

## SPECIES COMPOSITION OF *ASPERGILLUS* AND *PENICILLIUM* IN SELECTED TRADITIONAL MEDICINAL MATERIALS AT THREE COMMERCIAL ESTABLISHMENTS IN CENTRAL HAI PHONG, 2024

Bui Thi Hong Anh\*, Vo Thi Thanh Hien, Dinh Thi Thanh Mai, Vu Van Thai, Nguyen Thi Huyen Suong

Hai Phong University of Medicine and Pharmacy – 72A Nguyen Binh Khiem, Gia Vien Ward, Hai Phong City, Vietnam

Received: 12/02/2026

Revised: 13/03/2026; Accepted: 26/03/2026

### ABSTRACT

**Objective:** To identify the species composition of *Aspergillus* and *Penicillium* in selected traditional medicine ingredients at three business establishments in urban Hai Phong in 2024.

**Subjects and Methods:** A cross-sectional descriptive study of pure *Aspergillus* and *Penicillium* strains selected from colonies grown on DG18 medium isolated from traditional medicinal materials. Thirty samples were randomly selected for identification using PCR and DNA sequencing techniques.

**Results:** The study findings revealed a diverse species composition with a clear predominance of the *Aspergillus* genus (accounting for 24 out of 30 strains). *Aspergillus niger* was the most prevalent species (6/30 isolates), followed by *Aspergillus chevalieri* and *Penicillium citrinum* (6/30 isolates). Notably, the research successfully characterized highly toxigenic species, including *Aspergillus flavus* (a potential Aflatoxin producer) and particularly *Aspergillus steynii* has been reported to produce Ochratoxin A (OTA) at levels up to 1,000 times higher than those of common ochratoxigenic species. Phylogenetic analysis indicated that the fungal strains isolated in Hai Phong exhibited a high degree of genetic consistency, showing 99–100% homology with international reference sequences available on GenBank.

**Conclusion:** The fungal species composition identified in traditional medicine ingredients in urban Hai Phong is not only diverse but also presents a potential risk due to the presence of species capable of producing mycotoxins. Among the 30 fungal strains isolated, 24 belonged to the *Aspergillus* genus, while 6 were identified as *Penicillium*. A total of 13 distinct species were successfully characterized, with *Aspergillus niger* emerging as the most prevalent contaminant.

**Keywords:** *Aspergillus*, *Penicillium*, species composition, traditional medicine.

---

\*Corresponding author

**Email:** bthanh@hpmu.edu.vn **Phone:** (+84) 359687398 **DOI:** 10.52163/yhc.v67iCD4.4688

# THÀNH PHẦN LOÀI NẤM *ASPERGILLUS*, *PENICILLIUM* Ở MỘT SỐ VỊ THUỐC CỔ TRUYỀN TẠI 3 CƠ SỞ KINH DOANH NỘI THÀNH HẢI PHÒNG NĂM 2024

Bùi Thị Hồng Ánh\*, Võ Thị Thanh Hiền, Đinh Thị Thanh Mai, Vũ Văn Thái, Nguyễn Thị Huyền Sương

Trường Đại học Y Dược Hải Phòng – 72A Nguyễn Bình Khiêm, P. Gia Viên, Tp. Hải Phòng, Việt Nam

Ngày nhận: 12/02/2026

Ngày sửa: 13/03/2026; Ngày đăng: 26/03/2026

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Xác định thành phần loài nấm *Aspergillus*, *Penicillium* ở một số vị thuốc cổ truyền tại 3 cơ sở kinh doanh nội thành Hải Phòng năm 2024.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang các chủng nấm *Aspergillus* và *Penicillium* thuần được chọn lọc từ các khuẩn lạc mọc trên môi trường DG18 phân lập từ vị thuốc cổ truyền. Chọn ngẫu nhiên 30 mẫu thực hiện kỹ thuật PCR và giải trình tự gen.

