình của 3 thí nghiệm độc lập; thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn (SD). ***: $p < 0,001$ so với nhóm không xử lý bằng One-way ANOVA.



Hình 1. Mức độ gây độc của tinh dầu Bưởi trên dòng tế bào A549 và HEK293T

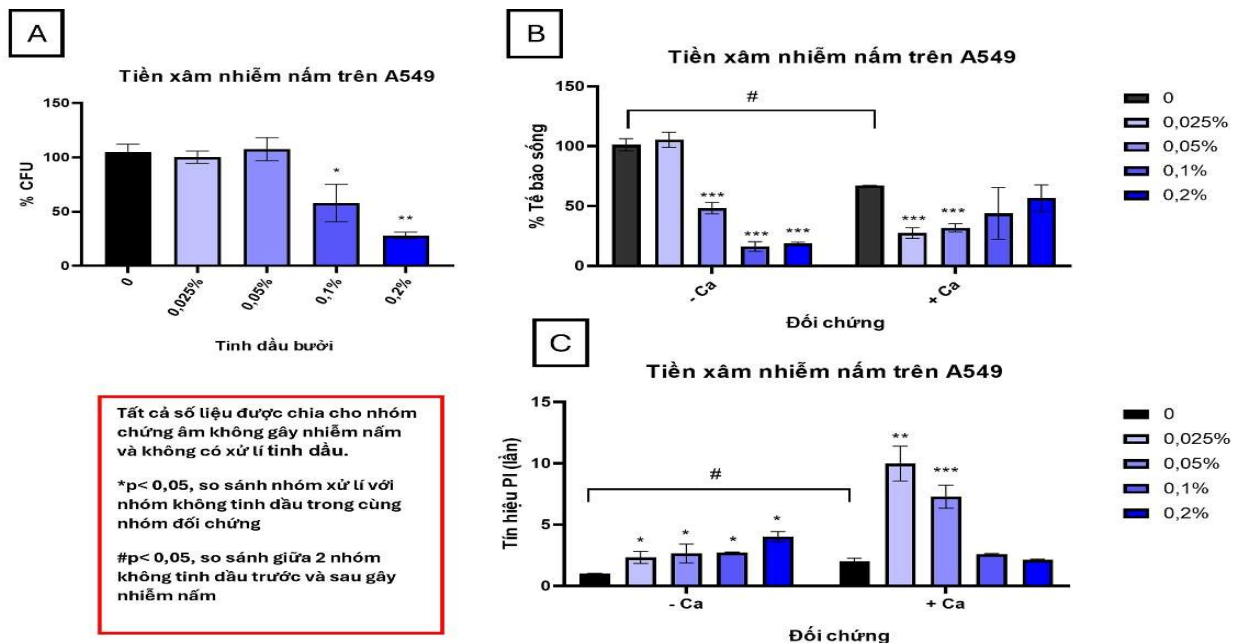
3.2. Hoạt tính của tinh dầu Bưởi lên tế bào A549 trong giai đoạn tiền xâm nhiễm

Kết quả khảo sát hoạt tính của tinh dầu Bưởi lên tế bào A549 trong giai đoạn tiền xâm nhiễm được trình bày ở Hình 2. Thử nghiệm ghi nhận số lượng vi nấm xâm nhiễm vào tế bào không giảm ở nồng độ < 0,05%, ở nồng độ 0,1%, tỷ lệ vi nấm giảm 50% và xuống còn 20% ở nồng độ 0,2% tinh dầu Bưởi. Theo kết quả nghiên cứu của cùng nhóm nghiên cứu, nồng độ tối thiểu ức chế vi nấm *C. albicans* của tinh dầu Bưởi là 0,05% (dữ liệu chưa công bố), do đó, kết quả của thí nghiệm này cho thấy vi nấm xâm nhiễm vào tế bào A549, ít chịu tác động của tinh dầu Bưởi ở hơn vi nấm ở tình trạng tự do (Hình 2A)

