

PROBIOTIC DẠNG BÀO TỬ LỢI KHUẨN BACILLUS ĐA CHỦNG NỒNG ĐỘ CAO HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ VIÊM RUỘT MẠN TÍNH

Nguyễn Thanh Bình³, Trần Thị Như Quỳnh³, Hồ Thanh Thủy¹,
Nguyễn Thị Thắm², Nguyễn Hoà Anh^{1,2,✉}

¹Công ty TNHH LiveSpo Pharma,

²Công ty TNHH ANABIO R&D,

³Trường Đại học Y Dược Thái Bình

Nghiên cứu lâm sàng mẫu mù đơn có đối chứng ($n = 60$) được thực hiện nhằm đánh giá an toàn và tác dụng hỗ trợ điều trị viêm ruột mạn tính của sản phẩm LiveSpo® Colon chứa bào tử lợi khuẩn *Bacillus* thế hệ LS-III nồng độ cao 3 tỷ /ống 5 mL. Nhóm đối chứng theo phác đồ điều trị của bệnh viện, nhóm thử nghiệm kết hợp dùng LiveSpo® Colon (1 ống/lần x 3 lần/ngày trong 30 ngày). Đánh giá tác dụng của sản phẩm dựa trên bộ câu hỏi IBDQ-32 vào ngày 0, 7 và 30 và kết quả nội soi đại tràng ngày 0 và 30. Tính an toàn được đánh giá thông qua các chỉ số hoá sinh và huyết học vào ngày 30. Kết quả cho thấy các triệu chứng ở nhóm thử nghiệm được cải thiện sau 7 ngày và sau ngày 30 thì có sự khác biệt vượt trội ($177,3 \pm 14,30$) so với nhóm đối chứng ($157,8 \pm 17,53$). Đồng thời kết quả nội soi đại tràng cho thấy mức độ viêm loét đại tràng đã giảm đáng kể. Các chỉ số hoá sinh và huyết học ở ngày 30 đều nằm ở giới hạn cho phép. Như vậy, sản phẩm LiveSpo® Colon an toàn và có tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh viêm ruột mạn tính (gồm bệnh Crohn và viêm loét đại tràng).

Từ khóa: probiotic, bào tử lợi khuẩn *Bacillus*, LiveSpo® Colon, viêm ruột mạn tính.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm ruột mạn tính là một trong những bệnh phổ biến, gồm hai thể bệnh chính là bệnh Crohn (viêm đường ruột với các triệu chứng điển hình như đau bụng, rối loạn phân, mệt mỏi, giảm cân và suy dinh dưỡng) và viêm loét đại trực tràng chảy máu. Tại Việt Nam số người mắc bệnh này chiếm khoảng 20%, trong đó 20% số người mắc bệnh sẽ chuyển thành ung thư đại tràng. Hiện nay, mặc dù đã có nhiều tiến bộ trong điều trị, nhưng các thuốc được sử dụng chỉ mới có tác dụng kìm hãm, giảm các triệu chứng của người bệnh. Nguyên nhân gây ra các chứng bệnh viêm ruột mạn tính ngoài yếu tố di truyền, yếu tố môi trường, bất thường trong hệ thống miễn dịch, còn do

sự thay đổi của hệ vi sinh đường ruột do điều trị kháng sinh kéo dài, nhiễm ký sinh trùng hoặc nhiễm khuẩn, virus.^{1,2} Trước thực trạng đó, việc bổ sung men vi sinh (probiotic) giúp hỗ trợ quản lý, dự phòng viêm loét đại tràng và các rối loạn tiêu hóa đã được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi hơn một thập kỷ trở lại đây.³ Probiotic có khả năng ức chế sự bám dính và phát triển của các loại vi khuẩn có hại trong đường ruột (*Salmonella*, *Campylobacter*, và *Shigella*), hỗ trợ chống viêm và hội chứng IBS. Chủng *E. coli* Nissle 1917 không gây bệnh⁴ và *Lactobacillus plantarum* L.137⁵ đã được chứng minh có hiệu quả như mesalamine, thúc đẩy sự bài tiết các cytokine chống viêm dùng điều trị bệnh Crohn. Hai chủng thuộc loài *L. acidophilus* được chứng minh có tác dụng hỗ trợ điều trị IBS.⁶ Một hỗn hợp probiotic VSL3, bao gồm bốn loài *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, và *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*)

