

Từ hệ gen đến kiểu hình: Đánh giá tính an toàn và tiềm năng ứng dụng trong sản xuất probiotic của hai chủng *Bacillus subtilis* HT1 và *Bacillus clausii* HT2

Nguyễn Thị Hiền Trang^{1*}, Bùi Thị Việt Hà¹

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, Hà Nội, Việt Nam

Tóm tắt

Bào tử *Bacillus* bền với nhiệt độ lên tới 100°C, sống sót qua đường tiêu hóa và ổn định khi bảo quản lâu dài nên được dùng rộng rãi làm probiotic. Vì sản phẩm phục vụ người và vật nuôi, mỗi chủng cần được chứng minh an toàn trước khi sản xuất. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá *Bacillus subtilis* HT1 và *Bacillus clausii* HT2 theo hướng dẫn của FAO/WHO, Cơ quan An toàn Thực phẩm châu Âu (EFSA) và tiêu chí GRAS của FDA Hoa Kỳ. Các tiêu chí gồm tan máu trên thạch máu cừu; nhạy cảm với 14 kháng sinh; đối kháng với năm chủng kiểm định (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* kháng carbapenem, *Staphylococcus aureus* kháng methicillin và *Bacillus cereus*); phân tích gen độc lực/kháng kháng sinh trên hệ gen; khả năng sản xuất được đánh giá qua hiệu suất thu hồi bào tử. Kết quả cho thấy hai chủng đều không tan máu, nhạy cảm với 5/14 kháng sinh và ức chế 3/5 chủng gây bệnh. Phân tích di truyền không phát hiện gen độc tố thường gặp ở chi *Bacillus*, phù hợp với kiểu hình không tan máu. HT1 mang chín gen kháng kháng sinh như tet(L), satA, fosB và HT2 sáu gen như blaBCL-1, erm(34), tetO. Các gen này đều nằm trên nhiễm sắc thể, không gắn yếu tố di động. Mỗi hệ gen còn chứa gen mã hóa bacteriocin (subtilosin A, bacilysin ở HT1; clausin ở HT2) giúp tăng khả năng cạnh tranh sinh học. Hiệu suất bào tử đạt 94,4% (HT1) và 92,6% (HT2), mở ra triển vọng sản xuất quy mô lớn. Nhìn chung, HT1 và HT2 đáp ứng tiêu chí an toàn và có tiềm năng sản xuất probiotic.

Từ khóa: *Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis*, gen kháng kháng sinh, gen độc tố, giải trình tự hệ gen.

* Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Hiền Trang (E-mail: nguyenthihientrang_t66@hus.edu.vn, SĐT: +84962586756)/

* Corresponding author: Nguyen Thi Hien Trang (E-mail: nguyenthihientrang_t66@hus.edu.vn /Tel: +84962586756)

From Genome to Phenotype: Safety evaluation and probiotic production potential of *Bacillus subtilis* HT1 and *Bacillus clausii* HT2

Nguyen Thi Hien Trang^{1*}, Bui Thi Viet Ha¹

¹*Faculty of Biology, VNU University of Science, Vietnam National University, Hanoi, Vietnam*

Abstract

Bacillus spores tolerate temperatures up to 100°C, survive gastrointestinal transit, and remain stable during long-term storage, so they are widely used as probiotics. Since these products serve humans and livestock, each strain must be proven safe before production. In this study, we evaluated *Bacillus subtilis* HT1 and *Bacillus clausii* HT2 according to FAO/WHO guidelines, European Food Safety Authority (EFSA) recommendations, and FDA GRAS criteria. Assessments included haemolysis on sheep blood agar; susceptibility to 14 antibiotics; antagonism against five indicator strains (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus cereus*); and genomic analysis of virulence and antibiotic resistance genes. Production potential was assessed by spore recovery. Both strains were non-haemolytic, susceptible to 5 of 14 antibiotics, and inhibited 3 of 5 pathogenic indicator strains. Genetic analysis detected no toxin genes commonly found in the genus *Bacillus*, consistent with the non-haemolytic phenotype. HT1 harboured nine antibiotic resistance genes, such as tet(L), satA, and fosB, whereas HT2 carried six, such as blaBCL-1, erm(34), and tetO. All were located on the chromosome and were not associated with mobile genetic elements. Each genome also contained bacteriocin-encoding genes (subtilisin A and bacilysin in HT1; clausin in HT2), which enhance competitive fitness. Spore recovery reached 94.4% for HT1 and 92.6% for HT2, indicating potential for large-scale production. Overall, HT1 and HT2 meet safety criteria and show promise for probiotic production.

Keywords: *Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis*, antibiotic resistance genes, toxin genes, whole-genome sequencing.