Khi kết hợp với kết quả của thử nghiệm MTT và thử nghiệm PI, ta có thể nhận thấy rằng, ở nồng độ 0,025%, tinh dầu Bưởi không có tác dụng trên tế bào A549 cũng như không có tác dụng trên *C. albicans*, nên *C. albicans* xâm

nh nhiễm vào tế bào A549, gây chết tế bào dẫn đến MTT thấp mà PI cao, tương đồng với kết quả khi cho nhiễm *C. albicans* vào tế bào khi không có mặt tinh dầu, vì nấm làm chết tế bào A549. Khi tăng nồng độ lên 0,05%, tỷ lệ tế bào toàn vẹn giảm khi tiếp xúc với tinh dầu Bưởi, dẫn tới thử nghiệm PI tăng cao trong khi tỷ lệ MTT không thay đổi đáng kể (Hình 2B, 2C).

Tuy nhiên, khi tăng nồng độ tinh dầu Bưởi lên 0,1% thì ta thấy tỷ lệ tế bào chết tăng (nghĩa là thử nghiệm MTT giảm và thử nghiệm PI tăng) khi tế bào chỉ tiếp xúc với tinh dầu Bưởi nhưng khi có sự xuất hiện của vi nấm, thử nghiệm MTT có tăng trong khi tỷ lệ PI giảm đáng kể. Điều này cho thấy tinh dầu Bưởi có ái lực với vi nấm *C. albicans* mạnh hơn tế bào A549 dẫn tới việc giảm số lượng tế bào vi nấm chứ không giảm số lượng tế bào A549.



Hình 2. Khả năng kháng nấm của tinh dầu bưởi trên mô hình A549 ở giai đoạn tiền xâm nhiễm. Mức độ xâm nhiễm của vi nấm (A), khả năng sống sót (B) và mức độ thấm của PI qua màng tế bào (C) trên mô hình tiền xâm nhiễm nấm có xử lý với tinh dầu bưởi. Trong đó, tế bào tiếp xúc với tinh dầu bưởi trước khi gây nhiễm nấm (- Ca) và tế bào đồng thời tiếp xúc tinh dầu bưởi và được gây nhiễm nấm (+ Ca)

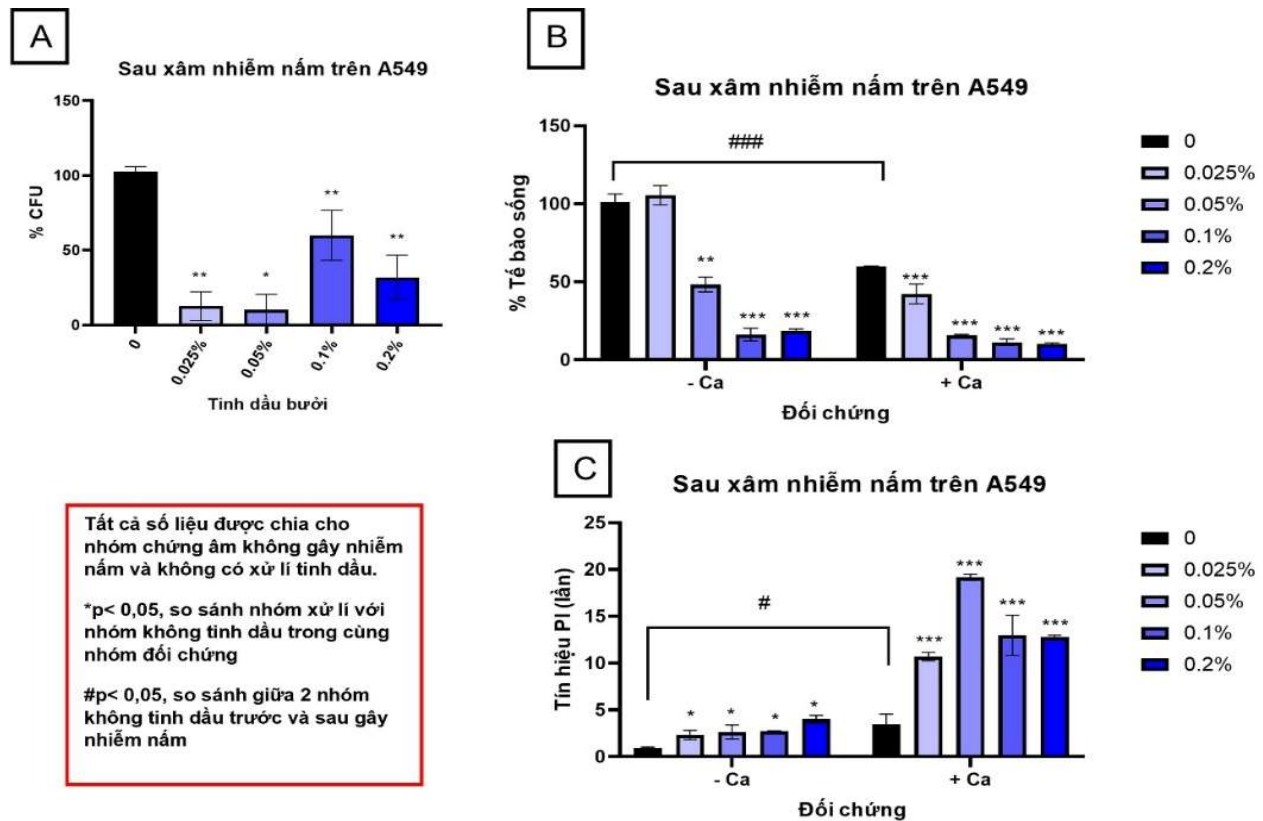
3.3. Hoạt tính của tinh dầu Bưởi lên tế bào A549 trong giai đoạn sau xâm nhiễm