Tác giả liên hệ: Nguyễn Hoà Anh

Công ty TNHH LiveSpo Pharma

Email: nguyenhoanhbio@gmail.com

Ngày nhận: 25/03/2021

Ngày được chấp nhận: 22/04/2021

ba loài *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. breve*, và *B. infantis*) và *Streptococcus thermophiles* có hiệu quả như liệu pháp duy trì ở những bệnh nhân bị viêm túi thừa đại tràng.⁷ Tuy nhiên, các vi khuẩn này kém bền nhiệt nên sản phẩm dễ mất hoạt tính trong quá trình bảo quản. Trong khi đó, các vi khuẩn *Bacillus* có nhiều ưu điểm như khả năng sinh nội bào tử bền nhiệt và sinh tổng hợp nhiều enzym có lợi cho đường tiêu hoá. Có thể kể đến là nghiên cứu của Horosheva và cộng sự (2014) đã chứng minh *B. subtilis* có tác dụng làm giảm nguy cơ tiêu chảy và tác dụng phụ liên quan do việc sử dụng kháng sinh kéo dài.⁸ Một nghiên cứu khác đã chỉ ra rằng *B. clausii* có hiệu quả tốt trong hỗ trợ điều trị rối loạn tiêu hóa như tiêu chảy, đặc biệt ở trẻ em.⁹

Nghiên cứu này đánh giá tính an toàn và tác dụng hỗ trợ điều trị viêm ruột mạn tính của sản phẩm probiotic ở dạng nước tinh khiết chứa bào tử sống của vi khuẩn.

B. subtilis ANA3 và *B. clausii* ANA39. Đây là 2 chủng vi khuẩn có khả năng tạo bào tử với hiệu suất cao và thuộc loài vi khuẩn về cơ bản là an toàn (*General Regarde As Safe, GRAS*). Việc sử dụng probiotic để ức chế hại khuẩn, duy trì hệ vi sinh khỏe mạnh, giảm chi phí điều trị các bệnh tiêu hóa đang là hướng nghiên cứu bền vững.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu: Bệnh nhân có độ tuổi từ 18 - 65 đang điều trị nội trú; được chẩn đoán viêm ruột mạn tính dựa trên (i) kết quả xét nghiệm phân có vi khuẩn, ký sinh trùng, hoặc nấm; (iii) kết quả nội soi đại trực tràng có tổn thương viêm loét và được sinh thiết làm xét nghiệm mô bệnh học; (iii) kèm theo một trong số các triệu chứng rối loạn tiêu hoá lặp lại kéo dài như đau bụng, rối loạn phân (tiêu chảy hoặc táo bón hoặc có dịch nhầy máu), và

mệt mỏi sút cân. Bệnh nhân đồng ý tự nguyện ký vào phiếu chấp thuận tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ: Bệnh nhân không có các kết quả xét nghiệm và triệu chứng như mô tả trong tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu; Bệnh nhân thuộc đối tượng nghiên cứu nhưng không tuân thủ các thủ tục nghiên cứu; tham gia vào các nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng khác trong vòng 3 tháng trước khi tham gia nghiên cứu này; sử dụng các sản phẩm lợi khuẩn tương tự sản phẩm nghiên cứu; Có chỉ định phẫu thuật điều trị viêm đại tràng.

Sản phẩm thử nghiệm: Sản phẩm probiotic LiveSpo[®] Colon (LiveSpo Pharma, Việt Nam) ở dạng hỗn dịch nước tinh khiết chứa bào tử lợi khuẩn thể hệ LS-III của hai chủng *B. subtilis* ANA3 và *B. clausii* ANA39 ở nồng độ cao >3 x 10⁹ CFU/5 mL. Hai chủng có đặc tính in-vitro thích hợp để tồn tại và phát triển trong hệ tiêu hoá, bao gồm: có hiệu suất tạo bào tử rất cao (>90%) bền nhiệt (>65^oC), tồn tại được trong cả môi trường kỵ khí và hiếu khí ở pH phù hợp với hệ tiêu hoá, sản sinh một số enzym tiêu hóa như amylase, catalase, lipase, và gelatinase, không gây tan huyết tế bào hồng cầu, dương tính với phản ứng VP, và tạo được màng sinh học (Bảng 1). *B. subtilis* ANA3 và *B. clausii* ANA39 có trình tự 16S rRNA được công bố trên ngân hàng gen NCBI với mã số tương ứng là MT110922 và MT275656. *B. subtilis* ANA3 có độ tương đồng 99,5% so với chủng *Bacillus subtilis* DSM32315 đã được nghiên cứu sâu về độ an toàn.¹⁰ Tương tự, *B. clausii* ANA39 tương đồng 99,8% so với chủng *Bacillus clausii* UBBC07 đã được chứng minh an toàn.¹¹

2. Phương pháp

Địa điểm và thời gian:

Nghiên cứu được thực hiện trên 60 bệnh nhân từ 18 đến 65 tuổi tại trường Đại học Y Dược Thái Bình từ 11/2019 đến 3/2020.