**Kết quả:** Kết quả nghiên cứu cho thấy sự đa dạng thành phần loài và chiếm ưu thế là chi *Aspergillus* (24/30 chủng) trong đó *A. niger* (6/30 mẫu), tiếp theo là *A. chevalieri* và *P. citrinum* (4/30 mẫu). Nghiên cứu đã định danh thành công các loài có tiềm năng sinh độc tố cực mạnh như *Aspergillus flavus* (có khả năng sinh Aflatoxin) và đặc biệt là *Aspergillus steynii* – loài được báo cáo có khả năng sinh Ochratoxin A (OTA) cao gấp 1000 lần so với các loài thông thường. Cây phát sinh loài cho thấy các chủng nấm phân lập tại Hải Phòng có độ tương đồng trên 99-100% với các chủng chuẩn quốc tế trên GenBank.

**Kết luận:** Thành phần loài nấm trên vị thuốc cổ truyền tại nội thành Hải Phòng không chỉ đa dạng mà còn có nguy cơ tiềm tàng do hiện diện loài có khả năng sinh độc tố nấm mốc. Trong 30 chủng nấm phân lập từ vị thuốc cổ truyền có 24 chủng thuộc chi *Aspergillus*, 6 chủng thuộc chi *Penicillium*. Phân lập được 13 loài nấm trong đó *A. niger* chiếm tỷ lệ cao nhất.

**Từ khóa:** *Aspergillus*, *Penicillium*, thành phần loài, vị thuốc cổ truyền.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm mốc hiện diện rộng rãi trong môi trường và đặc biệt nguy hiểm khi xâm nhập vào lương thực, thực phẩm và vị thuốc cổ truyền. Chúng có thể gây bệnh phức tạp như nấm phổi, nấm máu do *Aspergillus* và *Penicillium*, đồng thời còn sinh nhiều loại độc tố nguy hại như aflatoxin và ochratoxin. Aflatoxin chủ yếu được sản xuất từ *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, [1] ochratoxin chủ yếu được sản xuất từ *Penicillium* spp. [2] hai loại độc tố này bền với nhiệt và không bị loại bỏ trong điều kiện sắc nấu [3], việc sử dụng lâu dài các dược liệu bị ô nhiễm có thể tăng nguy cơ mắc các bệnh lý mạn tính trầm trọng, điển hình là ung thư gan. Y học cổ truyền đóng vai trò quan trọng trong hệ thống chăm sóc sức khỏe tại Việt Nam và nhiều quốc gia, song đặc thù sử dụng kéo dài khiến nguy cơ phơi nhiễm độc tố nấm mốc càng đáng lo ngại. Với điều kiện khí hậu nhiệt đới nóng ẩm cùng với quy trình chế biến và bảo quản chưa đảm bảo càng làm tăng nguy cơ nhiễm nấm. Các nghiên cứu trước đây đã ghi nhận tỷ lệ nhiễm nấm cao ở dược liệu và vị thuốc cổ truyền: Năm 2020, Ling Chen phát hiện 83,3% dược liệu từ Trung Quốc nhiễm nấm [4]; Năm 2019, nghiên cứu của Trần Quang Phục ghi nhận 48,1% vị thuốc đông dược tại Nghệ An nhiễm nấm [5]; gần đây, nghiên cứu tại Hải Phòng cho thấy tỷ lệ nhiễm *Aspergillus* và *Penicillium* ở các vị thuốc cổ truyền rất cao, lần lượt là 63,8% (trên môi trường Sabouraud) và 79,7% (trên môi trường DG18) [6]. Tuy nhiên, phần lớn các nghiên cứu mới dừng ở việc xác định tỷ lệ nhiễm, chưa làm rõ thành phần loài và khả năng sinh độc tố của các chủng nấm. Khoảng trống này đặt ra yêu cầu cần thiết phải định danh chính xác các loài *Aspergillus* và *Penicillium* hiện diện trong vị thuốc cổ truyền, nhằm đánh giá nguy cơ an toàn cho người sử dụng Vì vậy chúng tôi triển khai đề tài: “Thành phần loài

nấm *Aspergillus*, *Penicillium* ở một số vị thuốc cổ truyền tại 3 cơ sở kinh doanh nội thành Hải Phòng năm 2024” với mục tiêu: Xác định thành phần loài nấm *Aspergillus*, *Penicillium* ở vị thuốc cổ truyền tại 3 cơ sở kinh doanh nội thành Hải Phòng năm 2024.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**2.1. Đối tượng nghiên cứu:** Các chủng nấm *Aspergillus* và *Penicillium* thuần được chọn lọc từ các khuẩn lạc mọc trên môi trường DG18 phân lập từ vị thuốc cổ truyền.

- Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu : 05/2024-1/2026

- Địa điểm nghiên cứu: Nuôi cấy, định danh nấm bằng hình thái được thực hiện tại phòng xét nghiệm Bộ môn Kỹ sinh trùng, Trường Đại học Y Dược Hải Phòng. Định danh nấm bằng kỹ thuật sinh học phân tử: Thực hiện kỹ thuật PCR và kiểm tra sản phẩm PCR tại Labo trung tâm, Trường Đại học Y Dược Hải Phòng; Giải trình tự gen tại Apical scientific Sdn. Bhd. (Malaysia).

- Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

### 2.2. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu nghiên cứu

Cỡ mẫu cho nghiên cứu tỷ lệ nhiễm nấm *Aspergillus*, *Penicillium* được áp dụng theo công thức tính cỡ mẫu nghiên cứu:

$$n = Z^2 \frac{p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó: n: cỡ mẫu tối thiểu cần cho nghiên cứu;  $Z_{1-\alpha/2}$ :

\*Tác giả liên hệ

Email: bthanh@hpmu.edu.vn Điện thoại: (+84) 359687398 DOI: 10.52163/yhc.v67iCD4.4688

hệ số tin cậy, với  $\alpha = 0,05$ , độ tin cậy 95% thì  $Z_{1-\alpha/2} = 1,96$ ; q: là yếu tố phụ thuộc vào p ( $q = 1-p$ ), d: sai số tuyệt đối mong muốn của p, chọn  $d = 0,05$ ; p: tỷ lệ ước tính nhiễm nấm của quần thể, chọn  $p = 0,581$  theo nghiên cứu của Đậu Huy Hoàn năm 2018 [7]. Với các giá trị đã chọn, cỡ mẫu tối thiểu cho nghiên cứu thực trạng nhiễm nấm là 386. Thực tế chúng tôi đã nghiên cứu 390 mẫu vị thuốc cổ truyền.

Trong tổng số 275 mẫu dương tính trên môi trường DG18, dựa vào đặc điểm hình thái học phân thành 13 nhóm *Aspergillus* và *Penicillium*. Do điều kiện kinh phí có hạn, nhóm nghiên cứu chọn mẫu tối thiểu để thực hiện kỹ thuật PCR và giải trình tự gen là 30 mẫu. Để đảm bảo tính khoa học và tính đại diện mẫu được chọn theo phương pháp phân tầng: Ba cơ sở, mỗi cơ sở lấy 10 mẫu, bảo đảm có đại diện từ cả 13 nhóm loài; trong từng nhóm và từng cơ sở, mẫu được chọn ngẫu nhiên.

### 2.3. Phương pháp thu thập số liệu

Thực hiện phương pháp nuôi cấy định danh trên môi trường DG18 (Djchloran Glycerol Cloramphenicol) của hãng Himedia (Ấn Độ), ủ ở nhiệt độ phòng trong 3-5 ngày. Định danh nấm bằng hình thái học theo khóa phân loại của Katsuhiko Ando "Identification of fungi Imperfecti", 2002, NITE; Chi *Aspergillus* của Raper, Fennell, 1965; Chi *Penicillium* của Raper Thom, 1968; Robert A. Samson và cộng sự, 1984, Khóa phân loại của Bùi Xuân Đồng (1986). Các mẫu khuẩn lạc nấm *Aspergillus* và *Penicillium* mọc từ vị thuốc cổ truyền thu được sau khi nuôi cấy trên môi trường DG18 được lưu trữ trong nước muối sinh lý, sau đó chuyển làm định danh bằng kỹ thuật PCR, DNA được tách chiết từ khuẩn lạc nấm thuần, sau khi tách chiết DNA tổng số khuếch đại gen với môi: Môi xuôi ITS5 và môi ngược NL4 đã được chọn cho phản ứng PCR khuếch đại đoạn gen chứa một phần gen 18S rADN; toàn bộ đoạn gen 5.8S rADN; toàn bộ đoạn giao gen ITS1, ITS2 và một phần gen 28S rADN của nấm, kích thước khoảng 1000 – 1200bp. Thực hiện giải trình tự gen định danh loài nấm bằng kỹ thuật sanger.

