

Đánh giá bước đầu đa dạng hệ vi khuẩn đường ruột ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng bằng kỹ thuật giải trình tự 16S rRNA

Preliminary evaluation of gut microbiota diversity in colorectal cancer patients using 16S rRNA sequencing

Phạm Thị Tuyết Nhung***,
Lê Thị Thu Hằng***,
Trần Thị Thanh Tâm***

*Trường Đại Y Hà Nội
**Bệnh viện Trung ương Quân đội 108,
***Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá thành phần và sự đa dạng của hệ vi khuẩn đường ruột ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng (UTĐTT) so với người khỏe thông qua giải trình tự 16s rRNA trên mẫu phân. **Đối tượng và phương pháp:** Thu thập thông tin lâm sàng và mẫu phân của 10 bệnh nhân UTĐTT mới chẩn đoán và 05 người khỏe tại Bệnh viện TƯQĐ 108. DNA tổng số được tách chiết từ các mẫu phân và sử dụng cho giải trình tự gen mã hoá 16S rRNA vùng V3-V4 của vi khuẩn. Phân tích tin sinh và thống kê để so sánh thành phần vi sinh vật đường ruột và đa dạng giữa nhóm bệnh và nhóm khỏe mạnh. **Kết quả:** Chưa thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về đa dạng alpha và beta giữa 2 nhóm nghiên cứu. Xác định được thành phần các loài vi khuẩn thuộc 25 chi, 16 họ, 5 ngành vi khuẩn chiếm tỷ trọng cao trong cả mẫu bệnh và mẫu khỏe. Tỷ trọng các nhóm vi khuẩn có sự khác biệt giữa 2 nhóm nghiên cứu và giữa các đối tượng nghiên cứu trong cùng nhóm. **Kết luận:** Bước đầu dùng kỹ thuật giải trình tự gen 16S rRNA đã thành công xác định được thành phần vi khuẩn đường ruột đến chi. Nghiên cứu bước đầu này là cơ sở cho phân tích tiếp theo sử dụng cỡ mẫu lớn hơn để tăng ý nghĩa thống kê và cho phép phát hiện những khác biệt giữa bệnh nhân UTĐTT và đối chứng khỏe mạnh.

Từ khoá: Ung thư đại trực tràng, nghiên cứu đa hệ vi sinh, hệ vi sinh đường ruột, 16S rRNA, mẫu phân.

Summary

Objective: To study gut microbiota composition and diversity in colorectal cancer patients (CRCs) compared to healthy controls by 16S rRNA sequencing in fecal samples. **Subject and method:** Clinical information and fecal samples from 10 newly diagnosed CRCs and 05 healthy control were collected at 108 Military Central Hospital. Total genomic DNA were extracted from fecal samples and subjected to 16S rRNA V3-V4 region sequencing. Bioinformatics and statistical analysis allowed to compare the microbiota composition and diversity between CRC patients and healthy controls. **Result:** Total DNA of 15 fecal samples was extracted successfully. There was no significant difference in alpha and beta diversity between the two groups. The composition of bacterial species belonging to 25 genera, 16 families, and 5 phyla accounted for a high proportion in CRC and healthy samples. The relative abundance of bacterial taxa varied between the two studied groups and also between participants

Ngày nhận bài: 06/09/2023, ngày chấp nhận đăng: 20/9/2023

Người phản hồi: Trần Thị Thanh Tâm, Email: tran-thi-thanh.tam@usth.edu.vn - Trường Đại học Khoa học và Công nghệ

within the same group. *Conclusion:* Initially using 16S rRNA gene sequencing technique, we have successfully determined the composition of gut bacteria to genus. This pilot study works as a good foundation for further analysis that use a larger sample size to increase statistical power and to allow for differences between CRC patients and healthy controls to be detected.

Keywords: Colorectal cancer, metagenomics study, gut microbiome, 16S rRNA, fecal samples.