Kết quả khảo sát hoạt tính của tinh dầu Bưởi lên tế bào A549 trong giai đoạn sau xâm nhiễm được trình bày ở Hình 3. Khi tinh dầu Bưởi ở nồng độ 0,025%, tinh dầu ít có tác dụng lên cả tế bào A549 và tế bào vi nấm, nên *C. albicans* xâm nhiễm vào tế bào và gây chết tế bào A549 dẫn đến số lượng

tế bào sống và bị xâm nhiễm thấp (thông qua thử nghiệm MTT giảm và số lượng tế bào vi nấm trong tế bào cũng giảm), số lượng tế bào chết tăng (thử nghiệm PI tăng). Khi tinh dầu Bưởi tăng lên 0,05%, tinh dầu Bưởi đã gây hư hỏng màng tế bào và gây chết tế bào A549, dẫn đến lượng tế bào sống giảm thêm, đồng thời vi nấm trong tế bào vẫn thấp và PI tăng cao. Tuy nhiên khi nồng độ tinh dầu Bưởi tăng lên 0,1% và 0,2%,

lượng tế bào còn sống đã giảm xuống dưới 10% thì khi cho nhiễm nấm, lượng tế bào càng giảm thêm, nhưng số lượng vi nấm trong mỗi tế bào lại tăng, trong khi số lượng tế bào

chết không tăng so với nồng độ 0,05%. Điều này càng chứng minh rằng *C. albicans* sau khi xâm nhiễm vào tế bào thì khó có thể bị tấn công bởi tinh dầu Bưởi.



Hình 3. Khả năng kháng nấm của tinh dầu Bưởi trên mô hình A549 ở giai đoạn sau xâm nhiễm. Mức độ xâm nhiễm của vi nấm (A), khả năng sống sót (B) và mức độ thấm của PI qua màng tế bào (C) trên mô hình sau nhiễm có xử lý với tinh dầu bưởi. Trong đó, tế bào tiếp xúc với tinh dầu bưởi trước khi gây nhiễm nấm (- Ca) và tế bào tiếp xúc tinh dầu bưởi sau khi được gây nhiễm nấm (+ Ca)