### 2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập trong nghiên cứu được nhập và xử lý theo phần mềm SPSS 20.0. Kết quả giải trình tự được đăng ký và phân tích phả hệ trên ngân hàng gen <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>. Cây phả hệ được xây dựng bằng phần mềm Mega11.

### 2.5. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được thông qua bởi hội đồng thông qua đề cương của Trường Đại học Y dược Hải Phòng. Số liệu, thông tin được đảm bảo tính bí mật, chỉ nhằm mục đích phục vụ cho nghiên cứu. Các kết quả nghiên cứu, ý kiến đề xuất được sử dụng vào mục đích phục vụ sức khỏe của cộng đồng, ngoài ra không phục vụ mục đích nào khác.

Tác giả cam kết nội dung chính trong bài báo này chưa từng được công bố trên bất kỳ tạp chí nào khác. Một phần số liệu về tỷ lệ nhiễm nấm được trích dẫn từ nghiên cứu thực trạng ban đầu của nhóm tác giả để làm cơ sở cho việc chọn mẫu định danh sâu hơn trong công trình này.

## 3. KẾT QUẢ

**Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm nấm *Aspergillus* và *Penicillium* trong môi trường DG18 (n = 390)**

Tỷ lệ nhiễm	n	%
Dương tính	275	70,5
Âm tính	115	29,5
Tổng	390	100

Nhận xét: 390 mẫu vị thuốc cổ truyền được nuôi cấy trên môi trường DG18 trong đó có 275 mẫu thấy nấm chiếm tỷ lệ 70,5%, 115 mẫu không thấy mọc nấm chiếm tỷ lệ 29,5%.

## 3.1. Kết quả định danh loài nấm ở vị thuốc y học cổ truyền bằng kỹ thuật giải trình tự gen

### 3.1.1. Kết quả định danh loài nấm ở vị thuốc y học cổ truyền bằng kỹ thuật giải trình tự gen

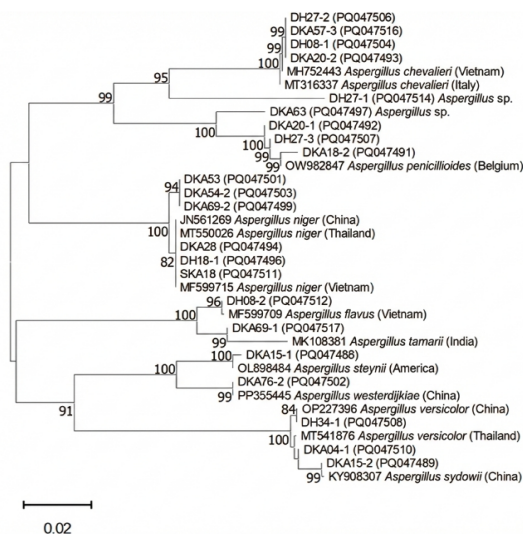
Từ 275 mẫu nấm (+) sau nuôi cấy trong môi trường DG18, chọn 30 mẫu khuẩn lạc để thực hiện kỹ thuật PCR và giải trình tự gen. Các mẫu nấm được tách chiết ADN bằng bộ kit i-genomic BYF DNA Extraction Mini Kit (Lot.No. 173610156, iNtRON Biotechnology) theo hướng dẫn của nhà sản xuất; Khuếch đại đoạn gen: DNA của nấm sau khi tách chiết được sử dụng làm khuôn (template) cho phản ứng PCR. Cặp mồi ITS5 và NL4 khuếch đại đoạn gen chứa 1 phần gen 18S rDNA; Toàn bộ đoạn gen 5.8S rDNA; Toàn bộ các đoạn giao gen ITS1, ITS2 và một phần gen 28S rDNA của vi nấm, kích thước khoảng 1000-1200bp.

