

TẠP CHÍ



Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ

Journal of Military Pharmaco-medicine

ISSN 1859-0748

Vol 49, N^o3 - 2024

HỌC VIỆN QUÂN Y

MILITARY MEDICAL UNIVERSITY



TẠP CHÍ

Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ

HỌC VIỆN QUÂN Y XUẤT BẢN

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP: PGS.TS. Nguyễn Xuân Kiên

PHÓ CHỦ TỊCH HDBT: PGS.TS. Nghiêm Đức Thuận

TỔNG BIÊN TẬP: GS.TS. Trần Viết Tiến

ỦY VIÊN:

PGS.TS. Trần Ngọc Tuấn

PGS.TS. Nguyễn Văn Nam

GS.TS. Mai Hồng Bằng

GS.TS. Tạ Thành Văn

GS.TS. Trần Diệp Tuấn

GS.TS. Nguyễn Duy Ánh

GS.TS. Hoàng Văn Minh

GS.TSKH. Nguyễn Thế Hoàng

GS.TS. Lê Năm

GS.TS. Nguyễn Lĩnh Toàn

PGS.TS. Lê Hữu Song

PGS.TS. Phạm Xuân Phong

PGS.TS. Lương Công Thức

PGS.TS. Tạ Bá Thắng

PGS.TS. Trịnh Nam Trung

TS. Trần Quốc Việt

GS.TS. Phạm Gia Khánh

GS.TS. Nguyễn Tiến Bình

GS.TS. Lê Ngọc Thành

GS.TS. Phạm Như Hiệp

GS.TS. Nguyễn Trường Giang

GS.TS. Lê Văn Quảng

GS.TS. Nguyễn Hải Nam

GS.TS. Lâm Khánh

GS.TS. Nguyễn Như Lâm

GS.TS. Nguyễn Duy Bắc

PGS.TS. Đào Xuân Cơ

PGS.TS. Lê Văn Đông

PGS.TS. Vũ Nhất Định

PGS.TS. Trịnh Thế Sơn

TS. Chu Tiến Cường

GS.TS. Nguyễn Văn Ba

THƯ KÝ TÒA SOẠN: TS. Nguyễn Thị Hoài

TRỤ SỞ BAN BIÊN TẬP

Tạp chí Y Dược học Quân sự - Học viện Quân y, 160 Phùng Hưng, Hà Đông, Hà Nội

Điện thoại: 069. 566. 520

Email: tcydhqs@vmmu.edu.vn

Giấy phép xuất bản số 594/GP-BTTTT do Bộ Thông tin và Truyền thông

cấp ngày 16 - 12 - 2022

In tại Xưởng in Học viện Quân y

TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ SỐ 3 - 2024

MỤC LỤC

	Trang
1 Biến chứng thần kinh cơ ở người bệnh sốt xuất huyết Dengue <i>Đồng Thị Thu Trang, Nhữ Đình Sơn</i> <i>Nguyễn Đức Thuận, Trần Thị Ngọc Trường</i> Neuromuscular complications in patients with Dengue hemorrhagic fever	7
2 Ảnh hưởng của tá dược đến bào chế bột cao khô Dạ dày HD bằng phương pháp phun sấy <i>Nguyễn Trọng Điệp, Nghiêm Thị Thanh Hường</i> <i>Nguyễn Tuấn Anh, Đỗ Nguyên An, Trần Thị Phương Thảo</i> Effects of excipients on the preparation of "Da day HD" dry extract powder by spray drying	17
3 Mô hình Pharmacophore các chất chủ vận và docking trên thụ thể dopamin D2 <i>Bùi Quốc Dũng</i> A Pharmacophore model based on agonists and molecular docking on dopamine D2 receptor	27
4 Đánh giá một số đặc điểm phát âm ở chuột nhắt được sinh ra từ chuột mẹ có phơi nhiễm với acid valproic <i>Đinh Trọng Hà, Tống Minh Phát, Nguyễn Lê Chiến</i> Evaluation of some characteristics of vocalization in pups born to mouse dam exposed to valproic acid	42
5 Ứng dụng kháng nguyên NS1 tái tổ hợp gộp bốn týp virus Dengue để phát hiện kháng thể IgM/IgG trong máu bệnh nhân mắc sốt xuất huyết Dengue <i>Hoàng Xuân Cường, Đỗ Như Bình, Vũ Tùng Sơn</i> <i>Nguyễn Thái Quỳnh Anh, Vũ Minh Thương, Võ Thị Bích Thủy</i> Application of recombinant NS1 antigen from the combination of four types of Dengue virus to detect IgM/IgG antibodies in blood samples of patients with Dengue hemorrhagic fever	53

		Trang
6	Nghiên cứu gắn định hướng kháng thể lên hạt nano vàng sản xuất que thử sắc ký miễn dịch phát hiện nhanh Aflatoxin M1 <i>Nguyễn Đức Điển, Nguyễn Văn Chuyên</i> <i>Nguyễn Minh Phương, Nguyễn Văn Ba</i> <i>Nguyễn Thị Thu Trang, Lê Tuấn Anh, Hoàng Thị Trường</i> <i>Vũ Thị Hoa, Nguyễn Trọng Đạt, Nguyễn Hoàng Trung</i> Research on oriented immobilization of antibody on gold nanoparticles to produce lateral flow immunoassay for the detection of Aflatoxin M1	63
7	Phân lập và nghiên cứu hoạt tính kháng <i>Staphylococcus aureus</i> kháng methicillin của các chủng xạ khuẩn phân lập từ tỉnh Gia Lai, Việt Nam <i>Huỳnh Đông Á, Trịnh Thái An, Phạm Nguyễn Gia Huy</i> <i>Trần Thị Như, Lê Trương Thắng, Nguyễn Hoàng Chương</i> Isolation of streptomyces strains from Gia Lai province of Vietnam and study on their antimicrobial activity against methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	76
8	Đánh giá khả năng gây chết tế bào ung thư phổi của virus vaccine sởi phối hợp Cisplatin <i>in vitro</i> <i>Ngô Thu Hằng, Đặng Thùy Linh</i> <i>Nguyễn Văn Tân, Cấn Văn Mão</i> Evaluation of the ability to cause lung cancer cell death of measles virus vaccine in combination with cisplatin <i>in vitro</i>	87
9	Ảnh hưởng của chế độ ăn giàu chất béo lên học tập và trí nhớ của chuột cống <i>Nguyễn Thị Hoa, Đinh Trọng Hà</i> <i>Nguyễn Lê Chiến, Cấn Văn Mão</i> Effects of high-fat diet consumption on learning ability and memory of rat	96

		Trang
10	Tổng kết cơ cấu thương binh trong kháng chiến bảo vệ miền Bắc Việt Nam (1964 - 1972) <i>Đào Trung Hải, Nguyễn Đức Kiên, Phùng Văn Hành</i> Summary of the structure of wounded soldiers during the resistance war for national salvation in the North of Vietnam (1964 - 1972)	103
11	Thực trạng một số yếu tố của môi trường lao động tại các trạm thu phí đường bộ cao tốc Pháp Vân - Cầu Giẽ <i>Tổng Đức Minh, Nguyễn Hoàng Trung, Nguyễn Đức Điển Trần Văn Kha, Từ Quang, Lê Tuấn Anh</i> Current status of some factors of the working environment at toll stations on the Phap Van - Cau Gie expressway	113
12	Phát hiện một số gen kháng kháng sinh của vi khuẩn Gram âm đa kháng phân lập từ người bệnh nhiễm trùng ổ bụng tại Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức năm 2023 <i>Hà Văn Quân, Nguyễn Thị Vân, Trần Hải Yến Văn Đình Tráng, Lưu Quốc Toàn, Dương Hồng Quân</i> Detection of some antibiotic resistance genes of multidrug-resistance Gram-negative bacteria isolated from patients with intra-abdominal infections at Viet Duc University Hospital in 2023	124
13	Căn nguyên và tình trạng kháng kháng sinh một số vi khuẩn gây bệnh thường gặp tại Trung tâm Hồi sức cấp cứu - Chống độc, Bệnh viện Quân y 103 <i>Nguyễn Minh Hải, Lê Văn Nam</i> Etiology and antimicrobial resistance of some common pathogenic bacteria in the Intensive Care, Emergency and Poison Control Center, Military Hospital 103	135

	Trang
14 Đánh giá khẩu phần ăn và mối liên quan với chỉ số BMI của bệnh nhân thận nhân tạo chu kỳ tại Bệnh viện quân y 103 <i>Phạm Đức Minh, Vũ Thị Xuân Anh</i> <i>Nguyễn Thị Bốn, Bùi Đỗ Quỳnh Hương, Nguyễn Thị Thuý An</i> Assessment of dietary and the association with BMI of patients with end-stage renal disease on maintenance hemodialysis at Military Hospital 103	146
15 Nguy cơ đái tháo đường týp 2 theo thang điểm ADA ở đối tượng rối loạn lipid máu <i>Lê Đình Tuân, Vũ Đức Chiến, Nguyễn Tiến Sơn</i> <i>Nguyễn Huy Thông, Lương Công Thúc</i> <i>Nguyễn Duy Toàn, Dương Huy Hoàng</i> The risk of type 2 diabetes according to the ADA risk score in subjects with dyslipidemia	158
16 Báo cáo ca lâm sàng: Tổn thương tủy sống bán cấp và thần kinh ngoại vi do lạm dụng khí cười <i>Nguyễn Văn Đức, Trần Thị Ngọc Trường</i> <i>Nhữ Đình Sơn, Nguyễn Đức Thuận</i> A clinical case report: Subacute injury of spinal cord and peripheral nerve due to laughing gas abuse	168
17 Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân nhồi máu cơ tim cấp có ST chênh lên nhập viện muộn <i>Nguyễn Duy Toàn, Nguyễn Hồng Nguyên, Lương Công Thúc</i> Study on clinical, paraclinical characteristics in patients with late ST-elevation acute myocardial infarction	177
18 Báo cáo ca lâm sàng: Phù phổi áp lực âm ở bệnh nhân chấn thương sọ não <i>Nguyễn Thanh Nga, Nguyễn Chí Tuệ, Nguyễn Quang Huy</i> <i>Phạm Văn Công, Lê Đăng Mạnh, Phùng Việt Chiến, Hồ Sỹ Đông</i> <i>Trần Văn Tùng, Nguyễn Đắc Khôi, Nguyễn Thị Thu Hà</i> <i>Đặng Thị Ngọc Quỳnh, Nguyễn Trung Kiên</i> A clinical case report: Negative pressure pulmonary edema in traumatic brain injury patient	187

	Trang
19 Đánh giá kết quả phẫu thuật nội soi sau phúc mạc cắt chỏm nang thận tại Bệnh viện Đại học Y Thái Bình giai đoạn 2019 - 2023 <i>Nguyễn Minh An, Phan Hoài Nam</i> Results of retroperitoneal laparoscopic cyst decortication for simple renal cyst patients at Thai Binh Medical University Hospital period 2019 - 2023	194
20 Báo cáo ca lâm sàng: Gây mê cho phẫu thuật cắt ruột thừa nội soi ở bệnh nhân có hội chứng Wolff-Parkinson-White <i>Nguyễn Ngọc Thạch, Đào Văn Sơn, Nguyễn Văn Quỳnh</i> A clinical case report: General anesthesia for laparoscopic appendectomy in a patient with Wolff-Parkinson-White syndrome	204

**BIẾN CHỨNG THẦN KINH CƠ
Ở NGƯỜI BỆNH SỐT XUẤT HUYẾT DENGUE**

*Đồng Thị Thu Trang¹, Nhữ Đình Sơn²
Nguyễn Đức Thuận², Trần Thị Ngọc Trường^{2*}*

Tóm tắt

Sốt xuất huyết Dengue (SXHD) là bệnh truyền nhiễm cấp tính do virus Dengue (DENV) gây ra, lây truyền qua muỗi đốt. Các nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng, bệnh cảnh lâm sàng của SXHD luôn có sự thay đổi. Các triệu chứng thần kinh (TK) ở người bệnh (NB) SXHD được quan sát thấy ngày càng tăng lên và có thể là một thử thách trong thực hành lâm sàng. Bệnh sinh của các triệu chứng TK có thể gồm tính hướng TK của DENV, các tác động hệ thống của nhiễm DENV và qua trung gian miễn dịch. Mặc dù tỷ lệ mắc chính xác các biến chứng TK do SXHD chưa rõ ràng và chắc chắn nhưng các biến chứng này được báo cáo và mô tả đa dạng từ các bệnh lý TK trung ương, TK ngoại vi, các triệu chứng tại mắt, cũng như các bệnh lý TK cơ. Bài tổng quan này mô tả các cơ chế bệnh sinh tiềm năng và các triệu chứng lâm sàng TK có thể gặp ở NB SXHD. Nhận thức được các triệu chứng TK có thể tạo điều kiện thuận lợi trong chẩn đoán, điều trị và nâng cao hiệu quả điều trị ở NB SXHD.

Từ khóa: Virus Dengue; Sốt xuất huyết Dengue; Biến chứng thần kinh cơ của sốt xuất huyết Dengue.

**NEUROMUSCULAR COMPLICATIONS IN PATIENTS
WITH DENGUE HEMORRHAGIC FEVER**

Abstract

Dengue hemorrhagic fever (DHF) is an acute infectious disease caused by the Dengue virus (DENV), transmitted through mosquito bites. Recent observations indicated that the clinical profile of DHF was changing. Neurological manifestations related

¹Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

²Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Trần Thị Ngọc Trường (drngoctruong103@gmail.com)

Ngày nhận bài: 09/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 25/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.672>

to DHF have been increasingly observed and appear as a challenge for medical practice. The pathogenesis of neurological manifestations was multiple and included the neurotrophic effect of the DENV, the systemic effects of Dengue infection, and immune-mediated. Although the exact incidence of various neurological complications was uncertain, a variety of neurological complications of DHF has been described as a result of the involvement of the central nervous system, peripheral nervous system, ophthalmic complications, as well as neuromuscular diseases. This topic described potential pathogenetic mechanisms and neurological manifestations of DHF. Awareness of neurological symptoms may facilitate its diagnosis and management and improve outcomes in patients with DHF.

Keywords: Dengue virus; Dengue hemorrhagic fever; Neuromuscular complication of Dengue hemorrhagic fever.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt xuất huyết Dengue là bệnh lý nhiễm virus qua đường muỗi truyền cho người thường gặp nhất, có 4 týp huyết thanh của DENV có liên quan chặt chẽ nhưng khác nhau về mặt kháng nguyên, từ DENV1 - DENV4. Bệnh truyền qua muỗi thuộc chi Aedes với các biểu hiện lâm sàng từ không có triệu chứng đến SXH nặng. Năm 2009, Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) đã ban hành hướng dẫn chẩn đoán SXHD và cách phân loại mới, gồm bệnh lý của hệ TK trung ương được bổ sung vào định nghĩa về bệnh nặng [1]. Sự thay đổi phổ các triệu chứng lâm sàng gần đây đã được công nhận với các bệnh lý TK được báo cáo thường xuyên hơn. Bệnh não và viêm não là biến chứng TK thường gặp nhất của bệnh SXHD

với tỷ lệ mắc bệnh được ước tính từ 0,5 - 6,2%. Các biểu hiện TK của SXHD tương đối đa dạng, từ các biểu hiện TK trung ương đến ngoại vi, với nhiều báo cáo đã được công bố trên khắp thế giới. NB có triệu chứng ghi nhận ở nhiều độ tuổi, từ trẻ nhỏ (3 tháng tuổi) đến người lớn tuổi (79 tuổi). Hơn nữa, các biến chứng TK thậm chí có thể xảy ra ở NB có ít hoặc không có triệu chứng lâm sàng của SXHD trước đó nên có thể bị bỏ sót. Ở hầu hết các ca bệnh, các biến chứng TK xuất hiện giữa ngày thứ 2 và ngày thứ 30 sau khi khởi phát sốt. Sốt cao, tăng hematocrit, giảm tiểu cầu, xuất huyết dưới da và tổn thương gan là yếu tố nguy cơ độc lập đối với biến chứng TK do SXHD [2, 3]. Tại Việt Nam, đến nay chưa có nghiên cứu tổng quan nào về các biến chứng TK ở NB SXHD.

Vì vậy, bài tổng quan này nhằm: *Phân tích các cơ chế bệnh sinh tiềm năng và tổng hợp các triệu chứng TK có thể gặp ở NB SXHD.*

CƠ CHẾ BỆNH SINH TRIỆU CHỨNG THẦN KINH

Cơ chế bệnh sinh các triệu chứng TK của SXHD vẫn còn chưa được hiểu rõ. Yếu tố virus và vật chủ đều có thể đóng vai trò quan trọng trong sự hình thành các bệnh lý TK do SXHD. Ba cơ chế có thể hoạt động: Virus tấn công trực tiếp vào hệ TK; phản ứng tự miễn dịch và rối loạn chuyển hóa; cơ chế trao đổi chất.

Mặc dù trước đây, DENV được xem là không hướng TK, nhưng các triệu chứng TK, phát hiện các hạt virus Dengue trong dịch não tủy và tổn thương hàng rào máu não, xuất hiện kháng nguyên của DENV trong mô não của NB tử vong vì SXHD đã gợi ý đến tính hướng TK trực tiếp của virus. Các nghiên cứu gần đây đã đề xuất vai trò của viêm TK trong SXHD [4]. Kháng nguyên phi cấu trúc 1 (NS1Ag) là một glycoprotein được tiết ra có chức năng như một đồng tác nhân của sự nhân rộng ARN virus và kích hoạt giải phóng các cytokine. Các tế bào giết tự nhiên có liên quan tích cực đến bệnh sinh của các triệu chứng TK với bằng chứng là sự hoạt hóa sớm, sau đó, các tế bào này hoạt hóa tế bào T trợ

giúp (Th). Các tế bào Th này phân chia và chuyển dạng thành Th17 và Th9, thúc đẩy sự phóng thích thêm các cytokine tiền viêm như interferon-gamma, IL-12, IL-4 và chuyển dạng thành yếu tố phát triển - beta. Các cytokine này làm tổn thương thêm hàng rào máu não, sau đó thúc đẩy sự xâm nhập của các yếu tố trung gian miễn dịch vào trong não dẫn đến viêm hệ TK [3].

BIẾN CHỨNG THẦN KINH

Trước đây, các biến chứng TK của SXHD được phân chia thành 3 nhóm dựa vào bệnh sinh: Các bệnh lý gây ra bởi rối loạn chuyển hóa như bệnh não; các bệnh lý gây ra bởi sự xâm nhập của virus, gồm viêm não, viêm màng não, viêm cơ và viêm tủy; các bệnh lý gây ra bởi đáp ứng miễn dịch gồm ADEM, viêm thị TK, viêm tủy và GBS. Gần đây, Solbrig và Perng báo cáo 3 loại bệnh lý liên quan đến tổn thương TK: Các bệnh lý TK trung ương và mắt, các bệnh lý TK ngoại vi và các bệnh lý xuất hiện ở giai đoạn lui bệnh (còn gọi là các hội chứng qua trung gian miễn dịch sau SXHD) [5].

1. Các bệnh lý thần kinh trung ương và mắt

* *Bệnh não Dengue (Dengue encephalopathy):*

Bệnh não Dengue là biểu hiện TK thường gặp nhất của SXHD và hội

chứng sốc do Dengue với sinh lý bệnh đa yếu tố gồm phù não, xuất huyết não, hạ natri máu, suy gan, suy thận, thiếu oxy não và nhiễm độc. Nghiên cứu giải phẫu bệnh ở các ca tử vong cho thấy các tổn thương không đặc hiệu, phù não, co mạch, xuất huyết cục bộ. Triệu chứng lâm sàng gồm giảm cảm giác, rối loạn ý thức, co giật, rối loạn nhân cách, hành vi như hưng cảm, trầm cảm, cảm xúc không ổn định, lo âu, loạn thần, sợ không gian rộng. Điện não có thể ghi nhận được hiện tượng “bùng nổ dập tắt”, các hoạt động điện động kinh, các hình thái sóng chậm cục bộ hoặc động kinh cục bộ liên tục [3]. Xét nghiệm dịch não tủy thấy bình thường ở những NB này. Chẩn đoán hình ảnh TK có thể bình thường hoặc có các tổn thương như phù não, các tổn thương phù nề cục bộ rải rác, tăng tương phản rìa ở tiểu não, thân não, đồi thị hai bên..., xuất huyết và phù não lan tỏa [6]. Kết quả điều trị NB bị bệnh não do SXHD khác nhau, tùy thuộc vào mức độ nặng của bệnh cũng như mức độ tích cực trong điều trị. Nếu không điều trị hỗ trợ, tỷ lệ tử vong có thể khá cao (lên đến 50%).

** Viêm não Dengue (Dengue encephalitis):*

Triệu chứng lâm sàng gồm suy giảm nhận thức, đau đầu, sốt, buồn nôn và nôn, co giật, các triệu chứng tổn thương

TK khu trú và rối loạn hành vi. Các triệu chứng thường gặp của SXHD như ban ngoài da, đau cơ và chảy máu nói chung không ghi nhận ở trên 50% NB viêm não do SXHD. Phân biệt với bệnh não Dengue chủ yếu nhờ xác định được sự có mặt của virus trong dịch não tủy với xét nghiệm kháng nguyên NS1, kháng thể phản ứng IgM hoặc PCR dịch não tủy và sự biến đổi xét nghiệm dịch não tủy với biểu hiện tăng tế bào bạch cầu và tăng nhẹ protein [2]. Hình ảnh MRI sọ não thường thấy bất thường với tăng tín hiệu trên T2 ở chất xám vỏ não, chất trắng dưới vỏ, hạch nền, đồi thị và thường kèm theo phù não và các ổ vi xuất huyết, thể hiện bằng các ổ khuếch tán hạn chế trong tổn thương [6]. Hiện tại, chưa có hướng dẫn điều trị thống nhất, tuy nhiên, ý kiến của các chuyên gia là chống phù não, cân nhắc sử dụng corticosteroid, điều hòa miễn dịch, dùng gammaglobulin tĩnh mạch.

** Đột quy liên quan SXHD:*

Đột quy liên quan đến SXHD có thể do thiếu máu hoặc xuất huyết, tuy nhiên xuất huyết thường gặp hơn. Đột quy do thiếu máu có thể là nhồi máu giao thủy, vành tia, vỏ não và lỗ khuyết. Đột quy do chảy máu có thể là xuất huyết hạch nền, thùy não (đơn hoặc đa ổ), tiểu não (có thể hai bên),

cầu não; máu tụ dưới màng cứng (cấp tính một bên hoặc hai bên), đột quỵ liên quan tới tuyến yên (xuất huyết) và xuất huyết dưới nhện (nhìn chung không có dị dạng mạch). Lâm sàng thường là sốt, đau đầu từ mức trung bình đến nặng, nôn, liệt nửa người đột ngột và suy giảm nhận thức. NB có thể không có xuất huyết ở các vị trí khác ngoài xuất huyết nội sọ. Chảy máu có thể do tăng tính thấm thành mạch, rò huyết tương và viêm mạch máu. Hầu hết NB xuất huyết nội sọ 1 tuần sau khi khởi phát sốt. Số lượng tiểu cầu không phải luôn luôn tương quan với sự xuất hiện của xuất huyết nội sọ, khả năng cao là sự tương tác qua lại của nhiều yếu tố như bệnh lý mạch máu, bệnh lý đông máu và rối loạn chức năng tiểu cầu. Sự có mặt của các dấu ấn tự miễn trong dịch não tủy gợi ý phá vỡ hàng rào máu não và hàng rào máu - dịch não tủy ở những NB SXHD nặng. Kháng nguyên NS1 có thể cũng hoạt hóa sự chuyển đổi plasminogen thành plasmin, do đó, gây ra tiêu sợi huyết. Không có hướng dẫn dựa trên bằng chứng trong điều trị xuất huyết nội sọ do Dengue [7].

** Hội chứng bệnh não sau có hồi phục (Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome: PRES):*

PRES ít khi gặp trong SXHD nhưng vẫn có thể xảy ra. Triệu chứng lâm

sàng hay gặp là co giật. Mất thị lực hai bán cầu có thể được phát hiện ở NB còn khả năng nhận thức hoặc phụ thuộc vào mức độ hồi phục nhận thức trong giai đoạn hồi phục. Tổn thương có thể phát hiện được trên hình ảnh chụp cộng hưởng từ (MRI), đặc biệt là trên chuỗi xung T2 và FLAIR với hình ảnh đặc trưng tăng tín hiệu chất trắng đối xứng hai bên ở khu vực tưới máu phía sau, tương xứng với triệu chứng TK khởi phát cấp tính trên lâm sàng. Bệnh lý này ở NB SXHD có nguồn gốc nhiễm độc nhiều hơn là do mạch máu. Tổn thương tế bào nội mô đóng vai trò chính trong bệnh sinh và điều này có thể giải thích cho khả năng hồi phục của NB khi kiểm soát được tình trạng nhiễm virus. Ngoài ra, sự hoạt hóa tiểu cầu, bài tiết yếu tố hoạt hóa tiểu cầu và giải phóng NO là các cơ chế bệnh sinh có liên quan khác [8].

** Biểu hiện lâm sàng tại mắt:*

Các triệu chứng tại mắt ở NB SXHD ngày càng được công nhận nhiều hơn và nghiên cứu kỹ hơn nhờ có sẵn kỹ thuật chụp cắt lớp quang học (OCT) và chụp ảnh hồng ngoại đáy mắt. Các triệu chứng liên quan đến mắt được mô tả đến nay gồm bệnh lý hoàng điểm, nhìn mờ, ám điểm, vẩn đục dịch kính, xuất huyết dưới kết mạc, viêm màng bồ đào, viêm dịch kính, xuất huyết võng mạc, giãn tĩnh

mạch võng mạc, xơ cứng mạch máu võng mạc, thoái hóa lớp biểu mô sắc tố võng mạc, bệnh TK võng mạc cấp tính, phù nề điểm vàng, xuất tiết bông, đốm Roth, bong võng mạc, viêm màng mạch võng mạc, viêm TK võng mạc, tràn dịch màng mạch võng mạc, tân tạo mạch máu màng mạch võng mạc, viêm TK và phù nề đĩa thị, liệt dây TK vận nhãn và viêm toàn nhãn cầu [9]. Nói chung, các triệu chứng liên quan lâm sàng được ghi nhận gồm mất thị lực, đau mắt, đỏ mắt, chứng loạn hình thể, rối loạn nhìn màu, nhìn đôi, mất nhìn thấy ruồi bay, chói mắt và sợ ánh sáng. Các tổn thương khu trú tại võng mạc ngoại vi có thể không có triệu chứng, gây khó khăn trong chẩn đoán. Do đó, các triệu chứng mắt trong SXHD thường bị bỏ qua. Hầu hết các tình trạng bệnh lý mắt liên quan đến SXHD đều tự khỏi. Dùng steroid có thể hữu ích khi nghi ngờ có cơ chế tự miễn, nhưng nên tránh dùng trong giai đoạn nhiễm virus cấp tính.

2. Các hội chứng thần kinh qua trung gian miễn dịch

Nhiều hội chứng TK qua trung gian miễn dịch khác nhau được mô tả có liên quan với SXHD bao gồm bệnh đơn dây TK, hội chứng Guillain - Barré (GBS), viêm đám rối TK cánh tay, viêm tủy ngang, viêm não tủy

rải rác cấp tính (acute disseminated encephalomyelitis - ADEM), viêm tiểu não cấp tính, hội chứng rung giật nhãn cầu - giật cơ và hội chứng Parkinson [3]. Các hội chứng TK qua trung gian miễn dịch thường hồi phục trong vòng vài tuần hoặc vài tháng.

** Bệnh đơn dây thần kinh:*

Bệnh lý các dây TK sọ não sau SXHD gồm viêm dây TK thị giác, liệt dây TK vận nhãn, liệt dây VI đơn độc, liệt Bell đơn độc, bệnh lý dây TK ngực dài, liệt dây TK hoành đơn độc. Cơ chế bệnh sinh có thể liên quan đến trung gian miễn dịch. Điều trị chủ yếu để hỗ trợ, steroid có thể hữu ích khi được sử dụng ở giai đoạn sớm của bệnh.

** Hội chứng GBS và các biến thể:*

Bệnh lý đa rễ dây TK, bệnh lý đám rối TK thắt lưng cùng, GBS và các biến thể GBS có liên quan với SXHD. GBS có thể xuất hiện sớm trong quá trình bệnh hoặc có thể xuất hiện khi đã hết sốt. Cơ chế bệnh sinh chính xác chưa rõ ràng, nhưng có thể là một rối loạn qua trung gian miễn dịch, vì các globulin miễn dịch sinh ra do nhiễm DENV phản ứng chéo với các thành phần của dây TK ngoại vi có chung các kháng nguyên phản ứng chéo (cơ chế bắt chước phân tử). Đáp ứng miễn dịch này có thể tấn công trực tiếp vào myelin hoặc các sợi trục, dẫn đến bệnh lý đa rễ dây TK thể hủy myelin và/hoặc sợi trục [10].

* *Viêm tủy ngang:*

Viêm tủy ngang liên quan đến SXHD rất hiếm gặp. Bệnh có thể xảy ra trong hoặc sau khi nhiễm virus. Tổn thương thường là viêm tủy đoạn dài. Cơ chế bệnh sinh được cho là qua trung gian miễn dịch trong giai đoạn sau nhiễm virus và là hậu quả của sự xâm nhập trực tiếp của virus trong giai đoạn cận nhiễm virus. Đến nay, chưa có ca bệnh nào kèm theo bệnh lý dây TK thị giác được báo cáo. Viêm tủy qua trung gian miễn dịch sau nhiễm virus thường biểu hiện trong vòng 1 - 2 tuần sau khi khởi phát triệu chứng đầu tiên, trong khi viêm tủy cận nhiễm trùng có thể diễn ra trong tuần đầu tiên khi nhiễm virus. Chẩn đoán xác định bằng cách thay đổi tín hiệu và tăng khối kính tủy trên hình ảnh MRI tủy sống. Rối loạn phổ viêm tủy thị TK (NMOSD) hoặc đa xơ cứng (MS) cũng cần được loại trừ thông qua các xét nghiệm chẩn đoán phù hợp [3, 7].

* *Viêm não tủy lan tỏa cấp tính (acute disseminated encephalomyelitis: ADEM):*

ADEM có thể xảy ra trong pha hồi phục sau khi bị bệnh SXHD. Triệu chứng lâm sàng thường gồm co giật, rối loạn cảm giác và các tổn thương TK khu trú. Các triệu chứng này nhìn chung xuất hiện sau giai đoạn lui bệnh. Tế bào dịch não tủy tăng nhẹ và nồng

độ protein dịch não tủy tăng trung bình. Chụp MRI sọ não phát hiện các tổn thương chất trắng trên T2 và FLAIR ở các vùng trung tâm bán cầu dục vành tía, thể chai và đồi thị. Thay đổi tín hiệu tủy có thể được phát hiện chủ yếu ở các đoạn tủy cổ và ngực. Mô bệnh học của các tổn thương này cho thấy sự hủy myelin quanh tĩnh mạch, sự xâm nhập của đại thực bào và sự thâm nhiễm các tế bào lympho quanh mạch cùng với các ổ xuất huyết. Cơ chế bệnh sinh của bệnh nhiều khả năng là phản ứng tự miễn thoáng qua với myelin hoặc một số tự kháng nguyên chưa được biết rõ. Truyền methylprednisolon tĩnh mạch liều xung thường hiệu quả trong giai đoạn bệnh hoạt động [2, 3].

* *Các hội chứng tiểu não trong Dengue:*

Các hội chứng tiểu não liên quan đến SXHD có thể là hậu quả của quá trình viêm cấp độ thấp, khả năng là qua trung gian miễn dịch, có thể xảy ra trong giai đoạn nhiễm virus cấp hoặc có thể phát triển trong vòng 1 - 3 tuần sau giai đoạn lui bệnh. Các hội chứng tiểu não có thể tự lui. Các hội chứng tương tự có thể xuất hiện liên quan với nhiều loại nhiễm virus, do đó, các hội chứng này cần được chẩn đoán loại trừ. Chẩn đoán phân biệt chủ yếu với ADEM [2, 3].

3. Các biến chứng thần kinh cơ

** Liệt do hạ kali máu liên quan đến sốt xuất huyết Dengue:*

Liệt do hạ kali máu cần được đặt ra ở những NB khởi phát cấp tính liệt mềm tứ chi không kèm theo liệt bất kỳ dây TK sọ não nào và bất kỳ biểu hiện rối loạn cơ vòng nào. Khởi phát của liệt nhìn chung xuất hiện ở trung bình ngày thứ 2 và thứ 5 của sốt, triệu chứng bệnh tiến triển trong khoảng thời gian từ 4 - 24 giờ. Phản xạ gân xương thường giảm hoặc mất ở hầu hết NB. Bệnh sinh của hạ kali máu trong SXHD chưa rõ. Một số cơ chế đã được gợi ý như thừa dịch truyền tĩnh mạch, đặc biệt là các dịch truyền có chứa lactat có thể thúc đẩy sự chuyển hóa alkalosis dẫn đến đưa kali vào nội bào, do đó, làm giảm nồng độ kali trong huyết thanh; do tái phân bố kali bên trong các tế bào và dịch ngoài tế bào do tác động toàn thân của nhiễm virus; các bất thường ống thận thoáng qua dẫn đến tăng thải kali qua nước tiểu; giải phóng các catecholamine do stress dẫn đến kích thích tế bào hấp thu kali và dẫn đến hạ kali máu. Liệt do hạ kali máu liên quan đến SXHD đáp ứng với bổ sung liều thấp kali và thường hồi phục nhanh mà không để lại bất kỳ di chứng nào [3].

** Viêm cơ:*

Viêm cơ do SXHD thay đổi từ yếu cơ nhẹ có thể tự hồi phục đến viêm cơ

nặng, liệt tứ chi và suy hô hấp. Viêm cơ tim có thể xuất hiện đồng thời làm cho bệnh cảnh lâm sàng tiến triển nặng. Một số ca bệnh nặng có thể dẫn đến tử vong. Chẩn đoán viêm cơ do SXHD dựa vào biểu hiện lâm sàng của bệnh, nồng độ CK (creatinine kinase) huyết thanh tăng cao, dịch não tủy bình thường và loại trừ các nguyên nhân khác. Ở những vùng dịch tễ dịch SXHD, viêm cơ do Dengue nên được xem xét trong chẩn đoán phân biệt ở các bệnh nhi khởi phát cấp tính liệt mềm. Bệnh sinh của viêm cơ còn chưa rõ ràng. Cơ chế được gợi ý gồm sự xâm nhập trực tiếp của DENV vào cơ và sự phá hủy các sợi cơ qua trung gian miễn dịch, cụ thể là do yếu tố hoại tử u (TNF). Viêm cơ do SXHD quan sát được trên mô bệnh học là sự xâm nhiễm quanh mạch bởi các tế bào đơn nhân, tăng sinh ty thể, sự tích lũy chất béo, tập trung nhân tế bào và/hoặc tiêu cơ cục bộ. Điện cơ kim cho hình thái phù hợp với bệnh cơ nhưng không ghi nhận rung giật sợi cơ, các sóng nhọn, các phóng điện phức hợp lặp lại (CRD). Viêm cơ do SXHD được xem là khá lành tính và tự hồi phục ở các bệnh nhi. Ở NB trưởng thành, viêm cơ do Dengue thường nặng hơn, thậm chí có thể dẫn đến tiêu cơ vân trầm trọng [2, 3].

** Tiêu cơ vân:*

Tiêu cơ vân do SXHD có thể là hậu quả từ các tổn thương tế bào cơ qua trung gian cytokine. Các cytokine, đặc biệt là TNF và interferon-alpha được giải phóng do đáp ứng với nhiễm DENV. Tăng nồng độ các cytokine dẫn đến tăng nội bào calci tự do làm cạn kiệt adenosine triphosphate (ATP). Tăng nồng độ calci nội bào cũng gây tổn thương đến các tế bào cơ thông qua hoạt hóa các protease, các bất thường ty thể và sản xuất quá mức các loại oxygen phản ứng, cuối cùng, dẫn đến chết tế bào cơ. Tiêu cơ vân có thể gây ra tổn thương thận cấp và các rối loạn điện giải dẫn đến đe dọa tính mạng [2, 5].

** Đau cơ:*

Đau cơ, căng cơ và sưng nhẹ cơ là các biểu hiện lâm sàng ghi nhận được trong giai đoạn sớm của bệnh. Tình trạng đau nhìn chung ảnh hưởng ở vùng lưng, cơ gốc chi, dẫn đến đi lại khó khăn mặc dù không có yếu cơ. Cơ chế được cho là do sự xâm nhập trực tiếp của virus vào cơ, sau đó, các thay đổi viêm diễn ra thứ phát dẫn đến đau cơ. Điện cơ kim (EMG) thường bình thường, nhưng ở NB tăng CK có thể ghi nhận được các biểu hiện bệnh cơ nhẹ. Các thay đổi về mô bệnh ghi nhận được gồm xâm nhiễm tế bào đơn nhân

quanh mạch mức độ nhẹ đến trung bình, lắng đọng lipid, tăng sinh nhẹ ty thể, tập trung nhân trung tâm, các ổ tiêu cơ và các sợi cơ hợp thành nhóm. Đau cơ thường thoáng qua và tự hồi phục [3].

KẾT LUẬN

Sốt xuất huyết Dengue có thể gây tổn thương hệ thống TK với các cơ chế hoạt động: Virus tấn công trực tiếp vào hệ TK, xảy ra phản ứng tự miễn dịch và rối loạn chuyển hóa, trao đổi chất. Các triệu chứng TK ở NB SXHD trải rộng từ các bệnh lý TK trung ương, vùng mắt đến TK ngoại vi và các bệnh lý TK cơ. Triệu chứng TK có thể xuất hiện ngay trong giai đoạn sốt hoặc giai đoạn lui bệnh (khi đã hết sốt). Biến chứng TK thậm chí có thể xảy ra ở NB có ít hoặc không có triệu chứng lâm sàng của SXHD trước đó nên các biến chứng này có thể bị bỏ qua. Nhận thức được các triệu chứng TK có thể tạo điều kiện thuận lợi cho việc chẩn đoán, điều trị và nâng cao hiệu quả điều trị ở NB SXHD.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Bộ môn Khoa Thần kinh, Bệnh viện Quân y 103 đã tạo điều kiện cho chúng tôi hoàn thành bài tổng quan này. Chúng tôi cam kết không có xung đột lợi ích trong bài báo này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dengue W. Guidelines for diagnosis, treatment. Prevention and control. (WHO). 2009.
2. Li, GH, et al. Neurological manifestations of dengue infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2017; 7:449.
3. Trivedi S and A Chakravarty. Neurological complications of dengue fever. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 2022; 22(8):515-529.
4. Teo A, et al. Insights into potential causes of vascular hyperpermeability in dengue. *PLoS Pathogens*. 2021; 17(12):e1010065.
6. Solbrig MV and GC Perng. Current neurological observations and complications of dengue virus infection. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 2015; 15:1-8.
7. Rangankar V, et al. Imaging of the neurological manifestations of dengue: A case series. *SA Journal of Radiology*. 2022; 26(1).
8. George JT, et al. Central nervous system manifestations of dengue infection: Data from a tertiary care Centre in South India. *Postgraduate Medical Journal*. 2023; 99(1168):50-55.
9. Nguyễn Thị Hoàng Mai, et al. Dengue-associated posterior reversible encephalopathy syndrome, Vietnam. *Emerging Infectious Diseases*. 2018; 24(2):402.
10. Somkijrungrroj T and W Kongwattananon. Ocular manifestations of dengue. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2019; 30(6):500-505.
11. Jha M, ALF Caprara, and JP Rissardo. Neurological complications of dengue virus infection. *MRIMS Journal of Health Sciences*. 2023; 11(2):168.

ẢNH HƯỞNG CỦA TÁ DƯỢC ĐẾN BÀO CHẾ BỘT CAO KHÔ DẠ DÀY HỒ BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHUN SẤY

Nguyễn Trọng Điệp^{1}, Nghiêm Thị Thanh Hương², Nguyễn Tuấn Anh²
Đỗ Nguyên An¹, Trần Thị Phương Thảo¹*

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá ảnh hưởng của tá dược đến bào chế bột cao khô Dạ dày HỒ bằng phương pháp phun sấy. **Phương pháp nghiên cứu:** Phun sấy cao lỏng Dạ dày HỒ 1:1 trên thiết bị LPG-5. Khảo sát ảnh hưởng của loại tá dược, tỷ lệ tá dược/chất rắn đến hiệu suất (HS) và chất lượng bột cao khô. Chỉ tiêu đánh giá gồm: Độ ẩm, khối lượng riêng, chỉ số nén Carr Index (CI), HS phun sấy, hàm lượng và HS thu hồi flavonoid, ampelopsin của bột cao khô. **Kết quả:** Các tá dược khảo sát (trừ manitol) đều giúp làm tăng HS phun sấy, giảm độ ẩm, tăng khả năng trơn chảy của bột so với công thức không dùng tá dược. Trong đó, maltodextrin có xu hướng cải thiện tốt nhất. Khi tăng tỷ lệ maltodextrin từ 10 - 30% ít làm thay đổi tính chất của bột nhưng làm giảm hàm lượng hoạt chất và ở tỷ lệ maltodextrin 10% là phù hợp nhất để bào chế bột cao khô Dạ dày HỒ. **Kết luận:** Tá dược thích hợp để bào chế bột cao khô Dạ dày HỒ bằng phương pháp phun sấy là maltodextrin với tỷ lệ 10%.

Từ khóa: Bài thuốc Dạ dày HỒ; Bột cao khô; Phun sấy; Flavonoid; Ampelopsin.

EFFECTS OF EXCIPIENTS ON THE PREPARATION OF “DA DAY HD” DRY EXTRACT POWDER BY SPRAY DRYING

Abstract

Objectives: To investigate the effects of excipients on the preparation of “Da day HD” dry extract powder by spray drying. **Methods:** “Da day HD” extract (1:1) was spray-dried by LPG-5 with different excipients and excipient/residue ratios.

¹Học viện Quân y

²Bệnh viện Y học cổ truyền Hà Đông

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Trọng Điệp (diepvmu@gmail.com)

Ngày nhận bài: 22/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 11/3/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.724>

Evaluating the humidity, tap density, Carr's compressibility index, spray drying yield, flavonoids and ampelopsin contents, and recoveries of products. **Results:** The excipients (except mannitol) help increase spray drying efficiency, reduce humidity, and increase flowability compared to formulas that do not use excipients. Among them, maltodextrin tends to have the best improvement. Increasing the maltodextrin ratio from 10 - 30% makes little change to the properties of the dry extract powder but reduces the active ingredient content, and the maltodextrin ratio of 10% is most suitable for preparing “Da day HD” dry extract powder. **Conclusion:** The suitable excipient to prepare dry extract powder of “Da day HD” by spray drying method is maltodextrin with an excipients/residue ratio of 10%.

Keywords: Da day HD formula; Dry extract powder; Spray drying; Flavonoids; Ampelopsin.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm loét dạ dày tá tràng (VLDDTT) là bệnh phổ biến trong cộng đồng, chiếm khoảng 5 - 10% dân số thế giới [1]. Bệnh có tính chất chu kỳ, hay tái phát và dễ gây biến chứng nguy hiểm như chảy máu, thủng ổ loét, ung thư dạ dày... Hiện nay, các thuốc y học cổ truyền (YHCT) hoặc thuốc nguồn gốc dược liệu đã được sử dụng trong điều trị VLDDTT như một biện pháp điều trị bổ sung hoặc thay thế cho các thuốc hóa dược để giảm thiểu các tác dụng không mong muốn.

Bài thuốc Dạ dày HĐ của Bệnh viện Y học cổ truyền Hà Đông được áp dụng trong điều trị tại bệnh viện từ năm 1977 - 1978; năm 2018, được bào chế dưới dạng viên hoàn cứng. Qua thực tiễn điều trị và kết quả thử nghiệm

trên lâm sàng cho thấy, chế phẩm có tác dụng cải thiện triệu chứng lâm sàng và tình trạng ổ loét ở người mắc bệnh VLDDTT có *Helicobacter pylori* (HP) âm tính [2]. Tuy nhiên, để nâng cao hiệu quả điều trị, đặc biệt là mở rộng tác dụng trên kháng vi khuẩn HP, bệnh viện đã bổ sung thêm vị thuốc chè dây và nghiên cứu chuyển dạng bào chế sang dạng viên nang cứng, đồng thời, tiếp tục đánh giá về tính an toàn và tác dụng của bài thuốc trên động vật thực nghiệm và lâm sàng. Để chuyển dạng bào chế sang viên nang cứng thì bột cao khô là bán thành phẩm quan trọng, có nhiều phương pháp để bào chế bột cao khô, trong đó, phun sấy là kỹ thuật làm khô tiên tiến, có nhiều ưu điểm vượt trội so với các phương pháp làm khô khác như: Sấy khô trực tiếp từ dạng cao lỏng, thời gian làm khô ngắn

(chưa đến 10 giây), sản phẩm tạo thành chủ yếu là dạng bột hình cầu, cải thiện được một số đặc tính hòa tan, thích hợp với các dược chất nhạy cảm với nhiệt... [3]. Tuy nhiên, nhược điểm lớn nhất của phun sấy cao được liệu là hiện tượng kết dính dẫn đến bột không khô. Để khắc phục nhược điểm này, ngoài khảo sát các thông số quy trình thì việc lựa chọn tá dược thích hợp là một yếu tố quan trọng trong bào chế cao khô được liệu bằng phương pháp phun sấy. Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm: *Đánh giá ảnh hưởng của tá dược đến bào chế bột cao khô từ bài thuốc Dạ dày HĐ bằng phương pháp phun sấy, trên cơ sở đó lựa chọn được tá dược thích hợp nhất.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

** Nguyên liệu:*

Dược liệu: Chè dây, Lá khôi, Ô tặc cốt, Mộc hương, Hương phụ, Sa nhân do Công ty Sơn Lâm cung cấp đạt tiêu chuẩn ĐCVN V. Các dược liệu Ô tặc cốt, Mộc hương, Hương phụ, Sa nhân được nghiền riêng qua máy nghiền lắp cỡ rây 2mm. Chè dây, Lá khôi được cắt thành đoạn ngắn 2 - 3cm. Bột dược liệu khô được bảo quản trong túi nilon kín, để ở phòng thí nghiệm đến khi sử dụng.

- Hóa chất: Quercetin hàm lượng 86,0% (chuẩn đối chiếu thứ cấp) của Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, Ampelopsin hàm lượng 99,8% của ChemFaces; tá dược: Aerosil, maltodextrin, manitol, hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) E6, polyvinylpyrrolidon (PVP) K30, lactose đạt tiêu chuẩn dược dụng.

** Thiết bị, dụng cụ:*

Hệ thống HPLC Waters-2469 (Waters, Mỹ), cột C18 (5 μ m, 150 x 3,9mm I.D.), đầu dò UV-Vis; máy quang phổ UV-Vis (Jasco, Nhật); hệ thống chiết xuất, cô đặc đa năng DT-100S 150 lít (Trung Quốc); thiết bị phun sấy LPG-5 (Trung Quốc); cân phân tích Mettler Toledo (Thụy Sĩ), máy đo độ ẩm tự động ADAM (Anh) và một số thiết bị dụng cụ khác.

2. Phương pháp nghiên cứu

Bào chế cao lỏng Dạ dày HĐ 1:1: Nhóm nghiên cứu đã tiến hành khảo sát và xây dựng được quy trình bào chế cao lỏng 1:1 cho bài thuốc Dạ dày HĐ. Công thức bài thuốc gồm Lá khôi 10,91g, Ô tặc cốt 2,36g, Mộc hương 0,91g, Hương phụ 5,45g, Sa nhân 2,18g, Chè dây 12g. Chiết xuất bằng phương pháp hồi lưu trên thiết bị chiết xuất đa năng, quy mô 20 kg/mẻ, chiết 2 lần. Lần 1 chiết với nước tinh khiết, lần 2 chiết với ethanol 50%, tỷ lệ dung môi/dược liệu là 10/1, chiết ở nhiệt độ

sôi của dung môi, thời gian chiết mỗi lần là 2 giờ. Gộp các dịch chiết, lọc qua rây 0,2mm và cô về cao lỏng 1:1. Cao 1:1 có độ ẩm là $82,67 \pm 1,60\%$, hàm lượng flavonoid toàn phần là $70,65 \pm 3,90$ mg/g (định lượng bằng UV-Vis) và hàm lượng ampelopsin $165,15 \pm 4,49$ mg/g (định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao - HPLC) tính theo nguyên liệu khô kiệt. Cao lỏng 1:1 được sử dụng để nghiên cứu bào chế bột cao khô bằng phương pháp phun sấy.

Bào chế bột cao khô Dạ dày HÐ bằng phương pháp phun sấy: Cao lỏng 1:1 được trộn đều với tá dược, thêm nước để điều chỉnh tỷ lệ chất rắn trong dịch phun (CR/DP) theo tỷ lệ khảo sát. Tiến hành phun sấy trên thiết bị LPG-5. Cài đặt các thông số phun sấy gồm nhiệt độ phun sấy, tốc độ cấp dịch theo từng khảo sát. Các thông số khảo sát gồm: Ảnh hưởng của loại tá dược, tỷ lệ tá dược/chất rắn (TD/CR) trong cao, nhiệt độ đầu vào và tốc độ cấp dịch. Các chỉ tiêu đánh giá gồm: Độ ẩm, khối lượng riêng, chỉ số nén CI, HS phun sấy, hàm lượng và HS thu hồi hoạt chất.

Đánh giá chỉ tiêu chất lượng của bột cao khô:

- Hình thức: Thử bằng cảm quan.
- Độ ẩm: Thử theo phương pháp mất khối lượng do làm khô của ĐĐVN V,

phụ lục 9.6. Cân khoảng 2g chế phẩm sấy ở 105°C ở áp suất thường đến khối lượng không đổi. Mỗi mẫu tiến hành 3 lần.

- Khối lượng riêng (KLR, g/mL) và chỉ số nén [4]: Cân khoảng 3g bột cao khô, cho vào ống đong 25mL khô sạch, đọc thể tích V_1 (mL), gõ đến thể tích không đổi và đọc thể tích V_2 (mL). Khối lượng riêng thô (d_b) và khối lượng riêng sau gõ (d_t) được xác định là tỷ số giữa khối lượng (g) và thể tích bột tương ứng (mL). Mỗi mẫu tiến hành 3 lần. Chỉ số nén CI được tính theo biểu thức:

$$CI (\%) = \frac{d_t - d_b}{d_t} \times 100$$

Khả năng trơn chảy được đánh giá theo chỉ số CI, chuyên luận “Power flow” của Dược điển Mỹ (USP 40).

- Định lượng flavonoid toàn phần trong bột cao khô bằng phương pháp UV-Vis dựa theo phương pháp của Chang và CS [5]:

Dung dịch làm phản ứng: Dung dịch AlCl_3 2% pha trong methanol. Dung dịch chuẩn: Từ dung dịch quercetin chuẩn gốc có nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$, pha dãy chuẩn có nồng độ: 2,5 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 7,5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, 12,5 $\mu\text{g/mL}$ và 15 $\mu\text{g/mL}$. Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,3g bột cao khô vào bình định mức 50mL,

thêm ethanol 50% vừa đủ đến vạch, siêu âm ở nhiệt độ thường 30 phút, sau đó ly tâm ở tốc độ 3.000 vòng/phút trong 10 phút rồi lọc qua màng lọc 0,45µm thu được dung dịch A. Hút chính xác 1mL dung dịch A cho vào bình định mức 25mL và thêm ethanol 50% đến vạch, lắc đều (mẫu thử được pha loãng nếu cần để mật độ quan nằm trong khoảng tuyến tính).

Tiến hành phản ứng: 5mL dung dịch chuẩn hoặc thử được trộn đều với 5mL AlCl_3 2%/methanol, sau 30 phút đem đo quang ở bước sóng 415nm. Mẫu trắng là mẫu chứa cùng lượng dung dịch thử trộn cùng methanol.

Tính toán: Từ đường chuẩn của quercetin tính ra hàm lượng flavonoid trong mẫu thử theo công thức sau:

$$\text{HL (mg/g)} = \frac{(D_T - b) \times f \times V}{a \times m \times (1 - X\%) \times 1000}$$

Trong đó, D_T : Độ hấp thụ mẫu thử; f: Hệ số pha loãng; V: Thể tích mẫu; m: Khối lượng cân mẫu thử (g); a: Hệ số chặn phương trình hồi quy tuyến tính; b: Hệ số góc phương trình hồi quy tuyến tính; X%: Độ ẩm mẫu thử.

- Định lượng ampelopsin bằng HPLC:

Điều kiện sắc ký: Cột C_{18} 5µm 4,6 x 250mm; Detector: UV, bước sóng 292nm; thể tích tiêm: 10µL; tốc độ dòng: 0,3 mL/phút; dung môi pha động: $\text{MeOH}/\text{H}_3\text{PO}_4$ 0,1% tỷ lệ 40:60.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10mg ampelopsin và hòa tan vừa đủ bằng methanol trong bình định mức 10mL để thu dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 1.000 µg/mL. Từ dung dịch này, tiến hành pha các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ khác nhau.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,3g bột cao khô vào bình định mức 50mL, thêm ethanol 50% vừa đủ đến vạch, siêu âm ở nhiệt độ thường trong 30 phút. Hút chính xác 1mL dịch lọc cho vào bình định mức 5mL và thêm ethanol 50% đến vạch, lắc đều. Lọc dung dịch qua màng lọc 0,45µm trước khi tiêm sắc ký.

Tính kết quả: Từ đường chuẩn tính ra hàm lượng ampelopsin trong mẫu thử theo công thức sau:

$$\text{HL (mg/g)} = \frac{(S_{\text{pic}} - b) \times f \times V}{a \times m \times (1 - X\%) \times 1000}$$

Trong đó, S_{pic} : Diện tích pic đo được của mẫu thử; f: Hệ số pha loãng; V: Thể tích mẫu; m: Khối lượng cân mẫu thử (g); a: Hệ số chặn phương trình hồi quy tuyến tính; b: Hệ số góc phương trình hồi quy tuyến tính; X%: Độ ẩm của mẫu thử.

HS phun sấy và HS thu hồi hoạt chất là tỷ lệ (%) giữa thực tế thu được so với lý thuyết.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Ảnh hưởng của loại tá dược

Cao lỏng 1:1 được thêm các tá dược theo tỷ lệ 20% so với chất rắn trong cao, thêm nước để điều chỉnh tỷ lệ chất rắn trong dịch phun về tỷ lệ 10%, sau đó phun sấy với nhiệt độ đầu vào là 130°, tốc độ cấp dịch 30 mL/phút. Sản phẩm phun sấy được đánh giá về HS và chỉ tiêu chất lượng cho các kết quả sau:

Bảng 1. Ảnh hưởng của loại tá dược đến HS và tính chất của bột cao khô.

Công thức	Tá dược	Hình thức	Hàm ẩm (%) [*]	KLR (g/ml) [*]	CI (%) [*]	HSPS (%)
S0	Không tá dược	Bột màu vàng nâu sẫm, hơi vón, mùi thơm	6,27 ± 0,18	0,55 ± 0,01	44,87 ± 1,30	61,00
S1	Maltodextrin	Bột màu vàng, toí, mùi thơm	2,13 ± 0,20	0,58 ± 0,01	28,13 ± 1,02	88,59
S2	Aerosil	Bột màu vàng, toí, mùi thơm	2,79 ± 0,13	0,55 ± 0,01	23,53 ± 0,57	67,84
S3	Lactose	Bột màu vàng, toí, mùi thơm	4,57 ± 0,11	0,62 ± 0,01	36,53 ± 2,04	73,66
S4	Manitol	Bột màu vàng nâu, toí, mùi thơm	5,27 ± 0,12	0,51 ± 0,01	37,77 ± 0,24	54,59
S5	PVP K30	Bột màu vàng, toí, mùi thơm	3,56 ± 0,16	0,69 ± 0,02	44,56 ± 0,10	74,67
S6	HPMC E6	Bột màu vàng, toí, mùi thơm	5,09 ± 0,13	0,53 ± 0,01	35,90 ± 0,75	67,31

(*: Kết quả biểu thị theo giá trị trung bình ± SD, n = 3; HSPS: Hiệu suất phun sấy)

Kết quả ở bảng 1 cho thấy: Tính chất của bột: Các công thức đều tạo thành dạng bột khô toí, mùi thơm đặc trưng, chỉ riêng công thức không có tá dược (S0) thì bột hơi sẫm màu hơn và bị vón cục nhiều. Công thức S0 có độ ẩm cao nhất, công thức S4, S6 cũng có độ ẩm > 5%. Các công thức còn lại có độ ẩm thấp, đáp ứng được yêu cầu của DĐVN V (độ ẩm < 5%). Khối lượng riêng ở các công thức dao động trong khoảng 0,51 - 0,69 g/mL, cao nhất ở công thức S5 và thấp nhất ở

công thức S4. Khi đánh giá về khả năng trơn chảy theo USP 40, chỉ có công thức S2 sử dụng Aerosil là trơn chảy được, công thức S1 trơn chảy kém, còn các công thức còn lại đều trơn chảy rất kém.

HS phun sấy: Trong phần lớn các công thức khảo sát thì việc thêm tá dược đã cải thiện được HS phun sấy, trừ công thức S4. Công thức S0 có HS chỉ đạt 61%, trong khi công thức S1 dùng maltodextrin làm tăng HS lên 88,59%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của loại tá dược đến hàm lượng và HS thu hồi hoạt chất của bột cao khô.

