chống dịch và tình trạng nhiễm Covid-19 của nhân viên y tế với sự hài lòng về công việc có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bệnh viện đa khoa khu vực Tháp Mười.** Báo cáo kết quả khảo sát sự hài lòng nhân viên y tế lần năm 2021. Số 140/BC-BVTM. 2021.
2. **Hà Nam Khánh Giao.** Các nhân tố ảnh hưởng đến sự hài lòng công việc của nhân viên bệnh viện đa khoa tỉnh Sóc Trăng. Tạp chí Kinh tế - Kỹ thuật. Số (21). 2018. 13-23.
3. **Nguyễn Văn Liêm, Đỗ Mai Hoa và Vũ Thị Hậu.** Sự hài lòng đối với công việc của nhân viên y tế và một số yếu tố ảnh hưởng tại bệnh viện Đa khoa Khu vực huyện Tiểu Cần, tỉnh Trà Vinh năm 2020. Tạp chí Khoa học nghiên cứu Sức khỏe và Phát triển. Tập 06. Số 01. 2020. 13-17.
4. **Trần Thị Lý.** Thực trạng và một số yếu tố liên quan đến mức độ hài lòng của nhân viên y tế tại một số bệnh viện năm 2019. Hội nghị khoa học lao và bệnh phổi lần thứ XII. 2022. 248-258.
5. **Cao Hoàng Sạ.** Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến sự hài lòng công việc của nhân viên y tế khoa cấp cứu bệnh viện chợ rẫy năm 2019. Tạp chí Y học cộng đồng. Số 2(55). 2022. 63-68.
6. **Vũ Thị Hồng Thái.** Sự hài lòng của nhân viên y tế tại bệnh viện đa khoa Nông Nghiệp năm 2022. Tạp chí Y học Việt Nam. Tập 526-tháng 5-số 2-2023. 2023. 262-267.
7. **Charlet Jenifer. D.** A study on job satisfaction of employees at the multi-specialty hospitalin Chennai. IJARIIE - ISSN(O). Vol-3Issue-6 2017. 2017. 2395-2396.

ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP METAGENOMIC TRONG PHÂN TÍCH ĐA DẠNG VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT BỊ TIÊU CHẢY DO SỬ DỤNG KHÁNG SINH

Nguyễn Duy Hà[1], Nguyễn Thái Sơn[1], Chu Đình Tới[2], Nguyễn Quỳnh Uyển[2], Hoàng Văn Vinh[2]

TÓM TẮT

Mục đích: Sử dụng phương pháp metagenomic trong phân tích gen 16s rDNA để đánh giá sự biến động hệ vi khuẩn đường ruột trên mô hình chuột cống trắng bị tiêu chảy do dùng kháng sinh. **Đối tượng và phương pháp:** Chuột cống trắng được gây tiêu chảy bằng Lincomycine với liều 5g/ kg/24h. Khi kết thúc thí nghiệm, các mẫu manh tràng chuột được thu thập, tách chiết DNA và trình tự vùng V3 -V4 của gen 16S rDNA. Phần mền Qiime2 được sử dụng để phân tích sự đa dạng của các loài vi khuẩn trong đường ruột của chuột cống trắng dựa trên đơn vị phân loại ASV (Amplicon Sequence Variant). **Kết quả**: Kháng sinh làm giảm sự đa dạng alpha của hệ vi khuẩn đường ruột. Ở mức độ ngành, ngành Bacteroidota và Proteobacteria tăng và ngành Firmicutes bị giảm ở nhóm sử dụng kháng sinh. Ở mức độ chi, kháng sinh làm giảm mức độ phong phú của chi Lactobacillus, Bacillus, Clostridium innocuum, Romboutsia, Erysipelatoclostridium, Muribaculaceae, Hungatella và UBA1819 và làm tăng mức độ phong phú đối với chi Bacteroides, Pseudomonas, Escherichia-Shigella, Lachnoclostridium , Proteus, Robinsoniella. **Kết luận**: Sự đa dạng của hệ vi sinh vật đường ruột đã giảm đi khi sử dụng Lincomycine. Kháng sinh làm tăng đáng kể các chi có hại như Bacteroides, Escherichia-Shigella là hai chi nổi bật và đáng quan tâm trong hệ vi khuẩn đường ruột.

Từ khóa: Metagenomic, gen 16S- rDNA, tiêu chảy sau sử dụng kháng sinh (AAD).