**Bảng 2. Tỷ lệ tương đồng của một số mẫu nấm so với ngân hàng genbank**

TT	Ký hiệu mẫu	Mã số trên genbank	Chủng so sánh, mã số	Tỷ lệ (%) tương đồng
1	DKA15-1	PQ047488.1	<i>Aspergillus steynii</i> OL898484.1	100
2	DKA15-2	PQ047489.1	<i>Aspergillus sydowii</i> MN413179.1	100
3	DKA18-1	PQ047490.1	<i>Penicillium steckii</i> MK929562.1	99,59
4	DKA18-2	PQ047491.1	<i>Aspergillus penicillioides</i> OW982847.1	100
5	DKA69-2	PQ047499.1	<i>Aspergillus niger</i> OR195801.1	100
6	DKA76-2	PQ047502.1	<i>Aspergillus westerdijkiae</i> PP355445.1	100
7	DH08-1	PQ047504.1	<i>Aspergillus chevalieri</i> MT316337.1	100
8	DH23-2	PQ047505.1	<i>Penicillium citrinum</i> LC105674.1	100
9	DH34-1	PQ047508.1	<i>Aspergillus versicolor</i> OP237396.1	100
10	DH08-2	PQ047512.1	<i>Aspergillus flavus</i> MT645322.1	100
11	DH18-2	PQ047513.1	<i>Penicillium brocae</i> KX674623.1	100
12	DKA69-1	PQ047517.1	<i>Aspergillus tamarii</i> MK108381.1	99,83

Hầu hết các mẫu nấm phân lập từ vị thuốc cổ truyền trong nghiên cứu này được xác định loài đều có tỷ lệ tương đồng cao với ngân hàng gen, trên 99%.

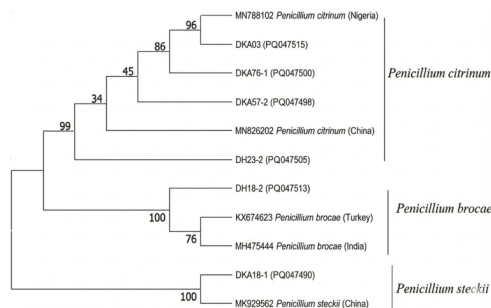
### 3.1.2. Kết quả cây phát sinh loài giữa các chủng *Aspergillus* sp. phân lập từ vị thuốc cổ truyền



Hình 1. Cây phát sinh loài xác định mối quan hệ về loài giữa các chủng *Aspergillus* sp. phân lập từ vị thuốc cổ truyền

Dựa trên đoạn gen 5.8S, cây phát sinh loài loài được xây dựng bằng chương trình MEGA11, sử dụng phương pháp kết nối liên kề NJ (Neighbor - joining) với hệ số tin cậy bootstrap là 1000 lần lặp cho thấy mối quan hệ phả hệ giữa các chủng *Aspergillus* spp, phân trăm bootstrap của phân tích được trình bày ở các nút, các giá trị bootstrap nhỏ hơn 70% được chỉ định bằng dấu gạch nối hoặc không hiển thị. Cây phát sinh loài hỗ trợ cho việc phân loại các chủng *Aspergillus* thành 9 loài khác nhau. Các chủng thuộc cùng một loài thường tập trung thành một nhánh riêng biệt với độ tin cậy cao thể hiện mối quan hệ họ hàng gần gũi giữa chúng. Các chủng *A. niger*, *A. tamarii*, *A. flavus*, *A. steynii*, *A. westerdijkiae*, *A. versicolor*, *A. sydowii*, *A. penicillioides* và *A. chevalieri* đều tạo thành các nhóm riêng biệt. Ví dụ 4 mẫu nấm PQ047493, PQ047504, PQ047506, PQ047516 có tỷ lệ tương đồng 100% với trình tự tham chiếu của *Aspergillus chevalieri* MT316337 (Y) và MH752443 (Việt Nam). Trong cây phát sinh loài có thể thấy một số nút có giá trị bootstrap cao (trên 90%), ví dụ như nút phân tách giữa nhóm *A. niger* với các chủng còn lại (100%), nút phân tách giữa PQ047501, PQ047499 và PQ047503 (95%), hay nút phân tách giữa PQ047488 với chủng OL898484 và PQ047502 với chủng PP355445 (99%). Điều này cho thấy mối quan hệ tiến hóa giữa các chủng tại các nút này được hỗ trợ mạnh mẽ bởi dữ liệu di truyền và có độ tin cậy cao.