Thiết kế nghiên cứu:

Thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên mẫu mù đơn có đối chứng, thiết kế song song, đánh giá kết quả trước và sau điều trị, thử nghiệm trong 30 ngày. Các đối tượng được phân bố ngẫu nhiên thành hai nhóm (n = 30/nhóm): nhóm đối chứng (ĐC) theo phác đồ điều trị viêm ruột mạn tính thông thường của bệnh viện; nhóm thử nghiệm (TN) sử dụng sản phẩm LiveSpo® Colon (>3 × 10⁹ CFU/ống 5 mL) với liều lượng 3 ống/ngày chia 3 lần, mỗi lần 1 ống vào buổi sáng, trưa và tối kết hợp với phác đồ điều trị như nhóm ĐC (chú ý lắc đều ống trước khi uống). Sau 30 ngày, bệnh nhân vẫn được tiếp tục theo dõi theo quy trình của bệnh viện. Bệnh nhân được đánh giá về các chỉ số lâm sàng

cơ bản, các triệu chứng, ghi nhận qua phỏng vấn theo bộ câu hỏi IBDQ-32¹²⁻¹³ với 4 lĩnh vực để đánh giá chất lượng cuộc sống liên quan đến sức khỏe ở bệnh nhân mắc bệnh viêm ruột (bệnh Ulcerative colitis và Crohn)¹⁴ bao gồm: triệu chứng đại tràng (BS), triệu chứng toàn thân (SS), chức năng tâm lý (EF) và chức năng xã hội (SF). Mỗi câu hỏi được xếp loại từ 1 đến 7 (1 là tình huống xấu nhất và 7 là tốt nhất). Tổng điểm IBDQ nằm trong khoảng từ 32 đến 224, với điểm số cao hơn thể hiện chất lượng cuộc sống tốt hơn. Bên cạnh đó, chỉ số huyết học và hóa sinh được đánh giá ở ngày 30, đặc điểm tổn thương trên nội soi đại tràng bao gồm viêm đỏ, chảy máu, sưng tấy và lở loét cũng được đánh giá ở ngày 0 và 30.

Bảng 1: Đặc điểm chủng vi khuẩn *B. subtilis* ANA3 và *B. clausii* ANA39

Đặc điểm	<i>B. subtilis</i> ANA3	<i>B. clausii</i> ANA39
Hình thái khuẩn lạc trên môi trường LB	Khuẩn lạc màu xám trắng, đường kính 3 - 5mm, viền bao quanh gồ ghề, bề mặt khô	Khuẩn lạc màu vàng, đường kính 1 - 3mm, viền bao quanh nhẵn, có bề mặt sáng bóng
Hiệu suất tạo bào tử (%)	100	90
Tính chịu nhiệt của bào tử	80°C	65°C
Kích thước chiều ngang	< 1 µm	< 1 µm
Amylase	+++	++++
Caseinase	+++	+++
Lipase	-	++
Catalase	+	+
Gelatinase	+	+
Nhiệt độ sinh trưởng tối ưu	37°C, 24 giờ	37°C, 48 giờ
Môi trường nuôi cấy phù hợp	DSM, LB, TSB, pH=7,0	DSM, LB, TSB, pH=8,0
Sinh trưởng kỵ khí/hiếu khí	++++/+	+++//++
Tan máu trên đĩa thạch	γ (Không)	γ (Không)
Phản ứng Voges-Proskauer (VP)	+	-
Tạo biofilm	+++	+

Ghi chú: -, âm tính; + dương tính hoặc hoạt tính thấp; ++, hoạt tính trung bình; +++, hoạt tính cao; +++++, hoạt tính rất cao; DSM (Difco Sporulation Medium), LB (Luria-Bertani), TSB (Tryptic Soy Broth), VP (Voges Proskauer).

3. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập bằng phỏng vấn theo mẫu bệnh án nghiên cứu thống nhất nhằm đánh giá các chỉ tiêu nghiên cứu. Sử dụng phần mềm phân tích SAS 9.4 để phân tích thống kê. Các chỉ số giữa nhóm ĐC và TN được so sánh bằng cách sử dụng kiểm định phi tham số *Wilcoxon* và kiểm định *Fisher-exact*.

4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được thông qua bởi Hội

đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học của Trường Đại học Y Dược Thái Bình, theo giấy chứng nhận chấp thuận mã số 1015/GCN-YDTB ngày 22/11/2019. Nghiên cứu phù hợp với tuyên Bố Helsinki và hướng dẫn ICH GCP và được thực hiện theo đúng các nguyên tắc của nghiên cứu sinh y. Người tham gia được cung cấp đầy đủ thông tin về nghiên cứu, được bảo mật thông tin cá nhân và có quyền rút khỏi nghiên cứu với bất cứ lý do gì.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm nhân khẩu học của các đối tượng nghiên cứu