Công thức	Loại tá dược	Hàm lượng (mg/g) n = 3		HS thu hồi (%) n = 3	
		Flavonoid	Ampelopsin	Flavonoid	Ampelopsin
S0	Không tá dược	66,65 ± 1,08	138,41 ± 5,19	88,68 ± 1,54	83,81 ± 3,14
S1	Maltodextrin	52,54 ± 0,95	129,20 ± 4,63	89,24 ± 1,61	93,88 ± 3,36
S2	Aerosil	53,97 ± 1,19	120,40 ± 4,66	91,67 ± 2,01	87,48 ± 3,39
S3	Lactose	51,37 ± 1,17	120,93 ± 4,02	87,26 ± 1,98	87,87 ± 2,92
S4	Mannitol	50,97 ± 2,96	128,32 ± 2,48	93,34 ± 1,74	93,24 ± 1,80
S5	PVP K30	49,85 ± 0,59	121,63 ± 2,87	84,67 ± 1,00	88,38 ± 2,09
S6	HPMC E6	56,39 ± 0,69	118,23 ± 3,43	95,78 ± 1,18	85,91 ± 2,49

Flavonoid là nhóm hoạt chất có trong hầu hết các vị thuốc, trong khi ampelopsin (dihydromyricetin) cũng là một flavonoid có nhiều trong Chè dây đã được ĐĐVN V sử dụng làm chất định lượng. Tuy nhiên, chỉ có các flavonoid thuộc nhóm flavon, flavanol mới tạo được phản ứng màu với $AlCl_3$ để định lượng được bằng phương pháp UV-Vis [5]. Trong khi, ampelopsin (thuộc nhóm flavanolol) không phản ứng với $AlCl_3$ nên ampelopsin được định lượng bằng phương pháp

HPLC. Kết quả ở bảng 2 cho thấy: Hàm lượng flavonoid và ampelopsin của các mẫu sử dụng tá dược thấp hơn so với công thức không dùng tá dược (S0). Nguyên nhân chính do khi thêm tá dược sẽ làm tăng tỷ lệ chất rắn trong dịch phun, gây giảm hàm lượng hoạt chất bởi hiện tượng pha loãng nồng độ. Tuy nhiên, HS thu hồi hoạt chất ở các công thức có tá dược lại cao hơn, đặc biệt, ở một số công thức như S1, S4. Kết quả này có thể do tá dược làm

giảm sự tiếp xúc của hoạt chất đối với nhiệt và oxy không khí, là tác nhân chính gây suy giảm hàm lượng hoạt chất. Kết quả trên cũng cho thấy ảnh hưởng của loại tá dược đến HS thu hồi hai hoạt chất là không giống nhau.

Như vậy, loại tá dược có ảnh hưởng nhất định đến HS, tính chất và hàm

lượng hoạt chất trong bột cao khô tạo thành. Trong đó, maltodextrin và manitol có xu hướng cải thiện về hàm lượng và HS phun sấy tốt hơn. Tuy nhiên, manitol có HS phun sấy thấp nhất và độ ẩm của bột > 5%. Do đó, đề tài lựa chọn maltodextrin (công thức S1) cho các khảo sát tiếp theo.

2. Ảnh hưởng của tỷ lệ tá dược

Tiến hành phun sấy cao Dạ dày HĐ với các điều kiện như ở công thức S1 nhưng với tỷ lệ tá dược/chất rắn trong cao khác nhau, lần lượt là 10%, 15%, 25%, 30%.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ maltodextrin đến HS và tính chất của bột cao khô.

Công thức	Tỷ lệ TD/CR (%)	Hình thức	Hàm ẩm (%), *	KLR (g/mL), *	CI (%),*	HSPS (%)
S7	10	Bột màu vàng, khô toi, mùi thơm	3,22 ± 0,09	0,60 ± 0,01	37,02 ± 0,71	88,51
S8	15		3,77 ± 0,08	0,62 ± 0,004	27,59 ± 1,84	92,77
S1	20		2,13 ± 0,20	0,58 ± 0,01	28,13 ± 1,02	88,59
S9	25		4,01 ± 0,09	0,63 ± 0,01	28,93 ± 1,59	91,14
S10	30		3,07 ± 0,13	0,61 ± 0,01	34,71 ± 1,92	90,81

(*: Kết quả biểu thị theo giá trị trung bình ± SD, n = 3; HSPS: Hiệu suất phun sấy)

Kết quả bảng 3 cho thấy: Tính chất của bột: Các công thức đều tạo thành dạng bột khô toi, màu vàng, mùi thơm đặc trưng và không nhận thấy sự khác biệt khi quan sát về cảm quan. Các công thức đều có độ ẩm thấp, đáp ứng được yêu cầu của DĐVN V (< 5%). Khối lượng riêng của các mẫu bột dao động trong khoảng 0,58 - 0,63 g/mL nên về cơ bản ít có sự khác biệt. Ở các công thức có tỷ lệ maltodextrin từ 15 - 25% (S1, S8, S9) có chỉ số CI tương đương nhau và ở mức kém trơn chảy, còn ở công thức S7 và S10 rất kém trơn chảy. Giảm chỉ số CI nghĩa là tăng khả năng trơn chảy của bột.

HS phun sấy: Khi tăng dần tỷ lệ maltodextrin trong khoảng 10 - 30% có xu hướng làm tăng HS phun sấy, nhưng ít có sự khác biệt (trong khoảng 88,51 - 92,77%). Tuy nhiên, ở các công thức dùng maltodextrin đều có HS phun sấy cao hơn công thức không dùng tá dược (công thức S0, HS phun sấy 61%). Như vậy, thêm maltodextrin với tỷ lệ từ 10% trở lên đã giúp cải thiện rõ rệt HS phun sấy.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ maltodextrin đến hàm lượng và HS thu hồi hoạt chất.

Công thức	Tỷ lệ TD/CR (%)	Hàm lượng (mg/g), n = 3		HS thu hồi (%), n = 3	
		Flavonoid	Ampelopsin	Flavonoid	Ampelopsin
S7	10	59,69 ± 2,15	131,87 ± 2,02	86,71 ± 3,34	87,83 ± 1,34
S8	15	56,61 ± 1,30	130,56 ± 2,56	91,98 ± 2,11	90,91 ± 1,78
S1	20	52,54 ± 0,95	129,20 ± 4,63	89,24 ± 1,61	93,88 ± 3,36
S9	25	54,44 ± 2,57	125,16 ± 1,36	96,32 ± 4,54	94,73 ± 1,03
S10	30	51,36 ± 1,77	121,29 ± 0,82	94,51 ± 1,77	95,48 ± 0,64

Kết quả bảng 4 cho thấy: Khi tăng tỷ lệ maltodextrin so với chất rắn trong cao có xu hướng làm giảm hàm lượng hoạt chất, đồng thời, làm tăng dần HS thu hồi đối với cả flavonoid và ampelopsin. Điều này do càng tăng tỷ lệ tá dược thì về mặt lý thuyết sẽ làm giảm nồng độ hoạt chất trong bột cao khô do hiện tượng pha loãng nồng độ, tuy nhiên, sự suy giảm hàm lượng hoạt chất còn có thể liên quan đến quá trình phân hủy hoạt chất trong quá trình phun sấy. Hiện tượng suy giảm hàm lượng hoạt chất cũng đã quan sát thấy trong các nghiên cứu trước đây của chúng tôi đối với flavonoid khi phun

sấy cao cúc hoa vàng sử dụng maltodextrin/Aerosil (4/6) làm chất mang [6] và hàm lượng phyllanthin khi phun sấy cao Diệp hạ châu đẳng sử dụng Aerosil/ PVP K30 (1:1) làm chất mang [7]. Khi tăng tỷ lệ tá dược càng làm hạn chế sự tiếp xúc của hoạt chất với nhiệt và oxy không khí nên làm tăng HS thu hồi hoạt chất.

Như vậy, khi tăng tỷ lệ tá dược, làm giảm hàm lượng hoạt chất, trong khi HS và các chỉ tiêu chất lượng của bột ít có sự thay đổi. Ở tỷ lệ maltodextrin 10 - 15% cho HS phun sấy và các chỉ tiêu chất lượng của bột khá tương đồng với công thức còn lại, nhưng hàm lượng

hoạt chất có xu hướng cao hơn. Do đó, để phun sấy tạo bột cao khô Dạ dày HÐ có thể sử dụng matodextrin với tỷ lệ 10 - 15%. Tuy nhiên, để giảm thiểu tối đa lượng tá dược sử dụng nên chúng tôi lựa chọn matodextrin 10% (công thức S7) làm chất mang để bào chế bột cao khô Dạ dày HÐ.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đánh giá được ảnh hưởng của loại tá dược, tỷ lệ tá dược đến HS phun sấy và một số chỉ tiêu chất lượng của bột cao khô, từ đó, lựa chọn được tá dược thích hợp để bào chế bột cao khô Dạ dày HÐ bằng phương pháp phun sấy là maltodextrin với tỷ lệ 10%. Với công thức lựa chọn thu được bột cao khô khô to, màu vàng, mùi thơm đặc trưng, HS phun sấy 88,51%, độ ẩm < 5%, hàm lượng flavonoid $59,69 \pm 2,15$ mg/g, hàm lượng ampelopsin $131,87 \pm 2,02$ mg/g.

Lời cảm ơn: Tập thể tác giả xin cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hà Nội đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện nội dung nghiên cứu này, và xin cam kết không có bất kỳ xung đột lợi ích nào liên quan đến nội dung bài báo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lanas A, Chan FKL. Peptic ulcer disease. *Lancet* 390 (10094). 2017; 613-624. DOI: 10.1016/s0140-6736 (16)32404-7.

2. Nguyễn Thị Thanh Tú, Phạm Thị Huệ. Tác dụng của viên hoàn cứng “Dạ dày HÐ” trong điều trị loét dạ dày có helicobacter pylori âm tính. *Y học lâm sàng Bệnh viện Trung ương Huế*. 2023; 85:73-79.

3. Woo MW, Mujumdar AS, Daud WRW. Spray Drying Technology, Volume 1, Chapter 5: Spray drying of food and herbal products. ISBN - 978-981-08-6270-1. *Published in Singapore*. 2010:113-156.

4. United states pharmacopoeia 40, 2017:1174.

5. Chang CC, Yang MH, Wen HM, et al. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2002;10(3):178-182.

6. Nguyễn Trọng Điệp, Vũ Bình Dương, Nguyễn Thanh Hải. Nghiên cứu ảnh hưởng của tá dược đến chất lượng bột cao khô cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L) bào chế bằng phương pháp phun sấy. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*. 01/2015; 40:11-18.

7. Phạm Văn Vượng, Nguyễn Hoàng Hiệp, Trần Võ Hồng Phúc, Phạm Ngọc Bình, Nguyễn Trọng Điệp. Ảnh hưởng của tá dược đến bào chế bột cao khô Diệp hạ châu đắng bằng phương pháp phun sấy. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*. Số chuyên đề Dược học. 2023; 48:167-176.

MÔ HÌNH PHARMACOPHORE CÁC CHẤT CHỦ VẬN VÀ DOCKING TRÊN THỤ THỂ DOPAMIN D2

Bùi Quốc Dũng^{1*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Xây dựng mô hình pharmacophore từ các chất chủ vận và so sánh với mô hình từ các chất đối vận và phức hợp thụ thể dopamine D2 (D2R) - risperidon. Xây dựng mô hình docking trên D2R bằng cấu trúc tinh thể 6CM4. **Phương pháp nghiên cứu:** Mô hình pharmacophore được xây dựng bằng phần mềm LigandScout. Tập xây dựng gồm 6 thuốc chủ vận (dopamine, pramipexole, rotigotine, apomorphine, ropinirole, bromocriptine) và 11 thuốc đối vận. Tập đánh giá gồm 147 chất có hoạt tính, 108 chất không có hoạt tính, 400 chất mới. Từng mô hình được đánh giá qua độ đúng, độ đặc hiệu, độ nhạy, hiệu suất hoạt tính, điểm số GH và hệ số làm giàu EF. Mô hình docking xây dựng dựa trên 6CM4 trải qua các bước: Chuẩn bị phức hợp bằng MOE, chuẩn bị phối tử với phần mềm Sybyl và Chemdraw, thực hiện docking với phần mềm LeadIT. Sau đó, mô hình được đánh giá qua căn bậc hai trung bình bình phương độ lệch (RMSD) và mô thức gắn kết. **Kết quả:** Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình pharmacophore các chất chủ vận D2R gồm 1 điểm ion dương, 1 vòng thơm, 1 điểm kỵ nước, 1 điểm cho hydro. Mô hình docking được tạo ra thoả mãn yêu cầu với điểm số docking tại khoảng -31 kJ/mol, RMSD từ 0,86 - 1,18 Å. Khoang gắn kết có chứa các acid amin quan trọng đối với chất đối vận như Asp114, Trp386, Trp100, cũng như tương tác với chất chủ vận như Asp114, Ser197. **Kết luận:** Mô hình pharmacophore đi từ các chất chủ vận và mô hình docking thoả mãn các yêu cầu, tương đồng với những nghiên cứu khác trên thế giới, có thể ứng dụng trong sàng lọc ảo.

Từ khoá: Chất chủ vận; D2R; 6CM4; Docking; Pharmacophore.

¹Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột

*Tác giả liên hệ: Bùi Quốc Dũng (bqudung@bmtuvietnam.com)

Ngày nhận bài: 06/10/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 05/12/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.546>

A PHARMACOPHORE MODEL BASED ON AGONISTS AND MOLECULAR DOCKING ON DOPAMINE D2 RECEPTOR

Abstract

Objectives: To build a pharmacophore model from agonists and compare it with those from antagonists and the dopamine D2 receptor (D2R) - risperidone complex. To build a molecular docking model on the D2 dopamine receptor using the 6CM4 crystal structure. **Methods:** The pharmacophore model was built using LigandScout software. The training set included 6 agonists (dopamine, pramipexole, rotigotine, apomorphine, ropinirole, and bromocriptine) and 11 antagonists. The test set included 147 active substances, 108 inactive substances, and 400 decoy substances. Each model was evaluated for the accuracy, specificity, sensitivity, yield of actives, Goodness of Hit-list (GH) score, and enrichment factor (EF). The docking model was built based on 6CM4, following steps: Preparing the complex with MOE, preparing the ligands with Sybyl and Chemdraw software, and performing docking with LeadIT software. The model was then assessed through the root-mean-square deviation (RMSD) and binding mode. **Results:** The study has built a pharmacophore model for D2R agonists, including a positive ionisable feature, a hydrophobic feature, an aromatic ring, and a hydrogen-bond donor. The generated docking model meets the requirements with a docking score of about -31 kJ/mol and RMSD ranging from 0.86 to 1.18 Å. The binding cavity contained amino acids, which were important for antagonists such as Asp114, Trp386, and Trp100, as well as interactions with agonists such as Asp114 and Ser197. **Conclusion:** The pharmacophore and docking model that meet the requirements, similar to other studies worldwide, can be applied in virtual screening.

Keywords: Agonists, D2R; 6CM4; Docking; Pharmacophore.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Dopamine là chất dẫn truyền thần kinh catecholamine nổi bật trong não động vật có vú, kiểm soát một loạt các chức năng bao gồm hoạt động vận động,

nhận thức, cảm xúc, củng cố tích cực và điều hòa nội tiết. Hệ thống dopaminergic là trọng tâm của nhiều nghiên cứu trong những năm qua, chủ yếu là do một số tình trạng bệnh lý như

bệnh Parkinson, tâm thần phân liệt, hội chứng Tourette và tăng prolactin máu có liên quan đến rối loạn điều hòa đường truyền dopaminergic [1]. Có sự giảm đáng kể các thụ thể giống dopamine D2 trong vùng hồi hải mã và vỏ não trước của bệnh nhân bị bệnh Alzheimer, mật độ thụ thể giảm dần theo tuổi tác. Hơn nữa, một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng hoạt động thông qua các thụ thể giống dopamine D2 làm tăng kích thích vỏ não, trong khi thông qua các thụ thể giống dopamine D1 tăng giải phóng acetylcholin [2]. Trong suốt những thập kỷ qua, 65 loại thuốc nhắm vào họ thụ thể dopamine (DR) đã được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt. Tất cả các phân nhóm dopamine đều quan trọng, đặc biệt D2R đã được chứng minh là có liên quan đến tất cả các bệnh lý được liệt kê ở trên. Trong số 65 loại thuốc được FDA phê chuẩn, 60 loại cũng nhắm mục tiêu D2R. Không có loại thuốc nào trong số 60 loại thuốc được FDA phê duyệt thực sự có tính chọn lọc đối với D2R nhưng cũng có liên quan đến các thành viên khác trong họ DR [3]. Các nghiên cứu docking trước khi xuất hiện cấu trúc tinh thể có chứa D2R (2018) đều chỉ tập trung vào mô hình homology.

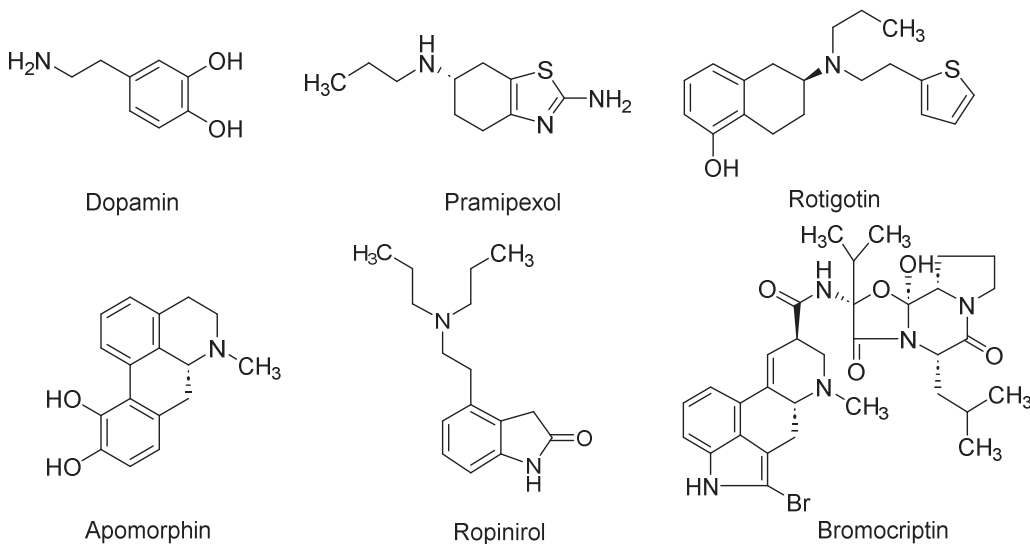
Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: *Xây dựng mô hình docking trên cấu trúc tinh thể mới xuất hiện gần đây và mô hình Pharmacophore các chất chủ vận D2R*. Từ đó, các mô hình này có thể được sử dụng để sàng lọc các chất chủ vận dopamine D2 và kiểm tra lại qua thực nghiệm để phát triển thành các thuốc tiềm năng sau này.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

** Tập hợp chất:*

6 thuốc chủ vận D2R đã được đưa ra thị trường với cấu trúc được trình bày như trong hình 1; 11 thuốc có hoạt tính đối vận bao gồm benperidol, perphenazine, sertindole, lurasidone, bromperidol, paliperidone, fluphenazine, iloperidone, risperidone, acetophenazine, quetiapine được sử dụng để xây dựng mô hình pharmacophore. 255 chất từ 36 tài liệu được sưu tầm, chọn lọc và phân loại hoạt tính dựa vào chất đối chiếu là dopamine, tổng kết có 147 chất có hoạt tính, 108 chất không có hoạt tính [4]. 400 chất mỗi có cấu trúc hóa lý giống với 6 thuốc chủ vận trên nhưng không có hoạt tính tạo ra từ cơ sở dữ liệu chất mỗi có ích (DUD-E).



Hình 1. Các thuốc chủ vận D2R.

* *Thu thể dopamine:*

Trên ngân hàng cơ sở dữ liệu protein (RCSB PDB), cấu trúc 6CM4 là cấu trúc thích hợp để nghiên cứu vì có độ phân giải hợp lý 2,87 Å so với 6VMS (3,8 Å), 6LUQ (3,10 Å), 7DFP (3,1 Å) và độ dài tinh thể (35-222, 363-443) lớn hơn 5AER (430-443).

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Phần mềm:*

Các phần mềm sử dụng bao gồm: MOE 2019.102 (hãng Chemical Computing Group), LigandScout 4.3.3 (hãng Intel: Ligand GmbH), LeadIT 2.1.8 (hãng BioSolveIT GmbH), ChemDraw 18.1 (hãng PerkinElmer), Sybyl 2.0.0.11273 (hãng Tripos - cetera).

* *Mô hình Pharmacophore:*

Dựa vào các tập chất và cấu trúc 6CM4, 3 mô hình được tạo ra. Mô hình từ phối tử chủ vận được xây dựng từ 6 thuốc chủ vận. Mô hình đi từ phức hợp được xây dựng từ cấu trúc tinh thể 6CM4 chứa D2R và phối tử đối vận risperidone. Mô hình phối tử đối vận từ 11 thuốc có hoạt tính đối vận. Các mô hình Pharmacophore được xây dựng dựa vào phần mềm LigandScout.

Sau đó, các mô hình này cần được tiến hành đánh giá để làm cơ sở cho việc lựa chọn mô hình phù hợp nhất có khả năng dự đoán tốt nhất trên tập hoạt tính và tập không hoạt tính từ tập đánh giá 255 chất [4]. Ngoài ra, tập đánh giá còn bổ sung thêm 400 chất mới từ cơ sở dữ liệu chất mới có ích (DUD-E). Việc đánh giá sẽ tập trung những thông số được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Các thông số đánh giá của mô hình Pharmacophore [5].

Thông số	Cách tính
Độ nhạy	$Se = \frac{TP}{TP + FN}$
Độ đặc hiệu	$Sp = \frac{TN}{TN + FP}$
Hiệu suất hoạt tính	$Y_a = \frac{TP}{TP + FP}$
Độ đúng	$Acc = \frac{TP + TN}{TP + FP + FN + TN}$
Điểm GH	$GH = \left(\frac{3}{4} Y_a + \frac{1}{4} Se \right) \cdot Sp$
Hệ số làm giàu EF	$EF = Y_a \cdot \frac{TP + FN}{TP + FP + TN + FN}$

* Ghi chú:

TP: Chất có hoạt tính và thỏa mãn mô hình pharmacophore.

FN: Chất có hoạt tính và không thỏa mãn mô hình pharmacophore.

FP: Chất không hoạt tính và thỏa mãn mô hình pharmacophore.

TN: Chất không hoạt tính và không thỏa mãn mô hình pharmacophore.

Se: Độ nhạy, số đo tỷ lệ các hợp chất thực sự có hoạt tính được chọn trong quá trình sàng lọc.

Sp: Độ đặc hiệu, số đo tỷ lệ các chất thực sự không hoạt tính bị loại bỏ chính xác trong sàng lọc.

Acc: Độ đúng, mô tả tỷ lệ phần trăm của các phân tử được phân loại chính xác bởi quy trình sàng lọc.

Ya: Hiệu suất hoạt tính, biểu thị mối liên quan giữa số chất có hoạt tính thực sự và tổng số hit.

GH: Điểm kết hợp độ nhạy, độ đặc hiệu và hiệu suất hoạt tính; GH: số đo hữu ích để đánh giá phân biệt các mô hình, vì xem xét cả tỷ lệ chất có hoạt tính thực sự và tỷ lệ chất không hoạt tính thực sự.

EF: Số lượng hợp chất hoạt tính được tìm thấy bằng cách sử dụng mô hình pharmacophore so với số lượng chất có hoạt tính tìm thấy theo giả

thuyết nếu các hợp chất được sàng lọc ngẫu nhiên [5].

Thông thường, mô hình pharmacophore được đánh giá là khá tốt khi có $0,6 < GH < 1$ và $EF > 1$.

** Mô hình docking:*

Chuẩn bị phức hợp: Quá trình được tiến hành trong phần mềm MOE. Đầu tiên, phức hợp cần xóa đi các phân tử nước, các phối tử không liên quan thông qua Sequence Editor. Sử dụng công cụ QuickPrep để chuẩn bị cấu trúc 3D protein và proton hóa. Chuẩn bị phối tử: Tiến hành trong Sybyl. Bước 1: Tối thiểu hóa năng lượng lần 1, chọn Compute/Minimize/Molecule. Bước 2: Tiến hành chạy động học phân tử bằng công cụ Compute/Dynamics/Setup Simulated Annealing. Bước 3: Thực hiện lại bước 1. Tiến hành docking: Quá trình được tiến hành trong LeadIT. Chuẩn bị túi gắn kết bằng công cụ Prepare receptor. Chọn phối tử để docking bằng công cụ Docking/Choose Docking Library. Xác định các thông số cho quá trình docking bằng công cụ Docking/Define FlexX Docking.

Đánh giá mô hình được thực hiện như sau: Chuẩn bị 4 phối tử ở dạng file *.sdf. Phối tử 1 (PT1): Phối tử risperidon được tách ra từ 6CM4. Phối tử 2 (PT2): Phối tử risperidon được tách ra từ 6CM4 và được chuẩn bị như

quy trình chuẩn bị phối tử như trên. Phối tử 3 (PT3): Phối tử risperidon được vẽ bằng phần mềm Chemdraw và được chuẩn bị như quy trình chuẩn bị phối tử như trên. Phối tử 4 (PT4): Phối tử dopamine được vẽ bằng phần mềm Chemdraw và được chuẩn bị như quy trình như trên.

Tác giả Mansour thực hiện đột biến chọn lọc Asp114, Ser194 và Ser197 của D2R. Việc loại bỏ điện tích âm với sự đột biến của Asp114 thành asparagine hoặc glycine dẫn đến mất hoàn toàn cả liên kết chủ vận và đối kháng. Đặc biệt, Ser197 quan trọng hơn Ser194 đối với liên kết chủ vận [6]. Dữ liệu thay đổi ái lực của phối tử risperidone với các acid amin bị đột biến alanine trong túi gắn kết cho thấy các acid amin quan trọng đối với sự gắn kết đối vận gồm Asp114, Trp386, Phe389, Tyr416, Thr119, Thr412, Trp100, Phe382, Val111, Phe390 [7]. Sự thành công của việc docking được đo bằng căn bậc hai trung bình bình phương độ lệch (RMSD) giữa các vị trí nguyên tử nặng được quan sát thực nghiệm của phối tử và những vị trí được chương trình dự đoán. Các cấu dạng có $RMSD < 2 \text{ \AA}$ được coi là thành công và việc docking có RMSD nằm trong khoảng từ 2 - 3 Å được coi là thành công một phần [8]. Ngoài ra, mô thức gắn kết cần có các acid amin quan trọng đối với chất đối vận như đã trình bày.

3. Đạo đức nghiên cứu

Tác giả chính của nghiên cứu này là người chịu trách nhiệm về nội dung bản thảo. Số liệu phân tích trong bài là trung thực. Bản thảo đăng nguyên vẹn lần đầu và chưa từng được đăng ở bất kỳ tạp chí hoặc cơ sở dữ liệu có thể tiếp cận công khai

nào. Tác giả cam kết không có xung đột về lợi ích với các cá nhân hay tổ chức khác; Tạp chí Y Dược học Quân sự có toàn quyền sử dụng công trình này (nếu được chấp nhận đăng) để quảng bá tới bạn đọc bằng các hình thức khác nhau (bản in giấy và bản điện tử).

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Mô hình Pharmacophore

* *Mô hình Pharmacophore phối tử chủ vận:*

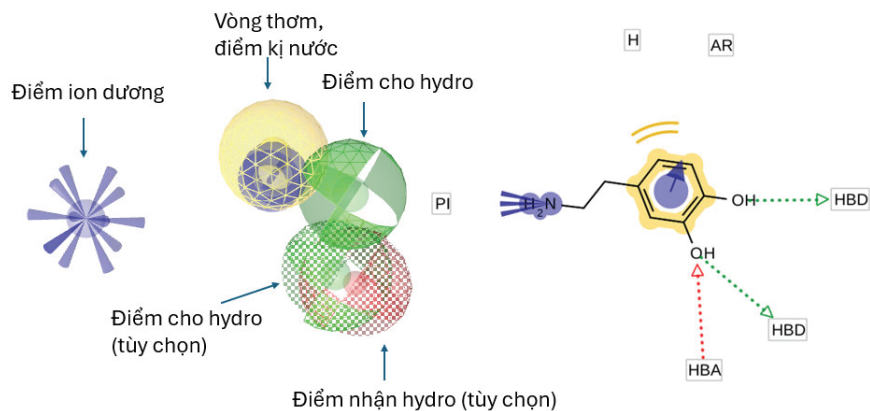
Kết quả thu được 200 mô hình, trong đó có nhiều mô hình có đánh giá giống nhau, 4 mô hình có kết quả tốt nhất được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Thông số đánh giá của 4 mô hình Pharmacophore đi từ chất chủ vận.

Mô hình	TP	FN	TN	FP	Sp	Se	ACC	Ya	GH	EF
5	142	5	305	203	0,60	0,97	0,68	0,41	0,33	1,83
28	111	36	458	50	0,90	0,76	0,87	0,69	0,64	3,07
145	63	84	450	58	0,89	0,43	0,78	0,52	0,44	2,32
151	65	82	448	60	0,88	0,44	0,78	0,52	0,44	2,32

Các mô hình đều có hệ số làm giàu $EF > 1$. Với độ nhạy Se, mô hình 5 có độ nhạy cao nhất vượt trội là 0,97 trong khi mô hình 28 chỉ có 0,76. Về độ đặc hiệu Sp, mô hình số 28 đứng đầu với 0,9, theo sau là mô hình 145 và 151, và đứng cuối là mô hình 5 với 0,6. Nếu xem xét độ đúng ACC, mô hình số 28 cho độ đúng cao nhất là 0,87. Mô hình số 28 có hiệu suất hoạt tính Ya cao hơn các mô hình khác là 0,69, trong khi mô hình số 5 xếp cuối với

0,41. Như vậy, mô hình số 28 có độ đặc hiệu, độ đúng, hiệu suất hoạt tính cao nhất, trong khi độ nhạy lại hơi thấp. Mô hình số 5 thì ngược lại, tuy nhiên độ nhạy cao nổi trội. Để đánh giá một mô hình tốt hay không, nếu chỉ đánh giá trên từng điểm số như vậy thì khó kết luận, cần có một con số kết hợp với trọng số hợp lý. Điểm số GH sẽ quyết định mô hình nào được sử dụng nên mô hình số 28 được chọn còn mô hình 5 bị loại vì điểm GH nhỏ nhất.

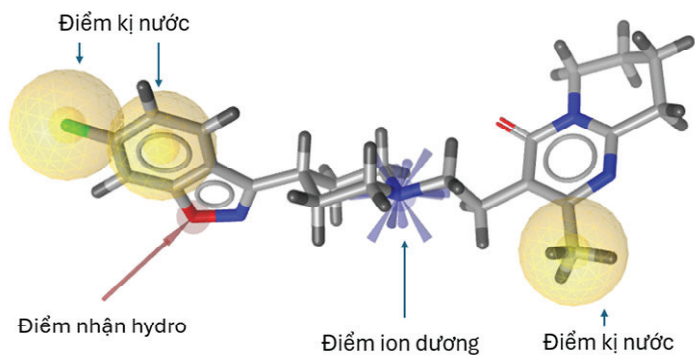


Hình 2. Mô hình Pharmacophore 28 đi từ các chất chủ vận (bên trái) thể hiện lên phân tử dopamine (bên phải).

Mô hình Pharmacophore 28 được minh họa trong hình 2 gồm có 1 điểm ion dương, 1 vòng thơm, 1 điểm kỵ nước, 1 điểm cho hydro có ở tất cả các chất trong tập xây dựng. Ngoài ra, một điểm nhận hydro và điểm cho hydro khác có thể có hoặc không ở chất này và chất kia. Cụ thể, 5 chất trong tập xây dựng bromocriptine, apomorphine, ropinirole, dopamine, rotigotine đều có điểm cho hydro tùy chọn, ngoại trừ pramipexole. Apomorphine, ropinirole, dopamine, rotigotine đều có điểm nhận hydro tùy chọn, ngoại trừ bromocriptine và pramipexole.

** Mô hình Pharmacophore phức hợp với phối tử đối vận:*

Cấu trúc tinh thể 6CM4 chứa D2R và phối tử đối vận risperidon. Do đó, cấu trúc này được sử dụng để xây dựng mô hình Pharmacophore. Mô hình Pharmacophore gồm có 1 điểm ion dương, 3 điểm kỵ nước, và 1 điểm nhận hydro minh họa như hình 3.



Hình 3. Mô hình Pharmacophore đi từ phức hợp 6CM4.

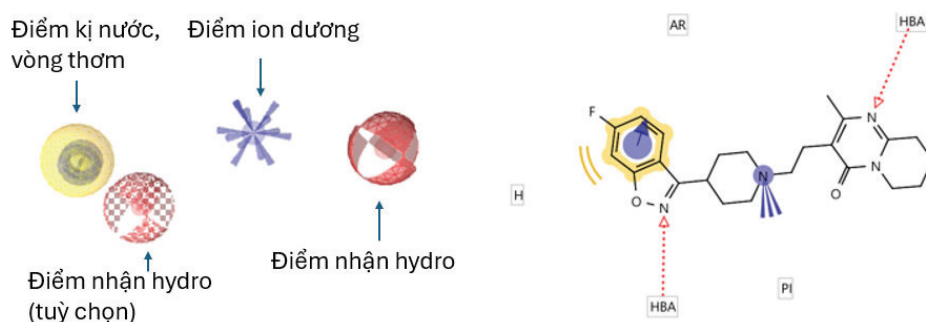
* Mô hình Pharmacophore phối tử đối vận:

Bảng 3. Thông số đánh giá của 4 mô hình Pharmacophore đi từ chất đối vận.

Mô hình	TP	FN	TN	FP	Sp	Se	ACC	Ya	GH	EF
7	28	119	483	25	0,95	0,19	0,78	0,53	0,42	2,35
11	68	79	454	54	0,89	0,46	0,80	0,56	0,48	2,48
26	28	119	484	24	0,95	0,19	0,78	0,54	0,43	2,40
94	115	32	342	166	0,67	0,78	0,70	0,41	0,34	1,82

Bốn mô hình có kết quả đánh giá cao nhất được tổng hợp trong bảng 3 về độ đặc hiệu, các mô hình 7, 26 đứng đầu với 0,95. Với độ nhạy, mô hình 94 vượt trội là 0,78. Nếu xem xét độ đúng, mô hình số 11 cho độ đúng cao nhất là 0,80. Tiếp theo, mô hình số 11 có hiệu suất hoạt tính cao hơn các mô hình khác là 0,56. Điểm số GH sẽ quyết định mô hình nào được sử dụng nên mô hình số 11 được chọn làm đại diện với điểm số GH là 0,48; hệ số làm giàu 2,48.

Mô hình 11 được minh họa trong hình 4 gồm 1 điểm ion dương, 1 điểm kỵ nước, 1 vòng thơm, 1 điểm nhận hydro và tùy chọn không bắt buộc là 1 điểm nhận hydro khác.



Hình 4. Mô hình Pharmacophore 11 của các chất đối vận (bên trái) thể hiện lên phân tử risperidon (bên phải).

* Đánh giá các mô hình Pharmacophore:

Những mô hình tốt nhất ở trên được liệt kê trong bảng 4. Khi so sánh giữa các mô hình, mô hình 3D Pharmacophore đi từ các chất chủ vận có kết quả tốt nhất, điểm GH là 0,64 và hệ số làm giàu 3,07 cao hơn hai mô hình kia. Ngoài ra, mô hình đối vận và chủ vận được đánh giá qua chính các tập xây dựng từ 6 thuốc chủ

vận và 11 thuốc đối vận thì đều đạt điểm đánh giá tuyệt đối. Cụ thể, đối với mô hình 3D Pharmacophore đi từ thuốc chủ vận, 6 thuốc chủ vận đều đáp ứng được 3D Pharmacophore và 11 thuốc đối vận đều không sàng lọc qua 3D Pharmacophore. Với mô hình 3D Pharmacophore đi từ thuốc đối vận, 11 thuốc đối vận đều đáp ứng được 3D Pharmacophore và 6 thuốc chủ vận đều không sàng lọc qua 3D Pharmacophore.

Bảng 4. Tóm lược thông số đánh giá các mô hình Pharmacophore.

Mô hình	TP	FN	TN	FP	Sp	Se	ACC	Ya	GH	EF
Phức hợp đối vận	17	130	467	41	0,92	0,12	0,74	0,29	0,23	1,31
Đối vận	68	79	454	54	0,89	0,46	0,80	0,56	0,48	2,48
Chủ vận	111	36	458	50	0,90	0,76	0,87	0,69	0,64	3,07

2. Mô hình docking

Kết quả redocking được trình bày ở bảng 5. Kết quả RMSD của các phối tử đều nhỏ hơn 2 Å, đạt yêu cầu. Về điểm số docking, giá trị trung bình là -31,33 kJ/mol, độ lệch chuẩn 0,58, độ lệch chuẩn tương đối RSD 1,83%. Như vậy, điểm số docking có sự thay đổi ít và RMSD bé hơn 2 Å. Mô thức gắn kết của 3 cấu dạng risperidone nói trên và dopamine đều có những acid amin quan trọng trong liên kết với D2R. Liên kết giữa phối tử với Asp114 xuất hiện ở cả phối tử chủ vận lẫn đối vận. Ngoài ra, với phối tử là dopamine thì thấy xuất hiện liên kết với Ser197.

Bảng 5. Kết quả redocking risperidone và docking dopamine.

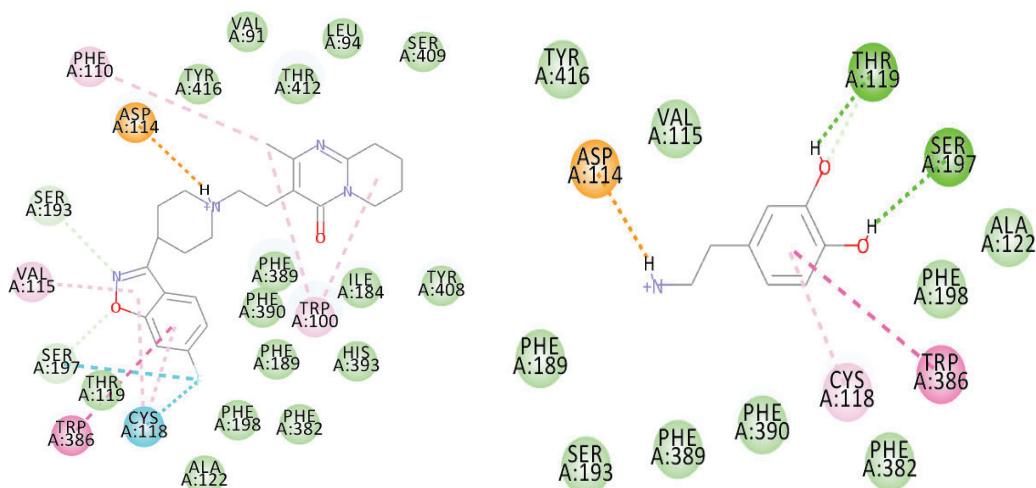
Phối tử	Điểm số docking (kJ/mol)	RMSD (Å)	Acid amin quan trọng trong mô thức gắn kết
1	-31,58	1,18	Asp114 (lk cầu muối), Trp100 (lk π -alkyl), Trp386 (lk π - π T)
2	-30,67	1,08	Tương tự PT1 và bổ sung thêm Phe389 (lk Van der Waals), Phe390 (lk π - π T)
3	-31,74	0,86	Tương tự PT1 và bổ sung thêm Phe389 (lk Van der Waals)
4	-18,15	-	Asp114 (lk cầu muối), Ser197 (lk hydro)

(* lk: liên kết)

Khoang gắn kết tự tạo ra từ phần mềm LeadIT bao gồm 33 acid amin như sau: Val87, Trp90, Val91, Leu94, Trp100, Phe110, Val111, Asp114, Val115, Met116, Cys118, Thr119, Ala120, Ser121, Ala122, Leu123, Ile184, Phe189, Ser193, Ser194, Ser197, Phe198, Pro201, Phe382, Trp386, Phe389, Phe390, His393, Pro405, Tyr408, Ser409, Thr412, Tyr416. Khoang gắn kết của 6CM4 có đầy đủ các acid amin quan trọng trong liên kết với chất đối vận như Asp114, Trp386, Phe389, Tyr416, Thr119, Thr412, Trp100, Phe382, Val111, Phe390.

Mô thức gắn kết của PT1 (Hình 5) có tương tác với các acid amin sau: Asp114, Phe110, Trp100, Cys118, Trp386, Ser197, Val115, Ser193 trong đó có những acid amin quan trọng trong liên kết với chất đối vận là Asp114, Trp100, Trp386. Tương tự

như vậy, đối với PT2 là các acid amin Asp114, Phe110, Trp100, Tyr408, Phe389, Val115, Ser197, Cys118, Trp386, Phe390, Ala112; trong đó, có những acid amin liên kết với chất đối vận là Asp114, Trp386, Trp100, Phe389, Phe390. Các acid amin không thể thiếu trong liên kết với chất đối vận ở PT3 là Asp114, Trp386, Phe389, Trp100. Các acid amin khác xuất hiện trong liên kết với PT3 bao gồm Phe110, Tyr408, Val115, Cys118, Ser197, Ala112. Ngoài ra, khi ta xem xét với phối tử là dopamine PT4, không phải là chất đối vận như risperidone, để kiểm tra xem có các liên kết quan trọng giữa thụ thể với chất chủ vận hay không thì thấy xuất hiện liên kết với acid amin quan trọng Ser197 và Asp114 bên cạnh liên kết hydro với Thr119, liên kết π - π T với Trp 386, liên kết π -alkyl với Cys118.



Hình 5. Các acid amin tương tác với risperidone PT1 và dopamine PT4.

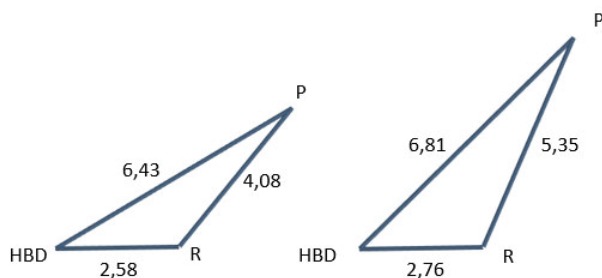
BÀN LUẬN

1. Mô hình Pharmacophore

Nghiên cứu đã xây dựng mô hình Pharmacophore trên 6 chất chủ vận. Mô hình đi từ các chất chủ vận gồm điểm ion dương, vòng thơm, điểm kỵ nước, điểm cho hydro. Cả 3 mô hình đều có chung điểm ion dương, điểm kỵ nước. Mô hình phức hợp với risperidone và mô hình phối tử đối vận đều có điểm nhận hydro. Hơn nữa, nghiên cứu cũng chỉ ra cần cần trọng khi sử dụng pharmacophore để phân biệt các chất chủ vận và đối vận (liên quan điểm cho và nhận hydro). Chẳng hạn như, mô hình Pharmacophore các chất đối vận sử dụng để sàng lọc thì vẫn có những chất chủ vận thỏa mãn. Do đó, quá trình sàng lọc các chất chủ vận nên kết hợp với các mô hình khác nữa để tăng tính chọn lọc.

Ngoài ra, khi so sánh kết quả nghiên cứu này với những nghiên cứu khác về mô hình pharmacophore dựa trên các chất chủ vận, có nhiều điểm tương đồng như đều có điểm ion dương (P), vòng thơm (R), điểm cho hydro (HBD). Hình 6 chỉ ra tam giác

pharmacophore của nghiên cứu này và của Sommer T khá giống nhau, chỉ khác một ít về độ dài cạnh (đơn vị đo Å). Sommer T xây dựng mô hình dựa trên 11 chất gồm apomorphine, talipexole, ADTN và 8 chất nữa với cấu trúc công kênh, kéo dài bằng phần mềm Discovery Studio 3.1. Chỉ 1 chất apomorphine xuất hiện trong tập 6 chất chủ vận của nghiên cứu này [9]. Một cách tương tự, tác giả Zell L và CS cũng chỉ ra mô hình tối ưu M3 gồm có điểm ion dương, điểm cho và nhận hydro, vòng thơm và điểm kỵ nước. Mô hình này được xây dựng từ 3 chất: 8-hydroxy-5-(4-(4-((2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-7-yl)oxy)butyl)-1,4-diazepan-1-yl)quinolin-2(1H)-on; apomorphine; naxagolid với phần mềm LigandScount. Các thông số đánh giá gồm có độ đặc hiệu Sp 1,00; độ nhạy Se 0,38; độ đúng 0,99; điểm số GH 0,65; hiệu suất hoạt tính Ya 0,74; hệ số làm giàu EF 41,29 [3]. Phần lớn các thông số đánh giá đều cao hơn nghiên cứu này, ngoại trừ độ nhạy thấp hơn. Điểm GH của mô hình nghiên cứu này gần bằng mô hình M3 của tác giả Zell L.



Hình 6. Mô hình pharmacophore nghiên cứu này (trái) và Thomas Sommer (phải).

2. Mô hình docking

Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình docking dựa trên cấu trúc tinh thể 6CM4 của D2R. Giá trị RMSD của PT1 khác 0 cho thấy vẫn có sự thay đổi cấu dạng so với phối tử đối chiếu khi thực hiện docking. Sự thay đổi này vẫn nằm trong giới hạn cho phép cho thấy bước chuẩn bị khoang gắn kết không bị sai và không ảnh hưởng quá lớn tới kết quả. Giá trị RMSD của PT2 nhỏ hơn PT1 cho thấy quy trình tối thiểu hoá năng lượng phối tử 2 lần kết hợp chạy động học cho kết quả tốt hơn khi không thực hiện quy trình này ở PT1. Giá trị RMSD của PT3 nhỏ nhất cho thấy việc chuyển từ dạng 2D sang dạng 3D và tối thiểu hoá năng lượng của risperidone cho kết quả tốt nhất trong 3 PT. Cấu dạng của PT3 có vị trí gần với cấu dạng của phối tử đối chiếu từ thực nghiệm. 6CM4 là một cấu trúc tinh thể có độ phân giải tốt, tuy nhiên lại gắn kết với risperidon là một chất đối vận

D2R. Do đó, mô thức gắn kết của PT4 được xem xét, chất chủ vận nội sinh dopamine có gắn kết với acid amin quan trọng như Asp114, Ser197. Như vậy, quy trình chuẩn bị khoang gắn kết của thụ thể và quy trình chuẩn bị phối tử này đáp ứng được yêu cầu và mô hình docking này có thể sử dụng được.

Vì cấu trúc tinh thể 6CM4 chỉ xuất hiện gần đây vào năm 2018 nên những nghiên cứu trước đó nếu có thực hiện docking đều phải xây dựng mô hình homology. Mô hình của Sommer T và CS đi từ cấu trúc tinh thể 3SN6, 3P0G, 1AZT để xây dựng mô hình homology bằng chương trình ClustalX, BioEdit, Modeller 9v4, Amber 10, phần mềm docking AutoDock Vina. Nghiên cứu của Sommer T (2017) khi thực hiện docking đã dựa vào mô hình homology của tác giả Kling RC và CS (2013) [9]. Tọa độ thụ thể β_2 và protein Gas được sử dụng làm hình mẫu để tạo ra mô hình homology của D2R trong phức

hợp với protein Gai1 [10]. Gần đây, các nghiên cứu đã được tiến hành trên cấu trúc tinh thể 6CM4. Năm 2019, tác giả Emanuel DR và CS đã so sánh việc docking trên cấu trúc tinh thể 6CM4 và mô hình homology. Bằng cách đánh giá RMSD trong so sánh vùng gắn kết của protein và đánh giá sàng lọc trên tập phối tử và tập môi, tác giả khuyến cáo rằng nên sử dụng cấu trúc tinh thể trong việc sàng lọc ảo [11]. Năm 2021, tác giả Mejia-Gutierrez M và CS đã thực hiện việc docking lại trên cấu trúc 6CM4, sử dụng phần mềm AutoDock Vina với thiết lập hộp có tọa độ XYZ lần lượt là 9,9; 5,8; -9,5 Å. Điểm số docking là -8,9 kcal/mol (-37,24 kJ/mol) và RMSD 1,244 Å [12]. Điểm số docking và RMSD cho thấy nghiên cứu này và nghiên cứu của Mejia-Gutierrez, M không có khác biệt quá lớn.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình 3D pharmacophore từ 6 thuốc chủ vận và đánh giá trên các thông số đánh giá về độ nhạy, độ đặc hiệu, độ đúng, hiệu suất hoạt tính, điểm GH tương đồng với các nghiên cứu trước đó. Mô hình pharmacophore từ thuốc chủ vận bao gồm 1 điểm ion dương, 1 vòng thơm, 1 điểm kỵ nước, 1 điểm cho hydro. Ngoài ra, nghiên cứu chỉ rõ mô hình Pharmacophore này tốt hơn so với mô hình 11 chất đối vận và mô hình đi

từ cấu trúc tinh thể 6CM4 trong việc tìm kiếm các chất chủ vận với điểm GH 0,64. Mô hình docking được xây dựng từ cấu trúc D2R 6CM4, redocking đạt yêu cầu với giá trị với điểm số docking khoảng -31 kJ/mol, RMSD từ 0,86 - 1,18 Å, có gắn kết với các acid amin quan trọng, đạt yêu cầu. Kết quả docking trên D2R và dopamine có điểm số docking là -18,15 kJ/mol và mô thức gắn kết có liên kết cầu muối với Asp114 và liên kết Hydro với Ser197. Mô hình này cùng với mô hình QSAR nhị phân từ nghiên cứu trước đó có thể sử dụng như “những chiếc phễu lọc” giúp cho việc sàng lọc tìm kiếm thuốc hiệu quả, tiết kiệm thời gian, chi phí, tiền bạc, tăng tốc tìm kiếm các ứng viên cho nghiên cứu *in vitro* và lâm sàng.

Lời cảm ơn: Tôi xin chân thành cảm ơn GS. TS. Thái Khắc Minh, Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ thực hiện đề tài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Missale C, et al. Dopamine receptors: From structure to function. *Physiological Reviews*. 1998; 78(1): 189-225.
2. Pan X, et al. Dopamine and dopamine receptors in Alzheimer's disease: A systematic review and network meta-analysis. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2019; 11(175):1-14.

3. Zell L, et al. Identification of novel dopamine D(2) receptor ligands- a combined in silico/in vitro approach. *Molecules*. 2022; 27(14).
4. Bùi Quốc Dũng và CS. Nghiên cứu QSAR nhị phân trên các chất chủ vận thụ thể dopamin 2 liên quan đến bệnh Alzheimer. *Tạp chí Y Dược học. Bộ Y tế*. 2020; 2:127-131.
5. Langer T, et al. Pharmacophores and pharmacophore searches. *Wiley*. 2006.
6. Mansour A, et al. Site-directed mutagenesis of the human dopamine D2 receptor. *Eur J Pharmacol*. 1992; 227(2):205-214.
7. Wang S, et al. Structure of the D2 dopamine receptor bound to the atypical antipsychotic drug risperidone. *Nature*. 2018; 555(7695):269-273.
8. Kumar TDA. Drug design: A conceptual overview. *BSP*. 2022.
9. Sommer T, et al. Identification of the beer component hordenine as food-derived dopamine D2 receptor agonist by virtual screening a 3D compound database. *Scientific Reports*. 2017; 7:44201.
10. Kling RC, et al. Active-state models of ternary GPCR complexes: Determinants of selective receptor-g-protein coupling. *PLOS ONE*. 2013; 8(6):e67244.
11. Emanuel DR, Arry Y, and Raymond RT. Comparison of dopamine D2 receptor (homology model and X-ray structure) and virtual screening protocol validation for the antagonism mechanism. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2019; 9:17-22.
12. Mejia-Gutierrez M, et al. In silico repositioning of dopamine modulators with possible application to schizophrenia: Pharmacophore mapping, molecular docking and molecular dynamics analysis. *ACS Omega*. 2021; 6(23):14748-14764.

ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM PHÁT ÂM Ở CHUỘT NHẤT ĐƯỢC SINH RA TỪ CHUỘT MẸ CÓ PHƠI NHIỄM VỚI ACID VALPROIC

Đinh Trọng Hà^{1}, Tống Minh Phát¹, Nguyễn Lê Chiến¹*

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá đặc điểm hoạt động phát âm siêu âm của chuột nhắt ở các ngày tuổi 3, 5, 7 và 9 được sinh ra từ chuột mẹ có phơi nhiễm acid valproic. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu thực nghiệm, mô tả cắt ngang, có đối chứng trên chuột nhắt chủng Swiss, chia thành hai nhóm: Nhóm dung dịch NaCl 0,9% (nhóm chứng - NC) và nhóm phơi nhiễm acid valproic (VPA500); mỗi nhóm 15 chuột con sinh ra từ chuột mẹ mang thai đã được tiêm phúc mạc liều đơn dung dịch NaCl 0,9%, 0,01 mL/g/kg cân nặng (NC) và tiêm phúc mạc dung dịch acid valproic 50 mg/mL, liều 500 mg/kg cân nặng (VPA500) vào ngày mang thai thứ 12,5. Ghi âm và phân tích phát âm siêu âm chuột ở hai nhóm vào các ngày tuổi 3, 5, 7 và 9. **Kết quả:** Tỷ lệ phát âm NC đạt 100% ở ngày tuổi 3, 5 và 9; nhóm VPA500 đạt 100% ở ngày tuổi 7; năng lượng trung bình (NLTB) của các cuộc phát âm không có sự khác biệt giữa các ngày của NC; nhóm VPA500 ngày tuổi 7 thấp hơn ngày 3; hai nhóm đều sử dụng nhiều cuộc phát âm đơn như Short, Chevron, Upward, Downward. Tỷ lệ phổ phát âm siêu âm ở nhóm VPA500 thấp hơn NC ở các dạng Short, Complex, Two-components và Flat. **Kết luận:** Nhóm VPA500 có tỷ lệ phát âm đạt mức 100% chậm hơn NC; tỷ lệ một số phổ phát âm siêu âm nhóm VPA500 thấp hơn NC.

Từ khóa: Acid valproic; Phổ phát âm siêu âm.

EVALUATION OF SOME CHARACTERISTICS OF VOCALIZATION IN PUPS BORN TO MOUSE DAM EXPOSED TO VALPROIC ACID

Abstract

Objectives: To evaluate the characteristics of ultrasonic vocalization performance of pups on postnatal day 3, 5, 7, and 9, born to mothers exposed to valproic acid.

¹Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Đinh Trọng Hà (hadtqx@yahoo.com)

Ngày nhận bài: 25/12/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 19/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.620>

Methods: An experimental, cross-sectional descriptive study with a control group of Swiss mice, divided into two groups: Saline group (control group - CG), and valproic acid exposure group (VPA500); each group including 15 pups born from pregnant mice, injected intraperitoneally with a single dose of 0.9% NaCl solution. 01 mL/g of body weight (CG) and 50 mg/mL valproic acid solution dose 500 mg/kg body weight (VPA500) on day 12.5 of pregnancy. The ultrasonic vocalization of pups in 2 groups was recorded and analyzed postnatal day 3, 5, 7, and 9 of age. **Results:** The CG had pronunciation reaching 100% completion postnatal day 3, 5, and 9, and the VPA500 group had a pronunciation reaching 100% on day 7. There was no difference in the mean energy of vocalizations on each day in the CG, the average energy of vocalizations of the VPA500 group on day 7 was lower than on day 3. Both groups used single vocalizations including Short, Chevron, Upward, and Downward. The percentage of ultrasound pronunciation spectrum in the VPA500 group was lower than that in the CG in the Short, Complex, Two-components, and Flat spectrum types. **Conclusion:** The percentage of pronunciation of the VPA500 group that reached 100% completion was lower than the CG. The percentage of ultrasonic vocalization pronunciation spectrum in the VPA500 group was lower than in the CG.