3.1.3. Kết quả cây phát sinh loài giữa các chủng *Penicillium* sp. phân lập từ vị thuốc cổ truyền



Hình 2. Cây phát sinh loài xác định mối quan hệ về loài giữa các chủng *Penicillium* sp. phân lập từ vị thuốc cổ truyền

Dựa trên đoạn gen 5.8S, cây phát sinh loài được xây dựng bằng chương trình MEGA11, sử dụng phương pháp kết nối liên kề NJ (Neighbor - joining) với hệ số tin cậy bootstrap là 1000 lần lặp lại đã cho thấy: Mẫu nấm PQ047515 có quan hệ họ hàng gần gũi nhất với chủng *Penicillium citrinum* MN788102 từ Nigeria. Ba mẫu nấm PQ047500,

PQ0475498 và PQ047505 tạo thành một nhánh riêng biệt, có quan hệ gần gũi với chủng *Penicillium citrinum* MN826202 từ Trung Quốc; Mẫu nấm PQ047513 có tỷ lệ tương đồng 100% với trình tự tham chiếu của *Penicillium brocae* KX674623 (Thổ Nhĩ Kỳ) và *Penicillium brocae* MH475444 (Ấn Độ); Mẫu nấm PQ047490 có tỷ lệ tương đồng 100% với trình tự tham chiếu của *Penicillium steckii* MK929562 (Trung Quốc).

Bảng 3. Tần suất của các loài nấm phân lập từ các vị thuốc cổ truyền

Loài nấm	Số lượng (n = 30)	Tỷ lệ (%)
<i>Aspergillus niger</i>	6	20,0
<i>Aspergillus westerdijkiae</i>	1	3,33
<i>Aspergillus chevalieri</i>	4	13,33
<i>Aspergillus steynii</i>	1	3,33
<i>Aspergillus sydowii</i>	1	3,33
<i>Aspergillus penicillioides</i>	3	10,0
<i>Aspergillus flavus</i>	2	6,67
<i>Aspergillus versicolor</i>	2	6,67
<i>Aspergillus tamarii</i>	1	3,33
<i>Aspergillus</i> sp.	3	10,0
<i>Penicillium steckii</i>	1	3,33
<i>Penicillium brocae</i>	1	3,33
<i>Penicillium citrinum</i>	4	13,33

Có 13 loài nấm khác nhau phân lập từ các vị thuốc cổ truyền trong đó *A. niger* chiếm tỷ lệ cao nhất 20,0%(6/30 mẫu); Tiếp đến *A. chevalieri* 13,33%(4/30 mẫu) và *Penicillium citrinum* (4/30 mẫu); *Aspergillus penicillioides* 10,0%(3/30 mẫu); *Aspergillus flavus* và *Aspergillus versicolor* chiếm tỉ lệ 6,67%(2/30 mẫu); có 6 loài chiếm tỉ lệ 3,33%(1/30 mẫu) là *Aspergillus westerdijkiae*, *Aspergillus steynii*, *Aspergillus sydowii*, *Penicillium steckii*, *Penicillium brocae*, *Aspergillus tamarii*; *Aspergillus* sp. chiếm 10% (3/30 mẫu).

4. BÀN LUẬN

Việc xác định chính xác thành phần loài là cơ sở khoa học quan trọng để đánh giá nguy cơ ô nhiễm độc tố nấm mốc trong dược liệu. Nghiên cứu đã ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen (PCR-Sequencing) vùng ITS1-5.8S-ITS2 - một tiêu chuẩn hiện đại giúp khắc phục những hạn chế của phương pháp hình thái học truyền thống vốn dễ nhầm lẫn giữa các loài có đặc điểm tương đồng. Kết quả nghiên cứu cho thấy sự đa dạng thành phần loài và ưu thế của chi *Aspergillus*. Từ 30 chủng nấm phân lập, nghiên cứu đã định danh thành công 13 loài nấm khác nhau, minh chứng cho một hệ sinh thái nấm phong phú trên các vị thuốc cổ truyền. Trong đó, *Aspergillus niger* chiếm tỷ lệ cao nhất 20,0% (6/30), tiếp theo là *Aspergillus chevalieri* và *Penicillium citrinum* 13,33% (4/30). (Kết quả này tương đồng với nghiên cứu tại Sudan, khẳng định *A. niger* là tác nhân gây nhiễm phổ biến nhờ khả năng thích nghi mạnh mẽ trên nhiều loại chất nền dược liệu [8]. Đáng chú ý, sự xuất hiện của các loài nấm ưa khô như *Aspergillus penicillioides* và *Aspergillus versicolor* cho thấy hiệu quả của việc sử dụng môi trường DG18 trong việc phát hiện các tác nhân gây hỏng dược liệu ở điều kiện độ ẩm thấp. Hầu hết các loài được định danh đều mang tiềm năng sinh độc tố nguy hiểm cho thấy nguy cơ tiềm ẩn từ độc tố

