

P-ISSN 1859-4794 \* E-ISSN 2615-9929



TẠP CHÍ

# KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ Việt Nam

**Vietnam Journal of Science and Technology - MOST**

**B**

Tập 64 - Số 12 - Tháng 12 năm 2022

## HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Châu Văn Minh - Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam  
Nguyễn Việt Anh - Trường Đại học Xây dựng  
Bùi Chí Bửu - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam  
Vũ Dũng - Hội Tâm lý học Việt Nam  
Trần Thọ Đạt - Trường Đại học Kinh tế Quốc dân  
Nguyễn Đình Đức - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội  
Vũ Minh Giang - Đại học Quốc gia Hà Nội  
Trương Nam Hải - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam  
Trần Thanh Hải - Trường Đại học Mỏ - Địa chất  
Phạm Huy Khang - Trường Đại học Giao thông Vận tải  
Phạm Gia Khánh - Chủ tịch Hội Ghép tạng Việt Nam  
Hồ Đắc Lộc - Trường Đại học Công nghệ TP Hồ Chí Minh  
Nguyễn Thị Mỹ Lộc - Trường Đại học Giáo dục, Đại học Quốc gia Hà Nội  
Bành Tiến Long - Trường Đại học Bách khoa Hà Nội  
Lê Quan Nghiêm - Trường Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh  
Mai Trọng Nhuận - Đại học Quốc gia Hà Nội  
Trần Hữu Phúc - Hội đồng GS Nhà nước  
Nguyễn Thanh Phương - Trường Đại học Cần Thơ  
Nguyễn Thanh Thủy - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội  
Phạm Hùng Việt - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

## PHÓ TỔNG BIÊN TẬP PHỤ TRÁCH

Nguyễn Thị Hương Giang

## PHÓ TỔNG BIÊN TẬP

Nguyễn Thị Hải Hằng

## TRƯỞNG BAN BIÊN TẬP

Phạm Thị Minh Nguyệt

## TRƯỞNG BAN TẠP CHÍ ĐIỆN TỬ

Vũ Văn Hưng

## TRƯỞNG BAN TRỊ SỰ

Lương Ngọc Quang Hưng

## TRÌNH BÀY

Đinh Thị Luận

## EDITORIAL COUNCIL

Chau Van Minh - Vietnam Academy of Science and Technology  
Nguyen Viet Anh - National University of Civil Engineering  
Bui Chi Bui - Institute of Agricultural Science for Southern Vietnam  
Vu Dung - Vietnam Association of Social Psychology  
Tran Tho Dat - National Economics University  
Nguyen Dinh Duc - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi  
Vu Minh Giang - VNU, Hanoi  
Truong Nam Hai - Vietnam Academy of Science and Technology  
Tran Thanh Hai - Hanoi University of Mining and Geology  
Pham Huy Khang - University of Transport and Communications  
Pham Gia Khanh - President of Vietnam Society of Organ Transplantation  
Ho Duc Loc - Ho Chi Minh City University of Technology  
Nguyen Thi My Loc - University of Education, VNU, Hanoi  
Banh Tien Long - Hanoi University of Science and Technology  
Le Quan Nghiem - University of Medicine and Pharmacy of Ho Chi Minh City  
Mai Trong Nhuan - VNU, Hanoi  
Tran Huu Phuc - The State Council for Professorship  
Nguyen Thanh Phuong - Can Tho University  
Nguyen Thanh Thuy - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi  
Pham Hung Viet - University of Science, VNU, Hanoi

## EXECUTIVE DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Nguyen Thi Huong Giang

## DEPUTY EDITOR

Nguyen Thi Hai Hang

## HEAD OF EDITORIAL BOARD

Pham Thi Minh Nguyet

## HEAD OF E-JOURNAL BOARD

Vu Van Hung

## HEAD OF ADMINISTRATION

Luong Ngoc Quang Hung

## ART DIRECTOR

Đinh Thị Luận

## TÒA SOẠN

113 Trần Duy Hưng - Cầu Giấy - Hà Nội  
Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794  
Email: [khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn](mailto:khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn)  
Tạp chí điện tử: [b.vjst.vn](http://b.vjst.vn)

## EDITORIAL OFFICE

113 Tran Duy Hung Str. - Cau Giay Dist. - Hanoi  
Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794  
Email: [khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn](mailto:khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn)  
E-journal: [b.vjst.vn](http://b.vjst.vn)

## GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 459/GP-BTTTT ngày 20/7/2021

Giá: 18000<sup>d</sup>

## PUBLICATION LICENCE

No. 459/GP-BTTTT 20<sup>th</sup> July 2021

# Ứng dụng kỹ thuật Multiplex ligation-dependent probe amplification xác định người lành mang đột biến gen $\alpha$ -thalassemia

Nguyễn Minh Ngọc, Lê Thị Phương, Trần Huy Thịnh, Trần Văn Khánh\*

Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 21/12/2021; ngày chuyển phản biện 27/12/2021; ngày nhận phản biện 25/1/2022; ngày chấp nhận đăng 28/1/2022

## Tóm tắt:

Bệnh  $\alpha$ -thalassemia phần lớn là do đột biến xóa đoạn gen *HBA1* và *HBA2* gây thiếu hụt chuỗi  $\alpha$ -globin cấu thành nên phân tử Hemoglobin (HGB). Tùy theo số lượng chuỗi  $\alpha$  bị thiếu hụt mà mức độ biểu hiện lâm sàng của bệnh ở các cấp độ khác nhau. Bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường nên việc xác định người lành mang đột biến gen  $\alpha$ -thalassemia có ý nghĩa quan trọng trong tư vấn di truyền trước sinh và trước hôn nhân nhằm giảm tỷ lệ mắc bệnh trong cộng đồng. Bằng kỹ thuật Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) trên mẫu máu của 15 người nghi ngờ mang đột biến gen  $\alpha$ -thalassemia, kết quả xét nghiệm các chỉ số hồng cầu (RBC) và huyết sắc tố đã xác định được 12/15 người mang đột biến  $--^{SEA}$ , 1/15 người mang đột biến  $-\alpha^{3.7}$ , 1/15 người mang đột biến  $-\alpha^{4.2}$  và 1/15 người mang đột biến điểm *Hb constant spring* ( $-\alpha^{HbCs}$ ).

**Từ khóa:** gen  $\alpha$ -thalassemia, *Hb constant spring*, MLPA, người mang đột biến,  $--^{SEA}$ ,  $-\alpha^{3.7}$ ,  $-\alpha^{4.2}$ .

**Chỉ số phân loại:** 3.1

## 1. Đặt vấn đề

$\alpha$ -thalassemia là một bệnh tan máu bẩm sinh do giảm sản xuất chuỗi  $\alpha$ -globin của huyết sắc tố. Bệnh được tìm thấy trên toàn thế giới, trong đó phần lớn ở các khu vực: Địa Trung Hải (19%), châu Phi (41,2%) và Đông Nam Á (44,6%) [1]. Hiện nay, khoảng 5% dân số thế giới mang đột biến gen  $\alpha$ -thalassemia, bao gồm dạng  $\alpha^+$ -thalassemia và  $\alpha^0$ -thalassemia, phân bố rộng rãi ở các vùng và quốc gia khác nhau (chủ yếu ở Đông Nam Á). Tại Việt Nam, tỷ lệ người mang đột biến gen bệnh được phát hiện với tần số cao nhất trong khu vực [2, 3].

Bệnh  $\alpha$ -thalassemia là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, gây ra do đột biến 2 gen  $\alpha$ -globin (*HBA1* và *HBA2*) nằm trên nhiễm sắc thể số 16 dẫn đến giảm hoặc thiếu hụt tổng hợp chuỗi  $\alpha$ -globin. Mỗi gen gồm 2 alen quy định tổng hợp chuỗi  $\alpha$ -globin, như vậy mỗi phân tử HGB gồm 4 chuỗi  $\alpha$ -globin, tùy thuộc vào số lượng alen bị đột biến và dạng đột biến mà các biểu hiện lâm sàng của bệnh  $\alpha$ -thalassemia xảy ra ở các mức độ khác nhau. 90% các trường hợp là do đột biến xóa đoạn gen, có thể xảy ra trên 1 hoặc cả 2 gen *HBA1* và *HBA2*, hoặc toàn bộ cụm gen  $\alpha$ -globin, bao gồm cả gen  $\zeta$  globin; 10% còn lại là đột biến điểm [4]. Những đột biến này sẽ tạo ra các alen đột biến ở dạng  $\alpha^0$ -thalassemia (mất cả 2 gen  $\alpha$  trên cùng 1 nhiễm sắc thể dẫn đến không tổng hợp được chuỗi  $\alpha$ -globin) và  $\alpha^+$ -thalassemia (mất hoặc bất hoạt 1 gen  $\alpha$  trên 1 nhiễm sắc thể dẫn đến giảm tổng hợp chuỗi  $\alpha$ -globin) [2].

Người lành mang đột biến gen bệnh là những người chỉ mang 1 đột biến  $\alpha^0$ , hoặc 1-2 đột biến  $\alpha^+$ . Những người này tuy không có biểu hiện lâm sàng, chỉ xuất hiện thiếu máu nhẹ khi làm xét nghiệm công thức máu, nhưng khi 2 người mang đột biến gen lấy nhau họ có nguy cơ sinh ra những đứa con bị bệnh với xác suất là

25%. Vì vậy, việc xác định đột biến trên người lành mang đột biến gen bệnh hướng tới mục tiêu tư vấn di truyền, từ đó ngăn ngừa và giảm tỷ lệ mắc bệnh trong cộng đồng là rất cần thiết.

Kỹ thuật MLPA có độ chính xác cao và kết quả nhanh chóng, là phương pháp hữu ích trong việc xác định các đột biến xóa đoạn đồng hợp tử cũng như dị hợp tử. Đồng thời cũng xác định các đột biến lặp đoạn và một vài đột biến điểm thường gặp trong cụm gen  $\alpha$ -globin. Xuất phát từ thực tiễn nêu trên, nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu: “Xác định các đột biến gen ở người lành mang đột biến gen bệnh  $\alpha$ -thalassemia bằng kỹ thuật MLPA”.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

**Nhóm nghiên cứu:** 15 người được chọn dựa trên xét nghiệm công thức máu bất thường: RBC > 5,5 T/L, MCH < 27,0 pg, MCV < 80 fL, HGB < 130 g/l và kết quả điện di huyết sắc tố bình thường. Công thức máu của người lành mang đột biến gen bệnh được tổng hợp ở bảng 1.

**Bảng 1. Công thức máu và chỉ số điện di huyết sắc tố của nhóm nghiên cứu.**

| n=15      | Trung bình ( $\pm$ SD) |
|-----------|------------------------|
| RBC (T/L) | 5,73 $\pm$ 0,54        |
| HGB (g/L) | 127,61 $\pm$ 17,62     |
| MCV (fL)  | 67,2 $\pm$ 3,47        |
| MCH (pg)  | 21,55 $\pm$ 1,49       |
| HbA1 (%)  | 97,07 $\pm$ 1,43       |
| HbA2 (%)  | 2,73 $\pm$ 1,15        |

\*Tác giả liên hệ: Email: tranvankhanh@hmu.edu.vn



# Applying Multiplex ligation-dependent probe amplification technique to identify $\alpha$ -thalassemia carriers

Minh Ngọc Nguyen, Thi Phuong Le, Huy Thinh Tran,  
Van Khanh Tran\*

Hanoi Medical University, 1 Ton That Tung, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 21 December 2021; revised 25 January 2022; accepted 28 January 2022

## Abstract:

$\alpha$ -thalassemia disease is mostly caused by mutations in the *HBA1* and *HBA2* genes that lead to the deficiency in the  $\alpha$ -globin chain, which builds up the haemoglobin molecule. Depending on the number of missing  $\alpha$  chains, the clinical manifestations of the disease are at different levels. This disease is inherited in an autosomal recessive manner, hence identifying healthy individuals carrying mutations in the  $\alpha$ -thalassemia gene is essential for prenatal and premarital genetic counselling to reduce the incidence in the community. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) technique was used to determine 15 people who were suspected of carrying the  $\alpha$ -thalassemia gene based on their complete blood count. This study identified that there were 12/15 people carrying  $--SEA$  mutation, 1/15 carrier having  $-\alpha^{3.7}$  mutation, 1/15 carrier having  $-\alpha^{4.2}$  mutation and 1/15 person carrying point mutation *Hb* constant spring  $-\alpha^{HbCs}$ .

**Keywords:** *Hb* constant spring, MLPA, mutation carriers,  $\alpha$ -thalassemia,  $--SEA$ ,  $-\alpha^{3.7}$ ,  $-\alpha^{4.2}$ .

**Classification number:** 3.1

**Tiêu chuẩn loại trừ:** Những người thiếu máu do thiếu sắt.

**Nhóm chứng:** Mẫu máu của 5 người trưởng thành có công thức máu bình thường: số lượng RBC: 4,0-5,5 T/L; MCH: 27,0-34,0 pg; MCV: 80-95 fL; HGB: 30-150 g/l. Kết quả điện di huyết sắc tố bình thường: HbA1 96,5-98,5% và HbA2 là 1,5-3,5%.

Các mẫu trong nghiên cứu được thu thập và tiến hành các kỹ thuật sinh học phân tử tại Trung tâm Nghiên cứu Gen - Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Kỹ thuật tách chiết DNA:** DNA được tách từ mẫu máu toàn phần bằng bộ kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit của Hãng Promega, Hoa Kỳ. Quy trình tách chiết tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Nồng độ và độ tinh sạch của DNA sau tách chiết được kiểm tra bằng phương pháp đo quang trên máy NanoDrop: nồng độ DNA 80-200 ng/ $\mu$ l, đánh giá độ tinh sạch bằng tỷ lệ A260/A280=1,8-2,0.

**Kỹ thuật MLPA:** Nghiên cứu sử dụng bộ kit SALSA MLPA của Hãng MRC Holland (Hà Lan) với bộ đầu dò P140 dành cho chẩn đoán  $\alpha$ -thalassemia.

**Tiến hành:** 5  $\mu$ l DNA có nồng độ tối ưu trong khoảng 50-250 ng đã khử RNA được sử dụng làm khuôn cho phản ứng. MLPA gồm 4 bước chính là biến tính, lai hóa đầu dò, PCR và điện di mao quản. Các bước thí nghiệm và chu trình nhiệt của phản ứng được thực hiện tuân theo quy trình chung của nhà sản xuất.

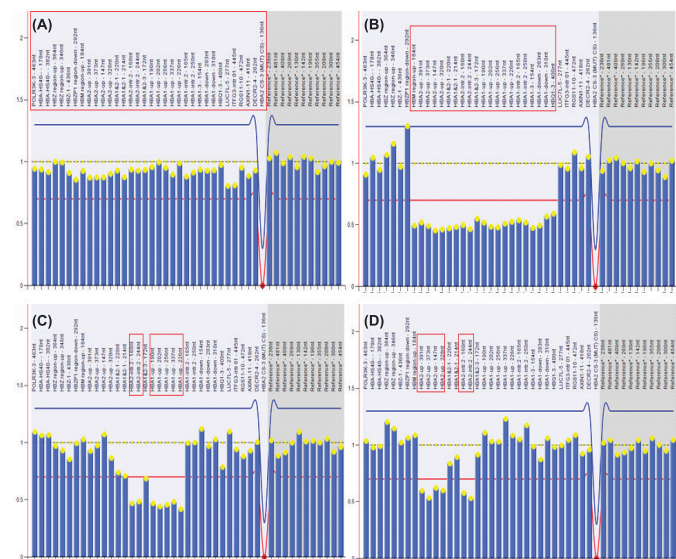
Kết quả MLPA được phân tích trên phần mềm COFFALYSER.Net để tính giá trị Dosage Quotient (DQ - thương số của tín hiệu đỉnh mẫu nghiên cứu so với mẫu đối chứng). Những đỉnh có giá trị DQ trong khoảng 0,8-1,2 là bình thường; DQ=0 tương đương với đột biến mất đoạn đồng hợp tử; DQ trong khoảng 0,4-0,65 được xác định là xóa đoạn dị hợp tử; DQ 1,3-1,65 là có đột biến lặp đoạn.

**Đạo đức nghiên cứu:** Những người mang đột biến gen bệnh  $\alpha$ -thalassemia tham gia vào nghiên cứu này một cách tự nguyện. Họ được thông báo kết quả xét nghiệm gen và bảo mật thông tin cá nhân. Người tham gia có thể rút khỏi nghiên cứu bất cứ lúc nào.

## 3. Kết quả

### 3.1. Đột biến phát hiện được trên người lành mang đột biến gen bệnh

**Đột biến mất đoạn lớn:** Bằng kỹ thuật MLPA, nghiên cứu đã xác định được 14/15 người lành mang đột biến mất đoạn lớn vùng gen  $\alpha$ -globin. Trong đó, 12/15 (80%) người mang đột biến  $--SEA$ , 1/15 (6,67%) người mang đột biến  $-\alpha^{3.7}$  và 1/15 (6,67%) người mang đột biến  $-\alpha^{4.2}$ . Kết quả phân tích MLPA của từng nhóm đột biến được thể hiện ở hình 1.



**Hình 1. Kết quả MLPA của nhóm chứng và nhóm nghiên cứu có đột biến mất đoạn lớn.** Trục tung biểu thị giá trị DQ của các mẫu, trục hoành biểu thị các đỉnh của đầu dò trong bộ kit MLPA P140. (A) Nhóm chứng; (B) Nhóm mang đột biến  $--SEA$ ; (C) Nhóm mang đột biến  $-\alpha^{3.7}$ ; (D) Nhóm mang đột biến  $-\alpha^{4.2}$ .



Kết quả MLPA của nhóm chứng (hình 1A) cho thấy, các đỉnh của cụm gen quy định tổng hợp chuỗi  $\alpha$ -globin (trong khung màu đỏ) có chiều cao đều nhau và giá trị DQ đều nằm trong giá trị bình thường (khoảng 0,7-1,3 theo như khuyến cáo của nhà sản xuất). Hình 1B các đỉnh từ *HBM* đến *HBQ1* (trong khung màu đỏ) có giá trị DQ 0,4-0,65, thấp hơn khoảng 1/2 so với người bình thường, tương ứng với khoảng mất đoạn --*SEA*. Tương tự như vậy, hình 1C thể hiện đột biến gây mất đoạn gen *HBA1* của đột biến  $-\alpha^{3.7}$  và hình 1D có tín hiệu các đỉnh tại vùng gen *HBA2* thấp hơn với nhóm chứng, tương ứng với đoạn gen mất gây đột biến  $-\alpha^{4.2}$ .

**Đột biến điểm  $-\alpha^{HbCs}$ :** Có 1/15 (6,67%) người được xác định mang đột biến điểm  $-\alpha^{HbCs}$  trong nghiên cứu này (hình 2).



Hình 2. Kết quả MLPA của người lành mang đột biến điểm  $-\alpha^{HbCs}$ .

Người mang đột biến  $-\alpha^{HbCs}$  có kết quả MLPA gần giống với kết quả của nhóm chứng, giá trị DQ của các đầu dò đều nằm trong khoảng 0,7-1,3 nhưng xuất hiện thêm đỉnh *HBA2-CS*.

Tổng hợp kết quả MLPA của 15 người lành mang đột biến gen bệnh được thể hiện ở bảng 2.

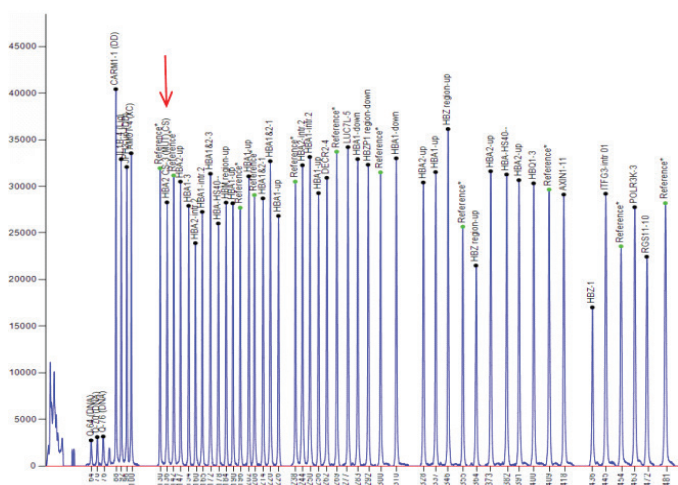
**Bảng 2. Các dạng đột biến và kiểu gen phát hiện trên gen  $\alpha$ -globin.**

| Dạng đột biến      | Tên đột biến     | Kiểu gen                       | Số lượng (n=15) |
|--------------------|------------------|--------------------------------|-----------------|
| Dị hợp tử          | $-\alpha^{3.7}$  | $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$   | 1 (6,67%)       |
| Dị hợp tử          | $-\alpha^{4.2}$  | $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$   | 1 (6,67%)       |
| Chưa xác định được | $-\alpha^{HbCs}$ | $\alpha^{Cs}/\alpha\alpha$     | 1 (6,67%)       |
| Dị hợp tử          | -- <i>SEA</i>    | -- <i>SEA</i> / $\alpha\alpha$ | 12 (80%)        |

Tất cả 15 người tham gia nghiên cứu đều có đột biến gây bệnh  $\alpha$ -thalassemia, trong đó có 14/15 (93,33%) người mang đột biến mất đoạn lớn và 1/15 (6,67%) người mang đột biến điểm gây bệnh. 12/15 (80%) người mang đột biến --*SEA*, các đột biến  $-\alpha^{3.7}$ ,  $-\alpha^{4.2}$  và  $-\alpha^{HbCs}$  đều được phát hiện với tỷ lệ 1/15 (6,67%) người với mỗi loại đột biến.

## 4. Bàn luận

Hiện nay, có nhiều kỹ thuật sinh học phân tử đã được phát triển cho phép xác định chính xác đột biến gen  $\alpha$ -globin phổ biến hoặc hiếm gặp, giúp giải thích các kiểu hình khác nhau của bệnh. Một số nghiên cứu sử dụng các phương pháp khác nhau như Gap-PCR và giải trình tự DNA [5, 6]. Mỗi kỹ thuật đều có ưu điểm và nhược điểm của nó. Tùy theo điều kiện, mục đích và đối tượng nghiên cứu khác nhau mà mỗi công trình lựa chọn kỹ thuật phù hợp, hoặc kết hợp nhiều kỹ thuật giúp cho kết quả chính xác nhất trong thời gian ngắn nhất, với chi phí hợp lý nhất. Hơn 128 loại đột biến gen  $\alpha$ -globin gây ra bệnh  $\alpha$ -thalassemia đã được tìm thấy. Sự tương tác giữa các đột biến này có khả năng ngày càng tạo ra các kiểu hình khác nhau. Mức độ nghiêm trọng của bệnh tương quan chặt chẽ với việc giảm hoạt động của gen  $\alpha$ -globin [7].



Nghiên cứu này sử dụng kỹ thuật MLPA, giống với nghiên cứu của J.Z. Liu và cs (2008) [8]. MLPA được chọn làm kỹ thuật chính để xác định đột biến gen  $\alpha$ -globin trong nghiên cứu vì nó có một số ưu điểm so với các kỹ thuật thông thường khác được sử dụng để phát hiện bệnh  $\alpha$ -thalassemia. Kỹ thuật Gap-PCR chỉ có thể xác định các đột biến mất đoạn đã biết và không thể xác định được các đột biến điểm. MLPA là một kỹ thuật có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, không chỉ dừng lại ở việc xác định được các đột biến mất đoạn phổ biến đã biết trước, nó còn có thể xác định được các đột biến mất đoạn hiếm hoặc mới phát sinh của các gen  $\alpha$ -globin gây bệnh  $\alpha$ -thalassemia. Ngoài ra, MLPA còn có thể phát hiện được đột biến lặp đoạn và điểm  $-\alpha^{HbCs}$  [8, 9].

Trong nghiên cứu này, các tác giả quan sát thấy đột biến --*SEA* chiếm 80% tổng số mẫu phân tích, trong khi  $-\alpha^{3.7}$ ,  $-\alpha^{4.2}$  và  $-\alpha^{HbCs}$  có cùng tỷ lệ 6,67%. C. Hockham và cs (2019) [5] đã phát hiện ra rằng, --*SEA* là đột biến -thalassemia phổ biến nhất ở khắp khu vực Đông Nam Á, tương tự như những gì đã được tìm thấy trong nghiên cứu này. Ngoài ra, mức độ xuất hiện của -thalassemia là  $-\alpha^{3.7}$  là phổ biến và  $-\alpha^{HbCs}$  chiếm phần lớn các đột biến không xóa đoạn lớn trên toàn khu vực. Tần số gen của bệnh  $\alpha$ -thalassemia được nghiên cứu ở Campuchia với  $-\alpha^{3.7}$  là biến thể phổ biến nhất [6].

Nghiên cứu của T. Munkongdee và cs (2016) [6] cũng xác định các tần số là 0,3-0,8% đối với  $-\alpha^{4.2}$ , 0,8-1,1% đối với  $--^{SEA}$  và 2,1-4,4% đối với đột biến  $-\alpha^{HbCs}$  trong cộng đồng cùng với đột biến  $-\alpha^{Pakséa}$  (0,9-3,6%). Tần số alen  $-\alpha^{3.7}$  được xác định bởi R. Ahmad và cs (2013) [10] trong các quần thể Malaysia khác nhau dao động trong khoảng 6,2-29%. R. Ahmad và cs (2013) [10] cũng phát hiện ra rằng, tỷ lệ alen  $-\alpha^{4.2}$  gặp ở quần thể bệnh nhân Mã Lai là 0-1,3%. Kết quả nghiên cứu không tương quan với các nghiên cứu trên do số lượng mẫu ít. Do đó, kết quả của nghiên cứu chưa thể hiện được sự phân bố chính xác của các dạng đột biến gen  $\alpha$ -globin trong cộng đồng người Việt Nam.

Đột biến mất đoạn  $--^{SEA}$  chiếm tỷ lệ cao trong nghiên cứu này. Kết quả này phù hợp với thực tế rằng, kiểu mất đoạn này là dạng đột biến phổ biến nhất ở Đông Nam Á, dẫn đến thiếu 2 gen  $\alpha$ -globin trên nhiễm sắc thể 16 [11]. Trạng thái đồng hợp tử của đột biến này ( $--^{SEA}/--^{SEA}$ ) sẽ làm mất hoàn toàn 4 gen  $\alpha$ -globin, do đó không thể tổng hợp chuỗi  $\alpha$ -globin. Nếu trường hợp này xảy ra khi mang thai sẽ làm phát sinh quá trình tự trùng hợp các chuỗi  $\gamma$  globin trong bào thai, tạo ra Hb Bart's; loại  $\alpha$ -thalassemia này không có khả năng giải phóng ôxy đến mô, gây phù thai, do đó thai nhi sẽ chết hoặc chỉ sống được một thời gian rất ngắn sau khi sinh [12].

$-\alpha^{HbCs}$  được tìm thấy với tỷ lệ thấp trong các mẫu nghiên cứu của nhóm tác giả (1/15 mẫu). Ở Đông Nam Á,  $-\alpha^{HbCs}$  đặc biệt phổ biến ở Thái Lan và Lào [13]. Ở các nước khác trong khu vực Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam, số liệu về tỷ lệ mang  $-\alpha^{HbCs}$  trong dân số còn hạn chế [14]. Đột biến  $-\alpha^{HbCs}$  được gây ra bởi sự thay thế TAA->CAA ở vị trí codon kết thúc của gen *HBA2* (c.427T>C), gây ra sự kéo dài chuỗi protein  $\alpha$ -globin. Việc nghiên cứu  $-\alpha^{HbCs}$  trong cộng đồng là rất quan trọng. Tế bào RBC có liên kết chuỗi globin  $-\alpha^{HbCs}$  đã được chứng minh sẽ gây ra hiện tượng tán huyết. Thông thường, dị hợp tử của  $-\alpha^{HbCs}$  không có triệu chứng, nhưng khi kết hợp với sự xóa đoạn  $--^{SEA}$  có thể gây ra bệnh HbH [15]. Vì vậy, việc xác định các đột biến này đóng vai trò rất quan trọng trong việc tư vấn di truyền trước sinh và sàng lọc trước sinh.

Kỹ thuật MLPA có độ nhạy và đặc hiệu cao nên hoàn toàn có thể ứng dụng trong chẩn đoán xác định các đột biến xóa đoạn và đột biến  $\alpha^{HbCs}$  trên gen  $\alpha$ -globin gây bệnh  $\alpha$ -thalassemia. Tuy nhiên, do kinh phí hạn hẹp, nghiên cứu mới chỉ tiến hành cỡ mẫu nhỏ, chưa đánh giá được tần suất người lành mang đột biến gen bệnh  $\alpha$ -thalassemia trong dân số. Ngoài ra, còn khoảng 10% đột biến điểm trên cụm gen  $\alpha$ -globin không thể phát hiện bằng phương pháp MLPA. Vì vậy, cần kết hợp thêm phương pháp khác như giải trình tự gen Sanger hoặc Next-generation sequencing trên cỡ mẫu lớn để xác định được toàn bộ các đột biến gen gây bệnh  $\alpha$ -thalassemia và đưa ra bản đồ đột biến gen  $\alpha$ -globin cũng như tần suất người lành mang đột biến gen bệnh  $\alpha$ -thalassemia trên quần thể người Việt Nam.

## 5. Kết luận

Bằng kỹ thuật MLPA nghiên cứu đã xác định được 4 loại đột biến trong 15 mẫu người lành mang đột biến gen bệnh  $\alpha$ -thalassemia. Bao gồm 3 đột biến xóa đoạn ( $--^{SEA}$ ,  $-\alpha^{3.7}$ ,  $-\alpha^{4.2}$ ) và 1 đột biến điểm  $-\alpha^{HbCs}$ . Dạng xóa  $--^{SEA}$  được tìm thấy nhiều nhất trong

tất cả các mẫu với 12/15 người mang kiểu xóa đoạn này. Các đột biến khác được xác định với số lượng thấp hơn: 1/15 người mang đột biến  $-\alpha^{3.7}$ , 1/15 người mang đột biến  $-\alpha^{4.2}$  và 1/15 người mang đột biến  $-\alpha^{HbCs}$ .

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] B. Modell, M. Darlison (2008), "Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators", *Bull. World Health Organ.*, **86**(6), pp.480-487, DOI: 10.2471/blt.06.036673.
- [2] J. Old, C.L. Harteveld, J.T. Synodinos, et al. (2012), *Prevention of Thalassemias and Other Haemoglobin Disorders*, Publishers Thalassemia International Federation, 184pp.
- [3] L.P.W. Goh, E.T.J. Chong, P.C. Lee (2020), "Prevalence of alpha( $\alpha$ )-thalassemia in Southeast Asia (2010-2020): A meta-analysis involving 83,674 subjects", *Int.J. Environ. Res. Public Health*, **17**(20), DOI: 10.3390/ijerph17207354.
- [4] C.L. Harteveld, D.R. Higgs, (2010), " $\alpha$ -thalassaemia", *Orphanet J. Rare Dis.*, **5**, DOI: 10.1186/1750-1172-5-13.
- [5] C. Hockham, S. Ekwattanakit, F.B. Piel, et al. (2019), "Estimating the burden of  $\alpha$ -thalassaemia in Thailand using a comprehensive prevalence database for Southeast Asia", *Elife*, **8**, DOI: 10.7554/elife.40580.
- [6] T. Munkongdee, J. Tanakulmas, P. But, et al. (2016), "Molecular epidemiology of hemoglobinopathies in Cambodia", *Hemoglobin*, **40**(3), pp.163-167, DOI: 10.3109/03630269.2016.11587.
- [7] D.R. Higgs, W.G. Wood, (2008), "Long-range regulation of alpha globin gene expression during erythropoiesis", *Curr. Opin. Hematol.*, **15**(3), pp.176-183, DOI: 10.1097/MOH.0b013e3282f734c.
- [8] J.Z. Liu, H. Han, J.P. Schouten, et al. (2008), "Detection of  $\alpha$ -thalassemia in China by using multiplex ligation-dependent probe amplification", *Hemoglobin*, **32**(6), pp.561-571, DOI: 10.1080/03630260802508111.
- [9] C.L. Harteveld, A. Voskamp, M. Philipsen, et al. (2005), "Nine unknown rearrangements in 16p13.3 and 11p15.4 causing alpha- and beta-thalassaemia characterised by high resolution Multiplex ligation-dependent probe amplification", *J. Med. Genet.*, **42**(12), pp.922-931, DOI: 10.1136/jmg.2005.033597.
- [10] R. Ahmad, M. Saleem, N.S. Aloysious, et al. (2013), "Distribution of alpha thalassaemia gene variants in diverse ethnic populations in Malaysia: Data from the institute for medical research", *International Journal of Molecular Sciences*, **14**, pp.18599-18614, DOI: 10.3390/ijms140918599.
- [11] Q.W. Qiu, D.D. Wu, L.H. Yu, et al. (2013), "Evidence of recent natural selection on the Southeast Asian deletion ( $--^{SEA}$ ) causing  $\alpha$ -thalassemia in South China", *BMC Evolutionary Biology*, **13**(1), DOI: 10.1186/1471-2148-13-63.
- [12] S. Farashi, C.L. Harteveld (2018), "Molecular basis of  $\alpha$ -thalassemia", *Blood Cells, Molecules and Diseases*, **70**, pp.43-53, DOI: 10.1016/j.bcmd.2017.09.004.
- [13] S. Fucharoen, P. Winichagoon (2011), "Haemoglobinopathies in Southeast Asia", *Indian J. Med. Res.*, **134**(4), pp.498-506.
- [14] V.H. Nguyen, K. Sanchaisuriya, K. Wongprachu, et al. (2013), "Hemoglobin constant spring is markedly high in women of an ethnic minority group in Vietnam: A community-based survey and hematologic features", *Blood Cells Mol. Dis.*, **52**(4), pp.161-165, DOI: 10.1016/j.bcmd.2013.12.002.
- [15] W. Jomoui, G. Fucharoen, K. Sanchaisuriy, et al. (2015), "Hemoglobin constant spring among Southeast Asian populations: Haplotypic heterogeneities and phylogenetic analysis", *PLOS ONE*, **10**(12), DOI: 10.1371/journal.pone.0145230.

# Khảo sát đột biến một số gen liên quan đến ung thư phổi không tế bào nhỏ bằng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới

Trần Thị Huyền Trang<sup>1</sup>, Trịnh Lê Huy<sup>1,2</sup>, Đào Ngọc Bắc<sup>1</sup>, Lương Thị Lan Anh<sup>1,2</sup>, Đoàn Thị Kim Phượng<sup>1,2</sup>,  
Nguyễn Thị Trang<sup>1</sup>, Đào Thị Trang<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Duyên<sup>1</sup>, Vũ Thị Hà<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 9/5/2022; ngày chuyển phản biện 12/5/2022; ngày nhận phản biện 1/6/2022; ngày chấp nhận đăng 6/6/2022

## Tóm tắt:

Cho đến nay, ung thư phổi (UTP) là một trong những bệnh ung thư được hiểu rõ về cơ chế phân tử, có tỷ lệ mắc và tử vong cao trong dân số chung. Phát hiện các đột biến gen liên quan đến UTP đóng vai trò quan trọng để chỉ định phương pháp điều trị đích (Tyrosine kinase inhibitors - TKI), từ đó cải thiện thời gian sống không tiến triển bệnh của bệnh nhân. Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát một số dạng đột biến gen liên quan đến UTP không tế bào nhỏ (KTBN) bằng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới (Next-generation sequencing - NGS) trên mẫu mô sinh thiết của bệnh nhân. Nghiên cứu được thực hiện bằng phương pháp mô tả cắt ngang trên 40 bệnh nhân UTPKTBN được xét nghiệm phát hiện đột biến gen trên mẫu mô bằng NGS. Kết quả cho thấy, đa số bệnh nhân là nam giới (70,0%), trên 60 tuổi (65%), ở giai đoạn muộn (100%) và chưa điều trị gì (85%). 26/40 bệnh nhân có phát hiện đột biến, trong đó đột biến có tần suất cao nhất trên gen *EGFR* (27,5%) và *KRAS* (20,0%), tiếp theo là *ALK* (12,5%), *BRAF* (5,0%), không phát hiện các đột biến trên *NRAS*, *ROS1* và *PIK3CA*. Tần suất các dạng đột biến liên quan đến tính nhạy cảm thuốc đích khá cao, không phát hiện các dạng đột biến kháng thuốc.

**Từ khóa:** điều trị đích, đột biến gen, giải trình tự thế hệ mới, ung thư phổi không tế bào nhỏ.

**Chỉ số phân loại:** 3.1

## 1. Đặt vấn đề

UTP là bệnh ung thư phổ biến thứ hai và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên thế giới vào năm 2022, trong đó UTPKTBN là loại phổ biến nhất (chiếm 80-85% tổng số ca UTP) [1]. Tại Việt Nam, phần lớn bệnh nhân phát hiện UTP ở giai đoạn muộn khi các phương pháp điều trị truyền thống ít hiệu quả, vì vậy sự phát triển của liệu pháp TKI mở ra một hướng điều trị mới cho bệnh nhân ung thư nói chung và UTP nói riêng. Hầu hết các thuốc đích không gây chết tế bào ung thư một cách cấp tính mà làm cho chúng bị ức chế phát triển tự phát hoặc chuyển dạng sang tình trạng yên lặng. Tuy nhiên, hiệu quả của thuốc TKI phụ thuộc vào tình trạng đột biến các gen mã hóa các protein nằm trong con đường tín hiệu tế bào ung thư. Hiện nay, nhiều thụ thể là đích điều trị UTP đã được ứng dụng trong điều trị lâm sàng như *EGFR*, *ALK*, *BRAF* cho thấy hiệu quả lâm sàng tốt hơn, thời gian sống không tiến triển và thời gian sống tổng thể kéo dài hơn so với điều trị hoá chất đơn thuần [2]. Tuy nhiên, sau một thời gian điều trị, phần lớn bệnh nhân xuất hiện tình trạng kháng thuốc, đây cũng là thách thức lớn trong việc ứng dụng điều trị của liệu pháp này. Một số đột biến gen khác như *KRAS*, *ROS1*, *PIK3CA*, *NRAS* cũng là những đột biến thường gặp trong UTPKTBN và đang được nghiên cứu phát triển các thuốc TKI dựa trên những đích phân tử này. Vì vậy, việc xác định dạng đột biến gen trên bệnh nhân UTPKTBN rất quan trọng để lựa chọn phương pháp điều trị phù hợp, theo dõi sự tái phát của khối u và cải thiện tỷ lệ sống của bệnh nhân.

\*Tác giả liên hệ: Email: vuthiha@hmu.edu.vn

NGS là một trong những kỹ thuật hiện đại, cho phép đọc trình tự với độ dài có thể bằng cả hệ gen (hàng tỷ base). Khác với các phương pháp giải trình tự Sanger truyền thống chỉ cho phép đọc trình tự với độ dài nhỏ trên các gen đích và quy trình phức tạp khi muốn phát hiện nhiều gen đích, NGS cung cấp khả năng cao hơn để phát hiện các gen mới, định lượng các biến thể hiếm gặp và có thể xác định các thay đổi đơn nucleotid trên hàng nghìn vùng mục tiêu, thậm chí cả hệ gen.

Ở Việt Nam, TKI dựa vào đột biến gen đã bước đầu được áp dụng phổ biến hơn ở bệnh nhân mắc UTP giai đoạn muộn. Đã có một số nghiên cứu trước đây về đột biến gen trong UTP nhưng tập trung chủ yếu về gen *EGFR* ở một số exon mà chưa khảo sát được toàn bộ gen *EGFR* cũng như các gen khác có liên quan tới UTP. Hơn nữa, sự phát triển của kỹ thuật NGS đã góp phần phát hiện ngày càng nhiều các biến thể mới được ứng dụng trong TKI. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu khảo sát một số dạng đột biến gen liên quan đến UTPKTBN bằng NGS trên mẫu mô sinh thiết của bệnh nhân.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

40 bệnh nhân UTPKTBN tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, từ tháng 7/2020 đến tháng 3/2022.

**Tiêu chuẩn chọn mẫu:** Được chẩn đoán xác định UTPKTBN (theo tiêu chuẩn của AJCC VII (4)), có đầy đủ thông tin về hành chính, tiền sử, giai đoạn bệnh UTP, kết quả giải phẫu bệnh.



# Detection of gene mutation related to non-small cell lung cancer using next-generation sequencing

Thi Huyen Trang Tran<sup>1</sup>, Le Huy Trinh<sup>1,2</sup>, Ngoc Bac Dao<sup>1</sup>,  
Thi Lan Anh Luong<sup>1,2</sup>, Thi Kim Phuong Doan<sup>1,2</sup>, Thi Trang Nguyen<sup>1</sup>,  
Thi Trang Dao<sup>1</sup>, Thi Duyen Nguyen<sup>1</sup>, Thi Ha Vu<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Hanoi Medical University,

<sup>1</sup> Ton That Tung, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Hanoi Medical University Hospital,

<sup>1</sup> Ton That Tung, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 9 May 2022; revised 1 June 2022; accepted 6 June 2022

## Abstract:

To date, lung cancer is one of the most well-understood cancers in terms of molecular mechanisms, with high incidence and mortality rates in the population. Detecting lung cancer-related gene mutations plays a vital role in offering targeted therapy, thereby improving the progression-free survival and overall survival rates of patients. This study aims to identify some clinical features and factors related to non-small cell lung cancer and detect some types of gene mutations related to non-small cell lung cancer by new-generation sequencing techniques on biopsy tissue samples of patients. 40 patients with non-small cell lung cancer who were tested to detect gene mutations in biopsy tissue samples by next-generation sequencing. Results showed the majority of patients were male (70%), over 60 years old (65%), in the late stage (100%), and have not received any treatment (85%). 26/40 patients have detected mutations, in which mutations are most frequently in *EGFR* (27.5%) and *KRAS* (20.0%), followed by *ALK* (12.5%), *BRAF* (5.0%), did not detect mutations on *NRAS*, *ROS1*, and *PIK3CA*. The rate of mutations related to the target drug susceptibility was quite high, no resistant mutants were detected.

**Keywords:** gene mutation, next-generation sequencing, non-small cell lung cancer, target therapy.

**Classification number:** 3.1

**Tiêu chuẩn loại trừ:** Các trường hợp không đáp ứng ít nhất một trong các tiêu chuẩn lựa chọn trên.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu cắt ngang, mô tả.

**Cỡ mẫu nghiên cứu:** 40 bệnh nhân. Bệnh nhân đáp ứng tiêu chuẩn lựa chọn sẽ được đánh giá và ghi nhận các thông tin lâm sàng. Quá trình đánh giá tình trạng đột biến một số gen liên quan UTPKTBN bằng kỹ thuật NGS.

**Thu thập và xử lý mẫu mô sinh thiết:** Thu thập mẫu mô sinh thiết sau khi bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định UTP dựa vào

kết quả giải phẫu bệnh. Mẫu mô được sử dụng là mô sinh thiết đúc trong khối nền (FFPE).

**Tách chiết DNA:** Tách chiết DNA từ mẫu mô UTP sử dụng bộ hóa chất QIAamp DNA FFPE Tissue (Qiagen, Mỹ) và gDNA (DNA genome) hòa tan trong 20 µl elution buffer.

**Chuẩn bị thư viện:** DNA sau khi tách chiết được chuẩn bị thư viện bằng bộ kit NEBnext dsDNA fragmentase và NEBnext Multiplex Oligos Dual. Sản phẩm sau khi được chọn lọc sẽ được khuếch đại qua PCR bằng cặp mồi P5 index (chứa trình tự mã hóa mẫu) và P7 adapter. Sản phẩm DNA sau khi khuếch đại sẽ được tinh sạch bằng KAPA Pure Beads (KAPA biosystems).

**Làm giàu các phân mảnh DNA từ gen mục tiêu:** Sản phẩm PCR từ bước tạo thư viện sẽ được tiến hành lai với hỗn hợp mẫu dò có chứa gen và gắn biotin đặc hiệu cho các gen mục tiêu. Quy trình sử dụng theo bộ kit xGen Lockdown Reagents. Các mẫu dò được thiết kế và tổng hợp bởi xGen panel (IDT).

**Tối ưu quy trình giải trình tự NGS với độ sâu lớn:** Phân cắt và chọn lọc kích thước gDNA từ chứng dương (chúng tôi sử dụng Tru-Q1 và EML4-ALK Reference Standard từ Hãng Horizon làm chứng dương). gDNA từ các chứng dương mang đột biến và từ mẫu không mang đột biến sẽ được phân cắt bằng bộ kit NEBnext dsDNA fragmentase.

**Giải trình tự NGS:** Mẫu sinh thiết mô sau khi được tách chiết, chuẩn bị thư viện và làm giàu gen mục tiêu sẽ được tiến hành giải trình tự trên hệ thống máy giải trình tự gen thế hệ mới MiSeq (Illumina).

**Phân tích kết quả giải trình tự:** Các biến thể di truyền được khảo sát bao gồm: đột biến điểm, mất đoạn và chèn đoạn ngắn (dưới 20 nucleotide) trong vùng mã hóa (coding region) và vùng lân cận với intron (-20/+10 nucleotide từ exon) của các gen *EGFR*, *KRAS*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF* và *NRAS*. Các gen khác không được khảo sát trong nghiên cứu này. Các đột biến liên quan đến ý nghĩa lâm sàng của các gen *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *ALK*, *BRAF* và *ROS1* được kiểm tra. Đột biến có ý nghĩa lâm sàng dựa trên các loại thuốc được chấp thuận bởi Cơ quan Quản lý thuốc và Thực phẩm Hoa Kỳ (FDA) và hướng dẫn của Mạng lưới Ung thư quốc gia Hoa Kỳ (NCCN).

**Phân tích thống kê:** Quản lý, phân tích thông tin và xử lý số liệu bằng phần mềm thống kê SPSS 21.0.

## 3. Kết quả

### 3.1. Đặc điểm lâm sàng và một số yếu tố liên quan UTPKTBN

Kết quả bảng 1 cho thấy, độ tuổi khởi phát trung bình là 62 tuổi, trong đó chủ yếu là nhóm tuổi trên 60 (65%). Nam giới mắc bệnh chiếm tỷ lệ 70%, nhiều hơn nữ giới (30%). Có 12 trường hợp UTPKTBN có tiền sử gia đình 1-2 người mắc ung thư (chiếm 30%), tất cả các bệnh nhân đều thuộc giai đoạn III-IV, trong đó 15 trường hợp chưa có di căn xa (chiếm 37,5%) và 6 trường hợp di căn nhiều cơ quan (chiếm 15%). Tần suất bệnh nhân chưa điều trị chiếm cao nhất với 34 trường hợp (85%), 4 trường hợp đã điều trị

hóa xạ trị (10%), 1 trường hợp đã phẫu thuật (2,5%) và 1 trường hợp đang điều trị TKI (2,5%). Hầu hết các bệnh nhân đều thuộc UTP biểu mô tuyến chiếm 97,5% chỉ có 1 trường hợp UTP biểu mô vảy (2,5%).

**Bảng 1. Đặc điểm dịch tễ, lâm sàng, cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu.**

| Đặc điểm            | Tần số (n)           | Tần suất (%) |
|---------------------|----------------------|--------------|
| Tuổi khởi phát      | Tuổi trung bình      | 62±8,9       |
|                     | ≤60                  | 14 35%       |
|                     | >60                  | 26 65%       |
| Giới tính           | Nam                  | 28 70,0%     |
|                     | Nữ                   | 12 30,0%     |
| Tiền sử gia đình    | Không có ai          | 28 70,0      |
|                     | 1-2 người mắc        | 12 30,0      |
|                     | >2 người mắc         | 0 0          |
| Giai đoạn bệnh      | Giai đoạn I-II       | 0 0          |
|                     | Giai đoạn III-IV     | 40 100       |
| Tình trạng di căn   | Di căn 1 cơ quan     | 19 47,5      |
|                     | Di căn nhiều cơ quan | 6 15,0       |
|                     | Không di căn xa      | 15 37,5      |
| Tình trạng điều trị | Chưa điều trị        | 34 85,0      |
|                     | Phẫu thuật           | 1 2,5        |
|                     | Hóa xạ trị           | 4 10,0       |
|                     | TKI                  | 1 2,5        |
|                     | UTP biểu mô tuyến    | 39 97,5      |
| Giải phẫu bệnh      | UTP tế bào vảy       | 1 2,5        |

### 3.2. Một số dạng đột biến gen liên quan đến UTPKTBN

Tần suất phát hiện đột biến là 65%, trong đó đột biến gen chiếm tần suất cao nhất là *EGFR* (27,5%), các gen *KRAS*, *ALK* và *BRAF* lần lượt là 20, 12,5 và 5%, không gặp các đột biến trên gen *ROS1*, *NRAS* và *PIK3CA* (bảng 2).

**Bảng 2. Phân bố các loại đột biến.**

| Tên gen           | Tần số (n) | Tần suất (%) |
|-------------------|------------|--------------|
| <i>EGFR</i>       | 11         | 27,5         |
| <i>KRAS</i>       | 8          | 20,0         |
| <i>ALK</i>        | 5          | 12,5         |
| <i>BRAF</i>       | 2          | 5,0          |
| <i>ROS1</i>       | 0          | 0            |
| <i>NRAS</i>       | 0          | 0            |
| <i>PIK3CA</i>     | 0          | 0            |
| Không có đột biến | 14         | 35,0         |
| Tổng              | 40         | 100          |

Kết quả bảng 3 cho thấy, trong 11 bệnh nhân phát hiện đột biến trên *EGFR*, dạng đột biến chiếm tỷ lệ cao nhất là đột biến sai nghĩa trên exon 21 (54,5%), ít gặp nhất là trường hợp đột biến sai nghĩa trên exon 18 (9,1%) và có 4 trường hợp mất đoạn trên exon 19 (36,4%).

**Bảng 3. Phân bố đột biến gen *EGFR*.**

| Vị trí exon | Dạng đột biến | Nucleotid thay đổi | Tần số (n) | Tần suất (%) |
|-------------|---------------|--------------------|------------|--------------|
| Exon 18     | G719A         | c.2156G>C          | 1          | 9,1          |
| Exon 19     | Mất đoạn      |                    | 4          | 36,4         |
| Exon 21     | L858R         | c.2573T>G          | 6          | 54,5         |
| Tổng        |               |                    | 11         | 100          |

Trên gen *KRAS*, chỉ phát hiện đột biến trên exon 2, gặp nhiều nhất là dạng đột biến sai nghĩa G12C (chiếm 50%), các dạng còn lại G12A, G12V và G13C đều chiếm tần suất 12,5% (bảng 4). Trên gen *ALK* chỉ phát hiện dạng đột biến dung hợp gen *ALK-EML4* với 5 trường hợp.

**Bảng 4. Phân bố một số dạng đột biến gen *KRAS*.**

| Vị trí exon | Dạng đột biến | Nucleotid thay đổi | Tần số (n) | Tần suất (%) |
|-------------|---------------|--------------------|------------|--------------|
| Exon 2      | G12A          | c.35G>C            | 1          | 12,5         |
|             | G12C          | C.34G>T            | 4          | 50,0         |
|             | G12V          | c.35G>T            | 1          | 12,5         |
|             | G13C          | c.37G>T            | 1          | 12,5         |
| Tổng        |               |                    | 8          | 100          |

Trên gen *BRAF*, phát hiện 2 trường hợp đột biến sai nghĩa trên 2 codon khác nhau có dạng đột biến lần lượt là V600E và G596V (bảng 5).

**Bảng 5. Phân bố một số dạng đột biến gen *BRAF*.**

| Vị trí exon | Dạng đột biến | Nucleotid thay đổi | Tần số (n) | Tần suất (%) |
|-------------|---------------|--------------------|------------|--------------|
| Exon 15     | V600E         | c.1799T>A          | 1          | 50           |
|             | G596V         | c.1787G>T          | 1          | 50           |
| Tổng        |               |                    | 2          | 100          |

## 4. Bàn luận

Trong 40 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, tỷ lệ nam/nữ là 2,3/1, độ tuổi trung bình mắc bệnh là 62 (dao động từ 41 đến 81 tuổi), hay gặp nhất là nhóm tuổi trên 60 (65%). Trong y văn cũng như các nghiên cứu gần đây trên thế giới đều cho thấy rằng, UTP gặp nhiều hơn ở nam giới, kết quả này cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu về UTP trước đây tại Việt Nam.

Về đặc điểm lâm sàng, tất cả các bệnh nhân đều ở giai đoạn muộn (giai đoạn III-IV), trong đó có 15% trường hợp có di căn xa ít nhất 2 cơ quan và đa số các ca đều chưa điều trị (85%), 12 trường hợp có tiền sử gia đình 1-2 người mắc ung thư (30%). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của các tác giả ở Việt Nam. Theo nghiên cứu của H.A.T. Dang và cs (2020) [3], tuổi trung bình là 61, 82,6% trường hợp thuộc giai đoạn III-IV, 81,4% bệnh nhân chưa điều trị gì. Các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi đều ở giai đoạn muộn điều này có thể giải thích do chỉ định xét nghiệm đột biến gen UTP nhằm lựa chọn thuốc TKI trên lâm sàng khi các phương pháp điều trị truyền thống (phẫu thuật, hóa xạ trị) thường ít hiệu quả đối với bệnh nhân ở giai đoạn muộn. Đồng thời ở Việt Nam, phần lớn bệnh nhân UTP được phát hiện ở giai đoạn muộn khi đã có các biểu

hiện lâm sàng rõ ràng, ít các trường hợp phát hiện bệnh sớm do ý thức quan tâm, chăm sóc sức khỏe định kỳ của người dân chưa cao. UTP di truyền rất hiếm gặp vì vậy tiền sử gia đình mắc ung thư chủ yếu do các bất thường mới phát sinh và không có khả năng di truyền sang thế hệ sau. Tuy nhiên, điều này lại cho thấy gánh nặng bệnh tật ung thư ngày càng tăng đối với mỗi gia đình và cả xã hội. Trong số bệnh nhân UTPKTBN được nghiên cứu, ung thư biểu mô tuyến chiếm tần suất chủ yếu (97,2%), chỉ phát hiện 1 trường hợp ung thư biểu mô vảy (2,8%). Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu tại các quốc gia khác nhau, các kết quả phân tích đều cho thấy UTP biểu mô tuyến và biểu mô vảy là 2 dạng tổn thương hay gặp nhất.

Trong số 40 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, bằng NGS, chúng tôi phát hiện 26 trường hợp có đột biến gen liên quan UTP, chiếm 65%. Trong đó, đột biến trên gen *EGFR* (27,5%) và *KRAS* (20%) là phổ biến nhất, đột biến *ALK* (12,5%) và *BRAF* (5%) hiếm gặp hơn và không gặp các đột biến trên gen *ROS1*, *NRAS* và *PIK3CA*. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của của H.A.T. Dang và cs (2020) [3] trên 350 bệnh nhân UTPKTBN phát hiện 66,3% trường hợp mang ít nhất một biến đổi gen có liên quan về mặt lâm sàng, *EGFR* (32,3%) và *KRAS* (20%) là các gen bị đột biến thường gặp nhất, tiếp theo là *ALK* (5,4%), *ROS1* (2,9%), *BRAF* (1,1%) và *NRAS* (0,6%). Xu hướng này cũng được báo cáo tại một số nghiên cứu trong nước và trên thế giới như nghiên cứu của C. Chatterjee và cs (2017) [4] trên 106 bệnh nhân ở Kolkata miền đông Ấn Độ cho thấy tỷ lệ đột biến gen *EGFR* là 33%.

Dạng đột biến thường gặp nhất trên *EGFR* là L858R trên exon 21 (54,5%), sau đó là đột biến mất đoạn trên exon 19 (36,4%). Kết quả này khác biệt với kết quả nghiên cứu của tác giả T.K. Mai và cs (2012) [5], trong số 121 bệnh nhân Việt Nam được xét nghiệm, tỷ lệ đột biến *EGFR* ở exon 19 chiếm tỷ lệ cao nhất, đứng thứ 2 là đột biến L858R tại exon 21. Theo nghiên cứu của P.T. Mai và cs (2021) [6] trên 149 bệnh nhân UTP biểu mô tuyến, đột biến xảy ra chủ yếu ở exon 19 và 21, với tỷ lệ lần lượt là 50,8 và 35,6%. Sự chênh lệch này có thể do nghiên cứu của chúng tôi có cỡ mẫu còn hạn chế, tập trung chủ yếu vào những bệnh nhân được chẩn đoán ở giai đoạn muộn (III-IV) nên có thể không phản ánh sự phân bố dạng đột biến của bệnh nhân UTPKTBN đang ở giai đoạn ung thư sớm.

*KRAS* là đột biến gen có tần suất cao thứ 2 ở UTPKTBN (chiếm 20%), trong đó dạng đột biến thường gặp nhất là G12C chiếm 50%. Mặc dù một tỷ lệ đáng kể bệnh nhân UTPKTBN được xác định mang đột biến *KRAS* các loại thuốc nhắm trực tiếp gen này vẫn đang được thử nghiệm đánh giá lâm sàng. Kết quả của nhiều thử nghiệm lâm sàng cho thấy, các dạng đột biến khác nhau trên gen *KRAS* thể hiện sự nhạy cảm khác nhau với các phương pháp hoá trị khác nhau. Một số nghiên

cứ trên thế giới phát hiện tỷ lệ đột biến *KRAS* khá cao trong nhóm bệnh nhân UTPKTBN không đáp ứng với điều trị TKI [7]. Tuy nhiên, việc sử dụng tình trạng đột biến *KRAS* như một dấu hiệu tiên lượng xấu trong điều trị TKI vẫn còn gây tranh cãi, do kết quả không thống nhất từ các nghiên cứu phân tích tổng hợp khác nhau. Các đột biến *KRAS*, đặc biệt là dạng đột biến phổ biến nhất G12C, khi cùng tồn tại với biểu hiện PDL1 trong khối u của bệnh nhân được cho là có tiên lượng xấu, vì vậy xét nghiệm đột biến *KRAS* trong việc lựa chọn bệnh nhân cho liệu pháp miễn dịch là lợi ích tiềm năng trong tương lai [7].

Dạng đột biến duy nhất gặp trên gen *ALK* trong nghiên cứu này là dung hợp gen *ALK-EML4* chiếm 12,5%, đây cũng là dạng đột biến *ALK* thường gặp nhất theo các báo cáo trước đây. Tỷ lệ này cao hơn so với các nghiên cứu đã công bố. Sự khác biệt này có thể do số lượng bệnh nhân tham gia nghiên cứu của chúng tôi còn hạn chế nên tỷ lệ phân bố đột biến có sự chênh lệch giữa các nghiên cứu.

Đột biến trên gen *BRAF* hiếm gặp hơn với 2 trường hợp được phát hiện chiếm 5%, bao gồm dạng V600E và G596V. Kết quả này cũng tương tự như các nghiên cứu khác, đột biến trên gen *BRAF* là một trong những đột biến gen hiếm gặp ở UTPKTBN.

Các gen điều khiển (driver gene) đóng vai trò quan trọng trong việc lựa chọn thuốc TKI. Các dạng đột biến trên *EGFR* như L858R và mất đoạn exon 19 cùng với một số đột biến trên gen khác như *BRAF-V600E*, *ALK-EML4* là những đột biến gen kích hoạt và được chứng minh tính nhạy cảm với các thuốc TKI đã có sẵn trên lâm sàng [8, 9]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, 40% (16 trường hợp) trong tổng số 40 bệnh nhân tham gia nghiên cứu mang một trong những đột biến này nên có thể có tiên lượng tốt hơn khi điều trị các thuốc đích. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu của H.A.T. Dang và cs (2020) [3]. Phát hiện 39,7% bệnh nhân mang đột biến nhạy TKI. Ngược lại, các đột biến kháng thuốc như T790 M hay thêm đoạn trên exon 20 trên *EGFR* không gặp trong nghiên cứu này. Các TKI thế hệ thứ nhất là gefitinib và erlotinib có hoạt tính ức chế chọn lọc cao và là điều trị đầu tay cho bệnh nhân UTPKTBN mang đột biến *EGFR* nhạy cảm [10]. Thử nghiệm lâm sàng FLAURA so sánh hiệu quả điều trị của osimertinib-TKI thế hệ 3 với gefitinib hoặc erlotinib trong UTPKTBN có đột biến *EGFR* chưa từng điều trị đã chứng minh cải thiện khoảng 54% thời gian sống thêm bệnh không tiến triển cũng như kéo dài thời gian sống tổng thể là 6,8 tháng [11]. Đặc biệt trên gen *EGFR*, trường hợp có đột biến mất đoạn trên exon 19 có tỷ lệ đáp ứng thuốc cao hơn và có thời gian sống dài hơn so với bệnh nhân đột biến điểm ở exon 21 khi được điều trị với liệu pháp ức chế tyrosine kinase [12]. *ALK* là đích điều trị đã được phát triển nhiều thế hệ thuốc



không chỉ cải thiện thời gian sống không triệu chứng đối với các trường hợp kháng thuốc thế hệ trước mà còn có tác dụng điều trị đối với trường hợp có di căn não. Hai chất ức chế *BRAF* chọn lọc là vemurafenib và dabrafenib đã được phê duyệt để điều trị cho bệnh nhân có đột biến *BRAF-V600E* cho thấy thời gian sống bệnh không tiến triển được cải thiện [9]. Liệu pháp TKI cuối cùng có thể thay đổi mô hình điều trị UTP, mang lại hy vọng cho những bệnh nhân có các lựa chọn điều trị hạn chế.

## 5. Kết luận

Qua nghiên cứu trên 40 bệnh nhân UTPKTBN bằng việc áp dụng NGS cho thấy đột biến gen thường gặp nhất là đột biến *EGFR* và *KRAS*. Hiện nay, trên thế giới và tại Việt Nam, nhiều đích phân tử đã và đang được ứng dụng trong điều trị lâm sàng và cho thấy hiệu quả cải thiện thời gian sống tổng thể ở người bệnh ung thư giai đoạn muộn, nhất là khi các phương pháp truyền thống ít hiệu quả. Vì vậy, việc phát hiện các dạng đột biến liên quan đến TKI ở bệnh nhân UTPKTBN đóng vai trò quan trọng trong việc định hướng giúp các bác sĩ lâm sàng lựa chọn phương pháp điều trị phù hợp cho người bệnh UTPKTBN.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] H. Sung, J. Ferlay, R.L. Siegel, et al. (2021), "Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries", *CA Cancer J. Clin.*, **71**(3), pp.209-249, DOI: 10.3322/caac.21660.

[2] Z. Ye, Y. Huang, J. Ke, et al. (2021), "Breakthrough in targeted therapy for non-small cell lung cancer", *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **133**, DOI: 10.1016/j.biopha.2020.111079.

[3] H.A.T. Dang, V.U. Tran, T.T. Tran, et al. (2020), "Actionable mutation profiles of non-small cell lung cancer patients from Vietnamese population", *Sci. Reports*, **10**(1), DOI: 10.1038/s41598-020-59744-3.

[4] C. Chatterjee, A. Ray, B. Chattopadhyay (2017), "Incidence and characteristics of epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation in non-small-cell lung cancer (Adenocarcinoma histology): A report of 106 patients from Kolkata", *Indian J. Cancer*, **54**(1), pp.305-307, DOI: 10.4103/ijc.IJC\_239\_17.

[5] T.K. Mai, T.L.A. Nguyen, V.D. Dang, et al. (2012), "Research on molecular epidemiology of epidermal growth factor gene (EGFR) mutations in patients with advanced stage adenocarcinoma lung cancer", *Vietnam Journal of Oncology*, **1**, pp.233-238 (in Vietnamese).

[6] P.T. Mai, N.V. Ba, H.H. Tho và cs (2021), "Đột biến gen *EGFR* và mối liên quan với một số yếu tố lâm sàng ở bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến phổi", *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, **137**(1), tr.111-117, DOI: 10.52852/tencyh.v137i1.30.

[7] M. Shen, R. Qi, J. Ren, et al. (2022), "Characterization with KRAS mutant is a critical determinant in immunotherapy and other multiple therapies for non-small cell lung cancer", *Frontiers in Oncology*, **11**, DOI: 10.3389/fonc.2021.780655.

[8] N.I. Lindeman, P.T. Cagle, M.B. Beasley, et al. (2013), "Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: Guideline from the college of american pathologists, international association for the study of lung cancer, and association for molecular pathology", *J. Thorac. Oncol.*, **8**(7), pp.823-859, DOI: 10.1097/JTO.0b013e318290868f.

[9] L. Odogwu, L. Mathieu, G. Blumenthal, et al. (2018), "FDA approval summary: Dabrafenib and trametinib for the treatment of metastatic non-small cell lung cancers harboring BRAF V600E Mutations", *Oncologist*, **23**(6), pp.740-745, DOI: 10.1634/theoncologist.2017-0642.

[10] J. Jing, X. Wu, J. Yin, et al. (2019), "Identification of genetic mutations in cancer: Challenge and opportunity in the new era of targeted therapy", *Front. Oncol.*, **9**, DOI: 10.3389/fonc.2019.00263.

[11] S.S. Ramalingam, J. Vansteenkiste, D. Planchard, et al. (2020), "Overall survival with osimertinib in untreated, EGFR - Mutated advanced NSCLC", *New England Journal of Medicine*, **382**(1), pp.41-50, DOI: 10.1056/NEJMoa1913662.

[12] H. Jiang, M. Zhu, Y. Li, et al. (2019), "Association between EGFR exon 19 or exon 21 mutations and survival rates after first-line EGFR-TKI treatment in patients with non-small cell lung cancer", *Mol. Clin. Oncol.*, **11**(3), DOI: 10.3892/MCO.2019.1881.

# Mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* trong máu bệnh nhân động kinh điều trị bằng thuốc Carbamazepine

Nguyễn Thị Hồng Loan<sup>1,2\*</sup>, Lê Thanh Tâm<sup>1</sup>, Lê Phương Thúy<sup>1</sup>, Lê Thị Hồng Nhung<sup>1,2</sup>, Chu Văn Sơn<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Liệu<sup>3,4</sup>, Nguyễn Đoàn Thủy<sup>3,4</sup>, Nguyễn Thị Vân Anh<sup>1</sup>, Nguyễn Đình Thắng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, phường Thanh Xuân Trung, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, phường Thanh Xuân Trung, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

<sup>3</sup>Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

<sup>4</sup>Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh, 108 Phố Hoàng Như Tiếp, phường Bồ Đề, quận Long Biên, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 15/7/2022; ngày chuyển phản biện 20/7/2022; ngày nhận phản biện 30/7/2022; ngày chấp nhận đăng 5/8/2022

## Tóm tắt:

Carbamazepine (CBZ) là thuốc kê đơn phổ biến cho bệnh nhân (BN) bị động kinh. Tuy nhiên, BN sử dụng CBZ thường gặp các tác dụng phụ của thuốc, phổ biến là những triệu chứng dị ứng trên da. *CYP2D6* là một trong những enzym có vai trò quan trọng trong chuyển hoá thuốc nói chung và CBZ nói riêng. Vì thế, đánh giá mức độ biểu hiện của protein và hoạt tính của enzym *CYP2D6* giúp dự đoán khả năng chuyển hoá thuốc CBZ, từ đó cho phép tiên liệu có hay không tác dụng phụ của thuốc. Trong nghiên cứu này, các tác giả đã tiến hành đánh giá mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* trong mẫu máu tổng số của các BN bị động kinh điều trị CBZ bằng phương pháp Real-time PCR và tìm hiểu mối liên quan giữa mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* với mức độ dị ứng của BN. Kết quả cho thấy, mức độ biểu hiện của *CYP2D6* ở nhóm BN dung nạp CBZ cao hơn khoảng 3 lần so với nhóm các BN dị ứng thuốc CBZ. Kết quả này kiến nghị rằng, mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* có thể có ý nghĩa trong việc dự đoán mức độ đáp ứng thuốc CBZ của BN bị động kinh.