1. Đặt vấn đề

Khoảng 70% vi khuẩn trong cơ thể người hiện diện ở đại trực tràng. Nhiều nghiên cứu cho thấy đa dạng về thành phần vi khuẩn trong đại trực tràng có liên quan đến sức khỏe và bệnh tật [1]. Nhờ những tiến bộ trong phương pháp nghiên cứu không qua nuôi cấy mà vai trò của hệ vi sinh vật (VSV) đường ruột ngày càng được làm rõ và chúng đang được coi là một tạng thực sự. Đối với UTĐTT, loại ung thư gây tử vong đứng hàng thứ 2 trong các loại ung thư thì hệ vi sinh vật đường ruột đã được chứng minh là có liên quan đến sự hình thành và phát triển của khối u, cũng như đáp ứng của u với các liệu pháp điều trị toàn thân [2]. Trong đó, loài *Fusobacterium nucleatum* đã được chứng minh có mối liên hệ chặt chẽ và có thể được sử dụng làm chỉ điểm trong việc phát hiện UTĐTT [3]. Khi nhận thức về vai trò quan trọng của hệ vi sinh vật đường ruột trong việc duy trì sức khỏe con người ngày càng được nâng cao, nghiên cứu về hệ vi sinh vật đường ruột gần đây đã được bắt đầu ở Việt Nam với nhiều hướng nghiên cứu và đối tượng nghiên cứu đa dạng. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu bước đầu: *Đánh giá thành phần và sự đa dạng của hệ vi khuẩn đường ruột ở bệnh nhân UTĐTT so với người khỏe thông qua giải trình tự 16S rRNA trên mẫu phân.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Trong nghiên cứu bước đầu này, chúng tôi tuyển chọn 10 bệnh nhân mới được chẩn đoán mắc UTĐTT và 5 người khỏe tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Các tiêu chuẩn lựa chọn: Tuổi từ 50-79 là nhóm có nguy cơ mắc UTĐTT cao, cả nam và nữ, chỉ số khối cơ thể (BMI) từ 18,5-24,9, không có biến chứng bệnh. Tiêu chuẩn loại trừ bao gồm: Đối tượng không tỉnh táo, đang mang thai hoặc cho con bú; Có

bằng chứng về sự bất thường về cấu trúc của đường tiêu hóa; Đối tượng đang tham gia thử nghiệm lâm sàng, đang theo chế độ ăn kiêng, có dùng hóa trị hoặc xạ trị trong vòng 3 tháng trước khi vào nghiên cứu.

2.2. Phương pháp

Thu thập dữ liệu lâm sàng

Các đặc điểm của người tham gia như tuổi tác, giới tính, chỉ số khối cơ thể (BMI), bệnh kết hợp, tiền sử hút thuốc, uống rượu và tình trạng sử dụng thuốc được thu thập để phân tích dữ liệu. Tiền sử gia đình về các rối loạn viêm nhiễm, tiêu hóa và dị ứng cũng được ghi lại. Đặc điểm lâm sàng và kết quả xét nghiệm tế bào và sinh hóa máu của bệnh nhân được thu thập.

Thu thập mẫu phân

Tất cả những người tham gia nghiên cứu được hướng dẫn tự lấy mẫu phân tại nhà hoặc tại bệnh viện. Phân tươi được vận chuyển đến phòng thí nghiệm trên đá khô để ngăn vi khuẩn phát triển trong vòng 4 giờ hoặc được bảo quản trong kho lạnh (~4°C) trong 24-48 giờ trước khi đến phòng thí nghiệm. Sau khi mẫu đến phòng thí nghiệm, mẫu phân sẽ được chia thành các phần nhỏ và được đông lạnh để bảo quản lâu dài ở -80°C.

Tách chiết DNA tổng số từ mẫu phân

DNA tổng số được chiết xuất từ các mẫu phân bằng kit DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN, Anh) theo quy trình tách chiết Qiagen với các sửa đổi như sau. Đầu tiên, 0,25g phân sau khi già đông và 800µL dung dịch đệm CD1 được đưa vào ống có chứa hạt thủy tinh (PowerBead Pro Tube). Các mẫu này sẽ được đồng nhất bằng cơ học được lặp lại hai lần, mỗi lần trong vòng 10 phút ở tốc độ 25Hz với máy TissueLyser II (Qiagen). Các bước tiếp theo của quá trình tách chiết DNA được tiến hành theo quy trình của Qiagen. DNA tổng số sẽ được định lượng bằng máy quang phổ Nanodrop 2000 (Thermo Fisher

Khoa học, Hoa Kỳ). Sản phẩm DNA sau đó được lưu giữ ở -20°C.