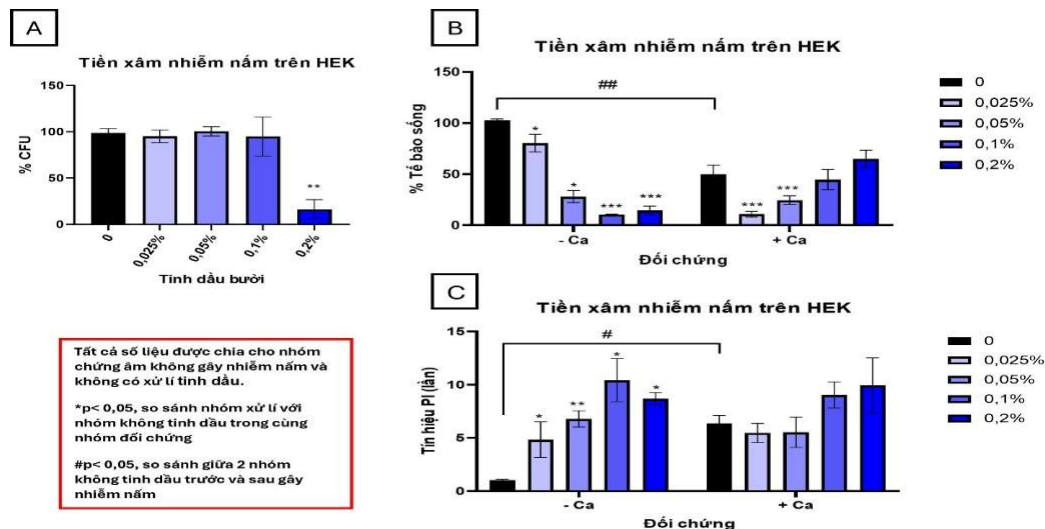
3.4. Hoạt tính của tinh dầu Bưởi lên tế bào HEK trong giai đoạn tiền xâm nhiễm

Kết quả khảo sát hoạt tính của tinh dầu Bưởi lên tế bào HEK trong giai đoạn tiền xâm nhiễm được trình bày ở Hình 4. Thử nghiệm ghi nhận số lượng vi nấm xâm nhiễm vào tế bào không giảm ở nồng độ < 0,1%, tuy nhiên tỷ lệ vi nấm giảm xuống < 20% ở nồng độ 0,2% tinh dầu Bưởi. Vậy kết quả này gần tương tự như ở tế bào A549 khi *C. albicans* ít chịu tác động của tinh dầu khi xâm nhiễm vào tế bào.

Khi kết hợp với kết quả của thử nghiệm MTT và thử nghiệm PI, ta có thể nhận thấy rằng, ở nồng độ 0,025%, tinh dầu Bưởi ít có tác dụng trên tế bào HEK cũng như không có tác dụng trên *C. albicans*, nên *C. albicans* xâm nhiễm nhiều vào tế bào HEK, gây chết tế bào dẫn đến MTT thấp

mà PI cao, tương đồng với kết quả khi cho nhiễm *C. albicans* vào tế bào khi không có mặt tinh dầu, vi nấm làm chết tế bào HEK. Khi tăng nồng độ lên 0,05%, tỷ lệ tế bào toàn vẹn giảm khi tiếp xúc với tinh dầu Bưởi, dẫn tới thử nghiệm PI tăng cao trong khi tỷ lệ MTT không thay đổi đáng kể và xu hướng này tương tự khi có sự xâm nhiễm của *C. albicans*.

Tuy nhiên, khi tăng nồng độ tinh dầu Bưởi lên 0,1%, nếu không có vi nấm, ta thấy tế bào HEK chết nhiều hơn, nhưng khi có vi nấm, số lượng tế bào HEK sống tăng lên và số lượng tế bào bị tổn thương màng giảm tuy không đáng kể. Điều này có thể do tinh dầu đã tiêu diệt một phần tế bào vi nấm. Khi tinh dầu tăng lên 0,2%, số lượng vi nấm bị tiêu diệt tăng lên, số lượng tế bào sống tăng hơn trong khi PI không tăng.