**Từ khóa:** bệnh động kinh, Carbamazepine, dị ứng thuốc, mRNA *CYP2D6*, Real-time PCR.

**Chỉ số phân loại:** 3.1

## 1. Đặt vấn đề

CBZ là thuốc được sử dụng phổ biến để điều trị cho các BN bị động kinh. Tuy nhiên, các số liệu nghiên cứu cho thấy có tới 30-50% trường hợp xảy ra dị ứng thuốc, bao gồm các trường hợp dị ứng nặng, dát sần, đỏ da toàn thân do các hội chứng SJS (Stevens johnson), TEN (ban hoại tử thượng bì nhiễm độc), DRESS (hội chứng phát ban do thuốc với tăng bạch cầu ái toan và nhiều triệu chứng toàn thân) [1] và các triệu chứng dị ứng nhẹ (HSS) như: ban đỏ, mẩn ngứa toàn thân [2]. Các nghiên cứu gen dược học sẽ giúp dự đoán được khả năng đáp ứng thuốc hoặc nguy cơ bị các tác dụng phụ không mong muốn khi sử dụng thuốc hoặc là cơ sở để lựa chọn một phác đồ điều trị tốt cho BN [3].

Gen *CYP2D6* mã hóa cho enzym CYP2D6, là một enzym thuộc họ CYP450 (cytochrome P450), có vai trò quan trọng đối với các quá trình chuyển hóa các hợp chất nội sinh và ngoại sinh trong cơ thể. Cụ thể, enzym CYP2D6 tham gia chuyển hóa hơn 25% các loại thuốc đang lưu hành, trong đó có CBZ [4-6]. Đa hình của gen, hoạt độ và mức độ biểu hiện của enzym này được chỉ ra là có liên quan đến khả năng chuyển hoá thuốc CBZ ở BN bị động kinh [3, 7, 8]. Gen *CYP2D6* có nhiều đa hình và biến thể nhất trong số các gen của *CYP450*. Các đa hình của *CYP2D6* có thể làm thay đổi hoạt tính xúc tác của enzym CYP2D6, dẫn đến hiệu

quả đáp ứng hoặc tác dụng phụ của thuốc là khác nhau ở các BN [9]. Điều hoà biểu hiện gen của *CYP2D6* được cho là do các cơ chế điều hòa trước dịch mã là chủ yếu, vì thế định lượng mRNA của *CYP2D6* có thể phản ánh được mức hoạt động của enzym [7, 10]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá mức độ biểu hiện của gen mã hóa cho *CYP2D6* ở các BN bị động kinh điều trị với thuốc CBZ bằng Real-time PCR và tìm hiểu mối liên quan giữa mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* với mức độ dị ứng của BN.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

Các mẫu của 70 BN bị động kinh đang điều trị bằng thuốc CBZ được cung cấp bởi Bệnh viện Bạch Mai và Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh từ tháng 7/2020 đến tháng 7/2021. Các BN có độ tuổi dao động từ 4 đến 77 tuổi, có 38 BN nam và 32 BN nữ. Các BN được lựa chọn dựa trên tiêu chí: i) Được khám và chẩn đoán có bệnh lý động kinh; ii) Có chỉ định điều trị CBZ; iii) Đã sử dụng thuốc CBZ dưới 3 tháng và có biểu hiện dị ứng (BN dị ứng) hoặc trên 3 tháng và không có biểu hiện dị ứng (BN dung nạp); iv) Hiện tại không dùng các thuốc có nguy cơ dị ứng cao. Trong số 70 BN, có 32 BN dung nạp thuốc; 38 BN dị ứng thuốc (5 BN có mức độ dị ứng nặng với các triệu chứng SJS hoặc TEN và 33 BN

\*Tác giả liên hệ: Email: loannguyen@hus.edu.vn

# CYP2D6 expression in the whole blood of epileptic patients in treatment with Carbamazepine

Thi Hong Loan Nguyen<sup>1,2\*</sup>, Thanh Tam Le<sup>1</sup>,  
Phuong Thuy Le<sup>1</sup>, Thi Hong Nhung Le<sup>1,2</sup>, Van Son Chu<sup>1</sup>,  
Van Lieu Nguyen<sup>3,4</sup>, Doan Thuy Nguyen<sup>3,4</sup>,  
Thi Van Anh Nguyen<sup>1</sup>, Dinh Thang Nguyen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology, University of Natural Sciences, Vietnam National University - Hanoi,  
334 Nguyen Trai, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam.

<sup>2</sup>Department of Biology, University of Natural Sciences, Vietnam National University - Hanoi,  
334 Nguyen Trai, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam.

<sup>3</sup>Hanoi Medical University, 1 Ton That Tung, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam.

<sup>4</sup>Tam Anh General Hospital, 108 Hoang Nhu Tiep Street, Bo De Ward, Long Bien District, Hanoi, Vietnam.

Received 15 July 2022; revised 30 July 2022; accepted 5 August 2022

## Abstract:

Carbamazepine (CBZ) is a commonly prescribed drug for patients with epilepsy. However, after administration of CBZ, many patients experience cutaneous adverse drug reactions (CADRs), the most common allergic skin symptoms. CYP2D6 enzyme is one of the enzymes that play an important role in drug metabolism in general and CBZ in particular. Therefore, analysis of gene expression and enzyme activity of CYP2D6 will help predict the magnitude of CBZ metabolism of the patients, allowing them to forecast CADRs. In this study, the authors evaluated the mRNA expression of CYP2D6 in CBZ-treated epilepsy patients using a Real-time PCR method, and then investigated the relationship of CYP2D6 expression levels between mild and severe CADR harbouring groups. The results showed that the expression level of CYP2D6 in the CBZ-tolerant group was about 3 times higher than that in the CBZ-allergic group. These results suggested that the gene expression level of CYP2D6 could be a useful biomarker for predicting CBZ response in patients with epilepsy.

**Keywords:** Carbamazepine, CYP2D6-mRNA, drug allergy, epilepsy, Real-time PCR.

**Classification number:** 3.1

có mức độ dị ứng nhẹ với triệu chứng HSS). Nghiên cứu được phê duyệt bởi Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Trường Đại học Y Hà Nội (mã số 118/GCN-HĐĐNCYSH-ĐHYHN ngày 8/7/2020).

Các hoá chất sử dụng chính bao gồm: kit tách chiết RNA Easy spin total RNA extraction (Intron, Hàn Quốc); Master mix cho phản ứng Real-time PCR TOPreal™ qPCR 2X PreMix (SYBR Green with low ROX, UDG plus), mỗi random hexamer, enzym phiên mã ngược MMLV reverse transcriptase được mua từ Hãng Enzynomic (Hàn Quốc);

các môi cho phản ứng Real-time PCR (Công ty Cổ phần Phù Sa, Việt Nam).

## 2.2. Tách chiết RNA tổng số

RNA tổng số được tách chiết từ mẫu máu tổng số của BN, sử dụng bộ kit Easy spin total RNA extraction (Intron, Hàn Quốc) theo hướng dẫn của Hãng. Nồng độ và chất lượng của RNA được kiểm tra bằng máy Nanodrop ND2000 (ThermoFisher Scientific, Mỹ).

## 2.3. Tổng hợp cDNA từ RNA

cDNA được tổng hợp từ RNA bằng enzym phiên mã ngược theo các bước sau: 200 ng RNA tổng số được bổ sung 1 µl mỗi random hexamer (100 pmol); hỗn hợp được ủ ở 70°C trong 5 phút trước khi làm lạnh trên đá trong 10 phút. Tiếp theo, các thành phần khác của phản ứng được thêm vào theo thứ tự sau: 4 µl đệm phản ứng 10X, 4 µl dNTPs 2 mM, 1 µl phiên mã ngược 20 U/µl, dung dịch H<sub>2</sub>O được thêm vào hỗn hợp cho đủ thể tích 40 µl. Hỗn hợp được trộn đều và ủ ở 25°C trong 10 phút, tiếp theo là 42°C trong 60 phút và cuối cùng ở 95°C trong 5 phút. cDNA tổng hợp được bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng.

## 2.4. Đánh giá mức độ biểu hiện của CYP2D6 bằng kỹ thuật Real-time PCR

Nhân bản gen mã hoá CYP2D6 và gen nội chuẩn  $\beta$ -2-microglobulin (M2B) được thực hiện bằng phản ứng Real-time PCR sử dụng Master mix qPCR 2X Premix (UDG plus) có sẵn chất nhuộm huỳnh quang SYBR Green I và enzym Uracil DNA glycosylase (UDG) nhằm hạn chế hiện tượng dương tính giả do nhiễm khuôn. Cặp mồi CY2D6-Fw: 5'-TAGTGGTGGCTGACCTGTTCTCT-3' và CY2D6-Rv: 5'-TCGTCGATCTCCTGTTGGACA-3' cho nhân bản đoạn gen kích thước 121 bp trên CYP2D6 (NC\_000022.11); cặp mồi M2B-Fw: 5'-ATGAGTATGCCTGCCGTGTGA-3' và M2B-Rv: 5'-GGCATCTTCAAACCTCCATG-3' cho nhân bản đoạn gen kích thước 101 bp trên M2B (XM\_007650). Các thành phần của phản ứng sau khi trộn đều được đặt vào hệ thống iQ™5 Real-time PCR (Biorad, Mỹ) với chu trình nhiệt như sau: (1) 50°C trong 8 phút để enzym UDG loại bỏ các gốc uracyl trong sản phẩm PCR (nếu bị lẫn vào khuôn); (2) 95°C trong 10 phút để bắt hoạt enzym UDG và biến tính bước đầu DNA; tiếp theo là 40 chu kỳ gồm 3 bước phản ứng: biến tính DNA ở 95°C trong 10 giây; gắn mồi ở nhiệt độ 56-60°C trong 15 giây; kéo dài ở 72°C trong 20 giây. Để đánh giá tính đặc hiệu của sản phẩm PCR, phản ứng sau đó sẽ được chạy chương trình phân tích nhiệt độ chảy (melt curve) gồm 47 bước đưa nhiệt độ từ 72 lên 95°C, mỗi bước tăng 0,5°C và giữ trong 30 giây. Kết quả Real-time PCR được phân tích bằng phần mềm iQ5 (Bio - Rad, Mỹ) và được điện di gel polyacrylamide 15%.



Mức độ biểu hiện của *CYP2D6* được tính theo công thức  $2^{-\Delta C_t}$  [11, 12], trong đó  $C_t$  là giá trị chu kỳ ngưỡng, cụ thể:  $\Delta C_t$  (mẫu dị ứng) =  $C_t$  (gen đích, mẫu dị ứng) -  $C_t$  (gen nội chuẩn, mẫu dị ứng);  $\Delta C_t$  (mẫu dung nạp) =  $C_t$  (gen đích, mẫu dung nạp) -  $C_t$  (gen nội chuẩn, mẫu dung nạp).

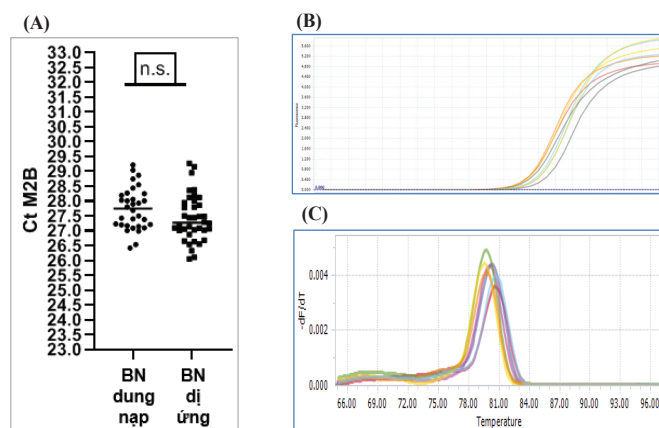
### 2.5. Các phương pháp thống kê

Tính ổn định của các dữ liệu thống kê  $C_t$  của gen nội chuẩn được đánh giá theo kiểm định Mann-Whitney [13]. Đối với tập dữ liệu không tuân theo phân phối chuẩn, kiểm định Mann-Whitney được áp dụng để đánh giá sự khác biệt về mức độ biểu hiện gen tương đối giữa nhóm BN dị ứng thuốc so với nhóm BN dung nạp thuốc. Nếu giá trị  $p < 0,05$  được coi là có ý nghĩa thống kê. Phân tích thống kê sử dụng Graphpad Prism 8.0.

## 3. Kết quả

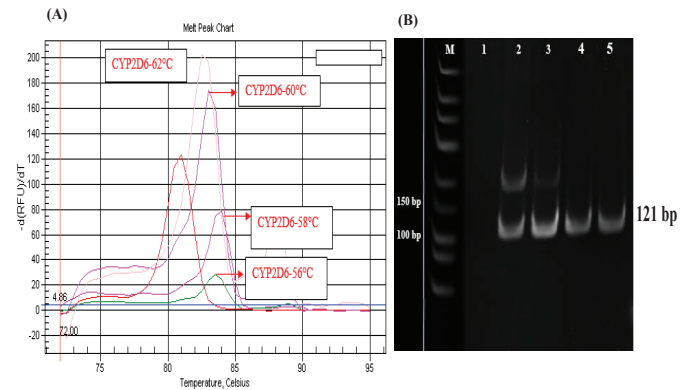
### 3.1. Đánh giá mức độ ổn định của gen nội chuẩn *M2B*

Trong nghiên cứu này, gen *M2B* đã được nhân bản và đánh giá mức độ biểu hiện trong các mẫu nghiên cứu. Kết quả cho thấy,  $C_t$  của gen *M2B* ở tất cả các mẫu đều tương tự nhau ( $C_t$  chủ yếu tập trung trong khoảng 27-28), sự khác biệt giá trị  $C_t$  của nhóm dung nạp và dị ứng thuốc CBZ là không đáng kể (hình 1A); đồ thị khuếch đại gen ở các mẫu BN rất ổn định và tương đối chồng khớp lên nhau (hình 1B); nhiệt độ nóng chảy chỉ có một đỉnh đặc hiệu khoảng 81,5°C (hình 1C). Kết quả phân tích thống kê cũng cho thấy, giá trị  $p = 0,0626 > 0,05$ , giả thuyết  $H_0$  với giá trị chu kỳ ngưỡng của *M2B* ở 2 nhóm BN không có sự khác biệt đáng kể đã được chấp nhận. Như vậy, *M2B* có mức độ biểu hiện không khác biệt giữa các mẫu và phù hợp là gen nội chuẩn trong nghiên cứu này.



**Hình 1. Phân tích kết quả Real-time PCR gen *M2B* của các mẫu BN.** (A) Đồ thị phân bố giá trị  $C_t$ ; ns: non-significant (khác biệt không đáng kể), tương đương với  $p > 0,05$ . Kiểm định Mann-Whitney trên phần mềm Graphpad Prism 8.0 đã được sử dụng để đánh giá sự ổn định của gen *M2B*; (B) Đồ thị khuếch đại gen; (C) Biểu đồ đỉnh nhiệt độ tách chuỗi.

### 3.2. Nhân bản gen mã hóa *CYP2D6* trong máu của BN động kinh bằng Real-time PCR

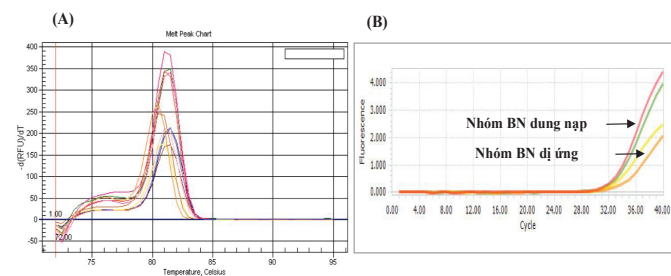


**Hình 2. Kết quả Real-time PCR nhân bản gen *CYP2D6* tại các nhiệt độ khác nhau.** (A) Biểu đồ đỉnh nhiệt độ tách chuỗi; (B) Ảnh điện di sản phẩm PCR. M: thang chuẩn DNA; 1: đối chứng âm; 2-5: nhiệt độ gắn mỗi tương ứng 56, 58, 60 và 62°C.

Gen mã hóa cho *CYP2D6* đã được nhân bản bằng Real-time PCR với các nhiệt độ gắn mỗi khác nhau (56-62°C). Kết quả chu kỳ ngưỡng dao động ở 13-30 với biểu đồ đỉnh nhiệt độ nóng chảy có chiều cao khác nhau (hình 2A). Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel polyacrylamide 15% (hình 2B) cho thấy có băng DNA kích thước khoảng 121 bp (theo tính toán lý thuyết là của *CYP2D6*) và đặc hiệu nhất tại nhiệt độ 60 và 62°C. Tổng hợp các kết quả, đoạn gen 121 bp mã hóa cho *CYP2D6* đã nhân bản được từ máu của BN động kinh và nhiệt độ 60°C được lựa chọn trong các nghiên cứu tiếp theo.

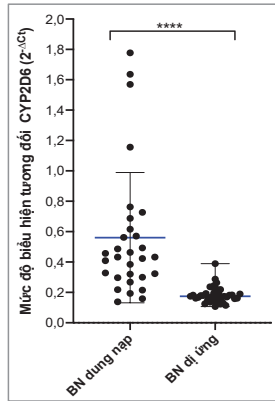
### 3.3. Đánh giá mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* trong mẫu máu của BN bằng Real-time PCR

Tiếp theo, phản ứng Real-time PCR của gen *CYP2D6* được tiến hành trên 70 mẫu BN. Kết quả biểu đồ đỉnh nhiệt độ tách chuỗi của gen *CYP2D6* (hình 3A) đều cho 1 đỉnh đặc hiệu duy nhất với  $T_m$  khoảng 81,5°C. Phân tích đồ thị khuếch đại gen *CYP2D6* (hình 3B) cho thấy, đường khuếch đại của nhóm BN dung nạp thuốc so với nhóm BN dị ứng thuốc có sự phân hóa rõ rệt. Cụ thể, tín hiệu huỳnh quang thu được ở nhóm BN dung nạp thuốc đến sớm hơn nhóm BN dị ứng thuốc. Bước đầu có thể khẳng định bằng thực nghiệm, mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* ở các BN dung nạp CBZ cao hơn các BN dị ứng CBZ.



**Hình 3. Hình ảnh phân tích kết quả Real-time PCR của gen *CYP2D6* ở các mẫu BN.** (A) Biểu đồ đỉnh nhiệt độ tách chuỗi; (B) Đồ thị khuếch đại gen.

Kết quả phân tích thống kê cho thấy, sự biểu hiện của gen *CYP2D6* giữa 2 nhóm BN dung nạp và dị ứng thuốc CBZ có sự khác biệt đáng kể và có ý nghĩa thống kê ( $p=0,0001$ ) (hình 4). Giá trị  $2^{-\Delta Ct}$  (mẫu dung nạp)/ $2^{-\Delta Ct}$  (mẫu dị ứng) cho thấy, mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* ở nhóm BN dung nạp CBZ cao hơn khoảng 3 lần so với nhóm BN dị ứng thuốc CBZ.



**Hình 4. Mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* ở nhóm BN dung nạp và dị ứng thuốc CBZ.** Phân tích thống kê sử dụng kiểm định Mann-Whitney; \*\*\*\*:  $p<0,0001$ .

#### 4. Bàn luận

Các gen giữ nhà như *GAPDH*,  $\beta$ -actin, *M2B* và *HPRT1* thường được sử dụng làm gen nội chuẩn trong các nghiên cứu đánh giá mức độ biểu hiện của gen quan tâm bằng Real-time PCR. Tuy nhiên, những công bố gần đây cho thấy, mức độ biểu hiện của gen giữ nhà rất khác nhau giữa các tế bào và điều kiện thí nghiệm khác nhau [14]. Trong nghiên cứu này, *M2B* đã được nhân bản bằng Real-time PCR để đánh giá mức độ biểu hiện trong các mẫu nghiên cứu. Kết quả thực nghiệm và thống kê đều cho thấy *M2B* là phù hợp làm gen nội chuẩn.

Gen *CYP2D6* cũng như các CYP450 khác biểu hiện nhiều ở trong gan, đây cũng là lý do tại sao các nghiên cứu trước đây thường tiến hành với *CYP2D6* của gan [3, 7, 10]. Cho đến nay, các nghiên cứu về chuyển hóa thuốc của *CYP2D6* chủ yếu về đa hình di truyền; hơn 100 biến thể của *CYP2D6* đã được công bố với một số biến thể quan trọng nhất có thể kể đến là *CYP2D6*\*1, \*2, \*3, \*4, \*5, \*6. Các đa hình của *CYP2D6* có thể ảnh hưởng lên chức năng/hoạt tính của enzym; làm mất, làm giảm, không ảnh hưởng hoặc tăng cường hoạt tính của *CYP2D6* [7, 9, 10, 15]. Nghiên cứu của chúng tôi lần đầu tiên xác định mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* trong máu của BN. Kết quả cho thấy, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của chu kỳ ngưỡng trong kết quả Real-time PCR của các BN dung nạp so với nhóm BN dị ứng thuốc CBZ. Mức độ biểu hiện của mRNA *CYP2D6* của các BN dung nạp thuốc CBZ cao hơn 3 lần so với BN dị ứng thuốc CBZ. C. Rodríguez-Antona và cs (2001) [10] đã nghiên cứu mối liên quan giữa mức độ biểu hiện

của các mRNA của *CYP450* (*CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP3A4*, *CYP2D6* và *CYP2B6*) trong gan của người với độ hoạt động của các enzym CYP450 và cho thấy sự biểu hiện của các mRNA này có thể cho phép để định lượng tốt hoạt tính enzym của chúng. M. Ning và cs (2018) [7] đã đánh giá chỉ số hoạt động (AS - activity score) dựa trên kiểu gen của *CYP2D6* trong gan để xác định hoạt tính của enzym *CYP2D6*, mức độ biểu hiện của protein *CYP2D6* bằng thẩm tách miễn dịch và mức độ biểu hiện của mRNA *CYP2D6* bằng Real-time PCR. Kết quả đã cho thấy giá trị AS của *CYP2D6* là một chỉ số dự đoán tốt việc chuyển hóa thuốc kém; hoạt tính của enzym *CYP2D6* có mối tương quan cao với mức độ biểu hiện của protein *CYP2D6* và tương quan thấp hơn với mức độ biểu hiện của mRNA. Sự khác biệt đáng kể giữa mức độ biểu hiện gen mã hóa *CYP2D6* trong máu của BN dung nạp và dị ứng thuốc CBZ trong nghiên cứu này có thể sẽ có ý nghĩa trong dược lý học lâm sàng, làm tiền đề dự đoán mức độ đáp ứng thuốc CBZ của từng BN, giúp hạn chế xảy ra các phản ứng dị ứng không mong muốn khi sử dụng thuốc. Các nghiên cứu tiếp theo trên số lượng BN lớn hơn là cần thiết để làm rõ hơn kết quả này.

Trong các trường hợp BN bị động kinh điều trị bằng CBZ, các alen HLA-B\*15:02 và HLA-A\*31:01 đã được biết đến như các dấu chuẩn sinh học, có liên quan chặt chẽ với các phản ứng nặng SJS/TEN, DRESS [1, 16, 17]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào về đa hình của HLA hay hoạt tính của *CYP2D6* trên đối tượng các BN dị ứng nhẹ với CBZ. Trong nghiên cứu này, các BN dị ứng CBZ chủ yếu là các trường hợp dị ứng nhẹ (33/38 BN dị ứng với CBZ). Kết quả phân tích đa hình HLA-A/B của 70 BN này cũng cho thấy, HLA-B\*15:02 và HLA-A\*31:01 chỉ xuất hiện tương ứng 53 và 3,3% trong số các BN dị ứng CBZ (kết quả không được trình bày ở đây). Vì vậy, các nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra các dấu chuẩn sinh học tiềm năng cho dự đoán tác dụng phụ của thuốc là cần thiết.

#### 5. Kết luận

*M2B* là gen nội chuẩn phù hợp để đánh giá mức độ biểu hiện của *CYP2D6* trong máu BN bị động kinh điều trị bằng thuốc CBZ. Mức độ biểu hiện của gen mã hóa *CYP2D6* trong máu BN bị động kinh dung nạp và dị ứng thuốc CBZ đã được đánh giá thông qua mRNA bằng Real-time PCR. Gen *CYP2D6* ở nhóm BN dung nạp CBZ có mức độ biểu hiện cao hơn khoảng 3 lần so với nhóm các BN dị ứng thuốc CBZ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, đánh giá mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* có ý nghĩa trong dự đoán mức độ đáp ứng thuốc CBZ của BN bị động kinh.

#### LỜI CẢM ƠN

Công trình nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài cấp quốc gia có mã số ĐTĐL.CN-63/19. Các tác giả trân trọng cảm ơn sự tài trợ của Bộ Khoa học và Công nghệ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.V. Nguyen, H.C. Chu, D.V. Nguyen, et al. (2015), "HLA-B\*1502 and carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug reactions in Vietnamese", *Asia Pac. Allergy*, **5**(2), pp.68-77, DOI: 10.5415/apallergy.2015.5.2.68.
- [2] C.Y. Wei, T.M. Ko, C.Y. Shen, et al. (2012), "A recent update of pharmacogenomics in drug- induced severe skin reactions", *Drug. Metab. Pharmacokinet*, **27**(1), pp.132-141, DOI: 10.2133/dmpk.dmpk-11-rv-116.
- [3] A. Puangpetch, N. Vanwong, N. Nuntamool, et al. (2016), "CYP2D6 polymorphisms and their influence on risperidone treatment", *Pharmacogenomics Pers. Med.*, **9**, pp.131-147, DOI: 10.2147/PGPM.S107772.
- [4] E.U. Griesse, U.M. Zanger, U. Brudermanns, et al. (1998), "Assessment of the predictive power of genotypes for the *in-vivo* catalytic function of CYP2D6 in a German population", *Pharmacogenetics*, **8**(1), pp.15-26, DOI: 10.1097/00008571-199802000-00003.
- [5] R.S. Fisher, C. Acevedo, A. Arzimanoglou, et al. (2014), "ILAE official report: A practical clinical definition of epilepsy", *Epilepsia*, **55**(4), pp.475-482, DOI: 10.1111/epi.12550.
- [6] M.A. Lopez-Garcia, I.A.F. Romero, H.F. Serrano, et al. (2014), "Genetic polymorphisms associated with antiepileptic metabolism", *Frontiers in Bioscience*, **6**(2), pp.377-386, DOI: 10.2741/E713.
- [7] M. Ning, J.D. Duarte, L.H. Rubin, et al. (2018), "CYP2D6 protein level is the major contributor to inter-individual variability in CYP2D6-mediated drug metabolism in healthy human liver tissue", *Clin. Pharmacol. Ther.*, **104**(5), pp.974-982, DOI: 10.1002/cpt.1032.
- [8] H.H. Nguyen, T.T.H. Ma, N.P. Vu, et al. (2019), "Single nucleotide and structural variants of *CYP2D6* gene in Kinh Vietnamese population", *Medicine*, **98**(22), DOI: 10.1097/Md.00000000000015891.
- [9] H.H. Sheng, A.P. Zeng, W.X. Zhu, et al. (2007), "Allelic distributions of *CYP2D6* gene copy number variation in the Eastern Han Chinese population", *Acta Pharmacol. Sin.*, **28**(2), pp.279-286, DOI: 10.1111/j.1745-7254.2007.00479.x.
- [10] C. Rodríguez-Antona, M.T. Donato, E. Pareja, et al. (2001), "Cytochrome P450 mRNA expression in human liver and its relationship with enzyme activity", *Arch. Biochem. Biophys.*, **393**(2), pp.308-15, DOI: 10.1006/abbi.2001.2499.
- [11] D.V. Nguyen, H.C. Chu, C. Vidal, et al. (2020), "Gene expression profiling in allopurinol- induced severe cutaneous adverse reactions in Vietnamese", *Pharmacogenomics*, **21**(14), pp.985-994, DOI: 10.2217/pgs-2020-0014.
- [12] K.J. Livak, T.D. Schmittgen (2001), "Analysis of relative gene expression data using Real-time quantitative PCR and the 2-DDCT method", *Methods*, **25**(4), pp.402-408, DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
- [13] L. Niu, W. Guo, X. Song, et al. (2021), "Tumor - educated leukocytes mRNA as a diagnostic biomarker for non-small cell lung cancer", *Thoracic Cancer*, **12**(6), pp.737-745, DOI: 10.1111/1759-7714.13833.
- [14] X.J. Xiao, X. Li, J. Liu, et al. (2017), "Identification of reference genes in blood before and after entering the plateau for SYBR green RT-qPCR studies", *Peer J.*, **5**, DOI: 10.7717/peerj.3726.
- [15] A.T. Alvarado, R.Y. Julca, A.M. Muñoz, et al. (2021), "Frequency of CYP2D6\*3 and \*4 and metabolizer phenotypes in three mestizo Peruvian populations", *Pharmacia*, **68**(4), pp.891-898, DOI:10.3897/pharmacia.68.e75165.
- [16] C.C. Chang, C.L. Too, S. Murad, et al. (2011), "Association of HLA-B\*1502 allele with carbamazepine-induced toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome in the multi-ethnic Malaysian population", *Int.J. Dermatol.*, **50**(2), pp.221-224, DOI: 10.1111/j.1365-4632.2010.04745.x.
- [17] W.L. Fan, M.S. Shiao, R.C.Y. Hui, et al. (2017), "HLA association with drug-induced adverse reactions", *J. Immunol Res.*, DOI: 10.1155/2017/3186328.



# Mô tả cơ cấu bệnh, kết quả điều trị và một số yếu tố liên quan của người bệnh tại Khoa Nội thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 trong giai đoạn 2017-2021

Lê Thị Quế\*, Nguyễn Thanh Tùng, Đào Thị Thúy Ngọc, Nguyễn Bích Phượng, Phan Khánh Ly, Nguyễn Thị Kim Ngọc

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, 1 phố Trần Hưng Đạo, phường Bạch Đằng, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 12/9/2022; ngày chuyển phản biện 16/9/2022; ngày nhận phản biện 14/10/2022; ngày chấp nhận đăng 19/10/2022

## **Tóm tắt:**

Nghiên cứu được thực hiện nhằm mô tả cơ cấu bệnh, kết quả điều trị và một số yếu tố liên quan của người bệnh (NB) tại Khoa Nội thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 trong giai đoạn 2017-2021. Nghiên cứu sử dụng phương pháp mô tả cắt ngang trên 9.401 NB. Kết quả cho thấy, tỷ lệ NB vào điều trị được phân ở 3 nhóm tuổi, trong đó 2 nhóm tuổi có tỷ lệ cao là 16-59 và >60 tuổi. Tuy nhiên, tập trung chủ yếu ở nhóm >60 tuổi, với tỷ lệ lần lượt các năm từ 2017 đến 2021 đều >50. Tỷ lệ mắc bệnh ở nam giới qua các năm đều cao hơn nữ giới và chiếm >50%. Tỷ lệ người điều trị sử dụng thẻ bảo hiểm y tế có xu hướng tăng dần qua các năm (đều >90%), đặc biệt trong năm 2020 đạt tới 96,61%. Tỷ lệ NB thuộc nhóm có chỉ định điều trị nội khoa chiếm chủ yếu (>95%). Ngày điều trị trung bình ở nhóm >10 ngày có xu hướng giảm qua các năm. Tỷ lệ NB vào Bệnh viện điều trị chủ yếu ở nhóm tuổi trên 60. Tỷ lệ khỏi, đỡ giảm khi có chỉ định ra viện trong 5 năm này đều đạt >97% và tỷ lệ tử vong ≤0,5%.

**Từ khóa:** Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Khoa Nội thần kinh, mô hình bệnh tật, tình hình điều trị, Viện Thần kinh.

**Chỉ số phân loại:** 3.2

## **1. Đặt vấn đề**

Khoa Nội thần kinh thuộc Viện Thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 là cơ sở đào tạo tiến sĩ chuyên ngành thần kinh và các lớp bác sĩ chuyên khoa 1 và 2 của Bệnh viện với biên chế 56 giường bệnh (khả năng giường bệnh có thể thu dung là 75 giường). Khoa đang triển khai thực hiện có hiệu quả các kỹ thuật chuyên khoa như: chụp đĩa đệm cản quang, đo điện thần kinh, can thiệp chọc cắt đĩa đệm qua da trong điều trị cột sống thắt lưng, bấm nắn kéo giãn cột sống cổ và cột sống thắt lưng, phong bế để điều trị các bệnh lý cột sống... Đặc biệt gần đây, Khoa rất chú ý ứng dụng các kỹ thuật gen trong chẩn đoán Parkinson, biến đổi vi phân tử trong các bệnh tự miễn não tủy... [1]. Ngay từ những ngày đầu thành lập, đội ngũ bác sĩ và điều dưỡng trong Khoa đã luôn hoàn thành tốt nhiệm vụ khám chữa bệnh và chăm sóc sức khỏe cho bộ đội và nhân dân, đáp ứng được những yêu cầu ngày càng cao của ngành y tế.

Việc xác định thực trạng cơ cấu bệnh, kết quả điều trị và một số yếu tố liên quan của NB là cơ sở giúp định hướng và xây dựng kế hoạch phát triển của Khoa trong giai đoạn bệnh viện tự chủ hiện nay. Các tác giả thực hiện nghiên cứu với mục tiêu: mô tả cơ cấu bệnh, kết quả điều trị và một số yếu tố liên quan của NB tại Khoa Nội thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 trong giai đoạn 2017-2021.

\*Tác giả liên hệ: Email: quelethi108@gmail.com

## **2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu**

### **2.1. Đối tượng**

**Tiêu chuẩn lựa chọn:** NB mắc bệnh lý thuộc chuyên ngành nội thần kinh điều trị nội trú, bao gồm các trường hợp có và không can thiệp phẫu thuật tại Khoa Nội thần kinh thuộc Viện Thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 có mã ICD-10 trong 5 năm từ 2017 đến 2021.

**Tiêu chuẩn loại trừ:** Các bệnh không thuộc chuyên ngành nội thần kinh, không có chẩn đoán mã bệnh trong ICD-10 và NB tự ý bỏ điều trị [2].

**Phương tiện nghiên cứu:** 100% hồ sơ bệnh án lưu trữ của NB điều trị nội trú tại Khoa trong 5 năm từ 2017 đến 2021 trên hệ thống phần mềm quản lý bệnh viện.

### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

**Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, hồi cứu hồ sơ bệnh án lưu trữ trên hệ thống phần mềm quản lý bệnh viện.

**Phương pháp chọn mẫu và cỡ mẫu:** Áp dụng phương pháp chọn mẫu toàn bộ NB điều trị nội trú tại Khoa Nội thần kinh thuộc Viện Thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 trong 5 năm (2017-2021), đủ tiêu chuẩn vào nghiên cứu trên hệ thống phần mềm quản lý bệnh viện.

**Thời gian:** Tháng 6-7/2022.

# Description of the disease patterns, treatment results and some related factors of patients at the Department of Neurology, Military Central Hospital 108 from 2017 to 2021

Thi Que Le\*, Thanh Tung Nguyen, Thi Thuy Ngoc Dao, Bich Phuong Nguyen, Khanh Ly Phan, Thi Kim Ngoc Nguyen

Central Military Hospital 108,  
1 Tran Hung Dao Street, Bach Dang Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

Received 12 September 2022; revised 14 October 2022; accepted 19 October 2022

## Abstract:

This study aimed to describe the disease patterns, treatment results and some related factors of patients at the Department of Neurology, Central Military Hospital 108 in 05 years from 2017 to 2021. The descriptive cross-sectional method was used to study 9,401 patients. Results showed the rate of patients entering treatment was classified into 3 age groups, in which 2 groups had a high rate of 16-59 and over 60 years old. However, it is mainly in the age group from over 60 years old, whose rates from 2017 to 2021 are >50, respectively. The incidence in men over the years is higher than in women and accounts for over 50%. The percentage of patients using health insurance cards tends to increase gradually over the years, all >90%, especially in 2020, reaching 96.61%. The percentage of patients in the group with indications for internal medicine treatment accounted for the main percentage (>95%). The average treatment day in the group >10 days tended to decrease over the years. The percentage of patients admitted to hospital for treatment is mainly in the age group over 60 years old. The rate of cure and reduction when indicated for hospital discharge in 5 years reached >97% and the mortality rate  $\leq 0.5\%$ .

**Keywords:** Central Military Hospital 108, Department of Neurology, disease model, Institute of Neurology, treatment situation.

**Classification number:** 3.2

**Địa điểm:** Khoa Nội thần kinh thuộc Viện Thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

**Xử lý số liệu:** Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và SPSS 20.0.

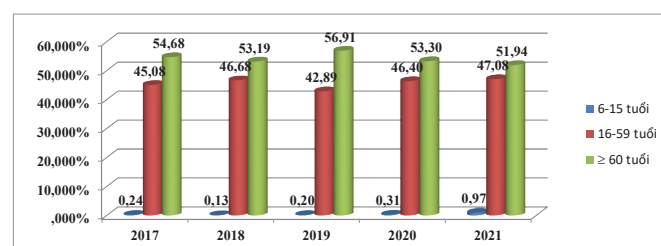
## 2.3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích khoa học và để xuất cải tiến chất lượng. Các số liệu được thu thập trung thực,

tính toán đảm bảo chính xác. Không tiết lộ thông tin NB cho bất cứ tổ chức, cơ quan nào khác.

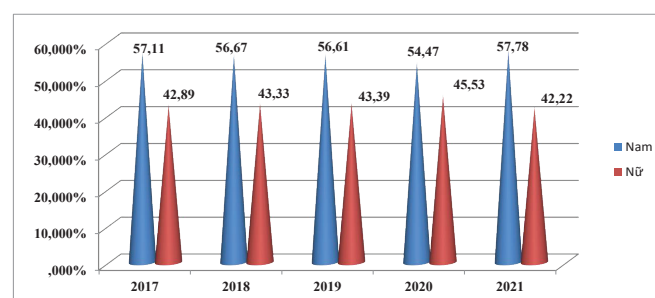
## 3. Kết quả

Kết quả biểu đồ 1 cho thấy, NB vào điều trị được phân thành 3 nhóm tuổi, trong đó 2 nhóm có tỷ lệ cao là 16-59 và >60 tuổi, tập trung chủ yếu ở nhóm >60 tuổi, có tỷ lệ lần lượt các năm từ 2017 đến 2021 đều >50%.



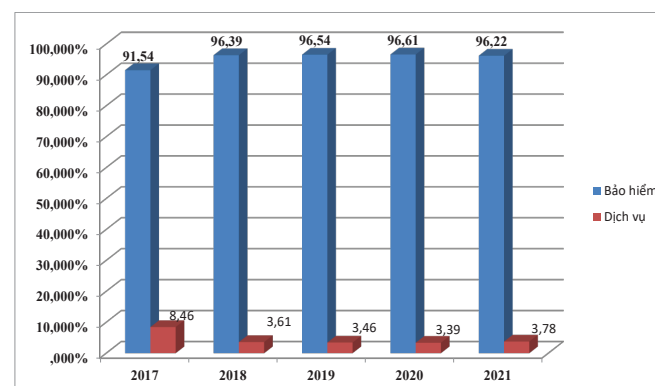
Biểu đồ 1. Nhóm tuổi của NB.

Tỷ lệ mắc bệnh ở nam giới qua các năm đều cao hơn nữ giới và chiếm tỷ lệ >50% (biểu đồ 2).



Biểu đồ 2. Giới tính của NB.

Nhóm NB điều trị sử dụng thẻ bảo hiểm y tế có xu hướng tăng dần qua các năm và đều đạt >90%, đặc biệt trong năm 2020 đạt tới 96,61% (biểu đồ 3).



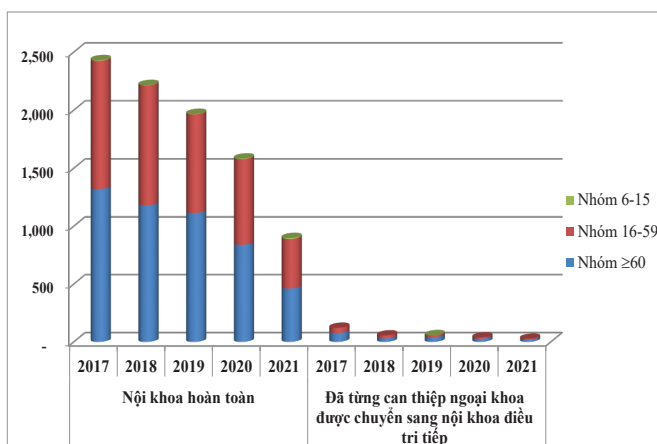
Biểu đồ 3. Hình thức chi trả của NB.

Đặc điểm phân loại chỉ định điều trị của NB giai đoạn 2017-2021 được thể hiện ở bảng 1. Trong 9.401 NB, chỉ định điều trị nội khoa chiếm tỷ lệ chính (>95%), kết quả này phù hợp với đặc điểm của chuyên ngành nội thần kinh.

**Bảng 1. Phân loại chỉ định điều trị của NB.**

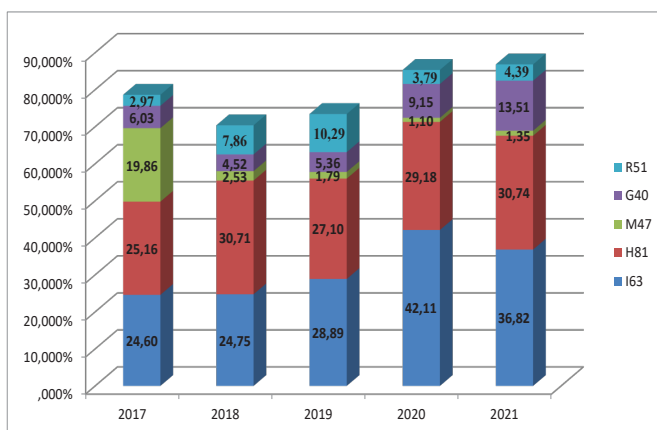
| Đặc điểm   | Năm 2017 |       | 2018  |       | 2019  |       | 2020  |      | 2021 |       |
|------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|-------|
|            | n        | %     | n     | %     | n     | %     | n     | %    | n    | %     |
| Ngoại khoa | 122      | 4,78  | 56    | 2,46  | 58    | 2,86  | 39    | 2,4  | 28   | 3,02  |
| Nội khoa   | 2.431    | 95,22 | 2.217 | 97,54 | 1.968 | 97,14 | 1.584 | 97,6 | 898  | 96,98 |
| Tổng       | 2.553    | 100   | 2.273 | 100   | 2.026 | 100   | 1.623 | 100  | 926  | 100   |

Kết quả biểu đồ 4 cho thấy, NB có độ tuổi 16-59 và >60 có chỉ định điều trị nội khoa hoàn toàn của các năm đều cao hơn so với chỉ định can thiệp ngoại khoa được chuyển sang điều trị nội khoa tiếp tại Khoa Nội thần kinh, Bệnh viện Trung ương quân đội 108.



**Biểu đồ 4. Mối liên quan giữa tuổi với chỉ định điều trị của NB.**

Trong các bệnh điều trị được mã hóa theo mã ICD-10, có 5 mã bệnh được điều trị nhiều nhất, bao gồm: R51 (đau đầu), G40 (động kinh), M47 (thoái hóa cột sống), H81 (rối loạn chức năng tiền đình), I63 (nhồi máu não) (biểu đồ 5). Trong đó, tổng số NB mắc cao nhất là mã I63 (nhồi máu não) với 37,83% và H81 (rối loạn chức năng tiền đình) với 36,48%.



**Biểu đồ 5. Tỷ lệ 5 bệnh thường gặp nhất theo mã ICD-10.**

Trung bình nhóm NB có ngày điều trị >10 ngày có xu hướng giảm qua các năm, với tỷ lệ lần lượt là 74,17, 68,56, 63,52, 69,13 và 69,04% (bảng 2).

**Bảng 2. Thời gian điều trị.**

| Thời gian nằm viện (ngày) | 2017  | 2018  | 2019  | 2020  | 2021  |
|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1-5                       | 5,26  | 5,14  | 6,60  | 4,99  | 6,46  |
| 6-10                      | 20,57 | 26,30 | 29,88 | 25,88 | 24,50 |
| >10                       | 74,17 | 68,56 | 63,52 | 69,13 | 69,04 |

Kết quả bảng 3 cho thấy, tỷ lệ khỏi, đỡ giảm khi có chỉ định ra viện trong 5 năm từ 2017 đến 2021 đều đạt >97%. Cụ thể lần lượt đạt: 98,24, 97,98, 97,44, 98,7 và 97,73%, tỷ lệ từ vong đều ≤0,5%.

**Bảng 3. Kết quả điều trị.**

| Kết quả        | Năm 2017 |       | 2018  |       | 2019  |       | 2020  |       | 2021 |      |
|----------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|
|                | n        | %     | n     | %     | n     | %     | n     | %     | n    | %    |
| Khỏi           | 4        | 0,16  | 7     | 0,31  | 7     | 0,35  | 2     | 0,12  | 1    | 0,1  |
| Đỡ giảm        | 2.504    | 98,08 | 2.220 | 97,67 | 1.967 | 97,09 | 1.600 | 98,58 | 904  | 97,6 |
| Không thay đổi | 28       | 1,09  | 37    | 1,63  | 36    | 1,78  | 20    | 1,23  | 13   | 1,4  |
| Nặng hơn       | 0        | 0     | 0     | 0     | 3     | 0,15  | 0     | 0%    | 2    | 0,2  |
| Từ vong        | 0        | 0     | 3     | 0,13  | 2     | 0,09  | 1     | 0,06  | 5    | 0,5  |
| Xin về         | 17       | 0,67  | 6     | 0,26  | 11    | 0,54  | 0     | 0     | 1    | 0,1  |
| Tổng           | 2.553    | 100   | 2.273 | 100   | 2.026 | 100   | 1.623 | 100   | 926  | 100  |

## 4. Bàn luận

### 4.1. Đặc điểm chung

Số lượt NB điều trị tại Khoa Nội thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 trong 5 năm từ 2017 đến 2021 là 9.401. NB vào điều trị được phân ở 3 nhóm tuổi, trong đó 2 nhóm có tỷ lệ cao là 16-59 và >60 tuổi, tập trung chủ yếu ở nhóm >60 tuổi, tỷ lệ lần lượt các năm đều >50%. Tỷ lệ mắc bệnh ở nam giới qua các năm đều cao hơn nữ giới và đều chiếm tỷ lệ >50%. Kết quả này tương đồng với một số nghiên cứu trước đây [3-5]. Tỷ lệ NB điều trị nội trú có sử dụng thẻ bảo hiểm y tế có xu hướng tăng dần qua các năm và đạt cao nhất là năm 2020 với 96,61%. Kết quả này cho thấy được mức độ bao phủ của thẻ bảo hiểm y tế tới toàn dân. Đây là một xu hướng trong quá trình thực hiện bảo hiểm y tế, người bệnh và gia đình sẽ được giảm bớt gánh nặng về chi phí, nhất là với các bệnh đòi hỏi chi phí lớn, kéo dài.



#### 4.2. Về tình hình điều trị

Trong 9.401 NB được điều trị tại Khoa Nội thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, nhóm tác giả nhận thấy số NB điều trị nội khoa chiếm tỷ lệ chính và đều đạt >95%. Kết quả này phù hợp với đặc điểm của chuyên ngành nội thần kinh. Tỷ lệ khỏi, đỡ, giảm khi có chỉ định ra viện trong 5 năm đều đạt >97%, lần lượt là 98,24, 97,98, 97,44, 98,7 và 97,73%, tỷ lệ tử vong đều  $\leq 0,5\%$ .

Về thời gian điều trị, nhóm NB tập trung chủ yếu ở nhóm từ 10 ngày trở lên, tuy nhiên có xu hướng giảm qua các năm với tỷ lệ lần lượt là 74,17, 68,56, 63,52, 69,13 và 69,04%. Sự khác biệt ở nhóm ngày điều trị có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3. Về cơ cấu bệnh tật theo ICD-10

Tại Việt Nam, với sự phát triển nhanh chóng của giao thông, công nghiệp hóa và đô thị hóa, môi trường đang phải chịu liên tiếp những tác động tiêu cực. Tất cả đều ảnh hưởng không nhỏ đến sức khỏe và gây ra các hệ lụy trong cuộc sống. Trong các bệnh điều trị được mã hóa theo ICD-10, các tác giả nhận thấy có 5 mã bệnh được điều trị nhiều nhất bao gồm: R51 (đau đầu), G40 (động kinh), M47 (thoái hóa cột sống), H81 (rối loạn chức năng tiền đình) và I63 (nhồi máu não). Trong đó, tổng số NB mắc cao nhất là mã I63 (nhồi máu não) với tỷ lệ là 37,83% và H81 (rối loạn chức năng tiền đình) với tỷ lệ là 36,48%.

#### 4.4. Một số yếu tố liên quan

Trong mối liên quan giữa cơ cấu bệnh của 5 nhóm mắc cao nhất theo ICD-10: R51 (đau đầu), G40 (động kinh), M47 (thoái hóa cột sống), H81 (rối loạn chức năng tiền đình) và I63 (nhồi máu não) thì tỷ lệ mắc bệnh ở nam cao hơn nữ giới. Sự khác biệt có mức ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Trong mối liên quan giữa cơ cấu bệnh của 5 nhóm mắc cao nhất theo ICD-10 và hình thức chi trả viện phí thì ở nhóm bảo hiểm y tế cao hơn nhóm dịch vụ y tế. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

#### 5. Kết luận

Kết quả nghiên cứu 9.401 NB cho thấy, tỷ lệ NB vào điều trị chủ yếu ở nhóm tuổi 16-59 và >60, trong đó tập trung chủ yếu ở nhóm tuổi trên 60. Trong 5 năm, chiếm tỷ lệ cao nhất là nhóm có chỉ định điều trị nội khoa, với bệnh lý hay gặp nhất là nhồi máu não và rối loạn chức năng tiền đình. Thời gian điều trị trung bình ở nhóm >10 ngày có xu hướng giảm qua các năm. Tỷ lệ khỏi, đỡ, giảm khi có chỉ định ra viện trong 5 năm đều đạt >97% và tỷ lệ tử vong đều  $\leq 0,5\%$ .

Từ kết quả nêu trên, chúng tôi khuyến nghị tăng cường giáo dục hỗ trợ tuyến trước dự phòng và điều trị bệnh lý mã I63 (nhồi máu não) và H81 (rối loạn chức năng tiền đình). Đồng thời, tiếp tục nghiên cứu trong khoảng thời gian dài hơn và tìm các mối liên quan khác với các đặc điểm đối tượng nghiên cứu để có hướng tổ chức chuyên khoa và chỉ đạo tuyến về công tác dự phòng bệnh.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] 108 Military Hospital, <https://benhvien108.vn/gioi-thieu-khoa-noi-than-kinh.htm>, accessed 5 May 2020.
- [2] Ministry of Health (2020), *Decision 4400/QĐ-BYT, Dated October 23, 2020 on Promulgating The "International Classification of Diseases and Causes of Death ICD-10" and "Guidelines for Coding Diseases and Causes of Death" Guidance on Disease Coding According to ICD-10" at Medical Examination and Treatment Facilities* (in Vietnamese).
- [3] T.D. Tran (2007), "Situation of limb injuries due to traffic accidents at Viet Duc Hospital from 2000-2004", *Journal of Surgery*, **1**, pp.97-102 (in Vietnamese).
- [4] N. Le (2016), *Research on The Situation of Motor Organ Injuries at The Department of Orthopedics and Traumatology, Dong Nai Hospital 2016*, Specialized thesis I, Can Tho University of Medicine and Pharmacy (in Vietnamese).
- [5] V.X. Nguyen, N. Vu. Ngo, D.H. Vo (2012), "Research on emergency treatment and treatment of traffic accidents in Khanh Hoa", *Vietnam Medical Journal*, **5**, pp.173-180 (in Vietnamese).

# Hiệu quả của một số biện pháp can thiệp chế độ ăn và lối sống đến hội chứng chuyển hóa ở người 25-64 tuổi tại tỉnh Thái Bình

Phạm Thị Vân Anh<sup>1\*</sup>, Lê Đức Cường<sup>2</sup>, Ninh Thị Nhung<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Kiểm soát Bệnh tật Thái Bình, 10 Hoàng Công Chất, phường Quang Trung, thành phố Thái Bình, tỉnh Thái Bình, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Dược Thái Bình, 373 Lý Bôn, thành phố Thái Bình, tỉnh Thái Bình, Việt Nam

Ngày nhận bài 17/10/2022; ngày chuyển phản biện 20/10/2022; ngày nhận phản biện 10/11/2022; ngày chấp nhận đăng 14/11/2022

## Tóm tắt:

Nghiên cứu nhằm đánh giá hiệu quả của một số biện pháp can thiệp đến hội chứng chuyển hóa (HCCH) trên 184 người từ 25 đến 64 tuổi tại 4 xã của tỉnh Thái Bình từ tháng 8/2020-1/2021. Kết quả sau can thiệp bằng truyền thông, chế độ ăn, tập luyện thể dục cho thấy, tỷ lệ mắc HCCH ở nhóm can thiệp giảm từ 100 xuống 63,7%, hiệu quả can thiệp đạt 13,7%, trung bình số yếu tố của HCCH giảm  $0,63 \pm 0,10$ . Giá trị trung bình các chỉ số máu sau can thiệp cho thấy, trung bình glucose máu giảm  $0,36 \pm 0,17$  mmol/l, HDL-C máu tăng  $0,126 \pm 0,047$  mmol/l, triglycerid máu giảm  $0,25 \pm 0,12$  mmol/l. Can thiệp có hiệu quả giảm tỷ lệ mắc HCCH và giảm các yếu tố thành phần HCCH.

**Từ khóa:** hiệu quả can thiệp, hội chứng chuyển hóa, Thái Bình, 25-64 tuổi.

**Chỉ số phân loại:** 3.2

## 1. Đặt vấn đề

HCCH là một trong những vấn đề sức khỏe cộng đồng được quan tâm nhất hiện nay. Hội chứng này là một tổ hợp các yếu tố gồm tăng glucose máu, tăng huyết áp, rối loạn mỡ máu (tăng triglycerid, giảm HDL-C) và béo phì trung tâm (béo bụng). HCCH không chỉ gia tăng ở các thành phố lớn, mà các tỉnh khu vực Đồng bằng sông Hồng như Thái Bình cũng có tỷ lệ mắc HCCH ngày càng gia tăng. Nghiên cứu trên 1.854 đối tượng ở vùng nông thôn huyện Vũ Thư độ tuổi 30-75 năm 2013 cho thấy, tỷ lệ mắc HCCH chung là 12,6% [1]. Năm 2018 tỷ lệ mắc HCCH của người bệnh điều trị nội trú tại Khoa Nội, Bệnh viện Đa khoa Quỳnh Phụ là 40,4% [2].

Các nghiên cứu về can thiệp bằng chế độ ăn, lối sống để cải thiện tình trạng HCCH đã được tiến hành ở nhiều nước trên thế giới, trong đó tập trung tăng cường rau quả, ngũ cốc toàn phần, hạn chế chất béo bão hòa, tăng chất béo không bão hòa, hạn chế muối và đạt cân bằng năng lượng âm tính cho thấy rõ sự cải thiện các yếu tố cấu thành HCCH và giảm tỷ lệ mắc HCCH. Từ đó làm giảm việc tiến triển từ HCCH sang các bệnh mạn tính không liên quan tới dinh dưỡng như tim mạch, đái tháo đường, ung thư [3]. Do đó, việc nghiên cứu hiệu quả của các biện pháp can thiệp chế độ ăn, lối sống nhằm cải thiện HCCH ở người 25-64 tuổi tại tỉnh Thái Bình là rất cần thiết.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

Nghiên cứu được thực hiện ở những người 25-64 tuổi mắc HCCH tại 4 xã thuộc tỉnh Thái Bình: 2 xã can thiệp là Minh Lăng, huyện Vũ Thư và Phong Châu, huyện Đông Hưng; 2 xã đối chứng là Quỳnh Trang, huyện Quỳnh Phụ và Bình Nguyên, huyện Kiến Xương.

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 8/2020 đến tháng 1/2021; thực hiện các biện pháp can thiệp trong 6 tháng, có đánh giá tại các thời điểm:  $M_0$  là thời điểm bắt đầu can thiệp (tháng 8/2020);  $M_6$  là thời điểm kết thúc 6 tháng can thiệp (tháng 1/2021).

### 2.2. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu can thiệp cộng đồng có đối chứng trong thời gian 6 tháng có đánh giá trước, sau can thiệp cho những người 25-64 tuổi được chia làm 2 nhóm: can thiệp và đối chứng. Tại thời điểm trước can thiệp, đối tượng nghiên cứu ở cả 2 nhóm được kiểm tra cân nặng, chiều cao, đo vòng eo, vòng hông, huyết áp, phỏng vấn tìm các yếu tố nguy cơ của HCCH theo bộ câu hỏi STEPS của Tổ chức Y tế Thế giới và làm các xét nghiệm máu như triglycerid huyết thanh, HDL-C, glucose máu lúc đói. Sau đó áp dụng các biện pháp can thiệp trong 6 tháng:

**Nhóm can thiệp:** Là những người 25-64 tuổi đang sống tại xã Minh Lăng, huyện Vũ Thư và xã Phong Châu, huyện Đông Hưng, tỉnh Thái Bình đáp ứng các tiêu chuẩn chọn mẫu, được tư vấn, theo dõi, giám sát thực hiện điều chỉnh chế độ ăn theo thực đơn được xây dựng bởi các chuyên gia, truyền thông thay đổi lối sống, hướng dẫn chế độ tập luyện trong 6 tháng.

**Nhóm đối chứng:** Là những người 25-64 tuổi đang sống tại xã Quỳnh Trang, huyện Quỳnh Phụ và xã Bình Nguyên, huyện Kiến Xương, tỉnh Thái Bình đáp ứng các tiêu chuẩn chọn mẫu được truyền thông về chế độ dinh dưỡng và thay đổi lối sống theo các chương trình thực hiện thường quy của xã, không được áp dụng biện pháp điều chỉnh chế độ ăn và chế độ luyện tập.

Đánh giá kết quả qua điều tra tại các thời điểm  $M_0$  và  $M_6$  có so sánh trước sau ở cả 2 nhóm và so sánh nhóm can thiệp với

\*Tác giả liên hệ: Email: phamanh.nihe@gmail.com

# Effectiveness of some dietary and lifestyle interventions for metabolic syndrome in people aged 25-64 years old in Thai Binh province

Thi Van Anh Pham<sup>1\*</sup>, Duc Cuong Le<sup>2</sup>, Thi Nhung Ninh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Thai Binh Center for Disease Control,

10 Hoang Cong Chat, Quang Trung Ward, Thai Binh City, Thai Binh Province, Vietnam.

<sup>2</sup>Thai Binh University of Medicine and Pharmacy,

373 Ly Bon, Thai Binh city, Thai Binh province, Vietnam

Received 17 October 2022; revised 10 November 2022; accepted 14 November 2022

## Abstract:

The study aimed to assess the effectiveness of interventions on metabolic syndrome (MetS) in 184 people aged 25-64 years old in 4 communes of Thai Binh province from August 2020 to January 2021. Results after the intervention by means of communication, diet, and exercise showed that after the interventions the prevalence of MetS decrease from 100 to 63.7%, and the intervention effectiveness was 13.7%. The mean of MetS components decreased by 0.63±0.10. Comparing the blood indexes before and after the intervention, the mean of glucose decreased by 0.36±0.17 mmol/l, the mean of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) increased by 0.126±0.047 mmol/l, and the mean of triglyceride decreased by 0.25±0.12 mmol/l. Interventions have the effect of reducing the syndrome rate and its components.

**Keywords:** intervention, metabolic syndrome, Thai Binh, 25-64 years old.

**Classification number:** 3.2

nhóm đối chứng tại  $M_0$  và  $M_c$ .

Công thức tính cỡ mẫu (n):

$$n = \frac{\left\{ z_{1-\alpha/2} \sqrt{2p(1-p)} + z_{1-\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)} \right\}^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

trong đó: n: cỡ mẫu tối thiểu;  $\alpha$  là xác suất của sai lầm loại I, chọn mức ý nghĩa thống kê  $\alpha=0,05$  ( $Z_{(1-\alpha/2)}=1,96$ );  $\beta$  là xác suất của sai lầm loại II, chọn  $1-\beta=0,8$  (lực mẫu) ( $Z_{(1-\beta)}=1,96$ );  $p_1$ : tỷ lệ mắc HCCH trước can thiệp ( $p_1=0,56$  [4]);  $p_2$ : tỷ lệ mắc HCCH sau can thiệp, kỳ vọng giảm 19%,  $p_2=0,35$ ;  $n=88$  đối tượng mỗi nhóm.

## 2.3. Thu thập số liệu

Các đặc trưng nhân khẩu học, kinh tế, xã hội và các yếu tố liên quan của đối tượng được thu thập bằng phương pháp phỏng vấn trực tiếp với bộ câu hỏi thiết kế sẵn. Cân nặng được đo bằng cân điện tử SECA với độ chính xác 0,01 kg, đo chiều cao đứng bằng thước gỗ 3 mảnh, vòng eo đo bằng thước dây

không co giãn, huyết áp đo bằng huyết áp điện tử dùng 1 cổ băng quấn cánh tay và pin.

Mẫu máu được lấy vào buổi sáng sau khi đã nhịn ăn trước đó ít nhất 10 giờ. Các chỉ số glucose máu, triglycerid, HDL-C được đo bằng máy phân tích tự động được kiểm chuẩn/kiểm định do các bác sỹ, kỹ thuật viên tại Trung tâm Kiểm soát Bệnh tật Thái Bình.

Trong nghiên cứu này, HCCH được xác định theo tiêu chuẩn chẩn đoán xác định HCCH thống nhất của Hiệp hội đái tháo đường quốc tế, Viện quốc gia về các bệnh tim, phổi, máu, Hiệp hội tim mạch Mỹ, Hiệp hội tim mạch thế giới, Hiệp hội xơ vữa động mạch thế giới, Hội nghiên cứu béo phì quốc tế (năm 2009). Những người được xác định mắc HCCH khi có 3/5 yếu tố (vòng eo  $>90$  cm ở nam,  $>80$  cm ở nữ; nồng độ triglycerid máu lúc đói  $\geq 1,7$  mmol/l; HA tâm thu  $\geq 130$  mmHg và/hoặc huyết áp tâm trương  $\geq 85$  mmHg; nồng độ HDL-C  $< 1$  mmol/l ở nam và  $< 1,3$  mmol/l ở nữ; nồng độ glucose máu lúc đói  $\geq 5,6$  mmol/l.

## 2.4. Phân tích thống kê

Số liệu được nhập và làm sạch bằng phần mềm EpiData và phân tích bằng phần mềm SPSS 16.0. Các biến định lượng được biểu diễn theo trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn được so sánh bằng kiểm định bằng các test thống kê. Phân tích số liệu được tiến hành tại thời điểm điều tra ban đầu và sau 6 tháng áp dụng các biện pháp can thiệp. Chỉ số hiệu quả và hiệu quả can thiệp được tính như sau:

- Chỉ số hiệu quả được tính theo công thức:

$$CSHQ(\%) = \frac{|P_1 - P_2|}{P_1} \times 100$$

trong đó: CSHQ là chỉ số hiệu quả;  $P_1$  là tỷ lệ hiện mắc HCCH tại thời điểm trước can thiệp;  $P_2$  là tỷ lệ hiện mắc HCCH tại thời điểm sau can thiệp.

- Hiệu quả can thiệp: Đo lường phần trăm (%) hiệu quả can thiệp nhờ chênh lệch chỉ số hiệu quả giữa nhóm can thiệp và đối chứng.

$$HQCT(\%) = CSHQ_{NCT} - CSHQ_{NDC}$$

trong đó: HQCT là hiệu quả can thiệp;  $CSHQ_{NCT}$  là chỉ số hiệu quả của nhóm can thiệp;  $CSHQ_{NDC}$  là chỉ số hiệu quả của nhóm đối chứng.

- Chỉ số ARR (Absolute risk reduction - giảm nguy cơ tuyệt đối): Là khác biệt nguy cơ giữa 2 nhóm biểu diễn bằng tỷ lệ phần trăm và khoảng tin cậy 95%CI [5].

$$ARR\% = p_0 - p_1$$

trong đó:  $p_0$  là nguy cơ mắc bệnh trong nhóm chứng, được tính bằng số đối tượng mắc bệnh ở thời điểm sau can thiệp chia cho tổng đối tượng mắc bệnh ở thời điểm trước can thiệp nhân với 100% (ở nhóm chứng);  $p_1$  là nguy cơ mắc bệnh trong nhóm can thiệp, được tính bằng số đối tượng mắc bệnh ở thời điểm sau



can thiệp chia cho tổng đối tượng mắc bệnh ở thời điểm trước can thiệp nhân 100% (ở nhóm can thiệp).

- Chỉ số NNT (Number needed to treat - số bệnh nhân cần được điều trị để giảm một ca bệnh) được tính theo công thức [6]:

$$NNT = 1/(p_0 - p_1)$$

trong đó:  $p_0$  là nguy cơ mắc bệnh trong nhóm chứng;  $p_1$  là nguy cơ mắc bệnh trong nhóm can thiệp;  $p_0$ ,  $p_1$  được tính như trong chỉ số ARR%.

### 2.5. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thông qua bởi Hội đồng xét duyệt đề cương của Trường Đại học Y Dược Thái Bình. Đối tượng nghiên cứu đã được giải thích về mục đích, nội dung nghiên cứu, những rủi ro và quyền lợi để tự nguyện ký giấy đồng ý tham gia nghiên cứu.

## 3. Kết quả

### 3.1. Đặc điểm chung

Kết quả bảng 1 cho thấy, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu trong 2 nhóm can thiệp và đối chứng.