Chuẩn bị thư viện và giải trình tự 16S rRNA

Chuẩn bị thư viện và giải trình tự 16S rRNA được tiến hành tại công ty GENEWIZ, Inc. (Mỹ). Nồng độ DNA tổng số được đo bằng Qubit® dsDNA Quantification và sử dụng để khuếch đại gen 16S rRNA bằng cách sử dụng cặp mồi vi khuẩn nhắm vào vùng siêu biến đổi V3-V4 của gen 16S rRNA với trình tự mỗi xuôi (5'- CCTACGRRBGCASCAGKVRVGAAT-3') và mỗi ngược (5'- GGACTACNVGGGTWTCTAATCC-3') với chiều dài đoạn khuếch đại khoảng 460bp. Hỗn hợp PCR bao gồm 2,5µl dung dịch đệm TransStart, 2µl dNTP, 1µl mỗi xuôi, 1µl mỗi ngược, 0,5µl TransStart Taq DNA polymerase, 20ng DNA tổng số và nước không chứa nuclease được thêm vào để đạt thể tích 25µl. Chương trình PCR: 94°C trong 3 phút, 24 chu kỳ (95°C trong 5 giây, 3. 50°C trong 90 giây, 72°C trong 10 giây), bước kéo dài cuối 72°C trong 5 phút. Các trình tự adapter được gắn vào cuối của đoạn 16S rRNA amplicon bằng phản ứng PCR với một vài chu kỳ nhiệt và tinh sạch bằng hạt từ. DNA sau khi tinh sạch sẽ được kiểm tra nồng độ bằng hệ thống đọc đĩa đa chức năng Infinite 200 PRO (Tecan). Tất cả các amplicon tinh sạch được gộp chung vào một thư viện và được giải trình tự (2×250 bp) trên hệ thống giải trình tự MiSeq Illumina.

3. Kết quả

3.1. Đặc điểm lâm sàng của đối tượng tham gia nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm của hai nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm UTĐTT	Nhóm khỏe mạnh	Giá trị p
Số lượng (n)	10	05	
Tuổi	61 ± 12	60 ± 11	0,95 [§]
Giới (nam/nữ)	4/6	2/3	1 [#]
Chỉ số khối cơ thể, BMI (kg/m ²)	21,3 ± 1,8	20,8 ± 1,8	0,58 [§]
Tăng huyết áp (có/không)	1/9	1/4	0,59 [#]

[§]Mann-Whitney U test; [#]Chi-squared test.

Phân tích tin sinh và thống kê

Dữ liệu giải trình tự gen 16S rRNA sẽ được phân tích bằng các phần mềm tin sinh chuyên dụng bao gồm QIIME, MOTHUR, và RDP-classifier và được xử lý như trong công bố trước [4]. Các đơn vị taxon của hệ vi sinh vật sống trong đường ruột sẽ được dự đoán bằng phần mềm tin *Mothur* dựa trên bộ dữ liệu tham chiếu của gen 16S rRNA của tất cả các vi sinh vật đã được phân loại (16S rRNA reference - RDP). Đa dạng alpha và beta được tính toán với phần mềm tin sinh QIIME.

Các phân tích thống kê, so sánh và biểu diễn dữ liệu sẽ được thực hiện trên phần mềm thống kê R. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê cho đa dạng beta (chỉ số giống nhau Bray-curtis) giữa các nhóm mẫu được tính toán với kiểm định PERMANOVA và được biểu thị với phương pháp phân tích thành phần chính (Principal Component Analysis, PCA). Ngoài ra, sự khác nhau về đa dạng alpha, thành phần đơn vị phân loại và dữ liệu lâm sàng được xác định bằng kiểm định Mann-Whitney U giữa nhóm bệnh nhân ung thư và nhóm khỏe mạnh. Giá trị khác nhau có ý nghĩa thống kê nếu trị số p nhỏ hơn 0,05.

2.3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng y đức của Trường Đại học Y Hà Nội (Số 503/GCN-HĐĐĐNCYSH-ĐHYHN, ngày 10/05/2021). Tất cả những người tham gia nghiên cứu đã được giải thích cặn kẽ về mục tiêu của nghiên cứu và được đồng ý bằng văn bản trước khi đưa vào nghiên cứu.