Bảng 2. Đặc điểm nhân khẩu học và dấu hiệu sinh tồn của đối tượng nghiên cứu

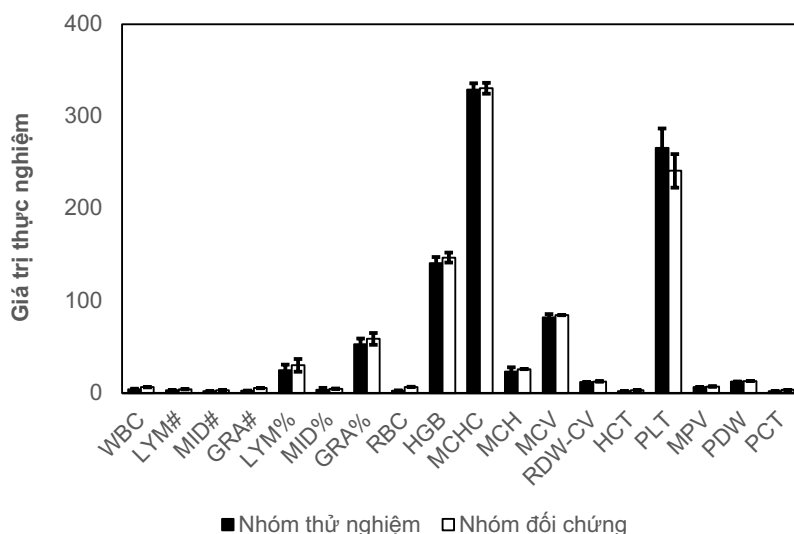
Đặc điểm nhân khẩu học và dấu hiệu sinh tồn (N = 30)	Nhóm TN	Nhóm ĐC	Tổng cộng	Giá trị p
	(N = 30)	(N = 60)		
<i>n</i>	30	30	60	
Trung bình	47,3	47,6	47,5	0,7785 ^(*)
Trung vị	51	50,5	51	
Độ lệch chuẩn	12,03	13,75	12,81	
Min	25	18	18	
Max	64	65	65	
Giới tính				0,4168 ^(**)
Nữ	18 (60,0%)	21 (70,0%)	39 (65,0%)	
Nam	12 (40,0%)	9 (30,0%)	21 (35,0%)	
Huyết áp				
Tâm thu SBP (mmHg)	123,3	123	123,2	0,8786 ^(*)
Tâm trương DBP (mmHg)	77,7	74,3	76	0,0253 ^(*)

p-value: (*) kiểm định phi tham số *Wilcoxon*, (**) kiểm định *Fisher-exact*

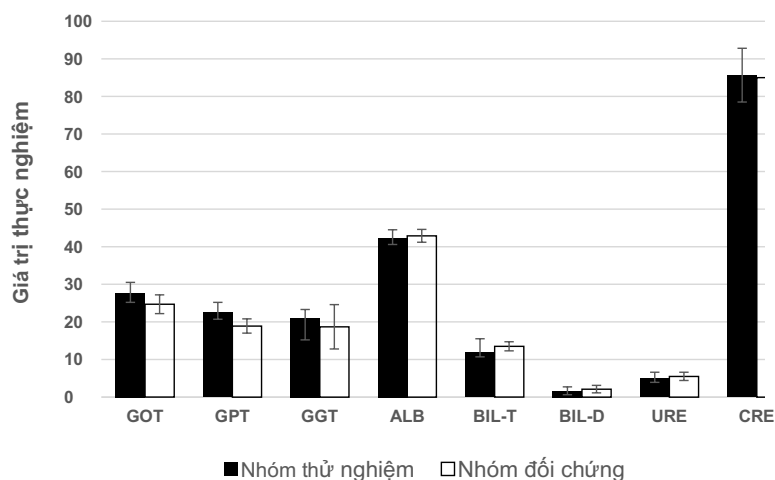
Đặc điểm nhân khẩu học của 60 bệnh nhân viêm ruột mạn tính được mô tả ở Bảng 2. Các bệnh nhân có tuổi trung bình $47,5 \pm 12,8$, khoảng 50% bệnh nhân trên 50 tuổi, tỉ lệ nam/ nữ là 1,9/1. và không có khác biệt đáng kể về chỉ số huyết áp tâm thu và huyết áp tâm trương trong cả hai nhóm nghiên cứu. Nhìn chung, các bệnh nhân trong cả nhóm ĐC và TN về cơ bản không có sự khác biệt về mặt ý nghĩa thống kê hay ý nghĩa lâm sàng tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu xét trên các đặc điểm

nhân khẩu học và tình trạng bệnh lý; do đó mang các đặc tính chung và tính đại diện cao cho quần thể các bệnh nhân viêm ruột mạn tính.

2. Kết quả đánh giá về các chỉ số huyết học và hóa sinh liên quan đến đánh giá an toàn sản phẩm A.



B.