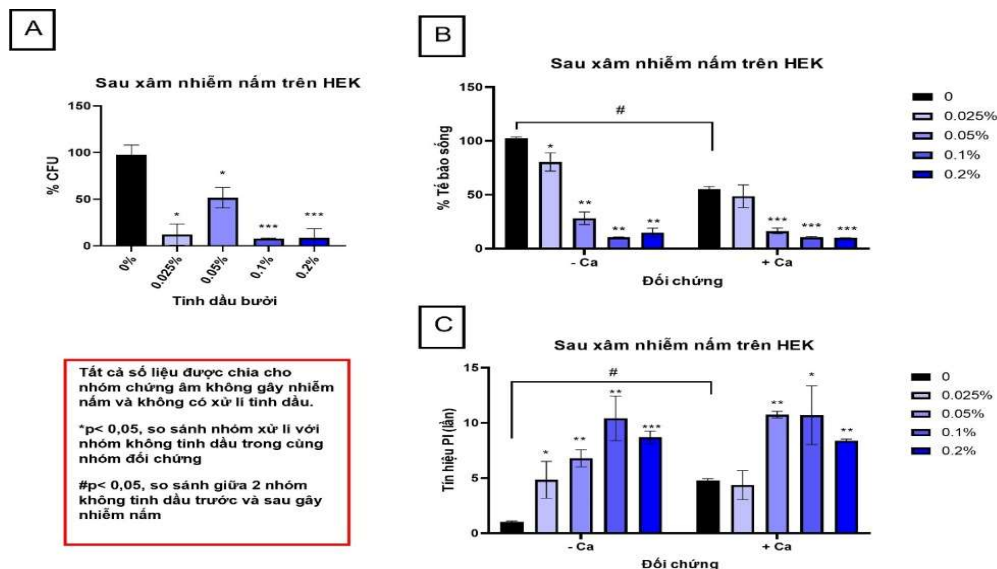


Hình 4. Khả năng kháng nấm của tinh dầu Bưởi trên mô hình HEK ở giai đoạn tiền xâm nhiễm. Mức độ xâm nhiễm của vi nấm (A), khả năng sống sót (B) và mức độ thấm của PI qua màng tế bào (C) trên mô hình tiền xâm nhiễm nấm có xử lý với tinh dầu Bưởi. Trong đó, tế bào tiếp xúc với tinh dầu Bưởi trước khi gây nhiễm nấm (- Ca) và tế bào đồng thời tiếp xúc tinh dầu bưởi và được gây nhiễm nấm (+ Ca)

3.5. Hoạt tính của tinh dầu Bưởi lên tế bào HEK trong giai đoạn sau xâm nhiễm

Kết quả khảo sát hoạt tính của tinh dầu Bưởi lên tế bào HEK trong giai đoạn sau xâm nhiễm được trình bày ở Hình 5. Khi tinh dầu Bưởi ở nồng độ 0,025%, tinh dầu ít có tác dụng lên cả tế bào HEK và tế bào vi nấm, nên *C. albicans* xâm nhiễm vào tế bào và gây chết tế bào HEK dẫn đến số lượng tế bào sống và bị xâm nhiễm thấp (thông qua thử nghiệm MTT giảm và số lượng tế bào vi nấm trong tế bào

cũng giảm), số lượng tế bào chết tăng (thử nghiệm PI tăng). Khi tinh dầu Bưởi tăng lên 0,05%, tinh dầu Bưởi đã gây hư hỏng màng tế bào và gây chết tế bào HEK, dẫn đến lượng tế bào sống giảm thêm, số lượng tế bào bị tổn thương màng tăng thêm, tuy nhiên vì nấm trong mỗi tế bào lại tăng đáng kể. Tuy nhiên khi nồng độ tinh dầu Bưởi tăng lên 0,1% và 0,2%, lượng tế bào còn sống đã giảm xuống dưới 10% thì khi cho nhiễm nấm, lượng tế bào càng giảm thêm, trong khi số lượng tế bào chết không tăng hoặc giảm so với nồng độ 0,05%.