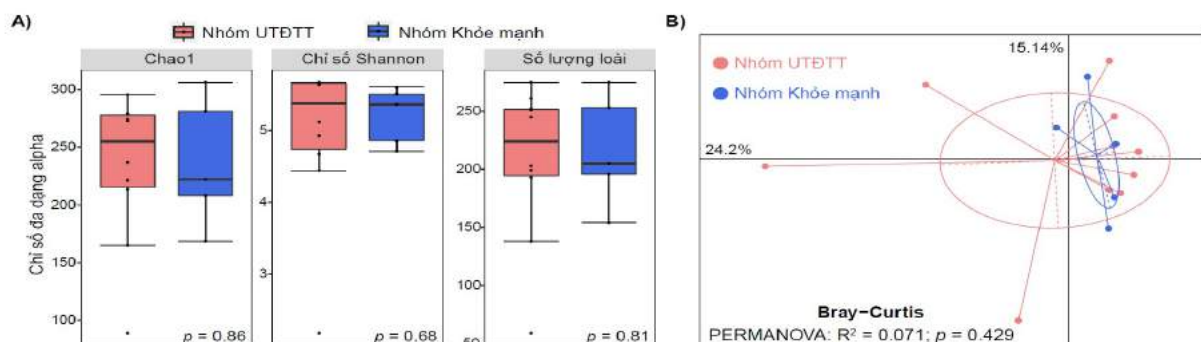
Bảng 2. Đặc điểm lâm sàng nhóm UTĐTT

Đặc điểm		Tỷ lệ %	Đặc điểm		Tỷ lệ %
Triệu chứng	Đau bụng	10/10	Giai đoạn	II	6/10
	Đi ngoài phân có máu	3/10		III	2/10
	Táo bón	1/10		IV	2/10
	Tiêu chảy	1/10	Mô bệnh	Ung thư biểu mô tuyến biệt hóa vừa	5/10
	Sụt cân	1/10		Ung thư biểu mô tuyến biệt hóa vừa có thành phần chế nhày	3/10
Vị trí u	Đại tràng lên	4/10		Ung thư biểu mô tuyến nhày	2/10
	Đại tràng ngang	2/10			
	Đại tràng xuống	1/10			
	Đại tràng Sigma	3/10			

Các đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân UTĐTT và nhóm đối chứng khỏe mạnh được trình bày trong Bảng 1. Đối tượng nghiên cứu gồm 10 bệnh nhân và 5 đối chứng khỏe mạnh với độ tuổi trung bình ở mỗi nhóm tương ứng là 61 tuổi (độ tuổi, 47-76) và 60 tuổi (độ tuổi, 50-79 tuổi). Không có sự khác biệt giữa bệnh nhân UTĐTT và nhóm đối chứng khỏe mạnh về tuổi, BMI, giới tính và tiền sử bệnh tăng huyết áp. Các triệu chứng lâm sàng phổ biến của nhóm bệnh UTĐTT là đau bụng (10/10), đi ngoài phân có máu (3/10). Vị trí khối bất gặp ở cả đại tràng lên, xuống, ngang và sigma trong đó đại tràng lên chiếm ưu thế 4/10. Tỷ lệ bệnh nhân thu mẫu chủ yếu là giai đoạn II (6/10) và ung thư biểu mô tuyến biệt hóa vừa là 5/10 bệnh nhân (Bảng 2).