[1]Học viện Quân Y
[2]Đại học Quốc gia Hà Nội
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Duy Hà
Email: bsduyha1985@gmail.com

Ngày nhận bài: 12.7.2023
Ngày phản biện khoa học: 25.8.2023
Ngày duyệt bài: 20.9.2023

SUMMARY

APPLICATION OF METAGENOMIC METHODS IN ANALYSIS OF DIVERSITY OF MICROBIOM IN RATS OF ANTIBIOTIC ASSOCIATED DIARRHEA

Objective: To use metagenomic methods in 16s DNA gene analysis to evaluate the variation of gut microbiota in a white rat model of antibiotic-associated diarrhea. **Methods**: White rats were induced diarrhea with Lincomycine at a dose of 5g/kg/24h. At the end of the experiment, the mouse cecum samples were collected, sequenced the V3 -V4 region of the 16S rDNA gene and used Qiime2 software to analyze the diversity of bacterial species in the intestinal tract of white rats. **Results**: Antibiotics reduced the alpha diversity of the gut microbiota. In terms of bacterial composition at the phylum level, the group using antibiotics increased the phylum Bacteroidota and Proteobacteria and decreased the phylum Firmicutes. At the bacterial genera level, antibiotics reduced the abundance of the genera Lactobacillus, Bacillus, Clostridium innocuum, Romboutsia, Erysipelatoclostridium, Muribaculaceae, Hungatella, and UBA1819 and increased the abundance for the genera Bacteroides, Pseudomonas, Escherichia-Shigella, Lachnoclostridium, Proteus, Robinsoniella. **Conclusion:** The diversity of the gut microbiota was reduced with the use of Lincomycin. Antibiotics

significantly increase harmful genera such as Bacteroides, Escherichia-Shigella are two prominent and interesting genera in the gut microbiota.

Keywords: Metagenomic, gene 16S- rDNA, antibiotic-associated diarrhea (AAD).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tiêu chảy do liên quan đến kháng sinh (antibiotic-associated diarrhea - AAD) được định nghĩa là tiêu chảy sau khi dùng kháng sinh mà không có bất kỳ nguyên nhân nào khác [2]. Tình trạng lạm dụng kháng sinh trong điều trị gây ra tình trạng phá vỡ sự cân bằng của vi khuẩn đường ruột, ảnh hưởng lên đáp ứng miễn dịch của cơ thể. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng cơ chế của AAD chủ yếu là do những thay đổi hoặc rối loạn hệ vi sinh vật trong đường ruột gây ra [4]. Trong đó, nguyên nhân tiêu chảy do C. difficile chiếm 10–25% trong các trường hợp AAD [4]. Ngoài ra các vi khuẩn như Clostridium perfringens , Staphylococcus aureus và Klebsiella oxytoca cũng liên quan đến AAD. Tuy nhiên phần lớn các trường hợp AAD vẫn chưa được xác định được căn nguyên.

Hiện nay, các phương pháp truyền thống qua nuôi cấy chỉ khai thác được 10-30% số lượng vi khuẩn trong đường ruột vì phần lớn vi khuẩn ở đây không thể nuôi cấy được bằng các phương pháp trong phòng thí nghiệm. Do vậy, vai trò và chức năng hệ vi khuẩn đường ruột chưa được đánh giá toàn diện. Phương pháp phân tích metagenomic dựa trên phân tích gen các vùng hay toàn bộ gen16S rDNA cung cấp thông tin giúp các nhà khoa học xây dựng bức tranh tổng thể về thành phần hệ vi khuẩn đường ruột chính xác đến mức độ chi. Các kết quả nghiên cứu về metagenomic còn có thể cung cấp thông tin về các gen chức năng, cấu trúc và tổ chức bộ gen, xác định gen và chất xúc tác sinh học mới, cấu trúc quần xã và các mối quan hệ tiến hóa trong quần xã vi sinh vật [3]. Đánh giá đa dạng vi sinh vật từ dữ liệu giải trình tự DNA metagenome của một hệ sinh thái là quá trình sắp xếp các trình tự gen vào các nhóm sao cho mỗi tập con đại diện cho một đơn vị phân loại (taxon) sinh học riêng biệt. Mỗi nhóm đại diện cho một hệ gen riêng và nó được lắp ráp tách biệt để có thể loại bỏ được vấn đề lắp ráp không chính xác liên quan đến các contig từ các đơn vị phân loại khác nhau.