nấm mốc đối với sức khỏe cộng đồng. *Aspergillus flavus* (6,67%) là được biết đến là một trong những loài nấm có khả năng sản xuất Aflatoxin - một chất độc hại có thể gây ra các vấn đề sức khỏe nghiêm trọng. Nhiễm độc AF có thể dẫn đến ức chế hệ thống miễn dịch, suy giảm sự phát triển của trẻ, có thể gây ung thư[9]. Trong khi *A. niger* và *A. westerdijkiae* liên quan trực tiếp đến Ochratoxin A (OTA) gây độc thận và gan[10]. Đặc biệt, nghiên cứu phát hiện sự hiện diện của *Aspergillus steynii* trên mẫu hoa nhài - một loài được báo cáo có khả năng sản sinh OTA cao gấp 1000 lần so với *Aspergillus ochraceus*[11]. Điều này đặt ra một cảnh báo khẩn cấp về an toàn dược liệu, khi các độc tố này thường bền nhiệt và không bị loại bỏ hoàn toàn qua quá trình nấu sắc thông thường. Bên cạnh các loài đã xác định, nghiên cứu vẫn còn 3 mẫu (10%) *Aspergillus* sp... Đây là hạn chế cụ thể về độ phân giải của vùng gen ITS khi chưa đủ để phân tách các nhóm loài có quan hệ di truyền quá gần gũi; Việc chưa khai thác thêm trình tự đoạn D1/D2 đã giới hạn khả năng phân tách sâu hơn;. Nhằm khắc phục và hoàn thiện hơn, các nghiên cứu tiếp theo có thể hướng tới phương pháp giải trình tự đa đoạn gen (như  $\beta$ -tubulin hoặc calmodulin) để làm rõ định danh.

Cây phát sinh loài (Phylogenetic tree) xây dựng theo phương pháp Neighbor-Joining (NJ) với hệ số tin cậy bootstrap cao (nhiều nút đạt 100%) đã làm rõ mối quan hệ tiến hóa giữa các chủng phân lập tại Hải Phòng với ngân hàng gen quốc tế. Hầu hết các mẫu nghiên cứu có độ tương đồng trên 99% với các chủng chuẩn từ Ý, Mỹ, Trung Quốc và các vùng khác tại Việt Nam. Việc chủng *A. chevalieri* (PQ047504) khớp 100% với trình tự tham chiếu tại Ý và Việt Nam cho thấy sự ổn định về đặc điểm di truyền của loài này trong các môi trường địa lý khác nhau.

Kết quả định danh bằng sinh học phân tử không chỉ mô tả sự đa dạng loài mà còn cung cấp bằng chứng khách quan về tình trạng ô nhiễm nấm mốc sinh độc tố trong dược liệu tại địa phương. Đây là cơ sở thực tiễn để các cơ quan quản lý thắt chặt quy trình bảo quản, kiểm soát độ ẩm và hoạt độ nước nhằm hạn chế tối đa nguy cơ phơi nhiễm độc tố nấm cho người sử dụng. Tuy nhiên, nghiên cứu vẫn tồn tại một số hạn chế: số lượng mẫu giải trình tự gen còn hạn chế do điều kiện kinh phí; phạm vi khảo sát chỉ tập trung tại ba cơ sở nội thành Hải Phòng nên chưa phản ánh toàn diện tình hình ở các địa phương khác; đồng thời chưa tiến hành định lượng trực tiếp hàm lượng độc tố nấm mốc trong dược liệu. Những hạn chế này gợi ý cần có các nghiên cứu tiếp theo với cỡ mẫu lớn hơn, phạm vi rộng hơn và kết hợp phân tích độc tố để đưa ra khuyến nghị toàn diện hơn về an toàn dược liệu.