**Bảng 1. Đặc điểm đối tượng tham gia nghiên cứu can thiệp.**

| Đặc điểm            | Nhóm can thiệp<br>(trung bình $\pm$ SD,<br>n=91) | Nhóm đối chứng<br>(trung bình $\pm$ SD,<br>n=93) | Chung<br>(trung bình $\pm$ SD,<br>n=184) | p     |
|---------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------|-------|
| Tuổi                | 51,37 $\pm$ 9,5                                  | 50,61 $\pm$ 9,4                                  | 50,99 $\pm$ 9,45                         | >0,05 |
| BMI                 | 23,47 $\pm$ 2,39                                 | 23,24 $\pm$ 2,51                                 | 23,35 $\pm$ 2,44                         | >0,05 |
| Huyết áp tâm thu    | 135,46 $\pm$ 18,28                               | 131,49 $\pm$ 16,88                               | 133,45 $\pm$ 17,65                       | >0,05 |
| Huyết áp tâm trương | 88,94 $\pm$ 12,29                                | 85,94 $\pm$ 10,35                                | 87,42 $\pm$ 11,42                        | >0,05 |
| Nhịp tim            | 81,6 $\pm$ 11,2                                  | 80,7 $\pm$ 11,9                                  | 81,2 $\pm$ 11,5                          | >0,05 |
| Vòng eo             | 81,70 $\pm$ 6,88                                 | 83,03 $\pm$ 7,46                                 | 82,37 $\pm$ 7,19                         | >0,05 |
| Glucose             | 5,89 $\pm$ 1,55                                  | 6,28 $\pm$ 2,24                                  | 6,08 $\pm$ 1,93                          | >0,05 |
| HDL-C               | 1,07 $\pm$ 0,28                                  | 1,01 $\pm$ 0,20                                  | 1,04 $\pm$ 0,24                          | >0,05 |
| Triglycerid         | 2,63 $\pm$ 1,38                                  | 2,73 $\pm$ 1,25                                  | 2,65 $\pm$ 1,28                          | >0,05 |

Ghi chú: p: so sánh trung bình giữa 2 nhóm, Anova test.

### 3.2. Hiệu quả can thiệp đến tỷ lệ mắc HCCB

Kết quả bảng 2 cho thấy, sau can thiệp làm giảm trung bình huyết áp tâm thu từ 135,5 $\pm$ 18,3 xuống 129,8 $\pm$ 11,2 mmHg và huyết áp tâm trương giảm từ 88,9 $\pm$ 10,3 xuống 80,8 $\pm$ 12,7 mmHg (có ý nghĩa thống kê). Với nhóm chứng, huyết áp tâm thu tăng nhẹ, huyết áp tâm trương giảm có ý nghĩa thống kê. Trung bình vòng eo giảm từ 81,70 $\pm$ 6,88 cm xuống 79,85 $\pm$ 6,77 cm (có ý nghĩa thống kê). Với nhóm đối chứng, trung bình vòng eo tăng lên (không có ý nghĩa thống kê).

**Bảng 2. Hiệu quả can thiệp với trung bình huyết áp, vòng eo.**

| Chỉ số              | Thời điểm      | Nhóm can thiệp<br>(n=91, $\bar{X}\pm$ SD) | Nhóm đối chứng<br>(n=93, $\bar{X}\pm$ SD) | P <sub>1</sub> |
|---------------------|----------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------|
| Huyết áp tâm thu    | M <sub>0</sub> | 135,5 $\pm$ 18,3                          | 131,5 $\pm$ 16,8                          | 0,128          |
|                     | M <sub>6</sub> | 129,8 $\pm$ 11,2                          | 134,8 $\pm$ 17,7                          | 0,025          |
|                     | Chênh lệch     | 5,62 $\pm$ 2,10                           | -3,34 $\pm$ 1,60                          |                |
|                     | P <sub>2</sub> | 0,009                                     | 0,04                                      |                |
| Huyết áp tâm trương | M <sub>0</sub> | 88,9 $\pm$ 10,3                           | 85,94 $\pm$ 10,35                         | 0,076          |
|                     | M <sub>6</sub> | 80,8 $\pm$ 12,7                           | 82,64 $\pm$ 13,10                         | ,257           |
|                     | Chênh lệch     | 8,09 $\pm$ 1,28                           | 3,31 $\pm$ 1,16                           |                |
|                     | P <sub>2</sub> | 0,000                                     | 0,005                                     |                |
| Vòng eo             | M <sub>0</sub> | 81,70 $\pm$ 6,88                          | 83,03 $\pm$ 7,46                          | 0,211          |
|                     | M <sub>6</sub> | 79,85 $\pm$ 6,77                          | 83,17 $\pm$ 6,79                          | 0,001          |
|                     | Chênh lệch     | 1,84 $\pm$ 0,51                           | -0,14 $\pm$ 0,5                           |                |
|                     | P <sub>2</sub> | 0,001                                     | 0,782                                     |                |

Ghi chú: p<sub>1</sub>: so sánh nhóm can thiệp và đối chứng cùng ở cùng thời điểm, sử dụng kiểm định Student T-test; p<sub>2</sub>: so sánh cùng nhóm ở 2 thời điểm trước và sau can thiệp, sử dụng kiểm định Paired sample T-test (Paired T-test).

Kết quả bảng 3 cho thấy, sau can thiệp làm giảm trung bình lượng glucose máu từ 5,89 $\pm$ 1,55 mmol/l xuống 5,52 $\pm$ 0,82 mmol/l (có ý nghĩa thống kê). Với nhóm chứng, lượng glucose máu giảm (không có ý nghĩa thống kê). Lượng glucose máu trong nhóm can thiệp giảm 0,36 mmol/l, trong nhóm đối chứng giảm 0,32 mmol/l (có ý nghĩa thống kê).

**Bảng 3. Hiệu quả can thiệp với trung bình các chỉ số sinh hóa máu của đối tượng nghiên cứu trước và sau can thiệp.**

| Chỉ số                 | Thời điểm       | Nhóm can thiệp<br>(n=91, $\bar{X}\pm$ SD) | Nhóm đối chứng<br>(n=93, $\bar{X}\pm$ SDs) | P <sub>1</sub> |
|------------------------|-----------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------|
| Glucose máu trung bình | Trước can thiệp | 5,89 $\pm$ 1,55                           | 6,28 $\pm$ 2,24                            | 0,167          |
|                        | Sau can thiệp   | 5,52 $\pm$ 0,82                           | 5,96 $\pm$ 1,34                            | 0,008          |
|                        | Chênh lệch      | 0,36 $\pm$ 0,17                           | 0,32 $\pm$ 0,18                            |                |
|                        | P <sub>2</sub>  | 0,036                                     | 0,085                                      |                |
| HDL-C trung bình       | Trước can thiệp | 1,07 $\pm$ 0,28                           | 1,01 $\pm$ 0,20                            | 0,138          |
|                        | Sau can thiệp   | 1,19 $\pm$ 0,41                           | 1,06 $\pm$ 0,25                            | 0,008          |
|                        | Chênh lệch      | 0,12 $\pm$ 0,05                           | 0,05 $\pm$ 0,03                            |                |
|                        | P <sub>2</sub>  | 0,008                                     | 0,130                                      |                |
| Triglycerid trung bình | Trước can thiệp | 2,63 $\pm$ 1,38                           | 2,73 $\pm$ 1,25                            | 0,829          |
|                        | Sau can thiệp   | 2,38 $\pm$ 0,71                           | 2,55 $\pm$ 1,05                            | 0,195          |
|                        | Chênh lệch      | 0,25 $\pm$ 0,12                           | 0,18 $\pm$ 0,15                            |                |
|                        | P <sub>2</sub>  | 0,041                                     | 0,254                                      |                |

Ghi chú: p<sub>1</sub>: so sánh nhóm can thiệp và đối chứng cùng ở cùng thời điểm, sử dụng kiểm định Student T-test; p<sub>2</sub>: so sánh cùng nhóm ở 2 thời điểm trước và sau can thiệp, sử dụng kiểm định Paired sample T-test.

HDL-C trung bình tăng từ 1,07 $\pm$ 0,28 lên 1,19 $\pm$ 0,41 mmol/l và có ý nghĩa thống kê. Với nhóm chứng, trung bình HDL-C tăng lên không có ý nghĩa thống kê. Trung bình HDL-C trong nhóm can thiệp tăng 0,12 $\pm$ 0,05 mmol/l, trong nhóm đối chứng tăng 0,05 $\pm$ 0,03 mmol/l có ý nghĩa thống kê.

Triglycerid trung bình giảm từ  $2,63 \pm 1,38$  xuống  $2,38 \pm 0,71$  mmol/l (có ý nghĩa thống kê). Với nhóm chứng, trung bình triglycerid giảm không có ý nghĩa thống kê. Trung bình triglycerid ở nhóm can thiệp và đối chứng không có ý nghĩa thống kê.

Sau can thiệp, trung bình số yếu tố HCCH giảm  $0,63 \pm 0,10$  cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng ( $0,32 \pm 0,13$ ) và so với trước khi can thiệp (bảng 4).

**Bảng 4. So sánh trung bình số yếu tố của HCCH của đối tượng nghiên cứu trước và sau can thiệp.**

| Chỉ số               | Thời điểm       | Nhóm can thiệp<br>(n=91, $\bar{X} \pm SD$ ) | Nhóm đối chứng<br>(n=93, $\bar{X} \pm SD$ ) | P <sub>1</sub> |
|----------------------|-----------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------|
| Trung bình số yếu tố | Trước can thiệp | $3,29 \pm 0,54$                             | $3,46 \pm 0,69$                             | 0,054          |
|                      | Sau can thiệp   | $2,66 \pm 1,04$                             | $3,14 \pm 1,15$                             | 0,003          |
|                      | Chênh lệch      | <b><math>0,63 \pm 0,10</math></b>           | <b><math>0,32 \pm 0,13</math></b>           |                |
|                      | P <sub>2</sub>  | 0,000                                       | 0,013                                       |                |

Kết quả bảng 5 cho thấy, sau can thiệp có 63,7% đối tượng mắc HCCH ở nhóm can thiệp và thấp hơn so với nhóm chứng (77,4%). Hiệu quả can thiệp là 13,7%. Hiệu quả giảm nguy cơ tuyệt đối với huyết áp cao là 13,7% và cứ 7 đối tượng được can thiệp thì có một đối tượng không mắc HCCH sau can thiệp (NTT≈7,3).

**Bảng 5. Hiệu quả can thiệp thay đổi tỷ lệ mắc HCCH của đối tượng nghiên cứu trước và sau can thiệp.**

| HCCH                   |                 | Nhóm đối chứng<br>(n=93) |      | Nhóm can thiệp<br>(n=91) |      | P ( $\chi^2$ test) |
|------------------------|-----------------|--------------------------|------|--------------------------|------|--------------------|
|                        |                 | Số lượng                 | %    | Số lượng                 | %    |                    |
| Thời điểm              | Trước can thiệp | 93                       | 100  | 91                       | 100  | 0,030              |
|                        | Sau can thiệp   | 72                       | 77,4 | 58                       | 63,7 |                    |
| Chỉ số hiệu quả (%)    |                 | 22,6                     |      | 36,3                     |      |                    |
| Hiệu quả can thiệp (%) |                 | 13,7                     |      |                          |      |                    |
| ARR%                   |                 | 13,7                     |      |                          |      |                    |
| NNT                    |                 | 7,3                      |      |                          |      |                    |

#### 4. Bàn luận

Các nghiên cứu trong nước và nước ngoài đều cho thấy hiệu quả của các giải pháp can thiệp về truyền thông, giáo dục sức khỏe, dinh dưỡng, tập luyện giúp giảm tỷ lệ mắc HCCH.

Tăng huyết áp trên đối tượng mắc HCCH là nguy cơ cao xảy ra các biến cố tim mạch, do đó can thiệp giảm tỷ lệ mắc và giảm trị số huyết áp là hết sức quan trọng. Trong nghiên cứu này, sau can thiệp, trị số trung bình huyết áp tâm thu giảm có ý nghĩa thống kê. Kết quả các nghiên cứu khác trong và ngoài nước cho kết quả tương tự. Các nghiên cứu trong và ngoài nước đều cho thấy sau các chương trình can thiệp, trị số huyết áp tâm thu và tâm trương trong nhóm can thiệp giảm. Nghiên cứu trên 30 người trưởng thành thừa cân béo phì mắc HCCH tại Hà Nội

cho thấy, giá trị trung bình huyết áp giảm từ  $124,7 \pm 16,7$  xuống  $121,3 \pm 14,2$  mmHg sau 6 tuần can thiệp và xuống  $120,9 \pm 13,2$  mmHg sau 12 tuần can thiệp; giá trị trung bình huyết áp tâm trương giảm từ  $79,7 \pm 13,6$  xuống  $76,3 \pm 11,2$  mmHg sau 6 tuần và xuống  $75,3 \pm 10,3$  mmHg sau 12 tuần can thiệp [7].

Béo bụng có thể xem là một chỉ tiêu quan trọng để tiên lượng các vấn đề sức khỏe liên quan tới phân bố mỡ cơ thể cũng như thừa cân béo phì. Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh được béo bụng là một trong những cơ chế bệnh sinh quan trọng của HCCH, bởi béo bụng sẽ sản xuất ra nhiều yếu tố như: TNF $\alpha$ , interleukin, PAI-1, adiponectin, acid béo tự do làm rối loạn chuyển hóa và liên quan chặt chẽ đến bệnh lý tim mạch. Sau can thiệp, trung bình vòng eo đối tượng trong nhóm can thiệp giảm  $1,84 \pm 0,51$  cm, từ  $81,70 \pm 6,88$  xuống  $79,85 \pm 6,77$  cm (có ý nghĩa thống kê). Giá trị trung bình vòng eo trong nhóm đối chứng tăng  $0,14 \pm 0,5$  cm, từ  $83,03 \pm 7,46$  lên  $83,17 \pm 6,79$  cm (không có ý nghĩa thống kê). Các nghiên cứu khác trên thế giới cũng cho thấy, hiệu quả của các can thiệp làm giảm giá trị trung bình vòng eo của đối tượng mắc HCCH. Nghiên cứu của M. Guzman và cs (2020) [8] trên 490 đối tượng thừa cân béo phì mắc HCCH cho thấy, sau can thiệp 13 tuần vòng bụng trung bình giảm  $13,88 \pm 8,36$  cm ( $p < 0,001$ ), sau 26 tuần vòng bụng trung bình giảm  $18,19 \pm 7,96$  cm ( $p < 0,001$ ), sau 39 tuần vòng bụng trung bình giảm  $21,62 \pm 13,63$  cm ( $p < 0,001$ ), giá trị vòng bụng giảm sau 52 tuần là  $18,52 \pm 7,75$  cm ( $p < 0,001$ ) [5].

Ngày nay, tăng glucose máu và đái tháo đường đang là vấn đề quan trọng được cộng đồng quan tâm, bởi sự tăng glucose máu được ví như kẻ giết người thầm lặng. Kết quả trong nghiên cứu cho thấy, can thiệp giá trị trung bình glucose giảm  $0,36 \pm 0,17$  mmol/l (có ý nghĩa thống kê), trong nhóm đối chứng, giá trị trung bình glucose giảm  $0,32 \pm 0,18$  mmol/l (không có ý nghĩa thống kê). Các nghiên cứu khác cũng cho thấy hiệu quả của các chương trình can thiệp làm giảm lượng glucose máu. T.M. Truong và cs (2014) [7] nghiên cứu trên 30 đối tượng thừa cân, béo phì có HCCH tại Hà Nội cho thấy, sau can thiệp 12 tuần, lượng glucose máu giảm  $0,2 \pm 0,9$  mmol/l, từ  $6,4 \pm 0,9$  xuống  $6,2 \pm 0,9$  mmol/l, tỷ lệ tăng glucose máu giảm từ 70 xuống 46,7% nhưng không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu khác tại Malaysia tiến hành can thiệp bằng tư vấn và giám sát về vận động trên 36 đối tượng mắc HCCH trong 16 tuần cho thấy, sau can thiệp lượng glucose máu trung bình giảm từ  $4,90 \pm 0,68$  xuống  $4,43 \pm 0,74$  mmol/l ở nhóm can thiệp; ở nhóm đối chứng, lượng glucose máu trung bình giảm từ  $5,05 \pm 0,75$  xuống  $4,89 \pm 0,76$  mmol/l, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê [9].

Rối loạn lipid máu có mối liên quan chặt chẽ đến HCCH. Ở người có HCCH thường gây tăng insulin, làm tăng giải phóng các acid béo tự do trong tuần hoàn, làm tăng xơ vữa động mạch, tăng nguy cơ mắc bệnh tim mạch. Kết quả trong nghiên cứu cho thấy, sau can thiệp bằng truyền thông, tư vấn thay đổi

chế độ ăn, lối sống, hoạt động thể lực cải thiện tình trạng rối loạn lipid máu. Trung bình HDL-C trong nhóm can thiệp tăng  $0,126 \pm 0,047$  mmol/l ( $p < 0,05$ ), trong nhóm đối chứng, trung bình HDL-C tăng  $0,042 \pm 0,027$  mmol/l, không có ý nghĩa thống kê. Can thiệp bằng tư vấn thay đổi chế độ ăn, hoạt động thể lực trên 30 đối tượng thừa cân béo phì tại Hà Nội cho thấy, tỷ lệ giảm HDL-C từ 66,6 xuống 36,7% ( $p < 0,05$ ), giá trị trung bình HDL-C tăng  $0,3 \pm 0,3$  mmol/l (từ  $1,1 \pm 0,2$  lên  $1,4 \pm 0,3$  mmol/l,  $p < 0,05$ ), can thiệp làm giảm rõ rệt tỷ lệ HDL-C thấp và tăng trung bình HDL-C [7].

Sau can thiệp, trung bình lượng triglycerid giảm  $0,25 \pm 0,12$  mmol/l ở nhóm can thiệp ( $p < 0,05\%$ ), giảm  $0,18 \pm 0,15$  mmol/l ở nhóm đối chứng, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của T.M. Truong và cs (2014) [7] tại Hà Nội cho thấy, sau can thiệp, trung bình lượng triglycerid giảm  $0,4 \pm 1,2$  mmol/l (từ  $2,3 \pm 1,2$  xuống  $1,9 \pm 0,9$  mmol/l) nhưng không có ý nghĩa thống kê.

Các giải pháp can thiệp có hiệu quả giảm tỷ lệ mắc HCCH. Sau can thiệp, tỷ lệ mắc HCCH giảm từ 100 xuống 63,7% trong nhóm can thiệp, trong nhóm đối chứng tỷ lệ này giảm từ 100 xuống 77,4%, chênh lệch tỷ lệ giảm giữa 2 nhóm là 13,7%, có ý nghĩa thống kê. D.C. Nguyen và cs (2013) [4] tiến hành can thiệp trên 683 đối tượng mắc HCCH tại Bạc Liêu bằng giải pháp tư vấn tăng hoạt động thể dục 30-60 phút/ngày, ăn nhiều rau, hoa quả và dầu thực vật, giảm khẩu phần ăn nhiều năng lượng, ăn cá ít nhất 1 lần/tuần, ăn ít chất béo và ngọt; giảm uống rượu, ăn nhiều chất xơ... cho thấy sau can thiệp, tỷ lệ đối tượng mắc HCCH giảm 21%.

Để giảm tỷ lệ mắc HCCH, việc giảm các yếu tố hình thành HCCH là vấn đề then chốt trong các nghiên cứu can thiệp. Nghiên cứu can thiệp về lối sống trên 375 đối tượng mắc HCCH cho thấy, sau can thiệp, số người mắc từ 4 yếu tố giảm từ 14,2 xuống 5,9%, số người mắc 3 yếu tố giảm từ 59,2 xuống 29,0%, trong nhóm đối chứng tỷ lệ mắc từ 4 yếu tố tăng 12,1-30,1%, tỷ lệ mắc 3 yếu tố giảm từ 60,2 xuống 35,5% (OR=0,24, 95%CI: 0,16-0,37,  $p < 0,001$ ) [10]. Kết quả nghiên cứu này đã chứng minh rằng, can thiệp lối sống, chế độ ăn, hoạt động thể lực làm giảm trung bình số yếu tố trong nhóm can thiệp  $0,63 \pm 0,10$  ( $p < 0,001$ ), trung bình số yếu tố trong nhóm đối chứng giảm  $0,32 \pm 0,13$  ( $p < 0,05$ ). Nghiên cứu của V.L. Do (2019) [11] trên đối tượng mắc đái tháo đường tại nông thôn cho thấy, sau can thiệp, trung bình số yếu tố HCCH giảm  $0,37 \pm 0,60$  ( $p < 0,05$ ) ở nhóm can thiệp và giảm  $0,08 \pm 0,53$  ( $p > 0,05$ ) ở nhóm đối chứng [9]. Tỷ lệ giảm thấp hơn trong nghiên cứu này có thể do đối tượng trong nghiên cứu của V.L. Do (2019) [11] là người bệnh đái tháo đường và đã có sẵn một yếu tố của HCCH. Nghiên cứu này đã chứng minh được hiệu quả các chương trình can thiệp làm giảm tỷ lệ mắc các yếu tố của HCCH, góp phần giảm tỷ lệ mắc HCCH.

## Kết luận

Sau 6 tháng can thiệp bằng truyền thông và khẩu phần ăn hỗ trợ đã cho thấy hiệu quả giảm tỷ lệ mắc HCCH từ 100 xuống 63,7%, hiệu quả can thiệp đối với tỷ lệ mắc HCCH là 13,7%, đánh giá hiệu quả can thiệp qua chỉ số NNT là cứ 7 đối tượng được can thiệp thì có một đối tượng không mắc HCCH sau can thiệp, trung bình số yếu tố của HCCH giảm 0,63 cao hơn so với nhóm đối chứng.

Giá trị trung bình các chỉ số giảm glucose máu là  $0,36 \pm 0,17$  mmol/l, tăng HDL-C  $0,126 \pm 0,047$  mmol/l, giảm triglycerid  $0,25 \pm 0,12$  mmol/l.

Khuyến nghị nên áp dụng các biện pháp can thiệp gồm truyền thông, tư vấn chế độ ăn và chế độ luyện tập cho đối tượng mắc HCCH tại cộng đồng, với vai trò quản lý và giám sát của các cán bộ trung tâm y tế, trạm y tế.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] V.L. Do (2015), "Current status of metabolic syndrome and some related factors in adults in Vu Thu district, Thai Binh in 2013", *Journal of Nutrition and Food*, **11**(5), pp.12-13 (in Vietnamese).
- [2] V.K. Nguyen (2019), "Current status of metabolic syndrome among inpatients at the Department of Internal Medicine, Quynh Phu General Hospital, Thai Binh in 2018", *Vietnam Medical Journal*, **447**(2), pp.134-135 (in Vietnamese).
- [3] K.J. Duffey, L.M. Steffen, L.V. Horn, et al. (2012), "Dietary patterns matter: Diet beverages and cardiometabolic risks in the longitudinal coronary artery risk development in young adults (CARDIA) study", *Am.J. Clin. Nutr.*, **95**(4), pp.909-915, DOI: 10.3945/ajcn.111.026682.
- [4] D.C. Nguyen, T.N. Truong, S.L. Le (2013), "Efficacy of intervention and risk factors of metabolic syndrome in cadres", *Ho Chi Minh City Medical Journal*, **17**(3), pp.16-24 (in Vietnamese).
- [5] M. Sampson, A. Clark, M. Bachmann, et al. (2021), "Effects of the Norfolk diabetes prevention lifestyle intervention (NDPS) on glycaemic control in screen-detected type 2 diabetes: A randomised controlled trial", *BMC Med.*, **19**(1), DOI: 10.1186/s12916-021-02053-x.
- [6] P.W. Vermunt, I.E.J. Milder, F. Welaard, et al. (2012), "A lifestyle intervention to reduce type 2 diabetes risk in Dutch primary care: 2.5-year results of a randomized controlled trial", *Diabet Med.*, **29**(8), DOI: 10.1111/j.1464-5491.2012.03648.x.
- [7] T.M. Truong, T.L. Nguyen (2014), "Effectiveness of counseling on diet and physical activity in reducing the incidence of MS in overweight and obese 40-59 year olds", *Journal of Preventive Medicine*, **6**(155), pp.70-77 (in Vietnamese).
- [8] M. Guzman, E. Zbella, S.S. Alvarez, et al. (2020), "Effect of an intensive lifestyle intervention on the prevalence of metabolic syndrome and its components among overweight and obese adults", *J. Public Health (Oxf)*, **42**(4), pp.828-838, DOI: 10.1093/pubmed/fdz170.
- [9] C.H. Phing, H.A. Saad, M.Y.B. Nisak, et al. (2017), "Effectiveness of physical activity intervention among government employees with metabolic syndrome", *J. Exerc. Sci. Fit.*, **15**(2), pp.55-62, DOI: 10.1016/j.jesf.2017.07.003.
- [10] S. Bo, G. Ciccone, C. Baldi, et al. (2007), "Effectiveness of a lifestyle intervention on metabolic syndrome. A randomized controlled trial", *J. Gen. Intern. Med.*, **22**(12), pp.1695-703, DOI: 10.1007/s11606-007-0399-6.
- [11] V.L. Do (2019), *Effective Use of Sprouted Rice to Support The Control of Metabolic Syndrome Components in Outpatients with Type 2 Diabetes*, Doctoral thesis, National Institute of Nutrition (in Vietnamese).



# Nghiên cứu giá trị của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 trong chẩn đoán mắc COVID-19

Trần Mai Linh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Ngọc Bích<sup>2</sup>, Nguyễn Đức Tuấn<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Ngọc Lan<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, phường Dịch Vọng Hậu, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 6/4/2022; ngày gửi phản biện 11/4/2022; ngày nhận phản biện 9/5/2022; ngày chấp nhận đăng 13/5/2022

## Tóm tắt:

Trước tình hình dịch bệnh COVID-19 diễn biến phức tạp, xét nghiệm nhanh kháng nguyên là một phương pháp hiệu quả để phát hiện ca nhiễm mới, từ đó có thể nhanh chóng cách ly người bệnh để hạn chế nguy cơ lây nhiễm cũng như tiến hành các biện pháp hỗ trợ chăm sóc sức khỏe kịp thời. Tuy nhiên, để đảm bảo tính chính xác và hiệu quả của xét nghiệm, việc nghiên cứu giá trị chẩn đoán trước khi triển khai thực tế của xét nghiệm nhanh kháng nguyên nói chung và Espline® SARS-CoV-2 nói riêng là hết sức quan trọng. Trong nghiên cứu này, các tác giả đã đánh giá giá trị chẩn đoán của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 trên mẫu bệnh phẩm dịch tỵ hầu bằng phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang. Tổng số 266 đối tượng nghiên cứu, trong đó có 99 bệnh nhân mắc và 167 không mắc COVID-19 được chẩn đoán theo hướng dẫn của Bộ Y tế. Kết quả cho thấy, độ nhạy và đặc hiệu chung của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 lần lượt là 71,72 và 100%. Độ nhạy của xét nghiệm trong các nhóm tuổi dưới 18, 18-59 và trên 60 lần lượt là 61,54, 72,86 và 75%. Độ nhạy của xét nghiệm trong nhóm có thời gian diễn biến bệnh dưới 7 ngày là 83,61% và nhóm có giá trị chu kỳ ngưỡng (Ct) ≤ 29,58 là 88%. Xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 đáp ứng được những khuyến cáo của Tổ chức Y tế thế giới (WHO) về yêu cầu dành cho xét nghiệm nhanh kháng nguyên sử dụng trong sàng lọc và chẩn đoán COVID-19.

**Từ khóa:** COVID-19, SARS-CoV-2, xét nghiệm nhanh kháng nguyên.

**Chỉ số phân loại:** 3.3

## 1. Đặt vấn đề

Đại dịch COVID-19 gây ra bởi virus SARS-CoV-2 bắt nguồn ở Vũ Hán, Trung Quốc vào cuối năm 2019 sau đó nhanh chóng lan ra toàn thế giới chỉ trong một thời gian ngắn. Cập nhật đến ngày 1/4/2022, đã có tới trên 486 triệu ca mắc và hơn 6,1 triệu trường hợp tử vong được ghi nhận trên toàn cầu [1]. Tại Việt Nam đã trải qua 4 lần sóng dịch với trên 9,5 triệu ca nhiễm và hơn 42 nghìn trường hợp tử vong [2]. Một trong các biện pháp để ngăn chặn sự lây lan cũng như hạn chế những hậu quả của đại dịch COVID-19 là nhanh chóng sàng lọc, xác định ca nhiễm, từ đó nhanh chóng cách ly người bệnh để hạn chế nguy cơ lây nhiễm cũng như tiến hành các biện pháp hỗ trợ, chăm sóc sức khỏe kịp thời.

Có nhiều phương pháp để phát hiện virus SARS-CoV-2 cũng như ca bệnh COVID-19, mỗi phương pháp có những ưu nhược điểm khác nhau, phù hợp với những mục đích và tình hình dịch bệnh khác nhau. Xét nghiệm Real Time-RT-PCR sử dụng để phát hiện vật chất di truyền của virus trên các mẫu bệnh phẩm dịch tỵ hầu hoặc bệnh phẩm đường hô

hấp được coi là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán ca bệnh mắc COVID-19 bởi độ nhạy và độ đặc hiệu cao [3, 4]. Tuy nhiên, xét nghiệm Real Time-RT-PCR cũng có những nhược điểm như đòi hỏi nhân lực có chuyên môn sâu, các trang thiết bị hiện đại, phòng xét nghiệm đạt tiêu chuẩn về an toàn sinh học cũng như thời gian tiến hành xét nghiệm dài, do đó ảnh hưởng tới thời gian trả kết quả cũng như những phương án xử lý tiếp theo [4]. Với ưu điểm dễ thực hiện, thời gian trả kết quả nhanh, chi phí hợp lý, các xét nghiệm nhanh kháng nguyên SARS-CoV-2 là một trong những phương pháp được khuyến cáo sử dụng để phát hiện ca bệnh mắc COVID-19 [3, 5]. Cập nhật theo diễn biến của tình hình dịch bệnh, hiện nay Bộ Y tế đã cho phép sử dụng các xét nghiệm nhanh kháng nguyên SARS-CoV-2 để chẩn đoán xác định ca bệnh cũng như đưa ra quyết định dỡ bỏ cách ly, xuất viện đối với người mắc COVID-19 [6]. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng, độ nhạy của một số xét nghiệm nhanh kháng nguyên có giá trị rất tốt trên những mẫu bệnh phẩm đường hô hấp thu thập từ những bệnh nhân có tải lượng virus cao, tương ứng với giai đoạn phát tán, lây lan virus mạnh [5, 7]. Bên cạnh những ưu điểm, các xét nghiệm

\*Tác giả liên hệ: Email: ngoclannguyen@hmu.edu.vn

# Evaluation of the clinical utility of novel coronavirus antigen detection reagent Espline® SARS-CoV-2 in COVID-19 diagnosis

Mai Linh Tran<sup>1</sup>, Thi Ngoc Bich Nguyen<sup>2</sup>, Duc Tuan Nguyen<sup>2</sup>,  
Thi Ngoc Lan Nguyen<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>University of Medicine and Pharmacy, Vietnam National University - Hanoi,  
144 Xuan Thuy, Dich Vong Hau Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Hanoi Medical University,

<sup>1</sup> Ton That Tung, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 6 April 2022; revised 9 May 2022; accepted 13 May 2022

## Abstract:

In the face of the complicated situation of the COVID-19 epidemic, rapid antigen diagnostic tests have been an effective method to detect new infections, thereby quickly isolating patients to reduce further transmissions as well as take timely health care measures. However, to ensure the accuracy and effectiveness of the test, it is critical to evaluate the clinical diagnostic value before implementing the rapid SARS-CoV-2 antigen detection tests in general and the Espline® SARS-CoV-2 antigen test, in particular. This research aimed to evaluate the clinical utility of Espline® SARS-CoV-2 in COVID-19 diagnosis. The authors used a cross-sectional descriptive study method to assess the sensitivity and specificity of the SARS-CoV-2 antigen test on a nasopharyngeal swab of 266 study subjects including 99 COVID-19 patients and 167 non-COVID-19 patients according to the guidelines of the Ministry of Health. The results showed the overall sensitivity and specificity of the Espline® SARS-CoV-2 antigen test were 71.72 and 100%, respectively. The sensitivity of the test in the group of age  $\leq 18$ , from 18 to 59 and  $\geq 60$  were 61.54, 72.86, and 75%, respectively. The sensitivity of the test with disease progression time of less than 7 days was 83.61%, and the group with Ct  $\leq 29.58$  was 88%. The Espline® SARS-CoV-2 antigen rapid test meets the recommendations of the World Health Organization on the requirements for rapid antigen tests in the screening and diagnosis of COVID-19.

**Keywords:** COVID-19, rapid antigen diagnosis detection, SARS-CoV-2.

**Classification number:** 3.3

nhánh kháng nguyên SARS-CoV-2 cũng tồn tại những hạn chế như độ nhạy, độ đặc hiệu thấp hơn so với xét nghiệm Real Time-RT-PCR [4-8]. Đặc biệt, có nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng tới kết quả của xét nghiệm nhanh kháng nguyên SARS-CoV-2, trong đó phải kể tới 2 yếu tố quan trọng là độ nhạy, độ đặc hiệu của từng xét nghiệm và quá trình lấy mẫu bệnh phẩm. Chính vì vậy, bất kỳ xét nghiệm nhanh kháng nguyên trước khi được triển khai thực hiện rộng rãi đều cần được đánh giá về giá trị chẩn đoán từ đó đưa ra những khuyến cáo phù hợp trong quá trình sử dụng và phiên giải kết quả xét nghiệm.

Xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 (Fujirebio Inc., Nhật Bản) đã được phát triển và chấp thuận sử dụng để chẩn đoán SARS-CoV-2 tại Nhật Bản [5, 9]. Nguyên lý của xét nghiệm là phương pháp sắc ký miễn dịch sử dụng kháng thể đơn dòng nhận biết kháng nguyên protein nucleocapsid (N-Ag) của virus SARS-CoV-2, đồng thời những kháng thể đơn dòng này được cộng hợp với enzym phosphatase kiềm (ALP). Khi mẫu được thêm vào cửa sổ mẫu, nếu trong mẫu có kháng nguyên protein nucleocapsid của virus SARS-CoV-2, phức hợp kháng nguyên - kháng thể được hình thành và di chuyển trên màng đến vùng cửa sổ diễn giải. Tại vạch xét nghiệm (T), phức hợp kháng nguyên - kháng thể được cố định trên màng bởi một loại kháng thể nhận biết kháng nguyên protein nucleocapsid khác. Enzym ALP cộng hợp trong phức hợp kháng nguyên - kháng thể sẽ phản ứng với chất nền và lên màu ở vạch xét nghiệm (T) trong phần cửa sổ diễn giải. Các kháng thể dư thừa tiếp tục di chuyển trên màng và được cố định tại vạch tham chiếu (r) [5]. Tại Việt Nam, xét nghiệm này đã nằm trong danh mục được Bộ Y tế cấp phép, tuy nhiên những đánh giá về giá trị chẩn đoán lâm sàng của xét nghiệm này còn nhiều khoảng trống, do đó chúng tôi thực hiện nghiên cứu nhằm mục tiêu đánh giá giá trị của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 trong chẩn đoán mắc COVID-19.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

Mẫu bệnh phẩm dịch tỵ hầu của 266 đối tượng tham gia nghiên cứu được lấy tại tỉnh Bắc Ninh và TP Hà Nội. Thời gian nghiên cứu từ tháng 3/2021 đến tháng 5/2021 tại Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Phương pháp:** Nghiên cứu được thực hiện theo phương pháp mô tả cắt ngang.

Tiến hành nghiên cứu các đối tượng đến khám, sàng lọc COVID-19.

Sau khi được giải thích và đồng ý tham gia nghiên cứu sẽ được tiến hành thu thập thông tin tuổi, giới tính, diễn biến lâm sàng, tiền sử dịch tễ và được lấy mẫu dịch tỵ hầu bởi nhân viên y tế đã tập huấn. Mẫu bệnh phẩm được vận chuyển trong điều kiện bảo quản lạnh tại 4°C, sau đó được lưu trữ tại điều kiện -80°C cho tới khi thực hiện xét nghiệm.

Mẫu bệnh phẩm dịch tỵ hầu của đối tượng tham gia nghiên cứu được tiến hành tách chiết RNA bằng kit tách chiết QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen). Vật chất di truyền RNA của virus SARS-CoV-2 được phát hiện theo quy trình Charite Berlin đã được WHO và Bộ Y tế khuyến cáo nhờ phản ứng Real Time-RT-PCR sử dụng bộ kit LightMix® SarbecoV E-gene plus EAV control (Roche) [10]. Thử nghiệm bao gồm một khuôn mẫu đối chứng dương tính và một mẫu kiểm soát chiết xuất bên trong RNA, gen mục tiêu là gen E của virus SARS-CoV-2, giới hạn phát hiện do nhà sản xuất báo cáo là 5,2 bản sao/phản ứng. Theo khuyến cáo của nhà sản xuất, các mẫu hiển thị đường cong chuẩn và giá trị ngưỡng chu kỳ  $Ct \leq 36$  được coi là dương tính [11]. Bệnh nhân được chẩn đoán mắc COVID-19 dựa theo thông tin lâm sàng, tiền sử dịch tễ, kết quả xét nghiệm Real Time-RT-PCR theo hướng dẫn của Bộ Y tế [11, 12].

Đồng thời, mẫu bệnh phẩm dịch tỵ hầu của đối tượng tham gia nghiên cứu sẽ được tiến hành thực hiện xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 để đánh giá giá trị của xét nghiệm trong chẩn đoán mắc COVID-19. Mẫu dịch tỵ hầu được xử lý theo hướng dẫn của nhà sản xuất rồi được nhỏ vào cửa sổ mẫu, theo dõi và đọc kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất: 1 vạch tại vị trí (r) - âm tính; 2 vạch tại cả vị trí (r) và (T) - dương tính; không xuất hiện vạch tại vị trí (r) - không xác định. Dựa vào kết quả thu được, chúng tôi sẽ phân tích độ nhạy, độ đặc hiệu chung của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2, cũng như dựa theo các đặc điểm như tuổi, giới tính, thời gian diễn biến bệnh, Ct của các đối tượng nghiên cứu.

**Phân tích thống kê:** Số liệu được nhập bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phân tích bằng phần mềm STATA 16.0.

**Đạo đức nghiên cứu:** Nghiên cứu tuân thủ các quy định về đạo đức nghiên cứu. Đối tượng tham gia nghiên cứu đã được giải thích và đồng ý nghiên cứu. Thông tin thu thập được đảm bảo an toàn và tính riêng tư. Nghiên cứu góp phần trong sàng lọc, chẩn đoán bệnh nhân mắc COVID-19 nhanh hơn qua đó giúp cách ly, điều trị kịp thời và đúng đắn. Nghiên cứu không làm chậm trễ hoặc thay đổi chẩn đoán và điều trị của bệnh nhân.

### 3. Kết quả

#### 3.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Trong số 266 đối tượng tham gia nghiên cứu, nữ giới chiếm 60,9%, nam giới chiếm 39,1%. Tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu là  $43,15 \pm 16,46$ . Có 99 trong tổng số 266 đối tượng tham gia nghiên cứu được xác định mắc COVID-19, chiếm 37,21%. Trong số này, thời gian diễn biến bệnh trung bình là 7,64 ngày và Ct trung bình của xét nghiệm Real Time RT-PCR là 28,72 (bảng 1).

**Bảng 1. Một số đặc điểm của đối tượng nghiên cứu.**

| Đặc điểm nghiên cứu             | Tổng                | Chẩn đoán   |             |
|---------------------------------|---------------------|-------------|-------------|
|                                 |                     | Dương tính  | Âm tính     |
| Tổng                            | 266                 | 99 (37,2%)  | 167 (62,8%) |
| Giới tính                       | Nam                 | 34 (32,69%) | 70 (67,31%) |
|                                 | Nữ                  | 65 (40,12%) | 97 (59,88%) |
| Tuổi (năm)                      | Trung bình          | 43,15       | 45,48       |
|                                 | Trung vị            | 39,5        | 43          |
|                                 | IQR                 | 27-59       | 29-61       |
|                                 | Khoảng              | 11-86       | 13-86       |
|                                 | Nhóm 0-17 tuổi      | 16 (6%)     | 3           |
|                                 | Nhóm 18-59 tuổi     | 202 (76%)   | 132         |
|                                 | Nhóm $\geq 60$ tuổi | 48 (18%)    | 32          |
|                                 | Trung bình          | 7,64        |             |
| Thời gian diễn biến bệnh (ngày) | Trung vị            | 7           |             |
|                                 | IQR                 | 3-13        |             |
|                                 | Khoảng              | 1-29        |             |
|                                 | Nhóm 0-7 ngày       | 61 (61,62%) |             |
|                                 | Nhóm $\geq 8$ ngày  | 38 (38,38%) |             |
|                                 | Trung vị            | 29,58       |             |
| Giá trị Ct                      | Khoảng              | 12,50-35,94 |             |
|                                 | IQR                 | 24,13-33,31 |             |
|                                 | Trung bình          | 28,72       |             |

#### 3.2. Giá trị của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 trong chẩn đoán mắc COVID-19

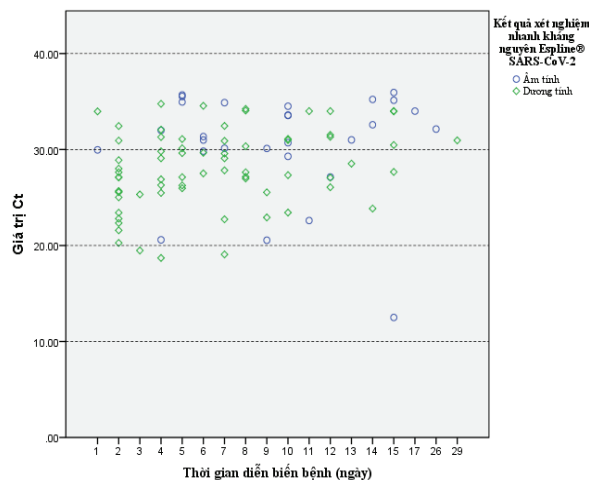
Nghiên cứu thực hiện trên 266 đối tượng cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu chung của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 lần lượt là 71,72 và 100%. Độ nhạy của xét nghiệm trong các nhóm tuổi dưới 18, từ 18 đến 59 và  $\geq 60$  lần lượt là 61,54, 72,86 và 75%.



Độ nhạy của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 trong nhóm có thời gian diễn biến bệnh dưới 7 ngày là 83,61% và nhóm diễn biến bệnh trên 7 ngày là 50%. Theo giá trị của Ct, độ nhạy của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 tại các khoảng tứ phân vị thứ 1 và 2, thứ 3, thứ 4 lần lượt là 88, 64 và 45,83% (bảng 2, hình 1).

**Bảng 2. Độ nhạy, độ đặc hiệu của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 trong chẩn đoán mắc COVID-19.**

| Đặc điểm                        | Chẩn đoán xác định (nhiễm-không nhiễm COVID-19) | Tổng<br><i>n</i> | Kết quả test nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 |                     |             |                 |
|---------------------------------|-------------------------------------------------|------------------|-----------------------------------------------------|---------------------|-------------|-----------------|
|                                 |                                                 |                  | Dương tính<br><i>n</i>                              | Âm tính<br><i>n</i> | Độ nhạy (%) | Độ đặc hiệu (%) |
|                                 |                                                 |                  |                                                     |                     |             |                 |
| Tổng                            | Nhiễm                                           | 99               | 71                                                  | 28                  | 71,72       | 100             |
|                                 | Không nhiễm                                     | 167              | 0                                                   | 167                 |             |                 |
| Giới tính                       | Nam                                             | Nhiễm            | 34                                                  | 21                  | 61,76       | 100             |
|                                 |                                                 | Không nhiễm      | 70                                                  | 0                   |             |                 |
|                                 | Nữ                                              | Nhiễm            | 65                                                  | 50                  | 76,92       | 100             |
|                                 |                                                 | Không nhiễm      | 97                                                  | 0                   |             |                 |
| Tuổi                            | 0-17                                            | Nhiễm            | 13                                                  | 8                   | 61,54       | 100             |
|                                 |                                                 | Không nhiễm      | 3                                                   | 0                   |             |                 |
|                                 | 18-59                                           | Nhiễm            | 70                                                  | 51                  | 72,86       | 100             |
|                                 |                                                 | Không nhiễm      | 132                                                 | 0                   |             |                 |
|                                 | ≥60                                             | Nhiễm            | 16                                                  | 12                  | 75          | 100             |
|                                 |                                                 | Không nhiễm      | 32                                                  | 0                   |             |                 |
| Thời gian diễn biến bệnh (ngày) | 0-7                                             | Nhiễm            | 61                                                  | 51                  | 83,61       |                 |
|                                 | ≥8                                              | Nhiễm            | 38                                                  | 19                  | 50          |                 |
| Giá trị Ct                      | Khoảng tứ phân vị thứ 1-2 (Ct≤29,58)            | Nhiễm            | 50                                                  | 44                  | 6           | 88              |
|                                 | Khoảng tứ phân vị thứ 3 (29,58<Ct≤32,06)        | Nhiễm            | 25                                                  | 16                  | 9           | 64              |
|                                 | Khoảng tứ phân vị thứ 4 (Ct>32,06)              | Nhiễm            | 24                                                  | 11                  | 13          | 45,83           |



**Hình 1. Kết quả xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2, Ct của xét nghiệm Real Time-RT-PCR và thời gian diễn biến của bệnh.**

#### 4. Bàn luận

Theo khuyến cáo của WHO, các xét nghiệm nhanh kháng nguyên SARS-CoV-2 đóng một vai trò quan trọng trong chiến lược phòng ngừa và kiểm soát tổng thể đối với COVID-19 [13, 14]. Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện trên 266 đối tượng cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu chung của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 lần lượt là 71,72 và 100%. Giá trị độ đặc hiệu tương tự như kết quả nhà sản xuất công bố cũng như một số nghiên cứu khác về xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 của K. Aoki và cs (2021) [5]. Về giá trị độ nhạy, kết quả thu được của chúng tôi tương tự như như kết quả nhà sản xuất công bố (66,7%) và cao hơn so với nghiên cứu của K. Aoki và cs (2021) [5]. Sự khác biệt này có thể giải thích do nhóm đối tượng đã có diễn biến bệnh trên 10 ngày trong nghiên cứu của K. Aoki và cs chiếm tới 80,95% (102/126). Kết quả trên cũng tương tự với các nghiên cứu trên một số loại xét nghiệm nhanh kháng nguyên khác như nghiên cứu của T. Weitzel và cs (2020) [15] với độ nhạy của các xét nghiệm nhanh kháng nguyên của RapiGEN, Bioeasy tests lần lượt là 62 và 85,0%, độ đặc hiệu đều là 100%. Theo một nghiên cứu công bố của WHO thì độ nhạy và độ đặc hiệu trung bình của các loại xét nghiệm nhanh kháng nguyên lần lượt là 72 và 99,2% [13].

Một trong những yếu tố quyết định khả năng lây truyền của COVID-19 là tải lượng virus tồn tại và được phát tán bởi người mang virus. Tải lượng virus ca bệnh cũng thay đổi theo quá trình diễn biến của bệnh nhân mắc COVID-19. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng, tải lượng virus thường cao nhất trong tuần đầu tiên kể từ khi khởi phát, tương ứng với giai đoạn phát tán, lây lan virus mạnh nhất và sau đó giảm dần [8, 16]. Theo khuyến cáo của WHO, xét nghiệm nhanh kháng nguyên nên được dùng ở người nghi ngờ mắc COVID-19 trong 5-7 ngày đầu tiên kể từ khi khởi phát, và xét nghiệm nhanh kháng nguyên SARS-CoV-2 cần đáp ứng được yêu cầu tối thiểu về độ nhạy là ≥80% và độ đặc hiệu ≥97% trên nhóm đối tượng này. Trong nghiên cứu của chúng tôi, độ nhạy của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 trên nhóm đối tượng diễn biến bệnh dưới 7 ngày là 83,61%. Kết quả này cao hơn một nghiên cứu khác về xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 của K. Aoki và cs (2021) [5], độ nhạy của xét nghiệm trên nhóm đối tượng diễn biến bệnh dưới 10 ngày là 73,3%. Sự khác biệt này có thể do nghiên cứu của chúng tôi lựa chọn thời gian đánh giá là 7 ngày so với 10 ngày của K. Aoki và cs (2021) [5]. Kết quả nghiên cứu trên một số loại xét nghiệm nhanh kháng nguyên khác của D.B. Larremore (2021) [17], trong tuần đầu tiên có triệu chứng, độ nhạy của xét nghiệm nhanh kháng nguyên là 93,9%. Điều này có thể được giải thích do độ nhạy của xét nghiệm nhanh kháng nguyên bên cạnh phụ thuộc vào tải lượng virus, chúng còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố như nguyên lý xét nghiệm, hoặc kỹ thuật thu thập, bảo quản mẫu bệnh phẩm. Trong nghiên

cứu của chúng tôi, mẫu bệnh phẩm dịch tỵ hầu của đối tượng tham gia nghiên cứu được lấy bởi nhân viên y tế được đào tạo, tuy nhiên xét nghiệm không được thực hiện ngay tại thực địa. Trong quá trình vận chuyển và bảo quản mẫu bệnh phẩm, thành phần kháng nguyên protein nucleocapsid của virus SARS-CoV-2 có thể bị ảnh hưởng một phần, do đó ảnh hưởng tới độ nhạy của xét nghiệm. Đồng thời, khó khăn trong việc lấy mẫu, đặc biệt là mẫu dịch tỵ hầu, cũng có thể là nguyên nhân giải thích cho kết quả của chúng tôi về độ nhạy thấp trên nhóm đối tượng dưới 18 tuổi (chiếm 61,54%) so với các nhóm tuổi trưởng thành (72,86 và 75%).

Có nhiều phương pháp để đánh giá tải lượng virus của bệnh nhân, tuy nhiên trong tình hình dịch bệnh, Ct của xét nghiệm RT-PCR là một phương pháp thuận tiện và có giá trị để ước lượng tải lượng virus. Theo hướng dẫn của Bộ Y tế, thời kỳ lây truyền của ca bệnh xác định được tính từ 2 ngày trước khi khởi phát (đối với ca bệnh xác định không có triệu chứng thì thời kỳ lây truyền được tính từ 2 ngày trước ngày được lấy mẫu có kết quả xét nghiệm dương tính) cho đến khi kết quả xét nghiệm RT-PCR âm tính hoặc giá trị  $Ct \geq 30$  [18]. Do đó, độ nhạy của xét nghiệm nhanh kháng nguyên theo tải lượng virus thông qua Ct của xét nghiệm RT-PCR cũng có ý nghĩa rất quan trọng. Trong nghiên cứu của chúng tôi, độ nhạy của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 là 88% trên nhóm đối tượng nghiên cứu mắc COVID-19 có  $Ct \leq 29,58$ . Độ nhạy của xét nghiệm đối với nhóm đối tượng nghiên cứu mắc COVID-19 có  $29,58 < Ct \leq 32,06$  và  $Ct \geq 32,06$  lần lượt là 64 và 45,83%. Sự thay đổi về độ nhạy theo Ct này tương tự như kết quả của F.J. Candel và cs (2020) [19], độ nhạy của test nhanh kháng nguyên là 98% đối với  $Ct \leq 25$  và 57% đối với  $Ct \geq 30$ .

Tốc độ đột biến ở các loại virus diễn ra rất nhanh, trong thời gian qua các biến chủng mới của virus SARS-CoV-2 như Delta, Omicron... liên tục xuất hiện. Với nguyên lý phát hiện dựa trên kháng nguyên protein của virus, những đột biến trong các biến chủng mới của SARS-CoV-2 có thể làm ảnh hưởng tới giá trị chẩn đoán của các xét nghiệm nhanh kháng nguyên nói chung và xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 nói riêng. Theo kết quả nghiên cứu của Y.S. Tagawa và cs (2021) [20] cho thấy rằng, xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline hiệu quả trong phát hiện biến thể Delta (B.1.617.2) của virus SARS-CoV-2. Tuy nhiên, trong điều kiện của nghiên cứu này, chúng tôi chưa thể đánh giá sâu về giá trị chẩn đoán của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 đối với từng loại biến thể của virus SARS-CoV-2.

## 5. Kết luận

Độ nhạy và đặc hiệu lâm sàng của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 đáp ứng được những khuyến cáo của WHO về yêu cầu dành cho xét nghiệm nhanh kháng nguyên SARS-CoV-2. Giá trị chẩn đoán phụ thuộc vào thời gian lấy mẫu xét nghiệm và giảm trong nhóm đối tượng có  $Ct > 30$ .

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] World Health Organization (2020), "WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020", <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-COVID-19---11-march-2020>, accessed 5 March 2022.
- [2] World Health Organization (2020), <https://covid19.who.int>, accessed 5 March 2022.
- [3] Ministry of Health Portal (2021), "Tests confirm COVID-19", [https://moh.gov.vn/tin-lien-quan/-/asset\\_publisher/vjYyM7O9aWnX/content/cac-xet-nghiem-xac-inh-COVID-19](https://moh.gov.vn/tin-lien-quan/-/asset_publisher/vjYyM7O9aWnX/content/cac-xet-nghiem-xac-inh-COVID-19), accessed 5 March 2022 (in Vietnamese).
- [4] M.A. Kabir, R. Ahmed, S.M.A. Iqbal, et al. (202), "Diagnosis for COVID-19: Current status and future prospects", *Expert Review of Molecular Diagnostics*, **4**, pp.1-20, DOI: 10.1080/14737159.2021.1894930
- [5] K. Aoki, T. Nagasawa, Y. Ishii, et al. (2021), "Evaluation of clinical utility of novel coronavirus antigen detection reagent, Espline® SARS-CoV-2", *J. Infect Chemother*, **27**(2), pp.319-322, DOI: 10.1016/j.jiac.2020.11.015.
- [6] Ministry of Health (2021), *Official Dispatch 11011/BYT-KCB 2021 Testing to Detect People with Covid19* (in Vietnamese).
- [7] L. Porte, P. Legarraga, V. Vollrath, et al. (2020), "Evaluation of a novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples", *International Journal of Infectious Diseases*, **99**, pp.328-333, DOI: 10.1016/j.ijid.2020.05.098.
- [8] R. Wölfel, V.M. Corman, W. Guggemos, et al. (2020), "Virological assessment of hospitalized patients with Covid-19", *Nature*, **581**, pp.465-469, DOI: 10.1038/s41586-020-2196-x.
- [9] Y. Takeda, M. Mori, K. Omi (2020), "SARS-CoV-2 qRT-PCR Ct value distribution in Japan and possible utility of rapid antigen testing kit", *MedRxiv*, DOI: 10.1101/2020.06.16.20131243.
- [10] Ministry of Health (2021), *Decision 4042/QĐ-BYT 2021 Temporary Instructions for Mobile Medical Station Model During the Covid19 Epidemic* (in Vietnamese).
- [11] Roche-as (2020), [https://www.roche-as.es/lm\\_pdf/MDx\\_40-0776\\_96\\_Sarbeco-E-gene\\_V200204\\_09164154001%20\(1\).pdf](https://www.roche-as.es/lm_pdf/MDx_40-0776_96_Sarbeco-E-gene_V200204_09164154001%20(1).pdf), accessed 5 March 2022.
- [12] Ministry of Health (2021), <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/The-thao-Y-te/Quy-et-dinh-2008-QĐ-BYT-2021-huong-dan-dieu-tri-COVID19-do-chung-vi-rut-Corona-moi-472206.aspx>, accessed 5 March 2022.
- [13] G.C.K. Mak, et al. (2021), "Evaluation of rapid antigen detection kit from the WHO emergency use list for detecting SARS-CoV-2", *J. Clin. Virol.*, DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104712.
- [14] G.C.K. Mak, S.S.Y. Lau, K.K.Y. Wong, et al. (2020), "Evaluation of rapid antigen detection kit from the WHO Emergency Use List for detecting SARS-CoV-2", *J Clin Virol.*, DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104712.
- [15] T. Weitzel, P. Legarraga, M. Iruretagoyena, et al. (2020), "Head-to-head comparison of four antigen-based rapid detection tests for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples", *BioRxiv*, DOI: 10.1101/2020.05.27.119255.
- [16] L. Zou, F. Ruan, M. Huang, et al. (2020), "SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients", *N. Engl.J. Med.*, DOI: 10.1056/NEJMc2001737.
- [17] D.B. Larremore, B. Wilder, E. Lester, et al. (2021), "Test sensitivity is secondary to frequency and turnaround time for COVID-19 screening", *Sci. Adv.*, DOI: 10.1126/sciadv.abd5393.
- [18] Ministry of Health (2021), *Official Dispatch 11042/Byt-Dp 2021 Covid19 Case Definition* (in Vietnamese).
- [19] F.J. Candel, P. Barreiro, J.S. Román, et al. (2020), "Recommendations for use of antigenic tests in the diagnosis of acute SARS-CoV-2 infection in the second pandemic wave: Attitude in different clinical settings", *Rev. Espanola Quimioter Publicacion Of Soc Espanola Quimioter*, DOI: 10.37201/req/120.2020.
- [20] Y.S. Tagawa, S. Yamayoshi, P.J. Halfman, et al. (2021), "Comparative sensitivity of rapid antigen tests for the delta variant (b.1.617.2) of SARS-CoV-2", *Viruses*, DOI: 10.3390/v1312183.

# Nghiên cứu chọn chủng ứng cử vắc-xin phòng bệnh tay, chân, miệng do virus EV71

Nguyễn Thị Yến Nhi<sup>1,2</sup>, Võ Trần Ngọc Trinh<sup>1</sup>, Phạm Lê Quốc Hưng<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Hạnh Lan<sup>1</sup>,  
Hoàng Ngọc Khánh Quỳnh<sup>1</sup>, Lê Thị Liên<sup>1</sup>, Lê Hà Tâm Dương<sup>1</sup>, Cao Thị Bảo Vân<sup>1,4\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh, 167 Pasteur, phường Võ Thị Sáu, quận 3, Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 227 Nguyễn Văn Cừ, phường 4, quận 5, Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>3</sup>Trung tâm Kiểm soát Bệnh tật TP Hồ Chí Minh, 366A Âu Dương Lân, phường 3, quận 8, Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>4</sup>Viện Công nghệ Y dược Văn Cao, 5 Ngõ 139, đường Phú Diễn, phường Phú Diễn, quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 21/3/2022; ngày chuyển phản biện 25/3/2022; ngày nhận phản biện 18/4/2022; ngày chấp nhận đăng 21/4/2022

## Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện nhằm chọn lựa chủng ứng cử cho việc nghiên cứu và sản xuất vắc-xin phòng bệnh tay, chân, miệng (TCM) do virus EV71 tại Việt Nam. Dữ liệu giám sát virus EV71 hàng năm của Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh từ năm 2003 đến 2013 đã được sử dụng để dự đoán xu hướng tiến hoá. Trình tự vùng gen VP1 của 100 chủng EV71 của Việt Nam từ GenBank được sử dụng để đánh giá độ tương đồng tại một số epitope và tìm ra các trình tự phổ biến nhất. Kết quả, chủng EV71 kiểu gen phụ B5 mang tên B5-203P-2013 đã được chọn. Trải qua quá trình thích ứng và chọn dòng đơn trên tế bào Vero của chủng B5-203P-2013, B5-203P-2013-P10.1 đã được chọn làm chủng ứng cử cho vắc-xin EV71 với độ ổn định di truyền và đạt hiệu giá  $10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml cho đáp ứng kháng thể trung hoà chéo với các kiểu gen phụ khác như B5, C4, C5.

**Từ khóa:** chủng ứng cử EV71, đáp ứng kháng thể trung hoà chéo, kiểu gen phụ, thích ứng trên tế bào Vero.

**Chỉ số phân loại:** 3.3

## 1. Đặt vấn đề

Bệnh TCM là một bệnh truyền nhiễm phổ biến ở trẻ em, nhất là trẻ dưới 5 tuổi [1]. Bệnh do một nhóm Enterovirus thuộc họ Picornaviridae gây ra. Trong đó, virus EV71 được quan tâm nhiều nhất do chúng có thể gây các bệnh cảnh nặng, kèm theo biến chứng thần kinh, tim, phổi và thậm chí dẫn đến tử vong [2].

Virus EV71 lần đầu tiên được ghi nhận vào năm 1974. Năm 1997, dịch EV71 bùng phát và lan rộng tại khu vực châu Á - Thái Bình Dương. Sự lưu hành nổi trội và tái nổi trội, đa dạng về kiểu gen của EV71 đã gây ra các trận dịch với quy mô khác nhau trong khu vực. Tại Việt Nam, virus EV71 được phân lập lần đầu tiên vào năm 2003. Từ đó, nhiều đợt dịch TCM lớn, nhỏ có liên quan đến loại virus này liên tiếp xảy ra từ năm 2005 đến 2013 với hàng chục ngàn ca nhiễm và ít nhất 250 trường hợp tử vong.

Hiện nay, bệnh TCM vẫn chưa có thuốc điều trị, vắc-xin đang là chiến lược tốt nhất để kiểm soát dịch bệnh. Nhiều loại vắc-xin phòng TCM đã và đang được phát triển, tuy nhiên nhờ những ưu thế như tính an toàn cao, khả năng miễn dịch tốt và có thể được phát triển nhanh hơn nhờ vào việc tham khảo các công nghệ hiện có, chỉ có vắc-xin toàn phần bất hoạt đang được nghiên cứu và thử nghiệm lâm sàng tại các quốc gia và vùng lãnh thổ như Đài Loan, Singapore,

Hàn Quốc. Vắc-xin của Trung Quốc đã được thương mại hoá nhưng chỉ được sử dụng trong nội địa nước này [3]. Một đặc điểm chung của các vắc-xin này là được phát triển dựa trên đặc điểm của các chủng virus lưu hành tại từng khu vực, điển hình như chủng C4a đã được sử dụng ở Trung Quốc; 2 chủng B3 và B4 tương ứng được sử dụng ở Singapore và Đài Loan [4]. Hiệu quả bảo vệ của chúng đối với các chủng lưu hành tại Việt Nam hầu như chưa được ghi nhận. Trong khi đó, đặc điểm về dịch tễ học phân tử của virus EV71 tại Việt Nam có nhiều điểm khác biệt, các kiểu gen EV71 đã được ghi nhận lại là C1, C4, C5 và B5 [5]. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu chọn lọc chủng EV71 ứng cử và tạo ngân hàng chủng cho việc nghiên cứu sản xuất vắc-xin phòng bệnh TCM do virus EV71 dựa trên chủng đại diện cho các chủng đang lưu hành tại Việt Nam.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

**Chủng virus:** Chủng ứng cử cho vắc-xin EV71 (B5) và chủng để đánh giá phản ứng miễn dịch chéo được phân lập tại Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh, một số chủng dùng trong đánh giá đáp ứng miễn dịch chéo được nhận từ Đơn vị Nghiên cứu lâm sàng của Đại học Oxford (OUCRU).

**Tế bào:** Virus EV71 được nuôi cấy trên dòng tế bào Vero (ECAAC No.88020401).

\*Tác giả liên hệ: Email: vancao.pasteur@gmail.com



# Selection of candidate strains for hand, foot and mouth disease vaccine against enterovirus 71

Thi Yen Nhi Nguyen<sup>1,2</sup>, Tran Ngoc Trinh Vo<sup>1</sup>, Le Quoc Hung Pham<sup>3</sup>,  
Thi Hanh Lan Nguyen<sup>1</sup>, Ngoc Khanh Quynh Hoang<sup>1</sup>,  
Thi Lien Le<sup>1</sup>, Ha Tam Duong Le<sup>1</sup>, Thi Bao Van Cao<sup>1,4\*</sup>

<sup>1</sup>Pasteur Institute Ho Chi Minh City, 167 Pasteur, Vo Thi Sau Ward, District 3, Ho Chi Minh, Vietnam

<sup>2</sup>University of Natural Sciences, Vietnam National University - Ho Chi Minh City,  
227 Nguyen Van Cu, Ward 4, District 5, Ho Chi Minh, Vietnam

<sup>3</sup>Ho Chi Minh City Center for Disease Control, 366A Au Duong Lan, Ward 3, District 8, Ho Chi Minh, Vietnam

<sup>4</sup>Van Cao Institute of Medical Technology, 5 Lane 139, Phu Dien Street, Phu Dien Ward, Bac Tu Liem District, Hanoi, Vietnam

Received 21 March 2022; revised 18 April 2022; accepted 21 April 2022

## Abstract:

The study aimed to select candidate strains from Vietnam for the development of the hand, foot and mouth disease (HFMD) vaccine against enterovirus 71 (EV71). Annual EV71 virus surveillance data of Pasteur Institute in Ho Chi Minh city from 2003 to 2013 was used to predict evolutionary trends. One hundred VP1 sequences of Vietnam strains from the GenBank database were used to evaluate the identity of acid amin sequences and identify the consensus sequences at key epitopes. As a result, the subgenogroup B5 strain named B5-203P-2013 was selected. The strain was adapted on Vero cells by multiple passages and plaque isolated. The strain B5-203P-2013-P10.1 was selected as a candidate strain for the HFMD vaccine due to possessing genetic stability, high titer of  $10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml and cross-neutralising antibody responses against other subgenogroups B5, C4, C5.

**Keywords:** adaptation on Vero cells, cross-neutralising antibody responses, EV71 candidate strain, subgenogroup.

**Classification number:** 3.1

## 2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Phòng Thí nghiệm sinh học phân tử, Khoa Vi sinh miễn dịch, Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh trong thời gian từ năm 2016 đến 2018.

## 2.3. Phương pháp nghiên cứu

**Phân tích xu hướng tiến hoá và so sánh trình tự:** Nghiên cứu sử dụng dữ liệu giám sát EV71 hàng năm đối với virus EV71 của Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh liên tục trong khoảng thời gian từ năm 2003 đến 2013 nhằm đánh giá sự thay đổi các kiểu gen để chọn kiểu gen đại diện. Tiếp theo, chúng tôi sử dụng dữ liệu trình tự vùng gen VP1 của 100 chủng EV71 thuộc

các kiểu gen phụ B5, C1, C4 và C5 lưu hành tại các vùng địa lý khác nhau của Việt Nam từ năm 2003 đến 2013 từ GenBank. Phần mềm BioEdit được sử dụng để so sánh các trình tự tương đồng để nhận diện các kiểu hình tương đồng cao tại các vị trí epitope quan trọng. Chúng có sự tương đồng cao nhất với các chủng khác tại các vị trí này mang các vùng quyết định kháng nguyên phổ biến nhất được chọn làm chủng ứng cử.

**Thích ứng chủng virus trên tế bào Vero và chọn dòng đơn chủng thích ứng:** Quá trình thích ứng được thực hiện thông qua việc cấy chuyển ở độ pha loãng thấp qua nhiều đời cấy chuyển nhằm chọn lọc được các chủng thích nghi với tế bào Vero. Các mẫu sau các đời cấy chuyển được kiểm tra hiệu giá TCID<sub>50</sub>, những mẫu cho hiệu giá tốt tiếp tục được chọn lọc cho đến khi chủng có khả năng phát triển tốt trên tế bào Vero tại mật độ gây nhiễm thấp và có hiệu giá cao (trên  $10^7$  TCID<sub>50</sub>/ml). Tại đời cấy chuyển cuối cùng, các dòng đơn của chủng sẽ được chọn lọc thông qua kỹ thuật tạo plaque.