Hình 1: A. So sánh các chỉ số huyết học giữa 2 nhóm thử nghiệm và đối chứng. WBC (white blood cell; RBC (red blood cell); HGB (hemoglobin); HCT (Hematocrit); MCV (Mean corpuscular volume); MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin); MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration); RDW (Red Cell Distribution) Width); PLT (Platelet count); MCD (Mean of hemoglobin red blood cells); RDW - CV (Red blood cell distribution); MPV (Mean platelet volume); PCT (Platelet volume). **B. So sánh các chỉ số hóa sinh giữa 2 nhóm thử nghiệm và đối chứng.** GOT (glutamate Oxaloacetat Transaminase, GPT (Glutamate pyruvate transaminase), GGT (Gamma-glutamyl transferase); BIL (Bilirubin): ALB (Albumin); URE (Urea); CRE (Creatin).

Để đánh giá độ an toàn của LiveSpo[®] Colon, các chỉ số huyết học và sinh hóa liên quan đến an toàn sức khỏe của người khi sử dụng sản phẩm đã được kiểm tra.

Kết quả ở ngày 30 cho thấy giá trị đo được của các chỉ số huyết học và sinh hoá ở hai nhóm ĐC và TN đều nằm trong giới hạn cho phép và không có sự khác biệt đáng kể (Hình 1); chứng tỏ rằng, LiveSpo[®] Colon không gây viêm nhiễm hoặc kích ứng nên không ảnh hưởng đến chỉ số huyết học và hóa sinh, đồng nghĩa với các chức năng gan thận không bị ảnh hưởng.

3. Kết quả đánh giá điểm mức độ nặng các triệu chứng bệnh viêm ruột mạn tính trên đối tượng nghiên cứu

Bảng 3: Điểm mức độ nặng các triệu chứng bệnh viêm ruột mạn tính trên đối tượng nghiên cứu

Mức độ nặng các triệu chứng	Nhóm TN (N = 30)	Nhóm ĐC (N = 30)	Tổng cộng (N = 60)	Giá trị p*	
BS	Ngày 0	41,8 ± 6,23	41,2 ± 5,26	41,5 ± 5,73	0,6834
	Ngày 7	49,2 ± 5,62	45,6 ± 4,17	47,4 ± 5,23	0,009
	Ngày 30	55,2 ± 4,44	48,2 ± 4,86	51,7 ± 5,82	< 0,0001
SS	Ngày 0	38,8 ± 6,94	38,4 ± 7,08	38,6 ± 6,95	0,481
	Ngày 7	44,8 ± 6,71	41,0 ± 4,74	42,9 ± 6,08	0,0311
	Ngày 30	48,4 ± 4,15	44,1 ± 5,93	46,2 ± 5,52	0,0034
EF	Ngày 0	34,7 ± 5,09	33,7 ± 5,06	34,2 ± 5,05	0,2564
	Ngày 7	40,3 ± 4,86	37,6 ± 3,45	39,0 ± 4,4	0,0276
	Ngày 30	44,2 ± 4,12	39,3 ± 4,33	41,8 ± 4,88	0,0002
SF	Ngày 0	24,2 ± 4,52	24,3 ± 4,74	24,3 ± 4,6	0,8585
	Ngày 7	27,5 ± 3,62	25,0 ± 2,81	26,0 ± 3,39	0,0107
	Ngày 30	29,5 ± 2,18	26,2 ± 3,34	27,9 ± 3,27	< 0,0001
Tổng	Ngày 0	139,5 ± 21,6	137,6 ± 21,13	138,6 ± 21,21	0,5344
	Ngày 7	161,8 ± 19,96	149,2 ± 13,87	155,3 ± 18,13	0,0122
	Ngày 30	177,3 ± 14,3	157,8 ± 17,53	167,6 ± 18,71	0,0001

p-value: (*) kiểm định phi tham số *Wilcoxon*; BS: triệu chứng đại tràng, SS: triệu chứng toàn thân, EF: chức năng tâm lý, SF: chức năng xã hội.

Kết quả đánh giá các triệu chứng bệnh viêm ruột mạn tính (Bảng 3) chỉ ra mức độ nghiêm trọng của triệu chứng đại tràng (BS) bao gồm đau bụng, rối loạn phân (tiêu chảy hoặc táo bón hoặc có dịch nhầy máu), mệt mỏi sút cân ở nhóm TN đã giảm trong và sau quá trình điều trị, thể hiện qua giá trị BS trung bình (± SD) 41,8 (± 6,23) trước điều trị đã tăng lên 49,2 (± 5,62) sau 7 ngày và 55,2 (± 4,44) sau 30 ngày điều trị. Tương tự, ở nhóm ĐC, điểm số cũng tăng (41,2 ± 5,26 ở ngày 0) sau 7 ngày (44,5 ± 4,17) và 30 ngày điều trị (48,2 ± 4,86). Như vậy, giá trị điểm BS ở nhóm TN có xu hướng tăng cao hơn, đồng nghĩa với mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng đại tràng sau 7 ngày và 30 ngày điều trị có xu hướng giảm nhiều hơn so với nhóm ĐC và khác biệt này có tính thống kê ($p < 0,0001$).