## 5. KẾT LUẬN

Thành phần loài nấm trên vị thuốc cổ truyền tại nội thành Hải Phòng không chỉ đa dạng mà còn có nguy cơ tiềm tàng do hiện diện loài có khả năng sinh độc tố. Trong 30 chủng vi nấm phân lập từ vị thuốc cổ truyền tại ba cơ sở kinh doanh ở nội thành Hải Phòng định danh được 24 chủng thuộc chi *Aspergillus*, 6 chủng thuộc chi *Penicillium*. Phân lập được 13 loài nấm trong đó 10 loài *Aspergillus* là *Aspergillus niger*, *Aspergillus chevalieri*, *Aspergillus penicillioides*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus westerdijkiae*, *Aspergillus steynii*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus tamarii*; *Aspergillus* sp. và 3 loài thuộc chi *Penicillium* gồm *Penicillium citrinum*, *Penicillium steckii*, *Penicillium brocae*.

## KHUYẾN NGHỊ

Cần nâng cao nhận thức của cơ sở kinh doanh về nguy cơ nhiễm nấm mốc trong vị thuốc cổ truyền và cách sử dụng vị thuốc an toàn. Kiểm soát chặt chẽ chất lượng dược liệu cũng như các vị thuốc cổ truyền bao gồm cả việc áp dụng các biện pháp phòng ngừa và kiểm soát nhiễm nấm mốc hiệu quả trong quá trình trồng trọt, thu hái, chế biến và bảo quản vị thuốc. Đề xuất nghiên cứu tiếp theo mở rộng

phạm vi và định lượng trực tiếp độc tố aflatoxin, ochratoxin trong dược liệu để có cơ sở cảnh báo và quản lý toàn diện hơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Gachara G., Suleiman R., Kilima B. et al. (2024). Pre- and post-harvest aflatoxin contamination and management strategies of *Aspergillus* spoilage in East African Community maize: review of etiology and climatic susceptibility. *Mycotoxin Res.*
- [2] Wang Y., Wang L., Liu F. et al. (2016). Ochratoxin A Producing Fungi, Biosynthetic Pathway and Regulatory Mechanisms. *Toxins*, 8(3), 83.
- [3] Sueck F., Hemp V., Specht J. và cộng sự. (2019). Occurrence of the Ochratoxin A Degradation Product 2'R-Ochratoxin A in Coffee and Other Food: An Update. *Toxins*, 11(6), 329.
- [4] Chen L., Guo W., Zheng Y. et al. (2020). Occurrence and Characterization of Fungi and Mycotoxins in Contaminated Medicinal Herbs. *Toxins*, 12(1), 30.
- [5] Phục T.Q., Thăng H.V., và Thủy Đ.T.T. (2022). Nghiên cứu tỷ lệ nhiễm nấm ở các vị thuốc đông dược tại bệnh viện đông y tỉnh Nghệ An năm 2019. .
- [6] Đinh Thị Thanh Mai, Bùi Thị Hồng Ánh, Vũ Văn Thái và cộng sự. (2024), Thực trạng nhiễm nấm *Aspergillus*, *Penicillium* ở vị thuốc ở vị thuốc cổ truyền tại một số cơ sở kinh doanh nội thành Hải Phòng năm 2024, Đề tài cơ sở, Đại học Y Dược Hải Phòng.
- [7] Đậu Huy Hoàn (2018), Thực trạng nhiễm vi nấm, aflatoxin trong một số vị thuốc đông dược, kiến thức, thái độ, thực hành, bảo quản thuốc của cán bộ y tế tỉnh Nghệ An, hiệu quả can thiệp (2016-2017), Luận văn Tiến sĩ.
- [8] Ehsan Musa Ewad EL-Kareem, Hatil Hashim EL-Kamali, Ahlam Salih Eltahir et al. (2021). Fungal Contamination of Some Medicinal Plant Materials Sold at Omdurman Local Market, Khartoum State, Central Sudan. (7), 85-92.
- [9] Skrzydlewski P., Twarużek M., và Grajewski J. (2022). Cytotoxicity of Mycotoxins and Their Combinations on Different Cell Lines: A Review. *Toxins*, 14(4), 244.
- [10] Vakili S., Baheer E., Vaezi Z. et al. (2023). In Vitro Study of the Interaction between Ochratoxin A and Human Serum Albumin by Spectroscopic and Molecular Docking Methods. *ChemistrySelect*, 8.
- [11] Gil-Serna J., Patiño B., Cortes L. et al. (2015). *Aspergillus steynii* and *Aspergillus westerdijkiae* as potential risk of OTA 1 contamination in food products in warm climates. *Food Microbiol*, 46, 168-175.