**Kiểm tra tính ổn định di truyền của chủng thích ứng đã thích nghi:** Trình tự gen VP1 trên chủng ứng cử ban đầu và sau khi thích ứng được khuếch đại bằng phương pháp RT-PCR với cặp mồi đặc hiệu và giải trình tự theo phương pháp Sanger. Các trình tự gen mục tiêu sau đó được xử lý, lắp ráp nhờ sự hỗ trợ của phần mềm CLC Main Workbench 5.5 và BioEdit.

**Kiểm tra tính sinh miễn dịch chéo:** Chủng virus sau khi được thích nghi và chọn lọc được nuôi cấy tăng sinh trên tế bào Vero, dịch virus sau đó được thu hoạch, tinh chế và bất hoạt tạo thành kháng nguyên. Chuột nhắt trắng chủng Balb/c (BioLASCO Taiwan Co., Ltd) 6-8 tuần tuổi (5 con) được tiêm 2 liều kháng nguyên hàm lượng 1 µg phối trộn với tá chất nhôm (Alhydrogel) tại các thời điểm tuần thứ nhất và thứ tư. Chuột được thu máu vào tuần thứ 8, máu được tách huyết thanh để tiến hành đánh giá miễn dịch chéo với các chủng C4, C5, B5 qua phản ứng trung hoà.

Phản ứng trung hoà xác định hiệu giá kháng thể trung hoà virus của các mẫu huyết thanh chuột. Các mẫu huyết thanh chuột được pha loãng bậc 2 từ độ pha loãng 1/10 ban đầu và ủ với 100 TCID<sub>50</sub> virus các chủng C4, C5, B5 trên các đĩa 96 giếng tương ứng đã được cấy tế bào Vero mật độ  $2 \times 10^4$  tế bào/giếng 24 giờ trước đó, ủ ở điều kiện 37°C và 5% CO<sub>2</sub>, ghi nhận dấu hiệu hủy hoại tế bào (cytopathogenic effect) sau 5 ngày gây nhiễm. Hiệu giá kháng thể trung hoà được tính là nghịch đảo của độ pha loãng thấp nhất không ghi nhận dấu hiệu hủy hoại tế bào.

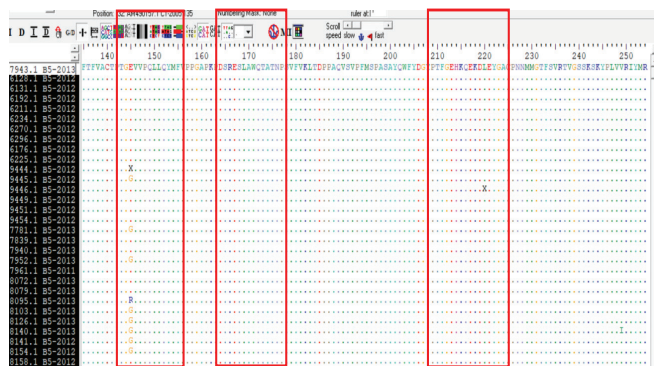
## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Chọn chủng bằng phân tích dữ liệu dịch tễ học phân tử

Dữ liệu phân tích xu hướng tiến hoá của các chủng EV71 tại Việt Nam từ năm 2003 đến 2013 cho thấy, có sự chuyển dịch sự lưu hành của kiểu gen C4 sang kiểu gen B5, trong đó đỉnh điểm của sự hiện diện kiểu gen C4 là năm 2011. Năm 2012 chủng C4 vẫn chiếm ưu thế nhưng có sự xuất hiện và thay thế dần của chủng B5 từ năm 2011 (hình 1). Cho đến năm

| Year | B5 (%) | C1 (%) | C4 (%) | C5 (%) |
|------|--------|--------|--------|--------|
| 2003 | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 2004 | 35     | 0      | 0      | 0      |
| 2005 | 10     | 0      | 0      | 0      |
| 2006 | 5      | 0      | 0      | 0      |
| 2007 | 2      | 0      | 0      | 0      |
| 2008 | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 2009 | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 2010 | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 2011 | 90     | 10     | 0      | 0      |
| 2012 | 95     | 5      | 0      | 0      |
| 2013 | 98     | 2      | 0      | 0      |

Với mục tiêu tạo ra vắc-xin có tính sinh miễn dịch với các chủng EV71 đang và sẽ lưu hành trong tương lai gần, chúng tôi tiến hành phân tích sự tương đồng giữa các vùng epitope quan trọng trên trình tự gen VP1 của một số kiểu gen phụ EV71. Các vùng chứa epitope quan trọng trên phân tử VP1 được biết đến hiện nay bao gồm từ axit amin 41-55, 142-156, 163-177 và 208-225.



Khi tiến hành phân tích trình tự gen VP1 giữa các chủng EV71 đưa vào nghiên cứu, chúng tôi phát hiện vùng epitope trung hòa tại vị trí 208-225 có mức độ bảo tồn cao và giống nhau 100% ở hầu hết các chủng với trình tự YPTFGEHKQEKDLEYGAC (hình 2). Đây là một trong các vùng epitope trung hòa quan trọng và được sử dụng phổ biến trong các nghiên cứu vắc-xin peptit chống lại virus EV71. Các nghiên cứu trước đây cho thấy, huyết thanh kháng SP70 được tổng hợp từ đoạn peptit 208-222 (YPTFGEHKQEKDLEY) giúp bảo vệ 70-80% chuột sơ sinh nhiễm các chủng EV71 mang kiểu gen C2, C4, B2, B4 và B5 tại hiệu giá kháng thể trung hòa 1:32 [6].

Với epitope vùng axit amin 41-55, vị trí 43 mang axit glutamic (E) ở các chủng B5 được hình thành dưới áp lực chọn lọc dương của các chủng B5 lưu hành tại Việt Nam [9]. Các chủng ở kiểu gen C đều mang lysine (K) ở vị trí này.

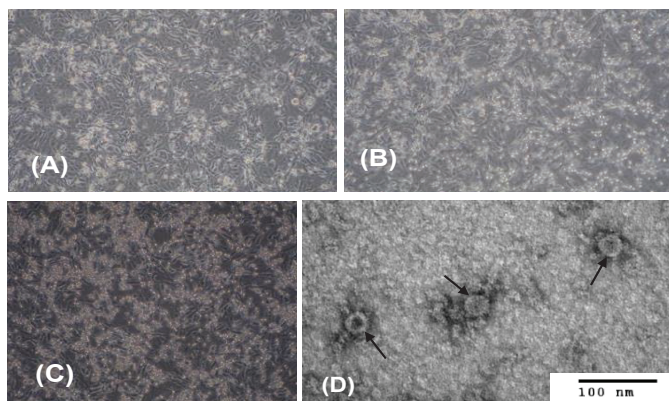
Qua việc so sánh trình tự và tìm vùng bảo tồn ở các vị trí epitope, chúng tôi đã chọn ra 1 chủng B5 (GeneBank KU887943.1) làm chủng ứng cử. Chủng có tên gọi B5-203P-2013 được phân lập từ 1 bệnh nhi có triệu chứng TCM mức độ 2B ở Tiền Giang năm 2013. Chủng này mang trình tự các vùng epitope phổ biến cho phần lớn chủng B5 phân tích cũng như các chủng C1, C4 và C5.

Kết quả cấy chuyển cho thấy hiệu giá và mức độ xâm nhiễm tế bào của chủng chọn lọc tăng dần chứng tỏ sự thích ứng dần của chủng trên tế bào Vero. Độ pha loãng của các đời cấy sau thấp hơn đời cấy trước cho đến khi đạt sự ổn định. Sau 9 lần cấy chuyển, chủng chọn lọc cho hiệu giá cao nhất với  $TCID_{50}$  đạt  $\sim 10^8$   $TICD_{50}/ml$  so với  $10^3$   $TCID_{50}/ml$  của lần cấy đầu tiên (bảng 1).

| Số đời thích ứng | Độ pha loãng     | Hiệu giá virus thu được (TCID <sub>50</sub> /ml) |
|------------------|------------------|--------------------------------------------------|
| 1                | 10 <sup>-2</sup> | 10 <sup>3,2</sup>                                |
| 2                | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>3,2</sup>                                |
| 3                | 10 <sup>-4</sup> | 10 <sup>4,7</sup>                                |
| 4                | 10 <sup>-5</sup> | 10 <sup>6</sup>                                  |
| 5                | 10 <sup>-6</sup> | 10 <sup>7,4</sup>                                |
| 6                | 10 <sup>-6</sup> | 10 <sup>7,7</sup>                                |
| 7                | 10 <sup>-6</sup> | 10 <sup>8,2</sup>                                |
| 8                | 10 <sup>-6</sup> | 10 <sup>8</sup>                                  |
| 9                | 10 <sup>-6</sup> | 10 <sup>8</sup>                                  |

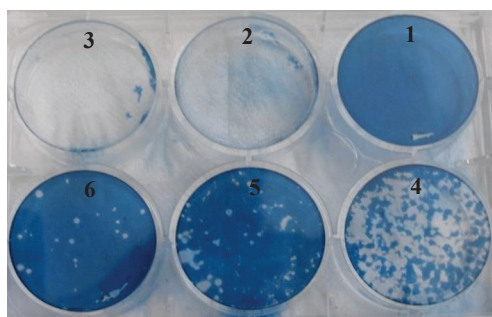


Tại các đời cấy thứ 8 và 9, hiệu giá virus thu được đạt cao nhất sau 96 giờ gây nhiễm khi các tế bào đã bị huỷ hoại gần như hoàn toàn (hình 3).



**Hình 3. Kết quả gây nhiễm của chủng ứng cử.** (A, B, C) Tế bào bị huỷ hoại sau 48, 72 và 96 giờ gây nhiễm; (D) Hình ảnh virus EV71 trong dịch nuôi cấy được chụp dưới kính hiển vi điện tử truyền suốt (vị trí mũi tên).

Sau 9 đời cấy chuyển, chủng đã đạt được độ ổn định về hiệu giá cũng như đạt được hiệu giá tăng sinh đủ cao cho việc sản xuất vắc-xin, chúng tôi tiến hành nuôi cấy tạo plaque cho chủng để chọn dòng đơn bằng phương pháp Plaque assay (hình 4). Plaque mang ký hiệu B5-203P-2013-P10.1 được chọn sản xuất do đạt được hiệu giá trên  $10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml.



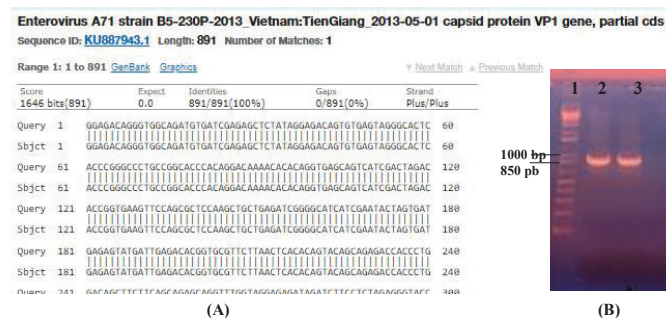
**Hình 4. Kết quả tạo plaque trong đời cấy thứ 10.** Giếng 1 là đối chứng tế bào; giếng 2, 3, 4, 5, 6 tương ứng các nồng độ pha loãng của virus  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  và  $10^{-5}$ .

Việc chọn chủng bằng phương pháp plaque assay đã được nhiều nhóm nghiên cứu ứng dụng trong việc chọn ra những chủng thuần có khả năng tăng sinh tốt đã thích nghi với hệ thống nuôi cấy qua quá trình chọn lọc [11, 12].

### 3.3. Sự ổn định di truyền trên gen VP1

Trình tự gen VP1 trên chủng B5-203P-2013 ban đầu và sau khi thích ứng thành công B5-203P-2013-P10.1 được khuếch đại bằng phương pháp RT-PCR với cặp mồi đặc hiệu. Kết quả điện di sản phẩm khuếch đại trên gel agarose 2% cho thấy, xuất hiện một vạch có kích thước tương ứng với vạch 891 bp trên thang chuẩn (1 Kb Plus DNA Ladder,

Invitrogen (hình 5B). Kết quả phân tích cho thấy, trình tự gen VP1 của mẫu sau 10 đời cấy chuyển (B5-203P-2013-P10.1) tương đồng 100% so với mẫu virus ban đầu (B5-203P-2013) (hình 5).



**Hình 5. Thu nhận gen VP1 của chủng chọn lọc.** (A) Gen VP1 được khuếch đại qua phản ứng PCR; (B) So sánh trình tự gen VP1 của chủng B5-203P-2013-P10.1 sau khi thích ứng thành công trên tế bào Vero.

Như vậy, gen VP1 của chủng B5-203P-2013-P10.1 hoàn toàn ổn định khi thích ứng trên tế bào Vero.

Từ kết quả trên, chủng B5-203P-2013-P10.1 được chọn để tăng sinh làm ngân hàng chủng sản xuất do đạt hiệu giá tăng sinh tốt và ổn định di truyền trên vùng gen VP1.

### 3.4. Khả năng trung hoà chéo của chủng ứng cử

Để kiểm tra khả năng cho đáp ứng miễn dịch chéo của chủng B5-203P-2013-P10.1, chúng tôi chọn đại diện của các kiểu gen khác nhau đã từng lưu hành tại Việt Nam như C1, C4, C5 và B5 để đánh giá.

Kết quả bảng 2 cho thấy, khả năng trung hòa của huyết thanh với các kiểu gen khác nhau đều đạt mức trên 128. Hiện tại, vẫn chưa có sự thống nhất mức kháng thể trung hoà cần thiết ở người là bao nhiêu, tuy nhiên ở chuột, mức kháng thể trung hoà cần cao hơn 128. Đây là mức kháng thể tối thiểu bảo vệ chuột sơ sinh trong các thí nghiệm thử thách với mô hình miễn dịch thụ động trên chuột [13]. Như vậy, huyết thanh từ chuột nhất trắng được tiêm vắc-xin B5-203P-2013-P10.1 có thể cho đáp ứng miễn dịch chéo với các chủng EV71 khác bao gồm C4, C5 và B5, mặc dù khả năng trung hòa chủng C5 kém hơn so với B5 và C4.

**Bảng 2. Khả năng đáp ứng miễn dịch chéo của thể kháng thể 5-203P-2013-P10.1.**

| Chủng virus                       | Trung bình nhân hiệu giá kháng thể trung hòa (GMT) |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------|
| 5-203P-2013-P10.1 (chủng vắc-xin) | 243                                                |
| EV71/B5 VN282-18 (2014)           | 160                                                |
| EV71/C4-11 (2011)                 | 211                                                |
| EV71/C4 VN313-18 (2018)           | 184                                                |
| EV71/C5-11 (2011)                 | 139                                                |



Các đột biến và tái tổ hợp thường xuyên xảy ra trong quá trình tiến hóa của virus EV71, do đó việc phản ứng chéo có thể chống lại nhiều loại virus EV71 khác nhau là một chiến lược quan trọng trong định hướng phát triển vắc-xin. Phản ứng kháng thể trung hòa được xem là một chỉ số quan trọng trong đáp ứng miễn dịch với EV71, thường được sử dụng để đánh giá hiệu quả của vắc-xin. Một trong những tiêu chí đánh giá hiệu quả của một vắc-xin EV71 là kháng thể được tạo ra có khả năng trung hoà các chủng thuộc nhóm gen khác. Vào năm 2020, Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) đã ban hành các khuyến nghị về chất lượng, an toàn và hiệu quả của vắc-xin EV71 bất hoạt. Trong đó có một điều quan trọng nổi bật là cần nghiên cứu khả năng cho phản ứng chéo của kháng thể trung hoà do vắc-xin tạo ra [14]. Một số nghiên cứu đã tập trung vào tìm hiểu tính kháng nguyên của các chủng EV71. Nghiên cứu của K. Mizuta và cs (2009) [15] cho thấy, kiểu gen B kích hoạt được kháng thể trung hoà cho phản ứng chéo với các chủng B2, B4, B5, C1, C2 và C4 mạnh hơn kháng thể của kiểu gen C. Gần đây nhất, nghiên cứu của P. Liu và cs (2021) [10] về kháng thể trung hoà được tạo ra từ 10 kiểu gen A, B0-B4, C2, C4 và C5 được xác định có khả năng trung hoà chéo với chính những chủng này. Kết quả cho thấy, các kiểu gen A, B và C đều tạo ra kháng thể có khả năng trung hoà với các nhóm kiểu gen khác. Tuy nhiên có sự khác nhau về mức độ trung hoà ở các kiểu gen. Tại Việt Nam, sau khi thay thế chủng C4 vào năm 2013, chủng B5 lưu hành rải rác trong cộng đồng cho đến năm 2018 thì chủng C4 quay trở lại chiếm ưu thế và chủng B5 được ghi nhận rải rác [16]. Tuy nhiên, trong một nghiên cứu đánh giá kháng thể trung hoà ở các bệnh nhân TCM Việt Nam, kháng thể của những bệnh nhân nhiễm chủng B5 lưu hành trong giai đoạn 2013-2015 tại Việt Nam cho thấy khả năng trung hoà với chủng C4 của năm 2018 và không có sự khác biệt với khả năng trung hoà với chính chủng B5 [17]. Có thể nhận thấy ở đây là các kiểu gen phụ của EV71 có thể xuất hiện mang tính chu kỳ nên việc giám sát để chọn chủng đại diện phù hợp và có phản ứng chéo với nhiều kiểu gen phụ khác nhau là điều quan trọng.

#### 4. Kết luận

Từ việc phân tích xu hướng tiến hoá và phân tích trình tự tương đồng của các epitope trong vùng gen VP1, qua quá trình thích ứng và chọn dòng đơn trên tế bào Vero, chúng tôi đã thu được chủng mang EV71 có kiểu gen phụ B5 mang tên 5-203P-2013-P10.1 làm chủng ứng cử cho vắc-xin EV71. Chủng này có tính ổn định di truyền so với chủng gốc ban đầu và cho khả năng tăng sinh tốt trên tế bào Vero với hiệu giá  $10^8$  TCID<sub>50</sub>/ml. Đồng thời có khả năng trung hoà chéo với các kiểu gen phụ khác lưu hành tại Việt Nam như B5, C4 và C5.

#### LỜI CẢM ƠN

Chủng sử dụng trong nghiên cứu được phân lập, định danh và cung cấp bởi Phòng Xét nghiệm virus đường ruột,

Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh và Đơn vị Nghiên cứu lâm sàng của Đại học Oxford (OUCRU). Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J. Zhao, F. Jiang, L. Zhong, et al. (2016), "Age patterns and transmission characteristics of hand, foot and mouth disease in China", *BMC Infect. Dis.*, **16**(1), DOI: 10.1186/s12879-016-2008-y.
- [2] P. Chong, C.C. Liu, Y.H. Chow, et al. (2015), "Review of enterovirus 71 vaccines", *Clin. Infect. Dis.*, **60**(5), pp.797-803, DOI: 10.1093/cid/ciu852.
- [3] M.L. Li, B.S. Tolbert, G. Brewer, et al. (2021), "Enterovirus A71 vaccines", *Vaccines (Basel)*, **9**(3), DOI: 10.3390/vaccines9030199.
- [4] S. Esposito, N. Principi (2018), "Hand, foot and mouth disease: Current knowledge on clinical manifestations, epidemiology, aetiology and prevention", *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **37**(3), pp.391-398, DOI: 10.1007/s10096-018-3206-x.
- [5] J.L. Geoghegan, D. Kühnert, R.A. Halpin, et al. (2015), "Phylogenetics of enterovirus A71-associated hand, foot, and mouth disease in Viet Nam", *J. Virol.*, **89**(17), pp.8871-8879, DOI: 10.1128/JVI.00706-15.
- [6] D.G. Foo, S. Alonso, M.C. Phoon, et al. (2007), "Identification of neutralizing linear epitopes from the VP1 capsid protein of enterovirus 71 using synthetic peptides", *Virus Res.*, **125**(1), pp.61-68, DOI: 10.1016/j.virusres.2006.12.005.
- [7] M. Arita, Y. Ami, T. Wakita, et al. (2008), "Cooperative effect of the attenuation determinants derived from poliovirus sabin 1 strain is essential for attenuation of enterovirus 71 in the NOD/SCID mouse infection model", *J. Virol.*, **82**(4), pp.1787-1797, DOI: 10.1128/JVI.01798-07.
- [8] R. Li, Q. Zou, L. Chen, et al. (2011), "Molecular analysis of virulent determinants of enterovirus 71", *PLOS ONE*, **6**(10), DOI: 10.1371/journal.pone.0026237.
- [9] T.T.T. Nguyen, C. Donato, T.H.T. Vu, et al. (2017), "Evolution and spatiotemporal dynamics of enterovirus A71 subgenogroups in Vietnam", *J. Infect. Dis.*, **216**(11), pp.1371-1379, DOI: 10.1093/infdis/jix500.
- [10] P. Liu, Y. Yuan, B. Cui, et al. (2021), "Cross-antigenicity between EV71 sub-genotypes: Implications for vaccine efficacy", *Viruses*, **13**(5), DOI: 10.3390/v13050720.
- [11] Y.F. Tseng, A.Y.C. Hu, M.L. Huang, et al. (2011), "Adaptation of high-growth influenza H5N1 vaccine virus in Vero cells: Implications for pandemic preparedness", *PLOS ONE*, **6**(10), DOI: 10.1371/journal.pone.0024057.
- [12] N.S. Ogando, T.J. Dalebout, J.C.Z. Dobbe, et al. (2020), "SARS-coronavirus-2 replication in Vero E6 cells: Replication kinetics, rapid adaptation and cytopathology", *J. Gen. Virol.*, **101**(9), pp.925-940, DOI: 10.1099/jgv.0.001453.
- [13] C.K. Yu, C.C. Chen, C.L. Chen, et al. (2000), "Neutralizing antibody provided protection against enterovirus type 71 lethal challenge in neonatal mice", *J. Biomed. Sci.*, **7**(6), pp.523-528, DOI: 10.1007/BF02253368.
- [14] D. Lei, E. Griffiths, J. Martin, et al. (2020), "WHO working group meeting to develop WHO recommendations to assure the quality, safety and efficacy of enterovirus 71 vaccines", *Vaccine*, **38**(32), pp.4917-4923, DOI: 10.1016/j.vaccine.2020.05.001.
- [15] K. Mizuta, Y. Aoki, A. Suto, et al. (2009), "Cross-antigenicity among EV71 strains from different genogroups isolated in Yamagata, Japan, between 1990 and 2007", *Vaccine*, **27**(24), pp.3153-3158, DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.03.060.
- [16] N.T.N. Le, T.T.H. Nguyen, N.T.N. Le, et al. (2018), "Severe enterovirus A71 associated hand, foot and mouth disease, Vietnam, 2018: Preliminary report of an impending outbreak", *Eurosurveillance*, **23**(46), DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.46.1800590.
- [17] A.N. Lam, T.T. Tran, N.T.N. Le, et al. (2020), "Neutralizing antibodies against enteroviruses in patients with hand, foot and mouth disease", *Emerg. Infect. Dis.*, **26**(2), pp.298-306, DOI: 10.3201/eid2602.190721.

# Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết từ lá loài Dương đồng bắc (*Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels)

Nguyễn Hữu Quân\*, Nguyễn Thị Ngọc Lan, Nguyễn Thị Thu Nga, Sỹ Danh Thường, Chu Hoàng Mậu

Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên, 20 đường Lương Ngọc Quyến, thành phố Thái Nguyên, Việt Nam

Ngày nhận bài 20/5/2021; ngày chuyển phản biện 24/5/2021; ngày nhận phản biện 24/6/2021; ngày chấp nhận đăng 2/7/2021

## Tóm tắt:

Dương đồng bắc có tên khoa học là *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels, thuộc chi Dương đồng phân bố ở tỉnh Lào Cai, Việt Nam. Một số loài thuộc chi Dương đồng đã được nghiên cứu về đặc điểm thực vật và các chất có hoạt tính sinh học trong cây, tuy nhiên cho đến nay loài Dương đồng bắc chưa được tác giả nào nghiên cứu. Do đó, nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết từ lá loài này là công trình đầu tiên và cần thiết trong thực tiễn. Cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc có chứa nhóm chất polyphenol, tanin và coumarin. Cao ethanol, dichloromethan và ethyl acetat ở nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. subtilis*, *L. plantarum* và *S. macescens*. Cao ethanol, dichloromethane và ethyl acetate có hoạt tính khử gốc tự do DPPH mạnh, giá trị  $EC_{50}$  lần lượt đạt 0,2, 0,47 và 5,7 µg/ml. Cao ethanol có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư dạ dày, phổi và vú với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 58,62, 48,73 và 43,15 µg/ml. Kết quả này cho thấy, loài Dương đồng bắc là cây trồng tiềm năng bởi chứa nhiều hợp chất có khả năng kháng khuẩn, kháng oxy hóa và ức chế các dòng tế bào ung thư.

**Từ khóa:** cao tổng, chống oxy hóa, Dương đồng bắc, kháng khuẩn, kháng tế bào ung thư.

**Chỉ số phân loại:** 3.4

## Đặt vấn đề

Việt Nam là quốc gia có đa dạng sinh học phong phú và tiềm năng cao về cây dược liệu. Tuy nhiên, có nhiều loài chưa được nghiên cứu về tầm quan trọng và giá trị làm thuốc của chúng, đặc biệt là các loài thuộc chi Dương đồng. Ở Việt Nam, chi Dương đồng có khoảng 14 loài, phân bố rải rác khắp cả nước [1]. Loài *Adinandra lienii* trước đây được nghiên cứu về vị trí phân bố địa lý, đặc điểm thực vật học và trình tự gen *matK*, vùng ITS giúp nhận diện loài [2, 3]. Ngoài ra, thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn từ lá của loài *A. lienii* được chứng minh có hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa và ức chế một số dòng tế bào ung thư [4]. T.T.N Nguyen và cs (2020) [5] đã nghiên cứu về loài *A. megaphylla* Hu và nhận thấy cao chiết từ lá của loài này có chứa các hợp chất polyphenol, coumarin; đồng thời chứng minh cao chiết từ lá có hoạt tính kháng khuẩn, khử gốc tự do và ức chế dòng tế bào ung thư vú, dạ dày, phổi. Như vậy, các nghiên cứu ở Việt Nam hiện nay tập trung chủ yếu vào *A. lienii* và *A. megaphylla* là các loài phân bố chủ yếu ở khu vực miền núi phía Bắc.

Dương đồng bắc hay còn gọi là Hồng đạm Tam Đảo, có tên khoa học là *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels, thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ Chè (*Theaceae*). Dương đồng bắc là cây thân gỗ, cao 2-6 m và thường mọc trên sườn núi hoặc trong thung lũng, nơi có độ cao 200-1500 m. Loài Dương đồng bắc chỉ phân bố ở Trung Quốc và Việt Nam. Hiện nay, chưa có bất kỳ công trình nghiên cứu nào về loài này. Vậy loài Dương đồng bắc có hay không có hợp chất có khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng tế bào ung thư và nếu có thì là những hợp chất thứ cấp nào? Đây chính là câu hỏi đặt ra cho

nghiên cứu này và cũng là nghiên cứu đầu tiên về loài Dương đồng bắc để trả lời câu hỏi trên. Nghiên cứu tiến hành tách cao chiết, định tính thành phần hóa học của loài Dương đồng bắc và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng tế bào ung thư của cao chiết thu được.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu và môi trường nuôi cấy

Loài Dương đồng bắc sử dụng trong nghiên cứu được thu tại Khu bảo tồn thiên nhiên Hoàng Liên - Văn Bàn thuộc xã Liềm Phú, huyện Văn Bàn, tỉnh Lào Cai vào tháng 8/2019 ở độ cao 800 m, tọa độ 21°59'15"N, 104°19'28"E. Tên khoa học của loài được xác định bởi PGS.TS Sỹ Danh Thường, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên (hình 1). Loài Dương đồng bắc thu thập được sự cho phép của Ban quản lý Khu bảo tồn thiên nhiên Hoàng Liên - Văn Bàn. Mẫu lá được sử dụng để tạo cao chiết và nghiên cứu các bước tiếp theo.



**Hình 1. Hình ảnh của loài Dương đồng bắc sử dụng trong nghiên cứu. (A) Mặt sau của lá; (B) Cảnh mang nụ (ảnh được chụp bởi nhóm tác giả trong quá trình thu mẫu).**

\*Tác giả liên hệ: Email: quannh@tnue.edu.vn

# Chemical composition and biological activity of leaf extracts of *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels

Huu Quan Nguyen\*, Thi Ngoc Lan Nguyen,  
Thi Thu Nga Nguyen, Danh Thuong Sy, Hoang Mau Chu

Department of Biology, Thai Nguyen University of Education,  
20 Luong Ngoc Quyen Street, Thai Nguyen City, Vietnam

Received 20 May 2021; revised 24 June 2021; accepted 2 July 2021

## Abstract:

*Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels collected in Lao Cai province, Vietnam belongs to the *Adinandra* genus. Some species of the genus *Adinandra* have been studied for their botanical characteristics and bioactive compounds, however, *A. bockiana* has not been studied to date. Therefore, studying the chemical composition and biological activity of *A. bockiana* leaf extracts is pioneering and necessary in reality. The leaf extracts of *A. bockiana* have been quantified and determined to contain tannins, coumarins and polyphenolic compounds. The ethanol extract, dichloromethane extract and ethyl acetate extract at the concentrations 20, 60, and 200 µg/ml can inhibit the growth of *B. subtilis*, *L. plantarum*, and *S. marcescens*. The ethanol extract, dichloromethane extract and ethyl acetate extract have free radical reduction activity, which  $EC_{50}$  values reached 0.2, 0.47, and 5.7 µg/ml, respectively. The ethanol extract exhibited inhibitory activities on gastric, lung, and breast cancer cell lines with  $IC_{50}$  values of 58.62, 48.73, and 43.15 µg/ml, respectively. The results show that *A. bockiana* is a potential plant that contains many compounds that have antibacterial, antioxidant, and anticancer activities.

**Keywords:** *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels, antibacterial, anti-cancer, antioxidant, total leaf extract.

**Classification number:** 3.4

Các loài vi khuẩn kiểm định *B. subtilis*, *S. marcescens* và *L. plantarum* do Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên cung cấp. Môi trường LB để nuôi cấy vi khuẩn kiểm định có thành phần gồm cao nấm men 0,5%, NaCl 1,0%, pepton 1,0%. Môi trường LB đặc bổ sung 2,0% thạch agar.

Các dòng tế bào ung thư gồm: MDA-MB-231 (ung thư vú), AGS (ung thư dạ dày) và A549 (ung thư phổi) được sử dụng để xác định hoạt tính gây độc tế bào do Phòng Thử nghiệm sinh học, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam cung cấp.

## 2.2. Phương pháp điều chế mẫu thử hoạt tính

Lá của loài Dương đồng hồ thu hái được rửa sạch và thái nhỏ, phơi trong bóng mát, sấy khô ở nhiệt độ 50°C đến khối

lượng không đổi, sau đó đem nghiền nhỏ. Mẫu nghiền được ngâm chiết hai lần bằng ethanol trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng số được cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ <50°C và thu được cặn cô ethanol. Cặn cô ethanol được pha loãng bằng nước cất, sau đó chiết phân bố lần lượt với các dung môi là dichloromethan và ethyl acetat. Sau khi cất đuổi dung môi thu được cặn dịch dichloromethan, ethyl acetat và cặn chiết. Các cặn dịch thu được sẽ sấy khô ở nhiệt độ 50°C và thu được cao sấy khô tương ứng. Các cao chiết được cho vào bình thủy tinh, ghi nhãn, đậy kín và bảo quản ở nhiệt độ thường để sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.

## 2.3. Định tính các hợp chất có trong cao ethanol

**Định tính polyphenol:** Phản ứng với muối sắt (III), lấy 5 ml cao ethanol cho vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho thêm 0,5 ml muối sắt (III) vào ống II và quan sát hiện tượng. Tùy theo số lượng và vị trí nhóm hydroxyl trong phân tử polyphenol mà cho màu lục, xanh hoặc nâu. Phản ứng với dung dịch  $H_2SO_4$  đặc, lấy 2 ml cao ethanol vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho thêm 1-2 giọt  $H_2SO_4$  đặc vào ống II và quan sát hiện tượng. Khi nhỏ  $H_2SO_4$  đặc lên các dẫn xuất của flavon và flavonol thì cho màu vàng đậm; đối với chalcon và auron cho màu đỏ, đỏ thẫm và đỏ tươi; flavanon cho màu đỏ da cam do sự chuyển thành chalcon.

**Định tính các coumarin:** Lấy 2 ml cao ethanol vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho vào ống II 0,5 ml dung dịch NaOH 10%. Đun cả 2 ống trên bếp cách thủy đến sôi, lấy ra để nguội, sau đó cho thêm 4 ml nước cất vào cả 2 ống I và II. Quan sát thấy chất lỏng ở ống II (có kiềm) trở nên trong suốt hoặc trong hơn ống I (không kiềm) có thể xem là có coumarin. Nếu đem axit hóa ống nghiệm có kiềm bằng một vài giọt HCl đặc mà làm cho dịch mất màu vàng đục hoặc xuất hiện kết tủa bông (cũng có khi xuất hiện kết tủa) thì có thể kết luận có coumarin [6].

**Định tính tannin:** Lấy 2 ml cao ethanol vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho thêm thuốc thử vanilin/ $H_2SO_4$  vào ống I lắc đều và quan sát. Nếu dịch chiết chuyển sang màu đỏ đậm là chứng tỏ có tannin.

## 2.4. Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết

Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ lá của loài Dương đồng hồ được xác định bằng phương pháp đục lỗ thạch theo B. Mahesh và cs (2008) [7]. Các loài vi khuẩn kiểm định được nuôi hoạt hóa trong môi trường LB lỏng ở 28°C, lắc 200 vòng/phút trong thời gian 8h. Hút 70 µl dịch nuôi mỗi loài vi khuẩn đã được hoạt hóa lên đĩa môi trường LB đặc và trải đều trên mặt thạch cho đến khi khô. Đục các giếng có đường kính 10 mm trên đĩa thạch và nhỏ 100 µl cao chiết mỗi loại từ lá của loài Dương đồng hồ vào giếng ở các nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml (giếng đối chứng bổ sung Dimethyl sulfoxide (DMSO)). Đặt các đĩa petri đã bổ sung dịch vào tủ lạnh 4°C khoảng 1-2 giờ rồi đặt vào tủ ẩm nuôi ở 30°C, từ 18 đến 24 giờ. Đo đường kính vòng



kháng khuẩn, chụp hình và ghi lại kết quả. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đường kính vòng kháng khuẩn được xác định theo công thức:  $H = D - d$  (mm). Trong đó: D là đường kính vòng kháng khuẩn (mm); d là đường kính giếng thạch (mm).

### 2.5. Phương pháp xác định khả năng chống oxy hóa DPPH

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bố được xác định theo phương pháp của J. Tabart và cs (2009) [8] sử dụng khả năng trung hòa gốc tự do DPPH. 100  $\mu$ l cao chiết mỗi loại ở các nồng độ 0,5, 2, 8, 32 và 64  $\mu$ g/ml được bổ sung 2,9 ml dung dịch DPPH nồng độ 0,1 mM pha trong dung dịch methanol, lắc đều và để yên trong 30 phút, sau đó đo ở bước sóng 517 nm. Khả năng khử gốc tự do DPPH được tính theo công thức sau:

$$\text{Khả năng khử gốc tự do DPPH (\%)} = 100 \times (A_c - A_s) / A_c$$

trong đó:  $A_c$  là độ hấp thụ quang của mẫu đối chứng;  $A_s$  là độ hấp thụ quang của mẫu cần xác định. Khả năng chống oxy hóa được xác định dựa vào giá trị  $EC_{50}$  (là nồng độ mẫu có khả năng khử gốc tự do DPPH đạt 50%).

### 2.6. Phương pháp xác định tính độc tế bào ung thư nuôi cấy dạng đơn lớp

Thử độ độc tế bào ung thư *in vitro* được xác định theo phương pháp của A. Monks và cs (1991) [9]. Cao chiết từ lá của loài Dương đồng bố được chuẩn bị và thử nghiệm ở 4 nồng độ 100, 20, 4 và 0,8 mg/ml. Chất tham khảo Ellipticine ở các nồng độ 10, 2, 0,4 và 0,08  $\mu$ g/ml được sử dụng như là chất đối chứng dương. DMSO ở nồng độ 10% được sử dụng như là chất đối chứng âm. Hàm lượng protein tổng số của tế bào được xác định dựa vào mật độ quang học (OD) đo được khi thành phần protein của tế bào được nhuộm bằng Sulforhodamine B (SRB). Giá trị OD được đọc ở bước sóng 515 nm trên máy ELISA Plate Reader. Giá trị OD máy đo được tỷ lệ thuận với lượng SRB gắn với phân tử protein. Giá trị OD càng lớn thì hàm lượng tế bào và hàm lượng protein càng nhiều. Khả năng gây độc tế bào được xác định bằng nồng độ của chất ức chế 50% sự phát triển của tế bào. Nồng độ ức chế 50% tế bào ( $IC_{50}$ ) được xác định là nồng độ của mẫu ức chế được 50% tế bào, các gốc tự do hoặc enzyme. Chất chuẩn được coi có hoạt tính tốt khi  $IC_{50} = 5 \mu$ M [10].

Cả 4 chất DPPH, Ellipticine, DMSO, SRB được chúng tôi sử dụng là chất tinh khiết, được cung cấp từ Hãng Sigma Aldrich và sử dụng làm chất chuẩn, cũng như để pha cao chiết.

## 3. Kết quả

### 3.1. Định tính các hợp chất có trong lá của loài Dương đồng bố

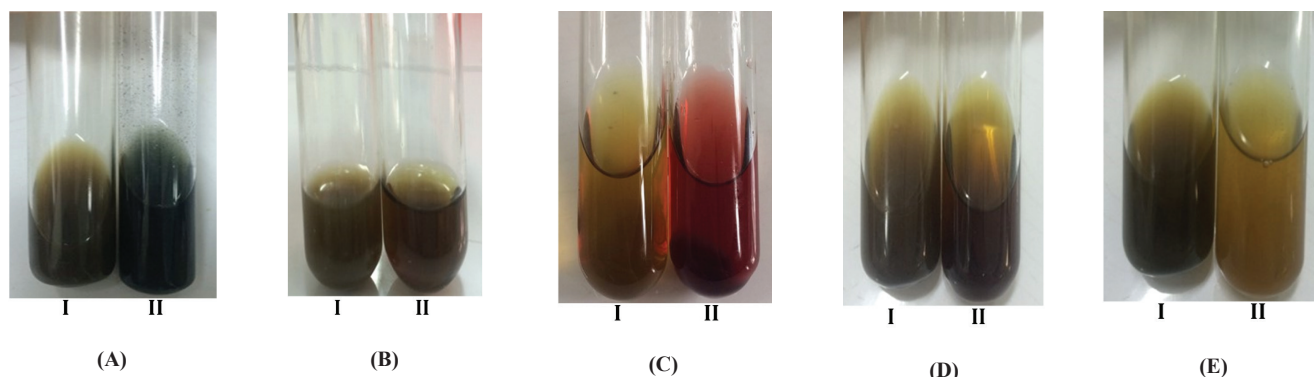
**Định tính polyphenol:** Cao ethanol từ lá của loài Dương đồng bố được định tính bằng thuốc thử với muối sắt (III), nhận thấy dung dịch trong ống nghiệm II chuyển sang màu xanh lục và khác so với màu của ống nghiệm I (hình 2A). Khi định tính bằng  $H_2SO_4$  đặc, dung dịch trong ống nghiệm II chuyển sang màu nâu đậm hơn màu của ống nghiệm I (hình 2B). Như vậy, trong lá của loài Dương đồng bố có chứa nhóm chất polyphenol.

**Định tính các tannin:** Cao ethanol từ lá của loài Dương đồng bố được định tính bằng thuốc thử vanilin trong  $H_2SO_4$  làm cho dung dịch trong ống nghiệm II có màu đỏ khác so với màu của ống nghiệm I (hình 2C). Như vậy, trong lá của loài Dương đồng bố có chứa nhóm chất tannin.

**Định tính các coumarin:** Kết quả hình 2D nhận thấy, khi cho 0,5 ml NaOH 10% vào ống nghiệm II, đem đun cả 2 ống nghiệm trên bếp cách thủy, sau khi làm nguội và cho thêm 4 ml nước cất vào cả hai ống thì dung dịch ống II trở nên trong hơn. Sau khi cho vài giọt dung dịch HCl đặc vào cả hai ống nghiệm thì ống II mất màu vàng đục (hình 2E). Từ kết quả định tính cho thấy, trong lá của loài Dương đồng bố có chứa nhóm coumarin. Các nhóm hợp chất polyphenol, tannin và coumarin có ý nghĩa trong việc ứng dụng làm thuốc chữa bệnh và kết quả này là cơ sở để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo về loài Dương đồng bố.

### 3.2. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bố

Hoạt tính kháng khuẩn của cao ethanol, ethyl acetat và dichloromethan từ lá của loài Dương đồng bố được trình bày

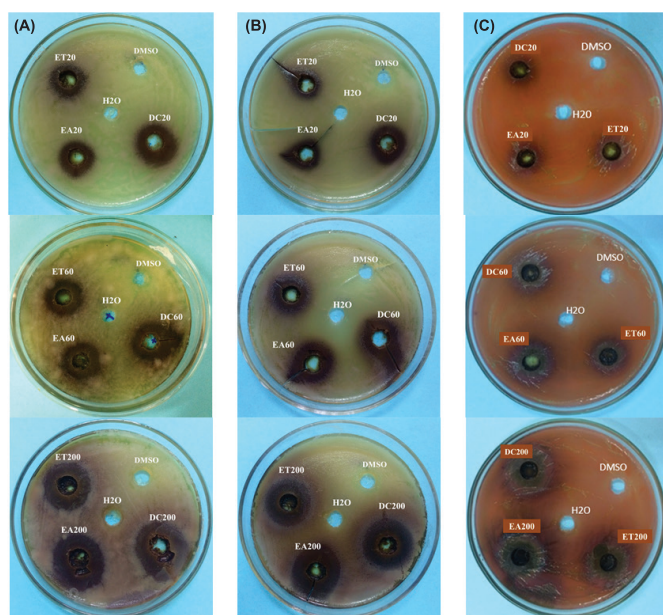


**Hình 2. Kết quả định tính polyphenol (A, B), tannin (C) và coumarin (D, E) trong cao chiết ethanol từ lá của loài Dương đồng bố.** (A) Phản ứng với muối sắt III; (B) Phản ứng với dung dịch  $H_2SO_4$  đặc; (C) Phản ứng với dung dịch vanilin/ $H_2SO_4$ ; (D) Phản ứng với NaOH; (E) Phản ứng với HCl đặc; I: cao ethanol toàn phần ban đầu; II: cao ethanol sau phản ứng.

ở bảng 1. Cao ethanol, ethyl acetat và dichloromethan đều có hoạt tính kháng vi khuẩn *B. subtilis* (hình 3A), *L. plantarum* (hình 3B) và *S. marcescens* (hình 3C) ở cả 3 nồng độ khảo sát. Hoạt tính kháng khuẩn tăng từ nồng độ 20 đến 60 µg/ml và mạnh nhất là nồng độ 200 µg/ml. Đường kính vòng kháng khuẩn đạt 6,7-24 mm đối với vi khuẩn *B. subtilis*; 3-21,3 mm đối với vi khuẩn *L. plantarum* và 2,0-14,3 mm đối với vi khuẩn *S. marcescens*. Trong đó, cao dichloromethane ở nồng độ 200 µg/ml có hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn so với cao ethanol và cao ethyl acetate.

**Bảng 1. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ loài Dương đồng bắc.**

| Vi khuẩn             | Đường kính vòng kháng khuẩn (mm) |         |          |         |          |          |         |          |          |
|----------------------|----------------------------------|---------|----------|---------|----------|----------|---------|----------|----------|
|                      | ET20                             | ET60    | ET200    | EA20    | EA60     | EA200    | DC20    | DC60     | DC200    |
| <i>B. subtilis</i>   | 6,7±0,3                          | 7,7±0,3 | 15,7±0,3 | 7,3±0,3 | 11,0±0,6 | 22,3±0,3 | 9,3±0,3 | 13,3±0,3 | 24,0±0,6 |
| <i>S. marcescens</i> | 2,0±0,1                          | 7,3±0,3 | 13,0±0,6 | 5,0±0,6 | 6,3±0,3  | 14,0±0,6 | 8,3±0,3 | 11,0±0,6 | 14,3±0,7 |
| <i>L. plantarum</i>  | 3,0±0,6                          | 6,3±0,3 | 15,7±0,3 | 5,0±0,6 | 3,7±0,3  | 20,7±0,3 | 5,3±0,3 | 7,0±0,6  | 21,3±0,3 |



**Hình 3. Hoạt tính kháng vi khuẩn *B. subtilis* (A), vi khuẩn *L. plantarum* (B) và vi khuẩn *S. marcescens* (C) của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc.** DMSO và H<sub>2</sub>O là đối chứng; ET20, ET60, ET200: cao ethanol lần lượt ở các nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml; EA20, EA60, EA200: cao ethyl acetat lần lượt ở các nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml; DC20, DC60, DC200: cao dichloromethan lần lượt ở các nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml.

### 3.3. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc

Trong nghiên cứu này, cao ethyl acetat, dichloromethan và ethanol từ lá của loài Dương đồng bắc được chúng tôi thử nghiệm hoạt tính khử gốc tự do DPPH. Kết quả bảng 2 cho thấy, hiệu quả khử gốc tự do DPPH của cao ethyl acetat, dichloromethan và ethanol tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết,

khi nồng độ cao chiết tăng từ 0,5 đến 128 µg/ml thì hiệu quả khử gốc tự do cũng tăng dần từ 0 đến 89,8%. Cao ethyl acetate có hoạt tính mạnh nhất thể hiện ở nồng độ khử gốc tự do DPPH với giá trị EC<sub>50</sub> là 0,2 µg/ml, tiếp đến là cao dichloromethan (giá trị EC<sub>50</sub> là 0,47 µg/ml) và cao ethanol (giá trị EC<sub>50</sub> đạt 5,7 µg/ml). Tuy nhiên, ở nồng độ 128 µg/ml, hoạt tính khử gốc tự do của cao dichloromethan cao nhất đạt 89,8%; tiếp đến là cao ethyl acetat (đạt 84,1%) và cao ethanol (đạt 71,5%).

**Bảng 2. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc.**

| Nồng độ (µg/ml)          | Khả năng khử gốc tự do DPPH (%) |                    |             |
|--------------------------|---------------------------------|--------------------|-------------|
|                          | Cao ethyl acetat                | Cao dichloromethan | Cao ethanol |
| 0,5                      | 83,4                            | 53,0               | 0,0         |
| 2,0                      | 84,4                            | 71,0               | 1,4         |
| 8,0                      | 87,9                            | 88,6               | 70,1        |
| 32                       | 87,7                            | 89,1               | 77,9        |
| 128                      | 84,1                            | 89,8               | 71,5        |
| EC <sub>50</sub> (µg/ml) | 0,2                             | 0,47               | 5,7         |

### 3.4. Hoạt tính kháng tế bào ung thư của cao ethanol từ loài Dương đồng bắc

Kết quả bảng 3 cho thấy, cao ethanol từ loài Dương đồng bắc có khả năng ức chế sự phát triển của ba dòng tế bào ung thư MDA-MB-231 (ung thư vú), AGS (ung thư dạ dày) và A549 (ung thư phổi) với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt đạt 43,15±2,39, 58,62±1,45 và 48,73±3,76 µg/ml. Trong đó, hiệu quả ức chế của cao ethanol trên dòng tế bào ung thư vú là lớn nhất, tiếp đến là dòng tế bào ung thư phổi và thấp nhất là dòng tế bào ung thư dạ dày. Như vậy, cao ethanol từ loài Dương đồng bắc có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư vú, ung thư dạ dày và ung thư phổi. Kết quả nghiên cứu này làm cơ sở để phân lập các hợp chất tinh khiết từ cao ethanol có khả năng ức chế các dòng tế bào ung thư trong điều kiện *in vitro*.

**Bảng 3. Tác động gây độc tế bào ung thư của cao ethanol từ lá của loài Dương đồng bắc.**

| Nồng độ (µg/ml)  | % ức chế sự phát triển của dòng tế bào |                      |                         |
|------------------|----------------------------------------|----------------------|-------------------------|
|                  | A549 (ung thư phổi)                    | AGS (ung thư dạ dày) | MDA-MB-231 (ung thư vú) |
| 100              | 93,20±1,50                             | 85,08±1,23           | 91,20±1,59              |
| 20               | 24,32±1,31                             | 18,48±0,75           | 27,72±1,47              |
| 4                | 14,81±0,67                             | 11,22±0,98           | 10,49±0,62              |
| 0,8              | 6,07±0,93                              | 3,64±1,02            | 0,62±1,29               |
| IC <sub>50</sub> | 48,73±3,76                             | 58,62±1,45           | 43,15±2,39              |

## 4. Bàn luận

Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh, một số loài thuộc chi Dương đồng có chứa các hợp chất hóa học có hoạt tính sinh học. H. Gao và cs (2010) [11] đã phân lập được camellianin A, một loại flavonoid từ lá của loài *Adinandra nitida* và đã chứng minh chất này có hoạt tính ức chế sự tăng sinh và quá trình apoptosis của tế bào ung thư gan (Hep G2) và tuyến vú (MCF-7).

Một số hợp chất dị vòng chứa coumarin có liên quan đến các đặc tính như chống viêm [12], kháng khuẩn [13], kháng virus [14] và chống ung thư [15]. Ngoài ra, coumarin cũng thể hiện tác dụng gây độc tế bào ung thư đối với các tế bào Hep2 (loại tế bào biểu mô người), ảnh hưởng tới quá trình apoptosis, sự biến mất của lớp màng vi nhung mao, làm giảm hàm lượng huyết tương của tế bào chất và sự phân hủy nhân [16]. Cao chiết từ lá của loài Sum liên (*A. lienii*) có chứa nhóm chất polyphenol, flavonoid và coumarin. Cao ethanol, ethyl acetat và dichloromethan ức chế sự phát triển của các loài vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis*, *S. marcescens*, *Sarcina lutea*, *L. plantarum* và *E. coli* ở nồng độ 200 µg/ml. Trong đó, cao dichloromethan có hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn so với cao ethanol và ethyl acetat [4]. Cao chiết từ lá của loài Sum lá lớn (*A. megaphylla* Hu) chứa các hợp chất polyphenol, coumarin; đồng thời cao ethanol, ethyl acetat và dichloromethan có hoạt tính ức chế các loài vi khuẩn *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. marcescens*, *S. lutea*, *L. plantarum* và *E. coli*. Cao ethyl acetat và ethanol có hoạt tính khử gốc tự do DPPH, giá trị  $EC_{50}$  lần lượt đạt 30,3 và 33,2 µg/ml. Cao dichloromethane có hoạt tính khử gốc tự do rất yếu, giá trị  $EC_{50} > 128$  µg/ml. Cao ethanol ức chế 3 dòng tế bào ung thư dạ dày, ung thư phổi và ung thư gan với giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là 67,76, 77,02 và 84,46 µg/ml [5].

Trong nghiên cứu này, cao ethanol từ lá của loài Dương đồng bồ có chứa các nhóm chất polyphenol, tanin và coumarin. Cao ethanol, dichloromethan và ethyl acetat ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. subtilis*, *L. plantarum* và *S. marcescens*. Cao ethyl acetat, dichloromethan và ethanol có hoạt tính khử gốc tự do DPPH mạnh, giá trị  $EC_{50}$  lần lượt là 0,2, 0,47 và 5,7 µg/ml. Cao ethanol ức chế 3 dòng tế bào ung thư vú, ung thư dạ dày và ung thư phổi, giá trị  $IC_{50}$  lần lượt đạt 43,15, 58,62 và 48,73 µg/ml. Như vậy, nghiên cứu này phù hợp về thành phần và hoạt tính sinh học với các nghiên cứu đã công bố. Tuy nhiên, hoạt tính kháng khuẩn, hoạt tính khử gốc tự do và ức chế các dòng tế bào ung thư của cao chiết từ loài Dương đồng bồ trong nghiên cứu này mạnh hơn so với loài Sum liên và Sum lá lớn.

## 5. Kết luận

Nghiên cứu đã chứng minh được cao chiết từ lá của loài Dương đồng bồ có chứa hợp chất polyphenol, tanin và coumarin. Ở nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml cao ethanol, dichloromethan và ethyl acetat đều ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. subtilis*, *L. plantarum* và *S. marcescens*. Cao ethyl acetat, dichloromethan và ethanol có hoạt tính khử gốc tự do DPPH mạnh, giá trị  $EC_{50}$  lần lượt là 0,2, 0,47 và 5,7 µg/ml. Cao chiết ethanol từ lá của loài Sum lá lớn có hoạt tính ức chế 3 dòng tế bào ung thư vú, ung thư dạ dày và ung thư phổi, giá trị  $IC_{50}$  lần lượt đạt 43,15, 58,62 và 48,73 µg/ml. Kết quả nghiên cứu đã chứng minh Dương đồng bồ là loài thực vật tiềm năng chứa các chất có hoạt tính sinh học và hứa hẹn phân lập được các chất sạch có hoạt tính sinh học từ loài thực vật này.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển KH&CN quốc gia (NAFOSTED) thông qua đề tài mã số 106.02-2018.338. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H.H. Pham (1999), *An Illustrate Flora of Vietnam*, Young Publishing (in Vietnamese).
- [2] H.Q. Nguyen, T.T.G. Kieu (2019), "Use of matK DNA barcode to identify *Adinandra* samples collected at Lao Cai, Vietnam", *TNU Journal of Science and Technology*, **197**(4), pp.205-210 (in Vietnamese).
- [3] H.Q. Nguyen, P.D. Le, D.T. Sy, et al. (2019), "Studying of anatomical characteristics and sequence of *ITS* gene from *Adinandra lienii*", *CASEAN-6 Proceedings*, pp.153-159 (in Vietnamese).
- [4] H.Q. Nguyen, T.K.P. Than, H.M. Chu (2019), "Study on chemical composition and antibacteria activity of extracts total from leaves of *Adiandra lienii* species", *Proceedings National Biotechnology Conference 2019*, pp.178-182 (in Vietnamese).
- [5] L.T.N. Nguyen, Q.H. Nguyen, N.T.T. Nguyen, et al. (2020), "Antibacterial, antioxidant and anti - Cancerous activities of *Adiandra megaphylla* Hu leaf extracts", *Biosc. Biotech. Res. Comm.*, **13**(3), pp.1015-1020, DOI:10.21786/bbrc/13.3/5.
- [6] T.A. Nguyen, T.H. Bui (2008), "Study on Flavonoid and Coumarin components of drugs in dispersion method", *Journal of Pharmacy*, **368**, pp.37-40 (in Vietnamese).
- [7] B. Mahesh, S. Satish, H. Drug (2008), "Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens", *World J. Agric. Sci.*, **4**(S), pp.839-843.
- [8] J. Tabart, C. Kevers, J. Pincemail, et al. (2009), "Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests", *Food Chem.*, **113**(4), pp.1226-1233, DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.08.013.
- [9] A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan, et al. (1991), "Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines", *Journal of the National Cancer Institute*, **83**(11), pp.757-766, DOI: 10.1093/jnci/83.11.757.
- [10] J.P. Hughes, S. Rees, S.B. Kalindjian, et al. (2011), "Principles of early drug discovery", *Br.J. Pharmacol.*, **162**(6), pp.1239-1249, DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01127.x.
- [11] H. Gao, B. Liu, F. Liu, et al. (2010), "Anti-proliferative effect of camellianin A in *Adinandra nitida* leaves and its apoptotic induction in human hep G2 and MCF-7 Cells", *Molecules*, **15**(6), pp.3878-3886, DOI: 10.3390/molecules15063878.
- [12] R.E. Hagggar, R.I.A. Wabli (2015), "Anti-Inflammatory screening and molecular modeling of some novel coumarin derivatives", *Molecules*, **20**(4), pp.5374-5391, DOI: 10.3390/molecules20045374.
- [13] Y. Shi, C. Zhou (2011), "Synthesis and evaluation of a class of new coumarin triazole derivatives as potential antimicrobial agents", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **21**(3), pp.956-960, DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.12.059.
- [14] S.C. Tsay, J.R. Hwu, R. Singha, et al. (2014), "Coumarins hinged directly on benzimidazoles and their ribofuranosides to inhibit hepatitis C virus", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **63**, pp.290-298, DOI: 10.1016/j.ejmech.2013.02.008.
- [15] Y. Jacquot, I. Laïos, A. Cleeren, et al. (2007), "Synthesis, structure, and estrogenic activity of 4-amino-3-(2-methylbenzyl)coumarins on human breast carcinoma cells", *Bioorg. Med. Chem.*, **15**(6), pp.2269-2282, DOI: 10.1016/j.bmc.2007.01.025.
- [16] S. Mirunalini, K. Deepalakshmi, J. Manimozhi (2014), "Antiproliferative effect of coumarin by modulating oxidant/antioxidant status and inducing apoptosis in Hep2 cells", *Biomed. Aging Pathol.*, **4**(2), pp.131-135, DOI: 10.1016/j.biomag.2014.01.006.



# Đánh giá khả năng ức chế các đích phân tử virus SARS-CoV-2 của các hợp chất trong cây Xuyên tâm liên bằng phương pháp docking phân tử

Tạ Thị Thu Hằng<sup>1</sup>, Nguyễn Bảo Kim<sup>1</sup>, Nguyễn Hồng Nhung<sup>1</sup>, Vũ Khánh Linh<sup>1</sup>, Đỗ Thị Hồng Khánh<sup>1</sup>, Phan Văn Ngọc<sup>2</sup>, Nguyễn Thanh Hải<sup>1</sup>, Bùi Thanh Tùng<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, phường Dịch Vọng Hậu, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Công ty Cổ phần Dược phẩm Quảng Bình, 46 Hữu Nghị, phường Bắc Lý, thành phố Đồng Hới, tỉnh Quảng Bình, Việt Nam

Ngày nhận bài 4/7/2022; ngày chuyển phản biện 8/7/2022; ngày nhận phản biện 20/7/2022; ngày chấp nhận đăng 25/7/2022

## Tóm tắt:

COVID-19 là một bệnh truyền nhiễm liên quan đến viêm đường hô hấp cấp do virus SARS-CoV-2 gây ra. Cơ chế xâm nhập và lây nhiễm của nó được biết đến thông qua protein S, 3CL<sup>pro</sup>, enzyme chuyển đổi angiotensin 2 (ACE2) và ARN polymerase phụ thuộc RNA (RdRp). Vì thế, chúng là các đích quan trọng trong sự ức chế lây nhiễm virus SARS-CoV-2. Cây Xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata*) được chứng minh là có khả năng ức chế sự nhân lên của một số virus. Nghiên cứu này đánh giá tác dụng ức chế các đích protein S, 3CL<sup>pro</sup>, ACE2 và RdRp của các hợp chất trong cây Xuyên tâm liên bằng phương pháp docking phân tử. Cấu trúc 3D của RdRp, main protease (3CL<sup>pro</sup>), protein S và ACE2 được lấy từ Ngân hàng dữ liệu protein RCSB. Các hợp chất được thu thập từ các tài liệu về thành phần hóa học của cây Xuyên tâm liên và các cấu trúc này được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem. Thực hiện docking phân tử bằng phần mềm Autodock vina. Luật 5 Lipinski được sử dụng để đánh giá khả năng đặc tính giống thuốc của các hợp chất. Thông số được động học của các hợp chất tiềm năng được đánh giá qua công cụ pkCSM. Dựa trên các công bố trước đây về cây Xuyên tâm liên, 22 hợp chất thu thập được là thành phần hóa học chính có trong cây. Kết quả cho thấy, hợp chất 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide có tác dụng ức chế mạnh trên cả 2 đích RdRp và enzyme 3CL<sup>pro</sup> của virus SARS-CoV-2. Phân tích dựa trên luật 5 Lipinski cho thấy, hợp chất 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide có đặc tính giống thuốc. Ngoài ra, kết quả dự đoán thông số được động học cho thấy, hợp chất này có khả năng hấp thu ở ruột rất tốt và độc tính thấp. Vì vậy, 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide là hợp chất tiềm năng có thể trở thành thuốc điều trị COVID-19 từ cây Xuyên tâm liên.

**Từ khóa:** ACE2, *Andrographis paniculata*, docking, *in silico*, phân tử, protein S, RdRp, SARS-CoV-2, 3CL<sup>pro</sup>.

**Chỉ số phân loại:** 3.4

## 1. Đặt vấn đề

COVID-19 là một bệnh truyền nhiễm liên quan đến viêm đường hô hấp cấp, có nguồn gốc từ một chợ bán hải sản ở thành phố Vũ Hán, tỉnh Hồ Bắc, Trung Quốc do virus SARS-CoV-2 gây ra [1]. Tính đến ngày 20/7/2022, thế giới có hơn 570 triệu ca nhiễm bệnh và gần 6,4 triệu ca tử vong vì COVID-19 [2]. Việt Nam tính đến ngày 20/7/2022 có hơn 10,7 triệu ca nhiễm, trong đó đã khỏi hơn 9,8 triệu ca và tử vong hơn 43 nghìn ca. Các triệu chứng của người nhiễm virus SARS-CoV-2 rất đa dạng, có thể không có triệu chứng hoặc viêm đường hô hấp cấp và suy đa tạng. Các triệu chứng tương tự người bị nhiễm trùng đường hô hấp khác như sốt, đau họng, ho, khó thở, nhức đầu, mệt mỏi, đau cơ. Bệnh có thể tiến triển nặng dẫn đến viêm phổi, suy hô hấp và tử vong ở một số ít bệnh nhân vào tuần đầu tiên khi nhiễm bệnh bởi có sự gia tăng mạnh mẽ của các cytokine gây viêm [3]. Ngoài ra, các bệnh lý đi kèm như đái tháo đường, tăng huyết áp, các bệnh về tim mạch và hô hấp cũng làm nặng thêm tình trạng của người bệnh [4].

Virus SARS-CoV-2 là loại virus có ARN sợi đơn [5]. Bộ gen của nó mã hóa 9.860 axit amin, có chiều dài là 29.881 bp [6]. Các protein cấu trúc quan trọng nhất của COVID-19 là

protein gai (S), protein bao bọc (E), protein màng (M) và protein nucleocapsid (N) [7]. Protein S là một glycoprotein trimeric TM bao phủ bề mặt của virus với số lượng lớn được glycosyl hóa và liên kết với ACE2 của tế bào chủ lớp I. Protein S có 2 chức năng chính là kết hợp với thụ thể và hợp nhất virus [8, 9]. 3-chymotrypsin like protease (3CL<sup>pro</sup>) còn gọi là main protease - một enzyme quan trọng đối với sự sao chép của virus, đặc biệt enzyme này phân cắt các polypeptide được dịch mã từ RNA của virus để tạo ra các protein chức năng [10].

ACE2 là một protein màng loại I được tìm thấy ở phổi, thận, ruột, tim và được virus SARS-CoV-2 dùng làm thụ thể để xâm nhiễm vào tế bào chủ [11-13]. ACE2 bao gồm 850 axit amin, trong đó có một chuỗi trình tự HEXXH-E liên kết với kẽm (Zn). Thụ thể ACE2 đóng vai trò quan trọng đối với SARS-CoV-2 vì ACE2 giúp virus tới các tế bào phế nang [14].

ARN polymerase phụ thuộc RNA (RdRp) - một loại enzyme quan trọng, có vai trò quan trọng trong quá trình sao chép và phiên mã RNA trong tế bào chủ [15], là một trong những đích đầy hứa hẹn để phát triển thuốc SARS-CoV-2. Vì RdRp là một enzyme virus không có chất tương đồng tế bào chủ, các chất ức chế chọn lọc trên đích RdRp ít tác động đến các tế bào khác

\*Tác giả liên hệ: Email: tungasia82@gmail.com

# Evaluating inhibitory activity of bioactive compounds from *Andrographis paniculata* against the molecular targets of the SARS-CoV-2 virus by using the molecular docking method

Thi Thu Hang Ta<sup>1</sup>, Bao Kim Nguyen<sup>1</sup>, Hong Nhung Nguyen<sup>1</sup>, Khanh Linh Vu<sup>1</sup>, Thi Hong Khanh Do, Van Ngoc Phan<sup>2</sup>, Thanh Hai Nguyen<sup>1</sup>, Thanh Tung Bui<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>University of Medicine and Pharmacy, Vietnam National University - Hanoi, 144 Xuan Thuy, Dich Vong Hau Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam.

<sup>2</sup>Quang Binh Pharmaceutical Joint Stock Company, 46 Huu Nghi, Bac Ly Ward, Dong Hoi City, Quang Binh Province, Vietnam

Received 4 July 2022; revised 20 July 2022; accepted 25 July 2022

## Abstract:

Covid-19 is an infectious disease associated with acute respiratory infections caused by the SARS-CoV-2 virus. Its entrance and infection mechanisms have been identified as S protein, main protease (M<sup>pro</sup> or 3CL<sup>pro</sup>), angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), and RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). As a result, they are critical targets in the prevention of SARS-CoV-2 viral infection. *Andrographis paniculata* has been shown to be potentially effective in the treatment of several viruses. This study evaluated the inhibitory effects of compounds in *Andrographis paniculata* against the S protein, 3CL<sup>pro</sup>, ACE2, and RdRp targets by molecular docking method. The 3D structure of the SARS-CoV-2 RdRp, 3CL<sup>pro</sup>, S protein and ACE2 were obtained from the RCSB Protein Data Bank. Compounds were collected from the publication of *Andrographis paniculata* and these structures were obtained from the PubChem database. Molecular docking was done by AutoDock Vina software. Lipinski rule of five is used to compare compounds with drug-like and non-drug-like properties. Pharmacokinetic parameters of potential compounds were evaluated using the pkCSM tool. Based on previous publications of *Andrographis paniculata*, 22 main compounds were collected. The results showed that the compound 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide had a strong inhibitory effect on both the RdRp and 3CL<sup>pro</sup> targets of SARS-CoV-2 virus. Analysis of Lipinski 5's rule exhibited that 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide has drug-likeness properties. In addition, the results of predicting pharmacokinetic parameters indicated that this compound had good intestinal absorption and low toxicity. The compound 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide is a potential compound to become the therapeutic drug Covid-19 from *Andrographis paniculata*.

**Keywords:** ACE2, *Andrographis paniculata*, docking, *in silico*, molecular, protein S, RdRp, SARS-CoV-2, 3CL<sup>pro</sup>.