Hình 5. Khả năng kháng nấm của tinh dầu Bưởi trên mô hình HEK ở giai đoạn sau xâm nhiễm. Mức độ xâm nhiễm của vi nấm (A), khả năng sống sót (B) và mức độ thấm của PI qua màng tế bào (C) trên mô hình sau nhiễm có xử lý với tinh dầu Bưởi. Trong đó, tế bào tiếp xúc với tinh dầu Bưởi trước khi gây nhiễm nấm (- Ca) và tế bào tiếp xúc tinh dầu Bưởi sau khi được gây nhiễm nấm (+ Ca)

4. BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tinh dầu Bưởi có tác dụng trên sự xâm nhiễm tế bào biểu mô của *C. albicans* phụ thuộc vào nồng độ và giai đoạn xâm nhiễm của *C. albicans*. Ở nồng độ thấp (<0,05%), mặc dù tỷ lệ sống của tế bào chủ *in vitro* tương đối cao trong điều kiện không có vi nấm, song trước sự xâm nhiễm của *C. albicans*, tinh dầu với khả năng làm tổn thương màng tế bào động vật đã làm vi nấm xâm nhập vào tế bào dễ hơn, gây chết tế bào nhiều hơn.

Những kết quả này phù hợp với các báo cáo trước đây về tác dụng kháng nấm của tinh dầu họ *Citrus*. Sharma và Tripathi cho thấy tinh dầu vỏ cam có thể gây biến đổi hình thái và phá hủy cấu trúc bào tử *Aspergillus niger*, với cơ chế liên quan đến thay đổi tính toàn vẹn của màng và ức chế sự hình thành sợi nấm [9]. Tương tự, Bassolé và Juliani đã chứng minh rằng đặc tính ưa béo của các monoterpene trong tinh dầu giúp tinh dầu dễ dàng chèn vào màng đôi lipid, gây rối loạn tính thấm và làm rò rỉ các thành phần nội bào [10]. Điều này giải thích tại sao ở các nồng độ thấp, mặc dù không gây chết tế bào chủ, nhưng tín hiệu PI vẫn tăng do ảnh hưởng đến màng sinh chất.

Bakkali và cộng sự cũng khẳng định các tinh dầu có thể gây tác dụng độc tế bào ngay cả ở nồng độ thấp, thông qua việc thay đổi tính thấm màng và cảm ứng stress oxy hóa [6]. Tuy nhiên, Burt chỉ ra rằng tính chọn lọc giữa tế bào chủ và vi sinh vật có thể phụ thuộc vào loại tinh dầu, nồng độ, cũng như trạng thái sinh lý của tế bào [7]. Quan sát trong nghiên cứu của chúng tôi, việc giảm độc tính trên tế bào chủ ở nồng độ cao khi có sự hiện diện của nấm cho thấy tác động của tinh dầu có thể được phân tán giữa hai đối tượng, giảm gánh nặng độc tính trực tiếp lên lớp biểu mô [8,16].

5. KẾT LUẬN

Tinh dầu Bưởi có tác dụng gây tổn thương màng tế bào vi nấm và màng tế bào động vật (A549 và HEK). Tuy nhiên, tinh dầu Bưởi có ái lực với tế bào vi nấm hơn tế bào động vật. Nghiên cứu này mở ra hướng sử dụng tinh dầu Bưởi như một tác nhân hỗ trợ trong phòng ngừa và điều trị nhiễm *C. albicans*. Các nghiên cứu sâu hơn cần được tiến hành trên mô hình động vật và lâm sàng để làm rõ cơ chế phân tử và tính ứng dụng.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh theo Hợp đồng số 222/2025/HĐ-ĐHYD, ngày 28 tháng 4 năm 2025.

Nguồn tài trợ

Nghiên cứu này không nhận tài trợ.

Xung đột lợi ích

Không có xung đột lợi ích nào liên quan đến nghiên cứu này.