Keywords: Acid valproic; Ultrasonic vocalization pronunciation spectrum.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn phổ tự kỷ (autism spectrum disorder - ASD) được định nghĩa trên cơ sở các bất thường về xã hội và giao tiếp, các hành vi lặp đi lặp lại và hạn hẹp có thể khác nhau ở các cá nhân theo mức độ từ nhẹ đến nặng. Việc tiếp xúc lâu với các yếu tố từ môi trường trong quá trình tạo phôi tử được xem là có liên quan đến sinh bệnh học của tự kỷ, do vậy, mô hình động vật gây bệnh tự kỷ thông qua phơi nhiễm một số yếu tố môi trường nhằm minh chứng cho giả thuyết này như mô hình tiếp xúc

với thalidomide ở giai đoạn chu sinh, tiếp xúc VPA, phơi nhiễm virus trước và sau sinh [2, 3]. Sử dụng âm thanh và phát âm là một trong những phương thức giao tiếp xã hội cơ bản ở người và nhiều loài động vật có xương sống bao gồm ở chuột. Chuột con cần giao tiếp với chuột mẹ từ ngay sau khi chào đời và tiếng “khóc” của chuột con khi chào đời chính là thông báo để chuột mẹ cần tui ối giúp chuột con thoát ra ngoài, nếu chuột non không “khóc” khi chào đời thì theo quy luật nó sẽ bị giết và bị ăn thịt [1]. Trong suốt 2 - 3 tuần đầu tiên của cuộc đời, chuột con phát ra âm

thanh dưới dạng sóng siêu âm với các điều kiện khác nhau như hạ thân nhiệt, kích thích thị giác, khứu giác, xúc giác hoặc kích thích đau [1]. Việc phát ra âm thanh siêu âm (USV) là một phương tiện liên lạc chính được chuột sử dụng [2, 3]. Một số bằng chứng đã chứng minh rằng chuột phát ra USV để đáp ứng với nhiều loại kích thích có thể tạo ra trạng thái hưng phấn (tích cực) hoặc khó chịu (tiêu cực). Do vậy, phát âm siêu âm khi bị tách mẹ (isolation induced ultrasound vocalization - iUSV) ở chuột sơ sinh phản ánh mức độ phát triển về giao tiếp giữa chuột con với chuột mẹ cũng như tình trạng đáp ứng cảm xúc với những yếu tố tiêu cực ở chuột con [2]. Trên thế giới, đã có nhiều hướng nghiên cứu về đặc tính phát âm của chuột ở nhiều điều kiện phát triển khác nhau. Đặc biệt là sự thay đổi khả năng phát âm siêu âm ở chuột bị phơi nhiễm với một số thuốc, được chất như alpidem, diazepam [2, 3], phổ biến nhất là với acid valproic. Tại Việt Nam, hiện có một số nghiên cứu tiên phong về vấn đề này và bước đầu đã cho ra những kết quả đáng quan tâm [4], tuy nhiên, các nghiên cứu này chỉ dừng lại ở một vài đặc tính của phát âm siêu âm ở chuột... Cần có những nghiên cứu sâu hơn để làm rõ thêm các đặc tính phát âm siêu âm của chuột, đặc biệt là đánh giá các phổ phát âm siêu âm nhằm phục vụ cho những nghiên cứu thực nghiệm, ứng dụng

điều trị và phát hiện sớm một số bệnh liên quan đến hành vi và cảm xúc trong y học, đặc biệt là trong ADS. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Đánh giá đặc điểm hoạt động phát âm siêu âm của chuột nhắt ở các ngày tuổi 3, 5, 7 và 9 được sinh ra từ chuột mẹ có phơi nhiễm với acid valproic.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Đối tượng nghiên cứu:* Chuột nhắt khỏe mạnh dòng Swiss do Trung tâm Sản xuất Động vật thí nghiệm chuẩn thức, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp, được chăm sóc và ghép cặp tại Labo Sinh lý học, Học viện quân y.

Ghép cặp: Chuột nhắt trắng cái trưởng thành chủng Swiss 10 - 14 tuần tuổi, cân nặng 35 - 40 gam được theo dõi chu kỳ động dục và ghép cặp với chuột đực trưởng thành. Chuột cái sau giao phối được tách nuôi riêng, theo dõi cân nặng hàng ngày, sự phát triển tuyến vú, bụng to lên và có hành vi làm ổ để xác định chắc chắn có thai.

Phân nhóm:

- Nhóm nước muối sinh lý (NC): 15 chuột con sinh ra từ chuột mẹ mang thai đã được tiêm phúc mạc liều đơn dung dịch NaCl 0,9%, 0,01 mL/g cân nặng vào ngày mang thai thứ 12,5.

- Nhóm phơi nhiễm với acid valproic (nhóm VPA500): 15 chuột con sinh ra

từ chuột mẹ mang thai đã được tiêm phúc mạc dung dịch acid valproic nồng độ 50 mg/mL, với liều 500 mg/kg cân nặng vào ngày mang thai thứ 12,5.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu thực nghiệm, có đối chứng, mô tả cắt ngang và theo dõi dọc.

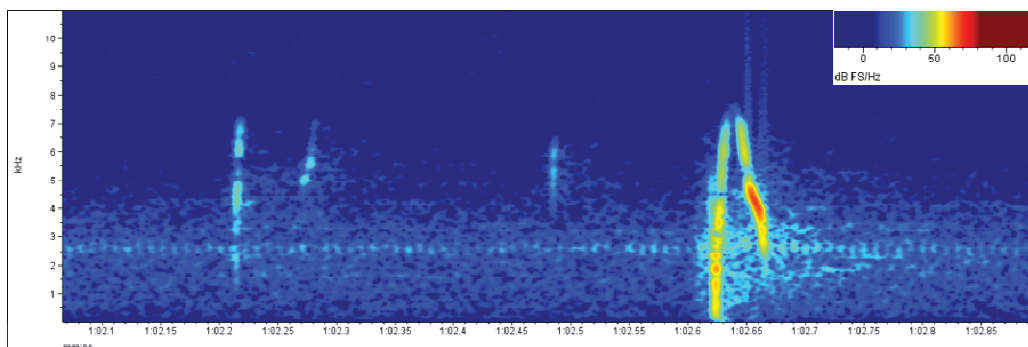
* *Hoá chất và phương tiện:*

- Hóa chất: Natri valproat (Sigma Aldrich, Đức) và dung dịch natri clorid 0,9% (Braun, Việt Nam).

- Phương tiện: Hệ thống ghi và phân tích âm siêu âm gồm bộ dò âm siêu âm D230 (Pettersson, Thụy Điển) có khả năng dò âm có tần số từ 0 - 120kHz, hộp ghi âm siêu âm (kích thước 30 x 20 x 20cm, chất liệu xốp cách âm) và phần mềm ghi và phân tích âm siêu âm Raven Pro 1.6 (Cornell Lab, Mỹ).

* *Chỉ tiêu nghiên cứu:* Tỷ lệ chuột có phát âm siêu âm (%); năng lượng âm trung bình (dB); đánh giá tỷ lệ phổ phát âm siêu âm.

* *Quy trình ghi và phân tích âm siêu âm:* Chuột con ngày tuổi 3, 5, 7 và 9 được tách khỏi mẹ và ồ, sau đó được đặt vào khay thủy tinh trong hộp ghi cách âm. Máy dò âm D230 đặt phía trên cách 5cm tới chuột ở khay. Đặt chế độ theo dõi và thu âm tự động với dải tần 10 - 120kHz trong thời gian 5 phút ghi âm. Âm thanh thu được từ máy dò âm D230 được chuyển tới máy tính kết nối và ghi lại dưới dạng tệp .wav (chế độ ghi đơn kênh, mã hóa 16 bit, tần số lấy mẫu 44,1kHz). Phân tích âm (phần mềm Raven Pro 1.6.1): Dữ liệu được phân tích với các thông số phổ (biến đổi Haming với 512 cửa sổ, 80% gối cửa sổ thời gian).



Hình 1. Hình ảnh bản đồ phân bố năng lượng âm thanh dạng phổ từ một đối tượng nghiên cứu sau xử lý bằng phần mềm Raven Pro 1.6.4.

(Màu đỏ biểu thị phần não có năng lượng sóng âm cao, màu xanh đậm tương ứng vùng có năng lượng sóng âm thấp)

* *Đặc điểm cụ thể cho từng loại âm phổ:*

- Short: Các cuộc phát âm đơn, có thời gian mỗi cuộc gọi $\leq 5\text{ms}$.

- Chevron: Các cuộc phát âm đơn, có hình ảnh âm phổ dạng chữ U ngược hoặc chữ V ngược.

- Complex: Các cuộc phát âm đơn, có hình ảnh âm phổ gồm một thành phần có sự thay đổi tần số liên tục, mỗi thay đổi $\geq 6,25\text{kHz}$.

- Upward: Các cuộc phát âm đơn, có hình ảnh âm phổ đi lên liên tục, chênh lệch tần số đầu cuối $\geq 12,5\text{kHz}$.

- Downward: Các cuộc phát âm đơn, có hình ảnh âm phổ đi xuống liên tục, chênh lệch tần số đầu cuối $\geq 12,5\text{kHz}$.

- Flat: Các cuộc phát âm đơn có tần số không đổi, hoặc có chênh lệch tần số tối đa $< 3\text{kHz}$.

- Two-components: Các cuộc phát âm có hình ảnh âm phổ bao gồm hai thành phần, một cuộc gọi chính (đi ngang hoặc đi xuống) với một thành phần bổ sung ngắn hơn ở tần số khác về phía cuối.

- Frequency-steps: Các cuộc phát âm có hình ảnh âm phổ bao gồm nhiều thành phần phát ra dưới dạng “bước nhảy” không liên tục theo chiều dọc trên một phổ nhưng không gián đoạn về thời gian.

- Composite: Các cuộc phát âm có hình ảnh âm phổ bao gồm hai thành phần độc lập phát ra đồng thời ở các dải tần số khác nhau.

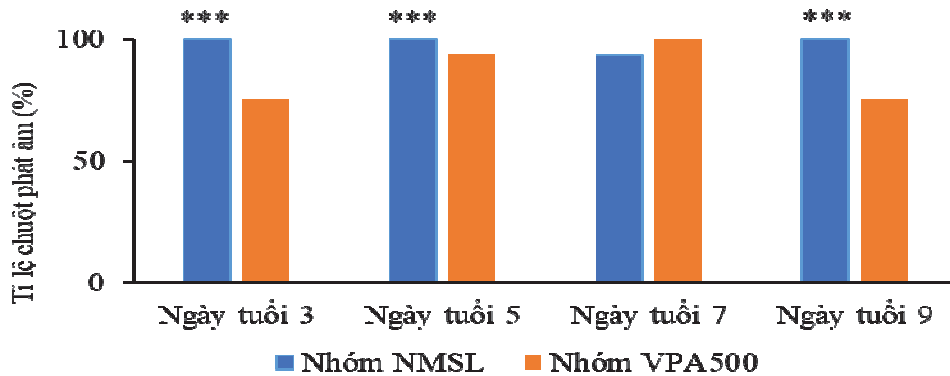
* *Xử lý số liệu:* Số liệu thu thập từ phần mềm Raven Pro 1.6.4 sẽ được chuyển qua phần mềm Excel và được phân tích bằng phần mềm IBM SPSS Statistics 22.

3. Đạo đức nghiên cứu

Các quy trình thực nghiệm và chăm sóc động vật được thực hiện theo hướng dẫn của Trung tâm Nghiên cứu và Sản xuất động vật thí nghiệm chuẩn thức, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương và Ban Cung cấp động vật thí nghiệm, Học viện Quân y. Chúng tôi xin cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm khả năng phát âm siêu âm của các nhóm chuột

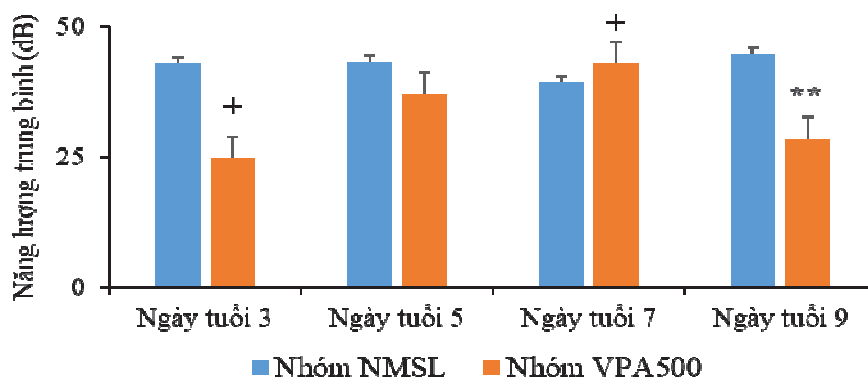


(***: $p < 0,001$ so sánh giữa các nhóm trong cùng ngày tuổi, kiểm định χ^2)

Biểu đồ 1. Tỷ lệ chuột phát âm (%).

Tỷ lệ (%) chuột phát âm có sự khác biệt theo nhóm (kiểm định χ^2). NC có tỷ lệ phát âm đạt đỉnh sớm hơn, đạt mức hoàn thiện 100% ở ngày tuổi 3, 5 và 9. Nhóm VPA500 có tỷ lệ phát âm tăng dần qua từng ngày, đạt đỉnh ở ngày tuổi 7 và đạt mức hoàn thiện 100%. Có sự khác biệt về tỷ lệ % chuột phát âm giữa các nhóm ở từng ngày tuổi (kiểm định χ^2). NC cao hơn nhóm VPA500 ở ngày tuổi 3, 5 và 9.

2. Đặc điểm năng lượng trung bình trong các cuộc gọi của các nhóm chuột



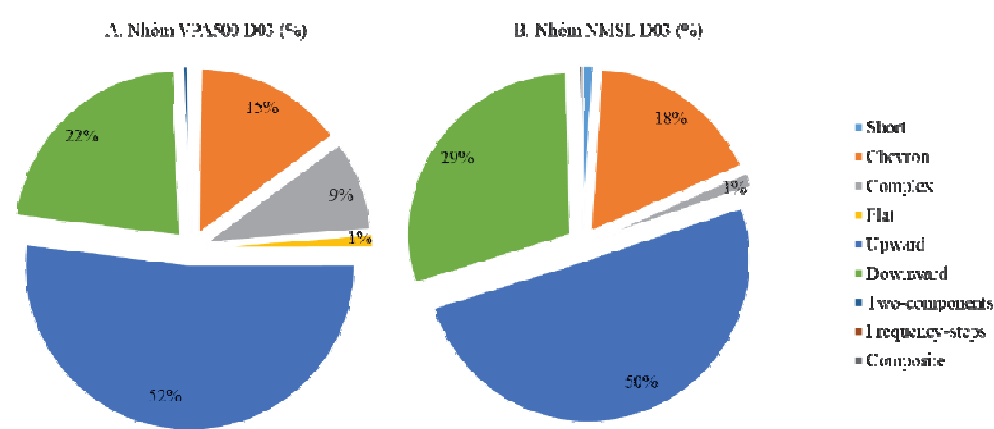
(**): $p < 0,01$ so sánh giữa các nhóm trong cùng ngày tuổi; +: $p < 0,05$ so sánh giữa các ngày tuổi trong cùng nhóm)

Biểu đồ 2. Năng lượng trung bình (dB).

Năng lượng trung bình của các cuộc gọi (ở dải tần số > 35kHz) có sự khác biệt theo nhóm ($F(1;29) = 16,415$, $p = 0,000$), trong đó, NC thấp hơn nhóm VPA500 ($p < 0,001$, kiểm định Bonferroni). Không có sự khác biệt theo ngày tuổi ($F(2,230;64,667) = 1,867$, $p = 0,158$). Có sự tương tác giữa hai nhân tố này ($F(2,230;64,667) = 4,413$, $p = 0,013$). Không có sự khác biệt về năng lượng trung bình của các cuộc

phát âm giữa các ngày của NC. Có sự khác biệt về năng lượng trung bình của các cuộc phát âm giữa các ngày của nhóm VPA500, cụ thể: Năng lượng trung bình của các cuộc phát âm ngày tuổi 7 thấp hơn ngày tuổi 3 (+, $p < 0,05$) và ngày tuổi 9 (+, $p < 0,05$). Có sự khác biệt về năng lượng trung bình của các cuộc gọi giữa hai nhóm ở ngày tuổi 3 và ngày tuổi 9, NC thấp hơn nhóm VPA500 (**, $p < 0,01$, kiểm định Bonferroni).

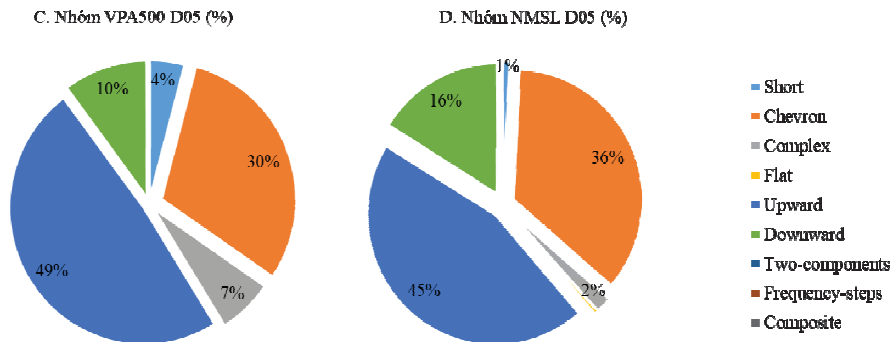
3. Đặc điểm phổ phát âm siêu âm trong các cuộc gọi của các nhóm chuột



Biểu đồ 3. Tỷ lệ phổ phát âm của hai nhóm VPA500 (A) và NC (B) ngày tuổi 3.

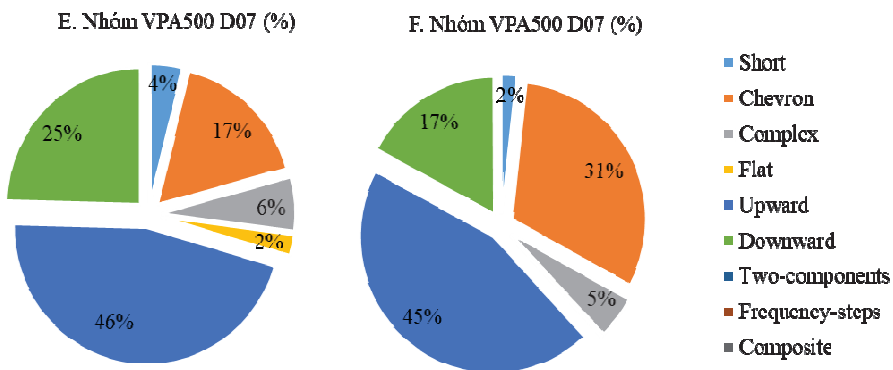
Ở ngày tuổi 3, không có sự khác biệt giữa hai nhóm VPA500 và NC về tỷ lệ phổ loại Chevron ($p = 0,512$, $t(29) = 0,341$), Upward ($p = 0,059$, $t(29) = 0,446$), Downward ($p = 0,388$, $t(29) = 0,302$) và Composite ($p = 0,284$, $t(29) = 0,578$) nhưng có sự khác biệt ở loại Short ($p = 0,015$, $t(17,787)$

$= 0,195$), Complex ($p = 0,000$, $t(16,948) = 0,063$), Flat ($p = 0,047$, $t(15) = 0,333$) và Two-components ($p = 0,047$, $t(15) = 0,333$). Trong đó, tỷ lệ phổ Complex ở nhóm VPA500 cao hơn NC. Phổ Flat chỉ xuất hiện ở nhóm VPA500 còn phổ Short chỉ xuất hiện ở NC.



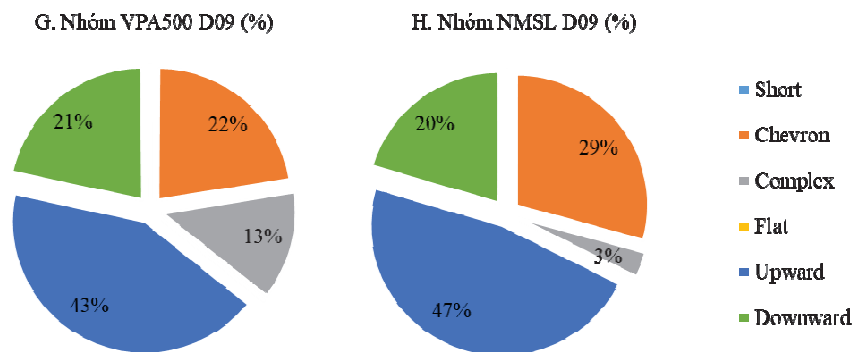
Biểu đồ 4. Tỷ lệ phổ phát âm của hai nhóm VPA500 (C) và NC (D) ngày tuổi 5.

Ở ngày tuổi 5, không có sự khác biệt giữa hai nhóm VPA500 và NC về tỷ lệ phổ loại Chevron ($p = 0,642$, $t(29) = 0,430$), Upward ($p = 0,053$, $t(29) = 0,964$), Downward ($p = 0,550$, $t(29) = 0,166$) và Two-components ($p = 0,658$, $t(29) = 0,789$). Có sự khác biệt ở loại Short ($p = 0,008$, $t(15,548) = 0,218$), Complex ($p = 0,006$, $t(17,903) = 0,040$) và Flat ($p = 0,034$, $t(14) = 0,334$). Trong đó, tỷ lệ phổ Short, Complex ở nhóm VPA500 cao hơn NC.



Biểu đồ 5. Tỷ lệ phổ phát âm của hai nhóm VPA500 (E) và NC (F) ngày tuổi 7.

Không có sự khác biệt giữa hai nhóm VPA500 và NC về tỷ lệ phổ loại Complex ($p = 0,084$, $t(29) = 0,484$), Upward ($p = 0,891$, $t(29) = 0,608$), Downward ($p = 0,107$, $t(29) = 0,124$). Có sự khác biệt ở loại Short ($p = 0,001$, $t(21,044) = 0,195$), Chevron ($p = 0,006$, $t(20,112) = 0,076$), Flat ($p = 0,012$, $t(15,078) = 0,180$), Two-components ($p = 0,006$, $t(14) = 0,207$). Trong đó, tỷ lệ phổ Short và Complex ở nhóm VPA500 cao hơn NC, phổ Flat chỉ xuất hiện ở nhóm VPA500. Trong khi, tỷ lệ phổ Chevron ở NC cao gần gấp đôi nhóm VPA500.



Biểu đồ 6. Tỷ lệ phổ phát âm của hai nhóm VPA500 (G) và NC (H) ngày tuổi 9.

Ở ngày tuổi 9, không có sự khác biệt giữa hai nhóm VPA500 và NC về tỷ lệ phổ loại Chevron ($p = 0,277$, $t(29) = 0,156$), Upward ($p = 0,394$, $t(29) = 0,168$), Downward ($p = 0,254$, $t(29) = 0,526$). Có sự khác biệt ở loại Short ($p = 0,047$, $t(15) = 0,333$), Complex ($p = 0,005$, $t(18,087) = 0,095$), Flat ($p = 0,047$, $t(15) = 0,333$), Two-components ($p = 0,047$, $t(15) = 0,333$). Trong đó, phổ Complex ở nhóm VPA500 cao hơn ở NC. Cả hai nhóm đều sử dụng các cuộc phát âm đơn bào gồm Short, Chevron, Upward, Downward nhiều hơn là các cuộc phát âm phức tạp. Tuy nhiên, tỷ lệ phổ phát âm siêu âm ở nhóm VPA500 thấp hơn so với NC ở các dạng phổ âm thanh dạng Short, Complex, Two-components và Flat.

BÀN LUẬN

Khi so sánh chuột con của nhóm VPA500 và NC, chúng tôi nhận thấy chuột con bị phơi nhiễm VPA trong

thời kì bào thai gây nên những khiếm khuyết nhất định trong phát triển ngôn ngữ. Trong đó, chuột con phơi nhiễm với VPA (nhóm VPA500) có xu hướng im lặng nhiều hơn, ít phát âm hơn so với NC, thể hiện qua tỷ lệ phát âm thấp hơn. Chuột con phơi nhiễm VPA trong thời kì bào thai cũng thể hiện tốc độ phát triển ngôn ngữ chậm so với NC (tỷ lệ chuột phát âm ở nhóm này đạt đỉnh ở ngày tuổi 7 trong khi ở NC đạt đỉnh ngay ở ngày tuổi 3). Sự phát âm trên động vật chịu sự chi phối bởi nhiều chất dẫn truyền thần kinh được chứng minh qua các can thiệp bằng thuốc. Sử dụng âm thanh là một trong những phương thức giao tiếp xã hội cơ bản ở nhiều loài động vật có xương sống, bao gồm ở chuột. Chuột phát ra âm thanh ở dải tần số siêu âm trong các bối cảnh khác nhau trong quá trình phát triển và trưởng thành. Hành vi phát âm siêu âm ở chuột sơ sinh khi bị tách đàn là một trong những cơ chế tự

vệ liên quan tới phát triển cá thể trong giai đoạn đầu đời có ý nghĩa sống còn, nhằm giúp chuột mẹ có thể định vị và đưa chúng về tổ [5]. Kết quả này phù hợp với những nghiên cứu trên mô hình chuột sử dụng liều duy nhất VPA 500 mg/kg cân nặng tiêm phúc mạc vào ngày 12,5 của thai kỳ, với liều này đều ít nhiều cho kết quả tương đồng trong sự suy giảm về hoạt động của hệ thống thần kinh, miễn dịch, tế bào và các bất thường về hành vi, sinh hóa trên người và động vật sinh ra bị phơi nhiễm VPA [6, 7]. Nghiên cứu của chúng tôi có khác biệt với các tác giả khác, trong nghiên cứu này, chúng tôi phân tích chi tiết 9 loại phổ phát âm siêu âm của chuột (Short, Chevron, Complex, Upward, Downward, Flat, Two-components, Frequency-steps, Composite) [27]. Khi so sánh tỷ lệ các phổ phát âm giữa hai nhóm là NC và VPA500, chúng tôi nhận thấy rằng, chuột con ở cả hai nhóm sử dụng các cuộc phát âm đơn dạng Short, Chevron, Upward, Downward nhiều hơn là các cuộc phát âm phức tạp. Tuy nhiên, tỷ lệ phổ phát âm siêu âm ở nhóm VPA500 thấp hơn so với NC ở các dạng phổ âm thanh dạng Short, Complex, Two-components và Flat. Các kết quả này khá tương đồng với kết quả nghiên cứu gần đây về sự khác biệt về phát âm của hai nhóm, tuy nhiên, các tác giả khác chủ yếu tập

trung phân tích về sự khác biệt trong tỷ lệ các cuộc phát âm, độ trễ phát âm, thời gian phát âm... Tuy nhiên, các tác giả này không đề cập đến phổ phát âm siêu âm [5, 6]. Mục đích của phân tích chi tiết các phổ âm siêu âm nhằm phát hiện những thay đổi chi tiết trong quá trình phát triển của chuột con có phơi nhiễm với VPA, điều này có thể góp phần làm sáng tỏ những nghiên cứu nhằm phát hiện và can thiệp sớm về cơ chế bệnh sinh của rối loạn phổ tự kỉ trên người [8].

KẾT LUẬN

Tỷ lệ phát âm đạt mức hoàn thiện 100% của nhóm VPA500 chậm hơn so với NC. Năng lượng trung bình của các cuộc phát âm giữa các ngày của nhóm VPA500 có sự khác biệt, trong khi chỉ số này không có sự khác biệt ở NC. Tỷ lệ phổ phát âm siêu âm ở nhóm VPA500 thấp hơn so với NC ở các dạng phổ âm thanh dạng Short, Complex, Two-components và Flat.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Haack B, Markl H, Ehret G. Sound communication between parents and offspring. In: Willott J (ed), *The Auditory psychobiology of the mouse. Springfield: Thomas CC*. 1983:57-97.
2. Olivier B, Molewijk E, Mos J. Rat pup ultrasonic vocalization: Effects of benzodiazepine receptor ligands. *Eur J Pharmacol*. 1998; 358(2):117-128.

3. Hodgson RA, Guthrie DH, Varty GB. Duration of ultrasonic vocalizations in the isolated rat pup as a behavioral measure: Sensitivity to anxiolytic and antidepressant drugs. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2008; 88(3):341-348.
4. Trần Thị Quỳnh Trang, Đào Thu Hồng, Nguyễn Lê Chiên, Trần Hải Anh. Phôi nhiễm trước sinh với acid valproic gây thay đổi hành vi ở chuột cống. *Tạp chí Sinh lý học Việt Nam.* 2016.
5. Sewell GD. Ultrasonic communication in rodents. *Nature.* 1970:227-410.
6. Đào Thu Hồng. Nghiên cứu xây dựng mô hình bệnh tự kỷ bằng natri valproate trên chuột nhắt trắng và đánh giá tác dụng cải thiện hành vi của môi trường phong phú trên chuột thực nghiệm. *Luận văn Tiến sỹ.* Học viện Quân y. 2018.
7. Schneider T, Przewlocki R. Environmental factors in the aetiology of autism-lessons from animals prenatally exposed to valproic acid. *In: Autism-a neuro development journey from genes to behavior.* 2011:215-250.
8. Lahvis GP, Alleva E, Scattoni ML. Translating mouse vocalizations: Prosody and frequency modulation. *Genes Brain Behav.* 2011; 10:4-16.

ỨNG DỤNG KHÁNG NGUYÊN NS1 TÁI TỔ HỢP GỘP BỐN TÝP VIRUS DENGUE ĐỂ PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ IgM/IgG TRONG MÁU BỆNH NHÂN MẮC SỐT XUẤT HUYẾT DENGUE

Hoàng Xuân Cường^{1,3*}, Đỗ Như Bình¹, Vũ Tùng Sơn¹
Nguyễn Thái Quỳnh Anh¹, Vũ Minh Thương², Võ Thị Bích Thủy²

Tóm tắt

Virus Dengue (DENV) gây bệnh sốt xuất huyết Dengue (SXHD), được truyền qua muỗi *Aedes aegypti*, gồm bốn týp khác nhau (DEN-1 đến DEN-4). Kháng nguyên NS1 là dấu ấn sinh học quan trọng trong việc chẩn đoán SXHD thông qua các xét nghiệm miễn dịch đặc hiệu. **Mục tiêu:** Đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của kháng nguyên NS1 tái tổ hợp gộp 4 chủng để phát hiện kháng thể kháng DENV bằng kỹ thuật ELISA. **Phương pháp nghiên cứu:** Dùng kỹ thuật ELISA gián tiếp sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 có khả năng nhận diện cho cả 4 chủng Dengue nhằm phát hiện kháng thể IgM/IgG trong mẫu máu bệnh nhân (BN) mắc SXHD. So sánh độ nhạy, độ đặc hiệu với xét nghiệm real-time PCR. **Kết quả:** Xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp sử dụng kháng nguyên rAgNS1-DENV1-4 cho độ nhạy 95,9% và độ đặc hiệu 99,33% với ngưỡng cut-off 0,353. Giá trị tiên đoán dương tính là 95,21%, và giá trị tiên đoán âm tính là 99,43%. **Kết luận:** Kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 đạt ngưỡng giá trị tin cậy trong xét nghiệm miễn dịch phát hiện kháng thể IgM/IgG ở mẫu máu BN mắc SXHD.

Từ khóa: Sốt xuất huyết Dengue; NS1; ELISA gián tiếp; Độ nhạy; Độ đặc hiệu.

APPLICATION OF RECOMBINANT NS1 ANTIGEN FROM THE COMBINATION OF FOUR TYPES OF DENGUE VIRUS TO DETECT IgM/IgG ANTIBODIES IN BLOOD SAMPLES OF PATIENTS WITH DENGUE HEMORRHAGIC FEVER

Abstract

The Dengue virus, transmitted by *Aedes aegypti* mosquitoes and encompassing four serotypes (DEN-1 to DEN-4), causes Dengue fever. The biomarker NS1 plays

¹Học viện Quân y

²Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương, Bộ Y tế

*Tác giả liên hệ: Hoàng Xuân Cường (hoangxuancuong@vmmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 12/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 29/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.694>

a pivotal role in diagnosing Dengue fever through specific immune tests. **Objectives:** To evaluate the sensitivity and specificity of recombinant NS1 antigen combined of four types of Dengue virus to detect antibodies against Dengue virus using ELISA technique. **Methods:** The methodology includes employing an Indirect ELISA with the recombinant antigen rAgNS1-DENV1-4, capable of identifying IgM/IgG antibodies for all four Dengue serotypes in patient blood samples. The sensitivity and specificity of the method were compared with real-time RT-PCR. **Results:** The Indirect ELISA immune tests utilizing the rAgNS1-DENV1-4 antigen demonstrated a sensitivity of 95.9% and specificity of 99.33%, with a cut-off threshold of 0.353. The positive predictive value was 95.21%, and the negative predictive value was 99.43%. **Conclusion:** The recombinant antigen rAgNS1-DENV1-4 meets the reliable threshold for detecting IgM/IgG antibodies in Dengue Hemorrhagic Fever.

Keywords: Dengue hemorrhagic fever; NS1; Indirect ELISA; Sensitivity; Specificity.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt xuất huyết Dengue là bệnh truyền nhiễm cấp tính do DENV gây ra. Virus được truyền từ người sang người thông qua muỗi *Aedes aegypti*. Hiện nay, thế giới có hơn một phần ba dân số đang sống trong các khu vực có nguy cơ lây nhiễm và SXHD đóng vai trò quan trọng trong gây bệnh và tử vong ở các vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới [1, 2]. Việt Nam nằm trong vùng dịch tễ sốt xuất huyết lưu hành cao và là một trong 5 nước có gánh nặng SXHD cao nhất ở khu vực châu Á - Thái Bình Dương [3]. Hiện nay, SXHD rất khó khống chế do có 4 chủng virus khác nhau có miễn dịch chéo rất yếu, chưa có vaccine phòng

bệnh nên một người có thể bị mắc SXHD nhiều lần. Các tốp DENV khác nhau về trình tự hệ gen, độc lực virus, khả năng gây bệnh, cũng như có sự khác nhau trong tương tác với vật chủ, do đó gây ra bệnh cảnh lâm sàng đa dạng, từ không triệu chứng đến SXHD điển hình hoặc SXHD nặng với nhiều biến chứng. Hiện tại, các phương pháp chẩn đoán dựa trên phát hiện kháng thể IgM kháng DENV và xét nghiệm nhanh NS1 đã được sử dụng rộng rãi, nhưng còn hạn chế về độ nhạy và độ đặc hiệu [4, 5, 6, 7]. Việc phát triển kháng nguyên tái tổ hợp NS1 đa chủng có thể nâng cao độ chính xác của chẩn đoán SXHD. Hướng nghiên cứu này không chỉ mang tính đột phá trong việc

phát triển kháng nguyên tái tổ hợp NS1 đa chủng, mà còn tạo ra một phương pháp chẩn đoán đa mục tiêu, giúp đảm bảo độ nhạy và độ đặc hiệu cao trong việc xác định sớm nhiễm DENV. Trên cơ sở phân tích về sự cần thiết ở trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Ứng dụng kháng nguyên NS1 tái tổ hợp gộp 4 chủng (rAgNS1-DENV1-4) phát hiện kháng thể IgG/IgM kháng DENV nhằm đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của phương pháp này trong chẩn đoán bệnh.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1 DENV1-4 cộng gộp có khả năng nhận biết cả 4 chủng DENV (sản phẩm của đề tài khoa học công nghệ cấp Thành phố Hà Nội, mã số 01C-08/01-2020-03), đã được tinh sạch và bảo quản tại -20°C.

Tổng 366 mẫu máu BN được chẩn đoán SXHD và có xét nghiệm dương tính với NS1, IgG, IgM tại 02 bệnh viện (180 mẫu ở Bệnh viện Quân y (BVQY) 103 và 186 mẫu ở BVQY 175) và được xác định bằng real-time RT-PCR. Ngoài ra, nhóm chứng âm gồm 300 mẫu máu của người không bị nhiễm SXHD (thực hiện các xét nghiệm sinh hóa xác định kháng

nguyên NS1, kháng thể kháng DENV (IgM, IgG) sử dụng SXHD Bioine Dengue đều cho kết quả âm tính tại Khoa Vi sinh Y học, Bệnh viện Quân y 103 và khẳng định bằng real-time RT-PCR. Mẫu được bảo quản trong điều kiện đạt tiêu chuẩn trước khi thực hiện nghiên cứu đề tài.

** Địa điểm và thời gian nghiên cứu:*

Viện Nghiên cứu hệ gen (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) trong thời gian từ tháng 01/2022 - 7/2023.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Xác định các týp DENV bằng multiplex real-time RT-PCR:*

Mẫu máu của BN được xác định dương tính với SXHD tiến hành tách RNA bằng kit GeneJET Viral DNA/RNA Purification Kit (ThermoFisher Scientific). Sau đó, các mẫu RNA được tổng hợp cDNA bằng bộ kit SuperScript™ III First-Strand Synthesis SuperMix (ThermoFisher Scientific). Tất cả quy trình được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Bốn cặp mồi khác nhau để xác định DENV-1, DENV-2, DENV-3 và DENV-4 của DENV được tìm kiếm dựa trên các nghiên cứu trước đó theo tiêu chí đảm bảo độ đặc hiệu, độ nhạy, khả năng tương thích, khác nhau về kích thước sản phẩm PCR, tỷ lệ G-C, độ dài trình tự mồi và nhiệt độ

biến tính. Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn bộ mồi để định typ DENV dựa trên nghiên cứu của Lanciotti và CS (1992) [8]. Trình tự và kích thước của sản phẩm khuếch đại gen được trình bày ở bảng 1. Thực hiện phản ứng khuếch đại gen đích bằng phản ứng multiplex real-time PCR sử dụng SYBR™ Green PCR Master Mix xác định các typ của DENV theo hướng dẫn của bộ kit có chu trình nhiệt như sau: 95°C/3 phút; 40 chu kỳ (95°C/30 giây; 55°C/45 giây; 72°C/60 giây); 72°C/5 phút.

Bảng 1. Trình tự mồi định danh các chủng DENV.

Typ virus	Trình tự mồi 5'-3'	Kích thước
Dengue_F	5'-TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG-3'	
DENV1_R	5'-CGTCTCAGTGATCCGGGGG-3'	482 bp
DENV2_R	5'-CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3'	119 bp
DENV3_R	5'-TAACATCATCATGAGACAGAGC-3'	290 bp
DENV4_R	5'-CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA-3'	392 bp

** Quy trình thực hiện phương pháp ELISA gián tiếp:*

Bộ kit Human Anti-Dengue virus IgM/IgG ELISA Kit (Abcam - Anh) được sử dụng để đánh giá khả năng phát hiện kháng thể IgM/IgG chống lại kháng nguyên rAgNS1-DENV1-4. Cố định 150µL kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 đạt nồng độ cuối cùng 20 µg/mL/giếng lên bề mặt đĩa ELISA, ủ ở 37° trong 1 giờ. Đổ dịch và loại bỏ các kháng nguyên tái tổ hợp thừa không gắn bản bằng 300 µL/giếng dung dịch rửa PBS Tween 1X. Khóa màng bằng 300 µL/giếng dung dịch BSA 1.5%, ủ ở 37° trong 1 giờ. Rửa đĩa bằng 300 µL/giếng dung dịch rửa PBS Tween 1X. Thêm 200µL mẫu huyết thanh đã được pha loãng với dung dịch pha loãng mẫu TBS Tween 1X theo tỷ lệ 1:2, ủ ở 37° trong 1 giờ. Loại bỏ huyết thanh thừa bằng 300 µL/giếng PBS Tween 1X. Bổ sung 100µL dung dịch kháng thể cộng hợp Dengue virus anti-IgM/IgG HRP Conjugate đã được pha loãng theo tỷ lệ 1:5000 với nước khử ion vào mỗi giếng, ủ đĩa ở 37° trong 1 giờ. Ở các lần rửa đĩa đều lặp lại 3 lần để tránh nhiễm tạp. Bổ sung 100µL cơ chất TMB substrate, ủ trong tối 15 phút. Dừng phản ứng bằng 100µL dung dịch

HCl 1M. Đọc kết quả bằng máy đọc ELISA (Biotek ELX808 ELISA plate reader, Biotek, Hoa Kỳ) ở bước sóng 450nm.

** Xử lý số liệu:*

Giá trị OD₄₅₀ của 300 mẫu huyết thanh người xác định là âm tính không bị nhiễm DENV được đo bằng phương pháp ELISA gián tiếp, các mẫu được lặp lại 3 lần nhằm hạn chế sai số. Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn SD của các mẫu đo ở bước sóng 450nm, sau đó được xử lý bằng phần mềm Graphpad Prism 9 Software (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA). Tổng giá trị OD₄₅₀ trung bình mẫu âm tính với 3 lần độ lệch chuẩn SD được sử dụng làm giá trị ngưỡng để xác định xét nghiệm ELISA gián tiếp [9]. Đối với những mẫu huyết thanh có giá trị OD₄₅₀ trên ngưỡng giá trị cut-off được coi là mẫu dương tính và ngược lại. Độ chính xác xét nghiệm phát hiện kháng thể IgM/IgG trong mẫu huyết thanh sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 được so sánh với kết quả xét nghiệm real-time PCR. Một đường cong ROC được xây dựng nhằm đánh giá độ tin cậy của phương pháp xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 trong chẩn đoán. Kết quả được tính toán bằng cách sử dụng các công thức xét nghiệm chẩn đoán độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên

đoán dương tính và giá trị tiên đoán âm tính [10]. Trong đó: TP = số lượng kết quả dương tính thật, FP = số lượng kết quả dương tính giả, FN = số lượng kết quả âm tính giả và TN = số lượng kết quả âm tính thực.

$$\text{Độ nhạy: Se} = \frac{TP}{TP+FN} \times 100\%$$

$$\text{Độ đặc hiệu: Sp} = \frac{TN}{TN+FP} \times 100\%$$

Giá trị dự đoán âm:

$$NPV = \frac{FN}{FN+TN} \times 100\%$$

Giá trị dự đoán dương:

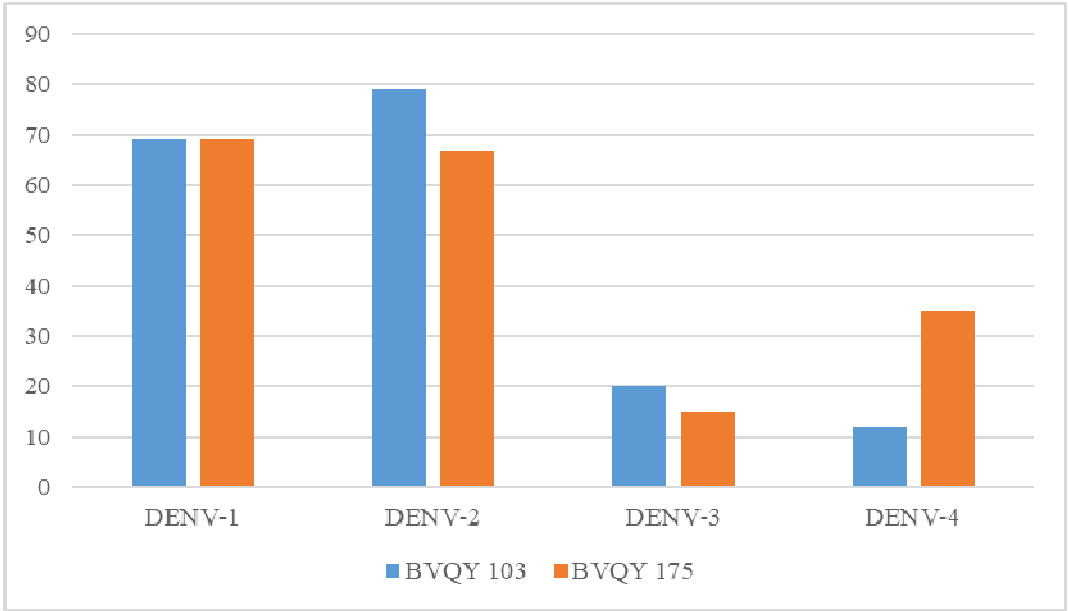
$$PPV = \frac{FP}{FP+TP} \times 100\%$$

3. Đạo đức nghiên cứu

Quy trình nghiên cứu được phê duyệt theo Giấy chứng nhận số 58/CN-VSR ngày 31 tháng 12 năm 2021 của Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y Sinh học, Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương và tuân thủ theo các tiêu chuẩn đạo đức của Tuyên bố Helsinki năm 1975. Các mẫu huyết thanh được thu thập ẩn danh bằng cách sử dụng số mã hóa, không sử dụng tên, tên viết tắt hoặc mã số nhập viện của BN. Các thông tin của BN được bảo mật nghiêm ngặt theo các hướng dẫn đạo đức quốc tế và sử dụng riêng cho nghiên cứu học thuật. Chúng tôi cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

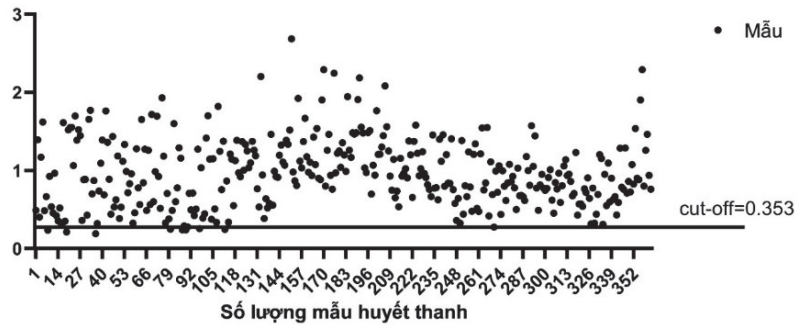
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Xét nghiệm multiplex real-time RT-PCR được thực hiện trên 666 mẫu gồm 300 mẫu xác định âm tính với DENV và 366 mẫu xác định dương tính với virus DENV. Trong tổng các mẫu dương tính từ 2 nhóm nghiên cứu trên có 138 mẫu nhiễm DENV-1 (BYQY 103: 69 mẫu; BYQY 175: 69 mẫu), 146 mẫu nhiễm DENV-2 (BYQY 103: 79 mẫu; BYQY 175: 67 mẫu); 35 mẫu nhiễm DENV-3 (BYQY 103: 20 mẫu; BYQY 175: 15 mẫu) và 47 nhiễm DENV-4 (BYQY 103: 12 mẫu; BYQY 175: 35 mẫu).



Hình 1. Biểu đồ phân bố các chủng DENV từ 2 nhóm nghiên cứu.

Để xác định giá trị ngưỡng phát hiện của các mẫu dương tính và âm tính, 300 mẫu âm tính được xác định ở trên được chọn làm số liệu để xây dựng ngưỡng cut-off. Kết quả cho thấy giá trị trung bình của các giá trị OD₄₅₀ là 0,284, độ lệch chuẩn là 0,07778. Theo công thức tính toán giá trị ngưỡng được trình bày ở trên, trong nghiên cứu này giá trị ngưỡng được xác định là 0,353. Do đó, với xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp sử dụng rAgNS1-DENV1-4 để phát hiện kháng thể trong huyết thanh, các mẫu trên ngưỡng cut-off (> 0,353) được coi là dương tính và ngược lại (Hình 1).



Hình 2. Kết quả ELISA xác định mẫu dương tính SXHD trong 2 nhóm nghiên cứu. Giá trị cut-off = 0,353.

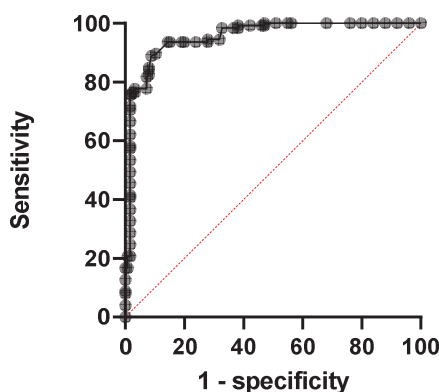
Trong số 366 mẫu bệnh được xác định dương tính bằng real-time PCR, xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp cho thấy có 351 mẫu dương tính thật và 15 mẫu âm tính giả. Với 300 mẫu đối chứng khi xét nghiệm bằng real-time RT-PCR xuất hiện 298 mẫu âm tính thật và 2 mẫu dương tính giả. Số lượng mẫu được kiểm chứng bằng phương pháp real-time RT-PCR ở cả 2 nhóm mẫu dương tính giả. Đánh giá sơ bộ về độ nhạy, độ đặc hiệu, dự đoán dương, và dự đoán âm theo công thức ở phần phương pháp cho thấy xét nghiệm định tính ELISA gián tiếp sử dụng rAgNS1-DENV1-4 cho độ nhạy 95,9% và độ đặc hiệu 99,33% với ngưỡng cut-off 0,353. Giá trị tiên đoán dương tính là 95,21%, trong khi giá trị tiên đoán âm tính là 99,43%.

Bảng 2. Đánh giá tương quan độ nhạy, độ đặc hiệu của xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp với phương pháp real-time RT-PCR.

ELISA	Real-time RT-PCR		Tổng
	(+)	(-)	
(+)	351	2	ELISA (+) = 353
(-)	15	298	ELISA (-) = 313
Tổng	366	300	666
Se (%)		95,90	
Sp (%)		99,33	
PPV (%)		99,43	
NPV (%)		95,21	

Một đường cong ROC (receiver operating characteristic) được dựng bằng phần mềm GraphPad Prism 9.0.0 so sánh giữa các điểm cut-off của phản ứng ELISA gián tiếp sử dụng rAgNS1-DENV1-4 với kết quả xét nghiệm tiêu chuẩn vàng real-time RT-PCR cho kết quả diện tích dưới đường cong AUC (Area

Under the Curve) là 0,9541 với giá trị $p < 0,0001$. Điều này chứng tỏ rAgNS1-DENV1-4 sử dụng trong xét nghiệm bằng phương pháp ELISA gián tiếp đạt ngưỡng giá trị tin cậy trong xác định kháng thể IgG/IgM trên BN SXHD.



Hình 3. Đường cong ROC đánh giá độ tin cậy của xét nghiệm miễn dịch ELISA gián tiếp sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp NS1 gộp 4 chủng DENV.

BÀN LUẬN

Một số nhóm nghiên cứu thiết kế phát triển bộ test miễn dịch huỳnh quang sử dụng dấu ấn sinh học NS1 như Yow KS và CS (2021) thu được kết quả là tất cả các test nhanh đều có giá trị dự đoán dương tính cao (98,4 - 100%) đối với IgM và khi kết hợp NS1/IgM: Standard Q có giá trị dự đoán âm tính cao nhất là 63,8% (IgM) và 96,8% (NS1/IgM). Các giá trị dự đoán dương tính (PPV) cho IgM và NS1/IgM đều trên 95%. Ngược lại, các giá trị dự đoán âm tính (NPV) nằm trong khoảng từ 39,2 - 63,8% đối với IgM. Giá trị NPV tăng lên 78,4 - 96,8% khi kết hợp NS1/IgM. Giá trị NPV của test nhanh Standard Q cao

nhất khi phát hiện IgM và kết hợp NS1/IgM [11]. Với nhóm của Haider M và CS (2022) phân tích 19 nghiên cứu ($n = 5202$; tỷ lệ nhiễm DENV là 55,9%) thấy rằng test nhanh sắc ký miễn dịch NS1 có nhiều tiềm năng chẩn đoán hơn (DOR: 48,35), tiếp theo là NS1/IgM (DOR: 27,87) và IgM (DOR: 10,54). Test nhanh sắc ký miễn dịch NS1 có độ nhạy gộp (70,0%) và độ đặc hiệu gộp (95,4%) trong giai đoạn cấp tính cao hơn so với test nhanh sắc ký miễn dịch IgM (Se: 45,32%, Sp: 92,71%) nhưng thấp hơn so với khi kết hợp NS1/IgM (Se: 78,77%, Sp: 88,25%). Sáu loại test nhanh IgM cũng có độ nhạy thay đổi (19,3 - 78,5%) và độ đặc hiệu tương đương (88,1 - 95,2%) [12]. Test nhanh

sắc ký miễn dịch NS1 có độ nhạy gộp (70,0%) và độ đặc hiệu gộp (95,4%) trong giai đoạn cấp tính cao hơn so với test nhanh sắc ký miễn dịch IgM (Se: 45,32%, Sp: 92,71%) nhưng thấp hơn so với khi kết hợp NS1/IgM (Se: 78,77%, Sp: 88,25%). Sáu loại test nhanh IgM cũng có độ nhạy thay đổi (19,3 - 78,5%) và độ đặc hiệu tương đương (88,1 - 95,2%).

Xét nghiệm ELISA này có thể hữu ích ở những nơi không có xét nghiệm định lượng real-time RT-PCR, giúp sàng lọc trên diện rộng, số lượng mẫu nhiều trên một lần xét nghiệm, và có thể trả lời những mẫu dương tính đang nhiễm một trong bốn týp DENV, thay vì phải thực hiện xét nghiệm với từng týp riêng rẽ. Điều này giúp tiếp cận cộng đồng nhanh, sẽ làm giảm nhu cầu về cơ sở vật chất phòng thí nghiệm vốn đòi hỏi nhiều nhân lực và chi phí. Thử nghiệm này cũng có thể có lợi khi so sánh với các thử nghiệm định lượng tốn nhiều thời gian hơn trong phòng thí nghiệm. Việc sử dụng xét nghiệm định tính có thể giảm bớt gánh nặng cho BN âm tính thật hoặc dương tính giả tại bệnh viện chuyên tuyến, số lượng nhập viện ít hơn, có khả năng tiết kiệm chi phí chăm sóc sức khỏe và giảm tình trạng quá tải ở các khoa cấp cứu và bệnh viện. Vì vậy, các nghiên cứu tiếp theo với cỡ mẫu phù hợp có thể củng cố hơn nữa kết quả nghiên cứu của

chúng tôi và xác định liệu việc phát hiện kháng thể kháng NS1 có giúp hỗ trợ điều trị ở giai đoạn sớm và qua đó giúp cải thiện tình trạng của BN hay không. Ngoài ra cần có sự thử nghiệm so sánh thêm với các kit thương mại khác để nâng cao độ tin cậy của phương pháp ELISA gián tiếp sử dụng rAgNS1-DENV1-4 phát hiện kháng thể IgM/IgG kháng DENV.

KẾT LUẬN

Bước đầu đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của xét nghiệm ELISA gián tiếp xác định kháng thể kháng NS1 bằng kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1DENV1-4 có độ nhạy lên đến 95,9%, độ đặc hiệu xấp xỉ 100%, giá trị tiên đoán dương tính là 95,21%, và giá trị tiên đoán âm tính là 99,43%. Cần đánh giá thêm trên cỡ mẫu lớn hơn và so sánh với nhiều kit thương mại để khẳng định độ nhạy, độ đặc hiệu của kháng nguyên tái tổ hợp rAgNS1-DENV1-4 phát hiện kháng thể IgG/IgM trong máu BN SXHD bằng xét nghiệm ELISA gián tiếp.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu xin cảm ơn Ban giám đốc BVQY 103 và BVQY 175 đã hỗ trợ và tạo điều kiện để thu thập các mẫu máu BN mắc SXHD. Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ đề tài cấp Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hà Nội, mã số 01C-08/01-2020.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. W Dengue. Guidelines for diagnosis, Treatment. *Prevention and Control*. (No Title). 2009.
2. DJ Gubler. Epidemic dengue/ dengue hemorrhagic fever is a public health, social, and economic problem in the 21st century. *Trends Microbiol*. 2002; 10(2):100-103.
3. DL Akey, et al. Flavivirus NS1 crystal structures reveal a surface for membrane association and regions of interaction with the immune system. *Science*. 2014; 343(6173):881.
4. DR Glasner, H Puerta-Guardo, PR Beatty, and E Harris. The good, the bad, and the shocking: The multiple roles of dengue virus nonstructural protein 1 in protection and pathogenesis. *Annu Rev Virol*. 2018; 5:227-253.
5. MA Kabir, H Zilouchian, MA Younas, and W Asghar. Dengue detection: Advances in diagnostic tools from conventional technology to point of care. *Biosensors (Basel)*. 2021; 11(7):206.
6. EK Alidjinou, S Tardieu, I Vrenken, D Hober, and AC Gourinat. Prospective evaluation of a commercial dengue ns1 antigen rapid diagnostic test in New Caledonia. *Microorganisms*. 2022; 10(2):346.
7. LT Liu, et al. Comparison of two rapid diagnostic tests during a large dengue virus serotype 3 outbreak in the Solomon Islands in 2013. *PLoS One*. 2018; 13(8):e0202304.
8. RS Lanciotti, CH Calisher, DJ Gubler, GJ Chang, and AV Vorndam. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1992; 30(3):545-551.
9. S Suwanto, et al. Dengue score: A proposed diagnostic predictor for pleural effusion and/or ascites in adults with dengue infection. *BMC Infect Dis*. 2016; 16(1):1-7.
10. P Tontulawat, P Pongsiri, C Thongmee, A Theamboonlers, N Kamolvarin, and Y Poovorawan. Evaluation of rapid immunochromatographic NS1 test, anti-dengue IgM test, semi-nested PCR and IgM ELISA for detection of dengue virus. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. 2011; 42(3):570.
11. Yow KS, et al. Rapid diagnostic tests for the detection of recent dengue infections: An evaluation of six kits on clinical specimens. *PLoS One*. 2021; 16(4):e0249602.
12. Haider M, et al. Diagnostic accuracy of various immunochromatographic tests for NS1 antigen and IgM antibodies aetection in acute Dengue virus infection. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022; 19(14):8756.

NGHIÊN CỨU GẮN ĐỊNH HƯỚNG KHÁNG THỂ
LÊN HẠT NANO VÀNG SẢN XUẤT QUE THỬ SẮC KÝ MIỄN DỊCH
PHÁT HIỆN NHANH AFLATOXIN M1

Nguyễn Đức Điển^{1*}, Nguyễn Văn Chuyên¹, Nguyễn Minh Phương¹
Nguyễn Văn Ba¹, Nguyễn Thị Thu Trang¹, Lê Tuấn Anh¹, Hoàng Thị Trường¹
Vũ Thị Hoa¹, Nguyễn Trọng Đạt², Nguyễn Hoàng Trung¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định một số thông số kỹ thuật của que thử sắc ký miễn dịch phát hiện nhanh Aflatoxin M1 (AFM1). **Phương pháp nghiên cứu:** Que thử sắc ký miễn dịch cạnh tranh phát hiện nhanh AFM1. Các thông số tối ưu bao gồm: Nồng độ kháng thể nhận diện bao phủ lên hạt nano vàng, dung dịch đệm nhỏ lên que thử, tính ổn định của kháng thể trên màng cộng hợp. **Kết quả:** Nồng độ kháng thể tối ưu là 5 µg/mL; dung dịch đệm nhỏ lên que thử để tăng gắn kết đặc hiệu là MES (50mM, pH 6,7). Độ ổn định của kháng thể trên màng cộng hợp là 3 tháng. Sử dụng 5 que thử trên cùng 1 lô sản xuất để thử nghiệm độ lặp lại, quan sát thấy 5/5 mẫu có độ lặp lại. **Kết luận:** Bằng cách gắn định hướng kháng thể lên hạt nano vàng, tối ưu hóa dung dịch xử lý màng cộng hợp, tối ưu dung dịch nhỏ mẫu, đã phát triển được que thử sắc ký miễn dịch phát hiện nhanh AFM1.