**Classification number:** 3.4

ngoài tế bào đích, do đó có thể được phát triển để cải thiện hiệu quả và ít gây ra các tác dụng không mong muốn. Đây chính là liệu pháp điều trị COVID-19 an toàn và hiệu quả hơn so với ức chế các đích phân tử khác [16].

Cây Xuyên tâm liên đã được sử dụng để điều trị rắn cắn, tiểu đường, kiết lỵ, sốt và sốt rét [17]. Phần trên mặt đất của cây này có chứa diterpenoids, diterpene glycoside, lacton, flavonoid và flavonoid glycoside. Xuyên tâm liên đã được báo cáo là có một loạt các tác dụng dược lý như chống ung thư [18], HIV [19], antidiarrheal [20], antihepatitis [21], hạ đường huyết [22], kháng khuẩn, chống sốt rét [23, 24], chống viêm, chống oxy hóa [25], tim mạch [26, 27], bảo vệ gan [28], kích thích miễn dịch [29, 30]. Trong một nghiên cứu cho thấy, một hợp chất trong cây Xuyên tâm liên là andrographolide được đánh giá *in vitro* với khả năng làm giảm quá trình nhân lên của virus SARS coronavirus với giá trị EC<sub>50</sub>=1,2 µg/ml [31]. Do đó, cây Xuyên tâm liên được lựa chọn với mục đích sàng lọc các hợp chất có trong cây và đánh giá hiệu quả cũng như tiềm năng trở thành thuốc trong điều trị SAR-CoV-2.

Docking phân tử là một kỹ thuật mô hình hóa với mục đích dự đoán vị trí và cấu hình mà phối tử (ligand) có thể liên kết với phân tử protein (target). Phối tử được cho dịch chuyển trong không gian bao quanh phân tử protein để tìm vị trí có khả năng gắn kết bền vững nhất sử dụng các hàm đánh giá và phương pháp tìm kiếm cực trị toàn cục khác nhau. Từ đó có thể tìm ra được những hợp chất có tác dụng ức chế protein [32]. Phương pháp docking phân tử này có ưu điểm tiết kiệm thời gian và chi phí trong việc sàng lọc các hợp chất so với các phương pháp thực nghiệm [33]. Mục tiêu của nghiên cứu này là sàng lọc các hợp chất có tác dụng ức chế các đích phân tử protein S, 3CL<sup>pro</sup>, ACE2 và RdRp của các hợp chất trong cây Xuyên tâm liên bằng phương pháp docking phân tử nhằm tìm kiếm hợp chất có thể phát triển thành thuốc để điều trị SARS-CoV-2.

## 2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Mô hình docking

**Chuẩn bị cấu trúc protein:** Cấu trúc 3D của enzym SARS-CoV-2 RdRp (PDB ID: 6M71), 3CL<sup>pro</sup> (PDB ID: 6W63), protein S (PDB ID: 6VYB) và ACE2 (PDB ID: 1R4L) được truy xuất từ Ngân hàng dữ liệu protein RCSB (www.rcsb.org). Protein S của SARS-CoV-2 với ID 6VYB bao gồm 3 chuỗi: A, B, C và chuỗi A được tách ra để sử dụng cho mô hình docking [34]. Hai phối tử đồng kết tinh X77 và XX5 của 3CL<sup>pro</sup> (ID: 6W63) và ACE2 (ID: 1R4L) được sử dụng để đánh giá và tối ưu hóa mô hình docking. Vùng hoạt động của protein được xác định bằng phần mềm MOE và Discovery Studio Visualizer 4.0. Để chuẩn bị cho quá trình docking, tất cả các phân tử nước và đồng tinh thể đã được loại bỏ khỏi phân tử protein bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0. Các phân tử hydrogen được thêm vào bằng phần mềm Autodock Vina trước khi tái lập vùng hoạt động của protein sử dụng phần mềm MGL Autodock tools 1.5.6. Trung tâm hoạt động của RdRp, 3CL<sup>pro</sup>, protein S và ACE2 được xác định ở bảng 1.

**Bảng 1. Trung tâm hoạt động của 4 protein quan trọng.**

| Protein            | Kích thước hộp lưới (Å) | (x, y, z)                   |
|--------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Rdrp               | 30×30×30                | (121, 120, 125)             |
| 3CL <sup>pro</sup> | 20×20×20                | (-20.313, 18.742, -28.341)  |
| Spike protein      | 12×10×13                | (197.044, 222.794, 205.696) |
| ACE2               | 12×10×13                | (40,003, 6,069, 28,538)     |

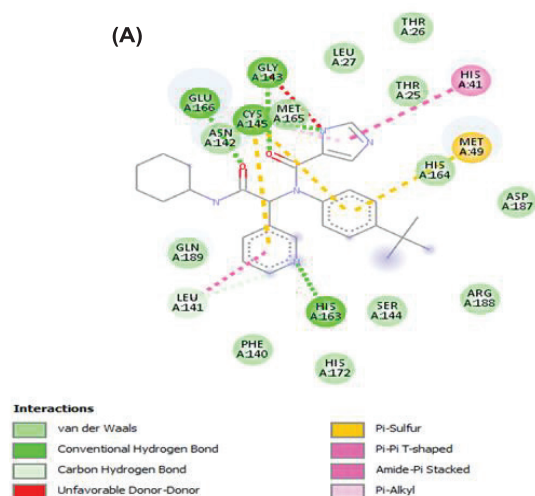
**Chuẩn bị cấu trúc phối tử:** Dựa trên các công bố trước đây, thu thập được 22 hợp chất có khả năng ức chế SARS-COV-2 từ cây Xuyên tâm liên [35, 36]. Cấu trúc 3D của những hợp chất này được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem ở định dạng sdf sau đó chuyển thành định dạng pdb bằng phần mềm Chimera [37, 38]. Tiếp theo, các phối tử được tối ưu hóa bằng phần mềm Avogadro sử dụng phương pháp Gradient liên hợp (Conjugate Gradients) rồi chuyển thành định dạng pdbqt bằng phần mềm Autodock Tool [39, 40].

**Thực hiện docking phân tử:** Các phối tử được dock vào trung tâm hoạt động của protein bằng phần mềm Autodock vina. Sử dụng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0 giúp quan sát các liên kết giữa protein và các hợp chất sàng lọc được.

**Đánh giá kết quả docking:** Để đánh giá kết quả quá trình docking, phối tử từ đồng tinh thể đã được docking lại vào vị trí hoạt động của mục tiêu. Quá trình được thực hiện thành công nếu giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) nhỏ hơn hoặc bằng 1,5 Å. Đối với các chất cần docking, khả năng gắn kết của chúng được đánh giá thông qua tương tác với các axit amin trong trung tâm hoạt động của protein và năng lượng tương tác được tính bởi hàm tính điểm (scoring function) của Autodock vina.

## 2.2. Đánh giá quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski

Quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski được sử dụng để đánh giá đặc tính giống thuốc của các hợp chất [41] thông qua công cụ online (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>) [42].



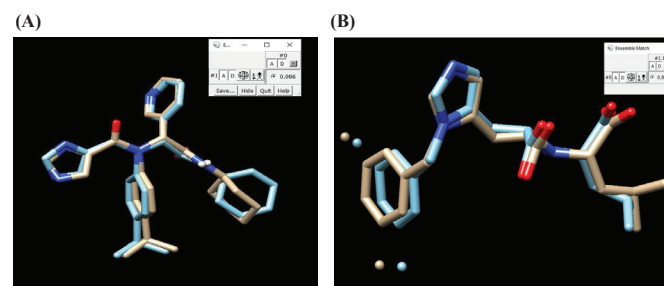
## 2.3. Dự đoán các thông số dược động học

Kết quả dự đoán các thông số về dược động học bao gồm hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính (ADMET) của các hợp chất tiềm năng được đánh giá qua công cụ pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) [43].

## 3. Kết quả

### 3.1. Đánh giá mô hình docking

Trước khi sàng lọc các hợp chất, mô hình docking cần được đánh giá tính chính xác của nó. Kết quả sau khi docking lại phối tử đồng tinh thể thu được giá trị RMSD lần lượt là 0,986 và 0,836 Å (hình 1). Hai giá trị này thỏa mãn điều kiện RMSD nhỏ hơn 1,5 Å chứng tỏ kết quả docking phân tử vào mục tiêu là đáng tin cậy.

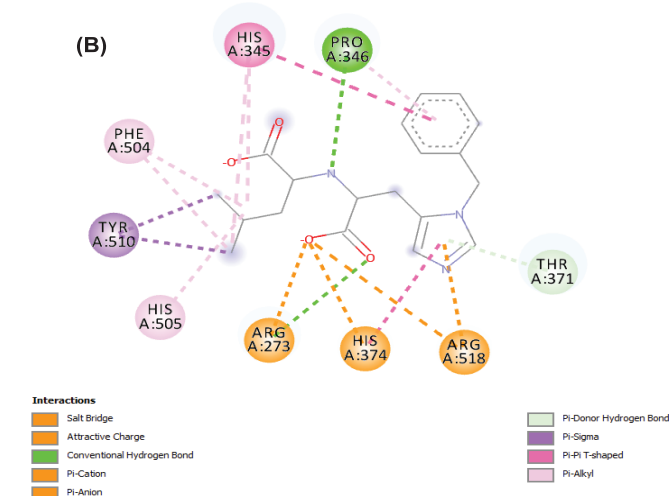


**Hình 1. Kết quả re-dock phối tử đồng kết tinh của phức hợp 6W63 (A) và 1R4L (B).**

Sự tương tác giữa phối tử đồng kết tinh với 3CL<sup>pro</sup> và ACE2 được thể hiện ở hình 2.

### 3.2. Mô hình docking của các hợp chất với đích protein

Sau khi chuẩn bị phối tử, tiến hành docking 22 hợp chất thiên nhiên từ cây Xuyên tâm liên để sàng lọc hoạt động ức chế các protein đích của SARS-COV-2 của chúng. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.



**Hình 2. Biểu diễn 2D tương tác của phối tử đồng kết tinh X77 với 3CL<sup>pro</sup> (A) và XX5 với ACE2 (B).**

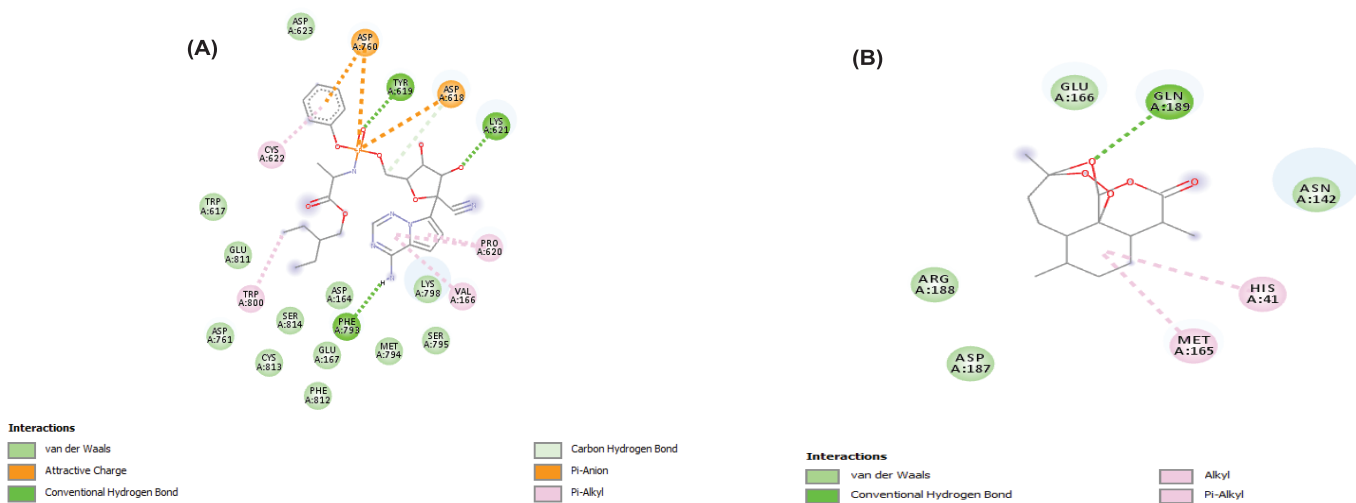


**Bảng 2. Kết quả docking của 22 hợp chất, các phối tử đồng kết tinh (X77, XX5) và các chất chứng dương (Artemisinin, remdesivir).**

| STT | Hợp chất                                               | RdRp (6m71) | ACE2 (1R4L) | 3CL <sup>pro</sup> (kcal/mol) (6W63) | Protein S (6VYB) |
|-----|--------------------------------------------------------|-------------|-------------|--------------------------------------|------------------|
| 1   | Andrographolide                                        | -6,8        | -4,3        | -7,2                                 | -5,3             |
| 2   | Neoandrographolide                                     | -7,9        | -3,8        | -7,8                                 | -5,9             |
| 3   | 14-Deoxyandrographolide                                | -6,2        | -4,7        | -7,3                                 | -5,3             |
| 4   | Andrographiside                                        | -7,9        | -4,0        | -7,8                                 | -6,1             |
| 5   | Isoandrographolide                                     | -6,8        | -4,2        | -7,9                                 | -5,8             |
| 6   | Andrographic axit                                      | -7,1        | -3,8        | -7,0                                 | -5,5             |
| 7   | Andrograpanin                                          | -6,1        | -4,6        | -7,4                                 | -5,2             |
| 8   | 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide | -8,7        | -4,6        | -8,1                                 | -6,1             |
| 9   | Andrographolactone                                     | -6,2        | -4,5        | -7,5                                 | -5,5             |
| 10  | 12-Hydroxyandrographolide                              | -6,7        | -4,8        | -7,4                                 | -5,0             |
| 11  | Andropanolide                                          | -6,2        | -4,4        | -7,0                                 | -5,6             |
| 12  | Andrographatoside                                      | -7,3        | -4,1        | -7,4                                 | -5,9             |
| 13  | Bisandrographolide                                     | -8,6        | -3,9        | -8,2                                 | -6,6             |
| 14  | Dehydroandrographolide                                 | -6,4        | -4,3        | -6,9                                 | -5,6             |
| 14  | 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide                | -6,3        | -4,4        | -7,4                                 | -5,5             |
| 16  | 14-deoxy-14,15-dehydroandrographolide                  | -6,5        | -4,4        | -7,6                                 | -5,5             |
| 17  | 3,19-isopropylideneandrographolide                     | -7,6        | -4,7        | -8,1                                 | -5,9             |
| 18  | 5-hydroxy-7,8-dimethoxyflavone                         | -6,5        | -4,2        | -7,0                                 | -5,3             |
| 19  | 5-hydroxy-7', 8', 2', 5'-tetramethoxyflavone           | -6,4        | -4,2        | -7,4                                 | -5,4             |
| 20  | 5-hydroxy-7', 8', 2', 3'-tetramethoxyflavone           | -6,4        | -4,0        | -6,8                                 | -5,6             |
| 21  | 5-hydroxy-7', 8', 2'-trimethoxyflavone                 | -7,6        | -3,7        | -7,9                                 | -5,9             |
| 22  | 7-O-methylwogonin                                      | -6,5        | -4,2        | -7,0                                 | -5,3             |
| 23  | Remdesivir (R1)                                        | -7,5        |             |                                      |                  |
| 24  | Artemisinin (R2)                                       |             |             |                                      | -7,3             |
| 25  | X77 (R3)                                               |             |             | -8,6                                 |                  |
| 26  | XX5 (R4)                                               |             | -7,5        |                                      |                  |

Remdesivir là thuốc đầu tiên được Cục Quản lý thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) chấp thuận để điều trị COVID-19 nhờ bằng chứng đáng kể về hiệu quả và tính an toàn của nó [44]. Remdesivir là một chất ức chế RdRp, do đó có thể ức chế sự nhân lên của coronavirus trong các tế bào biểu mô đường hô hấp [45]. Artemisinin cũng đã được chứng minh khả năng hoạt động như một chất ức chế protein S [46]. Do đó, nghiên cứu

này tiến hành so sánh năng lượng gắn kết của các hợp chất tiềm năng với remesdevir và artemisinin (chất chứng dương để đánh giá khả năng ức chế enzyme RdRp và protein S của chúng). Về khả năng ức chế 3CL<sup>pro</sup> và ACE2 của các hợp chất thu được, năng lượng liên kết với hai phối tử đồng kết tinh sau khi docking lại sẽ được sử dụng để so sánh. Kết quả hình 3 cho thấy liên kết của RdRp với remdesivir, protein S với artemisinin.



**Hình 3. Biểu diễn 2D tương tác của RdRp với remdesivir (A), protein S với artemisinin (B).**

Từ bảng 2 ta thấy, 4 hợp chất có năng lượng liên kết thấp hơn remdesivir (-7,5 kcal/mol), bao gồm neoandrographolide (-7,9 kcal/mol), andrographiside (-7,9 kcal/mol), 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide (-8,7 kcal/mol), bisandrographolide (-8,6 kcal/mol). Hơn nữa, 4 hợp chất này liên kết với 3CL<sup>pro</sup> với năng lượng khá thấp, cụ thể là neoandrographolide (-7,8 kcal/mol), andrographiside (-7,8 kcal/mol), 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide (-8,1 kcal/mol), bisandrographolide (-8,2 kcal/mol). Tương tác phối tử - với axit amin RdRp (hình 4) và 3CL<sup>pro</sup> (hình 5) cho thấy chủ yếu là tương tác qua liên kết hydro và  $\pi$ . Các axit amin của 2 protein virus này với 4 hợp chất tiềm năng được thể hiện ở bảng 3.

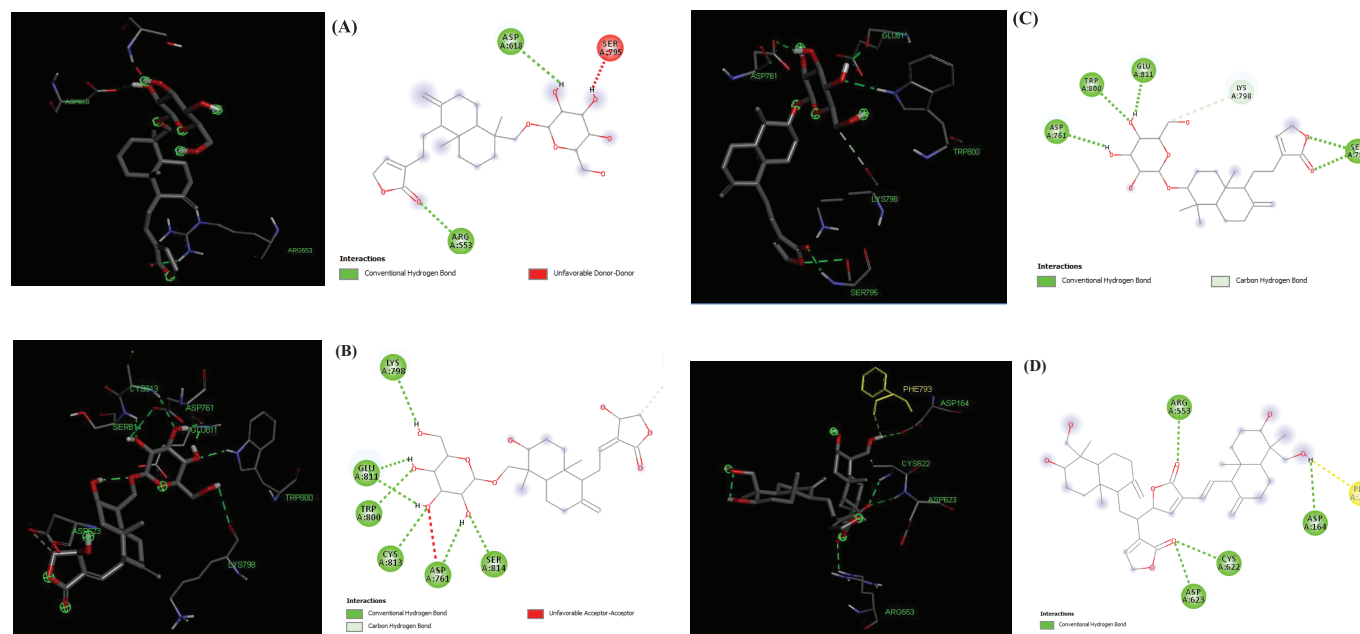
**Bảng 3. Bốn hợp chất tiềm năng liên kết với các axit amin của RdRp và 3CL<sup>pro</sup> trong vùng hoạt động tương ứng.**

| STT | Tên                                                    | Liên kết với axit amin của RdRp                | Liên kết với axit amin của 3CL <sup>pro</sup>        |
|-----|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| 1   | Neoandrographolide                                     | ASP618, SER795, ARG553                         | HIS41, MET49, GLN189, THR25, THR190                  |
| 2   | Andrographiside                                        | ASP761, LYS798, GLU811, CYS813, SER814, TRP800 | THR25, CYS44, HIS41                                  |
| 3   | 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide | ASP761, GLU811, TRP800, SER795, LYS798         | HIS41, MET49, HIS163, LEU141, PHE140, ASN142, THR190 |
| 4   | Bisandrographolide                                     | ASP623, ARG553, CYS622, ASP164, PHE793         | LEU141, ASN142, GLY143                               |

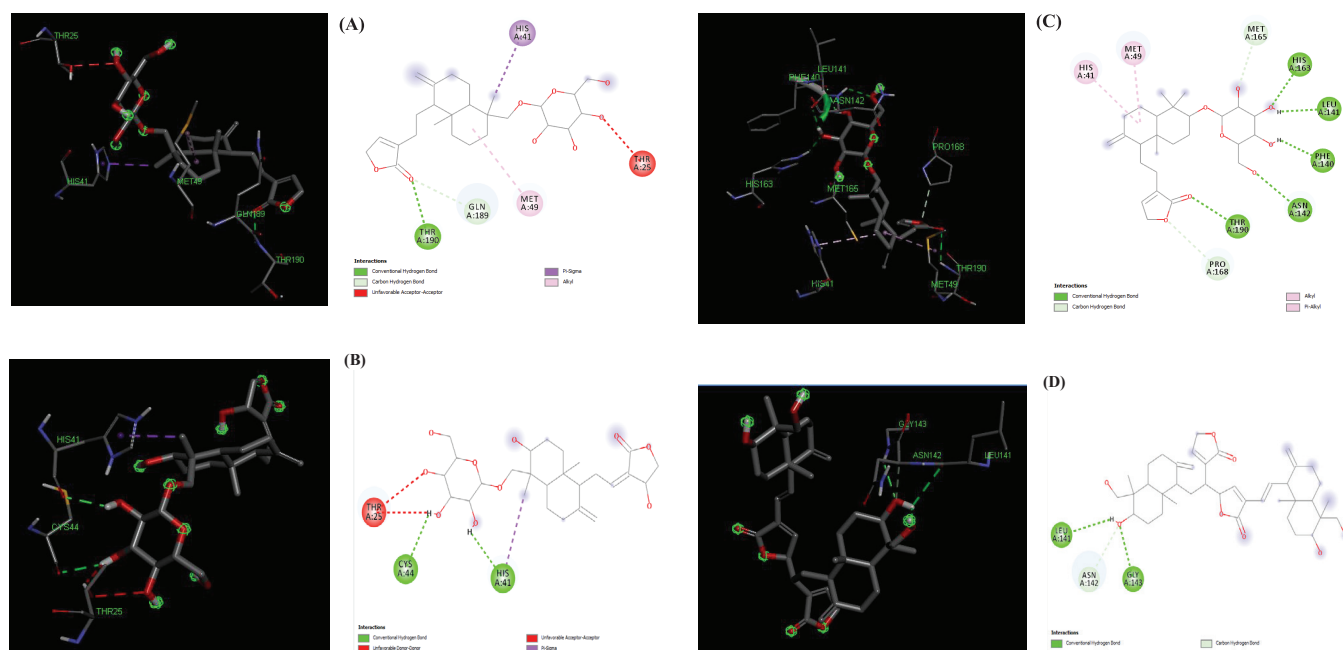
Đối với 2 đích phân tử protein S và ACE2, 4 phân tử có năng lượng liên kết cao hơn so với 2 chất chứng dương artemisinin và phối tử đồng kết tinh XX5. 3-O-beta-D-glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide có năng lượng liên kết thấp nhất với RdRp (-8,7 kcal/mol), được dock vào vùng hoạt động của enzyme này với vị trí tương tự như remdesivir. Hợp chất này liên kết với protein đích qua các liên kết hydro với ASP761, GLU811, TRP800, SER795 và LYS798. Bisandrographolide cũng cho thấy những tương tác tương tự với RdRp, qua các axit amin ASP623, ARG553, CYS622 và ASP164. Neoandrographolide và andrographiside cũng có năng lượng liên kết khá thấp với enzyme virus này qua những amino axit tương tự, liên kết hydro với ASP761, ASP618 và ARG553. So sánh tương tác của 4 hợp chất này và 3CL<sup>pro</sup> với phối tử đồng kết tinh X77 có thể thấy, liên kết phối tử - axit amin của hầu hết các hợp chất cũng tương tự nhau. Đó là những axit amin quan trọng như ASN142, HIS41 và MET49.

### 3.3. Kết quả quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski

Các hợp chất được gọi là “giống thuốc” khi chúng đáp ứng ít nhất 2 trong 5 các tiêu chí của luật 5 Lipinski: (1) Khối lượng phân tử <500 Da; (2) Có tính ưa dầu cao (LogP nhỏ hơn 5); (3) Không có nhiều hơn 5 nhóm cho liên kết hydrogen; (4) Không có nhiều hơn 10 nhóm nhận liên kết hydrogen; (5) Độ khúc xạ mol phải nằm trong khoảng 40-130. Kết quả đáp ứng quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski của 4 hợp chất trên được trình bày ở bảng 4.



**Hình 4. Biểu diễn sự tương tác của neoandrographolide (A), andrographiside (B), 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide (C), bisandrographolide (D) với RdRp biểu diễn 2D (phải) và 3D (trái).**



Hình 5. Biểu diễn sự tương tác của neoandrographolide (A), andrographiside (B), 3-O-beta-D-glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide (C), bisandrographolide (D) với enzyme 3CL<sup>pro</sup> biểu diễn 2D (phải) và 3D (trái).

Bảng 4. Kết quả đánh giá quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski.

| STT | Hợp chất                                               | Khối lượng phân tử | Nhóm cho liên kết hydrogen (HBD) | Nhóm nhận liên kết hydrogen (HBA) | logP   | Độ khúc xạ mol (MR) | Hợp chất giống thuốc |
|-----|--------------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------|-----------------------------------|--------|---------------------|----------------------|
| 1   | Neoandrographolide                                     | 480                | 4                                | 8                                 | 1,845  | 123,414             | Có                   |
| 2   | Andrographiside                                        | 512                | 6                                | 10                                | -0,213 | 126,193             | Không                |
| 3   | 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide | 480                | 4                                | 8                                 | 1,843  | 123,392             | Có                   |
| 4   | Bisandrographolide                                     | 664                | 4                                | 8                                 | 5,368  | 182,041             | Có                   |

Kết quả bảng 4 cho thấy, neoandrographolide và 3-O-beta-D-glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide thỏa mãn cả 5 tiêu chí lipinski cho thấy đặc tính giống thuốc rất cao. Bisandrographolide cũng thỏa mãn 2 tiêu chí đó là nhóm cho, nhận liên kết hydrogen. Do đó 3 hợp chất này tiếp tục được đánh giá đặc tính dược động học, bao gồm hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính.

### 3.4. Đánh giá ADMET

Kết quả dự đoán ADMET gồm các quá trình hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ, độc tính được trình bày ở bảng 5.

Khả năng hấp thu của các chất được đánh giá dựa trên 3 thông số, đó là khả năng hòa tan trong nước, tính thấm qua màng Caco2, phần trăm hấp thu thuốc ở đường ruột. Kết quả bảng 5 cho thấy, khả năng hòa tan trong nước của các hợp chất khá kém với nồng độ mol chỉ khoảng  $10^{-4}$  mol/l. Tính thấm qua màng Caco2 ( $\log P_{app}$  trong  $10^{-6}$  cm/s) có giá trị cao hơn 0,9 được cho là có khả năng thẩm thấu tốt, cả 3 hợp chất

đều có khả năng thẩm thấu không cao với giá trị  $\log P_{app}$  trong  $10^{-6}$  cm/s đều <0,9 (0,474, 0,532, 0,451). Tuy nhiên, khả năng hấp thu ở ruột lại khá tốt với giá trị cao nhất là 86,55% của bisandrographolide, neoandrographolide và 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide có phần trăm hấp thu thấp hơn và gần bằng nhau, lần lượt là 62,263 và 62,867%. Đối với sự phân bố, giá trị  $\log BBB$  lớn hơn 0,3 được cho là có khả năng hấp thu tốt qua hàng rào máu não. Cả 3 hợp chất đều không hấp thu qua hàng rào máu não ( $\log BBB < 0,3$ ). Về chuyển hóa, hệ cytochrome P450 là hệ enzyme quan trọng trong quá trình chuyển hóa thuốc ở gan, đánh giá chuyển hóa của 3 hợp chất với CYP2D6 và CYP3A4 nhận thấy, chỉ có bisandrographolide là cơ chất của CYP3A4. Cả 3 hợp chất đều có thể thải trừ qua thận, trong đó có neoandrographolide thải trừ nhanh hơn cả với độ thanh thải toàn phần là 0,936 (logml/phút/kg). Về độc tính, cả 3 hợp chất đều không gây kích ứng da và độc tính AMES. Tuy nhiên, có neoandrographolide, bisandrographolide gây độc tính cho gan do đó cần chú ý vấn đề này.



Bảng 5. Kết quả đánh giá ADMET.

| Thông số                                                               | Neoandrographolide | 3-O-beta-D-glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide | Bisandrographolide |
|------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------|--------------------|
| Hấp thu                                                                |                    |                                                        |                    |
| Tan trong nước (logmol/l)                                              | -4,049             | -4,166                                                 | -5,144             |
| Tính thấm màng Caco2 (logP <sub>app</sub> trong 10 <sup>-6</sup> cm/s) | 0,474              | 0,532                                                  | 0,451              |
| Hấp thu ở ruột (%)                                                     | 62,263             | 62,867                                                 | 86,55              |
| Phân bố                                                                |                    |                                                        |                    |
| Thể tích phân bố (logl/kg)                                             | -0,865             | -0,432                                                 | -1,438             |
| Tính thấm BBB (logBBB)                                                 | -0,993             | -1,048                                                 | -1,187             |
| Chuyển hóa                                                             |                    |                                                        |                    |
| Cơ chất CYP2D6                                                         | Không              | Không                                                  | Không              |
| Cơ chất CYP3A4                                                         | Không              | Không                                                  | Có                 |
| Ức chế CYP2D6                                                          | Không              | Không                                                  | Không              |
| Ức chế CYP3A4                                                          | Không              | Không                                                  | Không              |
| Thải trừ                                                               |                    |                                                        |                    |
| Độ thanh thải toàn phần (logml/min/kg)                                 | 0,936              | 0,903                                                  | 0,221              |
| Độc tính                                                               |                    |                                                        |                    |
| Độc tính AMES                                                          | Không              | Không                                                  | Không              |
| Độc tính gan                                                           | Có                 | Không                                                  | Có                 |
| Kích ứng da                                                            | Không              | Không                                                  | Không              |

#### 4. Bàn luận

Nghiên cứu này thực hiện đánh giá khả năng ức chế của các hợp chất có trong cây Xuyên tâm liên với cả 4 đích phân tử của virus SARS-CoV-2 là RdRp, ACE2, 3CL<sup>pro</sup> và protein S. Các hợp chất sau khi thực hiện docking phân tử thu được năng lượng liên kết tự do với các protein, thể hiện khả năng ức chế cao trên đích RdRp có 4 hợp chất neoandrographolide (-7,9 kcal/mol), andrographiside (-7,9 kcal/mol), 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide (-8,7 kcal/mol), bisandrographolide (-8,6 kcal/mol) có năng lượng liên kết thấp hơn hợp chất đồng kết tinh hoặc chứng dương (-7,5 kcal/mol). Ngoài ra, khả năng liên kết với enzym 3CL<sup>pro</sup> của các chất kể trên cũng khá cao với năng lượng liên kết lần lượt là -7,8, -7,8, -8,1 và -8,2 (kcal/mol). Đối với 2 đích phân tử còn lại là ACE2 và protein S khả năng liên kết với các hợp chất đều không cao với năng lượng liên kết khá cao và đều cao hơn so với phân tử chất chứng dương là XX5 và artemisinin. Do đó, RdRp và 3CL<sup>pro</sup> là 2 đích có tiềm năng trong việc ức chế virus khi gắn kết với các hợp chất trong cây Xuyên tâm liên.

Cây Xuyên tâm liên nổi tiếng với nhiều tác dụng như hạ sốt, chống nhiễm trùng, kháng virus..., với thành phần hóa học chính là andrographolide diterpenoids, các polyphenol, flavonoid [47]. Ngoài ra, cơ chế chống virus của cây Xuyên tâm liên chủ yếu là điều chỉnh khả năng xâm nhập của virus, nhân lên của gen và tổng hợp các protein chức năng [48]. Cây Xuyên tâm liên với hợp chất chính trong cây là andrographolide đã được đánh giá *in vitro* với khả năng

giảm quá trình nhân lên của virus SARS-CoV-2 với giá trị EC<sub>50</sub>=1,2 µg/ml [31].

M.S. Sukardiman và cs (2020) [49] đã thực hiện sàng lọc các hợp chất có trong cây Xuyên tâm liên và chỉ ra rằng, flavonoid glycoside glycosides 5,4'-dihydroxy-7-O-β-D-pyran-glycuronate butyl ester và andrographolide glycoside 3-O-β-D-glucopyranosyl-andrographolide là 2 hợp chất có năng lượng liên kết thấp và tương tác với các axit amin tương tự như phân tử đồng kết tinh của 3CL<sup>pro</sup> (6LU7). Trong một nghiên cứu khác, K. Rajagopal và cs (2020) [50] nghiên cứu *in silico* đã chỉ ra hợp chất thể hiện khả năng liên kết cao vào vùng hoạt động của SARS-CoV-2 3CL<sup>pro</sup> là andrographolide và dihydroxy dimethoxy flavone. Khi đánh giá 4 hợp chất andrographolide (AGP1), 14-deoxy 11,12-didehydro andrographolide (AGP2), neoandrographolide (AGP3) và 14-deoxy andrographolide (AGP4) từ cây Xuyên tâm liên về khả năng ức chế 4 đích quan trọng gồm 3CL<sup>pro</sup>, Papain-like proteinase (PL<sup>pro</sup>), RdRp, protein S của virus corona AGP3 được cho là có hiệu quả trên các đích này và được sử dụng như một thuốc thay thế hiệu quả ở các nước đang phát triển [51]. Nghiên cứu này cũng thu được kết quả tương tự với neoandrographolide là một chất có năng lượng liên kết khá thấp trên 2 đích RdRp (-7,9 kcal/mol), 3CL<sup>pro</sup> (-7,8 kcal/mol). Tương tự, một nghiên cứu khác của S. Hiremath và cs (2021) [52] cũng chứng minh được rằng, neoandrographolide có tác dụng ức chế trên cả 2 đích RdRp (-8,5 kcal/mol), 3CL<sup>pro</sup> (-7,9 kcal/mol). Tuy nhiên trong nghiên cứu này, mặc dù neoandrographolide cũng được đánh giá là một hợp chất

tiềm năng với năng lượng liên kết với RdRp, 3CL<sup>pro</sup> lần lượt là -7,9 và -7,8 kcal/mol, nhưng 3-O-beta-D-glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide, bisandrographolide có năng lượng liên kết với RdRp thấp hơn, lần lượt là -8,7 và -8,6 kcal/mol được cho là có khả năng ức chế enzyme này mạnh hơn so với neoandrographolide. Ngoài ra, năng lượng liên kết của 2 hợp chất này với 3CL<sup>pro</sup> cũng khá thấp với giá trị lần lượt là -8,1 và -8,2 kcal/mol. Do đó, các hợp chất 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide, bisandrographolide có tiềm năng ức chế RdRp và 3CL<sup>pro</sup> của virus SARS-CoV 2 cao hơn so với neoandrographolide.

Thông qua việc đánh giá độc tính của chúng, 3 hợp chất có tiềm năng trở thành thuốc nhất là bisandrographolide, neoandrographolide và 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide. Kết quả thu được cho thấy, bisandrographolide, neoandrographolide có khả năng gây độc tính cho gan, do đó 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide có khả năng ức chế virus SARS-CoV-2 và có tiềm năng trở thành thuốc an toàn và hiệu quả nhất trong các hợp chất thuộc cây Xuyên tâm liên.

## 5. Kết luận

Hợp chất 3-O-beta-D-Glucopyranosyl-14,19-dideoxyandrographolide trong cây Xuyên tâm liên cho thấy khả năng ức chế mạnh trên cả 2 đích RdRp và 3CL<sup>pro</sup> của virus SARS-CoV-2. Ngoài ra, hợp chất này cũng cho thấy đặc tính giống thuốc khi thỏa mãn tiêu chuẩn Lipinski 5 và dự đoán ADMET có khả năng hấp thu tốt, ít độc tính. Do đó, cần tiến hành những nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* để phát triển hợp chất tiềm năng này trở thành thuốc điều trị SARS-CoV-2.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] C. Wang, P.W. Horby, F.G. Hayden, et al. (2020), "A novel coronavirus outbreak of global health concern", *The Lancet*, **395**(10223), pp.470-473, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30185-9.
- [2] World Health Organization (2021), *WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard*.
- [3] N. Chen, M. Zhou, X. Dong, et al. (2020), "Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study", *The Lancet*, **395**(10223), pp.507-513, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
- [4] J. Yang, Y. Zheng, X. Gou, et al. (2020), "Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: A systematic review and meta-analysis", *International Journal of Infectious Diseases*, **94**, pp.91-95, DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.017.
- [5] R. Lu, X. Zhao, J. Li, et al. (2020), "Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding", *The Lancet*, **395**(10224), pp.565-574, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
- [6] L. Chen, W. Liu, Q. Zhang, et al. (2020), "RNA based mNGS approach identifies a novel human coronavirus from two individual pneumonia cases in 2019 Wuhan outbreak", *Emerging Microbes & Infections*, **9**(1), pp.313-319, DOI: 10.1080/22221751.2020.1725399.

- [7] R. Hilgenfeld (2014), "From SARS to MERS: Crystallographic studies on coronavirus proteases enable antiviral drug design", *The FEBS Journal*, **281**(18), pp.4085-4096, DOI: 10.1111/febs.12936.
- [8] M. Letko, A. Marzi, V. Munster (2020), "Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses", *Nature Microbiology*, **5**(4), pp.562-569, DOI: 10.1038/s41564-020-0688-y.
- [9] Y. Huang, C. Yang, X.F. Xu, et al. (2020), "Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: Potential antiviral drug development for COVID-19", *Acta Pharmacologica Sinica*, **41**(9), pp.1141-1149, DOI: 10.1038/s41401-020-0485-4.
- [10] L. Zhang, D. Lin, X. Sun, et al. (2020), "Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved  $\alpha$ -ketoamide inhibitors", *Science*, **368**(6489), pp.409-412, DOI: 10.1126/science.abb3405.
- [11] M. Donoghue, K. Godbout, M. Gosselin, et al. (2000), "Anovel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9", *Circulation Research*, **87**(5), pp.e1-e9, DOI: 10.1161/01.res.87.5.e1.
- [12] H. Zhang, Z. Kang, H. Gong, et al. (2020), "The digestive system is a potential route of 2019-nCoV infection: A bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes", *BioRxiv*, DOI: 10.1101/2020.01.30.927806.
- [13] C. Wu, S. Zheng, Y. Chen, et al. (2020), "Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan 2019-nCoV, in the nasal tissue", *MedRxiv*, DOI: 10.1101/2020.02.11.20022228.
- [14] E.I. Bahbah, A. Negida, M.S. Nabet, et al. (2020), "Purposing Saikosaponins for the treatment of COVID-19", *Medical Hypotheses*, **140**, DOI: 10.1016/j.mehy.2020.109782.
- [15] Y. Gao, L. Yan, Y. Huang, et al. (2020), "Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus", *Science*, **368**(6492), pp.779-782, DOI: 10.1126/science.abb7498.
- [16] W. Zhu, C.Z. Chen, M. Xu, et al. (2020), "RNA-dependent RNA polymerase as a target for COVID-19 drug discovery", *SLAS Discovery*, **25**(10), pp.1141-1151, DOI: 10.1177/2472555220942123.
- [17] I.H. Burkill (2017), "A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula", *Nature*, **137**, DOI: 10.1038/137255c0.
- [18] R.A. Kumar, S. Nanduri, S. Rajagopal, et al. (2004), "Anticancer and immunostimulatory compounds from *Andrographis paniculata*", *J. Ethnopharmacol.*, **92**(2-3), pp.291-295, DOI: 10.1016/j.jep.2004.03.004.
- [19] S. Nanduri, V.K. Nyavanandi, S.S.R. Thunuguntla, et al. (2004), "Synthesis and structure-activity relationships of andrographolide analogues as novel cytotoxic agents", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**(18), pp.4711-4717, DOI: 10.1016/j.bmcl.2004.06.090.
- [20] S. Gupta, M.A. Choudhry, J.N.S. Yadava, et al. (1990), "Antidiarrhoeal activity of diterpenes of *Andrographis paniculata* (Kal-Megh) against *Escherichia coli* enterotoxin in *in vivo* models", *International Journal of Crude Drug Research*, **28**(4), pp.273-283, DOI: 10.3109/13880209009082833.
- [21] W. Tang, G. Eisenbrand (2013), *Chinese Drugs of Plant Origin: Chemistry, Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine*, Springer Science & Business Media, DOI: 10.1007/978-3-642-73739-8.
- [22] R. Subramanian, M.Z. Asmawi, A.Sadikun (2008), "In vitro alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide", *Acta Biochim. Pol.*, **55**(2), pp.391-398.
- [23] C. Wiart, K. Kumar, M.Y. Yusof, et al. (2005), "Antiviral properties of ent-labdene diterpenes of *Andrographis paniculata* nees, inhibitors of herpes simplex virus type 1", *Phytother. Res.*, **19**(12), pp.1069-1070, DOI: 10.1002/ptr.1765.

- [24] P.P. Misra, N.L. Pal, P. Guru, et al. (1992), "Antimalarial activity of *Andrographis paniculata* (Kalmegh) against plasmodium berghei NK 65 in mastomys natalensis", *International Journal of Pharmacognosy*, **30**(4), pp.263-274, DOI: 10.3109/13880209209054010.
- [25] K. Sheeja, P.K. Shihab, G. Kuttan (2006), "Antioxidant and anti-inflammatory activities of the plant *Andrographis paniculata* Nees", *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, **28**(1), pp.129-140, DOI: 10.1080/08923970600626007.
- [26] C. Zhang, B. Tan (1997), "Mechanisms of cardiovascular activity of *Andrographis paniculata* in the anaesthetized rat", *Journal of Ethnopharmacology*, **56**(2), pp.97-101, DOI: 10.1016/s0378-8741(97)01509-2.
- [27] B.K.H. Tan, A.C.Y. Zhang (2004), *Andrographis Paniculata and the Cardiovascular System (Herbal and Traditional Medicine: Molecular Aspects on Health)*, CRC Press, DOI: 10.1201/9780203025901-27.
- [28] S. Handa, A. Sharma (1990), "Hepatoprotective activity of andrographolide from *Andrographis paniculata* against carbontetrachloride", *The Indian Journal of Medical Research*, **92**, pp.276-283.
- [29] C. Calabrese, S.H. Berman, J.G. Babish, et al. (2000), "Aphase I trial of andrographolide in HIV positive patients and normal volunteers", *Phytotherapy Research*, **14**(5), pp.333-338, DOI: 10.1002/1099-1573(200008)14:5<333::aid-ptr584>3.0.co;2-d.
- [30] M.I. Iruretagoyena, J.A. Tobar, P.A. González, et al. (2005), "Andrographolide interferes with T cell activation and reduces experimental autoimmune encephalomyelitis in the mouse", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **312**(1), pp.366-372, DOI: 10.1124/jpet.104.072512.
- [31] M.M. Iwu, C.O. Okunji, E. Sokomba, et al. (2020), "Antiviral activity of *Andrographolide* against Ebola virus, Dengue fever and SARS coronavirus", **2020**, DOI: 10.21203/rs.3.rs-24311/v1.
- [32] X.Y. Meng, H.X. Zhang, M. Mezei, et al. (2011), "Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery", *Current Computer-Aided Drug Design*, **7**(2), pp.146-157, DOI: 10.2174/157340911795677602.
- [33] B.K. Shoichet, S.L. McGovern, B. Wei, et al. (2002), "Lead discovery using molecular docking", *Current Opinion in Chemical Biology*, **6**(4), pp.439-446, DOI: 10.1016/s1367-5931(02)00339-3.
- [34] P.P. Pandey, J.S. Rane, A. Chatterjee, et al. (2020), "Targeting SARS-CoV-2 spike protein of COVID-19 with naturally occurring phytochemicals: An in silico study for drug development", *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **39**(16), DOI: 10.1080/07391102.2020.1796811.
- [35] O. Sareer, S. Ahmad, S. Umar (2014), "*Andrographis paniculata*: A critical appraisal of extraction, isolation and quantification of andrographolide and other active constituents", *Nat. Prod. Res.*, **28**(23), pp.2081-2101, DOI: 10.1080/14786419.2014.924004.
- [36] W.W. Chao, B.F. Lin (2010), "Isolation and identification of bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian)", *Chin Med*, **5**, DOI: 10.1186/1749-8546-5-17.
- [37] S. Kim, J. Chen, T. Cheng, et al. (2021), "PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces", *Nucleic Acids Research*, **49**(D1), pp.D1388-D1395, DOI: 10.1093/nar/gkaa971.
- [38] E.F. Pettersen, T.D. Goddard, C.C. Huang, et al. (2004), "UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis", *J. Comput. Chem.*, **25**(13), pp.1605-1612, DOI: 10.1002/jcc.20084.
- [39] M.D. Hanwell, D.E. Curtis, D.C. Lonie, et al. (2012), "Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform", *J. Cheminform*, **4**(1), pp.1-17, DOI: 10.1186/1758-2946-4-17.
- [40] G.M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, et al. (2009), "AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility", *J. Comput. Chem.*, **30**(16), pp.2785-2791, DOI: 10.1002/jcc.21256.
- [41] C.A. Lipinski (2004), "Lead and drug-like compounds: The rule-of-five revolution", *Drug Discovery Today: Technologies*, **1**(4), pp.337-341, DOI: 10.1016/j.ddtec.2004.11.007.
- [42] B. Jayaram, T. Singh, G. Mukherjee, et al. (2012), "Sanjeevini: A freely accessible web- server for target directed lead molecule discovery", *BMC Bioinformatics*, **17**, DOI: 10.1186/1471-2105-13-S17-S7.
- [43] D.E. Pires, T.L. Blundell, D.B. Ascher, et al. (2015), "pkCSM: Predicting small-molecule Pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures", *J. Med. Chem.*, **58**(9), pp.4066-4072, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00104.
- [44] D. Rubin, K.C. Tack, J. Farley, et al. (2020), "FDA approval of remdesivir - A step in the right firection", *New England Journal of Medicine*, **383**(27), pp.2598-2600, DOI: 10.1056/NEJMp2032369.
- [45] C.J. Gordon, E.P. Tchesnokov, J.Y. Feng, et al. (2020), "The antiviral compound remdesivir potentially inhibits RNA-dependent RNA polymerase from Middle East respiratory syndrome coronavirus", *J. Biol. Chem.*, **295**(15), pp.4773-4779, DOI: 10.1074/jbc.AC120.013056.
- [46] M. Sehailia, S. Chemat (2020), "Antimalarial-agent artemisinin and derivatives portray more potent binding to Lys353 and Lys31-binding hotspots of SARS-CoV-2 spike protein than hydroxychloroquine: Potential repurposing of arteminol for COVID-19", *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, DOI: 10.1080/07391102.2020.1796809.
- [47] S. Akbar (2020), *Andrographis Paniculata* (Burm. f.) Nees (Acanthaceae) (*Handbook of 200 Medicinal Plants*), Springer, pp.267-283, DOI: 10.1007/978-3-030-16807-0\_26.
- [48] M. Jiang, F. Sheng, Z. Zhang, et al. (2021), "*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and its major constituent andrographolide as potential antiviral agents", *Journal of Ethnopharmacology*, **272**, DOI: 10.1016/j.jep.2021.113954.
- [49] M.S. Sukardiman, M.R.F. Pratama, H. Poerwono, et al. (2020), "The coronavirus disease 2019 main protease inhibitor from *Andrographis paniculata* (Burm. f) Ness", *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, **11**(4), p.157-162, DOI: 10.4103/japtr.JAPTR\_84\_20.
- [50] K. Rajagopal, P. Varakumar, A. Baliwada, et al. (2020), "Activity of phytochemical constituents of *Curcuma longa* (turmeric) and *Andrographis paniculata* against Coronavirus (COVID-19): An in silico approach", *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, **6**(1), DOI: 10.1186/s43094-020-00126-x.
- [51] N.A. Murugan, C.J. Pandian, J. Jeyakanthan (2020), "Computational investigation on *Andrographis paniculata* phytochemicals to evaluate their potency against SARS-CoV-2 in comparison to known antiviral compounds in drug trials", *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **39**(12), pp.4415-4426, DOI: 10.1080/07391102.2020.1777901.
- [52] S. Hiremath, H.D.V. Kumar 1, M. Nandan, et al. (2021), "In silico docking analysis revealed the potential of phytochemicals present in *Phyllanthus amarus* and *Andrographis paniculata*, used in Ayurveda medicine in inhibiting SARS-CoV-2", *3 Biotech*, **11**(2), DOI: 10.1007/s13205-020-02578-7.



# Nghiên cứu ứng dụng ánh sáng LED trong sản xuất cây giống một số loại hoa cúc tại Hà Nội

Đỗ Thị Gấm<sup>1\*</sup>, Hoàng Thị Huyền<sup>2</sup>, Đỗ Tiến Phát<sup>2</sup>, Phạm Bích Ngọc<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Thao<sup>1</sup>, Phan Thị Lan Anh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thu<sup>1</sup>, Hoàng Thị Thu Linh<sup>1</sup>, Đinh Thị Thảo<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Hồng Hà<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thu Hiền<sup>2</sup>, Chu Hoàng Hà<sup>2</sup>, Phan Hồng Khôi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Phát triển Công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 22/4/2022; ngày chuyển phản biện 26/4/2022; ngày nhận phản biện 17/5/2022; ngày chấp nhận đăng 20/5/2022

## Tóm tắt:

Hoa cúc là loài cây có giá trị thương phẩm cao, chiếm một tỷ trọng lớn trong tổng sản lượng hoa cắt cành xuất khẩu tại Việt Nam. Thực tế cho thấy nhu cầu về giống cây hoa cúc là vô cùng lớn. Cây hoa cúc có đặc tính cây ngày ngắn, luôn yêu cầu chiếu sáng bổ sung trong giai đoạn nhân giống cấp 2 tại thời điểm vụ thu đông. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng ứng dụng đèn LED nông nghiệp tiết kiệm năng lượng thay thế các kiểu đèn truyền thống trong nhân giống cấp 2 một số giống cây hoa cúc tại Hà Nội. Kết quả cho thấy, kiểu đèn LED B3R7 660 nm (LED xanh 450 nm và LED đỏ 660 nm phối hợp theo tỷ lệ 7:3) là phù hợp nhất đối với quá trình nhân giống cấp 2 trong vườn ươm trên 3 giống hoa cúc được khảo sát là: Pha lê (*Chrysanthemum indicum* yellow), Kim cương (*C. morifolium* cv Kim Cương) và Farm (*C. morifolium* Hibiki). Kiểu đèn LED này đều cho hiệu suất nhân chồi cao hơn so với đèn compact (lần lượt là 67,91, 18,47 và 26,89% tương ứng với các giống cúc Pha lê, Kim cương và Farm), đồng thời chất lượng cây giống được đánh giá là tương đương với cây cúc nuôi trồng dưới đèn compact. Hiệu quả tiết kiệm điện của mô hình sử dụng ánh sáng LED đạt khoảng 55,21% so với đèn compact.

**Từ khóa:** cúc Farm, cúc Kim cương, cúc Pha lê, đèn LED nông nghiệp, nhân giống hoa cúc, sản xuất cây giống.

**Chỉ số phân loại:** 4.1

## 1. Đặt vấn đề

Hoa cúc được sử dụng trong nhiều hoạt động sống thường ngày của người dân và một lượng lớn hoa cúc cắt cành được sử dụng cho mục đích xuất khẩu. Hoa cúc là cây ngày ngắn có khả năng ra hoa tự nhiên trong điều kiện thời gian ban ngày ngắn hơn ban đêm. Do đó, để có thể thuận lợi canh tác cây hoa cúc quanh năm nhằm đáp ứng nhu cầu nội địa cũng như xuất khẩu, chiếu sáng điều khiển quang chu kỳ là giai đoạn xử lý quan trọng đối với canh tác hoa cúc thương phẩm. Xử lý ánh sáng đặc biệt cần thiết đối với quá trình nhân giống bằng giâm hom trong các nhà ươm. Phương pháp xử lý ánh sáng thường được sử dụng là kéo dài thời gian chiếu sáng trong ngày bằng cách chiếu sáng bổ sung với bóng đèn sợi đốt hay compact. Tuy nhiên, những loại đèn này đều có nhược điểm là hao tổn điện năng, độ bền thấp hoặc chứa nhiều thành phần gây hại cho môi trường, chi phí duy trì cao. Do đó, các thiết bị chiếu sáng tiên tiến như đèn LED nông nghiệp với nhiều ưu điểm: kích thước nhỏ, tuổi thọ cao, tiết kiệm điện năng, bước sóng xác định và có thể phối hợp với nhau theo các tỷ lệ khác theo nhu cầu của người sử dụng... đang được quan tâm nghiên cứu, khảo sát nhằm đưa vào thay thế các loại đèn truyền thống như: sợi đốt (khoảng 300-1400 nm) hay compact (khoảng 320-730 nm).

\*Tác giả liên hệ: Email: honggam@htd.vast.vn

Đèn LED đã được minh chứng có hiệu quả hỗ trợ sinh trưởng của một số đối tượng thực vật trong giai đoạn nhân giống *in vitro* và hoàn toàn có tiềm năng thay thế các loại đèn truyền thống trong các phòng nuôi cấy mô. Các nghiên cứu chỉ ra đèn LED không chỉ ảnh hưởng đến hình thái cây *in vitro* mà còn đặc biệt tác động đến hiệu quả nhân nhanh cũng như tỷ lệ tạo cây hoàn chỉnh ở các đối tượng nghiên cứu [1-5]. Nghiên cứu của T.N. Duong và cs (2009) [6] đã cho thấy, cây hoa cúc thể hiện khả năng sinh trưởng nhanh hơn khi nuôi cấy dưới ánh sáng LED khi so sánh với đèn huỳnh quang được sử dụng rộng rãi trong các phòng nuôi cấy mô. Gần đây, A.S. Zakrzewska và F.A. Pradita (2021) [7] đã tiến hành đánh giá ảnh hưởng của một số phổ ánh sáng LED đến khả năng ra rễ của ngọn giâm hoa cúc giống (*Chrysanthemum* × *grandiflorum* Ramat./ Kitam.). Kết quả cho thấy, mỗi điều kiện chiếu sáng có tác động khác nhau đến sinh trưởng cũng như khả năng ra rễ của ngọn giâm. Ánh sáng LED xanh lam (450 nm) có ảnh hưởng lớn nhất đến chiều cao của ngọn giâm, trong khi điều kiện kết hợp LED đỏ với xanh lam cho chỉ số diện tích SPAD là cao nhất với chiều dài rễ là lớn nhất. Việc kết hợp ánh sáng LED trắng và xanh lam cũng có tác động tích cực đến quá trình ra rễ cũng như sinh trưởng của chồi [7]. Mặc dù vậy, ảnh hưởng của ánh sáng LED đến các giai đoạn khác nhau của quy trình nhân giống theo phương pháp giâm hom cũng như hiệu quả sản xuất giống vẫn chưa được nhóm tác giả đánh giá.

# Study on the application of LED lighting in seedling production of some chrysanthemum varieties in Hanoi

Thi Gam Do<sup>1\*</sup>, Thi Huyen Hoang<sup>2</sup>, Tien Phat Do<sup>2</sup>,  
Bich Ngoc Pham<sup>2</sup>, Van Thao Nguyen<sup>1</sup>, Thi Lan Anh Phan<sup>1</sup>,  
Thi Thu Nguyen<sup>1</sup>, Thi Thu Linh Hoang<sup>1</sup>, Thi Thao Dinh<sup>2</sup>,  
Thi Hong Ha Nguyen<sup>2</sup>, Thi Thu Hien Nguyen<sup>2</sup>,  
Hoang Ha Chu<sup>2</sup>, Hong Khoi Phan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>High Technology Development Center, Vietnam Academy of Science and Technology,  
18 Hoang Quoc Viet, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam.

<sup>2</sup>Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology,  
18 Hoang Quoc Viet, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 22 April 2022; revised 17 May 2022; accepted 20 May 2022

## Abstract:

Chrysanthemum is a high commercial value plant, which is accounted for a large proportion of the total export of cut flowers in Vietnam. Therefore, the demand for seedling plants is very high. As a short-day plant, chrysanthemum requires supplemental lighting during the 2<sup>nd</sup> propagation stage in the autumn-winter period. This study aimed to evaluate the applicability of energy-saving LED lights to replace traditional lights in the propagation of some chrysanthemum varieties in Hanoi. The results show that the B3R7 660 nm LED (450 nm blue LED and 660 nm red LED combined in the ratio 7:3) was the most suitable for the 2<sup>nd</sup> propagation process in the greenhouse of 3 varieties (Pha le *Chrysanthemum indicum* yellow, Kim cuong *C. morifolium* cv Kim Cuong and Farm *C. morifolium* Hibiki). Plants grown under this LED light had a higher shoot multiplication efficiency than those under compact lamps (67.91, 18.47, and 26.89% respectively for Pha le, Kim cuong and Farm). Besides, the quality of seedlings is equivalent to chrysanthemums grown under compact lights. The power-saving efficiency when using LED light was approximate lower 55.21% compared to compact lamps.

**Keywords:** chrysanthemum breeding, Farm, Kim cuong, LED light, Pha le chrysanthemum, seedling production.

**Classification number:** 4.1

Tính đến thời điểm hiện tại, mặc dù đã có nhiều nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của ánh sáng LED đến hiệu quả nhân giống giai đoạn *in vitro* được thực hiện trong nước và trên thế giới, nhưng nghiên cứu ảnh hưởng của đèn LED đến quá trình sản xuất giống hoa cúc ở giai đoạn vườn ươm, từ giai đoạn nhân chồi đến giâm hom vẫn chưa được thực hiện. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục đích khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng LED đến hiệu quả sản xuất cây giống của một số giống hoa cúc phục vụ cho sản xuất hoa thương phẩm.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

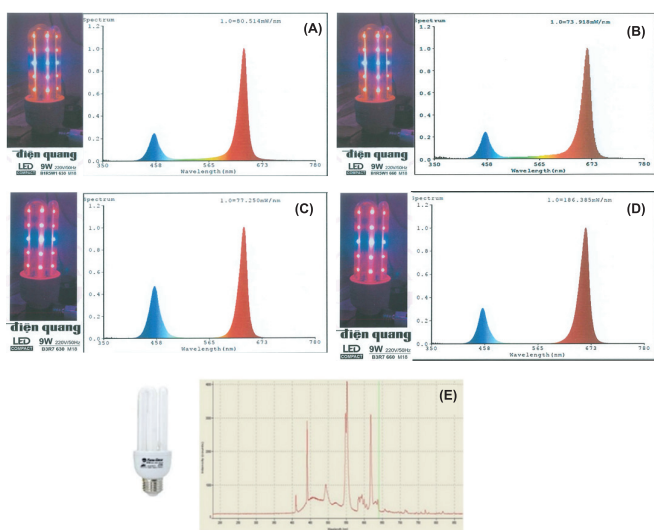
Các giống hoa cúc có nguồn gốc từ bộ sưu tầm giống hoa cúc được lưu giữ tại Phòng Công nghệ tế bào thực vật, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam. Các giống hoa nghiên cứu bao gồm: Kim cuong, Pha lê (<http://csdl.prc.org.vn/>) và Farm. Cây *in vitro* được chuyển lên bầu đất giá thể và tập huấn thích nghi với điều kiện tự nhiên 1 tuần trước khi chuyển sang giai đoạn nhân giống cấp 2 trong vườn ươm thông qua phương pháp giâm ngọn. Thí nghiệm được tiến hành tại vùng trồng hoa cúc của phường Cổ Nhuế, quận Bắc Từ Liêm, TP Hà Nội.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Phương pháp chăm sóc và thu ngọn cúc giống:** Cây giống sau khi huấn luyện thích nghi được trồng trên luống đất với khoảng cách cây cách cây 15 cm. Số lượng cây mẹ/giống cúc/công thức thí nghiệm là 200. Sau khi trồng 30 ngày, tiến hành bấm tia ngọn chính để tạo điều kiện cho chồi bên phát triển. Sau khi ngắt ngọn chính 25 ngày, tiến hành thu chồi bên và giâm ngọn ra bầu giá thể. Thực hiện thu ngọn giống 3 lần sau khi ngắt chồi chính, mỗi lần thu ngọn cách nhau 25 ngày. Sau mỗi lần thu ngọn, tiến hành bón thúc với phân bón NPK 30-10-10, liều lượng bón là 200 kg/ha [8]. Nghiên cứu bố trí 3 ô thí nghiệm/điều kiện chiếu sáng/giống, được tiến hành từ tháng 8/2019 đến hết tháng 12/2019 tại Trại thực nghiệm sinh học Cổ Nhuế, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam.

**Phương pháp giâm ngọn cây hoa cúc:** Tiến hành ngắt ngọn khi các chồi bên có khoảng 3-4 lá, chiều dài 5-7 cm. Sau khi ngắt ngọn tiến hành bón thúc giữa các lần ngắt để cung cấp dinh dưỡng cho cây mẹ. Ngọn hoa cúc sau khi ngắt được xử lý với chế phẩm kích thích ra rễ N3M (thành phần: N 11%, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 3%, K<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 2,5%, B, Cu, Zn...) và giâm vào bầu đất. Bầu cây con được ươm trong bóng râm khoảng 5-7 ngày để hạn chế thoát hơi nước trên bề mặt lá, khi cây con phát sinh rễ mới thì chuyển sang nuôi dưới các điều kiện chiếu sáng bổ sung đến khi cây con đủ tiêu chuẩn cây giống xuất vườn [8].

**Điều kiện xử lý chiếu sáng bổ sung:** Từ những kết quả thu nhận trước đây trong quá trình nhân giống trong giai đoạn *in vitro* [9], 2 tỷ lệ đèn LED nông nghiệp phối hợp LED B3R7 và B1R5W1 (hình 1, bảng 1) được lựa chọn cho giai đoạn nhân giống cấp 2 theo phương pháp giâm ngọn. Phổ chiếu sáng của chip LED đỏ trong ma trận phối hợp cũng được khảo sát ở 2 bước sóng khác nhau là 630 và 660 nm. Thực hiện chiếu sáng 8 giờ/ngày (từ 20 giờ đến 4 giờ sáng) với các kiểu đèn LED được thể hiện như ở hình 1 và bảng 1. Các đèn chiếu sáng được mắc dọc theo chiều dài luống đất với khoảng cách từ mặt đất đến đèn đạt 2,0 m; đèn cách đèn 3,0 m. Các kiểu đèn LED nông nghiệp được đơn vị phối hợp thực hiện đề tài là của Công ty Cổ phần bóng đèn Điện Quang sản xuất theo yêu cầu thiết kế của nhóm nghiên cứu.



**Hình 1. Hình ảnh các loại kiểu đèn và phổ sóng của đèn sử dụng trong thí nghiệm. (A)** Đèn B1R5W1 630 nm; **(B)** Đèn B1R5W1 660 nm; **(C)** Đèn B3R7 630 nm; **(D)** Đèn B3R7 660 nm; **(E)** Đèn compact vàng.

**Bảng 1. Đặc điểm các kiểu đèn sử dụng trong thí nghiệm.**

| Ký hiệu đèn   | Đặc điểm phổ                                                                                       | Công suất (W) |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Compact       | Ánh sáng compact vàng (320-730 nm)                                                                 | 20            |
| B1R5W1 630 nm | LED xanh (450 nm), đỏ (630 nm) và trắng ấm (380-780 nm, 3500 K) phối hợp với nhau theo tỷ lệ 1:5:1 | 9             |
| B1R5W1 660 nm | LED xanh (450 nm), đỏ (660 nm) và trắng ấm (380-780 nm, 3500 K) phối hợp với nhau theo tỷ lệ 1:5:1 | 9             |
| B3R7 630 nm   | LED xanh (450 nm) và đỏ (630 nm) phối hợp với nhau theo tỷ lệ 3:7                                  | 9             |
| B3R7 660 nm   | LED xanh (450 nm) và đỏ (660 nm) phối hợp với nhau theo tỷ lệ 3:7                                  | 9             |

**Các chỉ tiêu theo dõi:** Hiệu quả của hệ thống chiếu sáng được đánh giá thông qua hiệu suất nhân chồi so với đèn compact (công thức 1) và chất lượng cây giống. Chất lượng cây giống được đánh giá thông qua: tỷ lệ sống sót, chiều cao cây giống trung bình, số rễ cũng như chiều dài rễ tạo thành. Thời điểm thu mẫu được tiến hành trước khi thu ngọn giống lần 1, 2 và 3.

$$\text{Hiệu suất nhân chồi} = (\text{TSC}_{\text{LED}} - \text{TSC}_{\text{compact}}) / \text{TSC}_{\text{compact}} \times 100 (\%)$$

trong đó: TSC: tổng số chồi;  $\text{TSC}_{\text{LED/compact}}$ : tổng số chồi trung bình thu được ở các điều kiện chiếu sáng LED hoặc compact sau 3 lần thu ngọn giống ở 2 lần lặp tháng 9 và 10/2019.

**Phương pháp thu mẫu và xử lý số liệu:** Mẫu cây hoa cúc được thu thập tại 3 ô thí nghiệm lặp lại của mỗi giống cúc ở các điều kiện chiếu sáng khác nhau tại 2 lô khảo nghiệm tiến hành vào tháng 9 và 11/2019 theo quy chuẩn QCVN 01-89:2012/BNNT về khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống hoa cúc. Số liệu được xử lý với phần mềm Microsoft excel 2007 và Statgraphic XV theo phương pháp Duncan với  $\alpha=0,05$ .