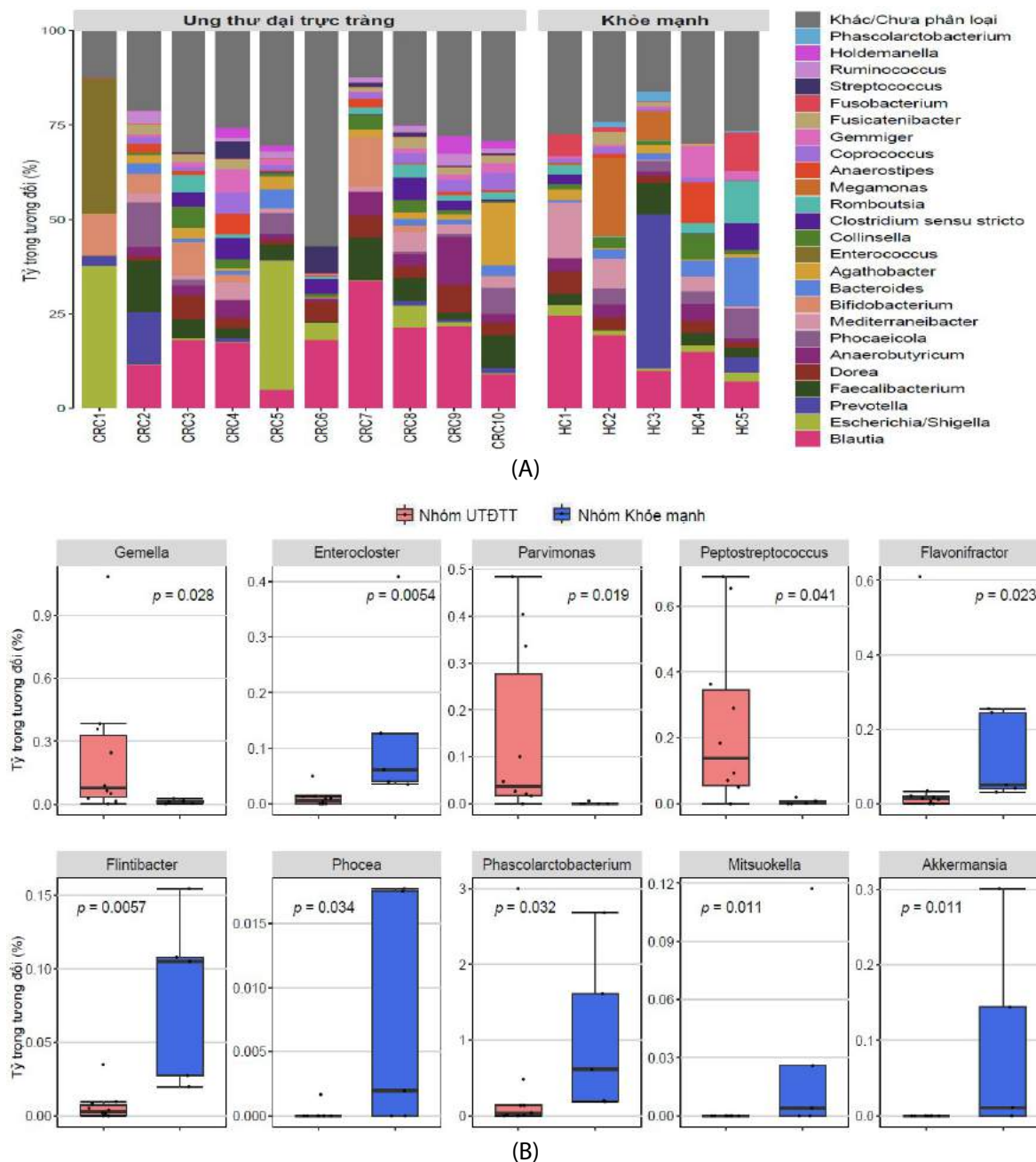
3.2. So sánh đa dạng alpha và beta giữa 2 nhóm nghiên cứu

Vùng siêu biến đổi V3-V4 của gen 16S rRNA được khuếch đại từ các mẫu DNA tổng số tách chiết đạt tiêu chuẩn về nồng độ và độ tinh sạch bằng phản ứng PCR. Kết quả giải trình tự vùng V3-V4 này cho phép xác định thành phần và sự đa dạng hệ vi sinh vật trong các mẫu nghiên cứu. Kiểm định Mann-Whitney U test giữa nhóm bệnh nhân UTĐTT và đối chứng khỏe mạnh cho thấy không có sự khác biệt về các chỉ số đa dạng alpha (Hình 1A). Chỉ số Bray-Curtis phản ánh thành phần và tỷ lệ của các phân loài giữa 2 nhóm mẫu. Kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về chỉ số đa dạng beta giữa bệnh nhân CRC và nhóm đối chứng khỏe mạnh (Hình 1B).