Từ khóa: Que thử sắc ký miễn dịch cạnh tranh; LFIA; Gắn định hướng kháng thể; Aflatoxin M₁; Độ nhạy.

RESEARCH ON ORIENTED IMMOBILIZATION OF ANTIBODY
ON GOLD NANOPARTICLES TO PRODUCE LATERAL FLOW
IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF AFLATOXIN M1

Abstract

Objectives: To determine some technical parameters of lateral flow immunoassay for rapid detection of Aflatoxin M1. **Methods:** Competitive lateral flow immunoassay

¹Học viện Quân y

²Viện Y học dự phòng Quân đội

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Đức Điển (drdiennd@gmail.com)

Ngày nhận bài: 25/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 10/01/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.529>

for rapid detection of Aflatoxin M1. Optimal parameters include the concentration of recognition antibody covering the gold nanoparticle, buffer solution applied to the test strip, and stability of the antibody on the conjugate membrane. **Results:** The optimal antibody concentration was 5 $\mu\text{g/mL}$; the buffer solution dropped onto the test strip to increase specific binding was MES (50mM, pH 6.7). The stability of the antibody on the conjugate membrane was 3 months. 5 test strips from the same production batch were used to test repeatability, and 5/5 samples were observed to have repeatability. **Conclusion:** By orienting the antibody onto the gold nanoparticle, optimizing the conjugate membrane treatment solution, and optimizing the running buffer, we have developed lateral flow immunoassay to quickly detect Aflatoxin M1.

Keywords: Lateral flow immunoassay; LFIA; Oriented immobilization; Aflatoxin M1; Sensitivity.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Aflatoxin M1 là chất chuyển hóa của Aflatoxin B1. Nếu bò ăn thức ăn nhiễm Aflatoxin B1, độc tố này sẽ được hấp thu nhanh chóng và chuyển hóa thành AFM1 và bài tiết qua sữa. Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế đã phân loại AFM1 là tác nhân gây ung thư nhóm 1 [1]. Tỷ lệ nhiễm AFM1 trong sữa trên thế giới đã được báo cáo rộng rãi.

Một số phương pháp phân tích để xác định AFM1 bao gồm: Sắc ký lỏng hiệu năng cao (high-performance liquid chromatography - HPLC), xét nghiệm miễn dịch hấp thụ liên kết với enzyme (enzyme-linked immunosorbent - ELISA). Trong số các phương pháp xét nghiệm nhanh để sàng lọc mức độ nhiễm của chất cần phân tích, xét nghiệm sắc ký miễn dịch dòng chảy bên (lateral flow immunoassay - LFIA) gần đây đã được

sử dụng nhiều để phân tích độc tố nấm mốc. Ưu điểm của LFIA là thực hiện nhanh chóng, đơn giản đặc biệt là trong phân tích ngoài thực địa.

Do tính ưu việt của phương pháp LFIA trong việc xác định AFM1 trong sữa nên hiện nay đã có một số nhóm nghiên cứu trên thế giới thực hiện theo phương pháp này. Tác giả Chun Wang đã sử dụng hạt nano vàng làm chỉ thị màu; định dạng này có giới hạn phát hiện là 50 $\mu\text{g/mL}$ và thời gian xét nghiệm là 30 phút [2]. Tại Việt Nam, có 1 công trình nghiên cứu bộ kit phát hiện nhanh AFM1 trong sữa tươi của Viện Thú y, tác giả trên sử dụng gắn kháng thể lên hạt nano vàng theo phương pháp hấp thụ vật lý. Hạn chế của phương pháp hấp thụ vật lý là sử dụng nồng độ kháng thể đơn dòng cao, khó bắt cặp kháng nguyên vì vị trí bắt cặp kháng nguyên Fab nằm vô hướng.

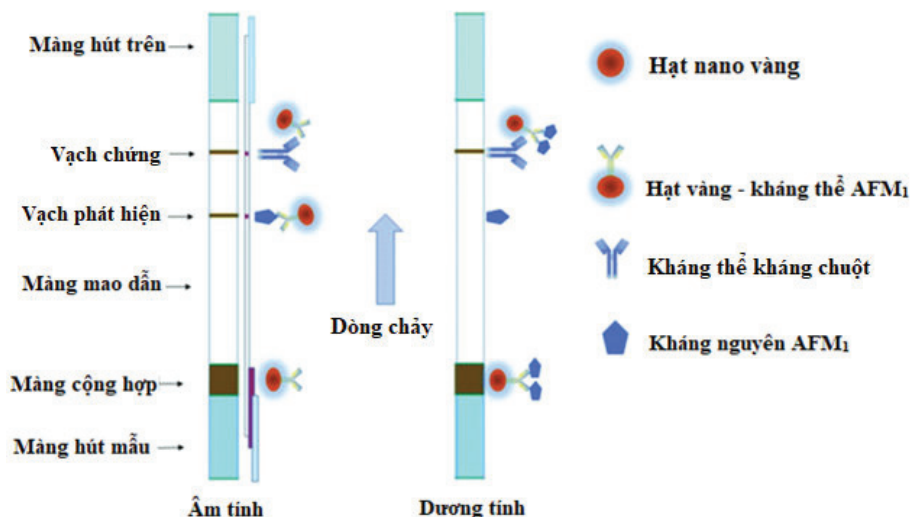
Do vậy, để loại bỏ các hạn chế trên chúng tôi gắn định hướng kháng thể lên hạt nano vàng để phát hiện nhanh AFM1 trong sữa. Nghiên cứu của chúng tôi là phương pháp mới và là công trình đầu tiên gắn định hướng kháng thể lên hạt nano vàng để phát hiện AFM1 trong sữa, với mục tiêu: *Xác định một số thông số kỹ thuật để sản xuất que thử sắc ký miễn dịch phát hiện nhanh AFM1.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng, vật liệu, hóa chất thiết bị nghiên cứu

* *Đối tượng nghiên cứu:* Que thử sắc ký miễn dịch cạnh tranh phát hiện nhanh AFM1.

Sơ đồ của LFIA cạnh tranh được thể hiện trong hình 1. Cơ chế LFIA dựa trên sự cạnh tranh của kháng nguyên AFM1 có trong mẫu thử nghiệm với kháng nguyên được trải trên màng nitrocellulose. Với sự có mặt của kháng nguyên AFM1, phức hợp hạt vàng-kháng thể sẽ liên kết với kháng nguyên có trong mẫu và không thể phản ứng với kháng nguyên trải trên màng mao dẫn. Nếu không xuất hiện vạch phát hiện thì đây là mẫu dương tính. Trong trường hợp không có kháng nguyên AFM1, phức hợp hạt vàng-kháng thể sẽ liên kết với kháng nguyên ở vùng thử nghiệm. Sự xuất hiện của vạch phát hiện trong thời gian 15 phút, đánh giá đây là phản ứng âm tính [3].



Hình 1. Sơ đồ minh họa que thử sắc ký miễn dịch cạnh tranh phát hiện nhanh AFM1.

* *Vật liệu nghiên cứu:* Độc tố AFM1.

* *Hóa chất:* Kháng thể đơn dòng kháng AFM1 (A0925-01B; Biotrend; USA); và kháng nguyên AFM1 (NB-42-00267; Biotrend; USA). Kháng thể IgG kháng chuột (M5899; Sigma; Germany), Bovine Serum Albumin (BSA); đệm Borat; Tris buffered saline (TBS); Phosphate buffered saline (PBS); Tween 20; đường sucrose, lactose; 11-mercaptopundecanoic (11 MUA); 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC), N-Hydroxysuccinimide (NHS) được mua từ Sigma; Germany. Hạt nano vàng 20nm (ab269935) được mua từ abcam.

* *Vật tư tiêu hao:* Màng nitrocelullose (FF120HP whatman; USA); màng cộng hợp (Standard 17 whatman; USA); màng hút mẫu và màng hút trên (CF4 whatman; USA); tấm lót plastic vinyl (Whatman). Tất cả các loại màng được mua từ Whatman.

* *Thiết bị nghiên cứu:* Cân kỹ thuật; cân phân tích CPA 324S; máy Vortex Delta Mixer; máy Spin Down C1301B-230V; máy rung, lắc ELISA; máy ly tâm; tủ ẩm; lò nung; bể rung siêu âm; máy khuấy cơ, máy khuấy từ; micropipet các loại; máy đo pH; hệ thống in phun que thử CAMAG-AUTOKUN; máy hút ẩm; máy đo nanodrop; lò lai phân tử; hệ thống đọc khay vi thể; tủ lạnh sâu -20°C; tủ lạnh Heracus 4°C; máy ly tâm Solval...

* *Phạm vi nghiên cứu:* Chế tạo que thử sắc ký miễn dịch phát hiện nhanh AFM1 quy mô phòng thí nghiệm.

* *Thời gian và địa điểm nghiên cứu:* Thời gian tiến hành nghiên cứu từ tháng 01/2021 - 6/2023. Nghiên cứu được thực hiện tại Khoa Vệ sinh Quân đội, Học viện Quân y và thuộc đề tài cấp Nhà nước “Nghiên cứu đặc điểm nhiễm độc tố vi nấm trong một số thực phẩm tại Việt Nam và chế tạo que thử bán định lượng phát hiện nhanh, đồng thời một số độc tố vi nấm”. Mã số: ĐTDL.CN-04/21.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Các thử nghiệm trong phòng thí nghiệm và kết quả xét nghiệm chỉ phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu của đề tài.

* *Nội dung nghiên cứu:*

- Tối ưu hóa gắn định hướng kháng thể lên hạt nano vàng:

Gắn kháng thể lên hạt nano vàng có thể dựa vào hấp thụ vật lý và phản ứng hóa học. Mặc dù phương pháp vật lý là đơn giản nhưng có một số hạn chế sau: Sử dụng nồng độ kháng thể đơn dòng cao, kháng thể gắn ngẫu nhiên lên bề mặt hạt nano vàng nên khó bắt cặp kháng nguyên. Do đó, chúng tôi lựa chọn phương pháp gắn định hướng kháng thể nhằm mục đích tăng độ nhạy của LFIA để phát hiện kháng nguyên AFM1. Các thông số quan trọng là:

Biến đổi bề mặt hóa học của hạt vàng, tạo ra nhóm chức để gắn cộng hóa trị; tối ưu hóa nồng độ kháng thể đơn dòng bao phủ lên hạt nano vàng.

+ Biến đổi bề mặt hóa học của hạt vàng: Biến đổi bề mặt hóa học của hạt nano vàng là tạo ra nhóm chức cacboxyl để gắn cộng hóa trị. 11 MUA thường được sử dụng vì có nhóm chức (-SH) và (-COOH) hoạt động ở 2 đầu. Gốc thiol (-SH) có ái lực mạnh với bề mặt vàng nên liên kết với bề mặt vàng, trong khi nhóm còn lại (-COOH) cung cấp gốc hóa học để hấp thụ kháng thể.

+ Hoạt hóa nhóm chức cacboxyl của AuNP-MUA bằng EDC và NHS: Sau khi biến đổi bề mặt hóa học, EDC và NHS sẽ hoạt hóa nhóm chức (-COOH) ở bề mặt hạt vàng, và hình thành este. Nhóm amin bậc một trong kháng thể sẽ phản ứng với este, và liên kết cộng hóa trị được hình thành.

+ Tối ưu hóa nồng độ kháng thể nhận diện: Gắn kháng thể lên hạt nano vàng đóng vai trò quan trọng trong tăng độ nhạy của que thử. Để đạt được mục tiêu này cần khảo sát nồng độ kháng thể nhận diện trên hạt nano vàng.

Cường độ tín hiệu màu sắc trên vạch kiểm tra của que thử tỷ lệ thuận với nồng độ kháng thể bao phủ trên bề mặt hạt nano vàng. Đối với LFIA sandwich, phù hợp với nồng độ cao của kháng thể bao phủ lên hạt vàng vì

dễ dàng để nhận biết kháng nguyên trong mẫu. Tuy nhiên LFIA cạnh tranh, mật độ kháng thể tăng lên trên bề mặt hạt vàng sẽ phản ứng với nồng độ cao của kháng nguyên trong mẫu và ngăn cản phản ứng của kháng thể và kháng nguyên trên vạch kiểm tra. Điều này có nghĩa là LOD cao hơn dự kiến. Do đó, chúng tôi cần tối ưu nồng độ kháng thể nhận diện bao phủ lên hạt nano vàng để tạo ra cường độ tín hiệu màu cao ở vạch kiểm tra khi thử nghiệm mẫu âm tính đồng thời phát hiện được LOD ở nồng độ thấp.

Lượng kháng thể đơn dòng AFM1 được khảo sát là: 2,5 µg/mL; 5 µg/mL; 7,5 µg/mL; 10 µg/mL. Sau khi ủ kháng thể ở 30°C trong thời gian 3 giờ, hạt nano vàng được ly tâm để loại bỏ kháng thể dư. Hạt vàng gắn kháng thể sau đó được blocking bằng BSA 2% trong 1 giờ.

Nồng độ mẫu chuẩn AFM1 được chuẩn bị là 0 µg/L; 0,25 µg/L; 0,5 µg/L; 1 µg/L; 2 µg/L; 4 µg/L. Mỗi nồng độ được phân tích 5 lần trên que thử để xác định LOD. Giới hạn phát hiện của que thử sắc ký miễn dịch cạnh tranh được hiểu là nồng độ thấp nhất của kháng nguyên mà vạch thử nghiệm hoàn toàn không nhìn thấy. Mỗi thông số chúng tôi làm lại 5 lần để kiểm tra độ lặp lại của thử nghiệm. Thêm vào đó, chúng tôi xác định nồng độ chất

phân tích tối thiểu tạo ra tín hiệu màu sắc trên vạch thử nghiệm yếu hơn đáng kể so với mẫu âm tính.

Sau khi gắn định hướng kháng thể, chúng tôi trải kháng thể trên màng cộng hợp và đánh giá mẫu đạt bằng cách sử dụng mẫu âm tính và xác định LOD. Đánh giá mẫu đạt: Lượng kháng thể tối ưu trên hạt nano vàng chính là mẫu có cường độ tín hiệu màu sắc trên vạch kiểm tra là đậm khi thử nghiệm mẫu âm tính và nồng độ kháng nguyên thấp nhất mà vạch thử nghiệm mất màu.

- Tối ưu hóa tính ổn định của kháng thể trên màng cộng hợp:

Dung dịch đệm xử lý màng cộng hợp là yếu tố quan trọng đối với LFIA vì cường độ ion trong dung dịch đệm ảnh hưởng đến cấu trúc và khả năng phản ứng của kháng thể. Thêm vào đó nồng độ đường giữ được sự ổn định của kháng thể. Dung dịch đệm xử lý màng cộng hợp được chuẩn bị như sau: Borat pH 7,2; 1% (v/v) Tween 20; BSA 1%. Nồng độ đường được thử nghiệm là: 1% Lactose và 1% Sucrose, 5% Lactose và 5% Sucrose, và 10% Lactose và 10% Sucrose. Mỗi thông số chúng tôi tiến hành trên 5 lần với mẫu có chứa kháng nguyên AFM1 nồng độ 5 µg/L để kiểm tra âm tính giả và độ lặp lại, 5 lần với mẫu không có kháng nguyên để kiểm tra dương tính giả.

Độ ổn định của que thử được xác định bằng cách bảo quản que thử ở 25°C trong khoảng thời gian khác nhau. Sau đó quan sát sự thay đổi màu sắc vào ở thời gian 30 ngày, 60 ngày, 90 ngày [4]. Chức năng của kháng thể được đánh giá sau thời gian bảo quản, bằng cách kiểm tra cường độ tín hiệu màu sắc trên vạch kiểm tra khi thử nghiệm trên mẫu âm tính và trong cùng một nồng độ 0,25 µg/kg của mẫu dương tính. Mỗi thông số chúng tôi làm lại 5 lần để kiểm tra độ lặp lại của thử nghiệm.

- Tối ưu hóa dung dịch đệm nhỏ lên que thử:

Bộ đệm pha loãng kháng nguyên là thành phần quan trọng để làm tăng gắn kết đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể. Một số loại dung dịch đệm, nồng độ muối, chất hoạt động bề mặt, protein thường được tối ưu ở trong dung dịch đệm nhỏ mẫu. pH của dung dịch đệm có tác động đáng kể đến gắn kháng nguyên-kháng thể và thông thường pH phù hợp nằm trong khoảng 6,5 - 8,4. Chúng tôi lựa chọn dung dịch đệm Tris (70mM, pH 6,6); Tris (70mM, pH 6,8); Tris (70mM, pH 7,0); MES (50mM, pH 6,5); MES (50mM, pH 6,7); MES (50mM, pH 6,9) để thử nghiệm. Thêm vào đó, BSA 0,5% (w/v) được sử dụng như 1 chất chặn để giảm gắn kết không đặc hiệu giữa kháng thể và

màng. 0,5 % (v/v) Tween 20 là chất hoạt động bề mặt để loại bỏ gunk không đặc hiệu do tương tác kỵ nước.

Lựa chọn dung dịch đệm tối ưu: Dung dịch nhỏ vào que thử có cường

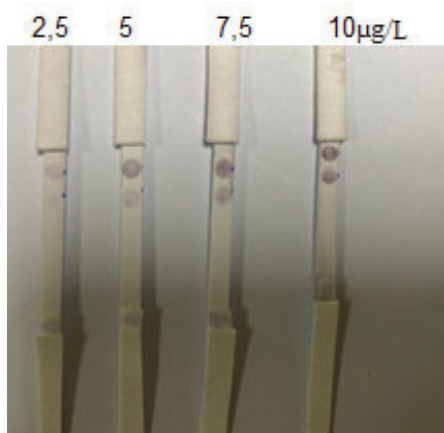
độ màu trên vạch kiểm tra là đậm nhất trong cùng một nồng độ 0,25 $\mu\text{g/kg}$ của mẫu dương tính. Mỗi thông số chúng tôi làm lại 5 lần để kiểm tra độ lặp lại của thử nghiệm.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

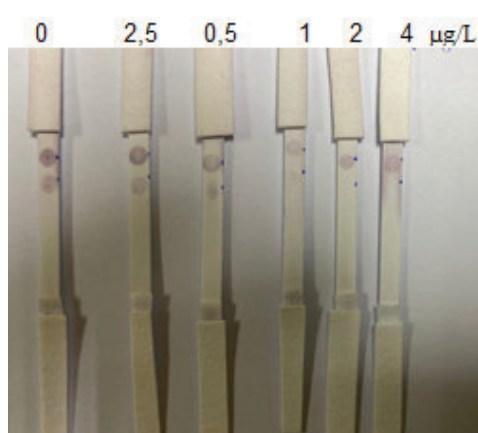
1. Tối ưu hóa gắn kháng thể lên hạt nano vàng theo phương pháp cộng hóa trị

Tổng cộng có 4 nồng độ kháng thể gắn lên hạt vàng đã được trải lên màng cộng hợp và dựng thành que thử để đánh giá nồng độ kháng thể tối ưu gắn lên hạt vàng.

** Tối ưu hóa nồng độ kháng thể nhận diện:*



(a) Cường độ màu ở vùng thử nghiệm phụ thuộc vào nồng độ kháng thể gắn trên hạt vàng.



(b) Que thử với vạch đối chứng ở trên và vạch thử nghiệm ở dưới. Nồng độ mẫu chuẩn AFM1 là 0 $\mu\text{g/L}$; 0,25 $\mu\text{g/L}$; 0,5 $\mu\text{g/L}$; 1 $\mu\text{g/mL}$; 2 $\mu\text{g/L}$; 4 $\mu\text{g/L}$.

Hình 2. Hình ảnh que thử về nồng độ của hạt vàng-kháng thể: 2,5 $\mu\text{g/mL}$; 5 $\mu\text{g/mL}$; 7,5 $\mu\text{g/mL}$; 10 $\mu\text{g/mL}$.

Kết quả thử nghiệm trên que thử cho thấy khi tăng nồng độ kháng thể bao phủ lên hạt vàng thì tạo ra cường độ màu trên vạch thử nghiệm và vạch đối chứng là đậm hơn. Nồng độ kháng thể nhỏ nhất mà nhìn rõ vạch phát hiện và vạch đối chứng là 5 $\mu\text{g/mL}$. Do đó, chúng tôi lựa chọn nồng độ kháng thể bao phủ lên hạt vàng là 5 $\mu\text{g/mL}$.

Chúng tôi lựa chọn nồng độ kháng thể bao phủ lên hạt nano vàng là 5 µg/mL để kiểm tra giới hạn phát hiện của que thử. Nồng độ kháng nguyên AFM1 được phân tích trong hình 2b. Kết quả nghiên cứu cho thấy cường độ vạch thử nghiệm giảm khi nồng độ kháng nguyên tăng. Ở nồng độ mẫu chuẩn của AFM1 là 0,25 µg/L tạo ra sự khác biệt rõ rệt về cường độ màu của vạch thử nghiệm giữa mẫu dương tính và mẫu trắng. Ở nồng độ kháng nguyên 2 µg/L là nồng độ thấp nhất mà vạch thử nghiệm hoàn toàn không nhìn thấy. Vậy giới hạn phát hiện của que thử trong nghiên cứu của chúng tôi là 2 µg/L.

2. Tối ưu hóa chất ổn định hạt vàng-kháng thể trên màng cộng hợp

Bảng 1. Kết quả ổn định hạt vàng-kháng thể trên màng cộng hợp.

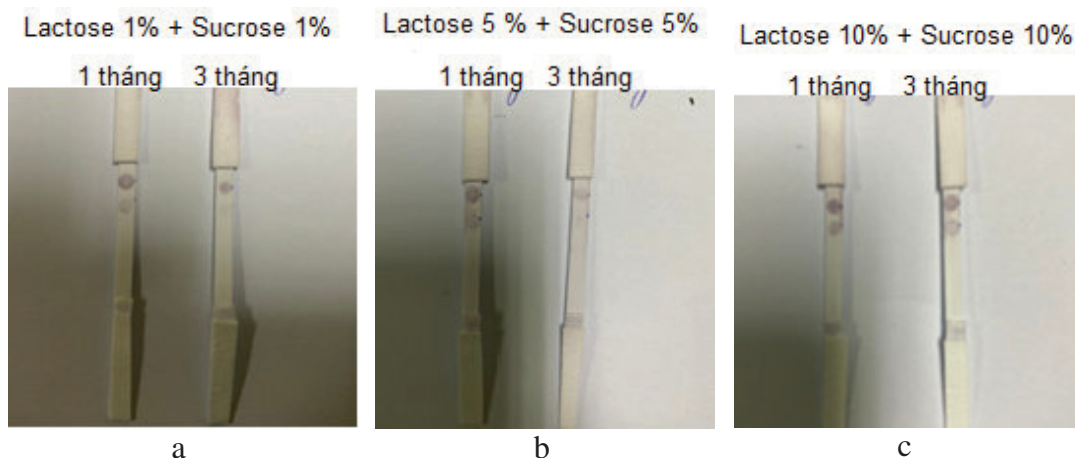
1% (v/v) Tween 20; BSA 1% ; 1% Lactose và 1% Sucrose; (n = 5)					1% (v/v) Tween 20; BSA 1% ; 5% Lactose và 5% Sucrose; (n = 5)					1% (v/v) Tween 20; BSA 1% ; 10% Lactose và 10% Sucrose; (n = 5)				
Thời gian (ngày)	Âm tính giả (%)	Dương tính giả (%)	Số mẫu đạt	Cường độ màu trên vạch phát hiện	Âm tính giả (%)	Dương tính giả (%)	Số mẫu đạt	Cường độ màu trên vạch phát hiện	Âm tính giả (%)	Dương tính giả (%)	Số mẫu đạt	Cường độ màu trên vạch phát hiện	Âm tính giả (%)	Dương tính giả (%)
30	0/5	0/5	10/10	++	0/5	0/5	10/10	++	0/5	0/5	10/10	++	0/5	0/5
60	0/5	0/5	10/10	+	0/5	0/5	10/10	++	0/5	0/5	10/10	++	0/5	0/5
90	0/5	0/5	10/10	+	0/5	0/5	10/10	+	0/5	0/5	10/10	++	0/5	0/5

(“++”: Cường độ màu đỏ đậm. “+”: Cường độ màu nhạt. “-”: Không màu)

Đánh giá độ ổn định của kháng thể trên màng cộng hợp được thể hiện ở bảng 1. Nồng độ kháng thể đơn dòng AFM1 bao phủ trên hạt nano vàng là 5 µg/mL và chúng tôi thử nghiệm trong 5 mẫu chuẩn có nồng độ 5 µg/L và thử nghiệm trên 5 mẫu âm tính.

Cường độ tín hiệu màu trên vạch thử nghiệm là không thay đổi sau 3 tháng bảo quản so với 1 tháng, khi sử dụng nồng độ đường 10% Lactose, 10% Sucrose để xử lý màng cộng hợp.

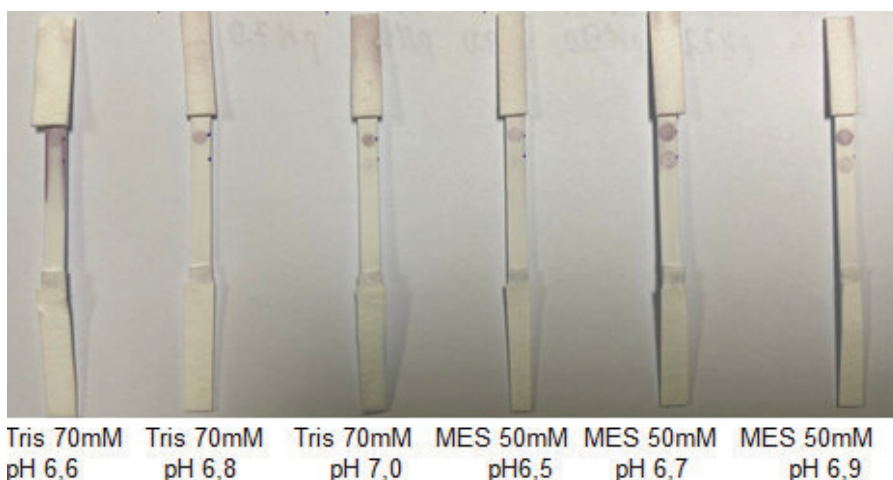
Hơn nữa, không có kết quả dương tính giả và âm tính giả được phát hiện. Việc sử dụng nồng độ đường cao cho thấy tác dụng bảo vệ kháng thể và duy trì tính toàn vẹn của kháng thể hơn so với nồng độ đường thấp. Khi sử dụng nồng độ đường 1% Lactose và 1% Sucrose và 5% Lactose, 5% Sucrose tín hiệu màu ở vạch kiểm tra là nhạt đi khi bảo quản. Do đó, chúng tôi sử dụng đường 10% Lactose, 10% Sucrose trong dung dịch đệm để ổn định kháng thể.



Hình 3. Kết quả quan sát bằng mắt của que thử ở các thời điểm 1 tháng, 2 tháng, 3 tháng.

Khi sử dụng nồng độ đường 1% Lactose, 1% Sucrose (a), 5% Lactose, 5% Sucrose (b) sau khi bảo quản 3 tháng tín hiệu màu trên vạch kiểm tra giảm so với 1 tháng khi thử nghiệm nồng độ kháng nguyên 0,25 $\mu\text{g/L}$. Trái lại, cường độ màu trên vạch phát hiện là không thay đổi khi xử lý màng cộng hợp bằng 10% Lactose, 10% Sucrose. Điều này chỉ ra rằng có sự ổn định của hạt vàng-kháng thể trên màng cộng hợp trong thời gian 3 tháng.

3. Tối ưu hóa dung dịch đệm nhỏ lên que thử



Hình 4. Kết quả thử nghiệm trên mẫu âm tính khi sử dụng 6 loại dung dịch đệm nhỏ lên que thử.

Chúng tôi lựa chọn nồng độ kháng thể đơn dòng kháng AFM1 là 5 $\mu\text{g/mL}$ để trải trên màng cộng hợp và dựng thành que thử. Các mẫu âm tính được thử nghiệm bằng 6 loại dung dịch đệm khác nhau. Hình 3 cho thấy khi sử dụng dung dịch đệm là MES (50mM, pH 6,7) thì tín hiệu màu sắc trên vạch kiểm tra là đậm nhất. Đệm MES (50mM, pH 6,9) có tín hiệu màu đậm thứ 2, theo sau là đệm MES (50mM, pH 6,5).

Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng dung dịch đệm MES (50mM, pH 6,7) làm tăng tín hiệu màu sắc của que thử vì làm tăng hằng số cân bằng của phản ứng từ đó làm tăng phức hợp kháng nguyên-kháng thể trên vạch kiểm tra.

BÀN LUẬN

1. Tối ưu hóa nồng độ kháng thể nhận diện

Gắn kháng thể lên hạt nano vàng là bước quan trọng nhất trong sản xuất que thử sắc ký miễn dịch cạnh tranh. Có nhiều phương pháp gắn kháng thể lên hạt nano vàng nhưng phương pháp gắn cộng hóa trị có nhiều ưu điểm riêng và có nhiều nghiên cứu trên thế giới đã sử dụng phương pháp này [5]. Phương pháp chúng tôi sử dụng là phương pháp cộng hóa trị đã được

nhiều nghiên cứu trước lựa chọn do sử dụng một lượng nhỏ kháng thể đơn dòng và dễ bắt cặp kháng nguyên.

Kháng thể đơn dòng gắn trên hạt nano vàng có vai trò bắt giữ kháng nguyên AFM1 trong mẫu. Để lựa chọn lượng kháng thể chức hóa lên hạt vàng thích hợp, chúng tôi khảo sát 6 nồng độ: 2,5 $\mu\text{g/mL}$; 5 $\mu\text{g/mL}$; 7,5 $\mu\text{g/mL}$; 10 $\mu\text{g/mL}$; 12,5 $\mu\text{g/mL}$; 15 $\mu\text{g/mL}$. 6 nồng độ kháng thể được sử dụng để sản xuất que thử để phân tích AFM1. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nếu số phân tử kháng thể bao phủ trên bề mặt hạt vàng là ít sẽ làm giảm ái lực của kháng nguyên và kháng thể và làm tín hiệu màu yếu. Kết quả của chúng tôi cho thấy nồng độ kháng thể thấp nhất đảm bảo phát hiện kháng nguyên ở nồng độ thấp trong khi vẫn giữ được màu sắc của vạch chứng là 5 $\mu\text{g/mL}$.

Nhược điểm của LFIA cạnh tranh là giới hạn phát hiện cao và cường độ tín hiệu màu sắc là thấp trong vùng thử nghiệm, điều này gây khó khăn hơn trong đọc kết quả xét nghiệm. Để cung cấp tín hiệu màu cao hơn, cần tăng nồng độ kháng thể nhận diện bao phủ lên hạt vàng. Tuy nhiên, nếu tăng nồng độ kháng thể sẽ liên quan đến tăng giới hạn phát hiện.

Thử nghiệm LOD với nồng độ kháng nguyên là 0 µg/L; 0,25 µg/L; 0,5 µg/L; 1 µg/L; 2 µg/L; 4 µg/L, chúng tôi nhận thấy khi nồng độ kháng thể bao phủ lên hạt vàng là 7,5 µg/mL và nồng độ kháng nguyên là 4 µg/L thì vạch thử nghiệm hoàn toàn mất màu. Do đó, chúng tôi nhận thấy rằng LOD = 4 µg/kg thì không đáp ứng yêu cầu phân tích AFM1, và cần tối ưu hơn về kháng thể bao phủ trên hạt nano vàng.

Khi thử nghiệm nồng độ kháng thể gắn lên hạt nano vàng là 5 µg/mL chúng tôi nhận thấy rằng nồng độ kháng nguyên 0,25 µg/L là nồng độ chất phân tích tối thiểu tạo ra vạch thử nghiệm yếu hơn đáng kể so với mẫu âm tính. Thêm vào đó nồng độ kháng nguyên thấp nhất mà vạch thử nghiệm mất màu là 2 µg/L. Vì vậy, chúng tôi lựa chọn nồng độ kháng thể tối ưu bao phủ lên hạt nano vàng là 5 µg/mL. Để kiểm tra độ lặp lại của que thử, chúng tôi sử dụng 5 que thử trong 1 lô sản xuất để thử nghiệm LOD = 2 µg/L và quan sát 5/5 mẫu có độ lặp lại. Từ tính nhất quán của kết quả, chúng tôi có thể nhận định rằng các xét nghiệm có đặc điểm giống nhau và có thể phát hiện được độc tố AFM1.

Đối với giới hạn phát hiện của bộ kit, thử nghiệm cho thấy giới hạn phát

hiện là 2 µg/L. Chúng tôi thử nghiệm trên dung dịch kháng nguyên chuẩn pha trong dung dịch đệm. Giới hạn phát hiện bộ kit của chúng tôi là cao hơn nhiều so với tác giả Chun Wang [6] và cao hơn một chút so với LOD của tác giả [7]. Nếu so sánh phương pháp phát hiện độc tố AFM1 với các nghiên cứu khác trên thế giới thì giới hạn phát hiện là 2 µg/L chưa phải là tốt nhất. Vì vậy, chúng tôi sẽ tiếp tục nghiên cứu và hy vọng rằng có thể phát triển thành công bộ kit có các ưu điểm tốt hơn trong tương lai.

2. Tối ưu hóa chất ổn định hạt vàng-kháng thể trên màng cộng hợp

Để xác định ảnh hưởng của đường đối với tính toàn vẹn và ổn định của kháng thể chúng tôi đã thử nghiệm đường Lactose và Sucrose ở 3 nồng độ khác nhau (1%; 5% và 10%). Sau khi trải kháng thể lên màng cộng hợp, màng được bảo quản ở 25°C trong túi kín có đựng silicagel. Kết quả cho thấy đường Lactose 10% và Sucrose 10% cải thiện đáng kể độ ổn định của kháng thể so với mẫu có nồng độ đường thấp. Đường sucrose, lactose bảo quản cấu trúc tự nhiên của kháng thể khi sấy khô vì gốc hydroxyl của phân tử đường sẽ thay thế nước xung quanh kháng thể [8]. Thêm vào đó, khi màng cộng hợp được sấy khô và sự có mặt của đường,

các phân tử đường tạo thành một lớp bao quanh kháng thể do đó giữ được tính toàn vẹn và cấu trúc sinh học của protein [9]. Hơn nữa, làm khô màng cộng hợp là cần thiết để đạt được độ ổn định của kháng thể, vì độ ẩm cao tạo điều kiện thuận lợi cho phân hủy hóa học và vật lý của protein.

3. Tối ưu hóa dung dịch đệm nhỏ lên que thử

Trong khi thử nghiệm trên que thử, chúng tôi nhận thấy rằng khi sử dụng dung dịch nhỏ vào que thử khác nhau thì cường độ tín hiệu trên vạch kiểm tra là khác nhau. Để tăng cường độ tín hiệu màu, dung dịch đệm pha loãng kháng nguyên đã được tối ưu hóa.

Kết quả tối ưu của dung dịch đệm trong nghiên cứu của chúng tôi là MES 50mM, pH 6,7; BSA 0,5%; Tween 20 0,5%. Nghiên cứu hiện tại đã tìm ra dung dịch pha loãng mẫu phù hợp và làm tăng phản ứng kháng nguyên-kháng thể, từ đó tăng độ nhạy của que thử.

Gắn định hướng kháng thể lên hạt nano vàng đã được chứng minh là tăng độ nhạy của que thử sắc ký miễn dịch [10]. Mặc dù LFIA đã được sử dụng rộng rãi, nhưng hầu hết gắn kháng thể lên hạt vàng sử dụng phương pháp gắn ngẫu nhiên thay vì gắn định hướng. Tác giả Kang JH đã chứng minh gắn cố định và định hướng kháng thể có

thể làm tăng hiệu quả bắt cặp kháng nguyên lên gấp 2 lần so với gắn ngẫu nhiên [11]. Thêm vào đó, tác giả Yiseul Ryu đã chứng minh khi sử dụng phương pháp hấp thụ vật lý để gắn kháng thể, số phân tử kháng thể đơn dòng sẽ tăng gấp 3 lần gắn định hướng [12]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã chứng minh gắn cố định và định hướng kháng thể lên hạt nano vàng cung cấp được nhiều vị trí Fab để liên kết với kháng nguyên hơn. Thêm vào đó, số phân tử kháng thể đơn dòng khi gắn định hướng chỉ bằng $\frac{1}{2}$ so với gắn ngẫu nhiên.

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phát triển que thử sắc ký miễn dịch dòng chảy bên để phát hiện nhanh AFM1. Kết quả cho thấy, nồng độ kháng thể tối ưu hấp thụ lên hạt nano vàng là 5 $\mu\text{g/mL}$. Khi xử lý màng cộng hợp bằng dung dịch đệm chứa: Borat pH 7,2; 1% (v/v) Tween 20; BSA 1%; 10% Lactose và 10% Sucrose thì thời gian ổn định của kháng thể là 3 tháng khi bảo quản ở 25⁰C. Dung dịch đệm nhỏ mẫu để tăng cường phản ứng kháng nguyên-kháng thể là MES (50mM, pH 6,7). Từ việc tối ưu hóa các thông số xét nghiệm, chúng tôi bước đầu có thể phát triển được que thử sắc ký miễn dịch phát hiện nhanh AFM1.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. IARC working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins naphthalene and styrene. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* 2002; 82:1-556.
2. Chun Wang, Juan Peng, Dao-Feng Liu. Lateral flow immunoassay integrated with competitive and sandwich models for the detection of aflatoxin M1 and *Escherichia coli* O157:H7 in milk. *J. Dairy Sci.* 2018; 101:1-11.
3. RC Wong, YT Harley. *Lateral Flow Immunoassay*. Springer Science & Business Media. 2009.
4. D Zhang, P Li, Y Yang, et al. A high selective immunochromatographic assay for rapid detection of aflatoxin B1. *Talanta*. 2011; 85:736-742.
5. Zifei Wang, Pengjie Luo. A rapid and sensitive fluorescent microsphere-based lateral flow immunoassay for determination of aflatoxin b1 in distillers' grains. *Foods*. 2021; 10:2109.
6. Chun Wang. Lateral flow immunoassay integrated with competitive and sandwich models for the detection of aflatoxin M1 and *Escherichia coli* O157:H7 in milk. *J. Dairy Sci.* 2018; 101:1-11.
7. Umaporn Pimpitak, Sirirat Rengpipat. Development and validation of a lateral flow immunoassay for the detection of aflatoxin M1 in raw and commercialised milks. *Vol 0 International Journal of Dairy Technology*. 2020.
8. Y Le Basle, P Chennell, N Tokhadze, et al. Physicochemical stability of monoclonal antibodies: A review. *J. Pharm. Sci.* 2020; 109:169-190.
9. Y Yazdani, S Mohammadi, M Yousefi, et al. Preliminary assessment of various additives on the specific reactivity of Anti-rHBsAg monoclonal antibodies. *Avicenna J. Med. Biotechnol.* 2015; 7:145-150.
10. HJ Seok, MY Hong, YJ Kim, et al. Mass spectrometric analysis of affinity-captured proteins on a dendrimer-based immunosensing surface: Investigation of on-chip proteolytic digestion. *Analytical Biochemistry*. 2005; 337(2):294-307.
11. JH Kang, HJ Choi, SY Hwang, et al. Improving immunobinding using oriented immobilization of an oxidized antibody. *Journal of Chromatography*. 2007; 1161(1-2):9-14.
12. Y Ryu, Z Jin, MS Kang, et al. Increase in the detection sensitivity of a lateral flow assay for a cardiac marker by oriented immobilization of antibody. *BioChip Journal*. 2011; 5:193-198.

PHÂN LẬP VÀ NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH KHÁNG
STAPHYLOCOCCUS AUREUS KHÁNG METHICILLIN CỦA
CÁC CHỦNG XẠ KHUẨN PHÂN LẬP TỪ TỈNH GIA LAI, VIỆT NAM

Huỳnh Đông Á^{1,2}, Trịnh Thái An³, Phạm Nguyễn Gia Huy³
Trần Thị Như³, Lê Trương Thắng^{2,4}, Nguyễn Hoàng Chương^{1*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Phân lập các chủng xạ khuẩn từ mẫu đất, nước, thực vật thu thập tại tỉnh Gia Lai và khảo sát hoạt tính kháng *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA) của chúng. **Phương pháp nghiên cứu:** Phân lập các chủng xạ khuẩn từ các mẫu đã thu thập bằng các phương pháp thường quy với môi trường chọn lọc xạ khuẩn. Hoạt tính kháng khuẩn được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán trên thạch. Chủng xạ khuẩn mục tiêu được định danh bằng phương pháp hình thái và sinh học phân tử. Thành phần hoá học từ cao chiết ethyl acetate được phân tích bằng phương pháp GC-MS. **Kết quả:** Có 52 chủng xạ khuẩn được phân lập; trong đó, chủng SS656 kháng MRSA là tốt nhất (đường kính vòng vô khuẩn: 19mm). Chủng này được định danh là *Streptomyces* sp. SS656 dựa vào phân tích hình thái và giải trình tự gen 16S rRNA. Ngoài MRSA, chủng xạ khuẩn này còn thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên một số vi khuẩn gây bệnh khác. Hoạt tính kháng khuẩn bền với nhiệt độ tới 100°C, ở độ pH 2 và pH 12, bền với protease và tia tử ngoại. Cao chiết ethyl acetate từ môi trường nuôi cấy SS656 cho thấy có 37 hợp chất đã biết. **Kết luận:** Chủng *Streptomyces* sp. SS656 phân lập từ tỉnh Gia Lai có tiềm năng cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra các chất chuyển hoá thứ cấp kháng MRSA.

Từ khoá: Phân lập; *Streptomyces*; Hoạt tính kháng khuẩn; Gia Lai; MRSA.

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

²Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Sinh học, Thành phố Hồ Chí Minh

³Trường Trung học phổ thông Lê Thánh Tông, tỉnh Gia Lai

⁴Đại học Quốc gia Đà Loan, Đà Bắc, Đà Loan

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Hoàng Chương (nhchuong@hcmus.edu.vn)

Ngày nhận bài: 15/11/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 10/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.564>

ISOLATION OF STREPTOMYCES STRAINS FROM GIA LAI PROVINCE OF VIETNAM AND STUDY ON THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Abstract

Objectives: To isolate *Streptomyces* strains from soil, water, and plant samples collected in Gia Lai province, and study their antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Methods:** *Streptomyces* strains were isolated by conventional methods, using *Streptomyces* specific culture media. Antimicrobial activity was examined by the agar dilution method. The targeted *Streptomyces* strain was identified by morphological and molecular characterization. The chemical composition of the ethyl acetate extract was analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Results:** 52 *Streptomyces* strains were isolated from the soil, water, and plant samples; among them, SS656 showed antimicrobial activity against MRSA with the largest inhibition zone of 19mm. This strain was identified as *Streptomyces* sp. SS656 by morphological characteristics and molecular marker with 16S rRNA. These *Streptomyces* strains also showed activity on several bacterial pathogens. The antimicrobial activity was stable at temperatures up to 100°C and at pH 2 and pH 12. Protease and ultraviolet showed no effect on the activity of SS656. The ethyl acetate extract from the SS656 culture medium showed 37 known compounds. **Conclusion:** *Streptomyces* sp. SS656 isolated from Gia Lai is promising for further studies to find secondary metabolites associated with antimicrobial activity to fight MRSA.

Keywords: Isolation; *Streptomyces*; Antimicrobial activity; Gia Lai; MRSA.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Staphylococcus aureus là loại vi khuẩn gây ra nhiều loại nhiễm trùng nguy hiểm ở người, đặc biệt là các chủng *S. aureus* kháng methicillin (MRSA). Năm 2017, tổ chức Y tế Thế giới (WHO) đã xác định *S. aureus* nằm trong nhóm 12 vi khuẩn gây bệnh đòi

hỏi cấp thiết phải có các kháng sinh mới để điều trị [1]. Trong khi đó, số lượng kháng sinh mới được đưa vào điều trị nhiễm khuẩn trong lâm sàng đang bị thiếu hụt trầm trọng. Tình hình này đặt ra nhu cầu tìm kiếm các kháng sinh mới trở nên hết sức cần thiết. Trong số các nguồn cung cấp các chất

kháng khuẩn mới, vi sinh vật luôn là nguồn cung cấp kháng sinh nhiều nhất tính cho đến hiện nay, đặc biệt là nhóm xạ khuẩn vì hơn hai phần ba số kháng sinh sử dụng cho người và động vật có nguồn gốc vi sinh vật đến từ nhóm vi sinh vật này [2]. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi thực hiện: *Phân lập các chủng xạ khuẩn từ nguồn mẫu như đất, nước, thực vật thu thập tại tỉnh Gia Lai và khảo sát hoạt tính kháng MRSA của các chủng xạ khuẩn đã phân lập. Đồng thời, khảo sát một số đặc tính kháng khuẩn của chủng xạ khuẩn có hoạt tính kháng MRSA để làm nền tảng cho các nghiên cứu về sau nhằm tìm ra các loại kháng sinh mới kháng MRSA có nguồn gốc xạ khuẩn.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Vật liệu sinh học:* Mẫu đất, nước, thực vật được thu thập tại tỉnh Gia Lai. Chủng vi khuẩn gồm: *Edwardsiella ictaluri*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacea*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa* được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Sinh học, Thành phố Hồ Chí Minh.

* *Hoá chất:* Primer được cung cấp bởi Công ty Phù Sa Genomics (Việt Nam),

hoá chất được cung cấp bởi Bioline (Anh) và Xilong (Trung Quốc).

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thu thập mẫu đất, nước, thực vật:* Mẫu đất, nước, thực vật được thu thập tại các địa điểm xác định ở tỉnh Gia Lai với toạ độ được xác định bằng GPS. Tại địa điểm thu mẫu, mẫu đất được thu thập ở độ sâu 5 - 10cm dưới lớp đất mặt, mẫu nước được thu ở độ sâu 10 - 20cm, các bộ phận khác nhau của thực vật như rễ, thân, lá được thu riêng biệt. Tất cả các mẫu đất, nước, thực vật được cho vào các ống 50mL vô trùng và được chuyển đến phòng thí nghiệm để thực hiện công tác phân lập.

* *Phân lập các chủng xạ khuẩn:* Mẫu đất được pha loãng với nước muối 0,9% vô trùng, dịch pha loãng được cấy lên các đĩa môi trường Soya Flour Mannitol (SFM) chứa các kháng sinh như nalidixic acid (30 µg/mL), nystatin (50 µg/mL), cycloheximide (50 µg/mL). Mẫu nước được ly tâm loại dịch nổi và phần cặn được cấy lên trên môi trường SFM chứa kháng sinh như trên. Mẫu thực vật được xử lý theo phương pháp của Nguyễn Đăng Quân và CS để phân lập các chủng xạ khuẩn nội sinh [3]. Đĩa SFM chứa dịch phân lập từ mẫu đất, nước, thực vật được để ở 30°C cho đến khi các khuẩn lạc đặc trưng xạ khuẩn xuất hiện trên các đĩa môi trường này.

* *Khuếch tán trên thạch*: Khối thạch từ môi trường FM3 nuôi cấy các chủng xạ khuẩn ở 30°C trong 7 ngày được đặt trên môi trường Mueller-Hinton agar (MHA) đã cấy các vi khuẩn gây bệnh. Các đĩa MHA này được để ở 37°C trong 16 - 18 giờ và hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng cách đo đường kính vòng kháng khuẩn tại các khối thạch.

* *Định danh hình thái và phân tử chủng xạ khuẩn*: Đối với định danh hình thái, sinh khối chủng xạ khuẩn mục tiêu nuôi cấy trên môi trường SFM và Lysogeny Broth (LB) được chuyển lên lam kính và quan sát dưới kính hiển vi quang học với vật kính 40X và thị kính trong camera kỹ thuật số 5 Mp, hình ảnh thu nhận được xử lý bằng phần mềm Hayear. Đối với định danh phân tử, sinh khối chủng xạ khuẩn được tách chiết DNA bằng phương pháp phenol/chloroform. DNA bộ gen được sử dụng làm bản mẫu trong phản ứng PCR với cặp primer 27F-1492R nhằm nhân bản gen 16S rRNA [4]. Sản phẩm PCR được giải trình tự, hiệu chỉnh trình tự bằng phần mềm SnapGene Viewer và trình tự 16S rRNA của chủng xạ khuẩn được sử dụng để định danh nhờ công cụ 16S-based ID của trang web EZBioCloud.

* *Khảo sát tính bền của hoạt tính kháng khuẩn*: Dịch nuôi cấy SS656 trong môi trường FM3 được gia nhiệt

tại các nhiệt độ 60°C, 80°C, 100°C trong 60 phút; được điều chỉnh về pH 2 và pH 12. Dịch xạ khuẩn cũng được xử lý với proteinase K ở nồng độ 1 mg/mL và chiếu tia tử ngoại trong 60 phút. Mẫu dịch xạ khuẩn không xử lý được sử dụng như mẫu chứng dương. Dịch môi trường FM3 được xử lý với các điều kiện như trên được sử dụng làm mẫu chứng âm. Sau đó, tất cả các mẫu dịch được kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn.

* *Thu cao chiết ethyl acetate từ môi trường nuôi cấy SS656*: Sử dụng phương pháp chiết xuất ngấm kiệt bằng ethyl acetate đối với môi trường FM3 nuôi cấy chủng SS656 sấy khô. Dung môi ethyl acetate được làm bay hơi bằng phương pháp cô quay để thu nhận cao chiết.

* *Phân tích thành phần cao chiết ethyl acetate bằng GC-MS*: Quy trình phân tích được thực hiện theo công trình của Trần Hoàng Ngâu và CS [5].

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Phân lập và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn các chủng xạ khuẩn từ các mẫu đất, nước, thực vật thu thập tại tỉnh Gia Lai

Có 52 chủng xạ khuẩn đã được phân lập từ các mẫu đất, nước, thực vật. Thông tin phân lập và kết quả khảo sát kháng MRSA của 52 chủng xạ khuẩn được trình bày trong bảng 1.

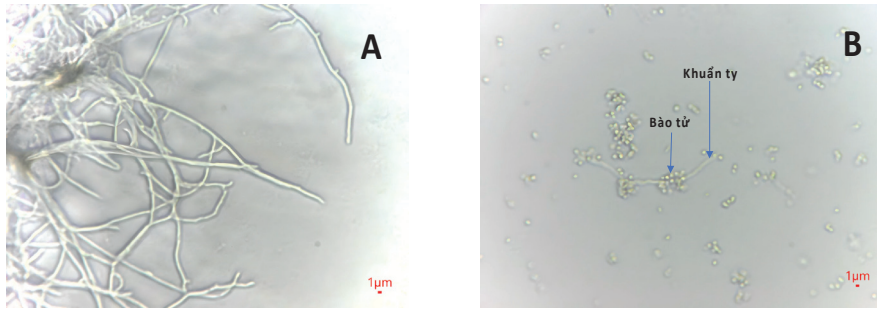
Bảng 1. Nguồn phân lập và kết quả kháng MRSA của 52 chủng xạ khuẩn.

Chủng	Nguồn phân lập	Vòng kháng (mm)	Chủng	Nguồn phân lập	Vòng kháng (mm)
SS483	Đất thung lũng hồng	17	SS622	Rễ muồng	16
SS485	Nước thung lũng hồng	0	SS623	Rễ muồng	0
SS486	Nước thung lũng hồng	0	SS643	Nước sông Tul	0
SS494	Lá cỏ tranh	15	SS644	Nước sông Tul	0
SS501	Đất suối đá	0	SS646	Nước sông Tul	0
SS502	Đất suối đá	0	SS647	Đất núi chur mỗ	16
SS504	Rễ cây xấu hổ	17	SS648	Đất núi chur mỗ	0
SS505	Lá cây boom bay	15	SS649	Đất núi chur mỗ	0
SS506	Thân cây boom bay	14	SS651	Đất sông Ba	0
SS507	Rễ cây xấu hổ	15	SS652	Đất sông Ba	13
SS508	Thân cỏ tranh	14	SS653	Đất sông Ba	0
SS509	Đất thung lũng hồng	0	SS654	Lá Thầu dầu	0
SS510	Đất thung lũng hồng	0	SS655	Lá Thầu dầu	17
SS512	Đất thung lũng hồng	0	SS656	Lá Thầu dầu	19
SS516	Thân bèo tây	17	SS657	Lá Thầu dầu	16
SS517	Đất suối đá	0	SS658	Đất sông Tul	0
SS521	Đất suối đá	0	SS659	Đất sông Tul	0
SS522	Đất suối đá	0	SS660	Đất sông Tul	0
SS523	Lá ké hoa vàng	15	SS661	Đất sông Tul	0
SS524	Lá ké hoa vàng	14	SS662	Đất sông Tul	0
SS525	Lá ké hoa vàng	12	SS663	Rễ lạc tiên	0
SS588	Lá cỏ ngũ sắc	0	SS664	Rễ lạc tiên	0
SS589	Nước sông Ba	0	SS665	Rễ lạc tiên	0
SS590	Nước sông Ba	0	SS666	Rễ lạc tiên	0
SS591	Nước sông Ba	0	SS667	Rễ đậu	0
SS592	Nước sông Ba	0	SS668	Rễ đậu	0

Theo bảng 1, chủng xạ khuẩn SS656 thể hiện hoạt tính kháng MRSA tốt nhất khi cho đường kính vòng kháng khuẩn là 19mm trong khi các chủng xạ khuẩn còn lại cho đường kính vòng kháng khuẩn thay đổi từ 12 - 17mm. Như vậy, chủng xạ khuẩn SS656 được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

2. Định danh chủng SS656 bằng hình thái và phân tử

Hình thái ở mức tế bào của chủng xạ khuẩn SS656 quan sát dưới kính hiển vi quang học được trình bày trong hình 1. Thanh tỷ lệ (scale bar) trong hình 1 có kích thước là 1µm.



Hình 1. Dạng khuẩn ty phân nhánh (A) và dạng khuẩn ty và bào tử (B).

Chủng xạ khuẩn SS656 cho thấy tế bào có cấu tạo dạng khuẩn ty phân nhánh (Hình 1A), một số khuẩn ty biệt hoá thành chuỗi bào tử mang các bào tử tự do (Hình 1B). Kích thước của khuẩn ty và bào tử của chủng xạ khuẩn SS656 có kích thước xấp xỉ 1µm khi so sánh với thanh tỷ lệ. Đối với định danh phân tử, gen 16S rRNA của chủng SS656 được giải mã trình tự nucleotide và được cấp mã số truy cập là OR807558 trên GenBank. Khi phân tích bằng công cụ 16S-based ID, gen 16S rRNA của SS656 có độ tương đồng cao với nhiều chủng *Streptomyces* trong cơ sở dữ liệu EZBioCloud với độ tương đồng (similarity) trên 99% và độ hoàn chỉnh (completeness) trên 99% cho chiều dài 1.400 nucleotide. Với kết quả định danh bằng hình thái và bằng

gen 16S rRNA trong nghiên cứu này, chủng SS656 được đặt tên là *Streptomyces* sp. SS656. Theo đó, một số đặc tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* này được khảo sát trong các thí nghiệm tiếp theo.

3. Hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* sp. SS656

Ngoài MRSA, *Streptomyces* sp. SS656 cũng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên các vi khuẩn gây bệnh khác nhau bao gồm *E. ictaluri* (với đường kính vòng kháng khuẩn là 22mm), *A. hydrophila* (17mm), *E. aerogenes* (16mm), *E. coli* (15mm), *K. pneumoniae* (16mm), *A. baumannii* (18mm) và *E. cloacea* (15mm). Chủng *Streptomyces* sp. SS656 không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với *V. parahaemolyticus* và *P. aeruginosa*.

4. Tính bền của hoạt tính kháng khuẩn từ chủng *Streptomyces* sp. SS656

Tính bền của hoạt tính kháng khuẩn từ chủng *Streptomyces* sp. SS656 đối với các yếu tố như nhiệt độ, pH, protease, tia tử ngoại được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Khảo sát tính bền hoạt tính kháng khuẩn của *Streptomyces* sp. SS656.

Dịch xử lý	Vòng kháng (mm)	Dịch xử lý	Vòng kháng (mm)
FM3 (không xử lý)	0	FM3 (xử lý pH 2)	0
FM3-SS656 (không xử lý)	17	FM3-SS656 (xử lý pH 2)	20
FM3 (xử lý 60°C)	0	FM3 (xử lý pH 12)	0
FM3-SS656 (xử lý 60°C)	16	FM3-SS656 (xử lý pH 12)	21
FM3 (xử lý 80°C)	0	FM3 (xử lý protease)	0
FM3-SS656 (xử lý 80°C)	16	FM3-SS656 (xử lý protease)	16
FM3 (xử lý 100°C)	0	FM3 (xử lý tia tử ngoại)	0
FM3-SS656 (xử lý 100°C)	15	FM3-SS656 (xử lý tia tử ngoại)	17

Hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* sp. SS656 bền với nhiệt độ đến 100°C, tuy có giảm còn 88,2% ở nhiệt độ này so với mẫu không xử lý. Hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* này tăng lên khi xử lý tại các pH 2 (17,6%) và pH 12 (23,5%) so với mẫu không xử lý pH. Ngoài ra, hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* sp. SS656 không bị ảnh hưởng bởi proteinase K và tia tử ngoại thể hiện qua phần trăm hoạt tính sau xử lý là tương đương với mẫu không xử lý với các yếu tố này. Trong các thí nghiệm khảo sát tính bền, các mẫu chứng âm là môi trường FM3 được xử lý đồng thời với các tác nhân nhiệt độ, pH, enzyme, tia tử ngoại đều không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn.