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng đến hiệu quả nhân giống vô tính cây hoa cúc

Sau khi cắt tỉa ngọn cây gốc, cây hoa cúc tiếp tục phát sinh chồi bên. Kết quả khảo sát cho thấy, sau mỗi lần tiến hành thu ngọn, số lượng chồi mới phát sinh đều tăng 1-2 chồi/cây so với thời điểm thu mẫu trước (bảng 2). Đặc biệt, các điều kiện đèn LED nông nghiệp đều cho tổng số chồi tạo thành/cây mẹ cao hơn so với đèn compact (hình 2A). Kết quả sau 3 lần tiến hành ngắt ngọn cho thấy, hiệu quả nhân chồi ở giống cúc Pha lê tốt nhất là ở đèn LED B3R7 660 nm (tổng số chồi trung bình thu nhận được là  $11,25 \pm 2,4$ /cây mẹ). Kết quả thu nhận được cũng tương đương với những công bố trước đây về ứng dụng ánh sáng LED trong nhân giống cây hoa cúc *in vitro*. Nghiên cứu của B.N. Nguyen và cs (2012) [10] cho thấy, điều kiện chiếu sáng 70% LED đỏ với 30% LED xanh là tỷ lệ phù hợp cho sự tái sinh chồi trực tiếp từ mẫu lá với số lượng chồi/mẫu trung bình đạt 4,6. Khả năng cảm ứng phát sinh chồi của đèn LED cũng được ghi nhận trên hệ thống nuôi cấy lớp mỏng tế bào (TCL) với hệ số phát sinh chồi là 5,25 [10]. Như vậy có thể thấy, mặc dù điều kiện, phương pháp nuôi cấy khác nhau, cây hoa cúc có thể xuất hiện phản ứng tương tự nhau khi chịu sự ảnh hưởng bởi điều kiện chiếu sáng tương đồng.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng đến số lượng chồi tạo thành/cây mẹ ở các giống cây hoa cúc trong các lần thu ngọn.**

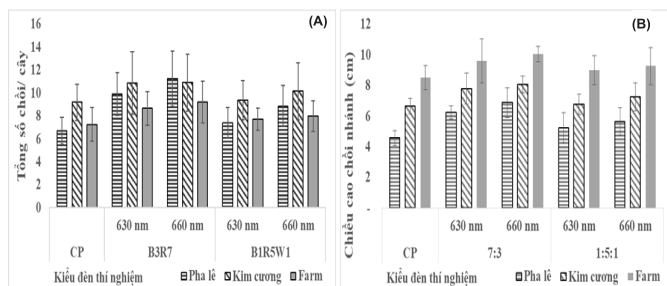
| Lần thu ngọn     | Lần 1           | Lần 2           | Lần 3           | Hiệu suất nhân chồi (%) | % hiệu suất nhân chồi của đèn LED tăng so với đèn compact |
|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------|
| <b>Pha lê</b>    |                 |                 |                 |                         |                                                           |
| Compact          | 1,51 $\pm$ 0,5  | 2,40 $\pm$ 0,92 | 2,80 $\pm$ 0,51 | 100                     |                                                           |
| B3R7 630 nm      | 2,11 $\pm$ 0,98 | 3,45 $\pm$ 1,16 | 4,45 $\pm$ 1,12 | 147,76                  | 47,76                                                     |
| B3R7 660 nm      | 2,02 $\pm$ 0,3  | 4,45 $\pm$ 2,18 | 4,70 $\pm$ 1,35 | 167,91                  | 67,91                                                     |
| B1R5W1 630 nm    | 1,71 $\pm$ 0,46 | 2,75 $\pm$ 0,99 | 2,95 $\pm$ 0,59 | 110,44                  | 10,44                                                     |
| B1R5W1 660 nm    | 1,95 $\pm$ 0,22 | 3,35 $\pm$ 1,56 | 3,55 $\pm$ 0,86 | 132,08                  | 32,08                                                     |
| <b>Kim cương</b> |                 |                 |                 |                         |                                                           |
| Compact          | 2,20 $\pm$ 0,98 | 3,65 $\pm$ 1,28 | 3,80 $\pm$ 0,87 | 100                     |                                                           |
| B3R7 630 nm      | 2,70 $\pm$ 0,71 | 3,85 $\pm$ 1,15 | 5,30 $\pm$ 1,27 | 117,93                  | 17,93                                                     |
| B3R7 660 nm      | 2,85 $\pm$ 0,73 | 4,30 $\pm$ 2,08 | 5,45 $\pm$ 1,66 | 118,47                  | 18,47                                                     |
| B1R5W1 630 nm    | 2,40 $\pm$ 0,49 | 3,60 $\pm$ 1,80 | 3,90 $\pm$ 0,99 | 101,63                  | 1,63                                                      |
| B1R5W1 660 nm    | 2,45 $\pm$ 0,50 | 3,70 $\pm$ 1,55 | 4,05 $\pm$ 1,20 | 110,32                  | 10,32                                                     |
| <b>Farm</b>      |                 |                 |                 |                         |                                                           |
| Compact          | 1,90 $\pm$ 0,30 | 2,45 $\pm$ 1,20 | 2,90 $\pm$ 0,73 | 100                     |                                                           |
| B3R7 630 nm      | 2,00 $\pm$ 0,51 | 3,10 $\pm$ 1,26 | 3,55 $\pm$ 0,82 | 119,31                  | 19,31                                                     |
| B3R7 660 nm      | 2,15 $\pm$ 0,36 | 3,35 $\pm$ 1,31 | 3,70 $\pm$ 1,01 | 126,89                  | 26,89                                                     |
| B1R5W1 630 nm    | 1,95 $\pm$ 0,22 | 2,90 $\pm$ 0,70 | 3,15 $\pm$ 0,96 | 110,34                  | 10,34                                                     |
| B1R5W1 660 nm    | 1,95 $\pm$ 0,22 | 2,70 $\pm$ 0,71 | 3,05 $\pm$ 0,58 | 106,20                  | 6,20                                                      |

\*: giá trị trung bình và sai số của các ô lặp lại thí nghiệm của mỗi giống cúc nghiên cứu.



Các đèn compact, LED B3R7 630 nm, B1R5W1 660 nm, B1R5W1 630 nm cho tổng số chồi trung bình sau 3 lần ngắt ngọn lần lượt là  $6,7 \pm 1,17$ ,  $9,9 \pm 1,86$ ,  $8,85 \pm 1,79$  và  $7,4 \pm 1,31$ /cây mẹ.

Kết quả tương tự cũng được ghi nhận ở giống hoa cúc Farm. Các cây hoa cúc Farm dưới điều kiện ánh sáng LED B3R7 660 nm có tổng số chồi trung bình/cây thu được xấp xỉ  $9,2 \pm 1,81$  (hình 2A), cao nhất trong các kiểu đèn khảo sát. Mặt khác, mặc dù không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về hiệu suất nhân chồi của giống cúc Kim cương dưới các điều kiện chiếu sáng LED, số lượng chồi tạo thành/cây mẹ đều cao hơn so với các cây sinh trưởng dưới đèn compact truyền thống (320-730 nm) (hình 2A).



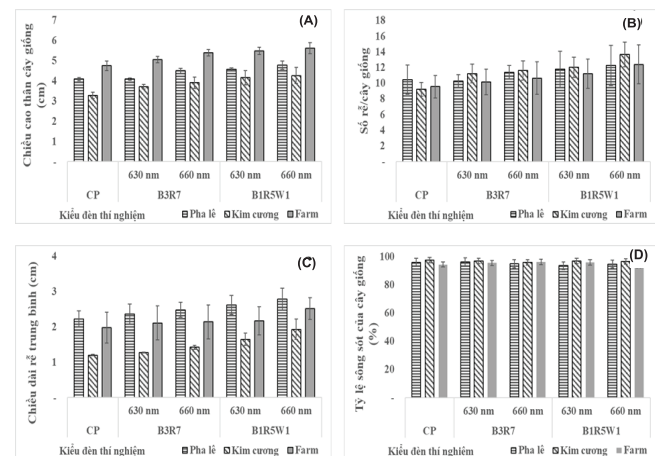
**Hình 2. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng đến tổng số chồi tạo thành/cây mẹ (A) và chiều cao chồi nhánh tạo thành (B) ở các giống hoa cúc Pha lê, Kim cương và Farm sau 3 lần thu ngọn. CP: compact.**

Từ những kết quả thu được sau 2 lần tiến hành thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy ánh sáng LED có khả năng phát sinh chồi mới cao hơn so với đèn compact ở cả 3 giống hoa cúc được khảo sát. Đèn LED B3R7 660 nm có hiệu quả cảm ứng phát sinh chồi mới là tốt nhất trong các kiểu đèn LED khảo sát, dao động 18,47-67,91% tùy vào từng giống cúc (bảng 2). Trong khi đó, cây hoa cúc sinh trưởng dưới điều kiện ánh sáng LED B1R5W1 có hiệu suất thấp hơn so với LED B3R7. Đặc biệt, các kiểu đèn sử dụng ánh đỏ bước sóng 630 nm đều có hiệu suất nhân chồi thấp hơn so với ánh sáng đỏ bước sóng 660 nm.

Ánh sáng cũng có ảnh hưởng tới chiều cao ngọn hoa cúc phát sinh. Nhìn chung, các cây hoa cúc nuôi dưới các điều kiện ánh sáng LED B3R7 đều có chiều cao chồi lớn hơn so với các kiểu đèn còn lại (hình 2B). Tuy nhiên, để đảm bảo tính khách quan của thí nghiệm, các chồi hoa cúc được cắt tỉa về cùng một chiều cao (4 cm) trước khi tiến hành giâm ngọn. Ngọn cúc sau khi ngắt được giâm vào bầu đất và giữ trong bóng râm 1 tuần để cây hồi phục trước khi tiếp tục nuôi dưới các điều kiện chiếu sáng để tạo cây giống hoàn chỉnh.

### 3.2. Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến sinh trưởng của cây giống hoa cúc

Sau giâm 5-7 ngày rễ cây tươi trở lại, điều này chứng tỏ rễ đã bắt đầu phát triển có thể tự hút nước và dinh dưỡng để nuôi ngọn giâm. Kết quả khảo sát cho thấy, các cây hoa cúc nuôi trồng dưới điều kiện ánh sáng LED đều có tỷ lệ cây sống sót cao tương đương với điều kiện đèn compact đối chứng (dao động 93,5-97,33%, tùy theo giống cúc) (hình 3). Tuy nhiên, điều kiện chiếu sáng khác nhau ảnh hưởng đến một số đặc điểm hình thái của cây giống như: chiều cao thân hay số lượng rễ phát sinh.

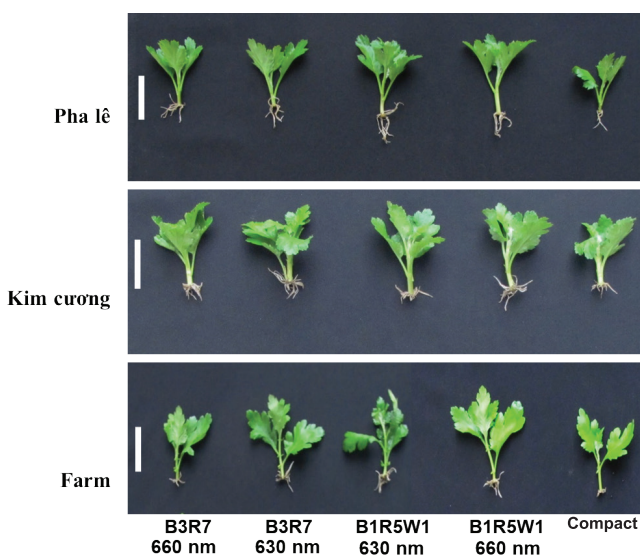


**Hình 3. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng đến chất lượng cây giống hoa cúc. (A) Chiều cao trung bình cây giống; (B) Số rễ tạo thành/cây giống; (C) Chiều dài rễ trung bình; (D) Tỷ lệ sống sót của cây giống ở các điều kiện chiếu sáng khác nhau.**

Kết quả sau 25 ngày giâm cho thấy, các cây hoa cúc Kim cương ở công thức được chiếu sáng bằng đèn LED B1R5W1 630 nm và B1R5W1 660 nm có chiều cao thân trung bình là lớn nhất. Chiều cao trung bình của các ngọn giâm đạt  $4,16 \pm 0,36$  và  $4,27 \pm 0,39$  cm ở 2 loại đèn này. Đối với giống hoa cúc Pha lê, chiều cao chồi trung bình đạt  $4,58 \pm 0,2$  và  $4,79 \pm 0,06$  cm. Chiều cao chồi lớn nhất cũng thu được tại 2 kiểu đèn LED B1R5W1 660 nm và B1R5W1 630 nm ở các cây hoa cúc Farm. Trong khi đó, chiều cao thân của các cây hoa cúc nuôi trồng dưới kiểu đèn compact lần lượt là 3,28, 4,09 và 4,75 cm ở các giống cúc Kim cương, Pha lê và Farm.

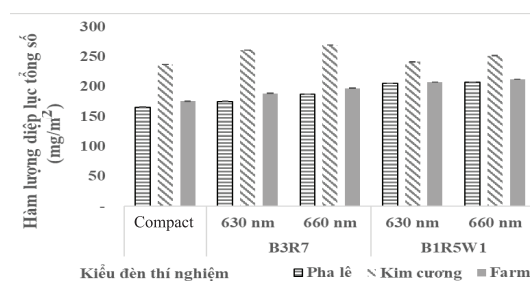
Số rễ tạo thành/cây cũng như chiều dài rễ trung bình tại thời điểm 25 ngày sau khi giâm của các cây hoa cúc sinh trưởng dưới ánh sáng các LED B1R5W1 đều tốt hơn so với đèn compact truyền thống (hình 3B, 3C và hình 4). Bổ sung ánh sáng trắng âm trong phổ ánh sáng cũng cho hiệu quả cảm ứng phát sinh rễ ở một số đối tượng cây như Sâm dây (*Codonopsis* sp.) hay hoa Đồng tiền (*Gerbera* sp.) trong giai đoạn nhân giống *in vitro* [1, 2, 8] (bảng 1). S. Olschowski

và cs (2016) [11] đã đưa ra kết luận, ánh sáng kết hợp LED đỏ với xanh và trắng có khả năng kích thích sự phát triển của ngọn giâm cây hoa Chuông (*Calibrachoa*). Kết quả cho thấy, các chồi cây nuôi trồng dưới điều kiện chiếu sáng này có khối lượng khô của bộ rễ và diện tích lá tương đương với cây nuôi trồng dưới bóng đèn cao áp natri và có thể ứng dụng thay thế đèn cao áp này trong sản xuất cây hoa Chuông cảnh [11]. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu thực tế cho thấy không có sai khác có ý nghĩa thống kê ở các chỉ tiêu chiều cao cây hay chiều dài rễ khi so sánh giữa các cây hoa cúc sinh trưởng dưới điều kiện chiếu sáng LED B3R7 và B1R5W1 ở cùng bước sóng đỏ 630 hoặc 660 nm (hình 3 và 4).



**Hình 4. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng khác nhau lên cây giống hoa cúc Pha lê, Kim cương và Farm tại thời điểm 25 ngày sau khi tiến hành giâm ngọn. 1 bar = 5 cm.**

Không chỉ ảnh hưởng đến hình thái, sinh trưởng của cây giống, các điều kiện chiếu sáng khác nhau cũng tác động đến hàm lượng sắc tố quang hợp tích lũy. Kết quả cho thấy, các cây giống hoa cúc trồng dưới điều kiện ánh sáng LED đều có hàm lượng diệp lục tích lũy cao hơn so với cây sinh trưởng dưới ánh đèn compact (hình 5). Nhìn chung, cây hoa cúc sinh trưởng dưới các điều kiện đèn LED B3R7 có hàm lượng diệp lục tổng số cao hơn so với B1R5W1. Ngoài ra, kết hợp ánh sáng đỏ ở bước sóng 660 nm cũng cho hiệu quả cảm ứng sinh tổng hợp diệp lục tốt hơn so với bước sóng 630 nm. Hiện tượng tăng tích lũy diệp lục có thể là một trong những nguyên nhân gián tiếp dẫn tới các cây hoa cúc nuôi trồng dưới các điều kiện đèn LED có khả năng sinh trưởng tốt hơn so với compact thông qua tăng cường tích lũy các sản phẩm từ quá trình quang hợp.



**Hình 5. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng khác nhau lên hàm lượng diệp lục tổng số tích lũy ở cây giống hoa cúc Pha lê, Kim cương và Farm tại thời điểm 25 ngày sau khi tiến hành giâm ngọn.**

### 3.3. Hiệu quả tiết kiệm điện năng của mô hình sử dụng đèn LED

Nhằm đánh giá hiệu quả tiết kiệm năng lượng của đèn LED chuyên dụng, tổng lượng điện năng sử dụng cho mô hình đèn LED B3R7 660 nm và compact được ghi nhận thông qua 2 công tơ điện độc lập dưới điều kiện sử dụng cùng một loại dây điện và phương thức mắc đèn như nhau cho 60 đèn (tương đương số lượng đèn cho diện tích 500 m²). Chu kỳ sản xuất cây giống từ giai đoạn cây *in vitro* lên luống đến thời điểm thu cây giống cuối cùng kéo dài khoảng 4 tháng. Kết quả cho thấy, tổng lượng điện năng tiêu thụ sau 4 tháng ở mô hình chiếu sáng LED là 544,32 kW, trong khi đó ở mô hình sử dụng đèn compact là 1212,36 kW. Như vậy, hiệu quả tiết kiệm năng lượng lên đến 55,21%. Kết quả được thu nhận dưới điều kiện thí nghiệm ở diện tích nhỏ chưa thể phản ánh đúng tiềm năng tiết kiệm năng lượng thực tế. Tuy nhiên, nếu các vùng canh tác thực hiện chuyển đổi từ đèn compact, sợi đốt sang đèn LED tổng lượng điện năng tiêu thụ/vùng cũng như chi phí năng lượng sẽ giảm hơn so với phương thức chiếu sáng truyền thống.

## 4. Kết luận

Ánh sáng LED đỏ với bước sóng 660 nm trong bản ma trận chip LED có hiệu quả cảm ứng phát sinh chồi cũng như kích thích sự phát triển của cây giống tốt hơn so với ánh sáng LED đỏ bước sóng 630 nm.

Hiệu quả nhân chồi của các cây hoa cúc sinh trưởng dưới ánh sáng LED B3R7 660 nm là tốt nhất trong các kiểu đèn khảo sát. Hiệu suất nhân chồi đạt được cao hơn lần lượt 67,91, 18,47 và 26,89% so với điều kiện đèn compact ở các giống hoa cúc Pha lê, Kim cương và Farm.

Đèn LED B1R5W1 660 nm có số lượng rễ tạo thành nhiều hơn nhưng không có sai khác có ý nghĩa thống kê ở các chỉ tiêu chiều cao cây giống, chiều dài rễ cây giống so với đèn LED B3R7 660 nm. Cây giống sinh trưởng dưới các điều kiện chiếu sáng LED B1R5W1 660 nm và LED

B3R7 660 nm đều có chiều cao thân cũng như số lượng rễ, chiều dài rễ tương đương hoặc tốt hơn so với cây sinh trưởng dưới kiểu đèn compact.

Hiệu năng tiết kiệm điện ở mô hình sử dụng đèn LED B3R7 660 nm vào khoảng 55,21% so với mô hình sử dụng đèn compact truyền thống. Do đó, để đồng bộ hệ thống trong khi triển khai ứng dụng thực tiễn, các vườn ươm có thể sử dụng kiểu đèn LED B3R7 660 nm trong quy trình nhân giống từ giai đoạn *in vitro* đến sản xuất giống cấp 2 trong vườn ươm nhằm đem lại hiệu quả cao hơn với chi phí điện năng thấp hơn so với đèn compact đang được sử dụng rộng rãi hiện nay.

### LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn đề tài “Nghiên cứu phát triển và triển khai ứng dụng các mô hình chiếu sáng điều khiển quang chu kỳ bằng đèn LED chuyên dụng nhằm nâng cao hiệu quả sản xuất hoa cúc thương mại tại khu vực Tây Nguyên” (mã số TN18/C08) thuộc Chương trình khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội vùng Tây Nguyên giai đoạn 2016-2020 đã cung cấp kinh phí, thiết bị, vật liệu để thực hiện nghiên cứu này.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] K.H. Nguyen, B.N. Pham, T.T.H. Nguyen, et al. (2016), “Study on the effects of led light on physiological and morphological characteristics of dang shen (*Codonopsis sp.*) growth in *in vitro* condition”, *Biology Magazine*, **38(2)**, pp.220-227, DOI:10.15625/0866-7160/v38n2.7106 (in Vietnamese).

[2] T.G. Do, B.N. Pham, K.H. Nguyen, et al. (2017), “Effect of led light on *in vitro* growth and development of *Anoectochilus roxburghii*”, *Journal of Biotechnology*, **15(1)**, pp.97-104, DOI:10.15625/1811-4989/15/1/12324 (in Vietnamese).

[3] S.D. Gupta, B. Jatothu (2013), “Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis”, *Plant Biotechnol. Rep.*, **7(3)**, pp.211-220, DOI: 10.1007/s11816-013-0277-0.

[4] J.B.B. Jericó, M.E. Eduardo, C. Humberto, et al. (2016), “Effect of LED light quality on *in vitro* shoot proliferation and growth of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews)”, *African J. Biotechnol.*, **15(8)**, pp.272-277, DOI:10.5897/AJB2015.14662.

[5] N. Yeh, J.P. Chung (2009), “High brightness LEDs energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation”, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **13(8)**, pp.2175-2180, DOI: 10.1016/j.rser.2009.01.027.

[6] T.N. Duong, B.N. Nguyen (2009), “Effects of monochromatic lighting system on the growth and development of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* CV. “Button”) cultured *in vitro*”, *Journal of Biotechnology*, **7(1)**, pp.93-100 (in Vietnamese).

[7] A.S. Zakrzewska, F.A. Pradita (2021), “Effect of colour of light on rooting cuttings and subsequent growth of Chrysanthemum (*Chrysanthemum × grandiflorum* Ramat./Kitam.)”, *Agriculture*, **11(7)**, DOI: 10.3390/agriculture11070671.

[8] T.K.L. Nguyen, D.T. Le, X.L. Nguyen (2012), *Techniques and Care of Chrysanthemum Plants*, Agricultural publisher, 52p (in Vietnamese).

[9] H.K. Phan (2016), “Research and develop LED lighting technology to serve agriculture in the Central Highlands”, *Summary Report on Project Code TN3/C09 Under The Science and Technology Program to Serve Socio-Economic Development in The Central Highlands Region (Code TN3/C09)* (in Vietnamese).

[10] B.N. Nguyen, D.L. Nguyen, T.N. Duong (2012), “Effects of explant type and monochromatic lighting system on the ability to regenerate chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat. CV. “JIMBA”) shoots cultured *in vitro*”, *Science and Technology Magazine*, **50(6)**, pp.593-604 (in Vietnamese).

[11] S. Olschowski, E.M. Geiger, J.V. Herrmann, et al. (2016), “Effects of red, blue, and white LED irradiation on root and shoot development of *Calibrachoa* cuttings in comparison to high pressure sodium lamps”, *Acta Hort.*, **1134**, pp.245-250, DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1134.33.



# Ảnh hưởng của phương pháp thủy tinh hóa và giai đoạn phát triển của phôi đến hiệu quả bảo quản lạnh phôi bò sản xuất *in vitro* tại Việt Nam

Nguyễn Khánh Vân<sup>1\*</sup>, Vũ Thị Thu Hương<sup>1</sup>, Phạm Thị Kim Yến<sup>1</sup>, Hoàng Thị Âu<sup>1</sup>, Phạm Doãn Lâm<sup>2</sup>, Lưu Quang Minh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Tế bào Động vật, Viện Chăn nuôi, 9 đường Tân Phong, phường Thụy Phương, quận Bắc Từ Liêm, thành phố Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Chăn nuôi, 9 đường Tân Phong, phường Thụy Phương, quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

<sup>3</sup>Bộ Khoa học và Công nghệ, 113 Trần Duy Hưng, phường Trung Hòa, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 22/8/2022; ngày chuyển phản biện 25/8/2022; ngày nhận phản biện 26/9/2022; ngày chấp nhận đăng 30/9/2022

## Tóm tắt:

Mục đích của nghiên cứu này nhằm so sánh một số phương pháp thủy tinh hóa và giai đoạn phát triển của phôi bò sản xuất *in vitro* đến hiệu quả bảo quản lạnh phôi bò *in vitro* tại Việt Nam. Phôi được đông lạnh theo 2 phương pháp: (1) Thủy tinh hóa bằng cryotop và (2) Thủy tinh hóa bằng microdrop. Tỷ lệ phôi bò thu được sau giải đông của phương pháp (1) cao hơn so với (2) (100 so với 81,01%,  $p < 0,05$ ). Tuy nhiên không có sự khác biệt về tỷ lệ phôi sống, phôi phát triển và giãn nở trở lại, phôi thoát màng sau giải đông giữa phương pháp (1) và (2) (tương ứng 88,43 so với 91,89%; 83,1 so với 84,43% và 20,34 so với 17,79%,  $p > 0,05$ ). Trong nghiên cứu này, tỷ lệ hợp tử sống, phân chia, tạo phôi nang và phôi nang thoát màng sau giải đông tương ứng đạt 86,83, 63,83, 21,39 và 3,91%. Nghiên cứu không nhận thấy sự khác biệt về tỷ lệ phôi sống, phôi thoát màng sau giải đông giữa nhóm phôi đầu/dầu chặt và phôi nang (tương ứng 82,67 so với 88,43%; 16,54 so với 20,34%,  $p > 0,05$ ). Kết quả cho thấy, phôi bò *in vitro* được đông lạnh thành công ở giai đoạn hợp tử, phôi đầu/dầu chặt hoặc phôi nang bằng phương pháp thủy tinh hóa.

**Từ khóa:** cryotop, microdrop, phôi bò sản xuất *in vitro*, thủy tinh hóa.

**Chỉ số phân loại:** 4.2

## 1. Đặt vấn đề

Quy trình sản xuất phôi bò *in vitro*; bảo quản lạnh phôi bò *in vitro*; cấy chuyển phôi bò *in vitro* đã và đang được sử dụng rộng rãi trong nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới. Cùng với sự phát triển của kỹ thuật siêu âm thu tế bào trứng, kỹ thuật bảo quản lạnh phôi bò ngày càng phát triển và được ứng dụng mang tính thương mại. Bảo quản lạnh phôi bò *in vitro* có vai trò quan trọng trong việc bảo vệ nguồn vật liệu di truyền trong hệ thống chăn nuôi gia súc truyền thống [1]. Khoảng 9,5% trong tổng số 385.000 phôi bò *in vitro* được sử dụng cho cấy chuyển phôi trên thế giới có nguồn gốc từ phôi đông lạnh và khoảng 250.000 phôi bò *in vivo* đông lạnh được sử dụng cho cấy chuyển phôi [2]. Tuy nhiên, tỷ lệ có chứa sau cấy chuyển phôi bò *in vitro* đông lạnh - giải đông vẫn thấp hơn so với phôi bò không đông lạnh hoặc phôi bò *in vivo* đông lạnh - giải đông. Thành công của quá trình bảo quản lạnh phôi bò *in vitro* phụ thuộc vào một số yếu tố, trong đó chất lượng phôi trước khi đông lạnh và phương pháp đông lạnh có vai trò quan trọng, ảnh hưởng đến khả năng sống và phát triển tiếp theo của phôi sau đông lạnh - giải đông.

Mục đích của bảo quản lạnh phôi là duy trì, lưu giữ phôi ở trạng thái hiện có của chúng và cho phép chúng phát triển sau khi được giải đông. Khi được bảo quản ở nhiệt độ thấp,

các hoạt động của emzym nội bào, hô hấp tế bào, trao đổi chất, sự phân chia của phôi được tạm dừng. Do đó, phôi có thể được bảo quản mà không gây ra bất kỳ tổn thương di truyền nào [3]. Phôi bò thường được đông lạnh bằng phương pháp đông lạnh chậm hoặc thủy tinh hóa [4]. Đông lạnh chậm gây nhiều tổn thương cho phôi của động vật có vú do sự hình thành tinh thể đá nội bào và độc tố của chất bảo vệ lạnh. Thủy tinh hóa là một quy trình vật lý mà theo đó dung dịch chuyển sang dạng ổn định như thủy tinh bằng cách làm lạnh nhanh chóng nhưng không có sự hình thành tinh thể đá [5]. Quá trình thủy tinh hóa được thực hiện trong dung dịch thủy tinh hóa có chứa nồng độ cao chất bảo vệ lạnh với một tốc độ đông lạnh nhanh nhằm ngăn chặn sự hình thành tinh thể đá. Phương pháp đông lạnh thủy tinh hóa là cách tiếp cận tối ưu vì có thể tránh được tổn thương lạnh và sự hình thành tinh thể đá. Thời gian từ lúc khử nước nội bào đến lúc kết thúc quá trình đông lạnh xảy ra rất nhanh.

Thủy tinh hóa có một số ưu điểm vượt trội so với phương pháp đông lạnh chậm truyền thống như: đơn giản, dễ thực hiện, chi phí thấp, không cần các thiết bị đông lạnh đắt tiền, nâng cao hiệu quả bảo quản lạnh vì ngăn ngừa được sự hình thành tinh thể đá nội bào. Phương pháp đông lạnh chậm truyền thống thường sử dụng đơn lẻ chất bảo vệ lạnh như glycerol, ethylene glycol hay dimethyl sulfoxide. Trong khi đó, phương pháp thủy tinh hóa thường sử dụng kết hợp các

\*Tác giả liên hệ: Email: cotihin@gmail.com

# Influence of the method of vitrification and developmental stages of embryos on cryopreservation efficiency of *in vitro* bovine embryos produced in Vietnam

Khanh Van Nguyen<sup>1\*</sup>, Thi Thu Huong Vu<sup>1</sup>, Thi Kim Yen Pham<sup>1</sup>,  
Thi Au Hoang<sup>1</sup>, Doan Lan Pham<sup>2</sup>, Quang Minh Luu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Animal Cell Technology, Institute of Animal Husbandry,  
9 Tan Phong Street, Thuy Phuong Ward, Bac Tu Liem District, Hanoi City, Vietnam.

<sup>2</sup>Institute of Animal Husbandry,  
9 Tan Phong Street, Thuy Phuong Ward, Bac Tu Liem District, Hanoi City, Vietnam.

<sup>3</sup>Ministry of Science and Technology,  
113 Tran Duy Hung, Trung Hoa Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 22 August 2022; revised 26 September 2022; accepted 30 September 2022

## Abstract:

The study aimed to evaluate the influence of different vitrification methods and developmental stages of bovine embryos produced *in vitro* during cryopreservation in Vietnam. *In vitro* bovine embryos were frozen by two methods: (1) Vitrification by cryotop and (2) Vitrification by microdrop. The percentage of embryos obtained after thawing of method (1) was higher than that of (2) (100 vs 81.01%,  $p < 0.05$ ). However, there was no difference in survival, re-expansion and hatching blastocyst rates after thawing between the two methods (1) and (2) (88.43 vs 91.89%; 83.1 vs 84.43%; and 20.34 vs 17.79%,  $p > 0.05$ ; respectively). In this study, the survival, cleavage, blastocyst and hatching blastocyst rates of *in vitro* bovine zygotes after thawing were 86.83, 63.83, 21.39, and 3.91%, respectively. The authors did not observe any difference in survival and hatching blastocyst rates after thawing while vitrification at morula/compact morula and blastocyst stages (82.67 vs 88.43%, 16.54 vs 20.34%,  $p > 0.05$ ; respectively). The results showed that *in vitro* bovine embryos were successfully frozen at the zygotes, the morula/compact morula and blastocyst stage by vitrification.

**Keywords:** bovine embryos produced *in vitro*, cryotop, microdrop, vitrification.

**Classification number:** 4.2

chất bảo vệ lạnh như glycerol + ethylene glycol; glycerol + dimethyl sulfoxide... [6]. Việc sử dụng kết hợp các chất bảo vệ lạnh sẽ nâng cao khả năng sống của phôi sau đông lạnh - giải đông. Thủy tinh hóa phôi bằng cryotop đã được ứng dụng thành công ở bò với tỷ lệ phôi sống sau đông lạnh - giải đông đạt >70% [2, 7].

Việc lựa chọn giai đoạn phát triển của phôi phù hợp với quá trình thủy tinh hóa vẫn còn nhiều tranh cãi [8]. Bảo

quản lạnh phôi ở giai đoạn phôi nang cho phép cấy chuyển phôi ngay sau khi giải đông mà không cần phải nuôi phôi *in vitro* sau đông lạnh - giải đông [9]. Một số nhà nghiên cứu nhận thấy, bảo quản lạnh phôi nang ở giai đoạn sớm sẽ tốt hơn giai đoạn phôi nang giãn nở [10]; và phôi bò đông lạnh ở giai đoạn 4-8 tế bào chỉ tiếp tục phát triển đến giai đoạn phôi dâu sau đông lạnh - giải đông [8]. Tuy nhiên, nếu phôi được đông lạnh - giải đông ở giai đoạn sớm và tiếp tục phát triển đến giai đoạn phôi nang sau nuôi *in vitro* thì việc sử dụng các phôi nang này cho cấy chuyển sẽ giống như sử dụng phôi không đông lạnh [11].

Tại Việt Nam, có rất ít báo cáo về đông lạnh phôi bò sản xuất *in vitro* bằng phương pháp thủy tinh hóa. Xuất phát từ nhu cầu thực tế đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của phương pháp đông lạnh và giai đoạn phát triển của phôi bò sản xuất *in vitro* đến hiệu quả bảo quản lạnh phôi bò *in vitro*.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Tất cả các hóa chất sử dụng cho thí nghiệm trong nghiên cứu này được mua của Hãng Sigma-Aldrich Chemical, St.Louis, MO, Mỹ. Sử dụng cryotop của Hãng Kitazato, Nhật Bản; pipette tạo microdrop mua của Hãng Hirschman, Đức cho quá trình thủy tinh hóa trong nghiên cứu này.

Nghiên cứu được thực hiện trên phôi bò thịt lai Sind thụ tinh *in vitro*.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thủy tinh hóa phôi bò *in vitro* bằng cryotop:

- Chuẩn bị môi trường:

+ Môi trường lưu phôi bò: M199-Hepes có bổ sung 10% huyết thanh thai bê và kháng sinh (100 iu Penicillin/ml + 0,1 mg Streptomycin/ml).

+ Môi trường cân bằng: M199-Hepes có bổ sung 10% (v/v) huyết thanh thai bê, 10% (v/v) ethylene glycol, 10% (v/v) dymethylsulfoxide.

+ Môi trường thủy tinh hóa: M199-Hepes có bổ sung 10% huyết thanh thai bê, 20% ethylene glycol (v/v), 20% dymethylsulfoxide (v/v), 0,5 M sucrose.

- Thủy tinh hóa phôi bò bằng cryotop:

+ Phôi bò được rửa 3 lần trong môi trường lưu phôi trước khi chuyển vào môi trường cân bằng. Phôi bò được để trong môi trường cân bằng trong vòng 3 phút sau đó chuyển sang môi trường thủy tinh hóa và được nạp vào cryotop ở 22-24°C. Sau đó, cryotop được nhúng ngập trực tiếp vào trong dung dịch nitơ lỏng trong vòng 25 giây.

+ Phôi được bảo quản trong dung dịch nitơ lỏng cho tới khi giải đông.

*Thủy tinh hóa phôi bò bằng microdrop:*

- Chuẩn bị môi trường:

+ Môi trường lưu phôi bò: M199-Hepes có bổ sung 10% huyết thanh thai bê và kháng sinh (100 iu Penicillin/ml + 0,1 mg Streptomycin/ml).

+ Môi trường cân bằng: M199-Hepes có bổ sung 10% huyết thanh thai bê (v/v), 10% ethylene glycol (v/v), 10% dymethylsulfoxide (v/v).

+ Môi trường thủy tinh hóa: M199-Hepes có bổ sung 10% huyết thanh thai bê, 20% ethylene glycol (v/v), 20% dymethylsulfoxide (v/v) và 0,5 M sucrose.

- Thủy tinh hóa phôi bò bằng microdrop:

+ Phôi bò được rửa 3 lần trong môi trường lưu phôi trước khi chuyển vào môi trường cân bằng. Phôi bò được để trong môi trường cân bằng trong vòng 3 phút sau đó chuyển sang môi trường thủy tinh hóa và được hút vào một pipette, rồi thả thẳng trực tiếp lên bề mặt giấy bạc đã được làm lạnh 5-10 phút trước đó trên dung dịch nitơ lỏng để ngay lập tức tạo thành các giọt thủy tinh hóa có chứa phôi với lượng thể tích 1-2  $\mu$ l. Thời gian từ lúc chuyển phôi sang môi trường thủy tinh hóa cho đến khi tạo giọt thủy tinh hóa trên bề mặt giấy bạc là 25 giây.

+ Các giọt thủy tinh hóa có chứa phôi sẽ được chuyển sang các ống Cryotube và bảo quản trong dung dịch nitơ lỏng.

*Giải đông phôi bò sau thủy tinh hóa bằng cryotop:*

- Chuẩn bị môi trường giải đông:

+ Môi trường T1: M199-Hepes có bổ sung 20% huyết thanh thai bê và kháng sinh (100 iu Penicillin/ml + 0,1 mg Streptomycin/ml).

+ Môi trường T2: M199-Hepes có bổ sung 0,5 M sucrose, 20% huyết thanh thai bê và kháng sinh (100 iu Penicillin/ml + 0,1 mg Streptomycin/ml).

- Giải đông phôi bò sau thủy tinh hóa bằng cryotop:

+ Cryotop chứa phôi bò được lấy ra khỏi dung dịch nitơ lỏng và chuyển ngay lập tức vào môi trường T2 ở 38,5°C trong vòng 5 phút.

+ Sau 5 phút phôi được chuyển sang môi trường T1 trong vòng 5 phút để loại bỏ hết các chất bảo vệ lạnh.

*Giải đông phôi bò sau thủy tinh hóa bằng microdrop:*

- Chuẩn bị môi trường giải đông:

+ Môi trường T1: M199-Hepes có bổ sung 20% huyết thanh thai bê và kháng sinh (100 iu Penicillin/ml + 0,1 mg Streptomycin/ml).

+ Môi trường T2: M199-Hepes có bổ sung 0,5 M sucrose, 20% huyết thanh thai bê và kháng sinh (100 iu Penicillin/ml + 0,1 mg Streptomycin/ml).

- Giải đông phôi bò sau thủy tinh hóa bằng microdrop:

+ Cryotube có chứa các giọt thủy tinh hóa có phôi bò đông lạnh sau khi lấy ra khỏi dung dịch nitơ lỏng ngay lập tức được đổ lại trên bề mặt giấy bạc đã được làm lạnh 5-10 phút trên dung dịch nitơ lỏng trước đó. Tiếp theo, các giọt thủy tinh hóa có chứa phôi đông lạnh được chuyển sang môi trường T2 ở 38,5°C trong vòng 5 phút.

+ Sau 5 phút, phôi được chuyển sang môi trường T1 trong vòng 5 phút để loại bỏ hết các chất bảo vệ lạnh.

*Nuôi in vitro phôi bò sau đông lạnh - giải đông:*

- Chuẩn bị môi trường nuôi phôi bò sau đông lạnh - giải đông: môi trường SOF có bổ sung 2,5% huyết thanh thai bê.

- Nuôi *in vitro* phôi bò sau đông lạnh - giải đông: phôi bò sau giải đông được rửa 3 lần trong môi trường nuôi SOF có bổ sung 2,5% huyết thanh thai bê. Tiếp theo, chuyển phôi bò sang nuôi 24-48 giờ trong môi trường nuôi SOF có bổ sung huyết thanh thai bê ở điều kiện 38,5°C, 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> và độ ẩm không khí bão hòa để đánh giá khả năng sống và phát triển trở lại của phôi bò sau đông lạnh - giải đông.

*Xử lý số liệu:* Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excell 2010 và Minitab, sự sai khác có ý nghĩa được kiểm tra bằng  $\chi^2$  sử dụng hàm CHITEST, sự sai khác có ý nghĩa với  $p < 0,05$ .

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Ảnh hưởng của phương pháp đông lạnh đến hiệu quả bảo quản lạnh phôi bò *in vitro*

Trong thí nghiệm này chúng tôi sử dụng 2 phương pháp đông lạnh: (1) Thủy tinh hóa bằng cryotop và (2) Thủy tinh hóa bằng microdrop. Tất cả các phôi bò *in vitro* sử dụng cho thí nghiệm này đều ở giai đoạn phôi nang thu ở ngày thứ 7 sau thụ tinh *in vitro*. Hiệu quả của 2 phương pháp đông lạnh được đánh giá dựa trên các tiêu chí: số phôi thu được, số phôi sống, số phôi phát triển và giãn nở trở lại, số phôi thoát màng sau đông lạnh - giải đông. Kết quả thể hiện ở bảng 1 cho thấy, không có sự sai khác có ý nghĩa về tỷ lệ phôi sống, phôi giãn nở trở lại và phôi thoát màng sau đông lạnh - giải đông đối với cả 2 nhóm cryotop và nhóm microdrop (tương ứng 88,43 so với 91,89%; 83,1 so với 84,43% và 20,34 so với 17,79%,  $p > 0,05$ ).



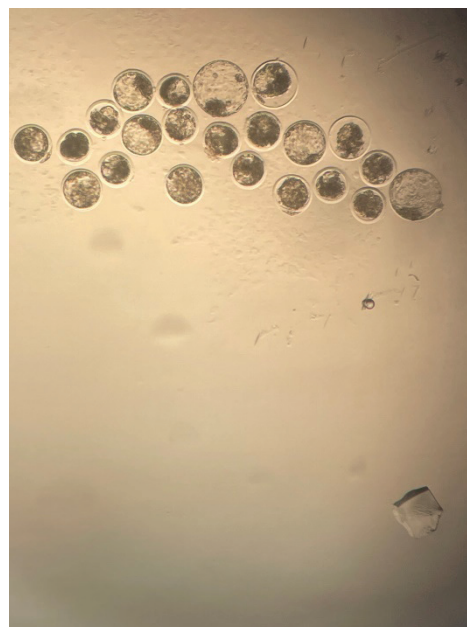
**Bảng 1. Khả năng thu hồi và phát triển *in vitro* của phôi bò *in vitro* sau thủy tinh hóa bằng cryotop hoặc microdrop.**

| Phương pháp đông lạnh | Số phôi được đông lạnh | Số phôi thu được sau đông lạnh - giải đông % (Mean ±SE) | Số phôi sống sau đông lạnh - giải đông % (Mean ±SE) | Số phôi phát triển và giãn nở trở lại sau đông lạnh - giải đông % (Mean ±SE) | Số phôi thoát màng % (Mean ±SE) |
|-----------------------|------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Cryotop               | 62                     | 62 (100) <sup>a</sup>                                   | 54 (88,43±3,01) <sup>a</sup>                        | 50 (83,1±4,04) <sup>a</sup>                                                  | 12 (20,34±2,92) <sup>a</sup>    |
| Microdrop             | 62                     | 51 (81,01±3,06) <sup>b</sup>                            | 46 (91,89±2,62) <sup>a</sup>                        | 42 (84,43±4,32) <sup>a</sup>                                                 | 9 (17,79±3,87) <sup>a</sup>     |

Ghi chú: thí nghiệm được thực hiện với 8 lần lặp lại, các giá trị trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Tốc độ đông lạnh là một trong những yếu tố quan trọng đảm bảo cho sự thành công của quá trình đông lạnh. Tốc độ đông lạnh nhanh làm giảm thời gian tiếp xúc của phôi với nhiệt độ, giảm bớt độc tố của chất bảo vệ lạnh, qua đó giảm thiểu các tổn thương của phôi trong quá trình đông lạnh. Tốc độ đông lạnh tăng sẽ giúp phôi tránh được những tổn thương lạnh, làm giảm nồng độ chất bảo vệ lạnh giúp tế bào vượt qua vùng nhiệt độ giới hạn (-5 đến -15°C) một cách nhanh chóng, nước nội bào sẽ đi ra ngoài tế bào và đông lạnh ở bên ngoài. Điều này sẽ ngăn chặn tổn thương lạnh đối với các giọt lipid nội bào, lipid có trong màng tế bào và bộ khung xương tế bào. Tốc độ đông lạnh phụ thuộc vào vật chứa mẫu, độ dẫn điện và thành phần dung dịch [12]. Khi lượng thể tích dung dịch chứa mẫu được giảm thiểu sẽ làm tăng tốc độ đông lạnh - giải đông phôi [12]. Đối với cả 2 phương pháp thủy tinh hóa bằng cryotop và microdrop, lượng dung dịch thủy tinh hóa chứa mẫu đông lạnh chỉ dao động trong khoảng 1-3  $\mu$ l. Việc sử dụng một lượng nhỏ thể tích dung dịch thủy tinh hóa sẽ làm tăng tốc độ đông lạnh, nhờ đó giảm thiểu hiện tượng bị nứt vỡ màng sáng, tổn thương màng sinh chất khi phôi được tiếp xúc trực tiếp với dung dịch nitơ lỏng, qua đó nâng cao tỷ lệ phôi sống sau đông lạnh - giải đông [13, 14].

Để nâng cao hiệu quả quá trình thủy tinh hóa phôi bò, trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng hỗn hợp chất bảo vệ lạnh ethylene glycol và dimethyl sulfoxide. Đây là những chất bảo vệ lạnh thẩm màng có khối lượng phân tử thấp. Các chất bảo vệ lạnh thẩm màng có khả năng thẩm màng, hoạt động trong nội bào như một chất bảo vệ thông qua việc hình thành liên kết hydrogen với phân tử nước và ngăn chặn sự hình thành tinh thể đá nội bào trong quá trình đông lạnh [15]. Ngoài ra, khi sử dụng kết hợp các chất bảo vệ lạnh với nhau trong quá trình thủy tinh hóa sẽ giảm bớt những ảnh hưởng bất lợi của chúng đối với tế bào trong quá trình thủy tinh hóa [16].

**Hình 1. Phôi nang bò *in vitro* giãn nở và phát triển trở lại sau đông lạnh - giải đông.**

Mặc dù không có sự sai khác có ý nghĩa về tỷ lệ phôi sống, phôi giãn nở trở lại và phôi thoát màng sau đông lạnh - giải đông, tuy nhiên số lượng phôi nang bò *in vitro* thu được sau đông lạnh - giải đông của nhóm cryotop cao hơn có ý nghĩa so với microdrop (tương ứng 100 so với 81,01%,  $p < 0,05$ ). Tỷ lệ thu được 100% phôi sau đông lạnh - giải đông đối với phương pháp đông lạnh bằng cryotop đã được một số tác giả báo cáo. Theo L.O. Leme và cs (2017) [17], A.D. Rosa và cs (2010) [18], tỷ lệ phôi bò *in vitro* thu được sau đông lạnh - giải đông bằng cryotop đạt 100%. V.K. Nguyen và cs (2018) [19] cũng nhận thấy việc mất một số lượng phôi sau đông lạnh - giải đông bằng phương pháp microdrop. Việc mất phôi sau đông lạnh - giải đông bằng phương pháp microdrop có thể là do phôi bị bầm dập vào pipette thủy tinh trong quá trình thủy tinh hóa. Đó cũng chính là nhược điểm của phương pháp thủy tinh hóa bằng microdrop so với cryotop [19]. Chính vì vậy, theo quan điểm của chúng tôi nên sử dụng phương pháp thủy tinh hóa bằng cryotop cho quá trình bảo quản lạnh phôi của những động vật nuôi có giá trị.

### 3.2. Ảnh hưởng của giai đoạn phát triển của phôi bò đến hiệu quả bảo quản lạnh phôi bò

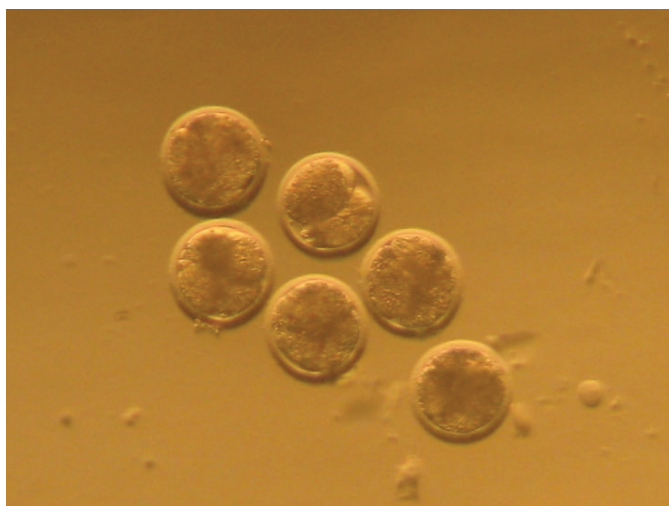
Để đánh giá ảnh hưởng của giai đoạn phát triển phôi bò đến hiệu quả bảo quản lạnh phôi bò, trong thí nghiệm này chúng tôi sử dụng phương pháp thủy tinh hóa bằng cryotop cho quá trình đông lạnh phôi bò ở 3 giai đoạn: (1) Hợp tử (10 giờ sau thụ tinh *in vitro*), (2) Phôi dâu/dấu chặt và (3) Phôi nang. Hiệu quả bảo quản lạnh phôi sẽ được đánh giá

dựa trên các tiêu chí: số phôi sống và phát triển trở lại, số phôi thoát màng sau đông lạnh - giải đông. Kết quả thể hiện ở bảng 2 cho thấy, không có sự sai khác có ý nghĩa về tỷ lệ phôi sống sau giải đông ở cả 3 nhóm hợp tử, phôi dâu/dâu chặt và phôi nang (tương ứng 86,83, 82,67 và 88,43%,  $p>0,05$ ), tuy nhiên nhóm phôi nang vẫn có tỷ lệ sống sau giải đông cao hơn so với nhóm hợp tử và nhóm phôi dâu/dâu chặt. Kết quả này của chúng tôi tương tự như báo cáo của J.C. Huang và cs (2006) [13], V.K. Nguyen và cs (2021) [20]. Các tác giả này cũng cho rằng việc đông lạnh phôi ở giai đoạn phôi nang cho tỷ lệ sống sau đông lạnh-giải đông cao hơn giai đoạn phôi dâu/dâu chặt.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của giai đoạn phát triển của phôi bò đến hiệu quả bảo quản lạnh phôi bò.**

| Loại phôi    | Số phôi được đông lạnh | Số phôi sống sau giải đông % (Mean $\pm$ SE) | Số phôi phân chia sau giải đông % (Mean $\pm$ SE) | Số phôi nang được hình thành hoặc giãn nở trở lại sau giải đông % (Mean $\pm$ SE) | Số phôi nang thoát màng % (Mean $\pm$ SE) |
|--------------|------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Hợp tử       | 246                    | 214 (86,83 $\pm$ 1,79) <sup>a</sup>          | 157 (63,83 $\pm$ 1,66)                            | 54 (21,39 $\pm$ 2,02)                                                             | 11 (3,91 $\pm$ 1,07)                      |
| Dâu/dâu chặt | 69                     | 58 (82,67 $\pm$ 4,06) <sup>a</sup>           |                                                   | 42 (60,25 $\pm$ 4,4) <sup>a</sup>                                                 | 12 (16,54 $\pm$ 2,4) <sup>a</sup>         |
| Nang         | 62                     | 54 (88,43 $\pm$ 3,01) <sup>a</sup>           |                                                   | 50 (83,1 $\pm$ 4,04) <sup>b</sup>                                                 | 12 (20,34 $\pm$ 2,92) <sup>a</sup>        |

Ghi chú: thí nghiệm được thực hiện với 10 lần lặp lại, các giá trị trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ( $p<0,05$ ).



**Hình 2. Hợp tử bò *in vitro* phân chia sau giải đông.**

Sự khác biệt về cấu trúc giữa phôi nang và phôi dâu chính là phôi nang có khoang phôi. Nguyên nhân có thể là do sau khi hình thành khoang phôi, màng tế bào của phôi có khả năng chống lại các stress thẩm thấu và độc tố của chất bảo vệ lạnh trong dung dịch thủy tinh hóa tốt hơn, do đó phôi nang sẽ có khả năng chịu đựng tổn thương lạnh tốt hơn phôi dâu trong quá trình đông lạnh - giải đông [13].

Thêm vào đó, phôi ở giai đoạn phôi nang có sự đa dạng của các dạng tế bào, đặc biệt là trong quá trình hình thành phôi bào của lá nuôi phôi sẽ xảy ra sự gia tăng hoạt động Na/K ATPase, điều này có ảnh hưởng tích cực đến hoạt động của chất bảo vệ lạnh, giúp cho chất bảo vệ lạnh phát huy tối đa vai trò của mình trong quá trình đông lạnh - giải đông [21]. Một điểm khác biệt nữa trong cấu trúc của phôi dâu/dâu chặt với phôi nang chính là kích thước các phôi bào. Kích thước các tế bào của phôi dâu hoặc phôi dâu chặt lớn hơn so với kích thước các tế bào của phôi nang, đây cũng có thể là một trong những nguyên nhân khiến cho khả năng thẩm thấu cũng như loại bỏ các chất bảo vệ lạnh trong quá trình đông lạnh - giải đông của phôi dâu/dâu chặt kém hơn so với phôi nang [22].

Tỷ lệ hợp tử bò *in vitro* sống sau giải đông trong nghiên cứu này thấp hơn so với báo cáo của V.K. Nguyen và cs (2018) [19]. Theo nhóm tác giả này, tỷ lệ hợp tử lợn *in vitro* sống sau giải đông đạt 98,5%. Sự khác nhau này có thể là do chất lượng phôi, nguồn gốc phôi, chất bảo vệ lạnh sử dụng. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, phôi bò *in vitro* được bảo quản lạnh thành công ở giai đoạn hợp tử với tỷ lệ phân chia, tạo phôi nang và phôi nang thoát màng tương ứng đạt 63,83, 21,39 và 3,91%. Bảo quản lạnh thành công phôi ở giai đoạn hợp tử có vai trò quan trọng trong việc tạo động vật chuyển gen [23]. Một số nhà nghiên cứu đã đông lạnh và cấy truyền phôi ở giai đoạn phôi sớm nhằm cải thiện khả năng phát triển của phôi *in vitro* sau đông lạnh - giải đông [24]. Theo T. Somfai và cs (2009) [24], việc đông lạnh và cấy truyền phôi ở giai đoạn phôi sớm có thể loại trừ được nguyên nhân stress gây ra bởi các điều kiện nuôi phôi *in vitro*. Bảo quản lạnh phôi ở giai đoạn hợp tử đã được thực hiện thành công ở lợn [24], người [25], chuột [26] và thỏ [27].

Theo J. Laurincik và cs (1994) [28], thời điểm tổng hợp ADN (pha S) của hợp tử bò *in vivo* được ước tính là 7-9 giờ sau rụng trứng. Quá trình đông lạnh làm thay đổi và có những ảnh hưởng bất lợi lên sự tổng hợp ADN ở các dạng tế bào khác nhau [29, 30]. Chính vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi đông lạnh hợp tử bò tại thời điểm 10 giờ sau thụ tinh *in vitro*. Kết quả cho thấy, đã bảo quản lạnh thành công hợp tử bò với tỷ lệ phôi nang hình thành và tỷ lệ phôi nang thoát màng từ hợp tử sau giải đông tương ứng đạt 21,39 và 3,91% (bảng 2). Trong nghiên cứu của chúng tôi, mặc dù tỷ lệ hợp tử sống sau giải đông cao (86,83%, bảng 2) nhưng khả năng phát triển *in vitro* đến giai đoạn phôi nang vẫn bị giảm đáng kể. Cơ chế hóa học của việc giảm khả năng phát triển của hợp tử sau đông lạnh - giải đông có thể là do hợp tử sau giải đông nhạy cảm với stress oxy hóa và mức tăng của các phản ứng oxy hóa loài được tạo ra bởi quá trình đông lạnh [24].

## Kết luận

Nghiên cứu đã bảo quản lạnh thành công phôi bò sản xuất *in vitro* ở giai đoạn hợp tử, đầu/dầu chặt, nang bằng phương pháp thủy tinh hóa với tỷ lệ phôi sống sau đông lạnh - giải đông tương ứng đạt 86,83, 82,67 và 88,43%.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện thông qua đề tài: “Nghiên cứu phương pháp thủy tinh hóa phôi bò *in vitro*” từ nguồn kinh phí hỗ trợ hoạt động thường xuyên của Phòng Thí nghiệm trọng điểm công nghệ tế bào động vật. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A.N. Ha, H.S. Park, J.I. Jin, et al. (2014), “Posthaw survival of *in vitro*-produced bovine blastocysts loaded onto the inner surface of a plastic vitrification straw”, *Theriogenology*, **81**, pp.467-473, DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.10.024.
- [2] Y. Inaba, Y. Aikawa, T. Hirai, et al. (2011), “Instraw cryoprotectant dilution for bovine embryos vitrified using cryotop”, *Journal of Reproduction and Development*, **57**, pp.437-443, DOI: 10.1262/jrd.10-154m.
- [3] A. Massip (2001), “Cryopreservation of embryos of farm animals”, *Reprod. Dom. Anim.*, **36**, pp.49-55, DOI: 10.1046/j.1439-0531.2001.00248.x.
- [4] S.P. Leibo (2008), “Cryopreservation of oocytes and embryos: Optimization by theoretical versus empirical analysis”, *Theriogenology*, **69**, pp.37-47, DOI: 10.1016/j.theriogenology.2007.10.006.
- [5] G. Vajta, Z.P. Nagy, A. Cobo, et al. (2009), “Vitrification in assisted reproduction: Myths, mistakes, disbeliefs and confusion”, *Reprod. Biomed. Online*, **19**(3), pp.1-7, DOI: 10.1016/s1472-6483(10)60278-7.
- [6] J.R. Prentice, M. Anzar (2011), “Cryopreservation of mammalian oocyte for conservation of animal genetics”, *Vet. Med. Int.*, pp.1-11, DOI: 10.4061/2011/146405.
- [7] A.K. Paul, Y.Y. Liang, T. Nagai, et al. (2014), “*In vitro* development potentiality of expanded bovine blastocyst subsequent to cryotop vitrification”, *Thai J. Vet. Med.*, **44**(4), pp.513-521, DOI:10.56808/2985-1130.2603.
- [8] V. Asgari, S.M. Hosseini, M. Forouzanfar, et al. (2012), “Vitrification of *in vitro* produced bovine embryos: Effect of embryonic block and developmental kinetics”, *Cryobiology*, **65**(3), pp.278-283, DOI: 10.1016/j.cryobiol.2012.08.002.
- [9] A. Aono, H. Nagatomo, T. Takuma, et al. (2013), “Dynamic of intracellular phospholipid membrane organization during oocytes maturation and successful vitrification of immature oocytes retrieved by ovum pick-up in cattle”, *Theriogenology*, **79**, pp.1146-1152, DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.02.009.
- [10] A. Shirazi, H. Nazari, E. Ahmadi, et al. (2009), “Effect of culture system on survival rate of vitrified bovine embryos produced *in vitro*”, *Cryobiology*, **59**(3), pp.285-290, DOI: 10.1016/j.cryobiol.2009.08.003.
- [11] V.H. Do, A.W.T. Robincon (2020), “Cryopreservation of *in vitro* produced bovine embryos by vitrification: In pursuit of a simplified, standardized procedure that improves pregnancy rates to promote cattle industry use”, *Biotechnology in Animal Husbandry*, **36**(3), pp.251-270, DOI: 10.2298/BAH2003251H.
- [12] S. Yavin, A. Arav (2007), “Measurement of essential physical properties of vitrification solutions”, *Theriogenology*, **67**, pp.81-89, DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.09.029.
- [13] J.C. Huang, H.H. Lin, J.S. Wu, et al. (2006), *Vitrification of Caprine Embryos in Microdrops*, Symposium COA/INRA Scientific Cooperation in Agriculture, pp.47-58.
- [14] A. Dinneys, D. Sage, T. Somfai, et al. (2004), “Cryopreservation of *in vitro* porcine oocytes by solid surface vitrification (SSV)”, *Reproduction Fertility and Development*, **17**(2), pp.191-192, DOI:10.1071/RDv17n2Ab83.
- [15] K. Edashige, M. Kasai (2007), “The movement of water and cryoprotectants in mammalian oocytes and embryos and its relevance to cryopreservation”, *J. Mamm. Ova. Res.*, **24**, pp.18-22, DOI:10.1274/jmor.24.18.
- [16] K.G.H.M. Mahmoud, T.H. Scholkamy, Y.F. Ahmed, et al. (2010), “Effect of different combinations of cryoprotectants on *in vitro* maturation of immature buffalo (*Bubalus bubalis*) oocytes vitrified by straw and open-pulled straw methods”, *Reprod. Dom. Anim.*, **45**, pp.565-571, DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01293.x.
- [17] L.O. Leme, M.A.N. Dode (2017), “Effect of sex on survival of bovine *in vitro* produced embryos vitrified by cryotop”, *Anim. Reprod.*, **14**, p.885.
- [18] A.D. Rosa, L. Attanasio, L. Boccia, et al. (2010), “Cryotop vitrification for *in vitro* produced bovine and buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos at different stages of development”, *Ital.J. Anim. Sci.*, **6**(2), pp.747-750, DOI:10.4081/ijas.2007.s2.747.
- [19] V.K. Nguyen, T.T.H. Vu, T.H. Nguyen, et al. (2018), “Comparison of the microdrop and minimum volume cooling methods for vitrification of porcine *in vitro* produced zygotes and blastocyst after equilibration in low concentrations of cryoprotectant agents”, *J. Reprod. Dev.*, **64**(5), pp.457-462, DOI: 10.1262/jrd.2018-047.
- [20] K.V. Nguyen, T.T.H. Vu, T.A. Hoang, et al. (2021), “Influence of cryopreservation and development stages of embryos on Saanen goat embryos during cold storage in Vietnam”, *Journal of Animal Husbandry Sciences and Technics*, **268**, pp.35-39, DOI:10.31276/VJST.64(12).54-59.
- [21] S. Naitana, P. Loi, S. Ledda, et al. (1996), “Effect of biopsy and vitrification on *in vitro* survival of ovine embryos at different stages of development”, *Theriogenology*, **46**, pp.813-824, DOI: 10.1016/s0093-691x(96)00239-7.
- [22] S. Tachikawa, T. Otoi, S. Kondo, et al. (1993), “Successful vitrification of bovine blastocysts, derived by *in vitro* maturation and fertilization”, *Mol. Reprod. Dev.*, **34**, pp.266-271, DOI: 10.1002/mrd.1080340306.
- [23] L. Keskinetepe, Y. Agca, G.A. Pacholczyk, et al. (2001), “Use of cryopreserved pronuclear embryos for the production of transgenic mice”, *Biol. Reprod.*, **65**, pp.407-411, DOI: 10.1095/biolreprod65.2.407.
- [24] T. Somfai, M. Ozawa, J. Noguchi, et al. (2009), “Live piglets derived from *in vitro* produced zygotes vitrified at the pronuclear stage”, *Biology of Reproduction*, **80**, pp.42-49, DOI: 10.1095/biolreprod.108.070235.
- [25] S.A. Hasani, M. Ludwig, F. Gagsteiger, et al. (1996), “Comparison of cryopreservation of supernumerary pronuclear human oocytes obtained after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and after conventional *in vitro* fertilization”, *Hum. Reprod.*, **11**, pp.604-607, DOI: 10.1093/humrep/11.3.604.
- [26] H. Bagis, H. Odaman, H. Sagirkaya, et al. (2002), “Production of transgenic mice from vitrified pronuclear-stage embryos”, *Mol. Reprod. Dev.*, **61**, pp.173-179, DOI: 10.1002/mrd.1144.
- [27] S. Hochi, T. Terao, M. Kamei, et al. (2004), “Successful vitrification of pronuclear-stage rabbit zygotes by minimum volume cooling procedure”, *Theriogenology*, **61**, pp.267-275, DOI: 10.1016/s0093-691x(03)00232-2.
- [28] J. Laurincik, V. Kopecky, P. Hyttel (1994), “Pronucleus development and DNA synthesis in bovine zygotes *in vivo*”, *Theriogenology*, **42**(8), pp.1285-1293, DOI: 10.1016/0093-691X(94)90248-H.
- [29] H. Balakier, M. Zenzes, P. Wang, et al. (1991), “The effect of cryopreservation on the development of S- and G2-phase mouse embryos”, *J. In vitro Fert. Embryo. Transf.*, **8**, pp.89-95, DOI: 10.1007/BF01138661.
- [30] M. Takagi, I. Sakonju, T. Suzuki (1996), “Effects of cryopreservation of DNA synthesis in the inner cell mass of *in vitro* matured/*in vitro* fertilized bovine embryos frozen in various cryoprotectants”, *J. Vet. Med. Sci.*, **58**, pp.1237-1238, DOI: 10.1292/jvms.58.12\_1237.



# Xác định các tham số sinh học của 4 loài cá biển (Chêm, Giò, Song chấm nâu và Chim vây vàng) phục vụ đánh giá sức tải môi trường vùng nuôi

Trần Thế Mưu\*, Phan Minh Quý, Nguyễn Đức Tuấn, Phạm Văn Thìn, Trần Thị Mai Hương

*Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1, phường Đình Bảng, Thị xã Từ Sơn, Bắc Ninh, Việt Nam*

Ngày nhận bài 30/5/2022; ngày chuyển phản biện 2/6/2022; ngày nhận phản biện 16/6/2022; ngày chấp nhận đăng 20/6/2022

## Tóm tắt:

Thí nghiệm sinh hóa trên 4 loài cá biển nuôi phổ biến ở Việt Nam là cá Chêm (*Lates calcarifer* Bloch, 1790), Giò (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766), Song chấm nâu (*Epinephelus coioides* Hamilton, 1822) và Chim vây vàng (*Trachinotus ovatus* Linnaeus, 1758) được thực hiện tại đảo Cát Bà, Hải Phòng. Cá thí nghiệm có kích cỡ thương phẩm tương ứng 2, 5, 2 và 0,6 kg/con. Thí nghiệm nhằm xác định các tham số sinh học của loài nuôi (Ap, Af, Ac) và các tham số dinh dưỡng liên quan (Pp, Pf, Fp, Ff, Fc) phục vụ đánh giá sức tải môi trường vùng nuôi. Kết quả cho thấy, tỷ lệ tiêu hóa protein và chất béo trong thức ăn cá tạp của cá Chêm tương ứng là 92,90 và 93,84%; cá Giò 91,17 và 95,53%; cá Song chấm nâu 95,20 và 96,40%. Tỷ lệ tiêu hóa protein, chất béo và carbohydrate trong thức ăn công nghiệp của cá Chim vây vàng tương ứng là 85,83, 76,47 và 13,68%. Hàm lượng protein và chất béo trong cơ thịt cá Chêm tương ứng là 19,28 và 6,27%; cá Giò 19,13 và 13,85%; cá Song chấm nâu 17,37 và 7,32%; cá Chim vây vàng 18,31 và 15,08%. Hàm lượng protein và chất béo trong thức ăn cá tạp tương ứng là 16,99 và 7,19%. Hàm lượng protein, chất béo và carbohydrate trong thức ăn công nghiệp tương ứng là 42,01, 9,93 và 27,82%. Trong cơ thịt cá nuôi và cá tạp không có carbohydrate.