Hình 1. So sánh chỉ số đa dạng alpha và beta giữa 2 nhóm nghiên cứu. (A) Biểu đồ so sánh chỉ số đa dạng alpha. Trị số p được tính bằng kiểm định Mann-Whitney U test giữa nhóm bệnh nhân UTĐTT và đối chứng khỏe mạnh. (B) Biểu đồ phân tích thành phần chính đa dạng beta dựa trên chỉ số Bray-Curtis. Sự khác biệt giữa các nhóm mẫu được tính toán từ kiểm định PERMANOVA.

3.3. Khác biệt thành phần hệ VSV đường ruột giữa các mẫu nghiên cứu



Hình 2. (A) Thành phần hệ vi sinh vật ở cấp độ chi từ các mẫu phân của 15 đối tượng nghiên cứu. Các chi có độ phong phú tương đối trung bình nhỏ hơn 1% và các chi chưa được phân loại được gộp thành nhóm “Khác/Chưa phân loại”. CRC: Mẫu thuộc nhóm UTĐTT, HC: Mẫu thuộc nhóm khỏe mạnh. (B) Các chi có sự khác biệt về mức độ phong phú hệ VSV đường ruột giữa bệnh nhân UTĐTT và đối chứng khỏe mạnh. Trị số p được tính bằng kiểm định Mann-Whitney U test giữa nhóm bệnh nhân UTĐTT và đối chứng khỏe mạnh.

Phần lớn các vi sinh vật được tìm thấy trong các mẫu phân của các đối tượng nghiên cứu thuộc 5 ngành vi khuẩn bao gồm Firmicutes ($71,5 \pm 16,7\%$), Bacteroidetes ($12,3 \pm 14,1\%$), Proteobacteria ($8,9 \pm$

$14,2\%$), Actinobacteria ($6,0 \pm 5,7\%$), và Fusobacteria ($1,2 \pm 2,9\%$). Ở mức độ phân loại thấp hơn, 16 họ và 25 chi được xác định chiếm tỷ tương đối (trên 1%) trong các mẫu, trong đó nhóm Blautia,

Escherichia/Shigella, *Prevotella*, *Faecalibacterium*, và *Dorea* là các chi chiếm tỷ trọng cao nhất trong cả mẫu bệnh và mẫu khỏe. Tỷ trọng các nhóm vi khuẩn có sự biến thiên giữa nhóm UTĐTT và nhóm đối chứng; và giữa các cá thể thuộc cùng nhóm nghiên cứu (Hình 2A). Tiếp theo, chúng tôi sử dụng kiểm định Mann-Whitney U test so sánh sự khác biệt giữa các chi giữa nhóm bệnh nhân UTĐTT và đối chứng khỏe mạnh. 10 chi có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm nghiên cứu, trong đó 3/10 chi (*Gemella*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus*) cụ thể là 3 loài *Gemella morbillorum*, *Parvimonas micra*, *Peptostreptococcus stomatis* cho thấy sự tăng lên ở nhóm bệnh nhân UTĐTT so với nhóm đối chứng và ở chiều ngược lại quan sát được 7/10 chi (*Enterocloster*, *Flavonifractor*, *Flintibacter*, *Phoceia*, *Phascolarctobacterium*, *Mitsuokella*, *Akkermansia*) (Hình 2B). Tuy nhiên, sự khác biệt giữa hai nhóm biến mất sau khi hiệu chỉnh trị số p với phương pháp Benjamini-Hochberg để giảm thiểu dương tính giả do so sánh nhiều nhóm.

4. Bàn luận

Để thực hiện nghiên cứu hệ VSV đường ruột thì việc tuyển chọn đối tượng tham gia nghiên cứu, thu thập mẫu và tách chiết DNA là những bước đầu rất quan trọng. Trong nghiên cứu này, các đối tượng tham gia nghiên cứu có sự tương đồng về tuổi, giới và được lựa chọn phù hợp theo tiêu chuẩn đã đưa ra. Qiagen DNeasy® PowerSoil® Pro Kit được lựa chọn cho tách chiết DNA vì quy trình thực hiện đơn giản và nhanh chóng. DNA bộ gen thu được có số lượng và chất lượng DNA cao và được sử dụng thành công để khuếch đại gen 16S rRNA tương tự như trong nhiều nghiên cứu trước đó. Với kết quả này, nhóm nghiên cứu đã thành công trong việc sử dụng kỹ thuật giải trình tự gen 16s rRNA để xác định được thành phần vi khuẩn đường ruột đến cấp độ chi.