Chính vì vậy trong nghiên cứu này, bằng cách tiếp cận thông qua dữ liệu metagenomic, sự đa dạng vi sinh vật hệ đường ruột ở mô hình chuột bị tiêu chảy được làm sáng tỏ hơn. Từ đó, hiểu biết về các yếu tố căn nguyên và cơ chế bệnh sinh có thể giúp ngăn ngừa và giảm chi phí điều trị AAD.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu. Chuột cống trắng dòng Wistar trưởng thành 8 – 10 tuần tuổi, khoẻ mạnh, cân nặng 180 $\pm$ 20g được sử dụng trong nghiên cứu. Động vật nghiên cứu do Trung tâm Nghiên cứu động vật Thực nghiệm - Học viện Quân y cung cấp, được nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm 05 ngày trước khi được thử nghiệm. Chuột được ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu và được uống nước tự do.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Chuột cống trắng được chia thành 3 nhóm (8 con/nhóm):

Bảng 1. Thiết kế nghiên cứu

Lô nghiên cứu	Gây tiêu chảy (4 ngày)	Điều trị (5 ngày)
Lô 1 (lô chứng)	0,5ml/100g nước cất	0,5ml/100g nước cất
Lô 2 (tiêu chảy)	Lincomycin 5g/kg/24h	Gây mê và mổ ở ngày thứ 5
Lô 3 (tự hồi phục)	Lincomycin 5g/kg/24h	0,5ml/100g nước cất

Phân tích metagenomic trực tiếp từ phân:

Tách chiết và kiểm tra độ tinh sạch của DNA

Mẫu phân được lấy trực tiếp từ manh tràng chuột và tiến hành tách chiết DNA bằng bộ kít QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (QIAgen, Đức). Nồng độ và độ tinh sạch của DNA được kiểm tra bằng máy Nanodrop. Các yêu cầu của DNA phải được đáp ứng như sau: Nồng độ > 15 ng/ul, độ tinh sạch (A260/A280) >1,8; A260/230 >1,5. DNA tổng số của vi khuẩn được kiểm tra thông qua việc khuếch đại gen 16S rDNA với cặp mồi đặc hiệu (27F: 5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3', 1492 R: 5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3' [3] và chu trình nhiệt như sau: biến tính 95^0C – 30 giây, 30 chu kỳ (pha kéo dài 55^0C – 90 giây, pha gắn mồi 72^0C – 30 giây). Sản phẩm PCR thu nhận được điện di trên thạch agarose 1%. Sau đó DNA được gửi đi giải trình tự vùng V3 – V4 của gen 16S rDNA bằng máy Illumina 250PE.

Phân tích dữ liệu giải trình tự. Quá trình phân tích gồm 3 bước chính, đó là: (i) Tiền xử lý dữ liệu thô; (ii) Xác định vị trí phân loại và (iii) Phân tích đa dạng và biểu thị hóa. Phần mềm Qiime2 được sử dụng trong cả 3 bước trên và để tính toán các thông số trong đa dạng alpha và đa dạng beta. Đây là gói công cụ mã nguồn mở được lập trình chuyên dụng cho nghiên cứu sự đa dạng của các hệ vi khuẩn thông qua phân tích trình tự

bên trong hoặc giữa các vùng gen 16S rDNA.

Các dữ liệu trình tự thô dạng Fastq sẽ được tiền xử lý và ghép nối bằng phần mềm DADA2 để loại bỏ chimera cũng như các trình tự có kích thước và chất lượng (Q score) không phù hợp. Các đơn vị phân loại Amplicon Sequence Variant (ASV) có độ tương đồng ≥ 99% được sử dụng nhằm thiết lập bảng dữ liệu phân loại (Feature Table) về thành phần vi sinh vật có trong mẫu nghiên cứu. Chỉ số đa dạng Alpha (alpha diversity) được sử dụng để đánh giá mức độ đa dạng loài trong một mẫu. Các chỉ số đánh giá độ đa dạng alpha (alpha diversity)được chúng tôi sử dụng trong nghiên cứu này là Chao 1, Simpson, Shannon, Evenness. Chỉ số đa dạng Beta (beta diversity) dùng để so sánh sự khác biệt về đa dạng loài giữa các mẫu khác nhau được phân tích bằng ma trận khoảng cách PCoA.

2.3. Xử lý số liệu. Các số liệu thu thập được xử lý bằng các thuật toán thống kê và phần mềm Microsoft Excel 2013, SPSS 26.0. So sánh giá trị trung bình của hai nhóm bằng phép thử Wilcoxon, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi p < 0,05.