5. Phân tích thành phần hoá học có trong cao chiết ethyl acetate

Kết quả phân tích bằng GC-MS cho thấy có 37 hợp chất đã biết trong cao chiết ethyl acetate từ chủng *Streptomyces* sp. SS656.

Bảng 3. Thành phần hoá học của cao chiết ethyl acetate.

Tên chất	Tỷ lệ (%)	Tên chất	Tỷ lệ (%)
Benzene, propyl-	0,67	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	12,05
Benzene, 1-ethyl-3-methyl-	7,12	Erucic acid	7,77
Benzene, 1,2,3-trimethyl-	6,26	Octadecanoic acid	0,62
1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]-	0,03	Hexadecanoic acid, 1-[[[(2-aminoethoxy)hydroxyphosphinyl]oxy]methyl]-1,2-ethanediyl ester	0,60
Indane	0,42	9-Octadecenal, (Z)-	0,49
Benzene, 1-methyl-4-propyl-	0,34	Benzene, 2-ethyl-1,3-dimethyl-	0,84
9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester	2,26	Bicyclo[3.3.1]nonan-9-one, 1,2,4-trimethyl -3-nitro-, (2-endo,3-exo,4-exo)-(.,+.-)-	1,34
Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-	0,47	Tetradecane	0,05
1,3-Cyclopentadiene, 1,2,3,4-tetramethyl-5-methylene-	0,08	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	0,93
Dodecane	0,05	1-Heptacosanol	0,83
Octadecanoic acid, 2-hydroxy-1,3-propanediyl ester	0,20	2,6-Dodecadien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, (E,E)-	6,15
trans-1,10-Dimethyl-trans-9-decalinol	ND	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	6,65
Benzene, 1,3,5-trimethyl-	12,38	3-Pyrrolidin-2-yl-propionic acid	4,24
Di-n-octyl phthalate	0,53	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	1,43
Pentadecanoic acid	10,52	8-Hexadecenal, 14-methyl-, (Z)-	0,49
Hexadecanoic acid, methyl ester	0,46	9-Octadecenamide, (Z)-	1,67
n-Hexadecanoic acid	20,36	Octadecane	0,07
Eicosanoic acid	6,24	9,12-Octadecadienoyl chloride (Z,Z)	1,76
Z,E-3,13-Octadecadien-1-ol	1,61		

BÀN LUẬN

52 chủng xạ khuẩn đã phân lập trong nghiên cứu này đều mọc được trên môi trường chứa kháng sinh ức chế vi khuẩn Gram âm (nalidixic acid) và ức chế nhóm nấm mốc (cycloheximide và nystatin). Trên môi trường nuôi cấy, các chủng xạ khuẩn này đều biểu hiện dạng khuẩn ty cơ chất ăn sâu vào mặt thạch và có khuẩn ty khí sinh biệt hoá thành các bào tử với nhiều màu sắc khác nhau. Đây là các đặc trưng hình thái của vi khuẩn *Streptomyces* được mô tả trong nghiên cứu trước [6]. Trong số 52 chủng xạ khuẩn, chủng SS656 cho hoạt tính kháng MRSA tốt nhất nên được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo. Đầu tiên, chủng xạ khuẩn này được định danh là *Streptomyces* sp. SS656 dựa vào quan sát hình thái dưới kính hiển vi quang học và dựa trên gen 16S rRNA. Đây cũng là các phương pháp thường quy để định danh các chủng xạ khuẩn. Kết quả định danh SS656 trong nghiên cứu này cho thấy chủng xạ khuẩn SS656 thuộc chi *Streptomyces* nhưng kết quả này chưa cho phép định danh đến mức loài (species). Để định danh chính xác đến mức loài thì cần các nghiên cứu định danh đa pha (polyphasic taxonomy) bao gồm xác định các đặc điểm hình thái, sinh trưởng, đặc tính vi sinh, sinh hoá của chủng xạ khuẩn; phân tích

các thành phần cấu trúc nên thành và màng tế bào của chủng xạ khuẩn; phân tích bộ gen của chủng xạ khuẩn [7]. Chủng *Streptomyces* sp. SS656 cho thấy phổ kháng khuẩn tương đối rộng khi kháng được 7/9 vi khuẩn gây bệnh và thuộc nhiều loại khác nhau như vi khuẩn Gram dương (MRSA) và Gram âm (các vi khuẩn còn lại trừ MRSA); cầu khuẩn (MRSA), xoắn khuẩn (*V. parahaemolyticus*), trực khuẩn (các vi khuẩn còn lại); vi khuẩn gây bệnh động vật (*E. ictaluri*, *A. hydrophila*), vi khuẩn gây bệnh trên người (*E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. cloacea*). Đặc tính kháng khuẩn phổ rộng của một chất kháng khuẩn có ưu điểm để điều trị các bệnh nhiễm trùng khi chưa xác định cụ thể vi khuẩn gây nhiễm (empiric therapy) hoặc điều trị bệnh nhiễm gây ra bởi nhiều vi khuẩn gây bệnh khác nhau. Như vậy, đặc tính phổ kháng khuẩn của SS656 trong nghiên cứu này giúp định hướng cho việc sử dụng các hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn của chủng xạ khuẩn này trong tương lai. Bên cạnh phổ kháng khuẩn, tính bền trong hoạt tính kháng khuẩn đối với một số tác nhân lý, hoá, sinh học cũng được quan tâm vì các tác nhân này có ảnh hưởng lớn đến hoạt tính kháng khuẩn trong quá trình phân lập hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn bằng các

phương pháp sắc ký, là một trong những bước đầu tiên trong quá trình phát triển thuốc kháng sinh mới có nguồn gốc vi sinh vật [8]. Nếu hoạt tính kháng khuẩn của một chủng *Streptomyces* không vượt qua các khảo sát ban đầu về tính bền này thì các bước tiếp theo trong quá trình phát triển thuốc kháng sinh mới sẽ không được áp dụng. Kết quả khảo sát tính bền cho thấy các hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Streptomyces* sp. SS656 có tiềm năng để được nghiên cứu tiếp theo trong quá trình phát triển thuốc mới. Ở *Streptomyces*, hoạt tính kháng khuẩn có thể do một hoặc nhiều hợp chất thứ cấp quy định như trong trường hợp của *Streptomyces ambofaciens* với ít nhất 5 hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng vi sinh vật là spiramycin, congocidine, sambomycin, kinamycin và antimycin [9]. Nhằm góp phần xác định chất chuyển hoá thứ cấp có hoạt tính kháng khuẩn ở chủng *Streptomyces* sp. SS656, chúng tôi thực hiện việc phân tích thành phần hoá học của cao chiết ethyl acetate bằng GC-MS. Cao chiết ethyl acetate vẫn thể hiện hoạt tính kháng MRSA chứng tỏ các hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng khuẩn không bị mất đi trong quá trình chiết xuất và chúng có thể là một hoặc nhiều hợp chất

trong số 37 hợp chất được nhận diện bằng GC-MS ở bảng 3. Kết quả phân tích thành phần hợp chất bằng GC-MS trong nghiên cứu này là cơ sở cho các nghiên cứu xác định những hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng khuẩn từ chủng *Streptomyces* sp. SS656 trong các nghiên cứu tiếp theo.

KẾT LUẬN

Chủng *Streptomyces* sp. SS656 cho hoạt tính kháng MRSA tốt nhất trong số 52 chủng xạ khuẩn phân lập từ các mẫu đất, nước, thực vật thu thập tại tỉnh Gia Lai. Ngoài MRSA, chủng xạ khuẩn này còn thể hiện hoạt tính kháng một số vi khuẩn gây bệnh ở người và động vật khác. Hoạt tính kháng khuẩn của *Streptomyces* sp. SS656 bền với các yếu tố nhiệt độ, độ pH, protease và tia tử ngoại. Phân tích thành phần cao chiết ethyl acetate từ môi trường nuôi cấy SS656 cho thấy có 37 hợp chất đã biết. Chủng *Streptomyces* sp. SS656 có tiềm năng cho các nghiên cứu phát hiện hợp chất kháng khuẩn kháng MRSA về sau.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Sinh học đã cung cấp vật liệu, hoá chất và thiết bị để thực hiện nghiên cứu. Các tác giả không có bất kỳ xung đột lợi ích nào trong công bố này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tacconelli E. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva, Switzerland: WHO; 2017.
2. Berdy J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *J. Antibiot.* 2012; 65:385-395.
3. Nguyen QD, Truong PM, Vo TNT, Chu TDX, Nguyen CH. Draft genome sequence data of *Streptomyces* sp. SS1-1, an endophytic strain showing cytotoxicity against the human lung cancer A549 cell line. *Data in Brief.* 2020; 30(8):105497.
4. Frank JA, Reich CI, Sharma S, Weisbaum JS, Wilson BA, Olsen GJ. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. *Appl Environ Microbiol.* 2008 Apr; 74(8):2461-2470.
5. Ngau TH, Ngoc TTB, Nhi LTY, Chuong NH, Thao DTP. Anticancer property of marine coral-derived *Streptomyces* sp. SS162 against A549 lung adenocarcinoma cancer cells. *J Appl Pharm Sci.* 2023; 13(10):188-198.
6. Manteca A, Fernandez M, Sanchez J. Mycelium development in *Streptomyces antibioticus* ATCC11891 occurs in an orderly pattern which determines multiphase growth curves. *BMC Microbiol.* 2005 Sep 15; 5:51.
7. Yu Y, Fu Y, Guo X, Yan R, Wang H, Zhao J, Wang X, Zhang J, Xiang W. *Streptomyces durbertensis* sp. nov., isolated from saline-alkali soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2018 Nov; 68(11):3635-3640.
8. Hughes D, Karlén A. Discovery and preclinical development of new antibiotics. *Ups J Med Sci.* 2014 May; 119(2):162-169.
9. Bertrand Aigle, Sylvie Lautru, Dieter Spiteller, Jeroen S Dickschat, Gregory L Challis, Pierre Leblond, Jean-Luc Pernodet, Genome mining of *Streptomyces ambofaciens*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2014 February; 41(2):251-263.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG GÂY CHẾT TẾ BÀO UNG THƯ PHỔI CỦA VIRUS VACCINE SỞI PHỔI HỢP CISPLATIN *IN VITRO*

Ngô Thu Hằng^{1*}, Đặng Thùy Linh¹, Nguyễn Văn Tân¹, Cấn Văn Mão¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng gây chết tế bào ung thư phổi của virus vaccine sởi (Measle virus vaccine - MeV) phối hợp với Cisplatin trên thực nghiệm. **Phương pháp nghiên cứu:** Dòng tế bào ung thư phổi người H460 được điều trị bằng MeV với liều 1 MOI phối hợp với Cisplatin liều 15 $\mu\text{mol/L}$. Tế bào được thu thập ở các thời điểm 48, 72 và 96 giờ để làm nghiệm pháp MTT đánh giá tỷ lệ tế bào sống ở các nhóm. **Kết quả:** Tỷ lệ tế bào sống ở nhóm chứng không điều trị cao hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$) so với các nhóm điều trị MeV hoặc Cisplatin. Nhóm điều trị phối hợp có tỷ lệ tế bào sống thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với hai nhóm điều trị đơn MeV hoặc Cisplatin ($p < 0,01$). **Kết luận:** MeV điều trị phối hợp với Cisplatin làm tăng khả năng gây chết tế bào ung thư phổi H460 tốt hơn so với điều trị đơn trên *in vitro*.

Từ khóa: Ung thư phổi H460; Virus vaccine sởi; Cisplatin; MTT.

EVALUATION OF THE ABILITY TO CAUSE LUNG CANCER CELL DEATH OF MEASLES VIRUS VACCINE IN COMBINATION WITH CISPLATIN *IN VITRO*

Abstract

Objectives: To evaluate the ability to cause lung cancer cell death of the measles virus vaccine (MeV) and Cisplatin in combination with *in vitro*. **Methods:** MeV and Cisplatin were employed to assess the oncolytic effects on lung-cell carcinoma H460. H460 cells treated with MeV and Cisplatin were collected at 48, 72, and 96 hours after treatment to conduct the MTT assay.

¹Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Ngô Thu Hằng (drngohang1986@gmail.com)

Ngày nhận bài: 08/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 26/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.665>

Results: The proportion of living cells in the treated groups was significantly lower than that of the control group ($p < 0.0001$). The proportion of living cells in the group treated with the combination of MeV and Cisplatin was significantly lower than those with a single treatment of MeV or Cisplatin ($p < 0.01$). **Conclusion:** The combination treatment of MeV and Cisplatin enhances oncolytic activity against lung cancer cells *in vitro*.

Keywords: Lung-cell carcinoma; Measles virus vaccine; Cisplatin; MTT assay.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi là một trong các loại ung thư ác tính có tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong đều cao ở Việt Nam cũng như nhiều quốc gia trên thế giới. Năm 2020, có trên 2,2 triệu bệnh nhân được chẩn đoán mới và 1,8 triệu người chết vì ung thư phổi trên toàn thế giới [1]. Do điều kiện về môi trường sống ngày càng trở nên ô nhiễm, ung thư phổi được đánh giá là ung thư đứng thứ 2 về tỷ lệ mới mắc và tỷ lệ tử vong với 26.262 ca mới mắc (14,4%) và 23.797 ca tử vong (19,4%) ở Việt Nam [1].

Với sự tiến bộ của y học, hiện nay đã có nhiều phương pháp chẩn đoán sớm dựa trên các kỹ thuật hình ảnh và sinh học phân tử. Các phương pháp điều trị ung thư hiệu quả và tích cực được áp dụng như điều trị đích giúp làm tăng tỷ lệ phát hiện và giảm tỷ lệ tử vong cho bệnh nhân. Tuy vậy, tỷ lệ

sống sót trên 5 năm của ung thư phổi còn thấp. Một trong những liệu pháp có tiềm năng trong điều trị ung thư và đang được đầu tư nghiên cứu là liệu pháp sử dụng virus có khả năng ly giải tế bào ung thư. Đây là liệu pháp dùng các virus có khả năng sử dụng các thụ thể đặc hiệu trên bề mặt của tế bào ung thư như CD46 để xâm nhập vào tế bào ung thư mà rất ít xâm nhập vào các tế bào lành. Trong quá trình nhân lên chúng gây ly giải các tế bào ung thư. Mặt khác, chúng còn kích thích hệ thống miễn dịch đặc hiệu và không đặc hiệu của cơ thể chống lại các tế bào khối u và làm tăng quá trình apoptosis của tế bào ung thư [2]. Trong số các virus ly giải tế bào ung thư, MeV được đánh giá là một virus an toàn, có khả năng ức chế, tiêu diệt tế bào ung thư trên các thử nghiệm tại phòng thí nghiệm và lâm sàng [3].

Cisplatin là hợp chất hóa học tạo phức hợp với kim loại platin, có tác dụng và được sử dụng trong điều trị nhiều loại ung thư khác nhau như ung thư buồng trứng, ung thư phổi, ung thư đầu cổ và ung thư bàng quang tiến triển... [4, 5]. Đích tác dụng chủ yếu của Cisplatin là các sợi DNA, gây phá hủy DNA trong quá trình nhân đôi, qua đó gây độc cho tế bào. Ngoài ra, Cisplatin còn tác dụng đến quá trình tổng hợp RNA và protein, kích thích quá trình cảm ứng stress tế bào, kích thích tế bào đi vào quá trình chết theo chương trình [6, 7]. Các nghiên cứu *in vitro* và thử nghiệm lâm sàng đã cho thấy MeV và Cisplatin có tác dụng kháng lại sự phát triển của nhiều loại ung thư khác nhau trong đó có ung thư phổi [8]. Điều trị phối hợp nhiều liệu pháp khác nhau nhằm tăng tác dụng tiêu diệt tế bào ung thư đã được áp dụng trong nghiên cứu và trong thực hành lâm sàng. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào đánh giá tác dụng kháng tế bào ung thư người của chế phẩm chứa virus sởi giảm độc lực phối hợp với Cisplatin *in vitro* và *in vivo*. Chúng tôi giả thiết rằng điều trị phối hợp giữa chế phẩm chứa virus sởi giảm độc lực phối hợp với Cisplatin sẽ mang lại hiệu quả kháng ung thư cao hơn. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu

này nhằm: *Đánh giá khả năng gây chết tế bào ung thư phổi người H460 của MeV phối hợp Cisplatin.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng tế bào ung thư phổi người (ATCC® HTB-177-H460) được mua từ Công ty ATCC (Hoa Kỳ) làm mô hình thí nghiệm đánh giá tác dụng phối hợp của MeV và Cisplatin đối với ung thư phổi. Chủng MeV có tác dụng kháng ung thư được lưu trữ tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y. Cisplatin với tên thương mại là Kupunistin với hàm lượng 50 mg/50mL (Hàn Quốc). Bộ kit Cell Proliferation Kit I (MTT) được sử dụng để đánh giá tỷ lệ sống chết của tế bào được cung cấp bởi Công ty Sigma, Hoa Kỳ.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Kỹ thuật nuôi cấy các dòng tế bào ung thư:*

Môi trường RPMI 1640, 10% FBS, 1% Penicillin và Streptomycin (Sigma, Hoa Kỳ) được sử dụng để nuôi cấy tế bào H460. Khi tế bào phát triển đạt đến 70 - 80% diện tích đáy chai nuôi cấy thì tế bào được tách khỏi chai nuôi cấy bằng dung dịch Trypsin EDTA 1X

(Sigma, Hoa Kỳ). Dịch huyền phù tế bào được ly tâm loại bỏ môi trường, thu tế bào và điều chỉnh về nồng độ 10^6 tế bào/mL, lưu trữ trong môi trường nitơ lỏng -196°C cho các nghiên cứu tiếp theo.

** Nghiệm pháp MTT:*

Tế bào H460 được điều chỉnh để đạt nồng độ 10^4 tế bào/mL bằng môi trường nuôi cấy (tương ứng với 2000 tế bào/giếng) vào các 3 đĩa 96 giếng cho 3 thời điểm điều trị khác nhau là 48, 72 và 96 giờ. Đưa các đĩa vào tủ ấm nhiệt độ 37°C , CO_2 5%. Sau 24 giờ, tiến hành kiểm tra tế bào, khi tế bào bám đáy tốt, tiến hành thay môi trường như sau: Nhóm chứng: 200 μL môi trường nuôi cấy mới ($n = 6$). Nhóm điều trị MeV (nhóm MeV 1 MOI): 200 μL môi trường nuôi cấy mới có bổ sung MeV liều 1 MOI; $n = 6$. Nhóm Cisplatin (Cisplatin 15 μM): 200 μL môi trường nuôi cấy mới có bổ sung Cisplatin nồng độ 15 $\mu\text{mol/L}$ (μM), $n = 6$. Nhóm phối hợp MeV và Cisplatin (nhóm MeV 1 MOI + Cisplatin 15 μM): 200 μL môi trường nuôi cấy mới có bổ sung Cisplatin nồng độ 15 $\mu\text{mol/L}$ và MeV nồng độ 1 MOI, $n = 6$.

Kiểm tra và chụp ảnh tế bào các giếng ở nhóm chứng và các nhóm điều trị hàng ngày bằng kính hiển vi soi ngược. Tới thời điểm 48 giờ, 72 giờ và

96 giờ tế bào được thu thập và chuẩn bị cho thử nghiệm MTT để tính tỷ lệ tế bào sống tại các nhóm nghiên cứu. Loại bỏ hết dịch nuôi cấy tế bào ở các giếng. Bổ sung 100 μL dung dịch nuôi cấy có chứa 10% MTT vào trong mỗi giếng, ủ trong 4 giờ. Sau đó, loại hút bỏ nhẹ nhàng toàn bộ dịch nổi trong mỗi giếng ở đĩa 96 giếng, cho 100 μL dung dịch M-8910 vào từng giếng. Lắc nhẹ để hòa tan hết các tinh thể MTT. Đo hấp thụ OD ở bước sóng 490 nm trên máy đo quang phổ và tính tỷ lệ tế bào sống theo công thức: % tỷ lệ tế bào sống (%OD) = (OD nhóm điều trị/OD nhóm chứng) $\times$ 100.

** Xử lý số liệu:*

Bằng phần mềm SPSS 20.0 và GraphPad Prism 8.4.3. Tiến hành so sánh giá trị trung bình của 2 nhóm độc lập bằng T-test, so sánh trung bình của 3 nhóm bằng phân tích phương sai anova, khi các biến tuân theo phân phối chuẩn. Với các biến không tuân theo phân phối chuẩn, tiến hành so sánh trung vị của 2 nhóm độc lập bằng kiểm định Mann-Whitney. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Đạo đức nghiên cứu

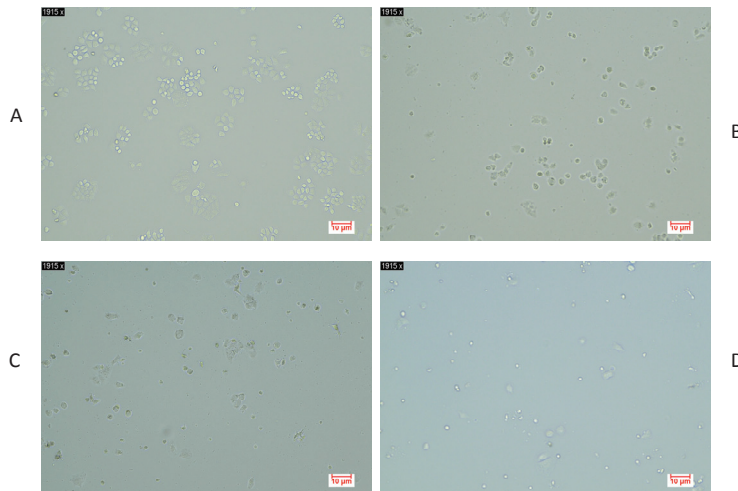
Nghiên cứu tuân thủ đầy đủ các quy định về đạo đức trong nghiên cứu Y Sinh học. Các tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Quan sát các giếng ở nhóm chứng và các nhóm điều trị tại các thời điểm 48 giờ thấy: Số lượng tế bào sống ở nhóm chứng nhiều hơn so với 3 nhóm điều trị MeV và Cisplatin. Nhóm điều trị đơn chỉ với virus vacine sởi hoặc chỉ với Cisplatin có số lượng tế bào sống cao hơn so với nhóm phối hợp

(Hình 1). Kết quả này cho thấy MeV và Cisplatin có khả năng gây chết tế bào ung thư phổi H460.

Kết quả ở 2 thời điểm 72 giờ và 96 giờ cũng có xu hướng tương tự như thời điểm 48 giờ. Tuy nhiên, số lượng tế bào sống ở các nhóm được điều trị giảm dần theo thời gian.



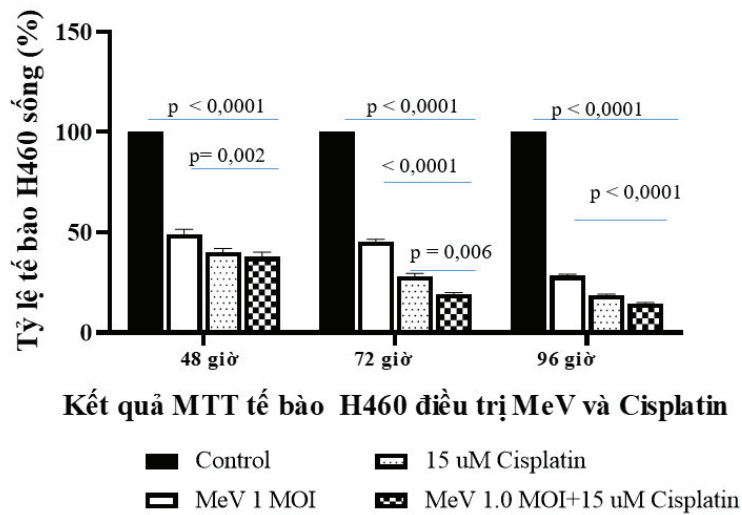
Hình 1. Hình ảnh tế bào ung thư phổi ở các giếng điều trị bằng MeV và Cisplatin thời điểm 48 giờ.

(A): Nhóm Chứng; (B): Nhóm điều trị MeV;

(C): Nhóm điều trị Cisplatin; (D): Nhóm phối hợp MeV + Cisplatin.

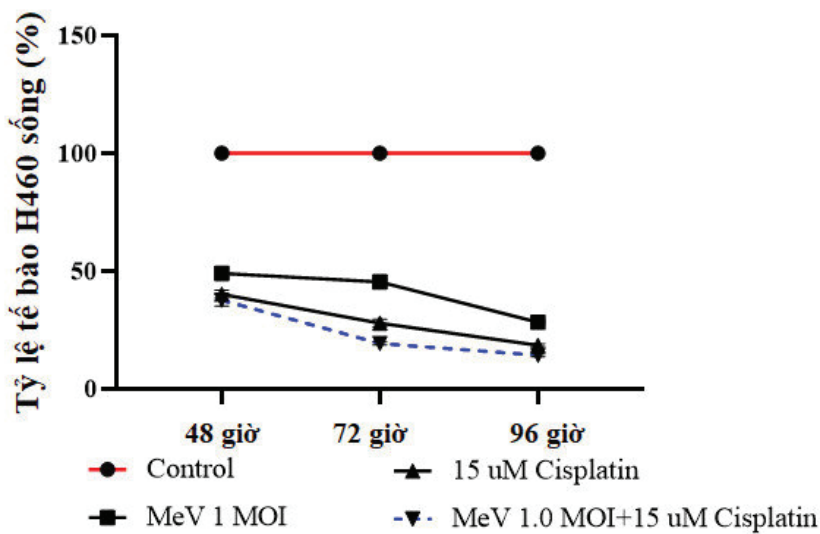
Thời điểm điều trị sau 48 giờ, 72 giờ và 96 giờ, kết quả thử nghiệm MTT cho thấy tỷ lệ tế bào sống ở nhóm chứng cao hơn rõ rệt với 3 nhóm điều trị MeV, Cisplatin và nhóm phối hợp ($p < 0,0001$) (Hình 2).

Các nhóm điều trị đơn chỉ với MeV liều 1 MOI hoặc chỉ với Cisplatin liều 15uM có tỷ lệ tế bào sống cao hơn so với nhóm điều trị phối hợp đồng thời MeV và Cisplatin. Tại thời điểm 48 giờ $p_{\text{MeV-PH}} = 0,002$; ở thời điểm 72 giờ $p_{\text{MeV-KH}} < 0,0001$; $p_{\text{Cisplatin-KH}} = 0,006$; ở thời điểm 96 giờ $p_{\text{MeV-PH}} < 0,0001$; $p_{\text{Cisplatin-PH}} = 0,085$ (Hình 2).



Hình 2. Tỷ lệ tế bào sống ở các nhóm điều trị bằng MeV và Cisplatin tại các thời điểm khác nhau.

Phân tích so sánh tỷ lệ tế bào sống theo thời gian ở các nhóm điều trị MeV và Cisplatin cho thấy tỷ lệ tế bào sống giảm dần, với tỷ lệ cao nhất ở thời điểm 48 giờ và thấp nhất ở thời điểm 96 giờ, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở nhóm điều trị MeV và nhóm phối hợp ở hai thời điểm trên ($p < 0,0001$) (Hình 3).



Hình 3. So sánh kết quả MTT ở 3 thời điểm ngày 2, 3, và ngày 4.

BÀN LUẬN

Việc sử dụng các loại virus có khả năng ly giải tế bào ung thư và ít gây hại đến các tế bào lành đang có tiềm năng rất lớn trong việc điều trị các loại ung thư khác nhau. Ở Việt Nam, đã có một số công bố về tác dụng kháng ung thư khi sử dụng MeV kết hợp virus vaccine quai bị hoặc kháng thể đơn dòng trên một số dòng tế bào ung thư máu, ung thư đại tràng, ung thư gan, ung thư phổi, ung thư tiền liệt tuyến, ung thư ruột [3, 9, 10]. Tuy nhiên, chưa có bất kỳ nghiên cứu nào đánh giá tác dụng tác dụng kháng tế bào ung thư người của chế phẩm chứa virus sởi giảm độc lực phối hợp với Cisplatin *in vitro* và trên chuột thiếu hụt miễn dịch. Nghiên cứu này lần đầu tiên đánh giá tác dụng gây chết tế bào khối ung thư phổi H460 của MeV phối hợp với Cisplatin và cũng là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam về sự phối hợp 2 phương pháp điều trị này. Kết quả thử nghiệm MTT của chúng tôi chỉ ra rằng phối hợp MeV và Cisplatin có tác dụng ly giải tế bào ung thư phổi tốt hơn sử dụng đơn độc MeV hoặc Cisplatin. Kết quả nghiên cứu này cho thấy phối hợp giữa các liệu pháp điều trị ung thư khác nhau giúp tăng khả năng ức chế khối u và tiêu diệt tế bào ung thư.

Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy virus sởi xâm nhập vào tế bào đích thông qua ba thụ thể CD46, CD150 và nectin-4, trong đó thụ thể CD46 là thụ thể chính cho sự xâm nhập của virus. Thụ thể CD46 biểu hiện cao ở hầu hết các tế bào ung thư đặc biệt là ung thư biểu mô tế bào vảy so với các tế bào bình thường, do đó virus xâm nhập vào các tế bào ung thư chiếm ưu thế hơn so với các tế bào bình thường. CD46 có vai trò quan trọng trong cơ chế xâm nhập của virus sởi vào tế bào khối u và hình thành hợp bào - hình ảnh điển hình của các tế bào bị nhiễm các virus ly giải tế bào khối u [2]. Bên cạnh sự phá vỡ tế bào, các tế bào nhiễm virus còn hình thành các hợp bào, điều này giúp cho virus tránh được sự tiếp xúc trực tiếp với các kháng thể có thể trung hòa và sự tiêu diệt của hệ miễn dịch. Quan sát quá trình gây nhiễm MeV vào tế bào H460 thấy tế bào ung thư đã co lại, giảm kích thước, tập hợp thành đám và có xu hướng bong ra khỏi bề mặt đĩa chai nuôi cấy vào thời điểm 48 giờ. Tại hai thời điểm 72 giờ và 96 giờ các hợp bào lớn dần, bong ra khỏi bề mặt nuôi cấy.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát tác dụng gây chết của MeV phối hợp Cisplatin tại ba thời điểm

48 giờ, 72 giờ và 96 giờ bằng thử nghiệm MTT. Kết quả nghiên cứu đã cho thấy MeV và Cisplatin đều có tác dụng gây chết tế bào ung thư phổi H460 với tỷ lệ tế bào sống ở nhóm chứng không điều trị cao hơn rõ rệt có ý nghĩa thống kê so với các nhóm điều trị. Trong đó, tỷ lệ tế bào sống ở nhóm điều trị phối hợp với cả hai tác nhân thấp hơn nhóm điều trị đơn chỉ với một tác nhân. Tỷ lệ tế bào sống giảm theo thời gian điều trị. Do vậy, liệu pháp điều trị ung thư sử dụng MeV là một định hướng có tiềm năng trong điều trị ung thư phổi.

Tuy nhiên, nghiên cứu này chưa chỉ ra cơ chế tác dụng cộng gộp của MeV và Cisplatin trong quá trình ức chế sự phát triển của tế bào. Quá trình điều trị phối hợp có thể làm tăng khả năng xâm nhập của cả MeV và Cisplatin vào bên trong tế bào giúp làm tăng cường khả năng ly giải tế bào. Bên cạnh đó, tác dụng của Cisplatin hướng đến các phân tử DNA và RNA của MeV trong quá trình điều trị phối hợp cũng cần được xem xét. Sự tương tác giữa Cisplatin và MeV có thể ảnh hưởng đến khả năng nhân lên của virus và đáp ứng của cơ thể. Do đó, các cơ chế này cần được nghiên cứu sâu hơn ở các nghiên cứu tiếp theo.

KẾT LUẬN

MeV và Cisplatin thể hiện hoạt tính gây chết tế bào ung thư phổi - H460 *in vitro*. Phối hợp MeV và Cisplatin gây chết tế bào H460 tốt hơn so với điều trị đơn *in vitro*, cho thấy điều trị phối hợp là một liệu pháp tiềm năng trong điều trị ung thư phổi.

Lời cảm ơn: Công trình nghiên cứu này là sản phẩm của Đề tài KH & CN cấp cơ sở: “Nghiên cứu tác dụng kháng ung thư của MeV phối hợp với Cisplatin trên thực nghiệm”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71(3):209-249.
2. Msaouel P, Opyrchal M, Domingo Musibay E, et al. Oncolytic measles virus strains as novel anticancer agents. *Expert Opin Biol Ther.* 2013; 13(4):483-502.
3. Son HA, Zhang L, Cuong BK, et al. Combination of vaccine-strain measles and mumps viruses enhances oncolytic activity against human solid malignancies. *Cancer Invest.* 2018; 36(2):106-117.

4. Ang KK, Zhang Q, Rosenthal DI, et al. Randomized phase III trial of concurrent accelerated radiation plus cisplatin with or without cetuximab for stage III to IV head and neck carcinoma: RTOG 0522. *J Clin Oncol*. 2014; 32(27):2940-2950.
5. Zoń A, Bednarek I. Cisplatin in ovarian cancer treatment-known limitations in therapy force new solutions. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(8).
6. Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorganic Chemistry*. 2019; 88:102925.
7. Amable L. Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine. *Pharmacological Research*. 2016; 106:27-36.
8. Galanis E, Hartmann LC, Cliby WA, et al. Phase I trial of intraperitoneal administration of an oncolytic measles virus strain engineered to express carcinoembryonic antigen for recurrent ovarian cancer. *Cancer Res*. 2010; 70(3):875-882.
9. Zhang LF, Tan DQ, Jeyasekharan AD, et al. Combination of vaccine-strain measles and mumps virus synergistically kills a wide range of human hematological cancer cells: Special focus on acute myeloid leukemia. *Cancer Letters*. 2014; 354(2):272-280.
10. Toan NL, Hang NT, Luu NK, et al. Combination of vaccine strain measles virus and nimotuzumab in the treatment of laryngeal cancer. *Anticancer Research*. 2019; 39(7):3727-3737.

ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ ĐỘ ĂN GIÀU CHẤT BÉO LÊN HỌC TẬP VÀ TRÍ NHỚ CỦA CHUỘT CÔNG

Nguyễn Thị Hoa^{1*}, Đinh Trọng Hà¹
Nguyễn Lê Chiến¹, Cấn Văn Mão¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá khả năng học tập và trí nhớ trên chuột được gây mô hình béo phì bằng thức ăn giàu chất béo. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu thực nghiệm, mô tả cắt ngang có đối chứng trên 60 chuột cống đực trắng 8 - 10 tuần tuổi chia đều ngẫu nhiên vào hai nhóm theo chế độ ăn tương ứng: Nhóm chế độ ăn thường (AT) và nhóm chế độ ăn giàu chất béo (AB). Hành vi của chuột được tiến hành sau gây mô hình từ tuần thứ 8 với bài tập trong mê lộ nước (Morris water maze). **Kết quả:** Chuột ở nhóm AT có quãng đường bơi ngắn hơn cũng như mất ít thời gian bơi trong mê lộ nước đến khi tìm thấy bệ nổi (platform) hơn so với chuột ở nhóm AB nhưng chưa đạt mức có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Quãng đường và thời gian bơi ở ngày thứ 6 (bỏ platform) của chuột AB thấp so với nhóm AT, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). **Kết luận:** Nhóm chuột AB có xu hướng giảm khả năng học tập và trí nhớ so với nhóm chuột AT.

Từ khóa: Chế độ ăn giàu chất béo; Hành vi; Học tập; Trí nhớ; Chuột cống; Mê lộ nước.

EFFECTS OF A HIGH-FAT DIET CONSUMPTION ON LEARNING ABILITY AND MEMORY OF RAT

Abstract

Objectives: To evaluate changes in learning ability and memory of white rats modeling obesity with a high-fat diet. **Methods:** A experimental, cross-sectional descriptive study with a control group on 60 white male rats from 8 - 10 weeks old were divided randomly into two groups: The standard diet group (AT) and the high-fat diet group (AB). Model behaviors of rats were investigated

¹Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Hoa (nguyenthahoahvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 29/12/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 18/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.640>

after eight weeks with Morris water maze test. **Results:** Rats in the AT group had a shorter swimming distance and spent less time swimming in the water maze until finding a platform than rats in the AB group, but the difference was not statistical significant ($p > 0.05$). The distance and swimming time of AB rat on day 6 (removing the platform) were lower than those in the AT group, but the difference was not statistically significant ($p > 0.05$). **Conclusion:** The AB rat group tends to have reduced learning and memory ability compared to the AT rat group.

Keywords: High-fat diet; Behavior; Learning; Memory; Rat; Morris water maze.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong xã hội ngày nay, thừa cân và béo phì là một trong những vấn đề lớn về sức khỏe [1]. Đó là tình trạng tích lũy mỡ quá mức hoặc không bình thường có thể ảnh hưởng đến sức khỏe, nguyên nhân chính là sự mất cân bằng giữa lượng thức ăn đưa vào và năng lượng tiêu hao trong thời gian dài [1]. Béo phì gây ảnh hưởng và là nguy cơ của nhiều loại bệnh tại tất cả các cơ quan trong cơ thể [2]. Đặc biệt, gần đây, nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy béo phì liên quan đến rối loạn hệ thần kinh trung ương như suy giảm vận động, học tập - trí nhớ, nhận thức... ở trên cả người và động vật thực nghiệm [3, 4, 5]. Tuy nhiên, tại Việt Nam chưa có nghiên cứu nào đánh giá về hành vi liên quan tới chức năng vận động - khám phá, cảm xúc, trí nhớ và nhận thức của động vật gây mô hình béo phì thực nghiệm. Góp phần vào hướng nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Đánh giá sự thay đổi khả năng học tập và trí nhớ trên*

chuột cống trắng được gây mô hình béo phì bằng thức ăn giàu chất béo.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Đối tượng nghiên cứu:* 60 chuột cống đực trắng 8 - 10 tuần tuổi do Trung tâm Động vật thực nghiệm, Học viện Quân y cung cấp. Chuột được chia ngẫu nhiên vào hai nhóm và gây béo phì theo mô hình đã được mô tả trước đây [6] với hai chế độ dinh dưỡng: Chế độ thường (tỷ lệ chất béo chiếm 15,1% tổng năng lượng thức ăn) và chế độ ăn giàu chất béo (mỡ và cholesterol chiếm 38,9% tổng năng lượng của thức ăn) do Công ty Nutricare (Hà Đông, Hà Nội) cung cấp. Sau 7 tuần gây mô hình béo phì qua chế độ ăn, các đánh giá về hành vi được tiến hành trong giai đoạn chuột được 15 - 16 tuần tuổi.

* *Địa điểm nghiên cứu:* Công trình nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Sinh lý học, Học viện Quân y.

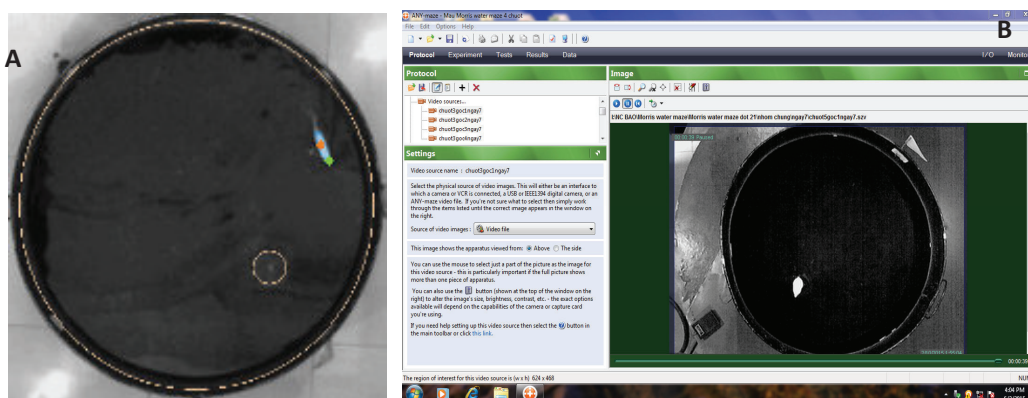
2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu thực nghiệm, mô tả cắt ngang có đối chứng.

* *Phương tiện, dụng cụ và hóa chất:*

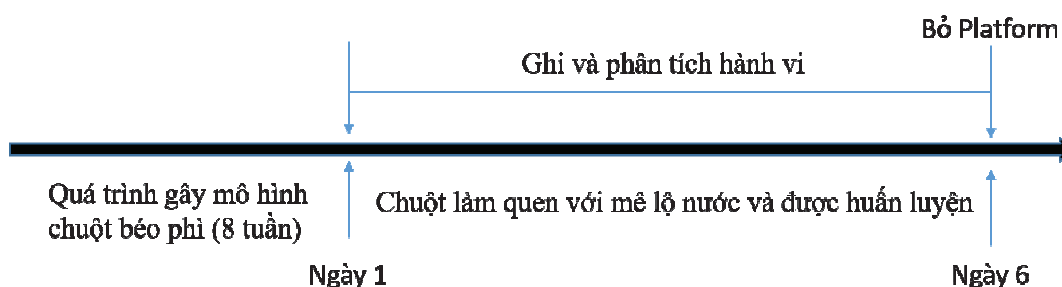
- Nguyên liệu: Do công ty Nutricare (Hà Đông, Hà Nội) cung cấp.

- Phương tiện: Được sử dụng trong những nghiên cứu trước đây [6] gồm: Mê lộ nước, hệ thống ghi và phân tích hành vi.



Hình 1. Mê lộ nước (A) và giao diện hệ thống ghi (B).

* *Các bước tiến hành ghi và phân tích số liệu:*



Hình 2. Sơ đồ quy trình nghiên cứu.

- Sau khi gây mô hình [6], chuột béo phì sẽ được làm quen với mê lộ nước và được huấn luyện, đánh giá trong 6 ngày liên tiếp, riêng ngày thứ 6, chuột bơi trong mê lộ nước 60 giây mà không có bến đỗ.

- Các chỉ số nghiên cứu gồm: Thời gian (giây), quãng đường (cm) để tìm bến đỗ theo ngày.

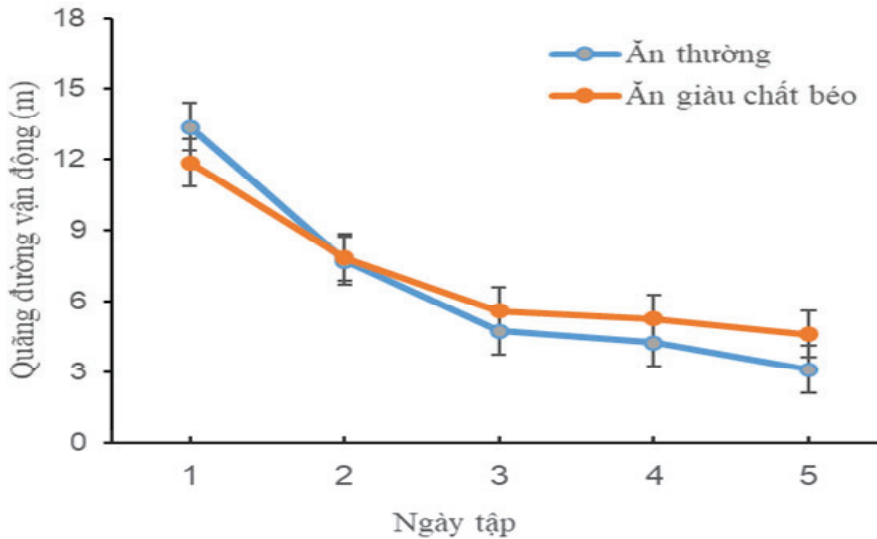
* *Xử lý số liệu:* Sự khác biệt về các chỉ số nghiên cứu giữa các nhóm nghiên cứu được phân tích bằng phương pháp so sánh phương sai hai yếu tố (ngày và chế độ ăn) và T-test. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định với giá trị $p < 0,05$.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ đúng quy trình chặt chẽ về đạo đức trong nghiên cứu y học được ban hành của Học viện Quân y và cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

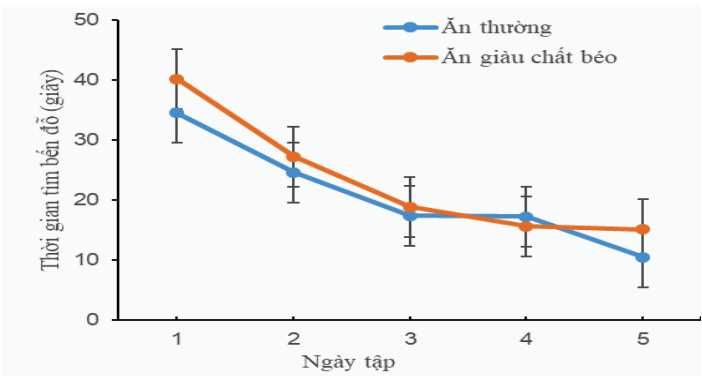
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Quãng đường chuột bơi và thời gian tìm bần đỗ (platform) ở hai nhóm nghiên cứu



Biểu đồ 1. Quãng đường (m) bơi tìm bần đỗ của hai nhóm chuột qua 5 ngày.

Quãng đường bơi để tìm được bần đỗ có sự khác biệt theo các ngày ở cả hai nhóm ($p < 0,05$), nhưng không có sự khác biệt giữa hai nhóm ($p > 0,05$). Không khác biệt về quãng đường giữa hai nhóm ($F_{(4, 300)} = 1,357$, $p = 0,249$, kiểm định Bonferroni).



Biểu đồ 2. Thời gian (giây) chuột tìm bần đồ của hai nhóm chuột qua 5 ngày.
Thời gian chuột tìm được bần đồ qua các ngày tập có sự khác biệt theo ngày ở cả hai nhóm ($p < 0,05$), tuy nhiên, không có khác biệt giữa hai nhóm ($p > 0,05$).

2. Hoạt động của chuột ở ngày thứ 6 (bỏ platform) ở hai nhóm nghiên cứu

Bảng 1. Quãng đường (m) chuột bơi ở góc phần tư của mê lộ nước sau khi bỏ platform của hai nhóm chuột.

Thời điểm	Nhóm ăn thường ($\bar{X} \pm SD$)	Nhóm ăn giàu chất béo ($\bar{X} \pm SD$)
Quãng đường chuột bơi (m)	8,42 ± 1,66	7,99 ± 2,18
p	0,382	

Quãng đường chuột bơi ở góc phần tư ở ngày thứ 6 (bỏ platform) của chuột AB có xu hướng ít hơn so với ở nhóm AT, nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 2. Thời gian (giây) chuột bơi ở góc phần tư của mê lộ nước sau khi bỏ platform của hai nhóm chuột.

Thời điểm	Nhóm ăn thường ($\bar{X} \pm SD$)	Nhóm ăn giàu chất béo ($\bar{X} \pm SD$)
Thời gian chuột bơi (giây)	32,47 ± 7	31,11 ± 7,54
p	0,466	

Thời gian chuột bơi ở góc phần tư ở ngày thứ 6 (bỏ platform) của chuột nhóm AB có xu hướng ít hơn so với ở nhóm AT, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

BÀN LUẬN

Béo phì làm ảnh hưởng và gây ra rất nhiều bệnh tại tất cả các cơ quan trong cơ thể, nghiên cứu gần đây cho thấy, béo phì có liên quan đến học tập, trí nhớ không chỉ trên động vật thực nghiệm mà còn trên cả con người [3, 5].

Các phương pháp nghiên cứu đánh giá khả năng học tập và trí nhớ về không gian ở động vật gặm nhấm thường sử dụng mê lộ nước. Khả năng học tập và trí nhớ về không gian được đánh giá qua thời gian, quãng đường và số lần chuột tiếp cận góc phần tư có đặt bẫy đồ trước đó trong mê lộ nước [7, 8, 9]. Việc thực hiện bài tập trong môi trường nước liên quan đến các chất trung gian dẫn truyền thần kinh, chức năng của các receptor trung khu học tập và trí nhớ trong não như vùng hải mã, vỏ não trán trước..., đặc biệt liên quan tới trí nhớ hiện động (là trí nhớ đang hoạt động), ghi nhớ hiện hữu trong thời gian ngắn, trí nhớ chưa được chuyển thành trí nhớ dài hạn [8]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, không có sự khác biệt giữa hai nhóm AT và nhóm AB về quãng đường bơi và thời gian bơi để tìm bẫy đồ qua 5 ngày tập, tuy nhiên, ở nhóm AB, quãng đường bơi và thời gian bơi tìm bẫy đồ

có xu hướng dài hơn so với nhóm AT. Ngày thứ 6, sau khi bỏ bẫy đồ thì ở nhóm AT có quãng đường bơi và thời gian bơi có xu hướng nhiều hơn nhóm AB. Kết quả này phù hợp với những nghiên cứu trước đây [7, 10]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt, mặc dù xu hướng chỉ có ý nghĩa thống kê về quãng đường và thời gian chuột tiếp cận bẫy đồ ở cả hai nhóm, điều này có thể giải thích về số lượng chuột chúng tôi nghiên cứu còn hạn chế. Kết quả này cũng góp phần cho thấy chuột ăn chế độ giàu chất béo có giảm khả năng học tập và trí nhớ về không gian so với nhóm không béo phì, kết quả này cũng phù hợp với những nghiên cứu về sự biến đổi các chất dẫn truyền thần kinh trên não của người béo phì gây nên suy giảm khả năng học tập và trí nhớ [5]. Để làm rõ cơ chế về sự biến đổi hành vi học tập và trí nhớ ở động vật gây thực nghiệm béo phì và ở trên những người béo phì, cần có những nghiên cứu thêm để làm rõ vấn đề này trong tương lai.

KẾT LUẬN

Chuột cống trắng được gây mô hình béo phì có xu hướng giảm khả năng học tập và trí nhớ về không gian so với chuột ăn chế độ thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. World Health Organisation. Obesity and overweight. 9 June 2021.
2. Gurevich-Panigrahi T, Panigrahi S, Wiechec E, et al. Obesity: Pathophysiology and clinical management. *Current Medicinal Chemistry*. 2009; 16(1): 506-521.
3. Chen Z, Xu YY, Wu R, et al. Impaired learning and memory in rats induced by a high-fat diet: Involvement with the imbalance of nesfatin-1 abundance and copine 6 expression. *Journal of Neuroendocrinology*. 2017; 29(4). DOI:10.1111/jne.12462.
4. Lalanza JF, Caimari A, Del Bas JM, et al. Effects of a post-weaning cafeteria diet in young rats: Metabolic syndrome, reduced activity and low anxiety-like behaviour. *PLoS One*. 2014; 9(1):e85049.
5. Jeremy DC, Hassan MF, Chadi GA, et al. Reduced hippocampal N-acetyl-aspartate (NAA) as a biomarker for overweight. *Neuroimage Clin*. 2014; 9(4):326-335.
6. Nguyễn Thị Hoa. Nghiên cứu tác dụng lên hành vi và chuyển hoá lipid máu của Nano alginate/chitosan/lovastatin trên chuột cống gây mô hình béo phì. *Luận án Tiến sĩ Y học*. Học viện Quân y. 2012.
7. Morris RGM., Garrud P, Rawlins JNP, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*. 1982; 297(5868):681-683.
8. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*. 1984; 11(1): 47-60.
9. Pathan AR, Gaikwad AB, Viswanad B, et al. Rosiglitazone attenuates the cognitive deficits induced by high fat diet feeding in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2008; 589(1-3):176-179.
10. Liu Y, Fu X, Lan N, et al. Luteolin protects against high fat diet-induced cognitive deficits in obesity mice. *Behavioural Brain Research*. 2014; 267:178-188.

**TỔNG KẾT CƠ CẤU THƯƠNG BINH
TRONG KHÁNG CHIẾN BẢO VỆ MIỀN BẮC VIỆT NAM (1964 - 1972)**

Đào Trung Hải¹, Nguyễn Đức Kiên¹, Phùng Văn Hành^{1}*

Tóm tắt

Mục tiêu: Phân tích cơ cấu thương binh (TB) trong kháng chiến bảo vệ miền Bắc Việt Nam (1964 - 1972). **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu số liệu thứ cấp kết hợp với phương pháp logic. **Kết quả:** Tỷ lệ TB mức độ nhẹ chiếm chủ yếu ($49,07 \pm 14,29\%$), TB mức độ vừa ($25,71 \pm 4,33\%$) và mức độ nặng ($25,22 \pm 7,29\%$), thường tập trung vào cuối giai đoạn của các cuộc kháng chiến. Từ năm 1964 - 1968, tổn thương chủ yếu do bom bi ($28,4 - 60,61\%$) và tổn thương chi dưới chiếm tỷ lệ cao nhất ($19,82 - 32,63\%$). Trong năm 1972, chủ yếu tổn thương do mảnh phá ($49,6\%$) với vị trí tổn thương đầu - mặt - cổ chiếm tỷ lệ cao nhất ($43,7\%$). Tính chất vết thương rất đa dạng ở nhiều cơ quan, trong đó vết thương phần mềm chiếm chủ yếu ($53,76 \pm 7,62\%$). Vũ khí càng hiện đại, chiến tranh càng ác liệt thì tỷ lệ vết thương phần mềm có xu hướng giảm. **Kết luận:** Cơ cấu thương tích của TB là cơ sở khoa học để chỉ huy quân y các cấp đánh giá đặc điểm vết thương và đề ra các biện pháp khắc phục phù hợp.

Từ khóa: Cơ cấu thương binh; Kháng chiến; Miền Bắc Việt Nam.

**SUMMARY OF THE STRUCTURE OF WOUNDED SOLDIERS
DURING THE RESISTANCE WAR FOR NATIONAL SALVATION
IN THE NORTH OF VIETNAM (1964 - 1972)**

Abstract

Objectives: To analyze the structure of wounded soldiers during the resistance war for national salvation in the North of Vietnam (1964 - 1972). **Methods:** A retrospective study of secondary data combined with logical methods. **Results:** The majority of wounded soldiers sustained minor injuries ($49.07 \pm 14.29\%$), followed by moderate ($25.71 \pm 4.33\%$), and severe cases ($25.22 \pm 7.29\%$), were mainly

¹Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Phùng Văn Hành (phungvanhanh123@gmail.com)

Ngày nhận bài: 11/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 26/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.687>

at the end of the war phases. From 1964 to 1968, the injuries were mainly caused by cluster bombs (28.4 - 60.61%), and lower limb injuries accounted for the highest proportion (19.82 - 32.63%). In 1972, the majority of injuries were caused by shrapnel (49.6%), with head, face, and neck injuries being the most prevalent (43.7%). The nature of the wounds was highly diverse across various organs, with soft tissue injuries being the most common ($53.76 \pm 7.62\%$). The more modern and intense the weapon and warfare were, the less soft tissue injuries rate were. **Conclusion:** The structure of wounded soldiers provides a scientific basis for military medical commanders at all levels to assess the characteristics of wounds and to develop appropriate remedial measures.

Keywords: Structure of wounded soldiers; The resistance war; The North of Vietnam.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, tình hình thế giới và khu vực diễn biến nhanh chóng, phức tạp và rất khó lường. Chuẩn bị các mặt bảo đảm quân y cho các lực lượng vũ trang trong chiến đấu là rất cần thiết và cần thực hiện ngay từ thời bình [1]. Để tính toán được nhu cầu cứu chữa vận chuyển, dự kiến tổ chức sử dụng lực lượng cũng như tính toán nhu cầu vật chất quân y, việc xác định tỷ lệ và cơ cấu TB có ý nghĩa, vai trò quan trọng và là cơ sở khoa học để người chỉ huy quân y xây dựng và hoàn chỉnh kế hoạch bảo đảm quân y [2].

Trong kháng chiến bảo vệ miền Bắc, với đặc điểm số lượng TB lớn nhưng rải rác ở nhiều khu vực, cơ cấu tổn thương đa dạng, phức tạp [3, 4, 5]. Nhiều công trình tổng kết quân y trong giai đoạn này đã được thực hiện. Tuy nhiên, ít có nghiên cứu nào đi sâu vào phân tích cơ cấu thương tích của TB. Nhằm kế thừa kinh nghiệm, đồng thời đối chiếu tình hình thực tiễn để có thể dự kiến cơ cấu TB trong tương lai, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: *Phân tích cơ cấu TB trong kháng chiến bảo vệ miền Bắc Việt Nam (1964 - 1972).*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng, chất liệu, địa điểm và thời gian nghiên cứu

* *Đối tượng nghiên cứu:* Cơ cấu thương tích của TB trong kháng chiến bảo vệ miền Bắc (1964 - 1972) dựa vào báo cáo tổng kết công tác quân y trong kháng chiến bảo vệ miền Bắc 1965 - 1972; báo cáo công tác cứu chữa - vận chuyển TB, bệnh binh trong kháng chiến bảo vệ miền Bắc (1965 - 1972).

* *Địa điểm nghiên cứu:* Nghiên cứu được tiến hành tại khoa Chỉ huy tham mưu quân y, Học viện Quân y.

* *Thời gian hồi cứu số liệu:* Từ năm 1964 - 1972.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu hồi cứu số liệu thứ cấp kết hợp với phương pháp logic.