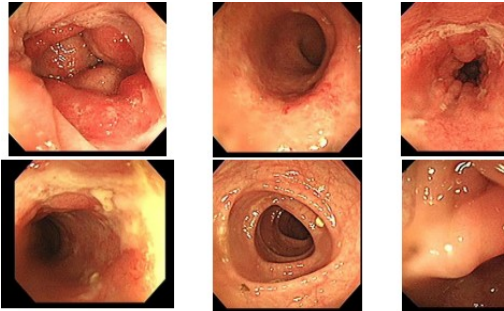
Nghiên cứu ghi nhận mức độ nặng của triệu chứng hệ thống (SS) trong nhóm TN đã giảm nhanh hơn so với ĐC, thể hiện qua giá trị SS tăng trung bình (±SD) từ 38,8 (± 6,94) trước nghiên cứu lên

44,8 ($\pm 6,71$) sau 7 ngày điều trị và 48,4 ($\pm 4,15$) sau 30 ngày điều trị. Trong nhóm ĐC, điểm số này chỉ tăng từ 38,4 ($\pm 7,08$) ngày 0 lên 41,0 ($\pm 4,74$) ngày 7 và 44,1 ($\pm 5,39$) ngày 30 ($p = 0,0034$). Xét tới các triệu chứng riêng lẻ cấu thành chức năng tâm lý (EF), nhóm TN có giá trị EF trung bình (\pm SD) từ 37,4 ($\pm 5,09$) trước nghiên cứu tăng lên 40,3 ($\pm 4,86$) sau 7 ngày điều trị và 44,2 ($\pm 4,12$) sau 30 ngày điều trị. Tuy nhiên, nhóm ĐC chỉ tăng từ 33,7 ($\pm 5,05$) ngày 0 lên 37,6 ($\pm 3,45$) ngày 7 ngày và 39,3 ($\pm 4,33$) ngày 30 ($p = 0,0002$). Điểm mức độ nặng triệu chứng chức năng xã hội (SF) cũng được đánh giá ở cả hai nhóm. Trong đó, nhóm TN có xu hướng SF tăng cao hơn (23,0 \pm 4,52 ngày 0; 27,5 \pm 3,62 ngày 7; và 29,5 \pm 2,18 ngày 30); nhóm ĐC có xu hướng tăng ít hơn (24,3 \pm 4,74 ngày 0; 26,4 \pm 3,39 ngày 7; 27,9 \pm 3,27 ngày 30) ($p < 0,0001$).

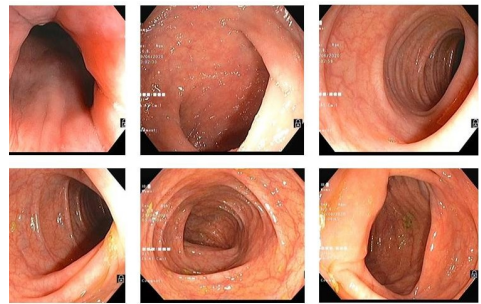
Như vậy, điểm mức độ nặng tổng các triệu chứng bệnh viêm ruột mạn tính trong nhóm TN đã tăng trung bình (\pm SD) từ 139,5 ($\pm 21,60$) trước nghiên cứu lên 161,8 ($\pm 19,96$) sau 7 ngày và 177,3 ($\pm 14,30$) sau 30 ngày điều trị. Tương tự, trong nhóm ĐC, điểm số này cũng tăng từ 137,6 ($\pm 21,13$) trước nghiên cứu lên 149,5 ($\pm 13,87$) sau 7 ngày và 157,8 ($\pm 17,53$) điểm sau 30 ngày điều trị. Mức tăng 38 điểm sau 30 ngày điều trị của nhóm TN là có ý nghĩa lâm sàng, và cao hơn 18 điểm so với mức tăng 20 điểm của nhóm ĐC. Tóm lại, có xu hướng giảm mạnh và tích cực các triệu chứng bệnh viêm ruột mạn tính ở nhóm TN sau 7 ngày và 30 ngày điều trị so với nhóm ĐC xét trên giá trị điểm tổng cộng các chỉ số phản ánh triệu chứng của bệnh.

4. Kết quả nội soi đại trực tràng thay đổi trước và sau điều trị

A.



B.



Hình 2. Hình ảnh nội soi đại trực tràng của một số bệnh nhân đại diện trong nhóm thử nghiệm trước (A) và sau điều trị 30 ngày (B).