2.4. Địa điểm nghiên cứu. Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y

Viện Vi sinh vật và công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

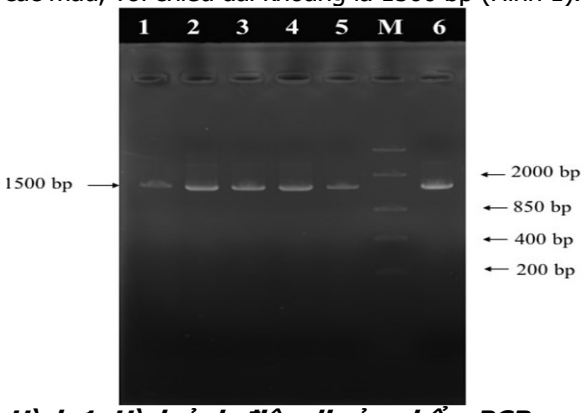
3.1. Tách chiết DNA trực tiếp từ phân. Kết quả tách chiết DNA tổng số của vi khuẩn bằng bộ kít QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit từ phân chuột cống trắng trên mô hình chuột tiêu chảy sau dùng kháng sinh được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả tách chiết DNA trực tiếp từ phân

Lô nghiên cứu	N	DNA (Median, Min-Max)		
		Nồng độ (ng/μl)	Độ tinh sạch (A260/A280)	Độ tinh sạch (A260/230)
Lô chứng	8	87,7 (27,55 – 264,4)	2,08 (2,02-2,2)	1,94 (1,79-2,26)
Lô tiêu chảy	8	211,15 (42,9 – 475,4)	2,04 (1,99-2,14)	1,97 (1,73-2,42)
Lô tự hồi phục	8	73,25 (24,8 - 309,2)	2,11 (1,95-2,14)	1,9 (1,68-2,3)

Kết quả Bảng 2 cho thấy các giá trị về nồng độ DNA 27,55ng/μl đến 475,4 ng/μl1,95 đến 2,2và chỉ số A260/230 của các nhóm dao động lần lượt trong trong khoảng 1,68 đến 2,42.

Kết quả minh họa điện di sản phẩm PCR của gen 16S rDNA trên agarose 1% cho thấy một băng điện di xuất hiện rõ nét, không đứt gãy tại các mẫu, với chiều dài khoảng là 1500 bp (Hình 1).



Hình 1. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR gen 16S rDNA vi khuẩn

(M: thang đo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 mẫu DNA chuột)

3.2. Dữ liệu thô của các mẫu nghiên cứu. Kết quả giải trình tự vùng V3-V4 của gen 16S rDNA chúng tôi nhận được ở dạng file định dạng (.fq) và mỗi mẫu gồm 2 file tương ứng với mồi xuôi và mồi ngược. Tổng số trình tự đọc thu được từ bước giải trình tự là 4.520.876 tương ứng với đầu đọc xuôi hoặc ngược trên tổng số 24 mẫu và chất lượng trình tự có giá trị lớn hơn 30 thu được bằng cách sử dụng phần mền Qiime 2. Sau khi tiến hành loại nhiễu (denoising) bằng DADA2 các trình tự sẽ được sàng lọc bằng cách loại các chimera, và từ các trình tự này các ASV bằng phần mềm Qiime 2 sẽ được tạo ra (Bảng 3)

Bảng 3. Kết quả số lượng trình tự thu được sau denoising

Số trình tự ASV	Chiều dài tối thiểu	Chiều dài tối đa	Chiều dài trung bình	Độ lệch chuẩn
13419	227	439	372.51	69.28

Kết quả Bảng 3 cho thấy, sau khi denoising 13419 đoạn trình tự khác nhau (ASV) thu được với độ dài từ 227 nucleotid đến 439 nucleotid (kích thước trung bình của vùng V3-V4 16S rDNA là 443 nucleotid). Tỉ lệ các đoạn trình tự còn lại sau bước gộp và lọc dữ liệu được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4. Tỷ lệ trình tự còn lại sau gộp và lọc dữ liệu

STT	Số lượng mẫu	Tỷ lệ trình tự
1	4	70 – 80%
2	20	80 – 90%

Kết quả Bảng 4 cho thấy, sau khi gộp và lọc dữ liệu thì tỷ lệ trình tự đạt chất lượng để phân tích là 70 – 80% là của 4 mẫu, và 80 – 90% là của 20 mẫu. Như vậy trình tự còn lại sau khi gộp và lọc dữ liệu của mỗi nhóm thí nghiệm đều đạt trên 70%.