**Từ khóa:** *Epinephelus coioides*, *Lates calcarifer*, *Rachycentron canadum*, sức tải môi trường, *Trachinotus ovatus*, tỷ lệ tiêu hóa.

**Chỉ số phân loại:** 4.5

## 1. Mở đầu

Để phát triển bền vững với môi trường, năng suất nuôi trồng thủy sản phải phù hợp với sức tải môi trường, nếu vượt ngưỡng sẽ gây ra nhiều hệ lụy, đặc biệt vấn đề ô nhiễm môi trường nước do các chất thải phát sinh từ hoạt động nuôi trồng thủy sản. Sức tải môi trường được đánh giá theo mô hình hệ thống MOM (Modeling - Ongrowing fish farm - Monitoring) của Stigebrandt và cs (2004) [1] với các tham số sinh học, dinh dưỡng của các đối tượng nuôi, dinh dưỡng của thức ăn và các giá trị đo đạc thực tế tại các vùng nuôi thủy sản ở Việt Nam. Đánh giá sức tải môi trường (PROD - Production, the holding capacity of a location) là dựa trên tính toán tổng sản lượng có thể nuôi tối đa của một vùng tại mỗi thời điểm. Khi tổng sản lượng nuôi thực tế của vùng tại mỗi thời điểm nhỏ hơn PROD của vùng thì vùng nuôi đó an toàn với môi trường. Để tính được sức tải môi trường của một vùng nuôi cần phải thu thập thông tin từ vùng nuôi đó, như kích thước vùng nuôi, tốc độ dòng chảy và chất lượng nước tại vùng nuôi, đồng thời phải xác định thành phần dinh dưỡng trong thức ăn sử dụng, thành phần dinh dưỡng trong cơ thịt cá nuôi và tỷ lệ tiêu hóa dinh dưỡng của cá nuôi. Do

đó, nghiên cứu “Xác định các tham số sinh học của 4 loài cá biển (Chêm, Giò, Song chấm nâu và Chim vây vàng) phục vụ đánh giá sức tải môi trường vùng nuôi” được thực hiện.

Các tỷ lệ tiêu hóa dinh dưỡng (tham số sinh học) được xác định bao gồm: tỷ lệ tiêu hóa protein, chất béo và carbohydrate (ký hiệu tương ứng Ap, Af và Ac) của cá Chêm, Giò và Song chấm nâu đối với thức ăn cá tạp; của cá Chim vây vàng đối với thức ăn công nghiệp. Các thành phần dinh dưỡng (tham số dinh dưỡng) liên quan cũng được xác định, bao gồm: hàm lượng protein và chất béo trong cơ thịt 4 loài cá (Pp và Pf); hàm lượng protein, chất béo và carbohydrate trong thức ăn nuôi cá (Fp, Ff và Fc).

Mục đích chính của nghiên cứu này là xác định được những tham số trên để phục vụ cho việc tính toán PROD tại các vùng nuôi, góp phần quy hoạch vùng nuôi bền vững.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Cá và bể thí nghiệm

Cá thí nghiệm gồm: Cá Chêm, Giò, Song chấm nâu và Chim vây vàng được lấy từ các lồng nuôi thương phẩm ở

\*Tác giả liên hệ: Email: tranthemuu@ria1.org

# Determination of biological parameters of 4 marine fish species (sea bass, cobia, orange-spotted grouper, and short yellowfin pompano) for assessment of the holding capacity of a location

The Muu Tran\*, Minh Quy Phan, Duc Tuan Nguyen, Van Thin Pham, Thi Mai Huong Tran

Aquaculture Research Institute 1, Dinh Bang Ward, Tu Son District, Bac Ninh, Vietnam

Received 30 May 2022; revised 16 June 2022; accepted 20 June 2022

## Abstract:

A biochemical experiment on four marine fish species commonly farmed in Vietnam, sea bass *Lates calcarifer* (Bloch, 1790), cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766), orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822), and short yellowfin pompano *Trachinotus ovatus* (Linnaeus, 1758), was carried out at Cat Ba island, Hai Phong province. The mean weight of fish used in the experiment were 2, 5, 2, and 0.6 kg.ind<sup>-1</sup>, respectively. The experiment aimed to determine the biological parameters of the farmed fish (Ap, Af, Ac) and related nutritional parameters (Pp, Pf, Fp, Ff, Fc), for assessment of the holding capacity of a location. The results showed that the apparent digestibility coefficient of protein and fat in trash fish for sea bass were 92.90%, 93.84%, respectively; cobia 91.17%, 95.53%; orange-spotted grouper 95.20%, 96.40%. The apparent digestibility coefficient of protein, fat and carbohydrate in pellet feed for short yellowfin pompano were 85.83, 76.47, and 13.68%, respectively. The protein content and fat content in the muscle of sea bass were 19.28%, 6.27%; cobia 19.13%, 13.85%; orange-spotted grouper 17.37%, 7.32%; and short yellowfin pompano 18.31%, 15.08%, respectively. The protein content and fat content of trash fish were 16.99%, 7.19%, respectively. The proportion of protein, fat and carbohydrate of pellet feed were 42.01, 9.93, and 27.82%, respectively. There are no carbohydrates in the muscle of farmed fish as well as trash fish.

**Keywords:** apparent digestibility coefficient, *Epinephelus coioides*, holding capacity, *Lates calcarifer*, *Rachycentron canadum*, *Trachinotus ovatus*.

**Classification number:** 4.5

khu bè cá của Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1 tại vịnh Lan Hạ, Cát Bà, Hải Phòng. Với mỗi loài cá, chọn 15 con có độ tuổi, cùng kích cỡ, tình trạng sức khỏe tốt. Kích cỡ cá Chêm 2 kg/con, Giò 5 kg/con, Song chấm nâu 2 kg/con và Chim vây vàng 0,6 kg/con. Sau khi đã chọn, cá được vận chuyển sống về Trung tâm Quốc gia Giống hải sản miền Bắc (Xuân Đám, Cát Hải, Hải Phòng). Tại đây, cá thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên trong 12 bể composit tròn, đáy bể hình nón ngược, thể tích 6 m<sup>3</sup>, cấp nước 5 m<sup>3</sup>. Ở giữa đáy bể, chóp nón ngược là lỗ thoát nước, tại vị trí đó cắm một ống thẳng đứng, thấp hơn mặt bể 20 cm để nước tràn mặt tràn vào lỗ ống và thoát ra ngoài. Nước cấp vào bể theo phương tiếp tuyến với bể, tạo dòng nước xoay tròn trong bể, nhằm gom tụ phân cá vào giữa đáy bể, cụ thể là xung quanh chân của ống thẳng đứng, thuận lợi cho việc siphon thu phân cá. Mỗi bể 5 con cá, với 3 lần lặp lại.

## 2.2. Thức ăn thí nghiệm

Đối với cá Chêm, Giò, Song chấm nâu, thức ăn là cá tạp tươi được chuẩn bị hàng ngày bằng cách rửa sạch cá tạp, cân chính xác khối lượng nguyên con, cân lượng Chromic oxide (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) tương ứng, đảm bảo theo đúng tỷ lệ: 99% khối lượng cá tạp + 1% khối lượng Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Cho Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> vào trong bụng cá tạp, sau đó cho cá thí nghiệm ăn. Tất cả cá thí nghiệm đều có kích thước lớn nên chúng thường bắt mỗi nguyên con, theo đó Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> cũng được cá thí nghiệm ăn vào.

Đối với cá Chim vây vàng, sử dụng thức ăn công nghiệp đã trộn với 1% Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Cách làm thức ăn cho cá Chim vây vàng như sau: sử dụng thức ăn viên công nghiệp dành cho cá biển có sẵn trên thị trường (gọi tắt là thức ăn thương mại), cân chính xác khối lượng thức ăn thương mại và Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> theo tỷ lệ tương ứng 99 và 1%. Nghiền mịn thức ăn thương mại đến cỡ hạt <250 µm rồi trộn với Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, thêm nước lọc cho ẩm. Sau đó ép lại thành viên, đường kính 8 mm vừa cỡ với cá thí nghiệm bằng máy ép viên thủ công, phơi khô, đóng túi và bảo quản ở -20°C cho đến khi dùng.

## 2.3. Cho cá ăn, thu phân cá và mẫu phân tích

Cho cá thí nghiệm ăn mỗi ngày 2 lần vào lúc 8 giờ sáng và 16 giờ chiều. Cho cá ăn bằng tay, quan sát đến khi thấy cá no thỏa mãn, tuyệt đối không để thức ăn thừa trong bể.

Trong 7 ngày đầu tiên, tập cho cá ăn quen thức ăn thí nghiệm. 7 ngày được xem là đủ cho cá đào thải hoàn toàn những thức ăn trước đó và thích nghi với thức ăn thí nghiệm [2].

Tiến hành thu phân cá trong 7 ngày tiếp theo. Thu phân bằng cách siphon, chủ yếu phân cá tập trung ở giữa đáy bể, xung quanh ống đứng. Thường xuyên quan sát bể thí nghiệm, siphon ngay khi nào thấy có phân.

Phân cá sau khi thu được thấm khô bằng giấy lọc, rồi cho vào hộp và bảo quản ở -30°C cho đến khi phân tích tỷ lệ tiêu hóa dinh dưỡng (Ap, Af và Ac). Mẫu phân của mỗi bể thí nghiệm qua các lần thu được gom chung với nhau.

Mẫu thức ăn cá tạp, mẫu thức ăn thương mại dùng trong thí nghiệm này được bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích thành phần dinh dưỡng thức ăn (Fp, Ff, Fc).

Cuối thí nghiệm, mỗi loài cá thu mẫu 1 con để phân tích thành phần dinh dưỡng trong cơ thịt cá (Pp và Pf).

#### 2.4. Phân tích thành phần dinh dưỡng trong thức ăn, thịt và phân cá

- Độ ẩm được xác định bằng cách sấy mẫu liên tục trong 10 giờ ở nhiệt độ 100°C.
- Protein tổng số được xác định theo phương pháp Kjeldahl ( $N \times 6,25$ ).
- Chất béo tổng số được tách chiết bằng ethyl-ether.
- Tro được xác định bằng cách đốt mẫu trong lò nung ở nhiệt độ 550°C trong 240 phút.
- Carbohydrate được xác định gián tiếp theo công thức: Hàm lượng carbohydrate (%) = 100 - Hàm lượng protein - Hàm lượng chất béo - Hàm lượng tro.

#### 2.5. Phân tích tỷ lệ tiêu hóa dinh dưỡng

-  $Cr_2O_3$  được phân tích theo phương pháp Fish Nutrition Lab, Kochi University, Nhật Bản: Mẫu + acid nitric đốt ở nhiệt độ 350°C trong 20-30 phút đến khi dung dịch còn 1 ml, để nguội + perchloric acid đun tiếp đến khi xuất hiện khói, tiếp tục đun thêm 20 phút, để nguội sau đó đưa vào bình định mức 100 ml, thêm nước cất cho đến vạch định mức, lắc đều dung dịch. Sau đó soi màu ở bước sóng (OD) 350 nm, rồi tính theo công thức:

$$\%Cr_2O_3 = 100 \times [(OD - 0,0032)/0,2089/\text{khối lượng mẫu (mg)}].$$

- Tỷ lệ tiêu hóa dinh dưỡng (Ap, Af và Ac) được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ tiêu hóa dinh dưỡng (Ap, Af, Ac)} = 1 - \frac{\frac{\% Cr_2O_3 \text{ trong thức ăn}}{\% Cr_2O_3 \text{ trong phân}}}{\frac{\% \text{ dinh dưỡng trong phân}}{\% \text{ dinh dưỡng trong thức ăn}}}$$

### 3. Kết quả và bàn luận

Kết quả phân tích thành phần dinh dưỡng (Ap, Af và Ac) trong thức ăn nuôi cá (bảng 1) cho thấy, thức ăn cá tạp có hàm lượng protein và chất béo tương ứng theo khối lượng ướt là 16,99 và 7,19%; theo khối lượng khô là 47,87 và 20,24%; không thấy có hàm lượng carbohydrate. Thức ăn thương mại có hàm lượng carbohydrate rất cao (27,82%) và

chỉ đứng sau hàm lượng protein (42,01%), còn hàm lượng chất béo thấp nhất (9,93%).

**Bảng 1. Hàm lượng protein, chất béo và carbohydrate trong thức ăn.**

| Loại thức ăn nuôi cá biển | Thành phần dinh dưỡng chính trong thức ăn |                           |                               |
|---------------------------|-------------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
|                           | Hàm lượng protein Fp (%)                  | Hàm lượng chất béo Ff (%) | Hàm lượng carbohydrate Fc (%) |
| Thức ăn cá tạp            | khối lượng ướt                            | 16,99                     | 7,19                          |
|                           | khối lượng khô                            | 47,87                     | 20,24                         |
| Thức ăn công nghiệp       | 42,01                                     | 9,93                      | 27,82                         |

Kết quả phân tích thành phần dinh dưỡng trong cơ thịt 4 loài cá biển (bảng 2) cho thấy, hàm lượng protein trong cơ thịt cá Chêm là 19,28%, cá Giò 19,13%, cá Song chấm nâu 17,37% và cá Chim vây vàng là 18,31%. Hàm lượng chất béo tương ứng 6,27, 13,85, 7,32 và 15,08%. Trong 4 loài, cá Chêm có hàm lượng protein cao nhất và hàm lượng chất béo thấp nhất.

**Bảng 2. Hàm lượng protein và chất béo trong cơ thịt cá (Pp và Pf) (theo khối lượng ướt).**

| Loài cá          | Hàm lượng protein Pp (%) | Hàm lượng chất béo Pf (%) |
|------------------|--------------------------|---------------------------|
| Cá Chêm          | 19,28                    | 6,27                      |
| Cá Giò           | 19,13                    | 13,85                     |
| Cá Song chấm nâu | 17,37                    | 7,32                      |
| Cá Chim vây vàng | 18,31                    | 15,08                     |

Kết quả phân tích tỷ lệ tiêu hóa dinh dưỡng trong thức ăn của 4 loài cá biển (bảng 3) cho thấy, cá Chêm, Giò, Song chấm nâu được nuôi bằng thức ăn cá tạp có tỷ lệ tiêu hóa protein và chất béo khá cao (tương ứng 92,90, 91,17 và 95,20%; 93,84, 95,53 và 96,40%). Trong khi đó, cá Chim vây vàng ăn thức ăn công nghiệp có tỷ lệ tiêu hóa thấp hơn, tương ứng 85,83 và 76,47%. Đặc biệt, khả năng tiêu hóa carbohydrate rất thấp chỉ đạt 13,68%. Điều này gợi ý cho các công ty sản xuất thức ăn không nên đưa nhiều carbohydrate vào trong thức ăn nuôi cá nhằm tránh lãng phí nguyên liệu và giảm chất thải ra môi trường nuôi.

**Bảng 3. Tỷ lệ tiêu hóa protein, chất béo và carbohydrate trong thức ăn của 4 loài cá biển.**

| Loài cá          | Loại thức ăn | Tỷ lệ tiêu hóa protein Ap (%) | Tỷ lệ tiêu hóa chất béo Af (%) | Tỷ lệ tiêu hóa carbohydrate Ac (%) |
|------------------|--------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| Cá Chêm          | Cá tạp       | 92,90                         | 93,84                          | -                                  |
| Cá Giò           | Cá tạp       | 91,17                         | 95,53                          | -                                  |
| Cá Song chấm nâu | Cá tạp       | 95,20                         | 96,40                          | -                                  |
| Cá Chim vây vàng | Công nghiệp  | 85,83                         | 76,47                          | 13,68                              |



Như đã nêu ở trên, mục đích chính của việc xác định các tham số là để phục vụ cho việc tính toán PROD tại các vùng nuôi. Đánh giá PROD vùng nuôi nhằm giúp quy hoạch vùng nuôi an toàn với môi trường, đảm bảo nghề nuôi phát triển bền vững. Việc tính toán PROD được phỏng theo mô hình hệ thống MOM [1]. Mô hình đánh giá này đã được ứng dụng rộng rãi trong các vùng nuôi của Na Uy, Chi Lê, Úc cũng như của nhiều nước khác và đã mang lại hiệu quả cho sự phát triển bền vững của nghề nuôi thủy sản ở những nước đó. Để thấy được sự tham gia của các tham số trong đánh giá sức tải, cần đi theo những bước tính toán của quá trình đánh giá này.

PROD sẽ bằng giá trị nhỏ hơn trong 2 giá trị  $TPF_{O_2}$  và  $TPF_{NH_4}$ . Trong đó:  $TPF_{O_2}$  là sản lượng nuôi lớn nhất mà vẫn giữ được hàm lượng oxy hòa tan trong nước cao hơn ngưỡng oxy thấp nhất mà loài nuôi chịu được;  $TPF_{NH_4}$  là sản lượng nuôi lớn nhất mà vẫn giữ được hàm lượng ammonium trong nước dưới ngưỡng cao nhất loài nuôi chịu được.  $TPF_{O_2} = [(O_{2IN} - O_{2MIN}) L_F DP_F U_{min}] / DO_2$  và  $TPF_{NH_4} = [(NH_{4max} - NH_{4in}) L_F DP_F U_{min}] / DNH_4$ . Trong cả 2 phương trình này, từ số chủ yếu liên quan đến đặc điểm của vùng nuôi, còn mẫu số liên quan đến loài nuôi. Bởi vậy, tiếp tục với mẫu số  $DO_2$  và  $DNH_4$ .

$DO_2$  là lượng oxy tiêu thụ trên khối lượng cá, còn  $DNH_4$  là lượng ammonium thải ra trên khối lượng cá. Các công thức tính như sau:

$$DO_2 = (Fp \times Ap \times Qr/\delta - Pp \times dW/dt) \times Op + (Ff \times Af \times Qr/\delta - Pf \times dW/dt) \times Of + (Fc \times Ac \times Qr/\delta) \times Oc$$

$$DNH_4 = (Fp \times Ap \times Qr/\delta - Pp \times dW/dt) \times Np.$$

trong đó: Qr: khối lượng thức ăn cá tiêu thụ hàng ngày (cal/ngày);  $\delta$ : năng lượng cụ thể của thức ăn sử dụng;  $dW/dt$ : tốc độ sinh trưởng theo ngày (g/ngày); Op, Of và Oc là lượng oxy cần cho phân rã protein, lipid và carbohydrate.

Hai phương trình này cho thấy sự tham gia của các tham số Ap, Af, Ac, Pp, Pf, Fp, Ff, Fc trong đánh giá PROD vùng nuôi. Đó là lý do tại sao cần thực hiện nghiên cứu để xác định các tham số này.

Một điều đáng chú ý trong nghiên cứu này là hàm lượng carbohydrate trong thức ăn thương mại rất cao (27,82%) (bảng 1). Hàm lượng carbohydrate trong thức ăn phổ biến nuôi cá hồi Đại Tây Dương chỉ ở mức 7% [1]. Carbohydrate là nguồn năng lượng rẻ nhất trong thức ăn. Carbohydrate sau khi được cá tiêu hóa sẽ sử dụng cho nhu cầu năng lượng của cơ thể cá và được dự trữ dưới dạng glycogen ở trong gan. Carbohydrate chủ yếu ở dạng tinh bột, được đưa vào thức ăn nhằm giúp giảm giá thành thức ăn và tăng khả năng kết dính trong quá trình đùn ép viên thức ăn. Thành phần tinh bột trong thức ăn giúp sản xuất thức ăn viên nổi khi được đùn ép ở nhiệt độ cao.

Trong sản xuất thức ăn thủy sản không nên lạm dụng quá nhiều carbohydrate. Bởi lẽ, đối với động vật có vú, carbohydrate là nguồn năng lượng chính, chúng có thể lấy được khoảng 4 calo năng lượng từ 1 g carbohydrate, trong khi đó, cá không sử dụng hiệu quả carbohydrate, chúng chỉ lấy được khoảng 1,6 calo từ 1 g carbohydrate [3]. Cá cũng chỉ tiêu hóa được một phần nhỏ carbohydrate trong thức ăn chúng đã ăn vào, khoảng 13,68% (bảng 3).

Về cá tạp, hầu hết mọi hệ thống nuôi thủy sản trên toàn thế giới đều dùng đến cá tạp, chủ yếu ở dạng bột cá và dầu cá. Một số hệ thống nuôi sử dụng trực tiếp cá tạp tươi gọi là thức ăn cá tạp. Dù ở dạng nào cá tạp vẫn luôn được xem là nguồn cung cấp dinh dưỡng tốt nhất cho các đối tượng nuôi thủy sản (ngoại trừ những đối tượng không ăn động vật, như nghêu, hào...). Thức ăn cá tạp được cá nuôi tiêu hóa rất tốt. Tỷ lệ tiêu hóa protein, chất béo trong thức ăn cá tạp của 4 loài cá biển ở mức cao, tương ứng 91,17-95,20% và 93,84-96,40% (bảng 3). Trong khi đó, tỷ lệ tiêu hóa carbohydrate được bỏ trống bởi vì trong cá tạp, cá thí nghiệm, cũng như trong hầu hết tất cả các loài cá, phần cơ thịt không có carbohydrate.

Hàm lượng protein và chất béo trong cơ thịt cá Chêm, Giò, Song chấm nâu và Chim vây vàng trình bày ở bảng 2 được tính trên khối lượng cá tươi (khối lượng ướt). Tính trên khối lượng tươi để phù hợp cho sử dụng trong tính toán sức tải môi trường. Hoặc trong trường hợp tính hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) đối với thức ăn cá tạp thì cũng tính theo khối lượng cá tạp tươi.

Nghiên cứu trước đây về hàm lượng protein và chất béo trên thịt cá biển cho thấy, hàm lượng protein và chất béo khác nhau ở các loài cá khác nhau, thậm chí ngay trong cùng loài cá thì hàm lượng này cũng khác nhau ở các kích cỡ cá khác nhau như (bảng 4).

**Bảng 4. Hàm lượng protein và chất béo của 4 loài cá biển ở những kích cỡ khác nhau.**

| Loài cá                           | Kích cỡ (g/con) | Hàm lượng nước (%) | Hàm lượng protein (%) | Hàm lượng chất béo (%) | Nguồn |
|-----------------------------------|-----------------|--------------------|-----------------------|------------------------|-------|
| Cá Chêm (khối lượng khô)          | 22,8-40,8       | 84,71-74,71        | 59,5-70,23            | 7,25-22,99             | [4]   |
|                                   | 51,7-83,1       | 73,4-83,5          | 61,3-56,1             | 20,0-31,2              | [5]   |
| Cá Chêm (khối lượng ướt)          | 1200-1500       | 68,05±0,96         | 22,94±0,15            | 5,10±0,26              | [6]   |
| Cá Giò (khối lượng ướt)           | 2130-2150       | 64,8-65,8          | 18,2-18,7             | 14,1-16,1              | [7]   |
| Cá Song chấm nâu (khối lượng ướt) | 20,95-23,87     | 73,47-76,51        | 15,86-16,89           | 2,92-5,56              | [8]   |
|                                   | 87,6-125,8      | 74,1-75,1          | 21,9-22,6             | 3,5-4,8                | [9]   |
| Cá Chim vây vàng (khối lượng ướt) | 34,6-47,5       | 72,4-74,4          | 15,7-16,7             | 6,4-8,2                | [10]  |
|                                   | 62,0-75,3       | 68,6-71,1          | 17,6-17,9             | 7,3-10,0               | [11]  |
|                                   | 82,49-83,70     | 67,25-68,23        | 21,34-21,99           | 10,12-10,92            | [12]  |

## Kết luận

Đã xác định được các tham số sinh học Ap, Af, Ac và các tham số dinh dưỡng Pp, Pf, Fp, Ff, Fc của cá Chêm, Giò, Song chấm nâu và Chim vây vàng đối với thức ăn cá tạp cũng như thức ăn công nghiệp. Các tham số sẽ được dùng cho đánh giá PROD vùng nuôi. Carbohydrate không có trong cơ thịt các loài cá biển. Thức ăn thương mại nuôi cá biển có chứa hàm lượng carbohydrate quá cao, trong khi cá tiêu hóa carbohydrate với tỷ lệ rất thấp, làm lãng phí thức ăn và gây ô nhiễm môi trường.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Stigebrandt, J. Aure, A. Ervik, et al. (2004), "Regulating the local environmental impact of intensive marine fish farming: III. A model for estimation of the holding capacity in the Modelling - Ongrowing fish farm - Monitoring system", *Aquaculture*, **234**, pp.239-261, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.11.029.
- [2] R. Olim, C. Patricia (2012), *Apparent Digestibility Coefficient Feed Ingredients for Juvenile Meagre (Argyrosomus regius, Asso 1801)*, University of Porto.
- [3] C. Steven, L. Helfrich (2017), *Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding*, Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia State University, USA.
- [4] M.R. Catacutan, R.M. Coloso (1995), "Effect of dietary protein to energy ratios on growth, survival, and body composition of juvenile Asian seabass *Lates calcarifer*", *Aquaculture*, **131**, pp.125-133, DOI: 10.1016/0044-8486(94)00358-U.
- [5] S. Raso, T.A. Anderson (2003), "Effects of dietary fish oil replacement on growth and carcass proximate composition of juvenile barramundi (*Lates calcarifer*)", *Aquaculture Research*, **34**, pp.813-819, DOI: 10.1046/j.1365-2109.2003.00885.x.
- [6] S. Kamruzzaman, M.D. Hossain, M.A.S. Jewel, et al. (2015), "Proximate composition and nutritional value of different life stages of *Lates calcarifer* (Bloch, 1790)", *University Journal of Zoology, Rajshahi University*, **34**, pp.21-24.
- [7] A. Riche, P.S. Wills, C.R. Weirich, et al. (2013), "Stocking density effects on production characteristics and body composition of market size Cobia, *Rachycentron canadum*, reared in recirculating aquaculture systems", *Journal of the World Aquaculture Society*, **44**, pp.259-266, DOI:10.1111/jwas.12023.
- [8] Zhi Luo, Y.J. Liu, H.Z. Lin, et al. (2005), "Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and body composition of grouper *Epinephelus coioides* juveniles fed isonitrogenous diets in floating netcages", *Aquaculture International*, **13**, pp.257-269, DOI: 10.1007/s10499-004-2478-6.
- [9] C.X. Ye, Y.J. Liu, L.X. Tian, et al. (2006), "Effect of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, mineral content and body composition of juvenile grouper, *Epinephelus coioides*", *Aquaculture*, **255**, pp.263-271, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.12.028.
- [10] F. Wang, H. Han, Y. Wang, et al. (2013), "Growth, feed utilization and body composition of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus* fed at different dietary protein and lipid levels", *Aquaculture Nutrition*, **19**, pp.360-367, DOI: 10.1111/j.1365-2095.2012.00964.x.
- [11] Wu Yubo, H. Han, J. Qin, et al. (2015), "Effect of feeding frequency on growth, feed utilization, body composition and waste output of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) reared in net pens", *Aquaculture Research*, **46**, pp.1436-1443, A, DOI: 10.1111/are.12297.
- [12] L.F. Dong, T. Tong, Q. Zhang, et al. (2018), "Effects of dietary carbohydrate to lipid ratio on growth, feed utilization, body composition and digestive enzyme activities of golden pompano (*Trachinotus ovatus*)", *Aquaculture Nutrition*, **24**, pp.341-347, DOI: 10.1111/anu.12565.

# Xác định hàm lượng protein và lipid thô tổng số ở một số giống đậu tương

Vì Thị Hằng<sup>1</sup>, Ma Văn Duy<sup>1</sup>, Đào Minh Lệ<sup>1</sup>, Lê Văn Hiền<sup>1</sup>, Nguyễn Đức Huy<sup>1</sup>,  
Trương Thanh Tùng<sup>1</sup>, Trần Văn Tiến<sup>2</sup>, Trần Văn Định<sup>1</sup>, Nguyễn Tiến Dũng<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên, xã Quyết Thắng, thành phố Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

<sup>2</sup>Học viện Hành chính Quốc gia, 77 Nguyễn Chí Thanh, phường Láng Thượng, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 8/2/2022; ngày chuyển phản biện 11/2/2022; ngày nhận phản biện 7/3/2022; ngày chấp nhận đăng 11/3/2022

## Tóm tắt:

Hạt đậu tương là một trong những loại hạt chứa nhiều chất dinh dưỡng cần thiết cho sức khỏe, chúng được coi là nguồn cung cấp protein và lipid thực vật hoàn chỉnh cho cơ thể con người. Trong nghiên cứu này, 6 giống đậu tương (ĐT22, Cọc chùm B - CCB, đậu tương đen - ĐTD, Kwangan - KW, Cúc Hà Bắc - CHB và DT84) được đánh giá về hàm lượng protein, lipid tổng số và các chỉ số axit, iod ( $I_2$ ). Protein tổng số được xác định bằng phương pháp Kjeldahl truyền thống. Dầu từ hạt đậu tương được trích ly bằng hệ thống Soxhlet trong dung môi diethyl ether. Kết quả cho thấy, các giống đậu tương có chứa hàm lượng protein và lipid tổng số tương đối cao. Hàm lượng protein tổng số dao động từ 29,36 đến 37,32%, lipid dao động từ 19,8 đến 21,2%. Chỉ số axit tự do từ 0,12 đến 1,69 mg KOH/g và  $I_2$  trong khoảng 52,43-68,64 g  $I_2$ /100 g. Trong đó các giống có hàm lượng protein cao là ĐTD và CHB. Về mặt dinh dưỡng, các giống đậu tương này đều là nguồn thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao trong việc cung cấp đạm và các axit béo thiết yếu cho con người.

**Từ khóa:** đậu tương, Kjeldahl, lipid, protein, Soxhlet.

**Chỉ số phân loại:** 4.7

## 1. Đặt vấn đề

Cây đậu tương có tên khoa học *Glycine max* L. Merrill thuộc họ đậu (*Fabaceae*), là loại cây trồng hàng năm cung cấp hạt giàu thành phần dinh dưỡng, đặc biệt là protein và lipid cho con người. Các kết quả phân tích cho thấy, trong 100 g hạt đậu tương chứa khoảng 34 g protein, 18,4 g lipid, 24,6 g glucid và có khả năng cung cấp 400 kcal [1-3]. Trong bữa ăn hàng ngày, đậu tương đóng vai trò là một loại rau xanh hay các sản phẩm chế biến cần thiết như: đậu hũ, sữa đậu, bột đậu nành, dầu đậu nành, tương bần, nước tương, các sản phẩm thay thế thịt chay, bơ, phô mai đậu nành... [3]. Ngoài ra, bã đậu nành sau khi ép lấy dầu cũng là nguồn nguyên liệu giàu protein cung cấp cho ngành sản xuất thức ăn chăn nuôi [4]. Protein và lipid trong hạt đậu tương là hai thành phần chính cấu tạo nên tế bào, cung cấp năng lượng cho các hoạt động sống, thúc đẩy sự hấp thu đối với các chất dinh dưỡng khác tạo ra quá trình trao đổi chất và năng lượng, tăng cường hệ miễn dịch cho cơ thể [3, 5].

Trải qua quá trình lai tạo và chọn lọc, đến nay có nhiều giống đậu tương với các đặc điểm sinh lý và hàm lượng dinh dưỡng rất khác nhau [6, 7]. Trong nghiên cứu này, 6 giống đậu tương hạt vàng (ĐT22, DT84, KW, CCB, CHB) và đậu tương hạt đen được đánh giá các chỉ tiêu hóa sinh để xác định hàm lượng dinh dưỡng cơ bản thông qua hàm lượng chất béo và đạm tổng số. Qua đó chọn ra được giống đậu

tương có hàm lượng protein và lipid tổng số cao sử dụng làm thực phẩm. Đồng thời là cơ sở khuyến cáo đưa vào trồng đại trà, đáp ứng tiêu chuẩn chất lượng nông sản cho xuất khẩu, phù hợp với mục tiêu trong sản xuất và chế biến.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Nghiên cứu được tiến hành trên 6 giống đậu tương, gồm: ĐT22, CCB, ĐTD, CHB, KW, DT84 (bảng 1, hình 1). Các giống này được cung cấp bởi Trung tâm Tài nguyên Thực vật, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam và được trồng, lưu giữ tại Khoa Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên.

**Bảng 1. Các giống đậu tương phục vụ nghiên cứu.**

| STT | Tên giống | Nguồn gốc                     | Màu sắc vỏ hạt |
|-----|-----------|-------------------------------|----------------|
| 1   | ĐT22      | Trung tâm Tài nguyên Thực vật | Vàng           |
| 2   | CCB       | Trung tâm Tài nguyên Thực vật | Vàng           |
| 3   | ĐTD       | Trung tâm Tài nguyên Thực vật | Đen            |
| 4   | CHB       | Trung tâm Tài nguyên Thực vật | Vàng           |
| 5   | KW        | Hàn Quốc                      | Vàng           |
| 6   | DT84      | Trung tâm Tài nguyên Thực vật | Vàng           |

\*Tác giả liên hệ: Email: dungnt@tuaf.edu.vn



## Determination of total protein and lipid contents in some soybean varieties

Thi Hang Vi<sup>1</sup>, Van Duy Ma<sup>1</sup>, Minh Le Dao<sup>1</sup>, Van Hien La<sup>1</sup>  
Duc Huy Nguyen<sup>1</sup>, Thanh Tung Truong<sup>1</sup>, Van Tien Tran<sup>2</sup>,  
Van Dinh Tran<sup>1</sup>, Tien Dung Nguyen<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>University of Agriculture and Forestry, Thai Nguyen University,  
Quyet Thang Commune, Thai Nguyen City, Thai Nguyen Province, Vietnam

<sup>2</sup>National Academy of Public Administration,  
77 Nguyen Chi Thanh, Lang Thuong Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

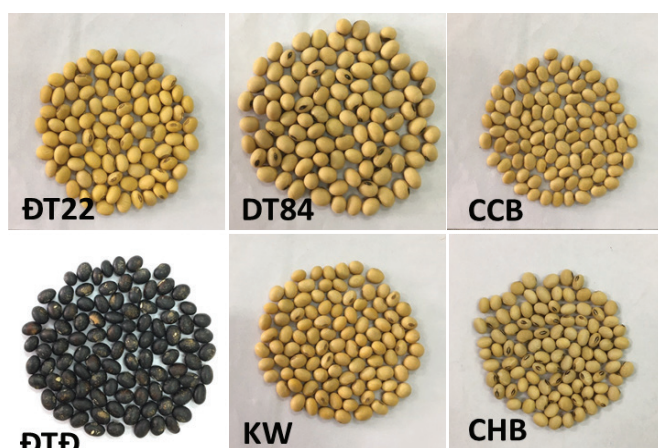
Received 8 February 2022; revised 7 March 2022; accepted 11 March 2022

### Abstract:

Soybean seeds consist of a lot of necessary nutrients for health, they are considered a complete source of protein and vegetable lipids for the human body. In this study, six soybean varieties (DT22, Coc Chum B, black soybean, Kwangan, Cuc Ha Bac and DT84) were evaluated for total protein, lipids contents and acid and iodine indexes. Total protein content was determined by the Kjeldahl method. Oil was extracted from mature seeds using the Soxhlet system with diethyl ether solvent. The results showed that levels of total protein and lipids are relatively high in tested soybean varieties. The total protein content ranged from 29.36 to 37.32%, and lipids ranged from 19.8 to 21.2%. The free acid index was from 0.12 to 1.69 mg KOH/g, the iodine value was about 52.43 to 68.64 g I<sub>2</sub>/100 g. Varieties with high protein content were black soybean and Cuc Ha Bac. Nutritionally, these varieties are all sources of high nutritional value in providing protein and essential fatty acids for humans.

**Keywords:** Kjeldahl, lipid, protein, Soxhlet, soybean.

**Classification number:** 4.7



Hình 1. Hình thái hạt của các giống đậu tương nghiên cứu.

### Phương pháp nghiên cứu

**Phương pháp lấy mẫu phân tích chỉ tiêu sinh hóa:** Mẫu hạt thí nghiệm phải đặc trưng cho giống, hạt đồng nhất, không bị hư hỏng.

Mẫu được lấy ngẫu nhiên, nghiền mịn bằng máy nghiền khô thành dạng bột kích thước 0,1 mm.

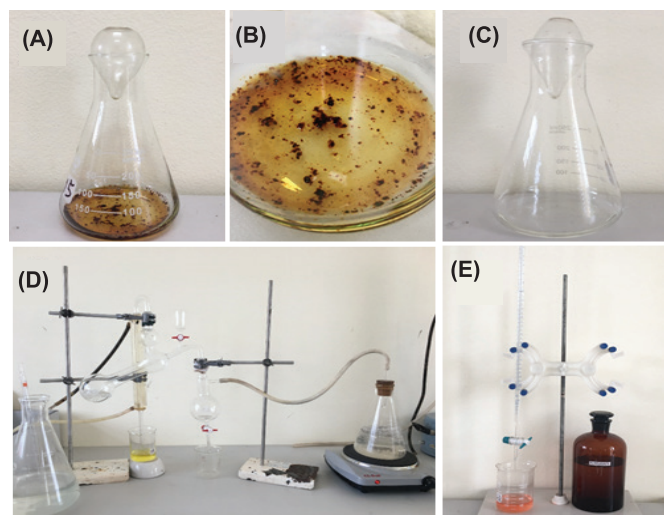
**Xác định hàm lượng protein tổng số:** Phân tích protein tổng số bằng phương pháp Kjeldahl [8]: 1 g bột mịn được bổ sung dung môi gồm 10 ml axit sulfuric đặc (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) và 0,5 ml chất xúc tác HClO<sub>4</sub>. Sau đó, công phá mẫu ở nhiệt độ cao (270°C) trong vòng 60 phút bằng máy công phá Kjeldahl (RAYPA, hình 2). Để dung dịch nguội khoảng 15-20 phút, tiếp tục đưa mẫu đi chưng cất đạm bằng bộ chưng cất Kjeldahl thủy tinh. Định lượng amoni tetraborat [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>] tạo thành bằng chuẩn độ với dung dịch axit (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N, hình 2) cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền trong 30 giây theo phản ứng sau:



Hàm lượng nitơ (N%) được tính theo công thức sau:

$$N\% = \frac{V \times 1,42 \times 100}{W}$$

trong đó: V: số ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N chuẩn độ; 1,42: số mg nitơ ứng với 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N; 100: hệ số chuyển thành %; W: khối lượng mẫu tính bằng mg.



Hình 2. Quá trình vô cơ hoá và chưng cất đạm từ hạt đậu tương. (A, B) Mẫu vô cơ hoá bằng H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đặc; (C) Sau khi vô cơ hoá; (D) Chưng cất đạm tổng số bằng Kjeldahl; (E) Chuẩn độ mẫu bằng dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N.

Hàm lượng protein tổng số (P%) được tính theo công thức:

$$P\% = N\% \times 5,71$$

trong đó: N%: hàm lượng nitơ tổng số (%); 5,71: hệ số chuyển đổi của đậu tương.

**Xác định hàm lượng dầu tổng số:** Hàm lượng dầu tổng số được xác định bằng phương pháp chiết Soxhlet [8, 9] như sau: hạt được nghiền nhỏ thành bột mịn và bổ sung dung môi chiết diethyl ether, đun sôi ở 60°C trong vòng 12 giờ bằng bộ chiết Soxhlet thủy tinh (Pyrex). Sau khi chiết toàn bộ dầu ra khỏi nguyên liệu, tách dung môi ra khỏi lipid bằng thiết bị cô quay chân không và xác định khối lượng chất béo chiết được theo công thức như sau.

$$X = \frac{G_m - G_c}{G} \times 100$$

trong đó: X: hàm lượng lipid có trong nguyên liệu ở độ khô tuyệt đối (%);  $G_m$ : khối lượng gói mẫu ở độ khô tuyệt đối;  $G_c$ : khối lượng gói mẫu đã chiết rút dầu ở độ khô tuyệt đối; G: khối lượng mẫu đem phân tích (g).

**Xác định chỉ số axit:** Hạt đậu tương khô được đưa vào máy ép dầu có màng lọc (GD-09). Sau đó tách lấy phần dầu sau khi ép để tinh sạch và dùng cho thí nghiệm. Cho vào bình 1 g dầu đậu tương, thêm vào 10 ml cồn 96° để hòa tan chất béo. Thêm 3 giọt chỉ thị phenolphthalein và chuẩn độ hỗn hợp bằng dung dịch KOH 0,1 N cho đến khi xuất hiện màu hồng bền trong 30 giây. Chỉ số axit được tính theo công thức sau.

$$X = V \times f \times 5,6$$

trong đó: X: chỉ số axit (mg KOH/g); V: số ml KOH 0,1 N dùng để chuẩn độ; f: hệ số điều chỉnh nồng độ KOH 0,1 N; 5,6: số mg KOH tương đương với 1 ml KOH 0,1 N.

**Xác định chỉ số  $I_2$ :** Cho 1 ml dầu vào bình tam giác 250 ml, bổ sung 10 ml cồn 96° và 10 ml dung dịch  $I_2$ , lắc đều hỗn hợp. Đậy nút bình và để trong tối 3 giờ, sau đó chuẩn độ bằng  $Na_2S_2O_3$  0,1 N đến khi dung dịch có màu vàng nhạt. Bổ sung vào bình 10 giọt tinh bột 1%, tiếp tục chuẩn độ đến khi mất màu xanh. Chỉ số  $I_2$  được xác định như sau:

$$I_2 = \frac{(V_k - V_T) \times 12,7 \times 100}{g}$$

trong đó:  $V_k$ : số ml  $Na_2S_2O_3$  0,1 N chuẩn độ bình kiểm tra;  $V_T$ : số ml  $Na_2S_2O_3$  0,1 N chuẩn độ bình thí nghiệm; 12,7: số mg  $I_2$  tương đương với 1 ml  $I_2$  0,1 N; g: số gram dầu đem phân tích.

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Hàm lượng protein tổng số

Kết quả bảng 2 cho thấy, hàm lượng protein tổng số của các giống đậu tương khá cao, dao động từ 29,36 đến 37,32%. Trong đó, ĐTD có hàm lượng protein cao nhất, chiếm 37,32% khối lượng khô, tiếp đến là các giống CHB (35,15%), KW (33,51%), ĐT22 (33,14%) và DT84 (31,27%). Giống CCB có hàm lượng protein thấp nhất (29,36%).

**Bảng 2. Hàm lượng protein tổng số của một số giống đậu tương.**

| STT               | Giống | Hàm lượng protein tổng số (%) | Hàm lượng lipid tổng số (%) |
|-------------------|-------|-------------------------------|-----------------------------|
| 1                 | ĐT22  | 33,14                         | 20,5                        |
| 2                 | CCB   | 29,36                         | 21,2                        |
| 3                 | ĐTD   | 37,32                         | 19,8                        |
| 4                 | KW    | 33,51                         | 20,7                        |
| 5                 | CHB   | 35,15                         | 20,1                        |
| 6                 | DT84  | 31,27                         | 20,3                        |
| CV%               |       | 0,37                          | 0,6                         |
| LSD <sub>05</sub> |       | 0,67                          | 0,2                         |

Hạt đậu tương không chỉ giàu hàm lượng protein so với các loại thực phẩm thực vật khác mà còn chứa một tỷ lệ cân đối của tất cả các axit amin thiết yếu và quan trọng mà cơ thể con người cần [3, 5]. Trên thực tế, đậu tương có thể cung cấp nhiều protein gấp 2 lần so với bất kỳ loại cây rau hoặc ngũ cốc nào khác [4, 10]. Tuy nhiên, hàm lượng protein trong hạt đậu tương phụ thuộc vào nhiều yếu tố như thời vụ trồng, thời điểm thu hoạch, điều kiện bảo quản, đặc biệt là đặc tính di truyền của giống [1, 2, 7, 11, 12]. C.T. Vo và cs (2010) [13] phân tích 88 giống đậu tương Việt Nam và 78 giống đậu tương nhập ngoại cho thấy, các giống đậu tương Việt Nam có hàm lượng protein dao động từ 31,29 đến 43,36%, các giống đậu tương nhập ngoại dao động từ 34,8 đến 47,09%. Tương tự, V.T.T. Hang và cs (2019) [14] so sánh hàm lượng protein tổng số của 22 giống đậu tương Việt Nam cho thấy các giống có hàm lượng protein trong khoảng 30-45%. Việc xác định hàm lượng protein tổng số của các giống đậu tương có ý nghĩa quan trọng trong việc lựa chọn giống làm nguyên liệu trong chế biến thực phẩm cũng như chế biến thức ăn gia súc. Đồng thời làm cơ sở cho công tác chọn tạo giống đậu tương giàu hàm lượng protein ở nước ta.

#### 3.2. Hàm lượng lipid tổng số

Kết quả phân tích hàm lượng lipid tổng số của 6 giống đậu tương cho thấy không có sự khác nhau đáng kể giữa các giống, dao động từ 19,8 đến 21,2% (bảng 2). Hàm lượng lipid tổng số ở hạt đậu tương khoảng 18-20%. Trong đó, 10-12% axit palmitic (16:0), 3-4% axit stearic (18:0), 20-25% axit oleic (18:1), 50-55% axit linoleic (18:2) và 8-10% axit linolenic (18:3) [1, 11]. Hàm lượng lipid tổng số và thành phần các axit béo trong hạt sẽ ảnh hưởng đến chất lượng dầu. Kết quả phân tích cho thấy, các giống đậu tương nghiên cứu đều có hàm lượng dầu tổng số tương đối cao có thể sử dụng làm nguyên liệu sản xuất dầu.

#### 3.3. Chỉ số axit

Chỉ số axit của dầu mỡ không cố định, chúng thay đổi tùy từng điều kiện bảo quản, dầu mỡ càng biến chất thì chỉ số axit càng cao. Do vậy, có thể dựa vào chỉ số này để xác định được chất lượng của chất béo.

**Bảng 3. Chỉ số axit của một số giống đậu tương.**

| STT               | Giống thí nghiệm | Chỉ số axit (mg KOH/g) |
|-------------------|------------------|------------------------|
| 1                 | ĐT22             | 1,29                   |
| 2                 | CCB              | 0,12                   |
| 3                 | ĐTD              | 1,69                   |
| 4                 | CHB              | 1,32                   |
| 5                 | KW               | 1,30                   |
| 6                 | DT84             | 1,23                   |
| CV%               |                  | 1,35                   |
| LSD <sub>05</sub> |                  | 0,03                   |

Kết quả bảng 3 cho thấy, chỉ số axit béo tự do của các giống đậu tương dao động từ 0,12 đến 1,69 mg KOH/g. Chỉ số axit phản ánh chất lượng dầu, chỉ số này càng thấp thì chất lượng dầu càng tốt và ngược lại. Chỉ số axit béo tự do phụ thuộc vào loại nguyên liệu, thời gian bảo quản, quá trình tinh chế. Mặc dù chúng không

có khả năng gây ảnh hưởng ngay đến sức khỏe, nhưng có thể làm giảm đáng kể giá trị dinh dưỡng của thực phẩm bằng cách làm suy giảm các axit béo và chất dinh dưỡng thiết yếu. Vì vậy, cần có các biện pháp bảo quản và chuẩn hoá quy trình tinh chế dầu đảm bảo tiêu chuẩn và chất lượng dầu [9].

### 3.4. Chỉ số $I_2$

Chỉ số  $I_2$  phản ánh hàm lượng axit béo bão hoà trong nguyên liệu. Chỉ số này trong hạt của các giống đậu tương có sự khác nhau, dao động từ 52,43 đến 68,64 g  $I_2$ /100 g (bảng 4). Trong đó, 2 giống CCB và DT84 có chỉ số  $I_2$  thấp, chỉ đạt 52,43 và 58,34 g  $I_2$ /100 g. Các giống DT22, ĐTD, KW và DT84 có chỉ số  $I_2$  tương đối cao, từ 61,36 đến 68,64 g  $I_2$ /100 g.

**Bảng 4.** Chỉ số  $I_2$  của một số giống đậu tương.

| STT         | Giống thí nghiệm | Chỉ số $I_2$ (g $I_2$ /100 g) |
|-------------|------------------|-------------------------------|
| 1           | DT22             | 62,13                         |
| 2           | CCB              | 52,43                         |
| 3           | ĐTD              | 61,36                         |
| 4           | CHB              | 65,63                         |
| 5           | KW               | 68,64                         |
| 6           | DT84             | 58,34                         |
| $CV\%$      |                  | 7,14                          |
| $LSD_{0,5}$ |                  | 4,22                          |

## 4. Kết luận

Từ kết quả nghiên cứu nhận thấy, các giống đậu tương có chứa hàm lượng protein và lipid tổng số tương đối cao. Protein tổng số dao động từ 29,36 đến 37,32% và lipid dao động từ 19,8 đến 21,2%. Chỉ số axit tự do từ 0,12 đến 1,69 mg KOH/g, chỉ số  $I_2$  đạt khoảng 52,43 đến 68,64 g  $I_2$ /100 g. Trong đó, các giống có hàm lượng protein cao như ĐTD và CHB. Về mặt dinh dưỡng, các giống này đều là nguồn thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao trong việc cung cấp đạm và các axit béo thiết yếu cho con người.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N. Bellaloui, H.A. Bruns, A. Gillen, et al. (2010), "Soybean seed protein, oil, fatty acids, and mineral composition as influenced by soybean-corn rotation", *Agric. Sci.*, **1**, pp.102-109, DOI:10.4236/as.2010.13013.
- [2] C. Wijewardana, K.R. Reddy, N. Bellaloui (2019), "Soybean seed physiology, quality, and chemical composition under soil moisture stress", *Food Chemistry*, **278**, pp.92-100, DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.11.035.

- [3] A. Saha, S. Mandal (2019), "Nutritional benefit of soybean and its advancement in research", *Sustainable Food Production*, **5**, pp.6-16, DOI:10.18052/www.scipress.com/SFP.5.6.

- [4] Z. Zakrzewska, M.K. Potocka, M. Twarużek, et al. (2020), "A comparison of the composition and contamination of soybean cultivated in Europe and limitation of raw soy seed content in weaned pigs' diets", *Animals*, **10**(11), DOI: 10.3390/ani10111972.

- [5] R.J. De Souza, A. Mente, A. Maroleanu, et al. (2015), "Intake of saturated and trans unsaturated fatty acid and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis of observational studies", *BMJ*, **351**, DOI: 10.1136/bmj.h3978.

- [6] T.E. Clemente, E.B. Cahoon (2009), "Soybean oil: Genetic approaches for modification of functionality and total content", *Plant Physiol.*, **151**(3), pp.1030-1040, DOI: 10.1104/pp.109.146282.

- [7] K. Hudson (2012), "Soybean oil-quality variants identified by large-scale mutagenesis", *International Journal of Agronomy*, **12**, DOI: 10.1155/2012/569817.

- [8] V.M. Nguyen (2001), *Practice biochemistry*, Vietnam National University - Hanoi Publishing House (in Vietnamese).

- [9] F. Shahidi, U.N. Wanasundara (2002), "Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils", *Food Lipids Chem. Nutr. Biotechnol.*, **17**, pp.387-403, 10.1201/9780203908815-17.

- [10] T.K.D. Ngo, P.N. Pham (2014), "Determination of crude oil and protein content from some types of seeds", *Science and Technology Magazine*, **15**, pp.15-18 (in Vietnamese).

- [11] Y. Assefa, L.C. Purcell, M. Salmeron, et al. (2019), "Assessing variation in US soybean seed composition (protein and oil)", *Front. Plant Sci.*, **10**, DOI: 10.3389/fpls.2019.00298.

- [12] N. Bellaloui, A. Mengistu (2008), "Seed composition is influenced by irrigation regimes and cultivar", *Irrig. Sci.*, **26**, pp.261-268, 10.1007/s00271-007-0091-y.

- [13] C.T. Vo, H.T. Nguyen, T.A.L. Quan (2010), "Find protein markers that correlate with protein content on soybean seeds using SDS-page electrophoresis", *Science Magazine, Can Tho University*, **16**, pp.180-188 (in Vietnamese).

- [14] V.T.T. Hang, V.T. Anh, V.T.V. Anh, et al. (2019), "Genetic diversity of soybean varieties based on morphology, SSR molecular markers and protein content", *Science Journal, Can Tho University*, **55**, pp.13-22, DOI:10.22144/ctu.jvn.2019.163.



# Tổng mục lục năm 2022

| STT                                   | Tác giả                                                                                                                                                                      | Tên bài                                                                                                                                                              | Số | Số trang |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----------|
| <b>Khoa học tự nhiên</b>              |                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                      |    |          |
| 1                                     | Nguyễn Ngọc Anh, Nguyễn Xuân Hải, Trần Anh Khôi, Nguyễn Quang Hưng, Lê Tân Phúc, Phạm Đình Khang, Đinh Thị Tường Quy, Cao Minh Nhân                                          | Phân rã gamma nổi tăng bậc hai từ trạng thái hợp phần về trạng thái cơ bản của hạt nhân <sup>182</sup> Ta.                                                           | 1  | 1        |
| 2                                     | Nguyễn Lê Kim Phụng, Nguyễn Thị Hồng Nhung, Nguyễn Trần Kim Tiền, Nguyễn Ngọc Phương, Bùi Quang Minh, Lê Minh Tuấn                                                           | Xác định hàm lượng Piperin trong hồ tiêu ở tỉnh Kon Tum bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử UV-Vis.                                                           | 1  | 5        |
| 3                                     | Nguyễn Huy Vương, Nguyễn Bách Thảo, Trần Văn Quang, Nguyễn Thành Công, Phạm Tuấn, Đào Đức Bằng                                                                               | Đánh giá tài nguyên nước dưới đất trong các thành tạo bờ rời thung lũng Mường Thanh bằng phương pháp mô hình số.                                                     | 1  | 10       |
| 4                                     | Nguyễn Thị Phi Oanh, Lê Hoàng Khang                                                                                                                                          | Phân lập vi khuẩn phân hủy toluene và khảo sát khả năng phân hủy hỗn hợp hydrocarbon thơm trong nước thải phòng thí nghiệm.                                          | 1  | 16       |
| 5                                     | Phạm Thị Miên, Lê Kiều Hân, Nguyễn Thị Kim Cúc                                                                                                                               | Khảo sát ảnh hưởng của một số nguồn cacbon và nitơ đến khả năng sinh trưởng và kháng khuẩn của chủng Streptomyces sp. HM9 phân lập từ hải miên.                      | 1  | 21       |
| 6                                     | Lưu Hoàng Yến, Phạm Hồng Thái, Bùi Thu Quỳnh                                                                                                                                 | Nghiên cứu đánh giá độ phong phú, tương đồng của loài ve sầu (Hemiptera: Cicadidae) ở khu vực Tây Bắc.                                                               | 1  | 27       |
| 7                                     | Hoàng Anh Sơn, Công Hồng Hạnh, Nguyễn Hồng Nhung, Vũ Hồng Sơn, Phạm Duy Khánh, Trần Thị Hương, Trần Quế Chi                                                                  | Nghiên cứu hiệu lực ức chế vi khuẩn khử sunphat của một số nano kim loại.                                                                                            | 1  | 32       |
| 8                                     | Nguyễn Đức Lượng, Bùi Thị Hiếu, Văn Hùng Vỹ, Phạm Thị Thùy                                                                                                                   | Nghiên cứu các đặc tính quang học và vật lý của sol khí tại một khu vực đô thị ở Hà Nội.                                                                             | 3  | 1        |
| 9                                     | Vũ Thị Minh Hồng, Đỗ Thị Hải                                                                                                                                                 | Nghiên cứu thành phần hóa học nguồn nước phục vụ bảo tồn gen và phát triển chuỗi giá trị bò H' mông ở miền núi phía Bắc.                                             | 3  | 7        |
| 10                                    | Nguyễn Thị Văn Anh, Nguyễn Văn Dư, Hà Tuấn Anh, Bùi Văn Thanh, Trần Thị Liên, Nguyễn Tiến Dũng                                                                               | Điều tra thành phần loài và kinh nghiệm sử dụng cây ăn được của đồng bào Thái tại huyện Sốp Cộp, tỉnh Sơn La.                                                        | 3  | 11       |
| 11                                    | Nguyễn Thị Phương Trang, Nguyễn Hùng Mạnh, Bùi Thị Thu Hà                                                                                                                    | Nghiên cứu xác định các vùng EST-SSR đặc trưng của loài sâm Ngọc Linh (Panax vietnamensis Ha & Grushv) bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới.                | 3  | 16       |
| 12                                    | Phạm Nam Phong                                                                                                                                                               | Từ tính nửa kim loại của triazine g-C <sub>3</sub> N <sub>3</sub> và g-C <sub>3</sub> N <sub>4</sub> biến tính với H, Li và nguyên tố nhóm 2p.                       | 6  | 1        |
| 13                                    | Đinh Trần Trọng Hiếu, Lâm Hoàng Hào, Trần Thanh Danh, Trần Hoàng Long, Nguyễn Tiến Cường, Trần Văn Mẫn, Trương Thị Hồng Loan, Trần Duy Tập                                   | Nghiên cứu cơ chế ghép mạch và sulfo hóa của màng dẫn proton sử dụng trong pin nhiên liệu hydro.                                                                     | 6  | 7        |
| 14                                    | Trần Nguyễn Phương Lan, Lý Kim Phụng, Lương Huỳnh Vũ Thanh, Nguyễn Hồng Nam, Trần Thị Bích Quyên, Lê Phan Hưng                                                               | Xử lý methylene blue bằng zeolite NaX với silica có nguồn gốc từ tro trấu.                                                                                           | 6  | 14       |
| 15                                    | Nguyễn Thùy Dương, Lê Đức Duy, Nông Văn Hải                                                                                                                                  | Khảo sát mối liên quan của đa hình DNAH1 rs12163565 với bệnh vô sinh nam ở người Việt Nam.                                                                           | 6  | 19       |
| 16                                    | Lưu Hoàng Yến, Phạm Hồng Thái, Bùi Thu Quỳnh                                                                                                                                 | Thành phần, phân bố các loài ve sầu họ Cicadidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha) ở khu vực Tây Bắc Việt Nam.                                                            | 6  | 24       |
| 17                                    | Hà Lan Anh, Đặng Đức Nhận, Trần Minh Quỳnh, Vũ Thị Hiền                                                                                                                      | Phân tích sự khác biệt về thành phần đồng vị bền δ <sup>2</sup> H và δ <sup>18</sup> O trong mẫu nước chiết từ quả dâu tây ở Đà Lạt và Mộc Châu.                     | 8  | 1        |
| 18                                    | Nguyễn Tân Thành, Nguyễn Thị Minh, Đinh Thị Kim Hào, Nguyễn Đức Diện                                                                                                         | Nghiên cứu xác định một số thành phần dinh dưỡng và điều kiện tối ưu trích ly saponin triterpenoid và tổng phenolic từ nấm Linh chi đen (Ganoderma atrum) ở Nghệ An. | 8  | 6        |
| 19                                    | Cao Đình Trọng, Mai Xuân Bách, Thái Anh Tuấn, Đặng Thanh Hải, Cao Đình Triều                                                                                                 | Nhận dạng nguồn phát sinh động đất kích thích hồ thủy điện Sông Tranh 2 trên cơ sở phân tích kết hợp tài liệu địa chất - địa vật lý.                                 | 8  | 11       |
| 20                                    | Phùng Thị Vĩ, Nguyễn Thúy Ngọc, Bùi Thị Thúy, Phan Đình Quang, Phạm Hùng Việt, Dương Hồng Anh                                                                                | Hiện trạng ô nhiễm các hợp chất perfluor hóa (PFCS) trong nước mặt và trầm tích thu thập tại sông Nhuệ và sông Đáy.                                                  | 8  | 17       |
| 21                                    | Cao Thị Thúy Hằng, Trần Thị Thanh Vân, Nguyễn Thị Khánh Vy, Nguyễn Thị Thuận, Trần Nguyễn Hà Vy, Võ Mai Như Hiếu, Phạm Đức Thịnh                                             | Khảo sát điều kiện hoạt động của Viscozyme trên rong nâu Sargassum mclurei để thu nhận fucoidan.                                                                     | 8  | 22       |
| 22                                    | Vũ Thị Mơ, Võ Thành Trung, Lê Trọng Nghĩa, Hoàng Thanh Tùng, Vũ Quốc Luận, Đỗ Mạnh Cường, Hoàng Đức Khải, Nguyễn Thị Như Mai, Phan Minh Thu, Nguyễn Ngọc Lâm, Dương Tấn Nhựt | Đặc điểm sinh trưởng, hàm lượng và chất lượng carrageenan của 2 dòng rong Bắp sú (Kappaphycus striatus) trồng ở vùng biển Khánh Hòa.                                 | 8  | 27       |
| 23                                    | Nguyễn Thị Hà, Nguyễn Văn Dư, Nguyễn Thị Văn Anh, Trần Văn Tiến                                                                                                              | Thông tin về 4 loài Nưa thuộc họ ráy (Araceae) và Râu hùm (Taccaceae) ở Côn Đảo.                                                                                     | 8  | 34       |
| 24                                    | Mạc Trung Kiên, Phạm Kim Ngọc, Raja Das, Nguyễn Hữu Tuấn, Trần Đăng Thành, Phan Bách Thắng, Dương Anh Tuấn                                                                   | Cải thiện hệ số công suất nhiệt điện trong hợp chất Mg <sub>3</sub> Sb <sub>2</sub> pha tạp Si cho ứng dụng chuyển đổi nhiệt điện của vật liệu.                      | 11 | 1        |
| 25                                    | Nguyễn Thị Minh Châu, Lưu Thị Huệ, Ngô Hồng Ánh Thu, Trần Thị Dung                                                                                                           | Nghiên cứu một số đặc tính vật liệu màng lọc chế tạo từ cellulose acetate và polyguanidine.                                                                          | 11 | 5        |
| 26                                    | Nguyễn Quý Hiền                                                                                                                                                              | Tổng hợp trong một bước các ligand bisphosphin monoxit bằng phương pháp oxy hóa với xúc tác PdI <sub>2</sub> .                                                       | 11 | 11       |
| 27                                    | Nguyễn Mạnh Tuấn, Trương Phúc Hưng, Trần Minh Hằng, Trần Văn Tiến                                                                                                            | Đặc điểm sinh học và hoạt tính kháng vi khuẩn gram dương của Microbacterium sp. C21 phân lập từ đất.                                                                 | 11 | 16       |
| 28                                    | Trần Văn Tuấn, Nguyễn Minh Thư, Bùi Thị Khánh Linh, Phạm Thị Thu Hương, Phạm Thanh Hiền, Lê Thị Hồng Nhung, Hoàng Thị Mỹ Nhung                                               | Nghiên cứu tạo cấu trúc mang promoter rpbl nhằm tăng cường biểu hiện protein tái tổ hợp ở nấm dược liệu Cordyceps militaris.                                         | 11 | 22       |
| 29                                    | Kiều Thị Quỳnh Hoa, Trần Hữu Trung, Mai Đức Huỳnh, Nguyễn Hữu Đạt, Nguyễn Vũ Giang                                                                                           | Nghiên cứu phân lập chủng vi khuẩn biến có khả năng phân hủy polyvinyl chloride.                                                                                     | 11 | 27       |
| <b>Khoa học kỹ thuật và công nghệ</b> |                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                      |    |          |
| 30                                    | Trương Việt Hùng                                                                                                                                                             | Thiết kế tối ưu ròi rạc đảm thép liên hợp trong cầu đảm nhịp giản đơn.                                                                                               | 1  | 38       |
| 31                                    | Nguyễn Vũ Việt Linh, Trần Thị Xuân Thảo, Nguyễn Ngọc Tấn, Huỳnh Đại Phú                                                                                                      | Tổng hợp benzenesulfonamide serinol bằng phản ứng Hinsberg.                                                                                                          | 1  | 44       |
| 32                                    | Phạm Văn Doanh, Nguyễn Bình Minh, Trần Thị Việt Nga                                                                                                                          | Đánh giá khả năng hình thành bùn hạt hiếu khí trên mô hình công nghệ SBR trong phòng thí nghiệm.                                                                     | 1  | 49       |
| 33                                    | Hà Thị Hiền, Trần Quốc Việt                                                                                                                                                  | Nghiên cứu đánh giá nguy cơ lan truyền ô nhiễm bụi từ lò hòa tắng bằng ứng dụng mô hình ENVIMAP 3.0.                                                                 | 1  | 54       |
| 34                                    | Hoàng Anh Tuấn, Đỗ Ngọc Diệp                                                                                                                                                 | Đánh giá hiện trạng và triển vọng ứng dụng công nghệ y học hạt nhân ở Việt Nam.                                                                                      | 1  | 59       |
| 35                                    | Nguyễn Huy Cường, Đinh Hữu Tài, Nguyễn Công Hậu                                                                                                                              | Nghiên cứu thực nghiệm xác định sức kháng cắt còn lại của dầm bê tông cốt thép nhịp ngắn đã bị ăn mòn cốt đai.                                                       | 3  | 21       |
| 36                                    | Sykhampaha Vongchith, Nguyễn Trường Thắng                                                                                                                                    | Xác định độ bền nén lệch tâm phẳng của cốt bê tông cốt thép có sử dụng tro bay.                                                                                      | 3  | 26       |
| 37                                    | Phan Hải, Phan Nguyễn Hòa, Hồ Anh Tâm, Nguyễn Hữu Đức, Phạm Đức Thắng                                                                                                        | Nghiên cứu chế tạo thử nghiệm máy phát điện ma sát nano dựa trên hai vật liệu Teflon và nhôm công nghiệp.                                                            | 3  | 32       |
| 38                                    | Hoàng Thùy Dương, Nguyễn Kim Thanh Kiều, Ngô Hồng Loan, Phan Thị Kim Ngân, Lâm Hoàng Anh Thư, Phạm Tiến Dũng, Ngô Võ Kế Thành, Nguyễn Hữu Tuyền                              | Đánh giá hoạt tính sinh học của cao chiết lá trâu không (Piper betle L.) thu nhận bằng phương pháp chiết siêu âm.                                                    | 3  | 37       |
| 39                                    | Giáp Thị Thùy Trang, Phạm Hữu Kiên, Dương Thị Lan, Trịnh Văn Hà                                                                                                              | Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến cấu trúc, sự không đồng nhất cấu trúc và động học của silica lỏng.                                                             | 3  | 43       |
| 40                                    | Trần Thanh Bình, Luyện Quốc Vương, Hoàng Văn Hán, Giáp Văn Cường, Nguyễn Thị Quỳnh Hoa, Bùi Văn Dân, Hoàng Thị Hiền, Chu Văn Tuấn                                            | Nghiên cứu chế tạo cảm biến khí ở nhiệt độ phòng trên cơ sở vật liệu polypyrrole.                                                                                    | 3  | 50       |
| 41                                    | Nguyễn Cao Sơn                                                                                                                                                               | Nghiên cứu khả năng sử dụng xi luyện thép làm chất trợ dung khử tạp chất của gang lỏng trong quy trình tiền xử lý.                                                   | 3  | 55       |
| 42                                    | Đậu Sỹ Hiếu, Đoàn Quang Mỹ Hân, Tạ Chiu Hỷ, Lê Nguyễn An Khang, Khẩu Nguyễn Thành Đạt                                                                                        | Nghiên cứu ảnh hưởng của hệ thống quang học trong hệ thống kiểm tra chất lượng trên dây chuyền sản xuất sản phẩm y tế ứng dụng thị giác máy tính.                    | 3  | 59       |
| 43                                    | Lê Văn Phước Nhân, Bùi Đức Vĩnh, Lê Thái Sơn                                                                                                                                 | Khảo sát thực nghiệm biến dạng của dầm liên hợp thép bê tông với mức độ liên kết kháng cắt khác nhau.                                                                | 6  | 28       |

