



# CHẾ PHẨM PROBIOTIC AN TOÀN DÙNG CHO NGƯỜI

PGS.TS Nguyễn La Anh, ThS Đặng Thu Hương

Viện Công nghiệp Thực phẩm, Bộ Công Thương



Dưới sự hỗ trợ của Bộ Khoa học và Công nghệ (KH&CN) thông qua đề tài độc lập cấp nhà nước “Nghiên cứu đặc điểm kháng kháng sinh nội tại của các chủng *Lactobacillus* để tạo chế phẩm probiotic an toàn dùng cho người”, mã số ĐTĐL.CN-59/19 thuộc Chương trình phát triển khoa học cơ bản trong lĩnh vực hóa học, khoa học sự sống, khoa học trái đất và khoa học biển giai đoạn 2017-2025, các nhà khoa học của Viện Công nghiệp Thực phẩm (Bộ Công Thương) đã lựa chọn được 4 chủng có tiềm năng và an toàn nhất để sản xuất chế phẩm probiotic; đồng thời xây dựng công nghệ sản xuất chế phẩm probiotic với mật độ tế bào sống cao ( $10^{10}$ CFU/g), ổn định và tạo được chế phẩm probiotic an toàn dùng cho người, với mật độ trên  $10^9$ CFU/lọ, tỷ lệ sống trên 90% sau 12 tháng bảo quản.



## Vấn đề kháng kháng sinh của vi khuẩn

Kháng kháng sinh đang trở thành một trong những mối đe dọa lớn đối với sức khỏe cộng đồng trên toàn thế giới. Việc sử dụng kháng sinh không phù hợp và tràn lan đã làm tăng áp lực chọn lọc, dẫn đến sự thích nghi của vi khuẩn và gia tăng tỷ lệ kháng thuốc. Tình trạng này dẫn đến tỷ lệ tử vong tăng cao, kéo dài thời gian điều trị và làm gia tăng chi phí y tế toàn cầu. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), mỗi năm có khoảng 700.000 người tử vong do các bệnh nhiễm trùng không thể điều trị vì kháng kháng sinh. Việt Nam là một trong những quốc gia có tỷ lệ sử dụng kháng sinh không kê đơn cao nhất thế giới. Tỷ lệ kháng thuốc ở Việt Nam rất cao, đặc biệt là đối với các vi khuẩn gây bệnh phổ biến như *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* và *Klebsiella pneumoniae*. Theo chương trình giám sát toàn cầu của WHO, tỷ lệ kháng ciprofloxacin ở *E. coli* tại Việt Nam đã vượt quá 50%.

Trên thế giới, trong những năm qua, vấn đề kháng kháng sinh đã được ghi nhận không chỉ ở các vi khuẩn gây bệnh mà còn ở các vi khuẩn thực phẩm, bao gồm cả vi khuẩn lactic - nhóm vi khuẩn thường được ứng dụng làm probiotics nhờ những lợi ích sức khỏe vượt trội của chúng. Nhóm vi khuẩn này thích nghi với môi

trường bằng cách thu nhận các gen kháng thuốc từ các vi khuẩn kháng thuốc khác thông qua cơ chế truyền ngang. Hiện tượng này được thúc đẩy bởi một số yếu tố như: áp lực chọn lọc do thuốc kháng sinh gây ra đối với vi khuẩn nói chung và *Lactobacillus* nói riêng, cư trú trong đường tiêu hóa ở người.

Năm 2007, Ủy ban An toàn thực phẩm châu Âu (EFSA) đã đưa ra tiêu chí quan trọng về tính an toàn cho các chủng vi khuẩn được dùng trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi là phải đạt tiêu chuẩn giả định an toàn (Qualified Presumption of Safety - QPS). Từ 2012 đến nay, EFSA đưa ra Hướng dẫn đánh giá các chủng vi khuẩn đạt chuẩn QPS, có cập nhật và kiện toàn quy trình hàng năm. QPS theo yêu cầu của EFSA là các vi khuẩn được sử dụng hàng ngày phải là các chủng không chứa gen kháng kháng sinh thu nhập hoặc được chuyển gen này vào. Đáp ứng quy định này, các chủng vi khuẩn không mang gen kháng kháng sinh nhưng vẫn có khả năng sống sót trong môi trường có kháng sinh, nhờ những đặc điểm sinh lý, sinh hóa nội tại là các chủng có tính an toàn và ứng dụng cao nhất. Đây được gọi là các chủng vi khuẩn có đặc tính kháng kháng sinh nội tại. Các chủng vi khuẩn này không mang gen kháng kháng sinh, do đó



Bột đông khô probiotics do Viện Công nghiệp Thực phẩm sản xuất.

không có nguy cơ lan truyền gen kháng thuốc sang vi khuẩn gây bệnh khác. Chúng giúp cân bằng hệ vi sinh đường ruột, ngăn ngừa nhiễm trùng, cải thiện tiêu hóa và kích thích hệ miễn dịch hoạt động hiệu quả hơn.