3.3. Phân tích hệ vi khuẩn đường ruột ở các nhóm chuột

Phân tích đa dạng của hệ vi khuẩn vật đường ruột

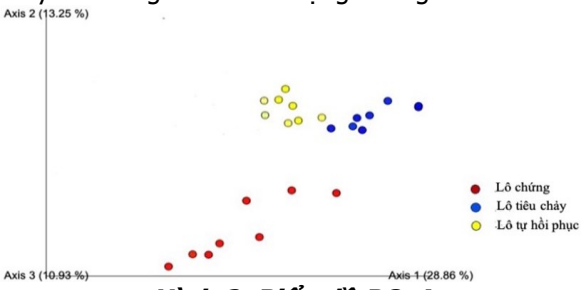
Đa dạng alpha: Số liệu Bảng 5 cho thấy chỉ số đa dạng alpha (Shannon, Chao1, Simpson, Evenness) của lô chứng cao hơn lô tiêu chảy và lô tự hồi phục. Kết quả cho thấy rằng sử dụng kháng sinh làm cho sự phong phú và đa dạng của hệ vi khuẩn đường ruột giảm đi.

Bảng 5. Đa dạng alpha

Lô nghiên cứu	Chỉ số đa dạng alpha (n=8, TB ± SD)			
	Shannon	Chao 1	Simpson	Evenness
Lô chứng	6,54 ± 0,73	1168,16 ± 555,16	0,95 ± 0,03	0,66 ± 0,05
Lô tiêu chảy	3,05 ± 0,45[a]	802,98 ± 933,6	0,74 ± 0,05[a]	0,35 ± 0,03[a]
Lô tự hồi phục	4,07 ± 0,40[a,b]	570,22 ± 296,63	0,86 ± 0,03[a,b]	0,46 ± 0,05[a,b]

a: so sánh với lô chứng với p<0,05, b: so sánh với lô tiêu chảy với p<0,05

Sự đa dạng beta: Kết quả biểu đồ PCoA (hình 2) chỉ ra rằng điểm của các mẫu trong lô chứng phân tách hoàn toàn so với vị trí tọa độ của lô sử dụng kháng sinh và các mẫu trong nhóm chứng là khác nhau đáng kể, chứng tỏ rằng cấu trúc hệ vi khuẩn đường ruột của chuột thay đổi đáng kể sau sử dụng kháng sinh.



Hình 2. Biểu đồ PCoA

Phân tích thành phần loài. Hệ vi khuẩn đường ruột của chuột trong các nhóm ở cấp độ ngành (bảng 6) lô chứng chủ yếu bao gồm vi khuẩn Firmicutes, Bacteroidota và Proteobacteria trong đó Firmicutes và Bacteroidota là ngành chiếm ưu thế. Ở lô tiêu chảy và lô tự hồi phục mức độ giàu Firmicutes giảm đi, và mức độ phong phú của Bacteroidota, Proteobacteria tăng lên. Tỷ lệ Firmicutes so với Bacteroidota trong nhóm sử dụng kháng sinh giảm đi so với nhóm không sử dụng kháng sinh.

Bảng 6. Tỷ lệ ngành và chi vi khuẩn trong hệ đường ruột

Vi khuẩn	Tỷ lệ (%)		
	Lô chứng	Lô tiêu chảy	Lô tự hồi phục
Ngành vi khuẩn			
Bacteroidota	43,63	68,87	44,88
Firmicutes	42,26	14,44	41,44
Proteobacteria	5,99	13,83	11,55
Chi vi khuẩn			
Muribaculaceae	22,51	0,41[a]	0,43[a]
Lactobacillus	16,62	1,72[a]	2,93[a]
Bacillus	0,18	0,003[a]	0,04
Clostridium innocuum	0,47	3,17[a]	7,66[a,b]
Romboutsia	2,31	0,20	0,15
Erysipelatoclostridium	1,08	0,18	2,70
Hungatella	0,24	0,58	0,81
UBA1819	0,41	0,001[a]	0,01[a]
Bacteroides	12,01	59,74[a]	43,01[a]
Pseudomonas	0,17	0,13	1,37
Escherichia-Shigella	1,45	6,96	7,41[a]
Lachnoclostridium	0,86	2,24	9,38[a,b]
Proteus	0,12	2,07[a]	1,92[a]
Robinsoniella	0,55	4,01	12,19[a,b]