Kết quả giải trình tự vùng siêu biến đổi V3-V4 của gen 16S rRNA cho phép xác định thành phần và mức độ đa dạng hệ vi sinh vật trong các mẫu nghiên cứu. Đa dạng alpha đo mức độ đa dạng trong từng mẫu riêng lẻ được tính toán dựa trên 3 chỉ số bao

gồm Chao1 (độ phong phú), chỉ số Shannon (phản ánh độ phong phú và đa dạng) và số lượng loài quan sát được trong các mẫu nghiên cứu. Đa dạng beta đo mức độ đa dạng hoặc không tương đồng giữa các mẫu nghiên cứu trong đó chỉ số Bray-Curtis phản ánh thành phần và tỉ lệ của các phân loài giữa 2 mẫu. Mặc dù nhiều báo cáo đã chỉ ra sự khác nhau trong thành phần của hệ vi sinh vật đường ruột giữa bệnh nhân ung thư và nhóm người khỏe mạnh, và đồng thời cũng mô tả các vi khuẩn đặc trưng có thể sử dụng để sàng lọc ung thư [5, 6], tuy nhiên nghiên cứu về hệ vi sinh tại Việt Nam vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên đánh giá thành phần và đa dạng hệ vi sinh đường ruột ở bệnh nhân UTĐTT từ mẫu phân sử dụng phương pháp giải trình tự gen 16S rRNA. Kết quả nghiên cứu chưa thấy được sự khác biệt về đa dạng alpha giữa nhóm bệnh nhân UTĐTT và nhóm đối chứng khỏe mạnh. Tuy nhiên, trong báo cáo của Yuan và cộng sự trên 226 bệnh nhân UTĐTT và 156 người khỏe ở Trung Quốc cho thấy đa dạng alpha của nhóm bệnh nhân thấp hơn nhóm đối chứng khi đánh giá bởi độ phong phú (chỉ số đa dạng ACE và Chao1), và khi đánh giá bởi chỉ số Shannon và Simpson không thấy sự khác biệt. Với chỉ số đa dạng beta thì có sự khác biệt rõ ràng giữa nhóm bệnh nhân UTĐTT và người khỏe [7].

Phân loại hệ VSV ở cấp độ ngành, họ, giới khá rõ ràng nhưng ở cấp độ loài thì kỹ thuật 16s rRNA khó xác định. Điều này đúng với hạn chế của kỹ trình tự gen 16S rRNA, tuy nhiên phương pháp giải trình tự này vẫn áp dụng rộng rãi trong nghiên cứu đa hệ gen do chi phí giải trình tự thấp và khả năng phát hiện sự khác biệt về đơn vị phân loại như họ, chi giữa các điều kiện nghiên cứu [8]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy thành phần vi sinh vật không đồng nhất trong mẫu phân của bệnh nhân UTĐTT và người khỏe tương tự như các nghiên cứu tiến hành trước đó [6, 7]. Kết quả so sánh thành phần hệ vi sinh giữa hai nhóm nghiên cứu cho thấy 3 loài *Gemella morbillorum*, *Parvimonas micra*, *Peptostreptococcus stomatis* có sự tăng lên ở nhóm bệnh nhân UTĐTT so với nhóm đối chứng. Nghiên cứu trên chuột đã chỉ ra rằng *Parvimonas micra* có