ORCID

Nguyễn Bảo Nghi

<https://orcid.org/0009-0001-1807-2067>

Hoàng Minh Quân

<https://orcid.org/0009-0003-8657-8304>

Lê Thu Hoài

<https://orcid.org/0000-0002-9806-2335>

Nguyễn Vũ Giang Bắc

<https://orcid.org/0000-0003-4510-2660>

Đóng góp của các tác giả

Ý tưởng nghiên cứu: Nguyễn Vũ Giang Bắc.

Đề cương và phương pháp nghiên cứu: Lê Thu Hoài.

Thu thập dữ liệu: Nguyễn Bảo Nghi, Hoàng Minh Quân.

Nhập dữ liệu: Nguyễn Bảo Nghi, Hoàng Minh Quân.

Phân tích dữ liệu: Nguyễn Bảo Nghi, Lê Thu Hoài, Nguyễn Vũ Giang Bắc.

Chuẩn bị bản thảo: Nguyễn Bảo Nghi, Hoàng Minh Quân, Lê Thu Hoài, Nguyễn Phước Vinh, Nguyễn Vũ Giang Bắc.

Cung cấp dữ liệu và thông tin nghiên cứu

Tác giả liên hệ sẽ cung cấp dữ liệu nếu có yêu cầu từ Ban biên tập.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Virulence. 2013;15;4(2):119-28. Doi: 10.4161/viru.22913. 2013.

2. Sudbery PE. Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nat Rev Microbiol*. 2011;16;9(10):737-48.
3. Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol*. 2001;9(7):327-35. Doi: 10.1016/s0966-842x(01)02094-7.
4. Perfect JR. The antifungal pipeline: a reality check. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16(9):603-616.
5. Sanglard D. Emerging threats in antifungal-resistant fungal pathogens. *Front Med*. 2016;3:11. Doi: 10.3389/fmed.2016.00011.
6. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils-a review. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):446-75. Doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106.
7. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int J Food Microbiol*. 2004;94(3):223-53.
8. Caputo L, Cornara L, Bazzicalupo M, De Francesco C, De Feo V, Trombetta D, Smeriglio A. Chemical composition and biological activities of essential oils from peels of three citrus species. *Molecules*. 2020;25(8):1890. Doi: 10.3390/molecules25081890.
9. Sharma N, Tripathi A. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) van tieghem. *Microbiol Res*. 2008;163(3):337-44.
10. Bassolé IH, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*. 2012;17(4):3989-4006.
11. Markossian S, Grossman A, Baskir H, Arkin M, Auld D, Austin C, et al. Assay guidance manual [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Advancing Translational Sciences; 2004. [cited 2025 Aug 20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53196/>.
12. Vaitkienė S, Bekere L, Duburs G, Daugelavičius R. Interaction of styrylpyridinium compound with pathogenic *Candida albicans* yeasts and human embryonic kidney HEK-293 cells. *Microorganisms*. 2020;9(1):48. Doi: 10.3390/microorganisms9010048.
13. Tolosa L, Donato MT, Gómez-Lechón MJ. General cytotoxicity assessment by means of the MTT assay. *Methods Mol Biol*. 2015;1250:333-48. Doi: 10.1007/978-1-4939-2074-7_26. PMID: 26272156.
14. Davey HM, Hexley P. Red but not dead? Membranes of stressed *Saccharomyces cerevisiae* are permeable to propidium iodide. *Environ Microbiol*. 2011;13(1):163-171.
15. Crowley LC, Scott AP, Marfell BJ, Boughaba JA, Chojnowski G, Waterhouse NJ. Measuring cell death by propidium iodide uptake and flow cytometry. *Cold Spring Harb Protoc*. 2016;1:2016(7). Doi: 10.1101/pdb.prot087163. PMID: 27371595.
16. Dalleau S, Cateau E, Bergès T, Berjeaud JM, Imbert C. *In vitro* activity of terpenes against *Candida* biofilms. *Int J Antimicrob Agents*. 2008;31(6):572-6. Doi: 10.1016/j.ijantimicag.2008.01.028.