a: so sánh với lô chứng với p<0,05, b: so sánh với lô tiêu chảy với p<0,05

Sự khác biệt về cấu trúc trong hệ vi khuẩn đường ruột ở cấp độ chi được mô tả trong bảng 6. Trong quá trình thử nghiệm, so với nhóm không sử dụng kháng sinh, độ phong phú của một số chi có lợi như Lactobacillus, Bacillus, Romboutsia, UBA1819, Muribaculaceae, Erysipelatoclostridium trong nhóm sử dụng kháng sinh giảm đáng kể. Ngược lại, mức độ phong phú của một số chi có hại như Bacteroides, Pseudomonas, Escherichia-Shigella, Lachnoclostridium, Proteus, Robinsoniella tăng lên đáng kể.

IV. BÀN LUẬN

Hệ vi sinh vật đường ruột là một hệ sinh thái phức tạp và có liên quan chặt chẽ với sức khỏe và tình trạng bệnh ở người [8]. Trong nghiên cứu này, sự biến động hệ vi khuẩn đường ruột được đánh giá trên mô hình chuột bị tiêu chảy do Lincomycin gây ra. Các mẫu phân trong manh tràng được sử dụng để phân tích sự biến động hệ vi khuẩn đường ruột của chuột sau sử dụng

kháng sinh. Để có được kết quả phân tích dữ liệu DNA metagenomic đáng tin cậy, thì trước hết DNA tách chiết phải đảm bảo về chất lượng và nồng độ. Trong nghiên cứu này chúng tôi đã sử dụng kít QIAamp DNA Stool mini kit của hãng Qiagen để tách chiết DNA trực tiếp từ phân và thực hiện quy trình theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau đó, nồng độ DNA tách chiết được kiểm tra bằng máy quang phổ Nanodrop. Độ tinh sạch của DNA được xác định bởi giá trị A260/280. Từng mẫu DNA được điện di kiểm tra trên gel agarose 1% với DNA chuẩn 1 kb (Fermentas). Kết quả nồng độ DNA thu được dao động trong khoảng từ 22,4ng/μl – 934,9 ng/μl phù hợp với yêu cầu để tiến hành các bước tiếp theo. Ngoài ra, chất lượng của DNA tách chiết còn xác định dựa trên các chỉ số A260/230 (xác định sự có mặt của carbohydrate, hợp chất chứa nhóm phenol) và A260/280 (cho protein). DNA được coi là tinh sạch nếu chỉ số A260/280 trên 1,8 và A260/230 trên 2,0 [1]. Kết quả ở Bảng 2 cho thấy tất cả các mẫu DNA tổng số tách chiết bằng cách sử dụng kít QIAgen đạt tiêu chuẩn về độ tinh sạch ở cả hai chỉ số A260/280 và A260/230. DNA sau mỗi lần tách chiết đều được điện di kiểm tra trên gel agarose 1%. Kết quả điện di cho thấy các mẫu DNA đều thu được các băng có kích thước khoảng 1500 bp, hình ảnh băng rõ nét, không có các vệt dài, không đứt đoạn. Điều đó chứng tỏ, sản phẩm DNA tách chiết không còn tạp chất ảnh hưởng đến PCR. Như vậy, DNA tách chiết từ kít QIAamp DNA Stool mini thương mại đạt yêu cầu cho giải trình tự metagenomic.