Để có thêm số liệu về hình ảnh chứng minh hiệu quả của sản phẩm probiotic, người tham gia ở cả nhóm ĐC và TN đã được nội soi đại tràng ở ngày 0 và ngày 30, và nhóm TN cho thấy mức độ viêm loét đại tràng được cải thiện giảm đáng kể hơn so với nhóm ĐC. Kết quả phân tích hình ảnh đại diện trên một số bệnh nhân ở nhóm TN cho thấy đại tràng của các bệnh nhân này bị viêm loét nặng trước khi điều trị với tình trạng viêm: đỏ, chảy máu, sưng tấy và lở loét ở đại tràng (Hình 2A). Ngược lại, tất cả các biểu hiện tương đối của tình trạng viêm loét đại tràng đều được cải thiện đáng kể sau khi điều trị ở nhóm TN tham gia uống 3 ống LiveSpo® Colon mỗi ngày kết hợp với phác đồ điều trị của bệnh viện trong 1 tháng (Hình 2B).

IV. BÀN LUẬN

Probiotic dạng bào tử lợi khuẩn *Bacillus* đã được biết đến có tác dụng hỗ trợ điều trị các rối loạn tiêu hóa nhờ khả năng duy trì cân bằng hệ vi sinh đường ruột. Tuy nhiên, theo hiểu biết của chúng tôi thì hiện nay chưa có nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng đánh giá tác dụng của bào tử lợi khuẩn *Bacillus* trong hỗ trợ điều trị các triệu chứng của bệnh viêm ruột mạn tính, đặc biệt là dạng bào tử lợi khuẩn *Bacillus* thế hệ LS-III được bào chế ở dạng hỗn dịch nước tinh khiết, đa chủng và nồng độ cao như sản phẩm LiveSpo[®] Colon. Trong nghiên cứu này chúng tôi đã tuyển chọn được 60 bệnh nhân viêm ruột mạn tính. Các bệnh nhân này có các đặc điểm tương đồng nhau có tính đại diện cao cho quần thể bệnh nhân trưởng thành từ 18 - 65 tuổi, có hội chứng viêm ruột kích thích dựa tiêu chuẩn Rome 3.¹⁵

Kết quả xét nghiệm máu và các chỉ số liên quan tới chức năng gan, thận ở cả nhóm ĐC và nhóm TN sau 30 ngày đều nằm trong giới hạn cho phép. Điều này gợi ý rằng, LiveSpo[®] Colon không gây độc tính tới gan và thận, an toàn cho bệnh nhân trong suốt thời gian thử nghiệm. Bên cạnh đó, hiệu quả của LiveSpo[®] Colon trong hỗ trợ điều trị viêm ruột mạn tính được xác lập qua các tiêu chí đánh giá gồm các điểm số thành phần: BS, SS, EF, SF và tổng mức độ nặng tất cả các triệu chứng bệnh theo IBDQ-32. Đây là các chỉ số quốc tế được sử dụng rộng rãi trong đánh giá bệnh lý viêm ruột mạn tính, do vậy các kết luận dựa trên các chỉ số đánh giá này có tính thuyết phục và độ tin cậy cao. Mức độ giảm các triệu chứng bệnh riêng lẻ, các triệu chứng bệnh trong cùng domain và tổng mức độ nặng các triệu chứng đều được cải thiện tích cực hơn trong nhóm TN khi so sánh với nhóm ĐC. Kết quả này là tín hiệu tích cực cho thấy sản phẩm LiveSpo[®] Colon có tiềm năng trở thành một đơn trị liệu

có hiệu quả. Hơn nữa, kết quả nội soi đại tràng được cải thiện rõ rệt ở nhóm TN gợi ý rằng khi đưa vào cơ thể một lượng bào tử *B. clausii* và *B. subtilis* đủ lớn sẽ có tác dụng giúp cân bằng hệ vi sinh đường ruột, kích thích tiêu hóa tốt hơn, tạo màng sinh học giúp hỗ trợ làm lành nhanh các tổn thương ở niêm mạc.