* *Phương pháp nghiên cứu:*

- Phương pháp hồi cứu số liệu thứ cấp: Tiến hành hồi cứu và phân tích các số liệu thứ cấp từ các báo cáo tổng kết công tác thu dung điều trị TB, bệnh binh trong thời gian nghiên cứu. Bổ sung và đối chiếu với tài liệu tổng kết kháng chiến bảo vệ miền Bắc .

- Phương pháp logic: Tiến hành thu thập, tổng hợp và phân tích các tài liệu, dữ liệu về cơ cấu TB trong kháng chiến bảo vệ miền Bắc theo thời gian từ năm 1964 - 1972 nhằm đối chiếu, so sánh, phân tích và tổng hợp theo thời gian:

+ Cuộc kháng chiến lần thứ nhất (1964 - 1968): Căn cứ Hải quân tại Việt Nam bị ném bom từ ngày 05/8/1964 và tiếp tục cuộc kháng chiến lần thứ nhất (1965 - 1968).

+ Cuộc kháng chiến lần thứ hai từ ngày 06/4/1972 - 31/12/1972 (trên thực tế đến ngày 15/01/1973).

* *Chỉ số nghiên cứu:* Tỷ lệ (%) TB theo mức độ nặng, vừa, nhẹ; tỷ lệ (%) TB theo đơn vị; tỷ lệ (%) TB theo vũ khí sát thương; tỷ lệ (%) TB theo bộ phận bị thương; tỷ lệ (%) TB theo tính chất vết thương; tỷ lệ TB trung bình.

* *Xử lý số liệu:* Thu thập thông tin từ các tài liệu chính thống về tổng kết công tác bảo đảm quân y. Xây dựng các biểu mẫu thu thập số liệu thống nhất dựa trên các nội dung và chỉ số nghiên cứu.

3. Đạo đức nghiên cứu

Do tính chất nhạy cảm của số liệu TB trong hoạt động quân sự nên nghiên cứu chỉ sử dụng các số liệu ở dạng tương đối, không cung cấp số liệu tuyệt đối.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Cơ cấu TB theo mức độ tổn thương (1964 - 1972) [3, 4].

Mức độ	1964	1965	1966	1967	1968	1972	$\bar{X} \pm SD$
Nặng	10,16	20,3	28,14	21,99	27,7	43,02	$25,22 \pm 7,29$
Vừa	19,25	23,4	32,17	25,6	25,94	27,89	$25,71 \pm 4,33$
Nhẹ	70,59	56,3	39,69	52,41	46,36	29,09	$49,07 \pm 14,29$
Tổng	100	100	100	100	100	100	100

(Đơn vị tính: %)

Tổn thương mức độ nhẹ chiếm tỷ lệ lớn nhất trong cơ cấu thương tích ($49,07 \pm 14,29\%$), năm 1964, tỷ lệ này lên tới 70,59%. Tiếp đến, tổn thương mức độ vừa ($25,71 \pm 4,33\%$), tổn thương mức độ nặng chiếm tỷ lệ thấp nhất ($25,22 \pm 7,29\%$). Năm 1972, cơ cấu TB có sự thay đổi, TB nặng chiếm tỷ lệ cao nhất (43,02%).

Bảng 2. Cơ cấu mức độ tổn thương theo đơn vị trong năm 1972 [3, 4].

Đơn vị	Nặng	Vừa	Nhẹ	Tổng
Quân khu Việt Bắc	50,90	25,45	23,65	100
Quân khu Tây Bắc	67,00	22,24	10,76	100
Quân khu Tả Ngạn	40,25	40,15	19,60	100
Quân khu Hữu Ngạn	40,27	32,63	27,10	100
Quân khu 4	48,21	34,00	17,79	100
Quân chủng Hải quân	48,70	30,34	20,96	100
Quân chủng Phòng không - Không quân	17,09	23,77	59,14	100
Sư đoàn 308	20,04	53,30	26,66	100
Trung bình	43,02	27,89	29,09	100

(Đơn vị tính: %)

Phân tích sâu vào mức độ tổn thương theo đơn vị, chỉ có năm 1972 có số liệu thống kê khá đầy đủ. Năm 1972 là năm duy nhất có cơ cấu TB khác với những

năm còn lại của cuộc kháng chiến. Tỷ lệ TB tổn thương mức độ nặng chiếm tới 43,02%, TB tổn thương mức độ nhẹ và vừa gần tương đương nhau (29,09% và 27,89%). Hầu hết các đơn vị đều ghi nhận tổn thương mức độ nặng chiếm tỷ lệ lớn nhất, cao nhất tại Quân khu Tây Bắc với 67,0%, thấp nhất tại Quân chủng Phòng không - Không quân với 17,09%. Hai đơn vị ghi nhận cơ cấu tổn thương khác với các đơn vị còn lại, tại Quân chủng Phòng không - Không quân, tổn thương mức độ nhẹ chiếm tỷ lệ lớn nhất (59,14%) và Sư đoàn 308 có tổn thương mức độ vừa chiếm ưu thế (53,30%).

Bảng 3. Phân loại TB theo vũ khí sát thương [3, 4].

Vũ khí	1964	1965	1966	1967	1968	1972	$\bar{X} \pm SD$
Đạn xuyên	16,04	16,45	3,87	1	0,13	-	$7,50 \pm 8,11$
Bom phá	5,36	11,47	29,44	28	50,18	31,3	$25,96 \pm 15,91$
Đạn phá	18,00	0	12,52	5,33	3,66	18,3	$9,64 \pm 7,75$
Bom bi	60,60	60,61	28,4	50,23	31,15	5,3	$39,38 \pm 21,76$
Rốc kết	-	11,47	25,72	12,31	9,47	14,2	$14,63 \pm 6,43$
Tên lửa	-	-	-	2,79	-	10,5	$6,65 \pm 5,45$
Tác nhân khác	-	-	0,05	0,34	5,41	20,4	$6,55 \pm 14,39$
Tổng	100	100	100	100	100	100	100

(Đơn vị tính: %)

Số liệu thống kê TB bị tổn thương do một số loại vũ khí (rốc kết, tên lửa...) chưa được đầy đủ ở giai đoạn đầu của cuộc kháng chiến, sau đó, số liệu được thống kê đầy đủ hơn. Bom bi là vũ khí gây tổn thương nhiều nhất đối với TB ($39,38 \pm 21,76\%$), cao nhất vào năm 1965 (60,61%), con số này chỉ chiếm 5,3% vào năm 1972. Gây tổn thương nhiều thứ 2 là bom phá ($25,96 \pm 15,91\%$), sau đó tới rốc kết ($14,63 \pm 6,43\%$), đạn phá ($9,64 \pm 7,75\%$), đạn xuyên ($7,50 \pm 8,11\%$).

Bảng 4. Phân loại TB theo bộ phận bị thương (1964 - 1972) [3, 4].

Bộ phận	1964	1965	1966	1967	1968	1972	$\bar{X} \pm SD$
Đầu - mặt - cổ	15,27	22,50	20,49	23,10	19,72	43,70	24,13 $\pm$ 9,98
Ngực - lưng	16,42	10,32	24,14	15,12	15,84	13,20	15,84 $\pm$ 4,63
Bụng - chậu	8,33	10,25	10,20	10,98	8,84	10,50	9,85 $\pm$ 1,03
Chi trên	27,08	22,20	19,79	22,42	14,53	14,30	20,05 $\pm$ 4,97
Chi dưới	32,63	32,50	23,68	23,59	19,82	12,70	24,15 $\pm$ 7,64
Khác	0,27	2,23	1,70	4,79	21,25	5,60	5,97 $\pm$ 7,74
Tổng	100	100	100	100	100	100	100,00

Đơn vị tính: %

Theo bộ phận bị thương, TB tổn thương chi chiếm tỷ lệ lớn nhất, trong đó chi dưới (24,15 $\pm$ 7,64%), chi trên (20,05 $\pm$ 4,97%). Sau đó tới vết thương đầu - mặt - cổ (24,13 $\pm$ 9,98%), ngực - lưng (15,84 $\pm$ 4,63%), bụng - chậu (9,85 $\pm$ 1,03%). Năm 1972, ghi nhận cơ cấu TB theo vị trí tổn thương khác với các năm còn lại, TB tổn thương ở đầu - mặt - cổ chiếm tỷ lệ cao nhất (43,70%).

Bảng 5. Phân loại TB theo tính chất vết thương (1964 - 1968) [3, 4].

Tính chất	1964	1965	1966	1967	1968	$\bar{X} \pm SD$
Phần mềm	50,8	66,57	54,48	49,61	47,32	53,76 $\pm$ 7,62
Mạch máu lớn	0,53	1,53	2,99	2,45	1	1,70 $\pm$ 1,01
Thần kinh	1,6	3,22	0,85	2,03	2,53	2,05 $\pm$ 0,90
Gãy xương kín	9,37	9,5	4,27	9,39	2,5	7,01 $\pm$ 3,36
Gãy xương hở	12,83	2,35	7,69	5,42	5,66	6,79 $\pm$ 3,88
Sọ não	-	-	-	-	2,26	-
Nội tạng	10,47	11,29	5,98	17,67	8,75	10,83 $\pm$ 4,33
Bỏng	4,81	1,61	1,77	1,87	1,64	2,34 $\pm$ 1,38
Sức ép, vùi lấp	8,53	2,23	17,7	4,79	25,83	11,82 $\pm$ 9,79
Dập nát chi	1,06	1,7	4,27	6,77	2,51	3,26 $\pm$ 2,30
Tổng	100	100	100	100	100	100

Đơn vị tính: %

Tính chất vết thương rất đa dạng, trong đó, vết thương phần mềm chiếm tỷ lệ cao nhất trong tất cả các năm (53,76 $\pm$ 7,62%). Vết thương sức ép, vùi lấp và vết thương nội tạng cũng chiếm tỷ lệ khá cao, lần lượt là 11,82 $\pm$ 9,79% và 10,83 $\pm$ 4,33%. Vết thương mạch máu lớn chiếm tỷ lệ thấp nhất với 1,70 $\pm$ 1,01%.

BÀN LUẬN

1. Phân loại theo mức độ tổn thương

Mức độ tổn thương được chia thành ba nhóm là nặng, vừa, nhẹ [6]. Mức độ tổn thương có sự thay đổi theo thời gian. Trong đó, TB có tổn thương mức độ nặng và vừa tăng dần, trong khi tổn thương mức độ nhẹ giảm dần. Giai đoạn đầu của cuộc chiến, vũ khí địch sử dụng còn đơn giản, quy mô đánh phá còn nhỏ, chỉ tập trung vào một số địa điểm chính nên TB nhẹ chiếm tỷ lệ cao hơn. Càng kéo dài thời gian, diễn biến chiến đấu càng ác liệt, cơ cấu mức độ tổn thương cũng có sự thay đổi. Khi so sánh với các cuộc chiến cho thấy TB nhẹ vẫn chiếm chủ yếu (45 - 55%) [2, 6].

Tỷ lệ này là cơ sở để quân y các cấp dự kiến các mức độ tổn thương trong kháng chiến bảo vệ Tổ quốc trong tương lai và tính toán nhu cầu cứu chữa [2, 6]:

- Tính toán việc tổ chức cứu chữa: Phân tuyến điều trị, dự kiến thời gian, trang bị kỹ thuật, thuốc và vật tư quân y.

- Điều trị ở từng tuyến: Tuyến quân y trung đoàn thường giữ lại 5% các TB nhẹ có thể khỏi trong vòng 5 ngày, tuyến quân y sư đoàn thường giữ lại 10% các TB nhẹ khỏi trong vòng 10 ngày, số TB còn lại chuyển về điều trị tại tuyến chiến dịch và chiến lược.

- Dự kiến khả năng bổ sung TB về chiến đấu.

Khi đi sâu vào tổng kết mức độ tổn thương của TB theo các đơn vị cho thấy, ở các đơn vị bộ binh, tổn thương theo các mức độ khá tương đồng nhau. Riêng với các đơn vị bộ binh có tổn thương chủ yếu mức độ vừa và nặng, điều này cũng rất phù hợp với đặc điểm đánh phá tập trung mang tính hủy diệt. Lực lượng Phòng không - Không quân chủ yếu là TB nhẹ và vừa cho thấy nghệ thuật quân sự của Việt Nam đã thành công bảo vệ cho những đơn vị quan trọng là những đơn vị thường bị địch tìm kiếm, đánh phá ác liệt [3,4, 5]. Đồng thời cho thấy sự kết hợp chặt chẽ quân và dân y trong giai đoạn này, vì lực lượng không quân khi tổn thất thường khó tìm kiếm, thời gian chuyển theo đúng tuyến thường kéo dài [7, 8].

2. Phân loại TB theo vũ khí sát thương

Mặc dù công tác thống kê, báo cáo, lưu trữ còn chưa đồng bộ và thống nhất nhưng kết quả nghiên cứu cho thấy tổn thương do các loại vũ khí thường rất đa dạng về chủng loại và theo cách sử dụng của đối phương. Trong giai đoạn chiến tranh phá hoại lần 1 (1964 - 1968), tổn thương do bom bi chiếm tỷ lệ chủ yếu (dao động từ 28,4 - 60,61%). Đối phương còn sử dụng

những loại bom khác nhau được gắn trên máy bay hiện đại với chiến thuật vừa đánh vừa thăm dò dư luận, leo thang từng bước nên càng về sau càng ác liệt. Ngoài ra, địch còn sử dụng các loại vũ khí khác như mìn, đạn cối, rốc két... gây nên những tổn thương đa dạng và phức tạp. Giai đoạn chiến tranh phá hoại lần hai năm 1972, do đối phương đánh phá ác liệt, có sử dụng nhiều loại vũ khí hiện đại có điều khiển bằng laser nên tác nhân gây tổn thương khá đa dạng về chủng loại. Đây là thời điểm đối phương đánh phá ác liệt nhất với âm mưu nhằm kết thúc cuộc kháng chiến với số lượng TB lớn nhất [3, 4]. Từ việc nghiên cứu theo vũ khí sát thương có thể đánh giá mức độ ảnh hưởng của vũ khí của đối phương đến cơ cấu thương tích và tổ chức các biện pháp cứu chữa phù hợp.

3. Phân loại theo vị trí tổn thương

Tổn thương do bom bị chiếm tỷ lệ cao, vị trí tổn thương chủ yếu là ở chi dưới trong giai đoạn 1964 - 1968. Tổn thương do mảnh phá tầng, vị trí tổn thương thường ở đầu - mặt - cổ và chi trên vì vũ khí sử dụng chủ yếu trong cuộc chiến này là từ trên cao rơi xuống, bộ đội cơ động trong các hầm hào, có vật che chắn nên đa phần chỉ để lộ phần trên để quan sát, dẫn đến bị thương cao nhất ở phần đầu, mặt, cổ và

chi trên. Tổn thương ngực, lưng, bụng, chậu có tỷ lệ thấp hơn do có trang thiết bị bảo vệ. Ngoài ra, tổn thương vị trí ở da do bị bỏng [3, 4, 5]. Từ các tài liệu tổng kết cho thấy, ngoài các đặc điểm như chiến thuật (tiên công, phòng ngự), cấu trúc công sự, kỹ chiến thuật của bộ đội... vũ khí đối phương sử dụng cũng gây nên những tổn thương mang tính đặc thù ứng với mỗi loại vũ khí.

Nghiên cứu tỷ lệ này sẽ giúp ích trong đánh giá ảnh hưởng của các loại vũ khí đến cơ cấu thương tích, đánh giá trình độ chiến kỹ thuật của bộ đội, giúp nghiên cứu các trang bị cá nhân để hạn chế tác dụng sát thương của vũ khí của đối phương (giày, mũ, áo giáp...).

4. Phân loại theo tính chất vết thương

Tổn thương theo tính chất vết thương rất đa dạng, từ vết thương phần mềm đến gãy xương, tổn thương mạch máu, tổn thương thần kinh, tổn thương các tạng, hội chứng vùi lấp... Trong đó, tỷ lệ tổn thương chủ yếu là vết thương phần mềm ($53,76 \pm 7,62\%$). Mặc dù tỷ lệ này thấp hơn so với hai cuộc kháng chiến chống Pháp (86 - 88,5%) và kháng chiến giải phóng miền Nam (60 - 75%) [7, 8]. Từ việc so sánh với các cuộc kháng chiến trước đây, có thể cho thấy vũ khí càng hiện đại, mức độ ác liệt càng cao thì tổn thương càng phức tạp, tỷ lệ vết thương phần mềm vẫn là chủ yếu nhưng có giảm dần và phối

hợp các tổn thương. Tổn thương tiếp theo là tổn thương vùi lấp, cũng phù hợp với đặc điểm cuộc kháng chiến giai đoạn này khi đối phương ném rất nhiều các loại bom xuống chiến trường miền Bắc [3, 4].

Đây chính là cơ sở để tổ chức việc cứu chữa ở các tuyến, các tuyến phía trước thường xử trí các tổn thương nhẹ, vết thương phần mềm đơn giản để nhanh chóng trả quân số về các đơn vị chiến đấu. Tổ chức các tuyến có trình độ chuyên môn và chuyên khoa ở tuyến sau. Đây cũng là cơ sở để tính toán nhu cầu vật chất, trang thiết bị quân y cho phù hợp ở mỗi tuyến.

Như vậy, trong những giai đoạn địch tiến hành đánh phá ác liệt, cơ cấu vết thương phức tạp, tỷ lệ TB nặng và vừa tăng lên. Đồng thời, tính chất tổn thương đa dạng gặp ở nhiều vị trí khác nhau.

KẾT LUẬN

Theo mức độ tổn thương, TB mức độ nhẹ chiếm chủ yếu ($49,07 \pm 14,29\%$), TB mức độ vừa ($25,71 \pm 4,33\%$) và mức độ nặng ($25,22 \pm 7,29\%$), thường tập trung vào cuối giai đoạn các cuộc kháng chiến. Trong năm 1964 -1968, bom bi vẫn là tác nhân sát thương chủ yếu (28,4 - 60,61%), đồng thời, tổn thương chi dưới chiếm tỷ lệ cao nhất (19,82 - 32,63%). Trong năm 1972, tổn

thương do mảnh phá chiếm chủ yếu (49,6%) với vị trí tổn thương đầu - mặt - cổ hay gặp nhất (43,7%). Tính chất vết thương đa dạng ở nhiều cơ quan, trong đó, vết thương phần mềm chiếm chủ yếu ($53,76 \pm 7,62\%$). Vũ khí càng hiện đại, chiến tranh càng ác liệt thì tỷ lệ vết thương phần mềm có xu hướng giảm. Những đặc điểm này giúp cho người chỉ huy quân y đánh giá được tác dụng sát thương của các loại vũ khí và đặc điểm của từng loại vết thương để đề ra các biện pháp khắc phục phù hợp.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được thực hiện trên cơ sở phân tích và tổng hợp một số đề tài cơ sở được thực hiện tại Khoa Chỉ huy tham mưu Quân y. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Khoa chỉ huy tham mưu Quân y, các nhà khoa học và một số cán bộ, giảng viên tại các Khoa Y học Quân sự đã cung cấp, tổng hợp các tài liệu về công tác quân y vô cùng quý giá. Chúng tôi cam kết đây là sản phẩm khoa học chưa được công bố ở bất kỳ tạp chí khoa học nào và không có xung đột lợi ích với bất kỳ cá nhân hay cơ quan tổ chức.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Quân y. Báo cáo tổng kết công tác quân y năm 2023 và phương hướng nhiệm vụ năm 2024. 2023.

2. Cục Quân y. Tổ chức và chỉ huy quân y, tập II. Nhà xuất bản Quân đội Nhân dân. 2006.

3. Cục Quân y. Tổng kết công tác quân y trong chống Mỹ cứu nước ở miền Bắc 1965 - 1972. Bộ môn Tổ chức chỉ huy quân y - Học viện Quân y biên tập. 2007.

4. Học viện Quân y. Công tác cứu chữa - vận chuyển thương binh, bệnh binh trong chống chiến tranh phá hoại ở miền Bắc Việt Nam (1965 - 1972). *Đề tài nghiên cứu cấp cơ sở*. 2019.

5. Học viện Quân y. Tổng kết công tác thu dung điều trị thương binh, bệnh

binh trong 4 năm chống Mỹ cứu nước ở miền Bắc Việt Nam (1965 - 1968). *Tài liệu tổng kết chiến tranh*. 2001.

6. Bộ Quốc phòng. Điều lệ công tác quân y. Nhà xuất bản Quân đội Nhân dân. 2001.

7. Học viện Quân y. Tổng kết công tác kết hợp quân dân y chống chiến tranh phá hoại ở miền Bắc trong kháng chiến chống Mỹ (1954 - 1973). *Đề tài nghiên cứu cấp cơ sở*. 2015.

8. Học viện Quân y. Tổng kết công tác kết hợp quân dân y ở chiến trường miền Nam trong kháng chiến chống Mỹ (1954 - 1975). *Đề tài nghiên cứu cấp cơ sở*. 2014.

THỰC TRẠNG MỘT SỐ YẾU TỐ CỦA MÔI TRƯỜNG LAO ĐỘNG TẠI CÁC TRẠM THU PHÍ ĐƯỜNG BỘ CAO TỐC PHÁP VÂN - CẦU GIỄ

Tổng Đức Minh¹, Nguyễn Hoàng Trung^{1}, Nguyễn Đức Điền¹
Trần Văn Kha¹, Từ Quang¹, Lê Tuấn Anh¹*

Tóm tắt

Mục tiêu: Mô tả thực trạng một số yếu tố môi trường lao động tại các trạm thu phí đường bộ cao tốc Pháp Vân - Cầu Giẽ. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang về môi trường làm việc của người lao động tại 8 trạm thu phí đường bộ cao tốc Pháp Vân - Cầu Giẽ từ tháng 01 - 3/2023. Các chỉ số nghiên cứu gồm vi khí hậu, chiếu sáng, ồn, hơi khí độc (CO, CO₂, NO₂, SO₂, CH₂O, C₆H₆). **Kết quả:** 100% mẫu đo về nhiệt độ không đạt quy chuẩn quốc gia. Độ ẩm, tốc độ gió và cường độ ánh sáng đều đạt quy chuẩn quốc gia. 76,25% mẫu đo tiếng ồn vượt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia từ 1 - 14,7 dBA. 45% mẫu đo bụi hô hấp, 40% mẫu đo bụi toàn phần vượt quy chuẩn quốc gia từ 0,29 - 0,71 mg/m³. 100% mẫu đo hơi khí độc CO vượt quy chuẩn quốc gia. Tất cả các mẫu hơi khí độc CO₂, SO₂, NO₂, CH₂O, C₆H₆ đều đạt quy chuẩn quốc gia. **Kết luận:** Người lao động tại trạm thu phí đường bộ làm việc thường xuyên, liên tục trong điều kiện lao động đặc thù tiếp xúc với khí hậu nóng, tiếng ồn, hơi khí độc, bụi, và những yếu tố bất lợi đó ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe nghề nghiệp của người lao động.

Từ khóa: Môi trường lao động; Trạm thu phí đường bộ; Cao tốc.

CURRENT STATUS OF SOME FACTORS OF THE WORKING ENVIRONMENT AT TOLL STATIONS ON THE PHAP VAN - CAU GIE EXPRESSWAY

Abstract

Objectives: To describe the current situation of some working environment factors at toll stations on the Phap Van - Cau Gie expressway. **Methods:** A cross-sectional descriptive study on the working environment at 8 toll stations on the

¹Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Hoàng Trung (nguyenhoangtrung1906@gmail.com)

Ngày nhận bài: 03/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 25/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.654>

Phap Van - Cau Gie expressway from January 2023 to March 2023. Research indicators include microclimate, lighting, noise, and toxic gas vapors (CO, CO₂, NO₂, SO₂, CH₂O, C₆H₆). **Results:** 100% of temperature measurement samples did not meet national standards. Humidity, wind speed, and light intensity met national standards. 76.25% of noise measurement samples exceeded national technical standards from 1 - 14.7 dBA. 45% of respiratory dust measurement samples and 40% of total dust measurement samples exceeded national standards from 0.29 - 0.71 mg/m³. 100% of samples measuring toxic CO gas exceeded national standards. All toxic gas samples CO₂, SO₂, NO₂, CH₂O, C₆H₆ met national standards. **Conclusion:** Workers at road toll stations work regularly and continuously in specific working conditions, exposed to heat, noise, toxic gases, dust, and other unfavorable factors that directly affect the occupational health of workers.

Keywords: Working environment; Road toll stations; Expressway.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Cục Đăng kiểm Việt Nam, đến 31/03/2019, trên toàn quốc có 93 trạm thu phí trên các tuyến quốc lộ và đường cao tốc (82 trạm thu phí trên các tuyến quốc lộ và 11 hệ thống thu phí kín trên các tuyến cao tốc) [1], với lực lượng lớn người lao động. Hằng ngày, hằng giờ, họ phải làm việc trong môi trường lao động đặc thù như nắng nóng về mùa hè, lạnh giá về mùa đông, tiếp xúc với bụi, tiếng ồn, rung, hơi khí độc, mùi hôi và các mầm bệnh từ phương tiện của xe chở động vật, không gian làm việc gò bó, chật hẹp, làm việc theo ca, nguy cơ tai nạn giao thông luôn rình rập, áp lực công việc cao, và nguy cơ bị đe dọa, hành hung

từ người tham gia giao thông. Người lao động làm việc tại trạm thu phí đường bộ phải lao động cả trí óc và chân tay, áp lực công việc ảnh hưởng tới sức khỏe, tinh thần và hiệu quả công việc. Bên cạnh đó, họ phải làm việc liên tục 8 giờ trong ca lao động, đặc biệt đối với nhân viên thu phí họ phải ngồi làm việc liên tục trong môi trường lao động có nhiều yếu tố bất lợi. Việc đánh giá điều kiện lao động, môi trường lao động và các yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến sức khỏe nghề nghiệp của người lao động làm việc tại trạm thu phí đường bộ là cần thiết, để giúp chúng ta xây dựng được các giải pháp can thiệp, các biện pháp dự phòng đảm bảo sức khỏe cho người lao

động. Xuất phát từ thực tế đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Mô tả thực trạng môi trường lao động tại các trạm thu phí đường bộ cao tốc Pháp Vân - Cầu Giẽ.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Môi trường và điều kiện làm việc của người lao động tại các trạm thu phí đường bộ cao tốc Pháp Vân - Cầu Giẽ từ tháng 01 - 3/2023.

** Địa điểm nghiên cứu:*

Trạm thu phí cao tốc Pháp Vân - Cầu Giẽ: Thanh Trì, Hà Nội.

Trạm thu phí Thường Tín: Hà Hồi, Thường Tín, Hà Nội.

Trạm thu phí Vạn Điểm: Vạn Điểm, Thường Tín, Hà Nội.

Trạm thu phí Đại Xuyên 2: Đại Xuyên, Phú Xuyên, Hà Nội.

Trạm thu phí Nam Cầu Giẽ: Duy Minh, Duy Tiên, Hà Nam.

Trạm thu phí Vực Vòng: Yên Bắc, Duy Tiên, Hà Nam.

Trạm thu phí Liêm Tuyền: Thanh Liêm, Hà Nam.

Trạm thu phí Cao Bồ: Yên Tiến, Ý Yên, Nam Định.

2. Phương pháp nghiên cứu

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

** Các chỉ số nghiên cứu:* Vi khí hậu, chiếu sáng, ồn, hơi khí độc (CO, CO₂, NO₂, SO₂, CH₂O, C₆H₆). Tại mỗi đơn vị nghiên cứu đối với 1 chỉ tiêu về môi trường lao động chúng tôi tiến hành đo 10 mẫu để đánh giá thực trạng môi trường lao động của người lao động.

** Phương pháp thu thập số liệu:*

Đo và phân tích các yếu tố trong môi trường lao động theo các phương pháp do Bộ Y tế, Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành, và theo thường quy kỹ thuật của Viện Sức khỏe nghề nghiệp và Môi trường (2015). Các chỉ tiêu đánh giá môi trường làm việc dựa trên các tiêu chuẩn và quy chuẩn về môi trường hiện đang được áp dụng tại Việt Nam. Lấy mẫu tại các vị trí làm việc của người lao động tại các trạm thu phí đường bộ. Thời điểm lấy mẫu vào giữa ca lao động của người lao động.

- Phương pháp xác định các yếu tố vi khí hậu:

+ Nhiệt độ không khí (°C), độ ẩm tương đối của không khí (%): Xác định bằng máy (KIMO HD-110) hiện số của Pháp.

+ Tốc độ chuyển động của không khí: Xác định bằng phong tốc kế cánh quạt (KIMO HD-LV-117) của Pháp, đơn vị đo là m/s. Xác định theo QCVN 26:2016/BYT ngày 30/6/2016 của Bộ Y tế về Vi khí hậu - Giá trị cho phép vi khí hậu tại nơi làm việc.

- Phương pháp xác định các yếu tố vật lý:

+ Cường độ chiếu sáng: Đo bằng máy LIGHTMETER 2330 LX (Đài Loan), giới hạn đo từ 0 - 50.000 lux, chính xác tới 1 lux ở thang đo từ 0 - 100 lux, được xác định theo QCVN 22:2016/BYT ngày 30/6/2016 của Bộ Y tế về Chiếu sáng - Mức cho phép chiếu sáng nơi làm việc, đơn vị đo là Lux.

+ Cường độ tiếng ồn: Đo bằng máy đo tiếng ồn chung hiện số CEL-24X (Anh); Máy đo tiếng ồn phân tích dải tần từ 63 - 8000Hz hiện số CEL-62X (Anh). Khi đo máy đặt ngang tầm tai người công nhân và cách người đo 0,5m; đo 3 lần, lấy giá trị trung bình, xác định theo QCVN 24:2016/BYT ngày 30/6/2016 của Bộ Y tế về Tiếng ồn - Mức tiếp xúc cho phép tiếng ồn tại nơi làm việc. Đơn vị đo là dBA.

+ Đo bụi bằng máy CASELLA -712 (Anh), giới hạn đo từ 0 - 250g/m³, lấy

mẫu các bụi tổng, bụi hô hấp, bụi kích thước PM < 2.5, PM < 10 phân tích trong phòng thí nghiệm; xác định nồng độ bụi toàn phần, nồng độ bụi hô hấp theo thường QCVN 02:2019/BYT ngày 21/3/2019 của Bộ Y tế về Bụi - Giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc. Đơn vị đo mg/m³.

- Phương pháp xác định các yếu tố hóa học:

Nồng độ hơi khí độc được xác định bằng máy IBRID - MX6 của Mỹ; lấy mẫu, phân tích trong tại hiện trường. Nồng độ CO, CO₂, NO₂, SO₂, CH₂O, C₆H₆ xác định nồng độ hơi khí độc theo QCVN 03:2019/BYT ngày 10/6/2019 của Bộ Y tế - Giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép của 50 yếu tố hóa học tại nơi làm việc. Đơn vị đo bằng mg/m³.

* *Xử lý số liệu*: Bằng phần mềm Microsoft Excel và SPSS 22.0. Sử dụng tính toán giá trị trung bình cho các mẫu phân phối chuẩn và median, trung vị cho các mẫu phân phối không chuẩn. Sử dụng các thuật toán thống kê mô tả tính tỷ lệ %.

3. Đạo đức nghiên cứu

Các số liệu thu thập được chỉ dùng cho mục đích nghiên cứu, không cho mục đích nào khác.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Các yếu tố vi khí hậu.

Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc QCVN 26:2016/BYT	Nhiệt độ (°C) (≥ 20; ≤ 34)		Độ ẩm (%) (≤ 80)		Tốc độ gió (m/s) (0,2 - 1,5)	
	Mẫu đạt QCVN	Mẫu không đạt QCVN	Mẫu đạt QCVN	Mẫu không đạt QCVN	Mẫu đạt QCVN	Mẫu không đạt QCVN
Số mẫu đo (n = 80)	0 (0%) $\bar{X} \pm SD$	80 (100%) $\bar{X} \pm SD$	80 (100%) $\bar{X} \pm SD$	0 (0%) $\bar{X} \pm SD$	80 (100%) $\bar{X} \pm SD$	0 (0%) $\bar{X} \pm SD$
Vị trí nhân viên thu phí trong cabin	0 (0%) -	40 (100%) 19,5 ± 0,12	40 (100%) 69,7 ± 4,2	0 (0%) -	40 (100%) 0,91 ± 0,06	0 (0%) -
Vị trí nhân viên bảo vệ, điều tiết	0 (0%) -	40 (100%) 18,9 ± 0,14	40 (100%) 66,3 ± 2,5	0 (0%) -	40 (100%) 1,16 ± 0,11	0 (0%) -

Từ kết quả bảng trên cho thấy, tất cả các mẫu đo nhiệt độ ở các vị trí làm việc của người lao động tại trạm thu phí đều không đạt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc (QCVN 26: 2016/BYT). Kết quả đo độ ẩm, tốc độ gió đều đạt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc (QCVN 26: 2016/BYT).

Bảng 2. Cường độ chiếu sáng.

Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc QCVN 22: 2016/BYT	Cường độ chiếu sáng (Lux) 50 - 10.000	
	Mẫu đạt QCVN	Mẫu không đạt QCVN
Số mẫu (n = 80)	80 (100%) $\bar{X} \pm SD$	0 (0%) $\bar{X} \pm SD$
Vị trí nhân viên thu phí trong cabin	40 (100%) 692 ± 73,7	0 (0%) -
Vị trí nhân viên bảo vệ, điều tiết	40 (100%) 638 ± 91,4	0 (0%) -

Kết quả đo đặc về cường độ chiếu sáng ở các vị trí làm việc của người lao động tại trạm thu phí đường bộ đều đạt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc (QCVN 22: 2016/BYT).

Bảng 3. Cường độ tiếng ồn chung.

Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc QCVN 24: 2016/BYT	Cường độ tiếng ồn (dBA) ≤ 85	
	Mẫu đạt QCVN	Mẫu không đạt QCVN
Số mẫu (n = 80)	19 (23,7%)	61 (76,3%)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Vị trí nhân viên thu phí trong cabin	19 (47,5%)	21 (52,5%)
	84,8 ± 0	86,9 ± 2,4
Vị trí nhân viên bảo vệ, điều tiết	0 (0%)	40 (100%)
	-	92,4 ± 2,6

Đo cường độ tiếng ồn chung ở các vị trí làm việc của người lao động tại trạm thu phí đường bộ cho thấy 61/80 mẫu đo (76,25%) vượt từ 1 - 14,7 dBA so với quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc (QCVN 24:2016/BYT). Đa số các vị trí làm việc của người lao động tại trạm thu phí đều có cường độ tiếng ồn vượt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc, những vị trí có cường độ tiếng ồn trong giới hạn cho phép thì cường độ tiếng ồn cũng ở mức rất cao.

Bảng 4. Nồng độ bụi.

Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc QCVN số 02/2019/BYT ngày 21/3/2019	Nồng độ bụi hô hấp Ca làm việc (≤ 2 mg/m ³)		Nồng độ bụi toàn phần Ca làm việc (≤ 4 mg/m ³)	
	Đạt QCVN	Không đạt QCVN	Đạt QCVN	Không đạt QCVN
Số mẫu đo (n = 80)	22 (55%)	18 (45%)	48 (60%)	32 (40%)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Vị trí nhân viên thu phí trong cabin	20 (100%)	0 (0%)	40 (100%)	0 (0%)
	1,16 ± 0,09	-	2,58 ± 0,3	-
Vị trí nhân viên bảo vệ, điều tiết	2 (10%)	18 (90%)	8 (20%)	32 (80%)
	1,24 ± 0,16	2,52 ± 0,14	3,24 ± 0, 21	4,67 ± 0,18

Kết quả đo nồng độ bụi tại các vị trí làm việc của người lao động ở trạm thu phí cho thấy có 18/40 (45%) mẫu đo nồng độ bụi hô hấp vượt từ 0,18 - 0,36 mg/m³ so với quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc (QCVN số 02/2019/BYT); có 32/80 (40%) mẫu đo nồng độ bụi toàn phần vượt từ 0,29 - 0,71 mg/m³ so với quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc (QCVN số 02/2019/BYT).

Bảng 5. Nồng độ hơi khí độc.

Giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc theo QCVN	CO		CO ₂		SO ₂		NO ₂		CH ₂ O		C ₆ H ₆	
	Ca làm việc ≤ 20 mg/m ³		Ca làm việc ≤ 9.000 mg/m ³		Ca làm việc ≤ 5 mg/m ³		Ca làm việc ≤ 5 mg/m ³		Ca làm việc ≤ 0,5 mg/m ³		Ca làm việc ≤ 5 mg/m ³	
	Đạt	KĐ	Đạt	KĐ	Đạt	KĐ	Đạt	KĐ	Đạt	KĐ	Đạt	KĐ
03/2019/BYT												
Số mẫu (n = 80)	0 (0%)	80 (100%)	80 (100%)	0 (0%)	80 (100%)	0 (0%)	80 (100%)	0 (0%)	80 (100%)	0 (0%)	80 (100%)	0 (0%)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Vị trí nhân viên thu phí trong cabin	0 (0%)	40 (100%)	40 (100%)	0 (0%)	40 (100%)	0 (0%)	40 (100%)	0 (0%)	40 (100%)	0 (0%)	40 (100%)	0 (0%)
	-	40,8 ± 0,4	1716 ± 90,7	-	0,14 ± 0,1	-	0,17 ± 0,2	-	0,02 ± 0,06	-	0,13 ± 0,02	-
Vị trí nhân viên bảo vệ, điều tiết	0 (0%)	40 (100%)	40 (100%)	0 (0%)	40 (100%)	0 (0%)	40 (100%)	0 (0%)	40 (100%)	0 (0%)	40 (100%)	0 (0%)
	-	41,5 ± 0,8	1732 ± 85,4	-	0,66 ± 0,5	-	0,29 ± 0,27	-	0,024 ± 0,07	-	0,35 ± 0,3	-

(KĐ: không đạt)

Kết quả đo nồng độ hơi khí độc cho thấy, tất cả các mẫu đều có chỉ tiêu khí CO vượt giá trị cho phép từ 20,3 - 26,5 mg/m³ so với quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc (QCVN 03/2019/BYT). Nguồn phát sinh hơi khí độc chủ yếu do khí thải của các phương tiện tham gia giao thông qua trạm. Người lao động làm việc tại trạm thu phí chịu ảnh hưởng thường xuyên, liên tục của các hơi khí độc như CO, CO₂, SO₂, NO₂, hơi xăng dầu... lâu ngày sẽ ảnh hưởng đến sức khỏe người lao động.

BÀN LUẬN

1. Đánh giá điều kiện vi khí hậu

Ô nhiễm không khí thường diễn biến phức tạp, ngoài các tác nhân gây ô nhiễm là yếu tố quyết định, còn chịu ảnh hưởng chi phối của nhiều các yếu tố khác, trong đó nổi bật là điều kiện vi khí hậu. Vi khí hậu là yếu tố ảnh hưởng đến việc khuếch tán, lan truyền các tác nhân gây ô nhiễm (bụi, hơi khí độc) trong không khí, chúng làm cho nồng độ chất ô nhiễm thay đổi ở các vị trí khác nhau xung quanh nguồn phát thải.

Kết quả khảo sát về vi khí hậu (nhiệt độ, độ ẩm, tốc độ gió) tại các trạm thu phí đường bộ cho thấy tất cả các mẫu đo về nhiệt độ đều không đạt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc (QCVN 26: 2016/BYT), các yếu tố về độ ẩm, tốc độ gió đều đạt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia giá trị giới hạn tiếp xúc cho phép tại nơi làm việc. Nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Đào Thanh Bình (2007) [2] cho thấy 100% mẫu đo nhiệt độ tại các vị trí làm việc của công nhân ở các trạm thu phí đường bộ đều vượt tiêu chuẩn vệ sinh cho phép, đo độ ẩm không khí, tốc độ gió đều đạt tiêu chuẩn vệ sinh cho phép.

Người lao động làm việc tại trạm thu phí đường bộ chịu tác động trực tiếp bởi yếu tố vi khí hậu (nóng và oi

bức về mùa hè, lạnh và ẩm về mùa đông, mùa xuân) ảnh hưởng đến sức khỏe người lao động. Do đặc điểm khí hậu của Việt Nam lạnh giá về mùa đông, nắng nóng về mùa hè cùng với cộng hưởng của phương tiện giao thông qua trạm càng làm tăng nhiệt độ tại khu vực trạm thu phí, người lao động tại trạm thu phí làm việc ngoài trời tiếp xúc thường xuyên, liên tục với các yếu tố bất lợi của vi khí hậu ảnh hưởng không tốt đến sức khỏe nghề nghiệp.

2. Cường độ ánh sáng

Cường độ ánh sáng ở vị trí làm việc của người lao động tại tất cả các trạm thu phí đường bộ đều đạt QCVN (QCVN 22: 2016/BYT). Ánh sáng cũng là một trong các yếu tố vật lý nếu không đảm bảo cường độ sẽ ảnh hưởng đến thị lực của người lao động, ảnh hưởng trực tiếp đến an toàn lao động. Trong lao động, nếu ánh sáng không bảo đảm sẽ ảnh hưởng đến năng suất lao động, chất lượng sản phẩm và cả về vấn đề an toàn lao động. Ánh sáng thừa hoặc thiếu sẽ gây ra tình trạng nhức mắt, mỏi mắt, giảm thị lực, nhức đầu, mệt mỏi... ảnh hưởng đến hiệu quả của công việc cũng như sức khỏe của người lao động.

3. Cường độ tiếng ồn

Kết quả đo cường độ tiếng ồn chung trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự Đào Thanh Bình (2007) [2] cho thấy

có 64% mẫu đo tiếng ồn tại các vị trí làm việc của công nhân tại các trạm thu phí đường bộ vượt tiêu chuẩn vệ sinh (TCVS) cho phép, tiếng ồn vượt tiêu chuẩn từ 1 - 11 dBA. So sánh với kết quả nghiên cứu của Đinh Xuân Ngôn (2015) kết quả đo tiếng ồn ở vị trí nút giao thông trong thành phố Hà Nội đều vượt tiêu chuẩn cho phép (TCCP) từ 3,2 - 9,5dBA, vào ban đêm tiếng ồn vượt TCCP từ 25,6 - 26,5dBA [3]. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi, tiếng ồn cao tại các vị trí làm việc của người lao động chủ yếu là do các phương tiện cơ giới tham gia giao thông. Như vậy, tiếng ồn ở vị trí làm việc của người lao động tại các trạm thu phí đường bộ đa số vượt QCVN, những vị trí lao động có tiếng ồn trong giới hạn cho phép thì cũng ở mức rất cao trên 80 dBA. Người lao động liên tục chịu ảnh hưởng của tiếng ồn kết hợp cộng hưởng của yếu tố rung do phương tiện giao thông qua trạm tạo ra trong suốt ca làm việc của mình gây ra trạng thái căng thẳng hệ thần kinh, chứng rối loạn thần kinh chức năng: Đau đầu, chóng mặt, rối loạn giấc ngủ, mệt mỏi. Rối loạn thần kinh có thể tạo ra những lo âu kéo dài, giảm trí nhớ, tăng huyết áp, loét dạ dày-tá tràng... làm suy giảm sức khỏe người lao động, làm tăng sự sai sót hay thiếu chính xác trong công việc, dễ gây tai nạn và có

tác động làm gia tăng tỷ lệ các bệnh liên quan đến nghề nghiệp, rối loạn thần kinh, tâm lý. Như vậy, vấn đề đặt ra là cần có các biện pháp bảo vệ sức khỏe thích hợp và an toàn cho người lao động.

4. Hơi khí độc

Trong môi trường làm việc của người lao động tại trạm thu phí đường bộ, hơi khí độc được sinh ra từ khí thải của các phương tiện tham gia giao thông kết hợp cùng với thời tiết nắng nóng nên hơi khí độc càng phát tán diện rộng. Phương tiện cơ giới đường bộ tham gia giao thông sử dụng nhiên liệu dầu diesel, xăng... sinh ra các loại hơi khí độc như CO gây ngộ độc, CO₂ gây thiếu oxy, SO₂ giảm khả năng đề kháng, NO₂ tổn thương phế nang phổi cấp. Ngoài ra, hơi khí độc còn phát sinh từ hoạt động hô hấp của con người. Các loại hơi khí độc này ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe người lao động.

Kết quả đo nồng độ hơi khí độc ở các vị trí làm việc của người lao động tại trạm thu phí đường bộ cho thấy 100% mẫu đo không đạt QCVN (QCVN số 03/2019/BYT ngày 10/6/2019) về chỉ tiêu khí CO. Nguồn phát sinh hơi khí độc chủ yếu do khí thải của các phương tiện tham gia giao thông qua trạm. Nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với Đào Thanh Bình (2007) [2] cho thấy 74% mẫu đo nồng độ hơi khí

độc CO tại các vị trí làm việc của công nhân thu phí vượt tiêu chuẩn vệ sinh cho phép. Kết quả nghiên cứu của tác giả Đinh Xuân Ngôn cũng cho thấy thời điểm đo vào mùa nóng, tại các nút giao thông nồng độ CO trung bình từ 13,9 - 19,8 mg/m³ vượt TCCP từ 2,7 - 3,9 lần; nồng độ SO₂ từ 0,6 - 0,8 mg/m³ vượt 2 - 2,6 lần TCCP; nồng độ NO₂ từ 0,1 - 1,0 mg/m³ đạt TCCP [3]. Người lao động làm việc tại trạm thu phí thường xuyên, liên tục tiếp xúc với các hơi khí độc hại sẽ ảnh hưởng lớn đến sức khỏe.

5. Nồng độ bụi

Các phương tiện giao thông cơ giới phát sinh bụi từ nguồn phát thải của động cơ nổ đồng thời làm phát tán bụi bắn từ mặt đường lên môi trường không khí. Các hạt bụi này có thể chứa vi khuẩn, nấm mốc... làm tăng tác hại của bụi khi hít phải. Tác hại của bụi rất đa dạng, tùy theo bản chất của bụi và điều kiện tiếp xúc. Thông thường khi hít thở không khí có nhiều bụi, lâu ngày mũi bị viêm dẫn đến khả năng lọc bụi của mũi bị giảm nhiều và hiện tượng viêm khí quản, phế quản cấp tính hay gặp ở người tiếp xúc với không khí có nhiều bụi. Đối với mắt, bụi gây ra viêm kết mạc gây sẹo giác mạc làm giảm thị lực [4]. Đối với da, bụi bịt các lỗ tuyến nhờn trên bề mặt da làm da bị khô, gây viêm da lở

loét... bụi còn chứa vi khuẩn, virus, sợi nấm... gây ra các bệnh khác nhau. Bụi còn chứa các dị nguyên có thể gây ra các dị ứng [5].

Nghiên cứu nồng độ bụi tại các vị trí làm việc của người lao động ở trạm thu phí cho thấy 45% mẫu đo nồng độ bụi hô hấp vượt QCVN (QCVN số 02/2019/BYT ngày 21/3/2019), có 40% mẫu đo nồng độ bụi toàn phần vượt QCVN số 02/2019/BYT ngày 21/3/2019. Nguồn phát sinh bụi chủ yếu do khí thải phương tiện cơ giới đường bộ đồng thời làm phát tán bụi bắn từ mặt đường lên môi trường không khí. Nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với Đào Thanh Bình (2007) [2] cho thấy 68% mẫu đo nồng độ bụi hô hấp và bụi toàn phần đo tại các vị trí công nhân làm việc tại trạm thu phí vượt TCVSCP. Nồng độ bụi hô hấp/nồng độ bụi toàn phần và hàm lượng bụi silic cao là một trong những nguyên nhân gây mắc bệnh bụi phổi và bệnh đường hô hấp. Theo Monila, nồng độ bụi toàn phần ở Delhi (Ấn Độ) năm 2002 trung bình là 0,47 mg/m³ [6]. Nghiên cứu của Đinh Xuân Ngôn (2005) [3] đã cho thấy vấn đề ô nhiễm môi trường không khí giao thông đường bộ, nồng độ bụi toàn phần đo vào thời điểm mùa nóng trung bình từ 0,83 - 2,20 mg/m³, vượt TCCP từ 4,1 - 11 lần, vào mùa lạnh từ 0,6 -

1,16 mg/m³, vượt TCCP từ 3 - 5,8 lần. Nồng độ bụi hô hấp và bụi toàn phần vượt tiêu chuẩn cho phép tại các vị trí làm việc của người lao động tại trạm thu phí sẽ ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe của người lao động.

KẾT LUẬN

Qua khảo sát môi trường lao động tại các trạm thu phí thuộc cao tốc Pháp Vân - Cầu Giẽ, chúng tôi nhận thấy:

Các yếu tố vi khí hậu: 100% mẫu đo về nhiệt độ không đạt quy chuẩn quốc gia. Độ ẩm và tốc độ gió đều đạt quy chuẩn quốc gia.

Các yếu tố vật lý: Cường độ ánh sáng đạt quy chuẩn quốc gia. 76,25% mẫu đo tiếng ồn vượt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia từ 1 - 14,7 dBA.

Nồng độ bụi: 45% mẫu đo bụi hô hấp, 40% mẫu đo bụi toàn phần vượt quy chuẩn quốc gia từ 0,29 - 0,71 mg/m³.

Nồng độ hơi khí độc: 100% mẫu đo hơi khí độc CO vượt quy chuẩn quốc gia. Tất cả các mẫu hơi khí độc CO₂, SO₂, NO₂, CH₂O, C₆H₆ đều đạt quy chuẩn quốc gia.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn toàn thể các cán bộ nhân viên của các trạm thu phí thuộc cao tốc Pháp Vân - Cầu Giẽ đã giúp chúng tôi hoàn thành nghiên cứu. Chúng tôi xin cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục đường bộ Việt Nam. Thống kê trạm thu phí đường bộ. 2020.
2. Đào Thanh Bình. Nghiên cứu thực trạng ô nhiễm môi trường lao động và các tác hại nghề nghiệp tới sức khỏe công nhân tại các trạm thu phí đường bộ các giải pháp khắc phục. *Luận văn Thạc sĩ Y học*. Học viện Quân y. 2007.
3. Đinh Xuân Ngôn. Đánh giá thực trạng ô nhiễm môi trường không khí và ảnh hưởng của chúng đến sức khỏe cộng đồng tại một số đường và nút giao thông nội thành Hà Nội. *Luận văn Thạc sĩ Y học*. Học viện Quân y. 2005.
4. Lê Thị Xuyên. Nghiên cứu ảnh hưởng của đặc thù môi trường lao động đến bệnh phổi và một số bệnh khác của lao động trong các đơn vị quản lý, duy tu bảo trì, sửa chữa đường bộ. *Đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ Giao thông vận tải*. Hà Nội. 2014.
5. Nguyễn Văn Thuyên. Nghiên cứu đặc điểm ô nhiễm bụi và tình hình bệnh bụi phổi Silic nghề nghiệp của công nhân một số nhà máy sửa chữa, đóng tàu quân đội. *Luận án Tiến sĩ Y học*. Học viện Quân y. 2013.
6. Molina J, Luisa T. Megacities and atmospheric pollution. *Journal of the Air and Waste Management Association*. 2004; 54(2):644-664.

**PHÁT HIỆN MỘT SỐ GEN KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN
GRAM ÂM ĐA KHÁNG PHÂN LẬP TỪ NGƯỜI BỆNH NHIỄM TRÙNG
Ổ BỤNG TẠI BỆNH VIỆN HỮU NGHỊ VIỆT ĐỨC NĂM 2023**

Hà Văn Quân^{1}, Nguyễn Thị Vân¹, Trần Hải Yến¹
Văn Đình Tráng², Lưu Quốc Toàn³, Dương Hồng Quân³*

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định đặc điểm phân bố một số gen kháng Cephalosporins và Carbapenems ở vi khuẩn Gram âm đa kháng phân lập từ người bệnh có nhiễm trùng ổ bụng tại Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức năm 2023. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu cắt ngang, phát hiện một số gen kháng kháng sinh phổ biến liên quan đến kháng Cephalosporins (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-9}) và kháng Carbapenems (*bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{KPC}) ở 51 chủng vi khuẩn Gram âm đa kháng bằng kỹ thuật xét nghiệm multiplex real-time PCR. **Kết quả:** Trong 51 chủng vi khuẩn Gram âm đa kháng thử nghiệm, có 32 chủng vi khuẩn chứa gen kháng Cephalosporins, 14 chủng vi khuẩn chứa đồng thời cả gen kháng Carbapenems và gen kháng Cephalosporins; có 05 chủng vi khuẩn không phát hiện chứa các gen kháng kháng sinh thử nghiệm. Các gen kháng Cephalosporins phát hiện được gồm 25 *bla*_{TEM} chiếm tỷ lệ cao nhất (32,1%); 23 *bla*_{CTX-M-1} (29,5%); 20 *bla*_{CTX-M-9} (25,6%); thấp nhất là 10 *bla*_{SHV} (12,8%). Phát hiện được các gen kháng Carbapenems gồm 11 *bla*_{NDM}; 7 *bla*_{KPC}; 4 *bla*_{OXA-48} và không phát hiện được các gen *bla*_{OXA-23}, *bla*_{IMP} trong các mẫu vi khuẩn thử nghiệm. **Kết luận:** Trong 51 chủng vi khuẩn Gram âm đa kháng được thử nghiệm xác định gen kháng thuốc, có 32 chủng vi khuẩn chứa các gen kháng Cephalosporins, 14 chủng vi khuẩn chứa đồng thời cả gen kháng Carbapenems và gen kháng Cephalosporins, có 5 chủng vi khuẩn không phát hiện chứa các gen kháng thuốc thử nghiệm.

Từ khóa: Vi khuẩn Gram âm; Nhiễm trùng ổ bụng; Gen kháng Cephalosporins; Gen kháng Carbapenems.

¹Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức

²Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương

³Trường Đại học Y tế Công cộng

*Tác giả liên hệ: Hà Văn Quân (haphuongquan@gmail.com)

Ngày nhận bài: 8/12/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 05/01/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.575>

**DETECTION OF SOME ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES OF
MULTIDRUG-RESISTANCE GRAM-NEGATIVE BACTERIA
ISOLATED FROM PATIENTS WITH INTRA-ABDOMINAL INFECTIONS
AT VIET DUC UNIVERSITY HOSPITAL IN 2023**

Abstract

Objectives: To determine the distribution characteristics of some Cephalosporins and Carbapenems resistance genes in multidrug resistance Gram-negative bacteria isolated from patients with intra-abdominal infections at Viet Duc University Hospital in 2023. **Methods:** A cross-sectional study detecting some common antibiotic resistance genes related to Cephalosporin resistance (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-9}) and Carbapenems (*bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{KPC}) in 51 Gram-negative bacteria strains using multiplex Real-time PCR assay technique. **Results:** Among 51 strains of multidrug resistance Gram-negative bacteria tested, there were 32 strains of bacteria containing Cephalosporins resistance genes, 14 strains of bacteria containing both Carbapenems resistance genes and Cephalosporin resistance genes and there were 05 bacterial strains that were not found to contain tested antibiotic resistance genes. Cephalosporins resistance genes were detected, including 25 *bla*_{TEM} with the highest proportion (32.1%), 23 *bla*_{CTX-M-1} (29.5%), 20 *bla*_{CTX-M-9} (25.6%) and the lowest were 10 *bla*_{SHV} (12,8%). Carbapenem resistance genes were detected, including 11 *bla*_{NDM}, 7 *bla*_{KPC}, and 4 *bla*_{OXA-48}, and the antibiotic resistance genes such as *bla*_{OXA-23}, and *bla*_{IMP} were not detected in the tested bacterial samples. **Conclusion:** Among the total of 51 multidrug resistance Gram-negative bacteria strains tested to identify drug resistance genes, there were 32 bacterial strains contained cephalosporin resistance genes, 14 strains of bacteria carried both genes for Carbapenem resistance and Cephalosporin resistance and there were 5 multidrug resistance bacterial strains that were not found having tested drug resistance genes.

Keywords: Gram-negative bacteria; Abdominal infection; Cephalosporins resistance genes; Carbapenems resistance genes.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay tình trạng kháng kháng sinh đã gia tăng đáng kể trên tất cả các tác nhân gây nhiễm trùng ổ bụng như: *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) sinh β -lactamase phổ rộng; *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Acinetobacter baumannii* sinh carbapenemase; và ngày càng có xu hướng lan rộng trên thế giới, gây thách thức lớn cho điều trị kháng sinh kinh nghiệm [1, 2]. Nghiên cứu giám sát kháng thuốc ở các vi khuẩn gây nhiễm trùng ổ bụng tại khu vực châu Á giai đoạn 2008 - 2014 báo cáo có sự gia tăng của các chủng *E. coli*, *K. pneumoniae* và *Enterobacter cloacae* mang gen kháng Carbapenems như *bla*_{NDM-1,4,5,7}; cùng với đó là sự xuất hiện của các chủng mang gen *bla*_{OXA-48} và *bla*_{KPC-2} tại Việt Nam. Các gen chính được tìm thấy quy định tính kháng Cephalosporins là nhóm CTX-M-9 (biến thể *bla*_{CTX-M-27}) và nhóm CTX-M-1 (biến thể *bla*_{CTX-M-15} và *bla*_{CTX-M-55}). Ở Việt Nam, gặp chủ yếu các chủng *P. aeruginosa* mang gen *bla*_{IMP} và *bla*_{KPC} [3 - 6].