Kháng sinh đã làm thay đổi thành phần và cấu trúc hệ vi khuẩn đường ruột. Cụ thể là Lyncomycin đã tác động đến sự đa dạng alpha của hệ vi sinh vật đường ruột ở các con chuột trong nghiên cứu này. Các chỉ số Chao1 và Simpson thể hiện sự phong phú của loài, trong khi chỉ số Shannon và chỉ số Evenness xem xét sự đồng đều của các loài trong hệ vi sinh đường ruột. Trong nghiên cứu khi sử dụng kháng sinh thì độ đồng đều và đa dạng của hệ vi khuẩn đường ruột giảm đi đáng kể. Đa dạng beta là đánh giá sự đa dạng của quần thể trong các mẫu khác nhau thường sử dụng biểu đồ PCoA ước tính với khoảng cách UniFrac để xác nhận sự tương đồng về thành phần quần xã vi sinh vật trong các kích thước tương ứng của mẫu giữa các nhóm. Hầu hết các điểm đại diện cho các mẫu trong nhóm sử dụng kháng sinh được tập hợp lại với nhau và tách xa nhóm không sử dụng kháng sinh. Điều này cho thấy thành phần và cấu trúc của hệ vi sinh vật là khác nhau giữa nhóm không sử dụng và sử dụng kháng sinh. Những kết quả này cho thấy rằng hệ vi sinh vật đường ruột đã thay đổi sau khi sử dụng kháng sinh. Phân tích thành phần ở mức độ ngành cho thấy sự thay đổi ở 3 ngành chiếm tỷ lệ lớn trong hệ vi khuẩn đường ruột là Bacteroidota, Firmicutes, Proteobacteria. Trong nhóm tiêu chảy và tự hồi phục, ngành Bacteroidota và ngành Proteobacteria có sự gia tăng và ngành Firmicutes có sự suy giảm so với nhóm chứng. Đáng chú ý là sự gia tăng mạnh của ngành Proteobacteria trong nhóm sử dụng kháng sinh, cho thấy dấu hiệu vi khuẩn có thể gây ra các bệnh có các tình trạng viêm nhiễm kéo dài, đặc biệt là tình trạng viêm do rối loạn chuyển hóa. Về các thành phần loài cũng có sự thay đổi về nhóm vi khuẩn có lợi và có hại trong từng nhóm. Ở nhóm sử dụng kháng sinh vi khuẩn có hại tăng về số lượng trong đó nhóm có lợi lại giảm. Một số nhóm có lợi giảm đi sau khi sử dụng chế phẩm như Lactobacillus, Bacillus, Romboutsia, UBA1819, Muribaculaceae, Erysipelatoclostridium ngược lại nhóm có hại như Bacteroides, Pseudomonas, Escherichia-Shigella, Lachnoclostridium, Proteus, Robinsoniella tăng. Điều này phù hợp với một số kết quả nghiên cứu của Guo H. [5] và Ling Z. [6].

V. KẾT LUẬN

Phương pháp metagenomic có ưu điểm lớn trong phân tích đa dạng hệ vi khuẩn đường ruột trên mô hình chuột sau sử dụng kháng sinh. Kháng sinh làm giảm mức độ phong phú và đồng đều của hệ vi khuẩn đường ruột. Cấu trúc và thành phần của hệ vi khuẩn đường ruột đã thay đổi, giảm các vi khuẩn có lợi và tăng các vi khuẩn có hại trong hệ vi sinh đường ruột trên chuột bị tiêu chảy do dùng kháng sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Lê Ngọc Giang, Lưu Hàn Ly, Nguyễn Mai Phương và CS.** Nghiên cứu phương pháp tách chiết dna metagenome hệ vi khuẩn trong dạ cỏ dê. Tạp chí Công nghệ Sinh học. 2017. 15: 367 - 372.
2. **Barlett JB. Antibiotic Associated Diarrhea.** The New England Journal of Medicine. 2002; 346: 334-339.
3. **Culligan EP, Hutton ML, Lyras D.** Metagenomics and novel gene discovery: promise and potential for novel therapeutics. Virulence. 2014; 5(3): 399-412.
4. **Guery B, Galperine T, Barbut F.** Clostridioides difficile: diagnosis and treatments. BMJ. 2019; 366: 1-19.
5. **Guo H, Yu L, Tian F, et al.** Effects of Bacteroides-Based Microecologics against Antibiotic-Associated Diarrhea in Mice.

Microorganisms. 2021; 9(12): 1 -14.
6. **Ling Z, Liu X, Cheng Y, et al.** Clostridium butyricum combined with Bifidobacterium infantis probiotic mixture restores fecal microbiota and attenuates systemic inflammation in mice with antibiotic-associated diarrhea. Biomed Res Int. 2015: 1-9.
7. **Shin NR, Whon TW, Bae JW.** Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. Trends Biotechnol, 2015; 33(9): 496-503.
8. **Wu H, Chen Q, Liu J, et al.** Microbiome analysis reveals gut microbiota alteration in mice with the effect of matrine. Microb Pathog. 2021. 156: 1-9.