V. KẾT LUẬN

Đây là nghiên cứu lâm sàng đầu tiên trên thế giới đánh giá tác dụng hỗ trợ điều trị viêm ruột mạn tính của bào tử lợi khuẩn *Bacillus* thế hệ LS-III được bào chế ở dạng nước tinh khiết đa chủng nồng độ cao. Kết quả cho thấy LiveSpo[®] Colon sử dụng kết hợp với các thuốc điều trị theo thường quy thể hiện khuynh hướng vượt trội trong việc giảm nhẹ các triệu chứng bệnh viêm ruột mạn tính ở nhóm người có độ tuổi 18 - 65 sau 7 ngày điều trị và rõ rệt hơn sau 30 ngày điều trị LiveSpo[®] Colon không gây ảnh hưởng đến các chỉ số huyết học và sinh hóa cũng như hoạt động sống của người sử dụng sản phẩm trong vòng 30 ngày. Như vậy, sản phẩm LiveSpo[®] Colon an toàn và có tác dụng hỗ trợ làm giảm các triệu chứng điển hình của bệnh viêm ruột mạn tính như viêm loét đại tràng, đau bụng, rối loạn phân (tiêu chảy hoặc táo bón hoặc có dịch nhầy máu), và mệt mỏi sút cân lặp lại kéo dài.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi công ty LiveSpo Global cho PGS.TS. Nguyễn Thanh Bình tại Đại học Y Dược Thái Bình. Nhóm tác giả cảm ơn các thành viên thuộc nhóm nghiên cứu và phát triển, sản xuất và kiểm định chất lượng tại công ty ANABIO R&D và LiveSpo Pharma đã tạo ra LiveSpo[®] Colon phục vụ cho nghiên cứu; cảm ơn TS. Đào Đức Giang tại công ty Sao Việt đã tham gia thiết kế nghiên cứu và PGS.TS. Nguyễn Thị Vân Anh tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên đã góp ý và chỉnh sửa bản thảo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lefevre M, Racedo SM, Denayrolles M, et al. Safety assessment of *Bacillus subtilis* CU1 for use as a probiotic in humans. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2017;83:54-65.
2. Moayyedi P, Ford AC, Talley NJ, et al. The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review. *Gut*. 2010;59(3):325-332.
3. Lee E-S, Song E-J, Nam Y-D, Lee S-Y. Probiotics in human health and disease: from nutraceuticals to pharmabiotics. *J Microbiol*. 2018;56(11):773-782.
4. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, et al. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(2):437-443.
5. Ismaeil H, Abdo W, Amer S, et al. Ameliorative Effect of Heat-Killed *Lactobacillus plantarum* L. 137 and/or Aloe vera against Colitis in Mice. *Processes*. 2020;8(2):225.
6. Sadrin S, Sennoune S, Gout B, et al. A 2-strain mixture of *Lactobacillus acidophilus* in the treatment of irritable bowel syndrome: A placebo-controlled randomized clinical trial. *Dig Liver Dis*. 2020;52(5):534-540.
7. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*. 2000;119(2):305-309.
8. Horosheva T V, Vodyanoy V, Sorokulova I. Efficacy of *Bacillus* probiotics in prevention of antibiotic-associated diarrhoea: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *JMM Case Reports*. 2014;1(3):e004036.
9. Fisher SA, Tremelling M, Anderson CA, et al. Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn's disease. *Nat Genet*. 2008;40(6):710-712.
10. Sokale AO, Menconi A, Mathis GF, et al. Effect of *Bacillus subtilis* DSM 32315 on the intestinal structural integrity and growth performance of broiler chickens under necrotic enteritis challenge. *Poult Sci*. 2019;98(11):5392-5400.
11. Sudha MR, Jayanthi N, Pandey DC, et al. *Bacillus clausii* UBBC-07 reduces severity of diarrhoea in children under 5 years of age: a double blind placebo controlled study. *Benef Microbes*. 2019;10(2):149-154.
12. Guyatt G, Mitchell A, Irvine EJ, et al. A new measure of health status for clinical trials in inflammatory bowel disease. *Astroenterology* 1989; 96(3):804-810.
13. Yaras A, Maher S, Bayliss M, et al. The Inflammatory Bowel Disease Questionnaire in Randomized Controlled Trials of Treatment for Ulcerative Colitis: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Patient Cent Res Rev*. 2020; 7(2): 189–205.
14. Pallis AG, Mouzas IA, Vlachonikolis IG. The inflammatory bowel disease questionnaire: a review of its national validation studies. *Inflamm Bowel Dis*. 2004;10(3):261-269.
15. Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, et al. Functional bowel disorders. *Gastroenterology*. 2006;130(5):1480-1491.

Summary

MULTI-STRAIN AND HIGH CONCENTRATED BACILLUS SPORE PROBIOTICS SUPPORT TREATMENT OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

This human trial (single-blind, controlled sample) was aimed to evaluate the safety and therapeutic supportive effects of LiveSpo[®] Colon probiotic product containing *Bacillus* spores of LS-III generation at high concentration of $> 3 \times 10^9$ CFU/5 mL for treatment of inflammatory bowel disease (IBD). The control group followed the hospital's treatment regimen, meanwhile the experimental group combined using the product LiveSpo[®] Colon at a dose of 1 ampoule / time x three times / day for a period of 30 days. Evaluating the effects of the product based on a set of criteria evaluating symptoms were tested on days 0, 7 and 30 and the results of colonoscopy on days 0 and 30. The safety was assessed by biochemical and hematological indicators on day 30. The results showed that, the symptoms in each assessment area as well as the total severity of colitis improved at day 7, and there was a clear statistical significance difference between the experimental group (177.3 ± 14.30) higher than the control group (157.8 ± 17.53) after 30 days. Furthermore, the result of colonoscopy showed that the level of ulcerative colitis was significantly reduced. Biochemical and hematological indicators on day 30 were within the allowed limits. The data suggests that the LiveSpo[®] Colon is safe and effective in supportive treatment of IBD (including Crohn's disease and ulcerative colitis).

Keywords: probiotics, *Bacillus* spores, LiveSpo[®] Colon, chronic inflammatory bowel disease.