Theo hướng dẫn của ECSMID và IDSA về lựa chọn kháng sinh sử dụng điều trị cho người bệnh bị nhiễm các loài vi khuẩn mang gen kháng thuốc khác nhau đạt hiệu quả, việc xác định

gen kháng thuốc là việc làm cần thiết cho lựa chọn kháng sinh của bác sĩ lâm sàng trong kỷ nguyên bùng nổ vi khuẩn kháng thuốc và kháng sinh mới được phát minh còn hạn chế. Do đó, việc xác định đúng vi khuẩn gây bệnh và mức độ nhạy cảm với kháng sinh của các vi khuẩn ở mức kiểu hình và kiểu gen là một bước thiết yếu trong xử trí nhiễm trùng ổ bụng, giúp lựa chọn kháng sinh điều trị chính xác, hợp lý và tiết kiệm; hạn chế việc gia tăng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn tại bệnh viện. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm: *Xác định đặc điểm phân bố một số gen kháng thuốc Cephalosporins và Carbapenems ở các vi khuẩn Gram âm đa kháng phân lập được từ người bệnh có nhiễm trùng ổ bụng tại Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức năm 2023.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

51 chủng vi khuẩn Gram âm đa kháng phân lập trong nhiễm trùng ổ bụng từ tháng 01 - 6/2023 tại Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức.

Vi khuẩn đa kháng (MDR: multidrug resistance): Tình trạng kháng ít nhất 3 nhóm kháng sinh mà mỗi nhóm kháng ít nhất một loại kháng sinh thử nghiệm [7, 8].

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu cắt ngang.

* *Vật liệu nghiên cứu:*

51 chủng vi khuẩn Gram âm được xác định đa kháng thuốc.

Môi trường nuôi cấy: Đĩa thạch máu.

Hóa chất real-time PCR: Nước siêu tinh khiết không chứa nucleic acid, enzyme nuclease; SensiFAST HRM mix; các hỗn hợp môi cho các phản ứng: phản ứng 1 (CTX-M-9-F2, CTX-M-9-R và OXA-48-F, OXA-48-R); phản ứng 2 (OXA-23-F, OXA-23-R2 và TEM-F, TEM-R2 và NDM-F2, NDM-R2); phản ứng 3 (CTX-M-1-F2, CTX-M-1-R3 và IMP-F, IMP-R); phản ứng 4 (SHV-F3, SHV-R3 và KPC-F1, KPC-R2).

Thiết bị: Tủ âm sâu, tủ ấm, tủ an toàn sinh học, hệ thống real-time PCR.

Vật liệu khác: Que cấy, pipet man, đầu tip có lọc, khay ủ nhiệt,

* *Kỹ thuật xét nghiệm tiến hành:*

- Chuẩn bị mẫu: Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trên đĩa thạch máu và ủ qua đêm, sau đó lấy từ đĩa nuôi cấy 3 khuẩn lạc hòa tan vào 100 μ L nước tinh khiết. Hỗn hợp dịch vi khuẩn được làm nóng ở nhiệt độ 98°C trong 5 phút để thu được nucleic acid. Sau đó đặt trên

khay ủ lạnh trong khi chuẩn bị hóa chất cho phản ứng.

- Chuẩn bị môi và hỗn hợp phản ứng real-time PCR cho các phản ứng tương ứng: Thiết kế 4 phản ứng PCR đa môi với các cặp môi cho mỗi phản ứng như sau: phản ứng 1 (*bla*_{CTX-M-9} + *bla*_{OXA-48}), phản ứng 2 (*bla*_{OXA-23} + *bla*_{TEM} + *bla*_{NDM}), phản ứng 3 (*bla*_{CTX-M-1} + *bla*_{IMP}) và phản ứng 4 (*bla*_{SHV} + *bla*_{KPC}). Chuyển 15 μ L hỗn hợp phản ứng real-time PCR đã được chuẩn bị vào mỗi giếng trong đĩa PCR. Thêm 5 μ L DNA vi khuẩn đã được chuẩn bị vào giếng mẫu, 5 μ L nước tinh khiết vào giếng chứng âm (NC) và 5 μ L mẫu chứng dương vào giếng chứng dương (PC). Ly tâm đĩa PCR ở tốc độ 3.000 vòng/phút.

- Chạy phản ứng multiplex real-time PCR: Khởi động máy real-time PCR Roche LightCycler II, chọn chương trình “Melting curve PCR”, cài đặt chương trình realtime PCR theo chu trình đầy đủ với chu kỳ khuếch đại 40 chu kỳ.

- Đọc kết quả real-time PCR: Kết quả dương tính được xác định bằng cách tham khảo các giá trị T_m của các chứng dương hoặc giá trị T_m đã biết của mỗi gen kháng kháng sinh mục tiêu có chiều cao đỉnh $T_m \geq 3$ hiển thị trên hệ thống real-time PCR [9, 10].

- Biện luận kết quả real-time PCR: Dương tính là có các gen kháng thuốc thử nghiệm. Âm tính là không có các gen kháng thuốc trong các mẫu thử.

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm: Quá trình chạy mẫu thử nghiệm được thực hiện song song với các mẫu chứng dương, chứng âm cho tất cả các phản ứng.

* *Xử lý số liệu*: Tổng hợp số liệu bằng Excel và xử lý trên phần mềm SPSS 20.0.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện được sự chấp thuận của Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y Sinh học Trường Đại học Y tế Công cộng theo Quyết định số 322/2023/YTCC-HĐ3, ngày 12/06/2023 và sự chấp thuận của Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức. Nhóm nghiên cứu cam kết thực hiện đúng các nguyên tắc về đạo đức và cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Đặc điểm phân bố gen kháng kháng sinh theo loài vi khuẩn Gram âm

Bảng 1. Kết quả xác định gen kháng kháng sinh của vi khuẩn Gram âm (n = 51).

Vi khuẩn	Có gen kháng thuốc		Không có gen kháng thuốc	Tổng (n)
	Cephalosporins (n)	Carbapenems và Cephalosporins (n)		
<i>E. coli</i>	27	6	4	37
<i>K. pneumoniae</i>	3	8	0	11
<i>P. aeruginosa</i>	2	0	1	3
Tổng [n, (%)]	32 (62,7%)	14 (27,5%)		
	46 (90,2%)		5 (9,8%)	51

Tổng 51 chủng vi khuẩn đa kháng thu thập được gồm: 37 chủng *E. coli*, 11 chủng *K. pneumoniae* và 3 chủng *P. aeruginosa*.

Có 46/51 chủng vi khuẩn có chứa gen kháng Cephalosporins chiếm 90,2%. Trong đó, có 32 chủng vi khuẩn chỉ mang các gen kháng Cephalosporins gồm 27 chủng *E. coli*, 3 chủng *K. pneumoniae* và 2 chủng *P. aeruginosa*.

Có 14/51 chủng vi khuẩn chứa đồng thời cả gen kháng Carbapenems và Cephalosporins chiếm 27,5%; gồm có 6 chủng *E. coli* và 8 chủng *K. pneumoniae*.

Không có chủng vi khuẩn nào chỉ mang gen kháng Carbapenems; có 5 chủng vi khuẩn Gram âm đa kháng kiểu hình nhưng không mang các gen kháng kháng sinh thử nghiệm.

Bảng 2. Sự phân bố các loài vi khuẩn Gram âm đa kháng chứa gen kháng kháng sinh (n = 51).

Vi khuẩn Gram âm đa kháng	Số lượng các loài vi khuẩn			Tổng (n)	Tỷ lệ (%)
	<i>E. coli</i> (n)	<i>K. pneumoniae</i> (n)	<i>P. aeruginosa</i> (n)		
Vi khuẩn không chứa gen kháng thuốc	4	0	1	5	9,8
Vi khuẩn chứa 1 loại gen kháng thuốc	21	1	2	24	47,1
Vi khuẩn chứa 2 loại gen kháng thuốc	7	0	0	7	13,7
Vi khuẩn chứa 3 loại gen kháng thuốc	3	3	0	6	11,8
Vi khuẩn chứa 4 loại gen kháng thuốc	2	2	0	4	7,8
Vi khuẩn chứa 5 loại gen kháng thuốc	0	2	0	2	3,9
Vi khuẩn chứa 6 loại gen kháng thuốc	0	3	0	3	5,9
Tổng	37	11	3	51	100,0

Trong số 51 chủng vi khuẩn Gram âm đa kháng thử nghiệm phản ứng real-time PCR đa môi, phát hiện 9 gen kháng kháng sinh (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-9}, *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{KPC}) đã xác định được 24 chủng vi khuẩn chứa 1 loại gen kháng thuốc chiếm tỷ lệ cao nhất 47,1% chủ yếu là vi khuẩn *E. coli*; tiếp đến là vi khuẩn chứa 2 loại gen kháng thuốc có tỷ lệ

13,7% và vi khuẩn chứa 3 loại gen kháng thuốc là 11,8%. Vi khuẩn chứa 4 loại gen kháng thuốc và chứa 6 loại gen kháng thuốc có tỷ lệ lần lượt là 7,8% và 5,9%; thấp nhất là tỷ lệ vi khuẩn chứa 5 loại gen kháng thuốc (3,9%).

Dữ liệu kết quả 46 chủng vi khuẩn mang gen kháng thuốc thì có 24 chủng vi khuẩn chỉ chứa một loại gen kháng thuốc, còn lại các chủng đều chứa hơn một loại gen kháng.

2. Đặc điểm phân bố gen kháng kháng sinh Cephalosporins

Bảng 3. Kết quả xác định gen kháng Cephalosporins.

Gen kháng thuốc Cephalosporins	Số lượng gen kháng thuốc ở mỗi loài			Tổng (n)	Tỷ lệ (%)
	<i>E. coli</i> (n)	<i>K. pneumoniae</i> (n)	<i>P. aeruginosa</i> (n)		
<i>bla</i> _{TEM}	14	11	0	25	32,1
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	12	9	2	23	29,5
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	20	0	0	20	25,6
<i>bla</i> _{SHV}	0	10	0	10	12,8
Tổng	46	30	2	78	100,0

Xác định được tổng số 78 trình tự gen đích kháng Cephalosporins trong 5 loại gen kháng thuốc được khảo sát ở 51 chủng vi khuẩn thử nghiệm. Trong đó có 46 trình tự đích gen kháng thuốc ở 37 chủng *E. coli*, 30 lượt gen đích kháng thuốc ở 11 chủng *K. pneumoniae* và 2 trình tự gen đích kháng thuốc ở 3 chủng *P. aeruginosa*.

Trong các gen kháng Cephalosporins xác định được, có 25 *bla*_{TEM} chiếm tỷ lệ cao nhất 32,1%, xuất hiện ở cả 2 loài *E. coli* và *K. pneumoniae*; tiếp đến phát hiện được 23 *bla*_{CTX-M-1} chiếm 29,5% ở

cả 3 loài vi khuẩn thử nghiệm và xác định được 20 *bla*_{CTX-M-9} chiếm tỷ lệ 25,6% chỉ xuất hiện ở *E. coli*; thấp nhất là *bla*_{SHV} có tỷ lệ 12,8% (10 gen) chỉ xuất hiện trong các chủng *K. pneumoniae* thử nghiệm.

Kết quả nghiên cứu có sự tương đồng với Jean SS (2017), các gen kháng Cephalosporins là *bla*_{CTX-M-9} và *bla*_{CTX-M-1} cũng được tìm thấy ở các vi khuẩn kháng thuốc kiểu hình. Các biến thể β -lactamase như CTX-M-15 và CTX-M-14 chiếm ưu thế ở hầu hết các loài của *Enterobacteriaceae* trong

nhiễm trùng ổ bụng. Cụ thể *E. coli* được xác định có chứa các gen kháng *bla*_{CTX-M-14,15,27,55} và *K. pneumoniae* mang các gen *bla*_{SHV-12}; *bla*_{CTX-M-14,15}. Theo Tada T (2017) báo cáo về gen

kháng kháng sinh của *K. pneumoniae* tại Việt Nam cũng tương tự chứa các gen mã hóa β -lactamase phổ mở rộng như *bla*_{CTX-M-14,15,27}; *bla*_{TEM-1}; *bla*_{SHV-1,11,12,28,55} [3, 11].

3. Đặc điểm phân bố gen kháng kháng sinh Carbapenems

Bảng 4. Kết quả xác định gen kháng Carbapenems.

Gen kháng thuốc Carbapenems	Số lượng gen kháng thuốc ở mỗi loài			Tổng (n)	Tỷ lệ (%)
	<i>E. coli</i> (n)	<i>K. pneumoniae</i> (n)	<i>P. aeruginosa</i> (n)		
<i>bla</i> _{NDM}	6	5	0	11	50,0
<i>bla</i> _{KPC}	0	7	0	7	31,8
<i>bla</i> _{OXA-48}	0	4	0	4	18,2
<i>bla</i> _{OXA-23}	0	0	0	0	0,0
<i>bla</i> _{IMP}	0	0	0	0	0,0
Tổng	6	16	0	22	100,0

Xác định được 22 gen kháng Carbapenems trong 51 chủng vi khuẩn thử nghiệm. Trong đó, có 6 gen kháng thuốc ở 37 chủng *E. coli*, 16 gen kháng thuốc ở 11 chủng *K. pneumoniae* và không phát hiện thấy gen kháng Carbapenems thử nghiệm ở 3 chủng *P. aeruginosa*.

Các gen kháng Carbapenems được xác định là 11 gen *bla*_{NDM} xuất hiện ở *E. coli* và *K. pneumoniae*; phát hiện được 7 gen *bla*_{KPC} và 4 gen *bla*_{OXA-48} có ở *K. pneumoniae*; không phát hiện được các gen kháng kháng sinh như

*bla*_{OXA-23}, *bla*_{IMP} có trong các mẫu vi khuẩn thử nghiệm.

Tương tự với kết quả nghiên cứu của Jean SS (2017) báo cáo có sự gia tăng của các chủng vi khuẩn *E. coli*, *K. pneumoniae* mang gen kháng Carbapenems như *bla*_{NDM}; cùng với đó là sự xuất hiện của các chủng mang gen *bla*_{OXA-48} và *bla*_{KPC-2} tại Việt Nam; các gen kháng thuốc *bla*_{NDM-1,4,5,7} của *E. coli*, *K. pneumoniae* được xác định phổ biến nhất trong số các chủng gây nhiễm trùng ổ bụng tại Việt Nam và chỉ duy nhất các chủng vi khuẩn đường

ruột phân lập trong nhiễm trùng ổ bụng có chứa gen *bla*_{OXA-48} được phát hiện tại Việt Nam. Các biến thể alen mã hóa carbapenemase được tìm thấy trong *E. coli* là *bla*_{KPC-2}; *bla*_{OXA-48}; *bla*_{IMP-6,14}; *bla*_{NDM-1,4,5} và ở *K. pneumoniae* là *bla*_{NDM-1,4,7}; *bla*_{KPC-2}; *bla*_{OXA-48}; *bla*_{IMP-1,3,6,14,26}; *bla*_{VIM-1}. Kết quả nghiên cứu tương tự như báo cáo của Tada T (2017) về gen kháng của *K. pneumoniae* tại Việt Nam đều có các gen mã hóa carbapenemase bao gồm *bla*_{KPC-2}; *bla*_{NDM-1,4}; *bla*_{OXA-48} [3, 11].

Vi khuẩn *P. aeruginosa* kháng carbapenem được công nhận là nguyên nhân quan trọng gây nhiễm trùng bệnh viện trên toàn thế giới. Trần Huy Hoàng (2021) đã xác định được ba biến thể của *bla*_{IMP} và *bla*_{KPC-1} ở vi khuẩn *P. aeruginosa* tại Việt Nam trong nhiễm trùng bệnh viện giai đoạn 2011 - 2015; tuy nhiên trong nghiên cứu này thử nghiệm khảo sát tìm gen kháng thuốc kết quả không phát hiện được các gen kháng Carbapenems mà chỉ phát hiện được gen *bla*_{CTX-M-1} ở 2 chủng *P. aeruginosa*, do số lượng chủng vi khuẩn *P. aeruginosa* kháng Carbapenems phân lập trong nhiễm trùng ổ bụng được thử nghiệm tìm gen kháng thuốc là rất ít (3 chủng) nên kết quả về đặc điểm phân bố gen kháng thuốc theo loài vi khuẩn này có sự khác biệt [6].

KẾT LUẬN

Trong 51 chủng vi khuẩn Gram âm đa kháng được thử nghiệm phản ứng xác định gen kháng thuốc, có 32 chủng vi khuẩn chứa các gen kháng Cephalosporins và 14 chủng vi khuẩn chứa đồng thời cả gen kháng Carbapenems và gen kháng Cephalosporins; có 5 chủng vi khuẩn không phát hiện chứa các gen kháng kháng sinh thử nghiệm.

Các gen kháng Cephalosporins xác định được ở 51 chủng vi khuẩn Gram âm đa kháng là 25 *bla*_{TEM} chiếm tỷ lệ cao nhất 32,1%, 23 *bla*_{CTX-M-1} chiếm 29,5% và 20 *bla*_{CTX-M-9} chiếm tỷ lệ 25,6%, thấp nhất là 10 *bla*_{SHV} (12,8%).

Các gen kháng Carbapenems xác định được ở 51 chủng vi khuẩn Gram âm đa kháng là 11 *bla*_{NDM}; 7 *bla*_{KPC} và 4 *bla*_{OXA-48}; không phát hiện được các gen kháng kháng sinh *bla*_{OXA-23}, *bla*_{IMP} có trong các mẫu vi khuẩn thử nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rossi F, Baquero F, Hsueh PR, Paterson DL, Boichichio GV, Snyder TA, et al. *In vitro* susceptibilities of aerobic and facultatively anaerobic Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: 2004 results from SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends). *J Antimicrob Chemother.* 2006 Jul; 58(1):205-210.

2. Biedenbach DJ, Bouchillon SK, Hoban DJ, Hackel M, Phuong DM, Nga TTT, et al. Antimicrobial susceptibility and extended-spectrum beta-lactamase rates in Aerobic Gram-negative bacteria causing intra-abdominal infections in Vietnam: Report from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART 2009-2011). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014 Aug 1; 79(4):463-467.
3. Jean SS, Hsueh PR, SMART Asia-Pacific Group. Distribution of ESBLs, AmpC β -lactamases and carbapenemases among *Enterobacteriaceae* isolates causing intra-abdominal and urinary tract infections in the Asia-Pacific region during 2008-14: Results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *J Antimicrob Chemother*. 2017 Jan; 72(1):166-171.
4. Tuan Anh N, Nga TVT, Tuan HM, Tuan NS, Y DM, Vinh Chau NV, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance phenotypes of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients in three hospitals in southern Vietnam. *J Med Microbiol*. 2017 Jan; 66(1):46-53.
5. Tran DN, Tran HH, Matsui M, Suzuki M, Suzuki S, Shibayama K, et al. Emergence of New Delhi metallo-beta-lactamase 1 and other carbapenemase-producing *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex among patients in hospitals in Ha Noi, Viet Nam. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2017 Feb; 36(2):219-225.
6. Tran HA, Vu TNB, Trinh ST, Tran DL, Pham HM, Ngo THH, et al. Resistance mechanisms and genetic relatedness among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from three major hospitals in Hanoi, Vietnam (2011-15). *JAC-Antimicrob Resist*. 2021 Sep; 3(3):dlab103.
7. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Pandrug Resistance (PDR), Extensive Drug Resistance (XDR), and Multidrug Resistance (MDR) among Gram-negative Bacilli: Need for International Harmonization in Terminology. *Clin Infect Dis*. 2008 Apr 1; 46(7):1121-1122.
8. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pan drug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Mar 1; 18(3):268-281.

9. Singh P, Pfeifer Y, Mustapha A. Multiplex real-time PCR assay for the detection of extended-spectrum β -lactamase and carbapenemase genes using melting curve analysis. *J Microbiol Methods*. 2016 May 1; 124:72-78.
10. Ghorbani J, Hashemi FB, Jabalameli F, Emaneini M, Beigverdi R. Multiplex detection of five common respiratory pathogens from bronchoalveolar lavages using high resolution melting curve analysis. *BMC Microbiol*. 2022 May 19; 22:141.
11. Tada T, Tsuchiya M, Shimada K, Nga TTT, Thu LTA, Phu TT, et al. Dissemination of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates with various combinations of Carbapenemases (KPC-2, NDM-1, NDM-4, and OXA-48) and 16S rRNA Methylases (RmtB and RmtC) in Vietnam. *BMC Infect Dis*. 2017 Jul 4; 17(1):467.

CĂN NGUYÊN VÀ TÌNH TRẠNG KHÁNG KHÁNG SINH CỦA MỘT SỐ VI KHUẨN GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP TẠI TRUNG TÂM HỒI SỨC CẤP CỨU - CHỐNG ĐỘC, BỆNH VIỆN QUÂN Y 103

Nguyễn Minh Hải^{1}, Lê Văn Nam¹*

Tóm tắt

Mục tiêu: Khảo sát căn nguyên và tình trạng kháng kháng sinh của một số vi khuẩn thường gặp tại Trung tâm Hồi sức cấp cứu - Chống độc (HSCC-CD), Bệnh viện Quân y 103. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu dịch tễ học mô tả kết hợp phân tích labo trên 282 chủng vi khuẩn phân lập được qua các mẫu bệnh phẩm của bệnh nhân (BN) điều trị nội trú tại Trung tâm HSCC-CD, Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 01/2020 - 12/2021. **Kết quả:** 282 chủng vi khuẩn gây bệnh phân lập được, đa số từ đường hô hấp (56,4%) và đường máu (29,4%). Vi khuẩn Gram âm chiếm 87,6%, Gram dương chiếm 12,4%. Trong nhóm vi khuẩn Gram âm, thường gặp nhất là *A. baumannii* và *P. aeruginosa* (đều chiếm 29,4%). *S. aureus* chiếm tỷ lệ cao nhất trong nhóm vi khuẩn Gram dương (3,9%), tiếp đến là *S. pneumoniae* (1,4%) và *E. faecalis* (1,1%). Tình trạng kháng kháng sinh: *A. baumannii* kháng với Meropenem (96,3%), Imipenem (100%); Colistin (62,8%); Amikacin (89,1%). *P. aeruginosa* kháng với Imipenem (87,5%); Meropenem (77,5%); Amikacin (62,4%); Colistin (47,4%). *S. aureus* kháng Cefoxitin (75%), kháng với Ceftriaxone (62,5%), Meropenem (70,0%), Moxifloxacin (50,0%), còn nhạy cảm với Vancomycin (85,7%); Linezolid và Tigercylin đều 100,0%. **Kết luận:** Các chủng vi khuẩn phân lập được tại Trung tâm HSCC-CD thường là vi khuẩn Gram âm, bệnh phẩm từ đường hô hấp và hầu hết có tỷ lệ đề kháng kháng sinh cao.

Từ khóa: Kháng kháng sinh; Vi khuẩn gây bệnh; Trung tâm Hồi sức Cấp cứu - chống độc.

¹Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Minh Hải (huongtuhvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 02/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 25/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.647>

**ETIOLOGY AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF SOME
COMMON PATHOGENIC BACTERIA IN THE INTENSIVE CARE,
EMERGENCY AND POISON CONTROL CENTER, MILITARY HOSPITAL 103**

Abstract

Objectives: To investigate the etiology and antimicrobial resistance of some common pathogenic bacteria in the Intensive Care, Emergency and Poison Control Center (ICEPCC), Military Hospital 103. **Methods:** A descriptive epidemiologic and laboratory study on 282 bacterial strains isolated from patient specimens in the ICEPCC, Military Hospital 103 from January 2020 to December 2021. **Results:** 282 strains of pathogenic bacteria were isolated from the respiratory tract specimens (56.4%) and from blood specimens (29.4%). Gram-negative bacteria accounted for the vast majority (87.6%), while gram-positive bacteria only accounted for 12.4%. Among gram-negative bacteria, *A. baumannii* and *P. aeruginosa* were the most common species; each of them accounted for 29.4%. In gram-positive bacteria, *S. aureus* accounted for the highest rate of 3.9%; *S. pneumonia* was 1.4%; *E. faecalis* was 1.1%. Regarding antibiotic resistance, *A. baumannii* was resistant to Meropenem (96.3%), Imipenem (100%); Colistin (62.8%); Amikacin (89.1%). *P. aeruginosa* was resistant to Imipenem (87.5%); Meropenem (77.5%); Amikacin (62.4%); Colistin (47.4%). *S. aureus* was resistant to Cefoxitin (75%), Ceftriaxone (62.5%); Meropenem (70.0%); Moxifloxacin (50.0%); were highly susceptible to Vancomycin (85.7%); Linezolid and Tigercylin were both 100.0%. **Conclusion:** The most common bacteria strains isolated from patients in ICEPCC were Gram-negative bacteria and from respiratory specimens and showed high rates of antibiotic resistance.

Keywords: Antibiotic resistance; Pathogenic bacteria; Intensive Care, Emergency and Poison Control Center.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm khuẩn tại đơn vị hồi sức cấp cứu một vấn đề y tế toàn cầu và là một thách thức rất lớn đối với các đơn vị y tế trên toàn thế giới cũng như các đơn vị y tế Việt Nam nói riêng. Theo thống

kê nghiên cứu EPIC III, năm 2017, tại 1150 trung tâm trên 88 quốc gia khác nhau, tỷ lệ nhiễm khuẩn tại các đơn vị hồi sức cấp cứu dao động từ 43% - 60% và > 70% BN cần được sử dụng ít nhất một loại kháng sinh [1].

Nhiễm khuẩn tại đơn vị hồi sức cấp cứu là một yếu tố nguy cơ độc lập làm tăng thời gian nằm viện, tăng chi phí điều trị, tăng đề kháng kháng sinh và tăng tỷ lệ tử vong. Các đặc điểm nguồn lây, căn nguyên vi sinh, đặc biệt tình trạng kháng kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh thay đổi hàng năm theo từng vùng lãnh thổ, từng đơn vị hồi sức cấp cứu.

Tại Việt Nam, số lượng nghiên cứu báo cáo về tình trạng nhiễm khuẩn tại các đơn vị hồi sức cấp cứu ghi nhận trên các y văn không nhiều. Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: *Khảo sát căn nguyên và tình trạng kháng kháng sinh của một số vi khuẩn gây bệnh tại Trung tâm HSCC-CD, Bệnh viện Quân y 103 từ năm 2020 - 2021.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

282 chủng vi khuẩn phân lập (kết quả nuôi cấy vi khuẩn dương tính) từ bệnh phẩm của BN điều trị nội trú tại Trung tâm HSCC-CD, Bệnh viện Quân y 103.

* *Thời gian nghiên cứu:* Từ tháng 01/2020 - 12/2021.

2. Phương pháp và vật liệu nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu dịch tễ học mô tả kết hợp nghiên cứu phân tích labo.

* *Vật liệu và thiết bị nghiên cứu:*

- Chủng chuẩn quốc tế để kiểm tra chất lượng định danh, kháng sinh đồ.

- Môi trường nuôi cấy, phân lập, định danh vi khuẩn.

- Sinh phẩm chẩn đoán:

+ Card định danh vi khuẩn: Card GN cho vi khuẩn Gram âm, card GP cho vi khuẩn Gram dương (đi kèm theo máy Vitek 2 Compact - Bio Merieux);

+ Bộ thử tính chất sinh vật hóa học API 20 Strep Slidex strepto plus (Bio Merieux) để xác định các loại liên cầu.

- Môi trường và hóa chất xác định mức độ nhạy cảm của vi khuẩn với kháng sinh.

+ Card kháng sinh đồ trên máy Vitek 2 (AST-N204, AST-N240, AST-GP67 hãng Bio Merieux - Pháp);

+ Khoanh giấy kháng sinh các loại (hãng Oxoid - Anh);

+ Thanh E test (hãng Bio Merieux - Pháp);

+ Độ nhạy cảm kháng sinh: Tính kháng/nhạy của vi khuẩn được xác định theo hướng dẫn của CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) năm 2019 [2].

- Máy tính cài phần mềm đọc kết quả kháng sinh đồ Whonet 5.6.

* *Xử lý số liệu*: Sử dụng phần mềm SPSS 20.0 và Excel 2016 với các thuật toán thống kê ứng dụng trong y học.

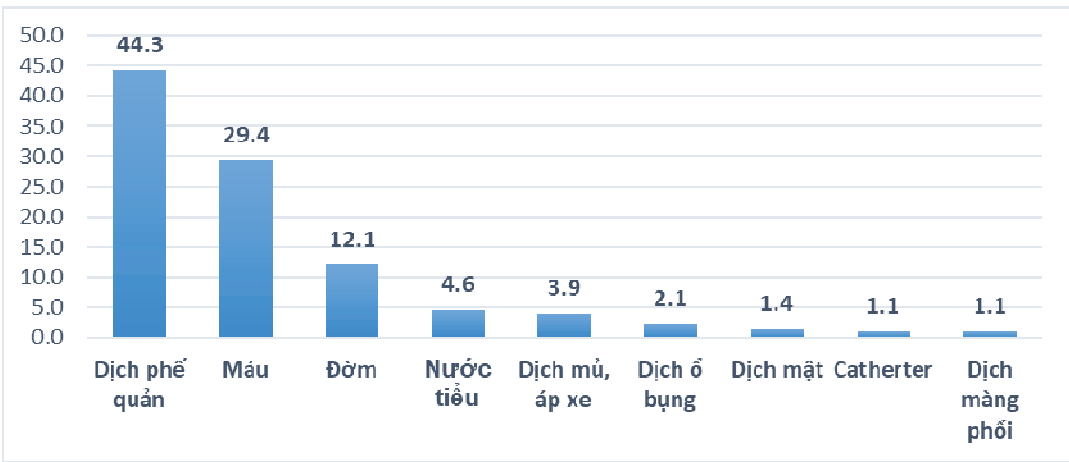
3. Đạo đức nghiên cứu

Số liệu bài báo được thu thập dựa trên các dữ liệu BN được thực hiện xét nghiệm thường quy khi điều trị nội trú tại Bệnh viện, không ảnh hưởng đến quyền lợi cũng như chi phí xét nghiệm. Mọi thông tin BN đều được giữ kín. Chúng tôi xin cam đoan các số liệu, kết quả nêu trong đề tài là trung thực, chưa từng được công bố và không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Từ tháng 01/2020 - 12/2021, chúng tôi đã phân lập được 282 chủng vi khuẩn tại Trung tâm HSCC-CD, Bệnh viện Quân y 103. Sau khi tiến hành định danh và làm kháng sinh đồ, chúng tôi thu được các kết quả như sau:

1. Đặc điểm về bệnh phẩm và căn nguyên vi khuẩn



Biểu đồ 1. Các loại bệnh phẩm phân lập được vi khuẩn từ Trung tâm HSCC-CD.

Trong 282 chủng vi khuẩn phân lập được, các chủng phân lập từ bệnh phẩm đường hô hấp chiếm tỷ lệ đa số [56,4% (dịch phế quản: 44,3%, đờm: 12,1%)], từ bệnh phẩm máu (29,4%) và từ nước tiểu (4,6%).

Bảng 1. Các chủng vi khuẩn gây bệnh phân lập tại Trung tâm HSCC-CD.

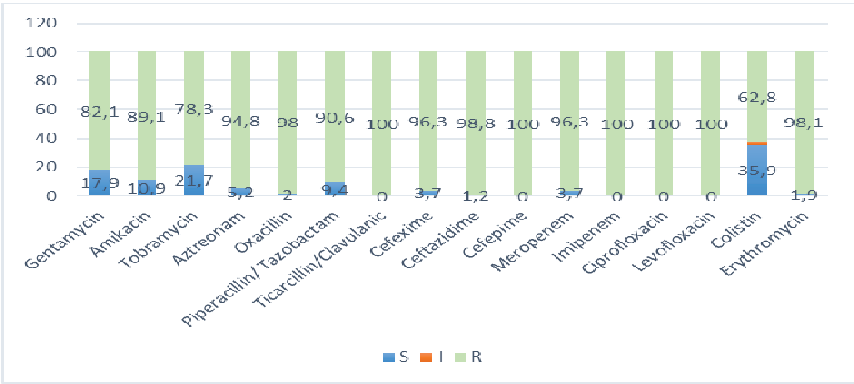
	Vi khuẩn	Số lượng (n = 282)	Tỷ lệ (%)
Gram (-) (n = 247)	<i>Acinetobacter baumannii</i>	83	29,4
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	83	29,4
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27	9,6
	<i>Escherichia coli</i>	26	9,2
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	6	2,1
	<i>Burkholderia pseudomallei</i>	5	1,7
	<i>Proteus mirabilis</i>	4	1,4
	<i>Kocuria kristinae</i>	3	1,1
	<i>Achromobacter denitrificans</i>	2	0,7
	<i>Aeromonas sobria</i>	2	0,7
	<i>Acinetobacter spp</i>	2	0,7
	<i>Burkholderia cepacia</i>	1	0,4
	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	0,4
	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	1	0,4
	<i>Shewanella putrefaciens</i>	1	0,4
Gram (+) (n = 35)	<i>Staphylococcus aureus</i>	11	3,9
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	4	1,4
	<i>Staphylococcus hominis</i>	3	1,1
	<i>Staphylococcus spp</i>	2	0,7
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4	1,4
	<i>Streptococcus spp</i>	4	1,4
	<i>Enterococcus faecalis</i>	3	1,1
	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	2	0,7
	<i>Enterococcus spp</i>	2	0,7

Đa số vi khuẩn gây bệnh thuộc nhóm Gram âm (87,6%); vi khuẩn Gram dương chỉ chiếm 12,4%.

Trong nhóm vi khuẩn Gram âm: *A. baumannii* và *P. aeruginosa* thường gặp nhất, đều chiếm 29,4%. Tiếp đến là *K. pneumonia*, *E. coli* lần lượt là 9,6 và 9,2%. Trong nhóm vi khuẩn Gram dương: Các chủng *Staphylococcus spp* thường gặp nhất, trong đó *S. aureus* chiếm tỷ lệ 3,9%. Tiếp đến là các chủng

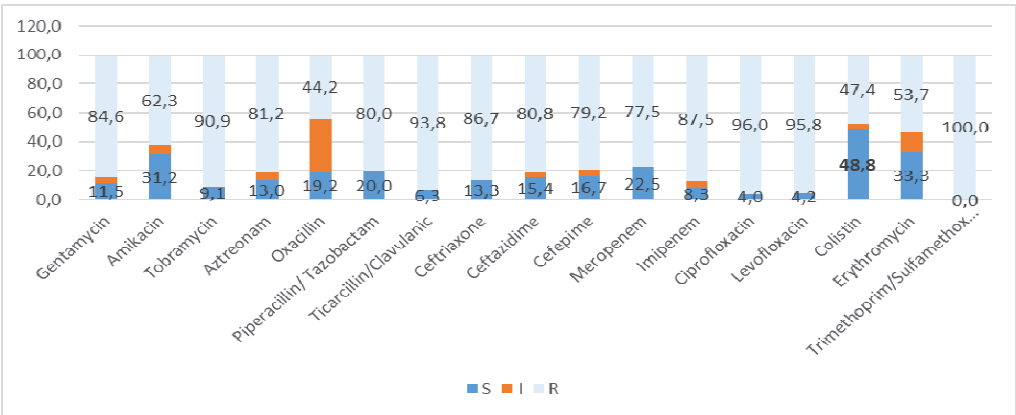
Streptococcus spp; *S. pneumoniae* chiếm 1,4%. Cầu khuẩn Gram dương đường ruột, *Enterococcus faecalis* chiếm 1,1%.

2. Đặc điểm kháng kháng sinh của một số chủng vi khuẩn thường gặp tại Trung tâm HSCC-CD



Biểu đồ 2. Đặc điểm kháng kháng sinh của *Acinetobacter baumannii*.

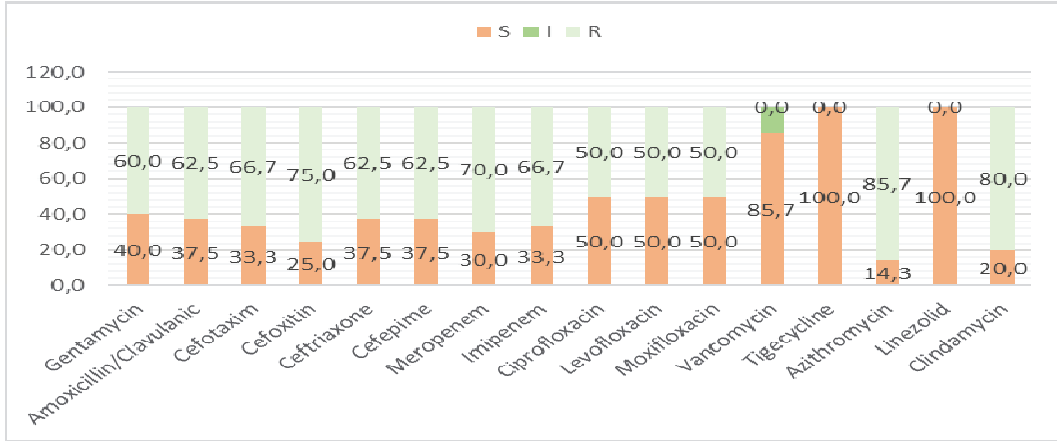
Trong 81 chủng *A. baumannii* được làm kháng sinh đồ, tỷ lệ kháng kháng sinh với đa số kháng sinh thường dùng (nhóm beta-lactam và nhóm quinolon) dao động từ 80 - 100%, đặc biệt kháng Imipenem (100%) và Meropenem (96,3%). *Acinetobacter baumannii* còn nhạy cảm với Colistin (35,9%), Tobramycin (21,7%), Amikacin (10,9%).



Biểu đồ 3. Đặc điểm kháng kháng sinh của *Pseudomonas aeruginosa*.

Trong 81 chủng *Pseudomonas aeruginosa* được làm kháng sinh đồ, tỷ lệ kháng với đa số kháng sinh thường dùng dao động từ 70 - 90%, trong đó kháng

với Imipenem (87,5%); Meropenem (77,5%), Ciprofloxacin và Levofloxacin lần lượt là 96,0 và 95,8%. *Pseudomonas aeruginosa* còn nhạy cảm với Amikacin (31,2%); Colistin (48,8%).



Biểu đồ 4. Đặc điểm kháng kháng sinh của *Staphylococcus aureus*.

Trong 11 chủng *S. Aureus* được làm kháng sinh đồ, tỷ lệ kháng với Cefoxitin (MRSA) là 75%; kháng với các kháng sinh thông thường dao động 50 - 70 %, cụ thể: Ceftriaxone (62,5%); Meropenem (70,0%); Moxifloxacin (50,0%). Vi khuẩn còn nhạy cảm với các kháng sinh điều trị MRSA như Vancomycin (85,7%); Linezolid và Tigercylin đều 100,0%.

BÀN LUẬN

1. Đặc điểm bệnh phẩm và căn nguyên vi khuẩn phân lập được tại các đơn vị hồi sức cấp cứu

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các chủng vi khuẩn phân lập được từ bệnh phẩm đường hô hấp chiếm đa số (56,4%), trong đó dịch phế quản (qua ống nội khí quản và rửa phế nang) chiếm 44,3%, đờm 12,1%; tiếp đến là bệnh phẩm máu (29,4%) và nước tiểu (4,6%); các bệnh phẩm khác

chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ. Kết quả này tương tự như nghiên cứu của tác giả Bùi Hồng Giang (2013) trên các bệnh phẩm nuôi cấy dương tính tại Khoa Hồi sức cấp cứu, Bệnh viện Bạch Mai, bệnh phẩm từ đường hô hấp chiếm tỷ lệ cao nhất (68,1%), tiếp theo là bệnh phẩm máu (14,4%), nước tiểu (8,3%), nhiễm khuẩn liên quan đến ống thông (5,7%) và nhiễm khuẩn ổ bụng (3,5%) [3]. So sánh với các nghiên cứu nước ngoài, tỷ lệ phân lập vi khuẩn gây bệnh trên các mẫu bệnh phẩm thay đổi theo

từng đơn vị chăm sóc tích cực. Theo Maki Dennis G (2008), đặc điểm nhiễm khuẩn tại các trung tâm hồi sức cấp cứu Hoa Kỳ thường gặp nhất là nhiễm khuẩn tiết niệu liên quan tới các sonde dẫn lưu (40%), tiếp đến là viêm phổi liên quan tới thở máy (25%) [4]. Ngược lại, nghiên cứu của Dasgupta S và CS (2015) tại các đơn vị hồi sức cấp cứu Ấn Độ cho thấy viêm phổi là nhiễm khuẩn thường gặp nhất với tỷ lệ 62,07%, tiếp đến là nhiễm khuẩn tiết niệu và nhiễm khuẩn huyết liên quan tới các catheter trung tâm [5]. Như vậy, nguồn nhiễm khuẩn tại các đơn vị hồi sức cấp cứu có sự khác biệt tùy từng đơn vị tiến hành nghiên cứu và từng quốc gia khác nhau. Bên cạnh đó, sự khác biệt cơ cấu nguồn nhiễm khuẩn trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi so với một số nghiên cứu khác cũng có thể do chúng tôi tiến hành trên những BN điều trị tại Trung tâm HSCC-CD nói chung, không phân biệt hồi sức nội hay hồi sức ngoại.

Trong 282 chủng vi khuẩn chúng tôi đã phân lập được, vi khuẩn Gram âm chiếm đa số (87,6%); vi khuẩn Gram dương chỉ chiếm 12,4%. Trong nhóm vi khuẩn Gram âm, *A. baumannii* và *P. aeruginosa* là vi khuẩn thường gặp nhất, đều chiếm 29,4%; tiếp đến là *K. pneumoniae*, *E. coli* lần lượt là 9,6 và 9,2%. Trong nhóm vi khuẩn Gram dương, các chủng *Staphylococcus* spp

thường gặp nhất, trong đó *S. aureus* chiếm tỷ lệ 3,9%; tiếp theo là các chủng *Streptococcus* spp, *S. pneumoniae* chiếm 1,4%. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu đã công bố từ trước tới nay, nguyên nhân chủ yếu gây nhiễm khuẩn tại các đơn vị hồi sức cấp cứu và nhiễm khuẩn bệnh viện là các vi khuẩn Gram âm. Nhiễm khuẩn do vi khuẩn Gram âm đa kháng là gánh nặng lâm sàng, tài chính và tiêu tốn nhiều nguồn lực trong chăm sóc, điều trị. Một nghiên cứu ở Mỹ cho thấy, chi phí bệnh viện cho chủng vi khuẩn Gram âm đa kháng trung bình cao hơn đáng kể (80.550 USD so với 29.604 USD, $p < 0,001$), thời gian nằm viện dài hơn (29 so với 13 ngày, $p < 0,001$), kéo dài thời gian ở lại ICU (13 ngày so với 1 ngày, $p < 0,001$), tăng tỷ lệ tử vong (23% so với 11%, $p < 0,004$) so với chủng vi khuẩn nhạy cảm [6]. Theo thống kê của cơ quan quản lý Dược phẩm Châu Âu, nhiễm khuẩn Gram âm đa kháng ước tính gây ra 25.000 trường hợp tử vong và gánh nặng kinh tế xấp xỉ 1,5 tỷ euro mỗi năm. Đây là định hướng quan trọng cho các dược sĩ lâm sàng trong việc lựa chọn kháng sinh ban đầu thích hợp cho BN. Ngoài ra, sự thay đổi của các chủng loài vi khuẩn cho thấy tầm quan trọng của các nghiên cứu cập nhật thường xuyên và hệ thống các chủng vi khuẩn gây bệnh và tính nhạy cảm kháng sinh của chúng.

2. Tình trạng kháng kháng sinh của một số chủng vi khuẩn phân lập được tại các đơn vị hồi sức cấp cứu

* *Acinetobacter baumannii*:

Năm 2019, một phân tích tổng hợp từ các nghiên cứu tiến hành tại 24 đơn vị hồi sức cấp cứu ở các nước châu Âu, Địa Trung Hải và các nước châu Phi cho thấy: *A.baumannii* là căn nguyên vi khuẩn hàng đầu gây nhiễm khuẩn bệnh viện, đặc biệt trong các đơn vị hồi sức cấp cứu. Tỷ lệ đa kháng kháng sinh của *A. baumannii* ngày càng tăng dần qua thống kê của các nghiên cứu hàng năm. Nghiên cứu MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection), tại các Trung tâm Hồi sức cấp cứu ở các nước châu Âu, tỷ lệ *A. baumannii* kháng Imipenem và Meropenem năm 2002 đều ở mức thấp, lần lượt 15,7% và 12,7%. Đến năm 2006, tỷ lệ này đã tăng lên đáng kể, tương ứng với Imipenem (40,5%) và Meropenem (34,9%) [7]. Theo nghiên cứu của Chen LK (2017) tại Đài Loan, *A. baumannii* kháng với kháng sinh quinolone (Ciprofloxacin và Levofloxacin) đều chiếm 73,6%; kháng với kháng sinh nhóm Cephalosporin (Cefazidime và Cefepime); Tazobactam/Piperacillin và Carbapenem dao động 50 - 70%; 100% nhạy cảm với Colistin [8]. Nhiều nghiên cứu đã đi sâu giải thích khả

năng kháng thuốc của *A.baumannii*. Các giả thiết cho rằng chính nhờ có sự di truyền gen kháng kháng sinh qua plasmid nên tốc độ di truyền nhanh, có thể đột biến chỉ qua một thế hệ sinh sản, do vậy mà chỉ sau 2 - 3 năm, *A. baumannii* đã có thể kháng toàn bộ với loại thuốc mà chúng đã nhạy hoàn toàn trước đây. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng ghi nhận các kháng sinh trước được cho là phác đồ đầu tay trong điều trị nhiễm khuẩn do *A. baumannii* như Imipenem và Meropenem đã gần như là kháng 100%. Các kháng sinh còn hiệu quả (tỷ lệ nhạy): Colistin (35,9%), Tobramycin (21,7%), Amikacin (10,9%) chỉ ở mức thấp.

* *Pseudomonas aeruginosa*:

Dưới áp lực chọn lọc, *P. aeruginosa* kháng thuốc do cả đột biến nhiễm sắc thể và qua trung gian plasmid. Cơ chế kháng nhóm KS beta - lactam bao gồm: Sản xuất enzym beta - lactamase hoạt phổ rộng (ESBL), giảm tính thấm qua màng, thay đổi protein gắn men, hệ thống bơm ngược kháng sinh. Hiện nay, người ta đã phân lập được nhiều chủng *P. aeruginosa* đa kháng chỉ còn nhạy với Colistin. Với sự tham gia của nhiều cơ chế kháng kháng sinh dẫn tới *P. aeruginosa* gần như toàn kháng với các kháng sinh nhóm Cephalosporin và ngày càng gia tăng sự đề kháng với các

kháng sinh nhóm Carbapenem. Trong 81 chủng *P. aeruginosa* được làm kháng sinh đồ, chúng tôi ghi nhận đa số các chủng đều kháng phần lớn các kháng sinh: Imipenem (87,5%); Meropenem (77,5%); còn nhạy cảm với Amikacin (31,2%) và Colistin (48,8%).

* *Staphylococcus aureus*:

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận 75,0% các chủng *S. aureus* kháng Cefoxitin (MRSA). Tỷ lệ nhiễm các chủng MRSA trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn một số nghiên cứu trước đây phân lập được tại Bệnh viện Quân y 103. Tỷ lệ MRSA trong nghiên cứu của tác giả Lê Văn Nam (2014) 48,84% [9]. Với sự gia tăng nhanh chóng tình trạng kháng kháng sinh, MRSA đang gia tăng về tần suất và hiện hữu ở nhiều cơ sở y tế và cũng như trong cộng đồng. Nhiễm khuẩn MRSA là một trong những yếu tố tiên lượng độc lập với tử vong đối với BN nhiễm khuẩn do *S. aureus*. Kết quả kháng sinh đồ của chúng tôi cũng ghi nhận các chủng *S. aureus* kháng với các kháng sinh thông thường dao động từ 50 - 70% (Ceftriaxone 62,5%, Meropenem 70,0%, Moxifloxacin 50,0%); còn nhạy cảm với các kháng sinh điều trị cho các trường hợp MRSA như Vancomycin (85,7%), Linezolid và Tigercylin đều 100,0%.

KẾT LUẬN

Qua phân lập 282 chủng vi khuẩn phân lập tại Trung tâm HSCC-CD, Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 01/2020 - 12/2021, chúng tôi ghi nhận một số kết quả sau:

Các chủng vi khuẩn phân lập được đa số từ đường hô hấp (56,4%), trong đó qua dịch phế quản và đờm lẫn lượt là 44,3% và 12,1%; từ máu là 29,4%.

Căn nguyên gây bệnh chủ yếu do vi khuẩn Gram âm (87,6%). Vi khuẩn Gram dương chỉ chiếm 12,4%.

Trong nhóm vi khuẩn Gram âm, *A. baumannii* và *P. aeruginosa* là các chủng vi khuẩn thường gặp nhất, đều chiếm 29,4%; *K. pneumonia*, *E. coli* lần lượt 9,6 và 9,2%.

Trong nhóm vi khuẩn Gram dương, *S. aureus* chiếm tỷ lệ cao nhất (3,9%); *S. pneumoniae* 1,4%; *Enterococcus faecalis* 1,1%.

A. baumannii và *P. aeruginosa* kháng với đa số các kháng sinh điều trị thông thường. *A. baumannii* kháng với Meropenem (96,3%), Imipenem (100%); Colistin (62,8%); Amikacin (89,1%). *P. aeruginosa* kháng với Imipenem (87,5%); Meropenem (77,5%); Amikacin (62,4%); Colistin (47,4%).

S. aureus kháng Cefoxitin 75%, kháng với các kháng sinh thông thường dao động 50 - 70% (Ceftriaxone 62,5%;

Meropenem 70,0%; Moxifloxacin 50,0%); còn nhạy cảm cao với các kháng sinh điều trị cho các trường hợp MRSA như Vancomycin (85,7%); Linezolid và Tigercylin đều 100,0%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vincent JL, Sakr Y, Singer M, et al. Prevalence and outcomes of infection among patients in intensive care units in 2017. *JAMA*. 2020; 323(15):1478-1487.

2. Patel J, Weinstein M, Eliopoulos G. M100 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. *Reference Source*. 2017.

3. Bùi Hồng Giang. Nghiên cứu đặc điểm vi khuẩn và điều trị nhiễm khuẩn Bệnh viện tại Khoa Hồi sức tích cực Bệnh viện Bạch Mai năm 2012. *Luận văn Thạc sĩ Y học*. Đại Học Y Hà Nội. 2013

4. Maki DG, Crnich CJ, Safdar NJC. Nosocomial infection in the intensive care unit. *Critical Care Medicine*. 2008; 1003.

5. Dasgupta S, Das S, Chawan NS, et al. Nosocomial infections in the intensive care unit: Incidence, risk

factors, outcome and associated pathogens in a public tertiary teaching hospital of Eastern India. *Indian J Crit Care Med*. 2015; 19(1):14-20.

6. Osih RB, McGregor JC, Rich SE, et al. Impact of empiric antibiotic therapy on outcomes in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51(3):839-844.

7. Turner PJ. MYSTIC Europe 2007: Activity of meropenem and other broad-spectrum agents against nosocomial isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2009; 63(2):217-222.

8. Chen LK, Kuo SC, Chang KC, et al. Clinical antibiotic-resistant *acinetobacter baumannii* strains with higher susceptibility to environmental phages than antibiotic-sensitive strains. *Sci Rep*. 2017; 7(1):6319.

9. Lê Văn Nam. Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, tính kháng kháng sinh, gen kháng thuốc của *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết (10/2012 - 6/2014). *Luận án Tiến sĩ y học*. Học viện Quân y. 2017.

**ĐÁNH GIÁ KHẨU PHẦN ĂN VÀ MỐI LIÊN QUAN VỚI CHỈ SỐ BMI
CỦA BỆNH NHÂN THẬN NHÂN TẠO CHU KỲ
TẠI BỆNH VIỆN QUÂN Y 103**

Phạm Đức Minh^{1}, Vũ Thị Xuân Anh¹, Nguyễn Thị Bốn¹
Bùi Đỗ Quỳnh Hương¹, Nguyễn Thị Thuý An¹*

Tóm tắt

Mục tiêu: Khảo sát giá trị năng lượng, protein khẩu phần ăn và đánh giá mối liên quan với chỉ số BMI của bệnh nhân (BN) bệnh thận mạn giai đoạn cuối (BTMGĐC) lọc máu chu kỳ (LMCK). **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 100 BN suy thận giai đoạn cuối, LMCK đang điều trị tại Khoa Thận - Lọc máu, Bệnh viện Quân y 103. **Kết quả:** Mức trung vị (IQR), năng lượng khẩu phần (daily energy intake - DEI) và protein khẩu phần (daily protein intake - DPI) của BN BTMGĐC LMCK là 23,6 (17,9 - 32,3) kcal/kg/ngày, dưới mức khuyến nghị dinh dưỡng của ESPEN. IQR, DPI của BN BTMGĐC LMCK là 1,1 (0,8 - 1,5) g/kg/ngày, nằm trong mức khuyến nghị dinh dưỡng của ESPEN. Tỷ lệ BN đạt mức DEI và DPI lần lượt là 17% và 43%. Thực phẩm thường dùng (lần/tuần): Thịt đỏ (13,16), rau (12,16), thịt gia cầm (2,87), trái cây (2,54). Thực phẩm ít dùng: Cá (1,47), trứng (1,33), sữa (1,31), đậu nành (0,68). Lượng chất xơ trong khẩu phần thấp (4,4 g/ngày). BN có BMI ≥ 23 có độ chênh đạt DEI (OR = 0,123; p = 0,047) và DPI (OR = 0,309; p = 0,018) thấp hơn nhóm có BMI < 23. **Kết luận:** Chế độ ăn của BN BTMGĐC LMCK chưa đạt mức DEI và DPI so với khuyến nghị. Tỷ lệ BN đạt DEI (17%) và DPI (43%) thấp. Thực phẩm cung cấp protein có giá trị sinh học cao chưa được sử dụng thường xuyên. BN có chỉ số BMI cao có nguy cơ giảm mức đạt DEI và DPI so với khuyến nghị.

Từ khoá: Lọc máu chu kỳ; Bệnh thận mạn giai đoạn cuối; Khẩu phần ăn; Thói quen ăn uống.

¹Bộ môn - Khoa dinh dưỡng, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Phạm Đức Minh (drminh103@yahoo.com)

Ngày nhận bài: 15/12/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 10/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.595>

**ASSESSMENT OF DIETARY AND THE ASSOCIATION
WITH BMI OF PATIENTS WITH END-STAGE RENAL DISEASE
ON MAINTENANCE HEMODIALYSIS AT MILITARY HOSPITAL 103**

Abstract

Objectives: To survey dietary and protein intake and evaluate the association with body mass index in the diet of patients with end-stage renal disease on hemodialysis. **Methods:** A cross-sectional descriptive study on 100 patients undergoing maintenance hemodialysis at the Nephrology and Hemodialysis Department, Military Hospital 103. **Results:** The median (IQR) daily energy intake (DEI) and daily protein intake (DPI) of the diet of maintenance hemodialysis end-stage kidney patients were 23.6 (17.9 - 32.3) kcal/kg/day, below the nutritional recommendations of ESPEN. The IQR DPI level of CKD was 1.1 (0.8 - 1.5) g/kg/day, within the nutritional recommendations of ESPEN. The IQR DPI (g/kg/24h) of female patients [1.2 (0.9 - 1.7)] was higher than male patients [1.1 (0.8 - 1.4)], with $p < 0.05$. DPI (g/kg/24h) of patients with BMI < 23 [1.2 (0.9 - 1.6)] was higher than that of patients with BMI ≥ 23 [1.0 (0.7 - 1.2)]. Weekly frequently consumed foods were (times): Red meat (13.16), vegetables (12.16), poultry (2.87), and fruit (2.54). Less commonly used foods are: Fish (1.47), eggs (1.33), milk (1.31), and soybeans (0.68). The amount of fiber in the diet was low (4.4g/day). Patients with BMI ≥ 23 had lower odds of meeting the recommended DEI level (OR = 0.123; $p = 0.047$) and DPI level (OR = 0.309; $p = 0.018$) than the group with BMI < 23 . **Conclusions:** The diet of hemodialysis patients did not meet the recommended levels of energy and protein. The proportion of patients achieving DEI (17%) and DPI (43%) was low. Foods that provide proteins with high biological value were not commonly used. End-stage kidney dialysis patients with high BMI are at risk of reducing their DEI and DPI compared to the recommendations.

Keywords: Maintenance hemodialysis; End-stage Renal disease; Dietary; Food habit.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thận mạn tính là sự suy giảm chức năng thận tiến triển, kéo dài. Tỷ lệ mắc có xu hướng gia tăng, chiếm đến > 10% dân số chung trên toàn thế

giới (> 800 triệu người). Cùng với thuốc hỗ trợ và các kỹ thuật điều trị thay thế thận, chế độ dinh dưỡng là một yếu tố quan trọng trong điều trị toàn diện BN BTMGĐC [1].

Ở châu Á, số BN ESRD được điều trị thay thế thận được dự báo sẽ tăng gấp đôi, từ 2,6 triệu năm 2010 lên 5,4 triệu năm 2030. Theo nghiên cứu được thực hiện ở các nước châu Á (Myanmar, Việt Nam, Thái Lan, Trung Quốc và Nhật Bản), có khoảng 6 triệu người mắc bệnh thận mãn tính ở Việt Nam, chiếm tỷ lệ 6,73% dân số. Trong đó, có khoảng 800.000 BN đã chuyển sang giai đoạn cuối và cần điều trị thay thế thận, nhưng chỉ 10% trong số đó đã được điều trị LMCK [2].