|                          |                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |       |    |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
| 44                       | Lê Đình Sơn, Hà Huy Hưng, Nguyễn Đình Quân, Trần Văn An, Nguyễn Thế Hưng                                                                                    | Nghiên cứu, thiết kế robot thông minh hình dáng giống người hỗ trợ dạy học tiếng Anh.                                                                                                        | 6     | 35 |
| 45                       | Nguyễn Thủy Ngọc, Trương Thị Kim, Phan Thị Lan Anh, Dương Hồng Anh, Phùng Thị Vĩ, Phạm Hùng Việt.                                                           | Hàm lượng, sự biến thiên và mối tương quan tới phương tiện giao thông cơ giới đường bộ của PAHs trong bụi mặt đường ở Hà Nội.                                                                | 6     | 40 |
| 46                       | Nguyễn Trọng Hoàng Phong, Nguyễn Hồng Hoàng, Võ Hà Tuyết Hạnh, Lê Văn Toàn, Lê Xuân Cường, Phạm Bảo Ngọc, Nguyễn Thanh Bình                                 | Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng hấp phụ một số ion kim loại nặng của vật liệu hydrogel copolyme ghép khâu mạch bức xạ.                                                               | 6     | 45 |
| 47                       | Nguyễn Văn Quang                                                                                                                                            | Tổng hợp và tính chất quang của vật liệu huỳnh quang $\alpha$ -Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> pha tạp Mn <sup>4+</sup> phát xạ đỏ đậm ứng dụng cho đèn LED chiếu sáng chuyên dụng cây trồng. | 6     | 49 |
| 48                       | Vũ Thị Minh Châu, Nguyễn Trọng Hiệp, Lê Thu Thủy                                                                                                            | Nghiên cứu xử lý nước thải chế biến bánh trắng quy mô sản xuất hộ gia đình bằng mô hình lọc dòng ngược bùn sinh học.                                                                         | 6     | 53 |
| 49                       | Nguyễn Thị Dung, Trần Đức Trọng, Nguyễn Thanh Vũ, Nguyễn Trọng Nghĩa, Lê Quang Luân                                                                         | Nghiên cứu chế tạo nano selen ổn định trong $\beta$ -glucan tan nước bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60.                                                                                  | 6     | 58 |
| 50                       | Ngô Khoa Quang                                                                                                                                              | Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy nhiệt tính chất quang của dung dịch hạt cacbon nano được chế tạo từ hạt đậu xanh.                                                                                | 6     | 64 |
| 51                       | Nguyễn Thị Hạnh, Nguyễn Văn Hưng                                                                                                                            | Ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản đến chất lượng quả nhãn lồng Hưng Yên.                                                                                                                       | 6     | 69 |
| 52                       | Trần Thế Định, Lê Quang Thái, Lê Thị Hồng Hà                                                                                                                | Nghiên cứu công nghệ xử lý quặng urani có hàm lượng U $\geq$ 0,1% bằng phương pháp hòa tách tĩnh.                                                                                            | 8     | 39 |
| 53                       | Phạm Trung Kiên, Nguyễn Huỳnh Minh Ngọc                                                                                                                     | Tổng hợp khoáng Wollastonite bằng phản ứng 2 giai đoạn thủy nhiệt và nung dùng nguyên liệu trấu và portlandite.                                                                              | 8     | 44 |
| 54                       | Nguyễn Trọng Hùng, Nguyễn Thanh Thủy, Lê Bá Thuận, Nguyễn Thị Liên                                                                                          | Điều chế và khan hóa muối hydrat tecbi florua theo phương pháp uớt làm nguyên liệu tinh luyện tecbi kim loại.                                                                                | 8     | 47 |
| 55                       | Phạm Ngọc Duy, Trần Thanh Mai                                                                                                                               | Nghiên cứu động học $\gamma$ H2AX foci sau chiếu xạ tia X ở tế bào lympho máu ngoại vi và nguyên bào sợi người.                                                                              | 8     | 53 |
| 56                       | Lý Thị Ái Duyên, Nguyễn Thị Bé Liên, Nguyễn Thị Thủy Dương, Nguyễn Phương Thảo, Trần Công Sác, Đỗ Văn Tiến, Lê Linh Thy, Bùi Xuân Thành                     | Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ vi tảo Chlorella sp. và bùn hoạt tính loại bỏ chất dinh dưỡng và chất hữu cơ cho nước thải có nồng độ C/N thấp.                                               | 8     | 58 |
| 57                       | Đoàn Hồng Quang, Nguyễn Huy Công, Lê Hồng Minh, Phạm Vũ Ban, Nguyễn Huy Hưng, Nguyễn Tuấn Hùng                                                              | Phát hiện một số bệnh gia cầm dựa trên hình ảnh thu nhận từ camera bằng mạng nơ-ron tích chập.                                                                                               | 10 ĐB | 2  |
| 58                       | Trương Thị Chiên, Nguyễn Thị Hiền, Mai Vũ Hoàng Giang, Trần Văn Quảng, Vũ Xuân Tạo, Trần Bảo Trâm                                                           | Ảnh hưởng của nhiệt độ và ánh sáng LED đến sinh trưởng, hàm lượng sắc tố và hoạt tính sinh học của sinh khối Spirulina maxima nuôi nước lợ.                                                  | 10 ĐB | 8  |
| 59                       | Lê Thanh Bình, Trương Minh Ngọc, Hồ Thị Nguyệt, Lê Thị Huyền                                                                                                | Trichoderma asperellum T10 - Chủng vi sinh tiềm năng đối kháng với nấm Neoscytalidium dimidiatum gây bệnh đốm trắng trên thanh long ở Bình Thuận.                                            | 10 ĐB | 14 |
| 60                       | Hà Thị Dung, Phan Xuân Bình Minh, Trần Bảo Trâm, Nguyễn Phương Lan, Nguyễn Minh Nam, Vũ Xuân Tạo                                                            | Đánh giá một số hoạt tính sinh học của dịch chiết Nghệ trắng (Curcuma aromatica Salisb.) thu thập tại Yên Bái.                                                                               | 10 ĐB | 20 |
| 61                       | Đặng Quang Thạch, Nguyễn Bá Thi, Nguyễn Quang Hải, Cồ Như Văn                                                                                               | Hệ thống đèn tín hiệu đường sắt sử dụng công nghệ LED.                                                                                                                                       | 10 ĐB | 24 |
| 62                       | Nguyễn Bá Đạt, Nguyễn Hoàng Long, Nguyễn Quốc Hưng, Lê Quốc Tuấn, Trần Hà, Nguyễn Văn Đưa, Hoàng Sĩ Hồng                                                    | Thiết kế thiết bị giám sát máy móc ngoài trời có tích hợp công nghệ định vị chính xác động học thời gian thực (real-time kinematic).                                                         | 10 ĐB | 28 |
| 63                       | Bành Quốc Tuấn, Lê Hồng Minh, Lưu Hoàng Đạt, Ngô Hải Long, Cao Khắc Thiện, Đỗ Việt Hoàng, Lê Văn Bình                                                       | Nghiên cứu phát triển hệ thống xác thực khuôn mặt 2 yếu tố bảo mật sử dụng công nghệ mã F-QR ẩn trên thẻ ID bằng laser 1064 nm và AI camera.                                                 | 10 ĐB | 33 |
| 64                       | Ngô Hải Long, Lưu Hoàng Đạt, Trần Đình Chí, Đỗ Việt Hoàng, Lê Văn Bình, Cao Khắc Thiện, Bành Quốc Tuấn                                                      | Nghiên cứu phát triển hệ đo nhiễu cường độ laser tương đối bằng thông rộng 40 GHz sử dụng bộ điều khiển PID và bộ xử lý tín hiệu ESA.                                                        | 10 ĐB | 38 |
| 65                       | Đỗ Như Ý, Đỗ Anh Tuấn, Lê Anh Tuấn, Lưu Quốc Uy                                                                                                             | Thiết kế động cơ phòng nổ hiệu suất cao tốc độ 3.000 vòng/phút sử dụng cho quạt gió cục bộ trong khai thác mỏ hầm lò.                                                                        | 10 ĐB | 43 |
| 66                       | Trần Thị Văn Anh, Đỗ Xuân Tiến, Phạm Chí Hiếu, Vũ Văn Liệu, Giang Mạnh Khôi, Đỗ Anh Tuấn, Nguyễn Thị Thu Hương                                              | Nghiên cứu và tích hợp hệ khắc tạo màu trên bề mặt kim loại sử dụng laser sợi quang công suất cao với cấu hình MOPA.                                                                         | 10 ĐB | 46 |
| 67                       | Tường Thị Nguyệt Ánh, Đặng Thảo Yến Linh, Phạm Ngọc Khánh, Nguyễn Hoài Trang, Đoàn Hoàng Linh, Chu Xuân Quang, Trần Hùng Thuận                              | Nghiên cứu chế tạo polyme blend kháng khuẩn từ nhựa nhiệt dẻo và polyguanidine.                                                                                                              | 10 ĐB | 50 |
| 68                       | Mã Thị Bích Thảo, Nguyễn Phương, Trần Hà, Nguyễn Thị Hồng, Vũ Văn Liệu                                                                                      | Tối ưu hóa các thông số kỹ thuật chưng cất tinh dầu sả hương Tây Giang theo phương pháp chưng lôi cuốn bằng hơi nước trực tiếp.                                                              | 10 ĐB | 56 |
| 69                       | Nguyễn Minh Nam, Trương Thị Chiên, Bùi Thị Minh Tâm, Nguyễn Đăng Bắc, Nguyễn Tiến Khương, Tiên Thị Luyệt                                                    | Ảnh hưởng của một số thông số công nghệ đến quá trình chế biến bột giàu protein từ khô dầu Sacha inchi.                                                                                      | 10 ĐB | 63 |
| 70                       | Nguyễn Thị Kim Ngân, Ngô Thị Thủy Linh, Trần Đỗ Đạt, Nguyễn Đức Việt, Hoàng Minh Nam, Mai Thanh Phong, Nguyễn Hữu Hiếu                                      | Ảnh hưởng của kỹ thuật trích ly đến hoạt tính sinh học cao nấm Linh chi (Ganoderma lucidum) giàu polysaccharide.                                                                             | 11    | 32 |
| 71                       | Lê Thế Tâm, Nguyễn Hoa Du, Bùi Thu Trang, Hoàng Đức Nghĩa, Hồ Đình Quang, Trần Quang Đệ, Lê Đăng Quang                                                      | Tổng hợp và thử hoạt tính in vitro kháng nấm, kháng khuẩn của hợp chất đồng (II) xitrat, định hướng làm chế phẩm phòng bệnh trên cây trồng.                                                  | 11    | 38 |
| 72                       | Phan Thanh Hải, Lê Cảnh Định, Hoàng Nhật Hiếu, Nguyễn Thị Xuân Huynh, Huỳnh Thị Miên Trung, Lê Thị Ngọc Loan, Trần Năm Trung                                | Nghiên cứu chế tạo hệ vật liệu đơn lớp phân tử diazonium trên nền graphite bằng phương pháp cấy ghép điện hóa.                                                                               | 11    | 44 |
| 73                       | Trịnh Thị Thắm, Lê Thị Trinh, Trịnh Thị Thủy                                                                                                                | Rủi ro sinh thái một số kim loại nặng trong trầm tích tại khu vực hạ lưu sông Hồng.                                                                                                          | 11    | 48 |
| 74                       | Nguyễn Thị Hồng Thắm, Nguyễn Thị Lê Ngọc, Nguyễn Công Hà                                                                                                    | Các yếu tố ảnh hưởng đến sự oxy hóa lipid trong quá trình lên men đậu nành bởi vi khuẩn Bacillus subtilis.                                                                                   | 11    | 54 |
| 75                       | Nguyễn Hữu Thanh, Nguyễn Thành Dũng, Nguyễn Phú Thọ, Nguyễn Thị Tố Uyên, Bùi Nhi Bình, Phạm Thúy Vy, Nguyễn Hoàng Tinh, Đặng Chí Thiện, Nguyễn Thị Bích Như | Cải thiện khả năng sống sót của Lactobacillus plantarum VAL6 bằng đáp ứng thích nghi với sốc môi trường.                                                                                     | 11    | 59 |
| <b>Khoa học y - được</b> |                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |       |    |
| 76                       | Trần Ngọc Thảo My, Triệu Tiến Sang, Nguyễn Ngọc Nhất, Trần Văn Tuấn, Nguyễn Thanh Tùng, Nguyễn Minh Phương, Trịnh Thế Sơn                                   | Đặc điểm kiểu gen của đa hình MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G và MTRR A66G ở phụ nữ sảy thai liên tiếp.                                                                                | 2     | 1  |
| 77                       | Lê Văn Thu, Hồ Cẩm Tú, Nguyễn Quý Linh, Lê Thị Phương, Trần Văn Khánh, Nguyễn Xuân Hậu, Tạ Thành Văn, Nguyễn Thu Thủy                                       | Tỷ lệ đột biến vùng promoter gen TERT trên bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan.                                                                                                             | 2     | 5  |
| 78                       | Trịnh Lê Huy, Thân Văn Thịnh                                                                                                                                | Nhận xét kết quả hóa trị bổ trợ phác đồ 4AC-4T kết hợp Anastrozole cho bệnh nhân ung thư vú ER dương tính/ Her2 âm tính giai đoạn II-III.                                                    | 2     | 10 |
| 79                       | Nguyễn Thị Huyền Trang, Trần Danh Cường, Trần Thơ Nhị, Ngô Toàn Anh, Vũ Thị Huyền, Lê Thị Minh Phương, Nguyễn Thị Trang                                     | Thực trạng sàng lọc bệnh thalassemia và một số yếu tố liên quan ở phụ nữ mang thai đến khám tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương.                                                                | 2     | 14 |
| 80                       | Dương Thị Bích, Dư Thế Anh, Trĩ Kim Ngọc, Nguyễn Hữu Phúc, Nguyễn Xuân Linh, Bành Thanh Hùng, Huỳnh Ngọc Trung Dung                                         | Khảo sát khả năng hạ glucose huyết của lá Xuân hoa răng (Pseuderanthemum crenulatum) trên mô hình chuột đái tháo đường bằng alloxan.                                                         | 2     | 21 |
| 81                       | Nguyễn Đức Thiện, Nguyễn Thị Mỹ Linh, Lê Thị Phương Anh, Điều Diễm Quỳnh                                                                                    | Hai phương pháp định lượng Amlodipine besilate và Atorvastatin calcium trong chế phẩm bằng phép đo quang phổ bước sóng kép.                                                                  | 2     | 25 |
| 82                       | Nguyễn Thị Ngọc Phương, Nguyễn Thị Cẩm Hồng, Nguyễn Thị Hồng Thúy, Nguyễn Thanh Phong                                                                       | Các yếu tố ảnh hưởng đến sự hải lòng của người bệnh với chất lượng khám chữa bệnh tại các bệnh viện công TP Hồ Chí Minh.                                                                     | 2     | 30 |
| 83                       | Nguyễn Thị Ngọc Lan, Vũ Văn Quý, Lê Hữu Lộc                                                                                                                 | So sánh kết quả xét nghiệm điện giải đồ trên hệ thống máy phân tích khí máu và hóa sinh tự động.                                                                                             | 5     | 1  |
| 84                       | Võ Nguyễn Thanh Thảo, Chu Đào Xuân Trúc, Huỳnh Đàm Kim Tuyền, Phùng Thị Việt Anh, Nguyễn Đăng Quân                                                          | Biểu hiện thụ thể kháng nguyên dạng khảm đặc hiệu CD20 (CD20-CAR) trên bề mặt tế bào Jurkat T và đánh giá hoạt tính sinh học của nó.                                                         | 5     | 6  |
| 85                       | Hà Văn Thiệu, Dương Châu Giang, Lê Thị Minh Hồng                                                                                                            | Điều trị bệnh Crohn ở trẻ em bằng adalimumab sau nhiễm Covid-19 tại Bệnh viện Nhi đồng 2: báo cáo một trường hợp.                                                                            | 5     | 11 |

|                             |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                 |    |    |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----|
| 86                          | Phạm Thị Nguyệt Hằng, Phạm Anh Tùng, Trần Nguyễn Hồng, Lê Thị Xoan, Nguyễn Thị Lập, Nguyễn Thị Hiền                                                              | Cao chiết Rau đắng biển ( <i>Bacopa monnieri</i> ) cải thiện hành vi tự kỷ theo cơ chế liên quan đến protein PTEN trên mô hình chuột thực nghiệm gây bởi muối natri valproat.   | 5  | 15 |
| 87                          | Phạm Đình Duy, Trần Quốc Thanh, Nguyễn Hoàng Tùng                                                                                                                | Tối ưu hóa quy trình phun sấy hỗn dịch nano curcumin.                                                                                                                           | 5  | 20 |
| 88                          | Trần Bảo Trâm, Đào Ngọc Ánh, Trần Bình Minh, Đỗ Thị Kim Trang, Trần Văn Tuấn, Vũ Xuân Tạo                                                                        | Thành phần hóa học và khả năng kháng nấm <i>Malassezia</i> gây bệnh trên da người của tinh dầu Hương nhu tía ( <i>Ocimum sanctum</i> L.) trồng tại Hà Nội.                      | 5  | 26 |
| 89                          | Vũ Thị Liên, Ngô Hoàng Long, Lò Văn Loa, Lò Thị Bích Hậu                                                                                                         | Thành phần loài và giá trị sử dụng cây thuốc theo kinh nghiệm của dân tộc Xinh Mun tại xã biên giới Phiêng Păn, huyện Mai Sơn, tỉnh Sơn La.                                     | 5  | 31 |
| 90                          | Phan Nhã Hòa, Phạm Bảo Yên                                                                                                                                       | Khả năng ức chế <i>Helicobacter pylori</i> của một số mẫu cao chiết methanol từ thực vật thu tại tỉnh Lâm Đồng.                                                                 | 5  | 36 |
| 91                          | Vũ Phương Nhung, Trần Thị Bích Ngọc, Nguyễn Đăng Tôn, Lê Thị Thu Hiền, Nguyễn Thùy Dương, Nguyễn Quang Thạch, Nông Văn Hải, Nguyễn Hải Hà                        | Đặc điểm di truyền ở bệnh nhân COVID-19: Tình hình nghiên cứu, triển vọng và thách thức trong điều trị COVID-19.                                                                | 5  | 40 |
| 92                          | Dương Thu Trang, Nguyễn Minh Phú, Phạm Minh Châu, Đỗ Mạnh Hưng, Nguyễn Hải Hà                                                                                    | Tổng quan về bệnh dịch kinh - vông mạc xuất tiết có tính chất gia đình.                                                                                                         | 7  | 1  |
| 93                          | Nguyễn Thanh Bình, Ngô Thái Minh Quân, Dương Thị Phương Thanh                                                                                                    | Ảnh hưởng của phospholipase C zeta (PLC $\zeta$ ) đến khả năng thụ tinh và cải thiện kỹ thuật hỗ trợ sinh sản trên người.                                                       | 7  | 8  |
| 94                          | Hà Văn Thiệu, Lê Thụy Phương Trúc, Trịnh Hữu Tùng, Nguyễn Minh Ngọc, Ngô Văn Bách, Hà Huy Khôi                                                                   | Bệnh viêm ruột mạn - một đặc điểm hiếm gặp ở trẻ nhũ nhi tại Bệnh viện Nhi đồng 2: Báo cáo một trường hợp.                                                                      | 7  | 14 |
| 95                          | Võ Trọng Thành, Nguyễn Kim Cương, Phạm Thị Vượng                                                                                                                 | Đặc điểm xét nghiệm huyết học và hình thái tế bào máu ngoại vi trên bệnh nhân lao phổi sử dụng thuốc lao có ADR tại Bệnh viện Phổi Trung ương từ tháng 1/2021 đến tháng 6/2021. | 7  | 18 |
| 96                          | Vũ Thị Thu, Ngô Thị Hải Yến                                                                                                                                      | Hesperidin bảo vệ tế bào HEK293 trong mô hình tổn thương thận cấp in vitro.                                                                                                     | 7  | 23 |
| 97                          | Nguyễn Ngọc Hiếu, Nguyễn Chí Trường, Nguyễn Chí Toàn, Nguyễn Văn Hương, Ngô Thị Minh Thu, Lâm Phạm Phước Hùng                                                    | Tế bào gốc từ tủy xương: đặc điểm, tiềm năng và ứng dụng trong điều trị biến chứng bệnh tiểu đường.                                                                             | 7  | 28 |
| 98                          | Trần Thị Hồng Ngái, Hoàng Thúy Hồng, Nguyễn Trường Nam                                                                                                           | Tiêu chuẩn chẩn đoán y học cổ truyền của Covid-19 bằng mô hình cây tiem ắn.                                                                                                     | 9  | 1  |
| 99                          | Nguyễn Thị Yến Nhi, Nguyễn Thị Hạnh Lan, Hoàng Ngọc Khánh Quỳnh, Lê Thị Liên, Lê Hà Tầm Dương, Cao Thị Bảo Vân                                                   | Nuôi cấy virus EV71 trong hệ thống lắc cho sản xuất vắc xin phòng bệnh tay, chân, miệng                                                                                         | 9  | 5  |
| 100                         | Trương Thanh Tùng                                                                                                                                                | Tổng hợp và thử hoạt tính của một số dẫn chất benzothiazol-2-thiol hướng ức chế con đường quorum sensing.                                                                       | 9  | 10 |
| 101                         | Trần Thị Lan, Nguyễn Quỳnh Nga, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thị Hương, Đặng Văn Hùng                                                                               | Kết quả xác định tên khoa học và phân tích hàm lượng acid clorogenic của các mẫu kim ngân hoa thu tại Hải Dương và Hà Nam.                                                      | 9  | 14 |
| 102                         | Vũ Thị Liên, Li Phô Xạ Nạ Xay, Quảng Văn Tuấn, Lò Văn Sung, Vũ Đức Toàn                                                                                          | Thành phần loài cây thuốc chữa bệnh ngoài da theo kinh nghiệm của cộng đồng dân tộc Thái ở Khu bảo tồn thiên nhiên Mường La, tỉnh Sơn La.                                       | 9  | 19 |
| 103                         | Nguyễn Thị Hồng Đức, Võ Quốc Ánh, Lý Công Thành, Nguyễn Anh Vũ                                                                                                   | Kết hợp điện di ion với các kỹ thuật xâm lấn tối thiểu làm tăng hiệu quả vận chuyển thuốc qua da.                                                                               | 9  | 25 |
| 104                         | Nguyễn Hữu Mai Lynh, Phạm Ngọc Thạch, Huỳnh Trần Quốc Dũng, Võ Thanh Hóa, Phan Thanh Dũng, Nguyễn Đức Hạnh                                                       | Xây dựng quy trình định lượng acid asperulosidic trong thuốc bột từ bài thuốc hỗ trợ điều trị thoái hóa cột sống của lương y Nguyễn Thiện Chung bằng phương pháp HPLC.          | 9  | 31 |
| 105                         | Nguyễn Minh Ngọc, Lê Thị Phương, Trần Huy Thịnh, Trần Văn Khánh                                                                                                  | Ứng dụng kỹ thuật Multiplex ligation-dependent probe amplification xác định người lành mang đột biến gen alpha thalassemia.                                                     | 12 | 1  |
| 106                         | Trần Thị Huyền Trang, Trịnh Lê Huy, Đào Ngọc Bắc, Lương Thị Lan Anh, Đoàn Thị Kim Phượng, Nguyễn Thị Trang, Đào Thị Trang, Nguyễn Thị Duyên, Vũ Thị Hà           | Khảo sát đột biến một số gen liên quan đến ung thư phổi không tế bào nhỏ bằng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới.                                                                | 12 | 5  |
| 107                         | Nguyễn Thị Hồng Loan, Lê Thanh Tâm, Lê Phương Thuý, Lê Thị Hồng Nhung, Chu Văn Sơn, Nguyễn Văn Liệu, Nguyễn Đoàn Thủy, Nguyễn Thị Văn Anh, Nguyễn Đình Thắng     | Mức độ biểu hiện của gen CYP2D6 trong máu bệnh nhân động kinh điều trị bằng thuốc Carbamazepine.                                                                                | 12 | 10 |
| 108                         | Lê Thị Quế, Nguyễn Thanh Tùng, Đào Thị Thủy Ngọc, Nguyễn Bích Phượng, Phan Khánh Ly, Nguyễn Thị Kim Ngọc                                                         | Mô tả cơ cấu bệnh, kết quả điều trị và một số yếu tố liên quan của người bệnh tại Khoa Nội thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 trong giai đoạn 2017-2021.              | 12 | 15 |
| 109                         | Phạm Thị Văn Anh, Lê Đức Cường, Ninh Thị Nhung                                                                                                                   | Hiệu quả của một số biện pháp can thiệp chế độ ăn và lối sống đến hội chứng chuyển hóa ở người 25-64 tuổi tại tỉnh Thái Bình.                                                   | 12 | 19 |
| 110                         | Trần Mai Linh, Nguyễn Thị Ngọc Bích, Nguyễn Đức Tuấn, Nguyễn Thị Ngọc Lan                                                                                        | Nghiên cứu giá trị của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 trong chẩn đoán mắc Covid-19.                                                                          | 12 | 24 |
| 111                         | Nguyễn Thị Yến Nhi, Võ Trần Ngọc Trinh, Phạm Lê Quốc Hưng, Nguyễn Thị Hạnh Lan, Hoàng Ngọc Khánh Quỳnh, Lê Thị Liên, Lê Hà Tầm Dương, Cao Thị Bảo Vân            | Nghiên cứu chọn chủng ứng cử vắc-xin phòng bệnh tay, chân, miệng do virus EV71.                                                                                                 | 12 | 29 |
| 112                         | Nguyễn Hữu Quân, Nguyễn Thị Ngọc Lan, Nguyễn Thị Thu Ngà, Sỹ Danh Thường, Chu Hoàng Mậu                                                                          | Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết từ lá loài Dương đồng bích ( <i>Adinandra bockiana</i> E. Pritz. ex Diels).                                              | 12 | 34 |
| 113                         | Tạ Thị Thu Hằng, Nguyễn Bảo Kim, Nguyễn Hồng Nhung, Vũ Khánh Linh, Đỗ Thị Hồng Khánh, Phan Văn Ngọc, Nguyễn Thanh Hải, Bùi Thanh Tùng                            | Đánh giá khả năng ức chế các đích phân tử virus SARS-CoV-2 của các hợp chất trong cây Xuyên tâm liên bằng phương pháp docking phân tử.                                          | 12 | 39 |
| <b>Khoa học nông nghiệp</b> |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                 |    |    |
| 114                         | Hoàng Đức Khải, Đỗ Mạnh Cường, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Quang Vinh, Đoàn Mạnh Dũng, Nguyễn Bá Nam, Lê Văn Thúc, Vũ Quốc Luận, Nguyễn Thị Như Mai, Dương Tấn Nhựt | Tỷ lệ nảy mầm, khả năng sinh trưởng và sự tích lũy hoạt chất của 5 giống artichoke nhập nội ( <i>Cynara scolymus</i> L.) trồng tại tỉnh Lâm Đồng.                               | 2  | 37 |
| 115                         | Trần Thị Ngọc Mai, Huỳnh Phương Quyền, Nguyễn Công Danh, Lê Thị Giang, Lê Hoàng Tinh, Nguyễn Thái Ngọc Uyên                                                      | Nghiên cứu bảo quản táo cắt tươi bằng màng bao ăn được alginate có bổ sung cao chiết rong nâu <i>Sargassum polycystum</i> .                                                     | 2  | 43 |
| 116                         | Trần Thị Phương Dung, Nguyễn Hồng Lộc, Nguyễn Hoàng Thông, Lê Hoàng Khôi Nguyễn, Nguyễn Văn Sáng                                                                 | Ứng dụng chỉ thị phân tử Microsatellite trong truy xuất phá hệ quần đàn cá tra ( <i>Pangasianodon hypophthalmus</i> ) chọn giống.                                               | 2  | 48 |
| 117                         | Trương Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Thị Hạnh, Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Phạm Thị Yến, Lê Thị Mây, Võ Văn Nha, Đặng Thị Lụa                                                  | Ngưỡng mật độ <i>Streptococcus agalactiae</i> gây bệnh Streptococcosis ở cá rô phi ( <i>Oreochromis</i> sp.) nuôi ao nước ngọt.                                                 | 2  | 54 |
| 118                         | Nguyễn Tiến Dũng, Trương Thanh Tùng, Đào Minh Lê, Nguyễn Đức Huy, Lê Văn Hiền, Bùi Trí Thức, Nguyễn Xuân Vũ, Ngô Xuân Bình, Cao Lê Quyền                         | Sàng lọc và tuyển chọn một số dòng lúa chính sửa gen GS3 bằng CRISPR/Cas9.                                                                                                      | 2  | 60 |
| 119                         | Đoàn Thị Ninh, Vũ Đức Mạnh, Nguyễn Thị Hương Giang, Đặng Thị Lụa, Trương Đình Hoài                                                                               | Độc lực và ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của <i>Aeromonas hydrophila</i> gây bệnh trên cá rô phi và biến đổi mô bệnh học trên cá nhiễm bệnh.         | 5  | 51 |
| 120                         | Nguyễn Hữu Nghĩa, Nguyễn Đức Bình, Phạm Thái Giang, Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Nguyễn Thị Nguyễn, Nguyễn Thị Hạnh, Phan Trọng Bình, Vũ Thị Kiều Loan, Phan Thị Vân  | Nghiên cứu chất lượng nước và bệnh trong nuôi tôm thẻ chân trắng ( <i>Penaeus vannamei</i> ) áp dụng công nghệ Nanobubble.                                                      | 5  | 58 |
| 121                         | Trần Thị Phương Dung, Nguyễn Văn Sáng, Võ Hồng Phượng, Trần Hữu Phúc, Huỳnh Thị Trúc Quân, Nguyễn Hữu Thịnh                                                      | Đánh giá đáp ứng miễn dịch của các gia đình cá tra ( <i>Pangasianodon hypophthalmus</i> ) kháng bệnh gan thận mù và xác định các chỉ thị miễn dịch phục vụ chọn giống.          | 5  | 65 |
| 122                         | Phan Thị Thu Hiền                                                                                                                                                | Nghiên cứu sự tái sinh một bước in vitro của giống mía KK3 ( <i>Saccharum officinarum</i> L.).                                                                                  | 5  | 70 |
| 123                         | Nguyễn Thị Thủy, Hoàng Thị Huyền Ngọc, Nguyễn Mạnh Hà, Nguyễn Thanh Bình, Nguyễn Ngọc Thắng, Nguyễn Công Long, Hoàng Quốc Nam                                    | Đánh giá đất đai phục vụ quy hoạch phát triển bền vững một số cây công nghiệp lâu năm chủ lực vùng Tây Nguyên.                                                                  | 5  | 75 |
| 124                         | Tổng Hoàng Huyền, Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Văn Duy, Bùi Quang Đăng, Bùi Trí Thức, Nguyễn Thị Tinh, Ngô Xuân Bình                                                 | Nghiên cứu nguồn gốc phát sinh các đột lợc trong mối quan hệ với năng suất giống cam sành Bồ Hạ trồng tại Thái Nguyên.                                                          | 7  | 34 |
| 125                         | Phạm Văn Tinh, Nguyễn Phi Long, Bùi Thị Huy Hợp, Lê Thị Ngoan, Phạm Thị Bích, Nguyễn Đức Trung                                                                   | Kết quả phục tráng giống lúa Tê đỏ của Điện Biên.                                                                                                                               | 7  | 38 |
| 126                         | Phan Thị Thu Hiền, Hà Đức Chính, Phạm Phương Thu, Đỗ Thu Thảo, Bùi Thị Thủy, Hà Đăng Chiến, Kiều Thị Hương Mai, Nguyễn Văn Đình                                  | Bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của nano coban đến một số đặc tính nông sinh học của giống Đậu tương DT96 trồng tại Vĩnh Phúc.                                                    | 7  | 44 |



|                                    |                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                   |       |    |
|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----|
| 127                                | Trương Tiến Công, Nguyễn Minh Chom, Nguyễn Hữu Thanh, Nguyễn Phú Thọ, Trịnh Thị Lan, Nguyễn Hữu Yên Nhi, Nguyễn Thị Thúy Hằng                                                                                          | Nghiên cứu ảnh hưởng của các hợp chất cao phân tử ngoại bào từ vi khuẩn lactic lên đáp ứng miễn dịch của tôm Sú ( <i>Penaeus monodon</i> ).                                                       | 7     | 49 |
| 128                                | Nguyễn Thị Mỹ Hạnh, Hoàng Thanh Tùng, Hoàng Đắc Khải, Đỗ Mạnh Cường, Nguyễn Thị Như Mai, Vũ Quốc Luận, Huỳnh Văn Biệt, Huỳnh Hữu Đức, Hoàng Thị Như Phương, Bùi Văn Lê, Dương Tấn Nhựt                                 | Xác định giới tính bằng chỉ thị phân tử và vi nhân giống cây Kiwi vàng ( <i>Actinidia chinensis</i> ).                                                                                            | 7     | 54 |
| 129                                | Vũ Xuân Tạo, Trần Bảo Trâm, Nguyễn Thị Mên, Trương Thị Chiên, Trần Bình Minh, Thái Hạnh Dung, Trần Văn Tuấn, Nguyễn Quang Huy                                                                                          | Nghiên cứu xác định gen giới tính MAT, năng suất và hàm lượng cordycepin của một số chủng nấm được liệu <i>Cordyceps militaris</i> đang được nuôi trồng tại Việt Nam.                             | 7     | 60 |
| 130                                | Nguyễn Thị Mai, Trương Hồng, Nguyễn Hắc Hiên, Ninh Thị Thảo                                                                                                                                                            | Xây dựng quy trình kỹ thuật uơm và chăm sóc cây hồ tiêu ( <i>Piper nigrum</i> L.) giai đoạn sau in vitro.                                                                                         | 9     | 36 |
| 131                                | Trần Thị Hoan, Từ Trung Kiên                                                                                                                                                                                           | Ảnh hưởng của tưới nước trong mùa khô đến sản lượng lá cây <i>Trichanthera gigantea</i> .                                                                                                         | 9     | 43 |
| 132                                | Đinh Công Khánh, Trần Trung Can, Võ Thị Mộng Thu, Nguyễn Phú Hoà, Thái Ngọc Trí                                                                                                                                        | Đặc điểm hình thái loài cá nhúi mình tròn <i>Strongylura leiura</i> (Bleeker, 1850) ở vùng biển ven bờ huyện Cần Giờ, TP Hồ Chí Minh.                                                             | 9     | 48 |
| 133                                | Nguyễn Hữu Nghĩa, Phan Trọng Bình, Nguyễn Thị Hạnh, Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Trương Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Đức Bình, Phạm Thái Giang, Nguyễn Thị Nguyên, Lê Thị Mây, Phạm Thị Thanh                                        | Quan trắc môi trường và bệnh vùng nuôi trồng thủy sản khu vực phía Bắc.                                                                                                                           | 9     | 54 |
| 134                                | Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Thị Thúy, Cao Thị Thu Dung, Quách Thị Hạnh, Nguyễn Thị Minh Trang, Nguyễn Thị Thu Hà, Phan Lê Nga, Trần Phú Thắng, Trương Tuấn Oanh, Nguyễn Đức Thuận                                         | Nghiên cứu kỹ thuật sản xuất chế phẩm <i>Trichoderma</i> phòng trừ bệnh vàng lá - thối rễ trên cây có múi.                                                                                        | 9     | 60 |
| 135                                | Hoàng Thị Lệ Hằng, Nguyễn Đức Hạnh, Hoàng Thị Tuyết Mai, Nguyễn Thị Lại, Phạm Hương Sơn, Nguyễn Minh Nam, Phạm Minh Khoa, Lê Trung Tâm                                                                                 | Nghiên cứu sử dụng axit xitric trong giai đoạn sơ chế nhằm ổn định chất lượng sản phẩm hành tím sấy.                                                                                              | 10 ĐB | 68 |
| 136                                | Đặng Thảo Yên Linh, Trương Thị Nguyệt Ánh, Chu Xuân Quang, Trần Hùng Thuận                                                                                                                                             | Nghiên cứu bảo quản quả thanh long ruột đỏ bằng màng bao gói kháng khuẩn chứa Polyguanidine.                                                                                                      | 10 ĐB | 72 |
| 137                                | Nguyễn Bá Thọ, Trương Minh Ngọc, Đỗ Thị Mai Trinh, Nguyễn Đào Thanh Hương, Lê Thanh Bình, Nguyễn Thị Liên, Hồ Thị Nguyệt, Lê Thị Huyền                                                                                 | Phân lập, tuyển chọn chủng <i>Streptomyces</i> sp. và vi nấm <i>Trichoderma</i> sp. đối kháng với nấm <i>Colletotrichum</i> sp. CC1.5 gây bệnh khô cành, khô quả trên cây cà phê ở tỉnh Đắk Nông. | 10 ĐB | 76 |
| 138                                | Đỗ Thị Gấm, Hoàng Thị Huyền, Đỗ Tiến Phát, Phạm Bích Ngọc, Nguyễn Văn Thao, Phan Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Thu, Hoàng Thị Thu Linh, Đinh Thị Thảo, Nguyễn Thị Hồng Hà, Nguyễn Thị Thu Hiền, Chu Hoàng Hà, Phan Hồng Khôi | Nghiên cứu ứng dụng ánh sáng LED trong sản xuất cây giống một số loại hoa cúc tại Hà Nội.                                                                                                         | 12    | 48 |
| 139                                | Nguyễn Khánh Vân, Vũ Thị Thu Hương, Phạm Thị Kim Yến, Hoàng Thị Âu, Phạm Doãn Lân, Lưu Quang Minh                                                                                                                      | Ảnh hưởng của phương pháp thủy tinh hóa và giai đoạn phát triển của phôi đến hiệu quả bảo quản lạnh phôi bò sản xuất in vitro tại Việt Nam.                                                       | 12    | 54 |
| 140                                | Trần Thế Mưu, Phan Minh Quý, Nguyễn Đức Tuấn, Phạm Văn Thìn, Trần Thị Mai Hương                                                                                                                                        | Xác định các tham số sinh học của 4 loài cá biển (Chêm, Giò, Song chấm nâu và Chim vây vàng) phục vụ đánh giá sức tài môi trường vùng nuôi.                                                       | 12    | 60 |
| 141                                | Vì Thị Hằng, Ma Văn Duy, Đào Minh Lê, Lê Văn Hiền, Nguyễn Đức Huy, Trương Thanh Tùng, Trần Văn Tiến, Trần Văn Định, Nguyễn Tiến Dũng                                                                                   | Xác định hàm lượng protein và lipid thô tổng số ở một số giống đậu tương.                                                                                                                         | 12    | 65 |
| <b>Khoa học xã hội và nhân văn</b> |                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                   |       |    |
| 142                                | Phạm Xuân Đà, Hà Kiên Tân, Tô Phước Hải, Nguyễn Thị Hương                                                                                                                                                              | Vai trò năng lực tâm lý của bác sỹ đối với chất lượng khám chữa bệnh.                                                                                                                             | 4     | 1  |
| 143                                | Nguyễn Thị Thu Hồng, Bùi Tuấn Thành, Đỗ Đức Vương                                                                                                                                                                      | Hoạt động của doanh nghiệp nhà nước trong điều kiện áp dụng chính sách cạnh tranh trung lập.                                                                                                      | 4     | 7  |
| 144                                | Phạm Tiến Mạnh, Phạm Thị Anh Đào, Trần Châu Giang                                                                                                                                                                      | Nghiên cứu mối quan hệ giữa tỷ lệ vốn sở hữu của Nhà nước, cổ đông là tổ chức và lợi thế thương mại của các doanh nghiệp niêm yết trên Sở giao dịch chứng khoán TP Hồ Chí Minh.                   | 4     | 14 |
| 145                                | Phùng Mạnh Trường                                                                                                                                                                                                      | Nghiên cứu mô hình tự đánh giá hiệu quả hoạt động thông qua áp dụng Giải thưởng chất lượng quốc gia và một số đề xuất.                                                                            | 4     | 18 |
| 146                                | Võ Trần Thị Bích Châu, Lê Phan Hưng, Nguyễn Thắng Lợi, Nguyễn Nhựt Tiến, Ngô Hoàng Khải, Đỗ Ngọc Hiền                                                                                                                  | Cải tiến thời gian dây chuyền sản xuất cá tra fillet thông qua sơ đồ chuỗi giá trị: Một nghiên cứu điển hình.                                                                                     | 4     | 23 |
| 147                                | Nguyễn Thị Hồng Lâm                                                                                                                                                                                                    | Ứng dụng Big data trong xây dựng mô hình học viện, trường đại học thông minh.                                                                                                                     | 4     | 30 |
| 148                                | Đồng Thị Kiều Trang, Lương Thị Ngọc Hà                                                                                                                                                                                 | Tổng hợp phương pháp đo lường tác động xã hội của doanh nghiệp.                                                                                                                                   | 4     | 36 |
| 149                                | Hoàng Ngọc Khắc, Bùi Thị Thu Trang                                                                                                                                                                                     | Nghiên cứu ảnh hưởng của ô nhiễm không khí đến an sinh xã hội tại tỉnh Thái Nguyên.                                                                                                               | 4     | 41 |
| 150                                | Nguyễn Vĩnh Hưng                                                                                                                                                                                                       | Trường phái kinh tế học pháp luật.                                                                                                                                                                | 4     | 46 |
| 151                                | Vũ Đặng Phúc                                                                                                                                                                                                           | Hoạt động giám sát của HĐND cấp tỉnh trong cơ chế giám sát việc thực hiện quyền lực nhà nước của UBND cấp tỉnh hiện nay.                                                                          | 4     | 50 |
| 152                                | Nguyễn Thị Hồng Diệp, Phan Kiều Diễm, Phạm Thị Bích Thảo, Nguyễn Thanh Giao, Đinh Thị Cẩm Nhung, Nguyễn Kiều Diễm, Hồ Ngọc Linh, Nguyễn Minh Nghĩa                                                                     | Đánh giá lượng phát thải khí nhà kính của hộ gia đình ở thành phố Cần Thơ.                                                                                                                        | 4     | 54 |
| 153                                | Đặng Thị Đông (Thích nữ Viên Giác)                                                                                                                                                                                     | Giới thiệu sơ lược về tam Tổ Thiền phái Trúc Lâm Việt Nam.                                                                                                                                        | 4     | 60 |
| 154                                | Nguyễn Thị Hồng Nguyệt, Nguyễn Thị Bích Duyên                                                                                                                                                                          | Các nhân tố ảnh hưởng đến sự gắn kết của nhân viên kinh doanh bất động sản tại TP Hồ Chí Minh khi đại dịch Covid-19 bùng phát.                                                                    | 10    | 1  |
| 155                                | Bùi Tuấn Thành, Hoàng Linh Thủy                                                                                                                                                                                        | Nghiên cứu định lượng hoạt động sản xuất kinh doanh của doanh nghiệp nhà nước trong điều kiện áp dụng chính sách cạnh tranh trung lập.                                                            | 10    | 7  |
| 156                                | Võ Thị Lệ Uyên, Vũ Đức Ngọc Thiện, Phương Thị Ngọc Minh, Nguyễn Thị Phương Nga, Hồ Nguyễn Biên Ngọc, Thái Thị Hồng Ngọc                                                                                                | Xuất khẩu của Việt Nam giai đoạn 2012-2020: Kết hợp phương pháp phân tích nhân tố khám phá trong mô hình hồi quy cho dữ liệu bảng.                                                                | 10    | 13 |
| 157                                | Vũ Thị Như Quỳnh                                                                                                                                                                                                       | Chiến lược mua hàng trong chuỗi cung ứng của các doanh nghiệp nhỏ và vừa Việt Nam.                                                                                                                | 10    | 20 |
| 158                                | Đoàn Vĩnh Thắng, Phạm Lê Thông                                                                                                                                                                                         | Giải pháp đối với hoạt động giao hàng tại nhà: Trường hợp các nhà bán lẻ hàng tiêu dùng nhanh đa kênh tại khu vực Đồng bằng sông Cửu Long.                                                        | 10    | 25 |
| 159                                | Nguyễn Hữu Long, Nguyễn Quang Phục                                                                                                                                                                                     | Mô hình đánh giá năng lực lãnh đạo chủ doanh nghiệp trẻ tỉnh Quảng Bình.                                                                                                                          | 10    | 30 |
| 160                                | Trần Văn Nam, Trần Văn Hải, Nguyễn Quang Huy                                                                                                                                                                           | Xác định giá trị của sáng chế trong chuyển giao công nghệ tại Việt Nam: Khía cạnh pháp lý và một số khuyến nghị.                                                                                  | 10    | 36 |
| 161                                | Trần Thị Mai Phước                                                                                                                                                                                                     | Thực trạng quy định pháp luật về phân cấp quản lý kinh tế ở Việt Nam hiện nay.                                                                                                                    | 10    | 41 |
| 162                                | Lê Mạnh Hùng, Đỗ Anh Đức, Hà Diệu Linh                                                                                                                                                                                 | Phong cách lãnh đạo của đội ngũ lãnh đạo chủ chốt tại các doanh nghiệp nhà nước trong bối cảnh mới.                                                                                               | 10    | 46 |
| 163                                | Võ Minh Hải, Nguyễn Thanh Sơn                                                                                                                                                                                          | Gioakim Đặng Đức Tuấn - Tác gia tiêu biểu của văn học Hán Nôm Bình Định.                                                                                                                          | 10    | 50 |
| 164                                | Đặng Thị Đông (Thích nữ Viên Giác), Lê Quang Hoài (Thích Chân Niệm), Đinh Lê Hạnh                                                                                                                                      | Những hoạt động an sinh xã hội của hệ phái Phật giáo Liên Tông Tịnh Độ Non Bồng.                                                                                                                  | 10    | 55 |
| 165                                | Hồ Diệu Huyền                                                                                                                                                                                                          | Hợp tác trong lĩnh vực y tế giữa Việt Nam và Angola.                                                                                                                                              | 10    | 59 |

# QUY ĐỊNH VỀ BÀI BÁO ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

## Yêu cầu chung

Bài báo gửi đăng trên Tạp chí phải là bài báo nguyên thủy (chưa được công bố trước đó). Tác giả không được gửi đăng bài báo trên các tạp chí khác cho đến khi có quyết định xét duyệt của Ban Biên tập.

Bài báo dài không quá 10 trang (bao gồm cả bảng biểu, ghi chú, tài liệu tham khảo và phụ lục); font chữ: Times New Roman; cỡ chữ 13; khổ giấy A4, lề trên 2 cm, lề dưới 2 cm, lề trái 3 cm, lề phải 2 cm.

Bài báo gửi qua Hệ thống gửi bài trực tuyến tại địa chỉ [https://b.vjst.vn/index.php/ban\\_b/about/submissions](https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/about/submissions) hoặc có thể gửi trực tiếp đến Tạp chí (Phòng 507, số 113 Trần Duy Hưng, phường Trung Hòa, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam) hoặc qua hòm thư điện tử: [khoahocvacaongnghevietnam@most.gov.vn](mailto:khoahocvacaongnghevietnam@most.gov.vn).

Cấu trúc của các loại bài báo khác nhau có thể thay đổi tùy theo loại hình nghiên cứu và nội dung của bài báo. Sau đây là chi tiết các thành phần chính của bài báo.

## Tên bài báo

- Tên bài báo được viết bằng tiếng Việt và tiếng Anh, trên trang đầu của bài báo, in đậm, không gạch chân hay viết nghiêng.
- Tên bài báo phải ngắn gọn, rõ ràng và phù hợp với nội dung bài báo.
- Phía dưới tên bài báo là tên tác giả không viết chức danh và học hàm, học vị. Nếu có nhiều tác giả làm việc ở các cơ quan khác nhau thì tên tác giả được đánh số <sup>(1,2,...)</sup> ở phía trên. Dấu hoa thị (\*) chỉ tác giả liên hệ, được viết ở cuối trang đầu tiên của bài báo.
- Khi liệt kê cơ quan công tác của tác giả, cần nêu rõ tên cơ quan và địa chỉ cơ quan (số nhà, tên đường, phường, quận, thành phố, quốc gia) bằng tiếng Việt và tiếng Anh.

## Tóm tắt

Tóm tắt bằng tiếng Việt và tiếng Anh (khoảng 160-250 từ). Nêu được mục đích, phương pháp nghiên cứu chính, kết quả nghiên cứu và kết luận chủ yếu. Từ khóa bằng cả tiếng Việt và tiếng Anh theo thứ tự alphabet (ít nhất 3 từ khóa). Chỉ số phân loại (theo hướng dẫn).

## 1. Đặt vấn đề/Dẫn nhập/Mở đầu

Định nghĩa vấn đề; tóm lược vấn đề nghiên cứu đã được công bố trong và ngoài nước, nêu mục tiêu nghiên cứu và giải thích sự lựa chọn đề tài và mục tiêu nghiên cứu để thấy được tính thời sự, tính khoa học và sự cần thiết của vấn đề nghiên cứu.

## 2. Đối tượng/Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu cần trình bày tiêu chuẩn lựa chọn, đặc điểm đối tượng nghiên cứu. Phương pháp nghiên cứu cần nêu rõ cách tiếp cận nghiên cứu, loại hình nghiên cứu, phương pháp đo lường, công thức tính cỡ mẫu, phương pháp xử lý số liệu, mô tả kỹ các kỹ thuật tiến hành trong nghiên cứu; các quan điểm, lập luận, ý kiến tranh luận, các dẫn chứng...

## 3. Kết quả

Trình bày đầy đủ, khách quan các kết quả thu được sau nghiên cứu, các kết quả này phải phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu. Các số liệu phải chính xác và khớp với nhau.

Phân kết quả nghiên cứu chỉ trình bày các kết quả nghiên cứu của đề tài, không giải thích, so sánh và bàn luận.

## 4. Bàn luận (phần này có thể gộp với phần kết quả)

Chủ yếu bàn luận các vấn đề liên quan đến mục tiêu đề tài. Nhận xét, đánh giá một cách khách quan các kết quả nghiên cứu, có so sánh với các tác giả khác để khẳng định hoặc phủ định những hiểu biết đã có, qua đó nêu được những điểm mới và đóng góp của đề tài. Dự báo hướng nghiên cứu tiếp và khả năng ứng dụng các kết quả nghiên cứu vào thực tiễn.

## 5. Kết luận

Nêu kết quả nghiên cứu chủ yếu của đề tài có tính khái quát liên quan đến mục tiêu nghiên cứu, đề xuất các vấn đề tiếp tục nghiên cứu.

## LỜI CẢM ƠN (nếu có)

Tác giả cảm ơn các tổ chức/cá nhân đã tài trợ kinh phí hoặc hỗ trợ cho nghiên cứu.

## Phụ lục (nếu có)

Đăng tải bảng số liệu, thông tin để hỗ trợ thêm cho nội dung bài báo.

## Chú thích và tài liệu tham khảo

Chú thích được đánh số theo thứ tự xuất hiện <sup>(1, 2, 3,...)</sup> và được trình bày ngay ở cuối trang viết (footnote). Các tài liệu tham khảo được đánh số theo thứ tự xuất hiện để chỉ dẫn chúng được trích dẫn ở đâu trong bài báo. Số thứ tự được đánh trong ngoặc vuông, ví dụ: [3] với một hoặc [2, 5, 7-9] với nhiều số chỉ dẫn.

- Lưu ý:
- Đối với trích dẫn trong bài báo: tài liệu tham khảo có nhiều hơn một tác giả chỉ để tên tác giả đầu tiên và cộng sự, viết tắt là cs, ví dụ: T.V. Nguyen và cs (năm xuất bản) [thứ tự trong danh mục tài liệu tham khảo].
  - Đối với danh mục tài liệu tham khảo cuối bài: tài liệu tham khảo bằng tiếng Anh, các tài liệu không phải tiếng Anh cần được dịch sang tiếng Anh và chú thích ở cuối câu, ví dụ: (in Vietnamese), (in French)...
  - Tài liệu tham khảo là các đường link cần bổ sung ngày truy cập.

Tác giả (Năm xuất bản), "Tên tài liệu được trích dẫn", *Tên nguồn*, **tập(số)**, trang/số trang/trang đầu-trang cuối (nếu có), số DOI (nếu có), URL (nếu có), ngày truy cập (ghi rõ ngôn ngữ nào nếu không phải tài liệu bằng tiếng Anh).

Tác giả: là tác giả/các tác giả của tài liệu được tham khảo, trích dẫn: liệt kê đầy đủ tên tác giả (chữ viết tắt đưa lên trước) với những tài liệu tham khảo có ≤3 tác giả; liệt kê 3 tác giả đầu tiên và theo sau là "et al." khi có từ 4 tác giả trở lên.

Năm xuất bản: năm xuất bản của tài liệu được tham khảo, trích dẫn.

Tên tài liệu được trích dẫn: là tên bài báo, chương/phần sách... (chỉ viết hoa chữ cái đầu, trừ tên riêng và sau dấu hai chấm), viết trong ngoặc kép.

*Tên nguồn* có thể là tên tạp chí, tên sách, hay tên tài liệu gốc của tài liệu được trích dẫn (phần này được *in nghiêng*), viết hoa chữ cái đầu tiên của mỗi từ chính.

**Tập(số)**: dành cho nguồn trích là tạp chí, sách hoặc các xuất bản phẩm khác (phần này **in đậm**).

Trang/số trang/trang đầu-trang cuối phản ánh nơi cư trú của tài liệu được trích dẫn trong tài liệu nguồn.

Nếu có ≥2 tài liệu tham khảo do cùng tác giả đầu tiên và cùng năm công bố, thì các tài liệu tham khảo này cần được đánh dấu a, b... sau năm xuất bản (ví dụ: 1986a, 1986b...).

Nếu có một số tài liệu tham khảo có cùng 1 bài báo được trích dẫn có số trang khác nhau thì cần trích dẫn thêm số trang, ví dụ: A. Amber (1982, p.39).

Chi tiết vui lòng xem thêm tại: [https://b.vjst.vn/index.php/ban\\_b/quy-dinh-bai-viet](https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/quy-dinh-bai-viet).

## Các yêu cầu khác

- Bài viết không đạt yêu cầu, Toà soạn không trả lại bản thảo.
- Bài viết chỉ được đăng khi phản biện nhận xét về chất lượng bài báo đồng ý cho đăng.
- Bản quyền: tác giả đồng ý trao bản quyền bài viết (bao gồm cả phần tóm tắt) cho Ban Biên tập Tạp chí.

Quy định này áp dụng từ năm 2022 trở đi.

## PHÂN LOẠI LĨNH VỰC KHOA HỌC

### 1. Khoa học tự nhiên

- 1.1. Toán học và thống kê
- 1.2. Khoa học máy tính và thông tin
- 1.3. Vật lý
- 1.4. Hóa học
- 1.5. Khoa học trái đất và môi trường
- 1.6. Khoa học sự sống
- 1.7. Khoa học nano
- 1.8. Khoa học tính toán
- 1.9. Các lĩnh vực khác của khoa học tự nhiên

### 2. Khoa học kỹ thuật và công nghệ

- 2.1. Kỹ thuật dân dụng; kỹ thuật kiến trúc; kỹ thuật xây dựng; kỹ thuật kết cấu và đô thị; kỹ thuật giao thông vận tải; kỹ thuật thủy lợi; kỹ thuật địa chất công trình
- 2.2. Kỹ thuật điện, kỹ thuật điện tử, kỹ thuật thông tin
- 2.3. Kỹ thuật cơ khí, chế tạo máy
- 2.4. Kỹ thuật hóa học
- 2.5. Kỹ thuật vật liệu và luyện kim
- 2.6. Kỹ thuật y học
- 2.7. Kỹ thuật môi trường
- 2.8. Công nghệ sinh học công nghiệp
- 2.9. Công nghệ nano
- 2.10. Kỹ thuật thực phẩm và đồ uống
- 2.11. Các lĩnh vực khác của khoa học kỹ thuật và công nghệ

### 3. Khoa học y - dược

- 3.1. Y học cơ sở
- 3.2. Y học lâm sàng
- 3.3. Y học dự phòng
- 3.4. Dược học
- 3.5. Các lĩnh vực khác của khoa học y - dược

### 4. Khoa học nông nghiệp

- 4.1. Trồng trọt
- 4.2. Chăn nuôi
- 4.3. Thú y
- 4.4. Lâm nghiệp
- 4.5. Thủy sản
- 4.6. Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, thủy sản
- 4.7. Các lĩnh vực khác của khoa học nông nghiệp

### 5. Khoa học xã hội và nhân văn

- 5.1. Tâm lý học
- 5.2. Kinh tế và kinh doanh
- 5.3. Khoa học giáo dục
- 5.4. Xã hội học
- 5.5. Pháp luật
- 5.6. Khoa học chính trị
- 5.7. Địa lý kinh tế và xã hội
- 5.8. Thông tin đại chúng và truyền thông
- 5.9. Lịch sử và khảo cổ học
- 5.10. Ngôn ngữ học và văn học
- 5.11. Triết học, đạo đức và tôn giáo
- 5.12. Nghiên cứu về khu vực và quốc tế
- 5.13. Các lĩnh vực khác của khoa học xã hội và nhân văn

# TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

## Vietnam Journal of Science and Technology - MOST

Volume 64 - Number 12 - December 2022

**Ứng dụng kỹ thuật Multiplex ligation-dependent probe amplification xác định người lành mang đột biến gen  $\alpha$ -thalassemia.**

Nguyễn Minh Ngọc, Lê Thị Phương, Trần Huy Thịnh, Trần Văn Khánh

**Khảo sát đột biến một số gen liên quan đến ung thư phổi không tế bào nhỏ bằng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới.**

Trần Thị Huyền Trang, Trịnh Lê Huy, Đào Ngọc Bắc, Lương Thị Lan Anh, Đoàn Thị Kim Phượng, Nguyễn Thị Trang, Đào Thị Trang, Nguyễn Thị Duyên, Vũ Thị Hà

**Mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* trong máu bệnh nhân động kinh điều trị bằng thuốc Carbamazepine.**

Nguyễn Thị Hồng Loan, Lê Thanh Tâm, Lê Phương Thuý, Lê Thị Hồng Nhung, Chu Văn Sơn, Nguyễn Văn Liệu, Nguyễn Đoàn Thủy, Nguyễn Thị Vân Anh, Nguyễn Đình Thắng

**Mô tả cơ cấu bệnh, kết quả điều trị và một số yếu tố liên quan của người bệnh tại Khoa Nội thần kinh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 trong giai đoạn 2017-2021.**

Lê Thị Quế, Nguyễn Thanh Tùng, Đào Thị Thúy Ngọc, Nguyễn Bích Phượng, Phan Khánh Ly, Nguyễn Thị Kim Ngọc

**Hiệu quả của một số biện pháp can thiệp chế độ ăn và lối sống đến hội chứng chuyển hóa ở người 25-64 tuổi tại tỉnh Thái Bình.**

Phạm Thị Vân Anh, Lê Đức Cường, Ninh Thị Nhung

**Nghiên cứu giá trị của xét nghiệm nhanh kháng nguyên Espline® SARS-CoV-2 trong chẩn đoán mắc COVID-19.**

Trần Mai Linh, Nguyễn Thị Ngọc Bích, Nguyễn Đức Tuấn, Nguyễn Thị Ngọc Lan

**Nghiên cứu chọn chủng ứng cử vắc-xin phòng bệnh tay, chân, miệng do virus EV71.**

Nguyễn Thị Yến Nhi, Võ Trần Ngọc Trinh, Phạm Lê Quốc Hưng, Nguyễn Thị Hạnh Lan, Hoàng Ngọc Khánh Quỳnh, Lê Thị Liên, Lê Hà Tâm Dương, Cao Thị Bảo Vân

**Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết từ lá loài Dương đồng bắc (*Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels).**

Nguyễn Hữu Quân, Nguyễn Thị Ngọc Lan, Nguyễn Thị Thu Nga, Sỹ Danh Thường, Chu Hoàng Mậu

**Đánh giá khả năng ức chế các đích phân tử virus SARS-CoV-2 của các hợp chất trong cây Xuyên tâm liên bằng phương pháp docking phân tử.**

Tạ Thị Thu Hằng, Nguyễn Bảo Kim, Nguyễn Hồng Nhung, Vũ Khánh Linh, Đỗ Thị Hồng Khánh, Phan Văn Ngọc, Nguyễn Thanh Hải, Bùi Thanh Tùng

**Nghiên cứu ứng dụng ánh sáng LED trong sản xuất cây giống một số loại hoa cúc tại Hà Nội.**

Đỗ Thị Gấm, Hoàng Thị Huyền, Đỗ Tiến Phát, Phạm Bích Ngọc, Nguyễn Văn Thao, Phan Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Thu, Hoàng Thị Thu Linh, Đinh Thị Thảo, Nguyễn Thị Hồng Hà, Nguyễn Thị Thu Hiền, Chu Hoàng Hà, Phan Hồng Khôi

**Ảnh hưởng của phương pháp thủy tinh hóa và giai đoạn phát triển của phôi đến hiệu quả bảo quản lạnh phôi bò sản xuất *in vitro* tại Việt Nam.**

Nguyễn Khánh Vân, Vũ Thị Thu Hương, Phạm Thị Kim Yến, Hoàng Thị Âu, Phạm Doãn Lân, Lưu Quang Minh

**Xác định các tham số sinh học của 4 loài cá biển (Chêm, Giò, Song chấm nâu và Chim vây vàng) phục vụ đánh giá sức tải môi trường vùng nuôi.**

Trần Thế Mưu, Phan Minh Quý, Nguyễn Đức Tuấn, Phạm Văn Thìn, Trần Thị Mai Hương

**Xác định hàm lượng protein và lipid thô tổng số ở một số giống đậu tương.**

Vi Thị Hằng, Ma Văn Duy, Đào Minh Lệ, Lê Văn Hiền, Nguyễn Đức Huy, Trương Thanh Tùng, Trần Văn Tiến, Trần Văn Định, Nguyễn Tiến Dũng

**1 Applying Multiplex ligation-dependent probe amplification technique to identify  $\alpha$ -thalassemia carriers.**

Minh Ngọc Nguyen, Thi Phuong Le, Huy Thinh Tran, Van Khanh Tran

**5 Detection of gene mutation related to non-small cell lung cancer using next-generation sequencing.**

Thi Huyen Trang Tran, Le Huy Trinh, Ngoc Bac Dao, Thi Lan Anh Luong, Thi Kim Phuong Doan, Thi Trang Nguyen, Thi Trang Dao, Thi Duyen Nguyen, Thi Ha Vu

**10 *CYP2D6* expression in the whole blood of epileptic patients in treatment with Carbamazepine.**

Thi Hong Loan Nguyen, Thanh Tam Le, Phuong Thuy Le, Thi Hong Nhung Le, Van Son Chu, Van Lieu Nguyen, Doan Thuy Nguyen, Thi Van Anh Nguyen, Dinh Thang Nguyen

**15 Description of the disease patterns, treatment results and some related factors of patients at the Department of Neurology, Military Central Hospital 108 from 2017 to 2021.**

Thi Que Le, Thanh Tung Nguyen, Thi Thuy Ngoc Dao, Bich Phuong Nguyen, Khanh Ly Phan, Thi Kim Ngoc Nguyen

**19 Effectiveness of some dietary and lifestyle interventions for metabolic syndrome in people aged 25-64 years old in Thai Binh province.**

Thi Van Anh Pham, Duc Cuong Le, Thi Nhung Ninh

**24 Evaluation of the clinical utility of novel coronavirus antigen detection reagent Espline® SARS-CoV-2 in COVID-19 diagnosis.**

Mai Linh Tran, Thi Ngoc Bích Nguyen, Duc Tuan Nguyen, Thi Ngoc Lan Nguyen

**29 Selection of candidate strains for hand, foot and mouth disease vaccine against enterovirus 71.**

Thi Yen Nhi Nguyen, Tran Ngoc Trinh Vo, Le Quoc Hung Pham, Thi Hanh Lan Nguyen, Ngoc Khanh Quynh Hoang, Thi Lien Le, Ha Tam Duong Le, Thi Bao Van Cao

**34 Chemical composition and biological activity of leaf extracts of *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels.**

Huu Quan Nguyen, Thi Ngoc Lan Nguyen, Thi Thu Nga Nguyen, Danh Thuong Sy, Hoang Mau Chu

**39 Evaluating inhibitory activity of bioactive compounds from *Andrographis paniculata* against the molecular targets of the SARS-CoV-2 virus by using the molecular docking method.**

Thi Thu Hang Ta, Bao Kim Nguyen, Hong Nhung Nguyen, Khanh Linh Vu, Thi Hong Khanh Do, Van Ngoc Phan, Thanh Hai Nguyen, Thanh Tung Bui

**48 Study on the application of LED lighting in seedling production of some chrysanthemum varieties in Hanoi.**

Thi Gam Do, Thi Huyen Hoang, Tien Phat Do, Bich Ngoc Pham, Van Thao Nguyen, Thi Lan Anh Phan, Thi Thu Nguyen, Thi Thu Linh Hoang, Thi Thao Dinh, Thi Hong Ha Nguyen, Thi Thu Hien Nguyen, Hoang Ha Chu, Hong Khoi Phan

**54 Influence of the method of vitrification and developmental stages of embryos on cryopreservation efficiency of *in vitro* bovine embryos produced in Vietnam**

Khanh Van Nguyen, Thi Thu Huong Vu, Thi Kim Yen Pham, Thi Au Hoang, Doan Lan Pham, Quang Minh Luu

**60 Determination of biological parameters of 4 marine fish species (sea bass, cobia, orange-spotted grouper, and short yellowfin pompano) for assessment of the holding capacity of a location.**

The Mui Tran, Minh Quy Phan, Duc Tuan Nguyen, Van Thien Pham, Thi Mai Huong Tran

**65 Determination of total protein and lipid contents in some soybean varieties.**

Thi Hang Vi, Van Duy Ma, Minh Le Dao, Van Hien La, Duc Huy Nguyen, Thanh Tung Truong, Van Tien Tran, Van Dinh Tran, Tien Dung Nguyen