### Hướng đi bền vững trong bảo vệ sức khỏe con người

Ở Việt Nam, mặc dù vi khuẩn lactic có tiềm năng ứng dụng cao trong thực phẩm và y tế, nhưng vẫn chưa có nghiên cứu nào về đặc điểm kháng kháng sinh nội tại của chúng, thiếu hẳn các nghiên cứu chuyên sâu về an toàn chủng giống. Điều này đặt ra yêu cầu cấp bách cần đầu tư nghiên cứu bài bản, để không chỉ đảm bảo chất lượng và an toàn của các sản phẩm probiotics mà còn đáp ứng tiêu chuẩn quốc tế. Việc sử dụng các chủng probiotic từ vi khuẩn lactic có khả năng kháng kháng sinh nội tại đang mở ra hướng đi bền vững trong bảo vệ sức khỏe con người. Nắm bắt xu thế đó, Viện Công nghiệp Thực phẩm đã đề xuất và được Bộ KH&CN phê duyệt thực hiện đề tài độc lập cấp nhà nước “Nghiên cứu đặc điểm kháng kháng sinh nội tại của các chủng *Lactobacillus* để tạo chế phẩm probiotic an toàn dùng cho người” nhằm xác định đặc điểm kháng kháng sinh nội tại của các chủng *Lactobacillus*; đồng thời tạo được chế phẩm probiotic an toàn dùng cho người.

Đề tài đã khảo sát 140 chủng vi khuẩn *Lactobacillus* từ bộ sưu tập giống có nguồn gốc Việt Nam của Viện Công nghiệp Thực phẩm và tuyển chọn được 64 chủng vi khuẩn có tiềm năng để ứng dụng làm chế phẩm probiotic. Tuy nhiên, theo hướng dẫn của Tổ chức Nông Lương Liên hợp quốc/Tổ chức Y tế Thế giới (FAO/WHO) và EFSA, tất cả các chủng vi khuẩn

lactic sử dụng làm probiotic phải được đánh giá đầy đủ cả về năng lực lẫn an toàn, bao gồm khả năng kháng kháng sinh. Đề tài đã xác định nồng độ ức chế tối thiểu của 14 loại kháng sinh phổ biến (clidamycin, cloramphenicol, erythromycin, ciprofloxacin, trimethoprim, rifampicin, tetracycline, teicoplanin, gentamicin, streptomycin, neomycin, ampicillin, kanamycin, vancomycin) và nhận thấy rằng, rất nhiều chủng vi khuẩn *Lactobacillus* có nồng độ ức chế tối thiểu ở mức cao, như VAN (vancomycin) là >32 mg/l (chiếm 96,9%), CIP (ciprofloxacin) là >64 mg/l (chiếm 84%), nhưng chưa được đánh giá điểm cắt vi sinh theo hướng dẫn của EFSA (cập nhật đến năm 2018), tiềm ẩn nguy cơ mang gen kháng kháng sinh cao.

Đề tài đã sử dụng 28 cặp mồi đặc hiệu cho 14 loại kháng sinh phổ biến kể trên để phát hiện gen kháng kháng sinh ở 64 chủng vi khuẩn lactic tiềm năng. Kết quả cho thấy, có đến 40/64 chủng mang ít nhất 1 gen kháng kháng sinh (chiếm 62,5% các chủng khảo sát). Có thể thấy, tỷ lệ mang gen kháng kháng sinh ở các chủng *Lactobacillus* khá cao, có chủng mang đến 4-5 loại gen kháng các loại kháng sinh khác nhau. Nhiều nhất là các chủng mang gen kháng vancomycin (chiếm 62,5%), kháng ciprofloxacin (chiếm 40%) và kháng erythromycin (chiếm 25%).

Trong số 24 chủng không mang bất kỳ gen kháng kháng sinh nào, đề tài đã lựa chọn được 4 chủng có tiềm năng và an toàn nhất để sản xuất chế phẩm probiotic. Đó là: *Limosilactobacillus fermentum* CNTP6581; *Lactocaseibacillus casei* CNTP6629; *Levilactobacillus brevis* CNTP6614; *Lactiplantibacillus plantarum* CNTP6096. Các chủng này đều có khả năng sống tốt trong dịch mật và dịch dạ dày ( $Lg(\Delta CFU/ml) < 1$ ), khả năng bám dính tốt ( $1,72-1,94 \times 10^7 CFU/cm^2$ ). Trong đó, 3 chủng có khả năng ức chế cả 4 chủng vi khuẩn gây bệnh chỉ thị là *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* và *Salmonella enterica subsp. enterica*. Hai chủng sinh chuyển hóa GABA - là một chất dẫn truyền thần kinh ức chế chủ yếu trong hệ thần kinh trung ương, đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh hoạt động thần kinh và duy trì sự cân bằng giữa hưng phấn và ức chế trong não. (*L. casei* CNTP6629; *L. brevis* CNTP6614) và 2 chủng sinh tổng hợp *pepX* - một loại enzyme thuộc nhóm peptidase có vai trò quan trọng trong việc thủy phân các peptide khó tiêu, tạo ra các peptide có hoạt tính