khả năng thúc đẩy quá trình hình thành khối u đại trực tràng bằng cách gây ra sự tăng sinh tế bào biểu mô ruột và làm tăng sinh tế bào miễn dịch Th17 [9]. Cả *Parvimonas micra*, *Peptostreptococcus stomatis* được tìm thấy trong mô niêm mạc ruột của bệnh nhân UTĐTT [10]. Mặc dù, Shinichi Yachida và cộng sự đã xác định có sự tăng lên đáng kể của loài vi khuẩn *Fusobacterium nucleatum* trong mẫu phân nhóm UTĐTT và có sự tăng tỷ trọng theo giai đoạn bệnh [6], nghiên cứu của chúng tôi chưa ghi nhận sự khác biệt này. Ngoài ra, chúng tôi ghi nhận 1 trường hợp mẫu thuộc nhóm bệnh nhân (CRC1) có hệ vi sinh hoàn toàn khác biệt với các bệnh nhân UTĐTT khác và nhóm đối chứng. Sau khi hồi cứu và phỏng vấn lại bệnh nhân thì xác định được nguyên nhân là do bệnh nhân đã dùng kháng sinh trước khi lấy mẫu 1 tuần. Như vậy, thành phần vi khuẩn đường ruột trong mẫu phân phản ánh khá rõ tình trạng sử dụng kháng sinh của người bệnh. Một trong những hạn chế của nghiên cứu là cỡ mẫu nhỏ đặc biệt nhóm đối chứng chưa thể đại diện cho quần thể người Việt Nam.

5. Kết luận

Đây là khảo sát ban đầu của nhóm nghiên cứu để đánh giá về khả năng triển khai kỹ thuật ứng dụng NGS giải trình tự 16S rRNA để phân tích sự đa dạng cũng như những khác biệt của hệ vi sinh ở bệnh nhân UTĐTT so với nhóm chứng. Hơn nữa đây cũng là nghiên cứu đầu tiên được thực hiện tại Việt Nam vì thế những kết quả ban đầu này sẽ là tiền đề cho nghiên cứu trên quy mô lớn hơn để xác định vai trò của hệ vi khuẩn đường ruột cư trú tại đại trực tràng đối với ung thư đại trực tràng.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 108.04-2021.22. Công trình được hỗ trợ bởi Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Trung tâm Nghiên cứu Y học Việt Đức (VG-CARE) và Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội. Nhóm nghiên cứu cảm ơn những người tham gia nghiên cứu và các đồng nghiệp đã giúp tạo điều kiện thuận lợi cho nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD (2018) *Role of the gut microbiota in nutrition and health*. BMJ 361:k2179.
2. Rebersek M (2021) *Gut microbiome and its role in colorectal cancer*. BMC Cancer 21(1): 1325.
3. Wang N, Fang JY (2023) *Fusobacterium nucleatum, a key pathogenic factor and microbial biomarker for colorectal cancer*. Trends in Microbiology 31(2): 159-172.
4. Tran TT, Cousin FJ, Lynch DB, Menon R, Brulc J, Brown JRM, O'Herlihy E, Butto, LF, Power K, and Jeffery IB (2019) *Prebiotic supplementation in frail older people affects specific gut microbiota taxa but not global diversity*. Microbiome 7: 1-17.
5. Feng Q, Liang, S, Jia H, Stadlmayr A, Tang L, Lan Z, Zhang D, Xia H, Xu X, Jie Z et al (2015) *Gut microbiome development along the colorectal adenoma-carcinoma sequence*. Nat Commun 6: 6528.
6. Yachida S, Mizutani S, Shiroma H, Shiba S, Nakajima T, Sakamoto T, Watanabe H, Masuda K, Nishimoto Y, Kubo M et al (2019) *Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer*. Nat Med 25: 968-976.
7. Yuan B, Ma B, Yu J, Meng Q, Du T, Li H, Zhu Y, Sun Z, Ma S, Song C (2021) *Fecal bacteria as non-invasive biomarkers for colorectal adenocarcinoma*. Front Oncol 11: 664321.
8. Durazzi F, Sala C, Castellani G et al (2021) *Comparison between 16S rRNA and shotgun sequencing data for the taxonomic characterization of the gut microbiota*. Sci Rep 11: 3030.
9. Zhao L, Zhang X, Zhou Y et al (2022) *Parvimonas micra promotes colorectal tumorigenesis and is associated with prognosis of colorectal cancer patients*. Oncogene 41: 4200-4210.
10. Osman MA, Neoh HM, Mutalib NS, Chin SF, Mazlan L, Raja Ali RA, Zakaria AD, Ngiu CS, Ang MY, Jamal R (2021) *Parvimonas micra, Peptostreptococcus stomatis, Fusobacterium nucleatum and Akkermansia muciniphila as a four-bacteria biomarker panel of colorectal cancer*. Sci Rep 11(1): 2925.