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ, LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG Ở THAI PHỤ MANG GEN BỆNH TAN MÁU BẨM SINH ĐẾN KHÁM TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG, 2012 – 2022

Nguyễn Bá Tùng[1], Nguyễn Thị Trang[2], Nguyễn Tuấn Hưng[3]

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: Mô tả một số đặc điểm dịch tễ, lâm sàng và cận lâm sàng ở thai phụ mang gen bệnh tan máu bẩm sinh đến khám tại Bệnh viện phụ sản trung ương, 2012-2022. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, thu thập số liệu trên hồ sơ bệnh án của 1292 thai phụ đến khám thai tại Bệnh viện phụ sản trung ương, 2012-2022. Phân tích các chỉ số xét nghiệm máu: RBC, HGB, HCT, MCH, MCV, MCHC, RDW, ferritin huyết thanh, sắt huyết thanh, điện di hemoglobin và khai thác tiền sử thalassemia của thai phụ. **Kết quả nghiên cứu:** Tỉ lệ mang gen thalassemia cao nhất là dân tộc Nùng, Dao và Sán Dìu. Tất cả thai phụ người dân tộc Nùng, Dao và Sán Dìu được xét nghiệm gen đều mang gen bệnh thalassemia. Độ tuổi từ 25-29 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất với 28,72%. Mức độ nặng của tình trạng thiếu máu của thai phụ tỉ lệ thuận với số gen α bị đột biến và phụ thuộc vào kiểu gen β-thalassemia. **Kết luận:** Có mối liên quan giữa tình trạng thiếu máu của thai phụ với số gen α bị đột biến và kiểu gen β-thalassemia.

Từ khóa: lâm sàng, thai phụ, gen tan máu bẩm sinh.

SUMMARY

SOME EPIDEMIOLOGICAL, CLINICAL AND SUBCLINICAL FEATURES IN PREGNANT WOMEN CARRYING THE GENE FOR HEMOLYTIC CONGENITAL DISEASE TO VISIT THE NATIONAL MATERNITY HOSPITAL, 2012 – 2022

Objective: Describe some epidemiological, clinical and paraclinical characteristics in pregnant women with congenital hemolytic disease gene examined at the National Obstetrics Hospital, 2012-2022. **Subjects and methods:** Cross-sectional descriptive study on medical records of 1292 pregnant women who came for prenatal check-ups at the National Obstetrics Hospital, 2012-2022. Analyze blood test indicators: RBC, HGB, HCT, MCH, MCV, MCHC, RDW, serum ferritin, serum iron, hemoglobin electrophoresis and explore the pregnant woman's thalassemia history. **Results:** The highest rate of carrying the thalassemia gene is among the Nung, Dao and San Diu ethnic groups. All pregnant women of the Nung, Dao and San Diu ethnic groups who were genetically tested carried the thalassemia gene. The age group from 25 to 29 years old accounts for the highest proportion with 28.72%. The severity of anemia in pregnant women is proportional to the number of mutated α genes and depends on the β-thalassemia genotype. **Conclusion:** There is a relationship between anemia in pregnant women and the number of mutated α genes and β-thalassemia genotype. ***Keywords:*** clinical, pregnant women, congenital hemolytic genes.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh tan máu bẩm sinh (thalassemia) hay còn gọi bệnh thiếu máu di truyền, là bệnh đơn gen di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường phổ biến nhất trên thế giới. Theo báo cáo của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2018, khoảng 5,2% người dân mang gen bệnh thalassemia, 1,1% các cặp vợ chồng có nguy cơ sinh con mắc rối loạn huyết sắc tố và 2,7/1000 trường hợp thụ thai bị ảnh hưởng [1]. Tại Việt Nam, tháng 4/2020, Bộ Y tế đã ban hành thông tư hướng dẫn sàng lọc thalassemia trước sinh trong quý đầu của thai kỳ. Tuy nhiên, việc sàng lọc trước sinh bệnh thalassemia cho tất cả thai phụ tại Việt Nam còn gặp nhiều khó khăn và tốn kém, đặc biệt các các tuyến dưới hoặc các vùng dân tộc thiểu số, bởi sự hiểu biết về bệnh thalassemia còn hạn chế không chỉ ở các thai phụ, gia đình thai phụ mà còn ở cả các nhân viên y tế. Vì vậy, sàng lọc và xác định thai phụ có nguy cơ mang gen bệnh thalassemia thông qua khai thác tiền sử và xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu là

[1]*Học viện Quân Y*
[2]*Đại học Y Hà Nội*
[3]*Bộ Y tế*
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Bá Tùng
Email: tungqy138@gmail.com
Ngày nhận bài: 11.7.2023
Ngày phản biện khoa học: 24.8.2023
Ngày duyệt bài: 18.9.2023