Lên men chế phẩm probiotic.

sinh học có chức năng như giảm huyết áp, chống oxy hóa, tăng cường miễn dịch, cải thiện sức khỏe đường ruột (*L.brevis* CNTP6614; *L.plantarum* CNTP6096). Khi tương tác với 14 loại kháng sinh phổ biến, các chủng tuyển chọn thể hiện tính bền kháng sinh nội tại đa dạng và khá tốt (bền với 4-10 loại kháng sinh), không mang gen kháng kháng sinh nào và không có khả năng nhận gen kháng kháng sinh từ chủng khác.

Đề tài đã xây dựng được quy trình thu nhận chủng giống vi khuẩn lactic, từ khâu phân lập, làm sạch đến đánh giá tiềm năng của chủng cũng như tính an toàn, đáp ứng yêu cầu và các tiêu chuẩn quốc tế về ứng dụng chủng giống trong công nghệ sinh học và công nghệ thực phẩm.

Đề tài đã thực hiện được việc xây dựng công nghệ sản xuất chế phẩm probiotic với mật độ tế bào sống cao ( $10^{10}$ CFU/g), ổn định và tạo được chế phẩm probiotic an toàn dùng cho người với mật độ trên  $10^9$ CFU/lọ, tỷ lệ sống trên 90% sau 12 tháng bảo quản.

Đề tài đã đánh giá tính an toàn và tác dụng của chế phẩm probiotic trên mô hình động vật. Các chủng probiotic và chế phẩm probiotic không có độc tính cấp, không có độc tính bán trường diễn, kích thích chuột sản sinh kháng thể bẩm sinh, chống lại các mầm bệnh truyền nhiễm. Hơn nữa, việc sử dụng chế phẩm cho chuột còn làm tăng một loạt các phân tử điều hòa miễn dịch kiểm soát phản ứng của cytokine tiền viêm, làm giảm khả năng bão cytokine khi hệ thống miễn dịch bị kích thích quá cao, nâng cao sức đề kháng của vật chủ. Kết quả giải trình tự toàn bộ hệ phiên mã mRNA sử dụng mẫu bệnh phẩm lá lách chuột có sử dụng chế phẩm probiotic và nhóm đối chứng cho thấy, chuột được sử dụng chế phẩm biểu hiện các gen có liên quan đến quá trình điều khiển miễn dịch, trao đổi chất, làm tăng khả năng miễn dịch bẩm sinh/thụ động cho chuột.

Đề tài cũng đã đánh giá tác dụng của chế phẩm probiotic trong tăng cường sức khỏe đường ruột cho người qua việc đưa chế phẩm probiotic cho nhóm điều trị gồm 60 trẻ từ 3-5 tuổi, có chỉ số Zscore cân nặng theo tuổi từ -3 đến -1SD, có tình trạng biếng ăn, táo bón hoặc tiêu chảy (nhóm đối chứng cũng với số người và đặc điểm tương tự). Việc sử dụng chế phẩm probiotic liên tục trong 8 tuần đã giúp cải thiện rõ rệt tình trạng táo bón và đau bụng, giảm tỷ lệ trẻ mắc loạn khuẩn. Số ngày biếng ăn, mắc tiêu chảy ở nhóm trẻ được can thiệp có xu hướng giảm, tình trạng dinh dưỡng cũng được cải thiện hơn so với nhóm trẻ chưa được sử dụng chế phẩm probiotic. Do đó, chế phẩm probiotic có thể được sử dụng như một yếu tố miễn dịch sống an toàn và hiệu quả trong điều trị, phòng ngừa suy dinh dưỡng ở trẻ em cũng như các rối loạn về đường tiêu hóa khác.

Nghiên cứu đã đạt được nhiều bước tiến quan trọng trong việc đánh giá đặc điểm kháng kháng sinh nội tại của các chủng *Lactobacillus*, mở ra hướng đi mới trong phát triển chế phẩm probiotic an toàn và hiệu quả cho con người. Kết quả thử nghiệm trên động vật và con người cho thấy, khả năng ứng dụng rộng rãi của chế phẩm trong hỗ trợ điều trị và phòng ngừa suy dinh dưỡng, cải thiện tình trạng rối loạn tiêu hóa, cũng như tăng cường sức khỏe toàn diện. Nghiên cứu này không chỉ đóng góp vào việc hạn chế nguy cơ kháng kháng sinh mà còn thúc đẩy sự phát triển bền vững của ngành công nghiệp thực phẩm và y tế, đáp ứng nhu cầu cấp bách về các giải pháp thay thế an toàn và hiệu quả trong chăm sóc sức khỏe cộng đồng.