Chế độ dinh dưỡng rất quan trọng do trong quá trình lọc máu có sự gia tăng tiêu hao năng lượng khi nghỉ ngơi từ 12 - 20%, cho thấy nhu cầu về protein và năng lượng hấp thụ ở BN lọc máu tăng lên. Dị hóa protein cùng việc tăng mất protein (chủ yếu là axit amin) do các kỹ thuật thay thế thận (cả lọc máu và lọc màng bụng) dẫn đến trạng thái giảm tổng hợp albumin, cân bằng nitơ âm và hao mòn khối cơ. Duy trì chỉ số khối cơ thể cho phép kéo dài tuổi thọ của BN ESRD có MHD. Tình trạng thừa cân hoặc béo phì (dựa trên BMI) có thể được sử dụng như một yếu tố dự báo tỷ lệ biến chứng và tử vong thấp hơn, mang lại lợi tích cho BN [3].

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Tìm hiểu thực trạng chế độ dinh dưỡng, mối liên quan với chỉ số BMI;*

từ đó, đưa ra được hướng phối hợp can thiệp dinh dưỡng điều trị, tư vấn, truyền thông dinh dưỡng BN thận mạn ngoại trú, LMCK.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

100 BN suy thận mạn LMCK đang điều trị ngoại trú tại Khoa Thận - Lọc máu, Bệnh viện Quân y 103.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:* BN được chẩn đoán BTMGĐC, đang LMCK thời gian ≥ 3 tháng tại Khoa Thận - Lọc máu, Bệnh viện Quân y 103 và đồng ý tham gia nghiên cứu; BN ≥ 18 tuổi, có đủ điều kiện sức khỏe để trả lời các câu hỏi điều tra và hoàn toàn tự nguyện tham gia và nghiên cứu.

* *Tiêu chuẩn loại trừ:* BN tại thời điểm nghiên cứu mắc các bệnh lý ngoại khoa, viêm nhiễm nặng tại chỗ hoặc toàn thân; BN có vấn đề về giao tiếp, mắc bệnh Alzheimer hoặc bất kỳ vấn đề tâm thần nào liên quan đến rối loạn nhận thức; hồ sơ bệnh án không đầy đủ thông tin; BN ăn qua sonde hoặc nuôi dưỡng tĩnh mạch toàn phần; BN không có khả năng trả lời các câu hỏi, không đủ minh mẫn, khó khăn trong giao tiếp.

* *Thời gian và địa điểm:* Từ tháng 01 - 10/2023 tại Khoa Thận - Lọc máu, Bệnh viện Quân y 103

2. Phương pháp nghiên cứu

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

* *Cỡ mẫu nghiên cứu*:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{p(1-p)}{d^2}$$

n: Cỡ mẫu tối thiểu;

$Z_{1-\alpha/2}^2$: Hệ số tin cậy (với độ tin cậy 95% thì giá trị $Z = 1,96$)

p: 0,4 (tỷ lệ BN BTMGĐC LMCK bị suy dinh dưỡng theo phương pháp SGA tại Bệnh viện Đa khoa Hà Đông năm 2021 - 2022) [4];

d: Sai số cho phép, lấy $d = 0,1$.

Thay vào công thức tính được $n = 92$. Trên thực tế, nghiên cứu đã thu thập được 100 BN, từ việc chọn toàn bộ tất cả BN đang điều trị theo tiêu chuẩn nghiên cứu.

* *Phương pháp chọn mẫu*:

Chọn mẫu theo phương pháp toàn bộ. Tất cả BN điều trị ngoại trú tại bệnh viện trong thời gian tiến hành nghiên cứu và thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn đều được chọn vào nghiên cứu. Danh sách BN ban đầu đưa vào nghiên cứu là 152 BN, sau đó loại trừ 52 BN do không đạt tiêu chuẩn lựa chọn, số liệu nghiên cứu là 100 BN.

* *Biến số nghiên cứu*: Các tiêu chuẩn đánh giá:

Đánh giá tình trạng dinh dưỡng theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới,

sử dụng chỉ số khối cơ thể BMI (kg/m^2) [5]. $\text{BMI} = \text{Cân nặng (kg)} / \text{Chiều cao (m)}^2$

Phân loại dựa vào chỉ số BMI theo tiêu chuẩn dành cho người châu Á: Suy dinh dưỡng ($< 18,5$), bình thường ($18,5 - 22,9$), thừa cân ($23 - 24,9$), béo phì (≥ 25) [6].

Nhu cầu năng lượng, nhu cầu các chất dinh dưỡng được áp dụng theo khuyến nghị của ESPEN (Hội Dinh dưỡng Lâm sàng Châu Âu), đạt mức năng lượng khi $\text{DEI} \geq 35 \text{ kcal/kg/24h}$, đạt mức protein khi $\text{DPI} \geq 1,2 \text{ g/kg/24h}$ [7].

* *Phương pháp thu thập thông tin*:

Hỏi ghi khẩu phần ăn 24h: Sử dụng phương pháp hỏi ghi 24h qua và bộ câu hỏi tần suất tiêu thụ thực phẩm để đánh giá giá trị khẩu phần. Hỏi ghi tất cả các thực phẩm (kể cả đồ uống) được đối tượng tiêu thụ trong ngày 3 ngày qua, bao gồm 1 ngày trước lọc trong tuần, 1 ngày lọc trong tuần và 1 ngày cuối tuần không lọc. Mô tả chi tiết các thức ăn, đồ uống mà đối tượng đã tiêu thụ kể cả các phương pháp chế biến thực phẩm. Sử dụng “Quyển ảnh dùng trong điều tra khẩu phần ăn, Viện Dinh dưỡng, Bộ Y tế, năm 2014” để đánh giá khẩu phần ăn.

Kiểm soát sai lệch thông tin bằng cách tập huấn kỹ cách thức thu thập số liệu cho điều tra viên, đặc biệt phương

pháp đánh giá dinh dưỡng bằng công cụ đánh giá tổng thể chủ quan (SGA). Kiểm soát sai lệch lựa chọn dựa trên định nghĩa rõ ràng đối tượng nghiên cứu căn cứ vào tiêu chuẩn chọn và tiêu chuẩn loại trừ.

Dụng cụ cân bàn Seca 786 (Đức) có thước đo chiều cao đạt tiêu chuẩn, kết quả chiều cao được ghi theo cm và 1 số lẻ, trọng lượng cơ thể được ghi theo kg với 1 số lẻ. Cân nặng được thực hiện sau khi kết thúc ca lọc 30 phút. Hồ sơ bệnh án giấy và điện tử được sử dụng đồng thời để thu thập thông tin BN. Các biến số nghiên cứu được phân loại và thử nghiệm bộ công cụ đánh giá trước khi thực hiện.

** Xử lý và phân tích số liệu:*

Hồ sơ thực phẩm được nghiên cứu viên chính nhập vào phần mềm Viện Dinh dưỡng Quốc gia để phân tích khẩu phần ăn, sử dụng cơ sở dữ liệu bảng thành phần thực phẩm của Việt Nam.

Thông tin thu được trên phiếu điều tra sẽ được mã hóa, nhập liệu và xử lý phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS 26.0 (Statistical Package for Social Sciences - SPSS Inc., Chicago, IL). Số liệu định lượng được trình bày dưới dạng trung bình và độ lệch chuẩn ($TB \pm \text{ĐLC}$) với biến có phân bố chuẩn, trung vị và phân bố tứ phân vị (IQR) với biến phân bố không chuẩn; số lượng (SL) và tỷ lệ phần trăm (%)

với biến định tính. So sánh giá trị trung bình giữa hai nhóm dùng thống kê Oneway anova (nếu dữ liệu có phân phối chuẩn) và dùng thống kê Wilcoxon (nếu dữ liệu không có phân phối chuẩn). So sánh một giá trị trung bình với một giá trị trung bình đã có dùng kiểm định bằng T-test một mẫu. So sánh một tỷ lệ với một tỷ lệ đã có dùng kiểm định bằng test khi bình phương một mẫu dùng với phân bố chuẩn. So sánh một trung vị với một giá trị mặc định dùng one sample Wilcoxon signed rank test với phân bố không chuẩn. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định khi giá trị $p < 0,05$ (độ tin cậy $> 95\%$).

Đánh giá tương quan (hệ số tương quan Pearson với biến liên tục có phân phối chuẩn và hệ số tương quan Spearman's với biến không xấp xỉ chuẩn). Trong mô hình tương quan đơn biến, các yếu tố có tương quan có ý nghĩa thống kê sẽ được đưa vào mô hình hồi quy để xác định yếu tố liên quan. Giá trị $p < 0,05$ được đánh giá có liên quan có ý nghĩa thống kê.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ đúng các quy định, được thông qua Hội đồng Khoa học và Đạo đức của Học viện Quân y tại quyết định số 1864/QĐ-HVQY ngày 17/5/2023. Các tác giả cam kết không có xung đột về lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

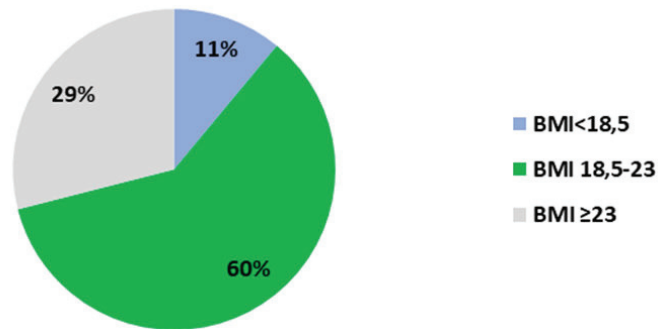
1. Đặc điểm chung

Bảng 1. Đặc điểm chung của BN nghiên cứu.

Đặc điểm chung	Nam giới (n = 51)	Nữ giới (n = 49)	Chung
Tuổi (năm)	56,8 ± 14,4	58,9 ± 14,6	57,8 ± 14,5
Thời gian lọc (tháng)*	36 (12 - 60)	36 (5 - 84)	36 (8,25 - 72)
Cân nặng cách 6 tháng (kg)	60,9 ± 8,0	49,0 ± 6,7	55,1 ± 9,5
Cân nặng hiện tại (kg)	60,9 ± 7,9	48,8 ± 6,7	55,0 ± 9,5
Chiều cao (m)	164,0 ± 5,1	154,4 ± 5,8	159,3 ± 7,3
BMI (kg/m ²)	22,6 ± 2,7	20,6 ± 2,4	21,6 ± 2,8

*BMI: Body mass index; Mean ± SD với phân phối chuẩn;
Median (25th - 75th) với phân phối không chuẩn.

BN nam chiếm tỷ lệ 51/100. Độ tuổi trung bình của nam giới là 56,8 ± 14,4 và nữ giới là 58,9 ± 14,6 không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Thời gian lọc trung bình của nam giới là 36 (12 - 60), khác so với nữ giới là 36 (5 - 84), không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,462$). Cân nặng cách đây 6 tháng, cân nặng hiện tại, chiều cao của nam cao hơn nữ giới có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Chỉ số BMI của BN nam là 22,6 ± 2,7, cao hơn chỉ số BMI của BN nữ là 20,6 ± 2,4, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).



Biểu đồ 1. Phân bố BMI của BN LMCK.

Nhóm BN thận mạn LMCK có BMI bình thường (18,5 - 23), chiếm tỷ lệ cao nhất (60%), sau đó đến nhóm thừa cân béo phì (29%) và thấp nhất là nhóm suy dinh dưỡng trường diễn (11%).

2. Chế độ dinh dưỡng của đối tượng nghiên cứu

Bảng 2. Giá trị khẩu phần ăn hàng ngày.

Giá trị dinh dưỡng	Nam giới (n = 51)	Nữ giới (n = 49)	Chung	p
Năng lượng KPA (kcal/ngày)*	1398,3 (1088,2 - 1708,7)	1283,0 (976,0 - 1722,3)	1350,9 (1032,5 - 1704,4)	0,347
DEI (kcal/kg/ngày) *, ^a	22,5 (17,5 - 29,7)	26,7 (18,3 - 34,2)	23,6 (17,9 - 32,3)	0,207
DEI ≥ 35 (%)	11,8	22,4	17	0,189
Protein (g/ngày) *	63,5 (48,4 - 79,3)	60,4 (44,8 - 75,4)	63,3 (46,2 - 77,1)	0,724
P _{đv} (g/ngày) *	41,3 (25,6 - 49,5)	35,8 (24,7 - 52,4)	39,3 (25,3 - 50,1)	0,969
Protein MPF (g/ngày)	34,9 ± 15,6	29,9 ± 15	32,4 ± 15,5	0,108
Tỷ lệ P _{đv} /P _{ts} *	59,7 (52,4 - 68,2)	63,1 (50,9 - 71,2)	60,9 (52,2 - 69,1)	0,499
DPI (g/kg/ngày) *, ^a	1,1 (0,8 - 1,4)	1,2 (0,9 - 1,7)	1,1 (0,8 - 1,5)	0,041
DPI ≥ 1,2 (%)	31,4	55,1	43	0,026
Carbohydrate (g/ngày)	219,2 ± 58,4	196,3 ± 66,3	208 ± 63,1	0,507
DCI (g/kg/ngày) *	3,5 (2,8 - 4,4)	3,9 (2,8 - 4,9)	3,7 (2,8 - 4,6)	0,474
Lipid (g/ngày) *	26,3 (16,2 - 37,9)	27,5 (16,4 - 41,4)	26,9 (16,4 - 39,6)	0,825
DLI (g/kg/ngày) *	0,4 (0,3 - 0,6)	0,6 (0,3 - 0,8)	0,5 (0,3 - 0,8)	0,134
Chất xơ (g/ngày)	4,6 ± 2,0	4,3 ± 2,3	4,4 ± 2,2	0,599

* Chú thích:

KPA: Khẩu phần ăn; P_{đv}: Protein nguồn gốc động vật; P_{ts}: Protein tổng số;

Protein MPF: Protein động vật, từ thịt gia súc, gia cầm, cá.

DCI: Dietary carbohydrate intake; DLI: Daily lipid intake;

Mean ± SD với phân phối chuẩn; *Median (25th - 75th) với phân phối không chuẩn;

^aone sample Wilcoxon signed rank test.

Năng lượng khẩu phần ăn hàng ngày (DEI) của BN nam là 22,5 (17,5 - 29,7) Kcal, thấp hơn của nữ là 26,7 (18,3 - 34,2), với $p = 0,207$, DEI của BN nam là 1,2 (0,9 - 1,7) g/kg, cao hơn nữ 1,1 (0,8 - 1,4) g/kg ($p = 0,041$), carbohydrate hàng ngày (DCI) của BN nam là 3,5 (2,8 - 4,4) g/kg thấp hơn nữ 3,9 (2,8 - 4,9) g/kg ($p = 0,474$), lipid hàng ngày (DLI) của BN nam là 0,4 (0,3 - 0,6) g/kg cao hơn nữ 0,6 (0,3 - 0,8) g/kg ($p = 0,134$). Lượng chất xơ khẩu phần ăn hàng ngày của nam

($4,6 \pm 2,0$) cao hơn nữ giới ($4,3 \pm 2,3$), với $p > 0,05$.

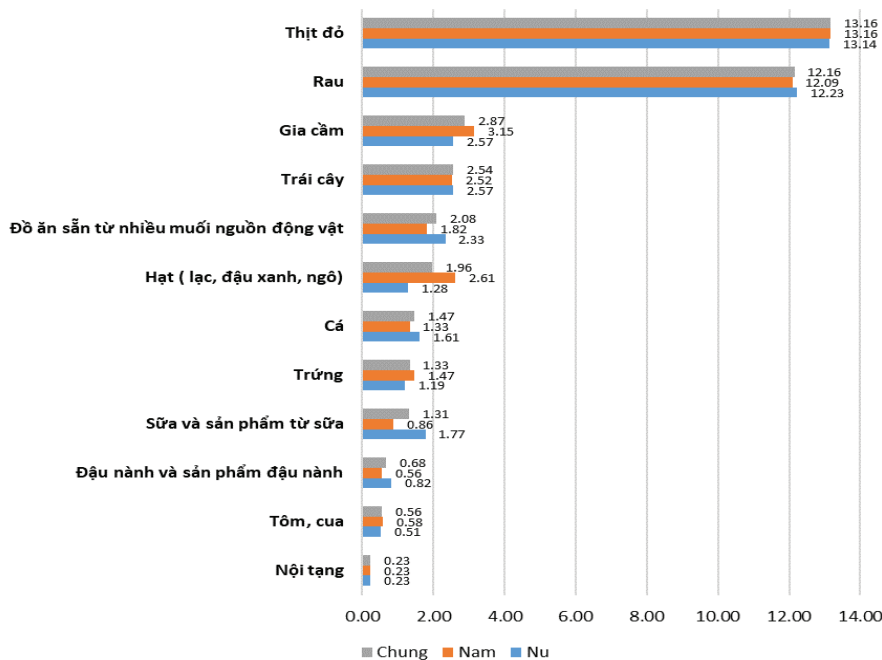
So sánh giá trị trung vị của giá trị khẩu phần ăn so với mức khuyến cáo cho thấy: $DEI^a < 35$ (kcal/kg/ngày) với $p < 0,001$; $DPI^a < 1,2$ (g/kg/ngày), với $p > 0,05$.

Tỷ lệ đạt mức DEI là 17%; trong đó, BN nam (11,8%) thấp hơn của nữ (22,4%), với $p > 0,05$.

Tỷ lệ đạt mức DPI là 43%; trong đó, BN nam (31,4%) thấp hơn của nữ (55,1%), với $p < 0,05$.

3. Thói quen sử dụng thực phẩm của BN thận LMCK

Hằng tuần, lượng protein được cung cấp nhiều nhất cho BN thận LMCK có nguồn gốc từ thịt (13,16 lần), tiếp theo sau là gia cầm (2,87 lần), cá (1,47 lần), trứng (1,33 lần), sữa (1,31 lần), đậu nành (0,68 lần).



Biểu đồ 2. Tần suất sử dụng thực phẩm.

4. Liên quan chỉ số khối cơ thể với giá trị năng lượng khẩu phần BN thận LMCK

Bảng 3. Giá trị dinh dưỡng khẩu phần ăn theo chỉ số BMI.

Giá trị năng lượng	BMI < 23 (n = 71)	BMI ≥ 23 (n = 29)	p
	1292,9	1376,1	0,544
Năng lượng KPA (Kcal) *	(1028,5 - 1753,0)	(1075,2 - 1679,3)	
DEI (Kcal/kg/24h) *	25,7 (18,6 - 34,1)	20,9 (17,0 - 28,6)	0,116
Protein *	63,2 (45,5 - 78,4)	63,3 (47,5 - 73,7)	0,981
DPI (Kcal/kg/24h) *	1,2 (0,9 - 1,6)	1,0 (0,7 - 1,2)	0,033

(*Median (25th - 75th) với phân phối không chuẩn.)

Mức DPI (kcal/kg/24h) của nhóm BMI < 23 [1,2 (0,9 - 1,6)] cao hơn nhóm BMI ≥ 23 [1,0 (0,7 - 1,2)] với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p = 0,033).

Bảng 4. Tương quan giá trị năng lượng với đặc điểm BN.

Đặc điểm		DEI (g/kg/24h)	DPI (g/kg/24h)	DLI (g/kg/24h)	DCI (g/kg/24h)	Chất xơ
Tuổi	r	-0,241*	-0,16	-0,156	-0,287**	0,197*
	p	0,016	0,112	0,121	0,004	0,05
Giới tính	r	-0,163	-0,192	-0,159	-0,117	0,093
	p	0,106	0,055	0,114	0,247	0,36
Thời gian lọc máu	r	-0,084	-0,044	-0,042	-0,071	0,07
	p	0,407	0,665	0,678	0,484	0,488
BMI	r	-0,328**	-0,353**	-0,289**	-0,263**	-0,021
	p	0,001	0	0,004	0,008	0,838

DEI có mối tương quan nghịch với tuổi (r = -0,241; p < 0,05) và BMI (r = -0,328; p < 0,01). DPI có mối tương quan nghịch với BMI (r = -0,353; p < 0,01). DLI có mối tương quan nghịch với BMI (r = -0,289; p < 0,01). DCI có mối tương quan

nghịch với tuổi ($r = -0,287$; $p < 0,01$) và BMI ($r = -0,263$; $p < 0,01$). Lượng chất xơ trong KPA có mối tương quan nghịch với tuổi ($r = -0,197$; $p < 0,05$).

Bảng 5. Liên quan đơn biến giữa tuổi và chỉ số BMI với mức đạt nhu cầu năng lượng ($DEI \geq 35$ kcal/kg/24h) và protein ($DPI \geq 1,2$ g/kg/24h).

Biến số	p	OR	95%CI	OR
Tuổi ≥ 60 so với < 60 về khả năng đạt mức DEI	0,08	0,378	0,128	1,122
Tuổi ≥ 60 so với < 60 về khả năng đạt mức DPI	0,14	0,547	0,245	1,219
BMI ≥ 23 so với BMI < 23 về khả năng đạt mức DEI	0,047	0,123	0,015	0,974
BMI ≥ 23 với BMI < 23 về khả năng đạt mức DPI	0,018	0,309	0,117	0,816

BN có BMI ≥ 23 có độ chênh đạt mức DEI (OR = 0,123; $p = 0,047$) và DPI (OR = 0,309; $p = 0,018$) thấp hơn nhóm có BMI < 23 . Tuổi ≥ 60 có xu hướng giảm khả năng đạt mức DEI (OR = 0,378; $p > 0,05$) và DPI (OR = 547; $p > 0,05$).

BÀN LUẬN

1. Chế độ dinh dưỡng và thói quen sử dụng thực phẩm của BN BTMGĐC LMCK

Kết quả nghiên cứu cho thấy trung vị mức DEI của đối tượng nghiên cứu chỉ đạt mức 23,6 kcal/kg/ngày, thấp hơn so với khuyến nghị của ESPEN. Lượng tiêu thụ dưới mức khuyến nghị này cũng được nhiều nghiên cứu chỉ ra [8].

Mức DPI nằm trong mức khuyến nghị nhưng do mức DEI của BN không đủ khiến mất cân bằng nitơ âm nên có thể dẫn đến lượng protein trong chế độ ăn và protein trong cơ bắp được chuyển sang để cung cấp năng lượng cho cơ thể. Đáng lo ngại là chế độ ăn

dưới mức nhu cầu có tác động tiêu cực đến tỷ lệ sống sót của BN thận nhân tạo chu kỳ [9].

Theo số liệu cho thấy, BN thận nhân tạo chu kỳ đã có kiến thức về việc sử dụng thực phẩm chứa protein chất lượng cao. Tuy nhiên, thực phẩm giàu protein có giá trị sinh học cao, thích hợp cho BN như trứng (1,33 lần/tuần), sữa (1,31 lần/tuần) vẫn còn chiếm tần suất thấp. Kết quả là tỷ lệ đạt mức DEI và DPI còn thấp so với khuyến nghị.

Chi phí điều trị BN thận mạn LMCK rất lớn, khoảng trên 9000 USD/năm. Chế độ dinh dưỡng hợp lý và tiết kiệm sẽ giúp BN duy trì được thể trạng tốt, giảm chi phí cho các thuốc hỗ trợ, giảm tổng chi phí và giảm gánh nặng bệnh tật [2].

2. Một số yếu tố liên quan với chế độ dinh dưỡng

** Mối liên quan giữa BMI với DEI:*

Mô hình hồi quy logistic đơn biến cho thấy BMI ≥ 23 có độ chênh đạt khuyến nghị, mức DEI (OR = 0,123; p = 0,047) và DPI (OR = 0,309; p = 0,018) thấp hơn so với nhóm BMI < 23. Tương tự với kết quả trong nghiên cứu của Mahjoub (2019) (n = 40), mức DEI trung bình của BN là $25,3 \pm 12,3$ kcal/kg cân nặng lý tưởng mỗi ngày. Chỉ số BMI dưới 21 kg/m^2 được ghi nhận ở 73,7% nữ giới và 47,6% nam giới [10].

BMI thấp có khả năng đạt mức DEI cao hơn do cân nặng BN thấp nên tính trên mức cân nặng dễ đạt hơn so với BN có mức cân nặng cao hơn. Vì vậy, đích giữ và tăng cân để đảm bảo sức khoẻ của những BN LMCK khó đạt được do sức ăn của BN không đủ để cung cấp năng lượng cho cân nặng chuẩn. BN LMCK, nếu không giữ được cân nặng cần đạt sẽ tăng biến cố bệnh tật và giảm thời gian sống thêm [3].

Để tăng thời gian sống thêm và giảm các biến cố, cần giữ BMI ở mức cao, đạt được mức thừa cân hoặc cao hơn sẽ giúp BN sống lâu hơn. Tuy nhiên, kết quả phân tích của nghiên cứu này cho thấy với BN đạt mức BMI thừa cân, béo phì lại đang có giá trị năng lượng khẩu phần ăn không đạt. Số liệu cân nặng trung bình cách đây 6 tháng cũng cho thấy cân nặng BN có

xu hướng giảm nhẹ từ 55,1kg xuống 55kg (Bảng 1). Từ các phân tích trên cho thấy, can thiệp dinh dưỡng để BN tăng cân là một trong những chỉ tiêu quan trọng nhưng khó thực hiện trên nhóm BN thận giai đoạn cuối LMCK.

** Mối liên quan giữa BMI và tuổi với DPI:*

Tương tự, kết quả phân tích cho thấy BMI ≥ 23 có độ chênh đạt khuyến nghị, mức DPI (OR = 0,309; p = 0,018) thấp hơn so với nhóm BMI < 23. Tuổi ≥ 60 có xu hướng giảm cả khả năng đạt mức DEI (OR = 0,123) và DPI (OR = 0,309) với sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Nghiên cứu cho thấy sau mỗi lần lọc, khoảng 6 - 12g axit amin và 7 - 8g protein bị mất đi. Ở BN thận nhân tạo chu kỳ, đặc biệt là người cao tuổi, lượng calo và protein không đủ có liên quan đến sự gia tăng tỷ lệ mắc bệnh và tử vong [11]. Cung cấp lượng protein đầy đủ có tầm quan trọng lớn ở BN chạy thận nhân tạo, để bù cho lượng protein bị mất trong quá trình lọc và để duy trì khối lượng cơ bắp.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu chế độ dinh dưỡng trên 100 BN BTMTGĐC LMCK điều trị ngoại trú tại Bệnh viện Quân y 103, rút ra kết luận như sau:

Mức IQR DEI của BTMTGĐC LMCK là 23,6 kcal/kg/ngày, thấp hơn mức khuyến nghị của ESPEN. Mức IQR

DPI là 1,1 g/kg/ngày, nằm trong mức khuyến nghị dinh dưỡng ESPEN. Thực phẩm cung cấp protein chất lượng cao còn sử dụng ít. Chế độ ăn nghèo chất xơ. Tỷ lệ đạt mức DEI và DPI thấp.

Tuổi có mối tương quan nghịch với DEI ($r = -0,241$; $p < 0,05$), DCI ($r = -0,287$; $p < 0,01$). BMI có mối tương quan nghịch với DEI ($r = -0,328$; $p < 0,01$), DPI ($r = -0,353$; $p < 0,01$), DLI ($r = -0,289$; $p < 0,01$), DCI ($r = -0,263$; $p < 0,01$), chất xơ KPA ($r = -0,197$; $p < 0,05$). Chỉ số BMI ≥ 23 có tương quan nghịch với khả năng đạt mức năng lượng KPA (OR = 0,123, $p = 0,047$) và khả năng đạt mức protein KPA (OR = 0,309, $p = 0,018$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kovesdy CP. Epidemiology of chronic kidney disease: An update 2022. *Kidney Int Suppl.* 2022; 12(1):7-11.
2. Nguyen TQ, TQ Vo, GH Luu, et al. Socioeconomic costs of chronic kidney disease: Evidence from southwest Vietnam. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2018.
3. Ikizler TA, JD Burrowes, LD Byham-Gray, et al. KDOQI clinical practice guideline for nutrition in CKD: 2020 Update. *Am J Kidney Dis.* 2020; 76(3):s1-s107.
4. Hoàng HV, TMH Đoàn, TTT Đặng và CS. Tình trạng dinh dưỡng của bệnh nhân chạy thận nhân tạo dưới 70 tuổi đang được quản lý tại Bệnh

viện Đa khoa Hà Đông năm 2022. *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm.* 2022; 18(3, 4):57-62.

5. Eknoyan G. Adolphe Quetelet (1796 - 1874) the average man and indices of obesity. *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23(1):47-51.

6. WHO. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet.* 2004; 363(9403): 157-163.

7. Fiaccadori E, A Sabatino, R Barazzoni, et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in hospitalized patients with acute or chronic kidney disease. *Clin Nutr.* 2021; 40(4):1644-1668.

8. Kang SS, JW Chang, and Y Park. Nutritional status predicts 10-year mortality in patients with end-stage renal disease on hemodialysis. *Nutrients.* 2017; 9(4).

9. Zha Y and Q Qian. Protein nutrition and malnutrition in CKD and ESRD. *Nutrients.* 2017; 9(3).

10. Mahjoub F, R Mizouri, N Ben Amor, et al. Prevalence of malnutrition for elderly hemodialysis patients. *Tunis Med.* 2019; 97(4):588-594.

11. Ikizler TA, NJ Cano, H Franch, et al. Prevention and treatment of protein energy wasting in chronic kidney disease patients: A consensus statement by the International Society of Renal Nutrition and Metabolism. *Kidney Int.* 2013; 84(6):1096-1107.

NGUY CƠ ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYP 2 THEO THANG ĐIỂM ADA
Ở ĐỐI TƯỢNG RỐI LOẠN LIPID MÁU

Lê Đình Tuân¹, Vũ Đức Chiến², Nguyễn Tiến Sơn^{1*}, Nguyễn Huy Thông¹
Lương Công Thức³, Nguyễn Duy Toàn³, Dương Huy Hoàng⁴

Tóm tắt

Mục tiêu: Khảo sát nguy cơ đái tháo đường (ĐTĐ) typ 2 bằng thang điểm ADA (American Diabetes Association) ở đối tượng rối loạn lipid máu. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu tiền cứu, mô tả cắt ngang trên 250 cán bộ, học viên Học viện “X” khám sức khỏe định kỳ năm 2022 tại Bệnh viện Quân y 103. **Kết quả:** Điểm nguy cơ ĐTĐ theo thang điểm ADA ở đối tượng nghiên cứu là $2,75 \pm 1,32$ điểm, điểm nguy cơ ở nam giới cao hơn nữ giới có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); tỷ lệ nguy cơ cao bị ĐTĐ ở nam là 11,5%, nữ là 4,5%, tỷ lệ chung là 9,6%. Có mối tương quan thuận, mức độ vừa giữa nồng độ cholesterol, triglycerid, LDL-C với điểm nguy cơ theo ADA có ý nghĩa thống kê (hệ số tương quan lần lượt là: $r = 0,351$, $r = 0,325$ và $r = 0,412$, $p < 0,001$). Mô hình hồi quy logistic đa biến cho thấy nguy cơ cao mắc ĐTĐ typ 2 có liên quan có ý nghĩa thống kê với tăng cholesterol máu (OR = 4,40, 95%CI: 1,62 - 11,94). **Kết luận:** Điểm nguy cơ ĐTĐ theo thang điểm ADA ở đối tượng nghiên cứu là $2,75 \pm 1,32$ điểm, tỷ lệ nguy cơ cao bị ĐTĐ ở nam là 11,5%. Nguy cơ cao bị ĐTĐ có liên quan đến rối loạn lipid máu.

Từ khóa: Đái tháo đường typ 2; Thang điểm nguy cơ ADA; Rối loạn chuyển hóa lipid.

THE RISK OF TYPE 2 DIABETES ACCORDING
TO THE ADA RISK SCORE IN SUBJECTS WITH DYSLIPIDEMIA

Abstract

Objectives: To investigate the risk of type 2 diabetes mellitus using the ADA (American Diabetes Association) risk score in people with dyslipidemia.

Methods: A prospective, cross-sectional descriptive study on 250

¹Bộ môn Khớp và Nội tiết, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

²Bệnh viện Quân y 121

³Bộ môn Trung tâm Tim mạch, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

⁴Trường Đại học Y Dược Thái Bình

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Tiến Sơn (ntson4879@gmail.com)

Ngày nhận bài: 01/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 20/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.643>

officers and students of “X” Academy on regular health check-ups in 2022 at Military Hospital 103. **Results:** The diabetes risk score was 2.75 ± 1.32 points, and the risk score in men was significantly higher than that in women ($p < 0.05$). The percentage of high risk of having diabetes was 11.5% in men, 4.5% in women, and 9.6% overall. There was a positively moderate correlation between cholesterol, triglyceride, LDL-C, and ADA risk score, with correlation coefficients of 0.351, 0.325, and 0.412, respectively (all $p < 0.001$). The multivariable logistic regression model showed that the high risk of type 2 diabetes was significantly associated with hypercholesterolemia (OR = 4.40, 95%CI: 1.62 - 11.94). **Conclusion:** The risk score for diabetes according to the ADA scale in the study subjects was 2.75 ± 1.32 points, and the percentage of high risk of having diabetes was 11.5% in men. A high risk of diabetes is associated with dyslipidemia.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus; ADA risk score; Dyslipidemia.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường là một trong những bệnh không lây nhiễm nhưng tăng nhanh trên toàn thế giới theo tốc độ phát triển của nền kinh tế xã hội. Theo dữ liệu từ Liên đoàn Đái tháo đường Quốc tế (International Diabetes Federation - IDF) năm 2021 trên toàn thế giới có 537 triệu người lớn (độ tuổi 20 - 79) tương đương cứ 10 người trưởng thành thì có 1 người đang sống với bệnh ĐTĐ, con số này được dự đoán sẽ tăng lên 643 triệu vào năm 2030 và 783 triệu vào năm 2045 [7]. Rối loạn lipid máu là một trong các

yếu tố nguy cơ tim mạch - chuyển hóa thường gặp, tác động đến tiến triển, biến chứng và tử vong của bệnh. Rối loạn lipid máu ảnh hưởng đến sự kháng insulin, đây cũng là cơ chế bệnh sinh chủ yếu của ĐTĐ týp 2 [1, 7]. Vì vậy, việc tầm soát ĐTĐ trên đối tượng rối loạn lipid máu có ý nghĩa quan trọng trong thực hành lâm sàng nhằm phát hiện đối tượng có nguy cơ cao để ngăn chặn sự tiến triển thành ĐTĐ [6]. Hiện nay, có nhiều thang điểm tầm soát đánh giá nguy cơ ĐTĐ; trong đó, thang điểm ADA là công cụ được sử dụng rộng rãi để dự báo nguy cơ ĐTĐ

ở những đối tượng có nguy cơ [6, 8, 10]. Tại Việt Nam, tình trạng rối loạn lipid máu gặp khá phổ biến; tuy nhiên, có ít nghiên cứu sử dụng thang điểm ADA để đánh giá nguy cơ ĐTĐ. Vì vậy, chúng tôi nghiên cứu đề tài này nhằm: *Khảo sát nguy cơ ĐTĐ típ 2 bằng thang điểm ADA ở đối tượng rối loạn lipid máu.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

250 cán bộ, học viên Học viện “X” khám sức khỏe định kỳ năm 2022 tại Bệnh viện Quân y 103

** Tiêu chuẩn lựa chọn:*

Đối tượng được chẩn đoán rối loạn lipid máu hoặc đang dùng thuốc điều trị lipid máu; đồng ý tham gia nghiên cứu.

** Tiêu chuẩn loại trừ:*

Đối tượng đã được chẩn đoán và điều trị ĐTĐ; có bệnh nặng như xơ gan, ung thư gan...; không thu thập đủ số liệu nghiên cứu.

2. Phương pháp nghiên cứu

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

** Cỡ mẫu:* Lấy theo phương pháp thuận tiện tất cả đối tượng được chẩn đoán rối loạn lipid máu đủ tiêu chuẩn nghiên cứu.

** Nội dung nghiên cứu:*

Các đối tượng được hỏi và thăm khám toàn diện các cơ quan: Tuần hoàn, hô hấp, tiêu hóa... làm các xét nghiệm sinh hóa máu cơ bản.

Chẩn đoán rối loạn lipid máu: Theo tiêu chuẩn Bộ Y tế Việt Nam (2014) khi có một hoặc nhiều rối loạn như sau [1]: Cholesterol > 5,2 mmol/L; triglycerid > 1,7 mmol/L; LDL-C > 2,58 mmol/L; HDL-C < 1,03 mmol/L.

Thang điểm ADA dựa trên bảy tiêu chí dự đoán nguy cơ mắc bệnh ĐTĐ bao gồm Tuổi, giới tính, ĐTĐ thai kỳ (GDM), tiền sử gia đình mắc bệnh ĐTĐ, tăng huyết áp, hoạt động thể chất và béo phì (dựa trên chỉ số khối cơ thể BMI hoặc thông qua biểu đồ cân nặng-chiều cao). Đối tượng tham gia được yêu cầu trả lời có hoặc không cho tất cả các câu hỏi ngoại trừ tuổi và chỉ số BMI. Đối với độ tuổi và chỉ số BMI, điểm dao động từ 0 - 3. Tổng điểm của thang điểm từ 0 - 11 điểm; nguy cơ cao bị ĐTĐ: điểm ADA ≥ 5 điểm, nguy cơ thấp: Điểm ADA < 5 điểm [6].

Bảng 1. Thang điểm ADA đánh giá nguy cơ ĐTĐ tít 2 [6].

Biến số	Phân độ	Điểm
Tuổi	< 40	0
	40 - 49	1
	50 - 59	2
	≥ 60	3
Giới tính	Nữ	0
	Nam	1
Tiền sử ĐTĐ thai kỳ (nữ giới)	Không	0
	Có	1
Tiền sử gia đình mắc ĐTĐ	Không	0
	Có	1
Tiền sử tăng huyết áp	Không	0
	Có	1
Hoạt động thể lực	Không	0
	Có	1
Chỉ số BMI	Bình thường hoặc thiếu cân	0
	Thừa cân	1
	Béo phì loại I	2
	Béo phì loại II	3

* *Xử lý số liệu:* Số liệu nghiên cứu được phân tích bằng phần mềm SPSS 16.0.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thông qua Hội đồng Đạo đức Bệnh viện Quân y 103 số 288B/HĐĐĐ ngày 20/7/2023. Các tác giả cam kết không có xung đột về lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 2. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.

	Chỉ tiêu	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Tuổi (năm)	< 40	174	69,6
	40 - 49	67	26,8
	50 - 59	9	3,6
	Trung bình	36,56 ± 6,38	
Giới tính	Nam	183	26,8
	Nữ	67	73,2
BMI (kg/m ²)	< 23	84	33,6
	23 - < 25	98	39,2
	25 - < 35	68	27,2
	≥ 35	0	0
	Trung bình	23,9 ± 2,3	
Tiền sử tăng huyết áp		29	11,6
Tiền sử nữ giới mắc ĐTĐ thai kỳ		10	4
Tiền sử gia đình có bố mẹ anh chị mắc ĐTĐ		61	24,4
Hoạt động thể lực		85	34,0

Độ tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là 36,56 ± 6,38 tuổi, đa số < 40 tuổi (69,6%). BMI trung bình của nhóm nghiên cứu là 23,9 ± 2,3 (kg/m²), nhóm BMI từ 23 đến < 25 có tỷ lệ cao nhất (39,2%).

Bảng 3. Đặc điểm rối loạn lipid máu của đối tượng nghiên cứu.

Thông số		Giới tính			p
		Chung	Nam	Nữ	
Cholesterol (mmol/L)	Trung bình	5,0 ± 0,8	5,1 ± 0,8	4,8 ± 0,7	< 0,05*
	Tỷ lệ tăng (%)	37,6	42,1	25,4	
Triglycerid (mmol/L)	Trung bình	2,1 ± 1,9	2,4 ± 2,0	1,3 ± 0,9	< 0,05*
	Tỷ lệ tăng (%)	44,4	53	20,9	
LDL-C (mmol/L)	Trung bình	3,3 ± 0,6	3,3 ± 0,6	3,2 ± 0,5	< 0,05*
	Tỷ lệ tăng (%)	93,2	92,9	94	
HDL-C (mmol/L)	Trung bình	1,2 ± 0,3	1,1 ± 0,2	1,3 ± 0,3	< 0,05
	Tỷ lệ tăng (%)	59,6	51,4	82,1	
Rối loạn lipid máu	1 thành phần	78 (31,2)	39 (21,3)	39 (58,2)	< 0,05
	2 thành phần	78 (31,2)	60 (32,8)	18 (26,9)	
	3 thành phần	71 (28,4)	62 (33,9)	9 (13,4)	
	4 thành phần	23 (9,2)	22 (12,0)	1 (1,5)	

Tỷ lệ tăng cholesterol, triglycerid, LDL-C lần lượt là 37,6%; 44,4%; 93,2%; tỷ lệ giảm HDL-C là 59,6%, sự khác biệt giữa nam và nữ có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Tỷ lệ rối loạn lipid máu 1 thành phần và 2 thành phần chiếm tỷ lệ 31,2%, 4 thành phần 9,2%, có sự khác biệt rối loạn thành phần lipid máu giữa nam và nữ có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 4. Điểm nguy cơ bị ĐTĐ theo ADA của đối tượng nghiên cứu.

Điểm nguy cơ ĐTĐ theo ADA	Chung	Nam	Nữ	p
Trung bình	2,75 ± 1,32	3,13 ± 1,13	1,72 ± 1,26	< 0,05
< 5	226 (90,4)	162 (88,5)	64 (95,5)	> 0,05
≥ 5	24 (9,6)	21 (11,5)	3 (4,5)	

Điểm nguy cơ ĐTĐ theo thang điểm ADA ở đối tượng nghiên cứu là $2,75 \pm 1,32$ điểm, điểm nguy cơ ở nam giới cao hơn nữ giới có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tỷ lệ nguy cơ cao bị ĐTĐ ở nam là 11,5%, nữ là 4,5%, tỷ lệ chung là 9,6%, không có sự khác biệt giữa nam và nữ.

Bảng 5. Mối liên quan và tương quan giữa các thành phần lipid máu và nguy cơ ĐTD theo thang điểm ADA.

Chỉ số lipid máu		Nguy cơ ĐTD theo thang điểm ADA		
		Nguy cơ thấp	Nguy cơ cao	Hệ số tương quan (r)
Cholesterol (mmol/L)	Trung bình	4,90 ± 0,74	5,79 ± 1,08	0,351
	Trung vị	4,95	5,83	
	p	< 0,05		
HDL-C (mmol/L)	Trung bình	1,16 ± 0,29	1,13 ± 0,30	-0,217
	Trung vị	1,11	1,02	
	p	> 0,05		
LDL-C (mmol/L)	Trung bình	3,24 ± 0,56	3,81 ± 0,79	0,325
	Trung vị	3,21	3,85	
	p	< 0,05		
Triglycerid (mmol/L)	Trung bình	1,88 ± 1,50	4,01 ± 3,29	0,412
	Trung vị	1,43	2,39	
	p	< 0,05		

Nồng độ cholesterol, LDL-C, triglycerid càng cao thì mức độ nguy cơ ĐTD càng cao ($p < 0,05$). Có mối tương quan thuận, mức độ vừa giữa cholesterol, triglycerid, LDL-C với điểm nguy cơ ADA có ý nghĩa thống kê (hệ số tương quan lần lượt là: $r = 0,351$, $r = 0,325$ và $r = 0,412$, $p < 0,001$).

Bảng 6. Mối tương quan giữa nguy cơ cao ĐTD với rối loạn lipid máu.

Thành phần lipid máu	OR	95%CI	p
Tăng cholesterol	4,40	1,62 - 11,94	< 0,05
Tăng triglycerid	2,32	0,88 - 6,10	> 0,05
Giảm HDL-C	1,91	0,76 - 4,78	> 0,05
Tăng LDL-C	0,93	0,10 - 8,70	> 0,05

Mô hình hồi quy logistic đa biến cho thấy nguy cơ cao mắc ĐTD tốp 2 có liên quan có ý nghĩa thống kê với tăng cholesterol máu (OR = 4,40, 95%CI: 1,62 - 11,94, $p < 0,05$).

BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, giá trị trung bình của cholesterol, triglycerid, LDL-C, HDL-C lần lượt là $5,0 \pm 0,8$ mmol/L; $2,1 \pm 1,9$ mmol/L; $3,3 \pm 0,6$ mmol/L; $1,2 \pm 0,3$ mmol/L. Tỷ lệ tăng cholesterol, triglycerid, LDL-C lần lượt là 37,6%; 44,4%; 93,2%. Tác giả Phạm Trường Sơn và CS (2022) nghiên cứu bộ đội Hải quân cho thấy chỉ số trung bình cholesterol, triglycerid, LDL-C, HDL-C lần lượt là $4,86 \pm 0,8$ mmol/L; $1,56 \pm 1,02$ mmol/L; $2,84 \pm 0,56$ mmol/L; $1,56 \pm 0,3$ mmol/L [4]. Trương Hồng Sơn và CS (2022) cho thấy chỉ số trung bình cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglycerid lần lượt là $5,4 \pm 1,1$ mmol/L; $3,8 \pm 1,3$ mmol/L; $1,1 \pm 0,4$ mmol/L; $2,5 \pm 1,9$ mmol/L [5]. Kết quả trong các nghiên cứu khác nhau có thể do độ tuổi đối tượng nghiên cứu khác nhau; trong khi đó, tuổi là một yếu tố nguy cơ cao làm gia tăng tỷ lệ rối loạn chuyển hóa lipid máu, tỷ lệ này tăng dần theo độ tuổi. Đặc biệt, trong nghiên cứu này, tỷ lệ rối loạn LDL-C là 93,2% đây là yếu tố liên quan trực tiếp đến cả nguy cơ bệnh lý tim mạch kèm theo. Vì vậy, cần có biện pháp tư vấn, điều trị sớm tình trạng rối loạn lipid máu cho cán bộ, nhân viên.

Kết quả nghiên cứu cho thấy điểm trung bình theo thang điểm ADA ở đối tượng nghiên cứu là $2,75 \pm 1,32$, điểm của nam giới cao hơn nữ giới có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); tỷ lệ nguy cơ ĐTĐ cao ở nam là 11,5%, nữ là 4,5%, chung là 9,6%, không có sự khác biệt giữa nam và nữ. Một số tác giả nghiên cứu nguy cơ mắc ĐTĐ theo thang điểm FINDRISC cho kết quả khác nhau: Tác giả Đỗ Ích Thành và CS (2017) nghiên cứu trên 1.000 người dân tuổi ≥ 45 được chọn ngẫu nhiên tại thành phố Đà Nẵng, sử dụng thang điểm FINDRISC có điều chỉnh BMI và vòng bụng để dự báo ĐTĐ trong 10 năm. Kết quả phân loại nguy cơ theo thang điểm FINDRISC cho thấy 16,7% số đối tượng có nguy cơ trung bình đến rất cao đối với ĐTĐ tít 2; Dự báo đến năm 2026 tỷ lệ mắc bệnh ĐTĐ tít 2 sẽ tăng thêm 6,0% (4,2% ở nam giới, 6,4% ở nữ giới). Kết quả nghiên cứu cho thấy sự gia tăng nhanh về tỷ lệ ĐTĐ trong 10 năm tới [2]. Đoàn Phước Thuộc (2022) khi nghiên cứu một số yếu tố nguy cơ ĐTĐ tít 2 của người dân Huế đã sử dụng thang điểm FINDRISC đã điều chỉnh BMI, vòng bụng phù hợp với người châu Á để dự báo nguy cơ mắc ĐTĐ trong vòng 10 năm của người dân Huế là 4,24% [3]. Như vậy, theo thang điểm ADA cho thấy việc khảo sát tỷ lệ nguy cơ cao bị ĐTĐ ở thời điểm hiện tại cao hơn so với thang

điểm FINDRISC đánh giá trong 10 năm tới. Mặc dù vậy, tỷ lệ này cũng gần sát với tỷ lệ ĐTD týp 2 hiện tại đang dao động quanh mức 7% tại Việt Nam. Với đối tượng người bị rối loạn lipid máu làm tăng nguy cơ đề kháng insulin, làm tăng nguy cơ bị ĐTD, do vậy tỷ lệ nguy cơ mắc ĐTD tăng cao hơn so với các nghiên cứu khảo sát bằng thang điểm FINDRISC trên đối tượng không có rối loạn lipid máu.

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy chỉ số cholesterol, LDL-C, triglycerid càng cao thì mức độ nguy cơ ĐTD càng cao theo thang điểm ADA ($p < 0,05$); có sự tương quan thuận chỉ số cholesterol, triglycerid, LDL-C với điểm ADA risk test có ý nghĩa thống kê. Rối loạn lipid máu cũng là yếu tố dự báo nguy cơ ĐTD 10 năm tới, làm tăng nguy cơ ĐTD 10 năm tới gấp 4,73 lần (1,12 - 19,89) so với người không mắc rối loạn lipid máu. Khảo sát sức khỏe và dinh dưỡng quốc gia Trung Quốc 2010 - 2012 cho thấy tỷ lệ mắc rối loạn lipid máu là 39,9%, 46,8% và 59,3% ở những người tham gia có đường huyết bình thường, tiền tiểu đường và bệnh ĐTD týp 2 [9]. Nghiên cứu đánh giá mối quan hệ giữa bệnh ĐTD và sự gia tăng nồng độ chất béo trung tính trong giới hạn bình thường. Kết quả của họ cho thấy rằng sự gia

tăng liên tục nồng độ triglycerid tăng, ngay cả trong phạm vi bình thường được chấp nhận, có thể gây ra nguy cơ tích lũy cho sự phát triển của bệnh ĐTD và rối loạn đường huyết lúc đói [8]. Rối loạn lipid máu xuất hiện ngay từ khi mới chỉ có rối loạn dung nạp glucose. Do không có dấu hiệu, triệu chứng nên người bệnh không biết mình mắc bệnh để đề phòng, do đó khó khăn dự phòng vì nguy cơ tim mạch và bệnh ĐTD týp 2. Vì vậy, việc kiểm soát rối loạn lipid máu có vai trò rất quan trọng trong việc dự phòng nguy cơ mắc ĐTD trong thời điểm gần của người bệnh.

KẾT LUẬN

Điểm nguy cơ ĐTD theo thang điểm ADA ở đối tượng nghiên cứu là $2,75 \pm 1,32$ điểm, điểm nguy cơ ở nam cao hơn nữ có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tỷ lệ nguy cơ cao bị ĐTD ở nam là 11,5%, nữ là 4,5%, tỷ lệ chung là 9,6%.

Có mối tương quan thuận, mức độ vừa giữa cholesterol, triglycerid, LDL-C với điểm nguy cơ ADA có ý nghĩa thống kê (hệ số tương quan lần lượt là: $r = 0,351$, $r = 0,325$ và $r = 0,412$, $p < 0,001$).

Mô hình hồi quy logistic đa biến cho thấy nguy cơ cao mắc ĐTD týp 2 có liên quan có ý nghĩa thống kê với tăng cholesterol máu (OR = 4,40, 95%CI: 1,62 - 11,94, $p < 0,05$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế. Quyết định 3879 /QĐ-BYT ban hành ngày 30/9/2014 về Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh nội tiết - chuyển hóa, chủ biên, Nguyễn Thị Xuyên. Hà Nội. 2014:174-264.
2. Đỗ Ích Thành và CS. Dự báo nguy cơ mắc bệnh đái tháo đường týp 2 theo thang điểm Findrisc ở người dân tại thành phố Đà Nẵng. *Tạp chí Y học Dự phòng*. 2017; 8(27):137.
3. Đoàn Phước Thuộc, Nguyễn Thị Hường, Phan Thị Thùy Linh và CS. Các yếu tố liên quan đến dự báo nguy cơ mắc bệnh đái tháo đường týp 2 trong 10 năm tới theo thang điểm FINDRISC ở người dân tỉnh Thừa Thiên Huế. *Journal of Medicine and Pharmacy*. 2022:84-92.
4. Phạm Trường Sơn, Dương Văn Thiện, Lương Công Thức. Đánh giá mối liên quan giữa rối loạn lipid máu với một số yếu tố nguy cơ môi trường làm việc ở bộ đội tàu ngầm. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 2022; 513(2).
5. Trương Hồng Sơn, Lưu Liên Hương, Lê Việt Anh và CS. Thực trạng rối loạn cholesterol máu ở người trưởng thành thừa cân béo phì độ tuổi từ 40 đến 60 tuổi. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 2022; 516(1).
6. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2022 abridged for primary care providers. *Clinical Diabetes*. 2022; 40(1):10-38.
7. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 10th edition. *International Diabetes Federation, Brussels, Belgium*. 2021:1-141.
8. J Lindström, J Tuomilehto. The diabetes risk score: A practical tool to predict type 2 diabetes risk. *Diabetes Care*. 2003;26(3):725-731.
9. SM Grundy, JI Cleeman, SR Daniels, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005; 112(17):2735-2752.
10. Yasmin Akhtar, MudassirA Khan, MuhammadS Khan, MuhammadK Malik, Gulalai Rehman & Seemin Kashif. Relationship of serum adiponectin levels with lipid profile in diabetic and non-diabetic pregnant women. *Nigerian Journal of Basic and Clinical Sciences*. 2023; 20(1):46.

**BÁO CÁO CA LÂM SÀNG: TỔN THƯƠNG TỦY SỐNG BÁN CẤP
VÀ THẦN KINH NGOẠI VI DO LẠM DỤNG KHÍ CƯỜI**

*Nguyễn Văn Đức¹, Trần Thị Ngọc Trường¹
Nhữ Đình Sơn¹, Nguyễn Đức Thuận^{1*}*

Tóm tắt

Khí cười (Nitrous oxide - N₂O) là loại khí không màu có mùi hương, gây hưng phấn thần kinh, tạo cảm giác muốn cười khi hít vào nên được gọi là khí cười. Vì vậy, khí cười hiện đang được giới trẻ ở Việt Nam lạm dụng qua hình thức bóng cười hoặc bình khí cười. Ngoài đặc điểm gây hưng phấn thần kinh, khí cười còn gây nên nhiều biến chứng khi lạm dụng, trong đó, biến chứng về thần kinh như tổn thương tủy sống bán cấp, bệnh lý thần kinh ngoại biên đã được báo cáo trong nước và trên thế giới. Trường hợp ca bệnh của chúng tôi là bệnh nhân (BN) nam 25 tuổi, vào viện vì có liệt, tê bì và thất điều tứ chi kèm theo sốt, có tổn thương tủy cổ kéo dài. Sau khi được bổ sung thông tin về việc sử dụng khí cười kéo dài (3 tháng) và kết hợp tiến hành thêm một số xét nghiệm cần thiết, BN được điều trị bằng bổ sung vitamin B12, phục hồi chức năng và được xuất viện sau 2 tuần điều trị với tình trạng bệnh hồi phục tốt.

Từ khóa: Khí cười; N₂O; Tổn thương tủy sống bán cấp; Tổn thương thần kinh ngoại vi.

**A CLINICAL CASE REPORT: SUBACUTE INJURY OF SPINAL CORD
AND PERIPHERAL NERVE DUE TO LAUGHING GAS ABUSE**

Abstract

Laughing gas (Nitrous oxide - N₂O) is a colorless gas with an odor that causes nervous excitement and creates a feeling of laughter when inhaled, so it is called laughing gas. Therefore, in recent years, laughing gas has been abused by young people in Vietnam in the form of laughing balls or laughing gas cylinders.

¹Khoa thần kinh, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Đức Thuận (thuanneuro82@gmail.com)

Ngày nhận bài: 01/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 25/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.641>

In addition to causing nervous excitement, laughing gas also causes many complications when being abused, of which neurological complications such as subacute spinal cord injury and peripheral neuropathy have been reported domestically and worldwide. Our case is a 25-year-old male patient with a medical history of laughing gas abuse, with symptoms of fever, numbness, limb weakness, limb ataxia, and long cervical spinal lesion. After supplementing with information about the long-term use of laughing gas (3 months), and conducting several experiments, the patient was treated with vitamin B12 supplementation and rehabilitation and was discharged from the hospital after 2 weeks of treatment with good recovery.

Keywords: Laughing gas; N_2O ; Subacute spinal cord injury; Peripheral nerve damage.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nitrous oxide còn gọi là khí gây cười, khí vui hay bóng cười, là hợp chất hóa học ở điều kiện bình thường có dạng khí trong khí quyển Trái Đất, bao gồm 2 nguyên tử nitơ kết hợp với 1 nguyên tử oxy, công thức là N_2O . Nó là một khí không màu, không cháy và có mùi hương. N_2O có nhiều ứng dụng trong các ngành công nghiệp và y tế. Trong y tế, N_2O là một loại khí có chức năng giảm đau và gây mê. N_2O tác động lên các tế bào GABA (Gamma Aminobutyric Acid) có chức năng kìm hãm những tế bào thần kinh gây buồn ngủ. Trong thời gian đó, chất khí này cũng đồng thời can thiệp vào quá trình sản sinh ra các tế bào kết nối thần kinh nội sinh như opioid peptide và serotonin - một loại hormone có khả năng tạo ra cảm giác hưng phấn và hạnh phúc. Chính việc giải phóng các tế bào kết nối thần kinh

nội sinh đã kìm hãm sự phát ra cảm giác đau trong não và kích hoạt khả năng giảm đau. Tuy nhiên, việc lạm dụng N_2O có thể gây độc tính cấp tính như hạ huyết áp, tổn thương phổi, ngưng thở và bất kỳ tổn thương nào khác nếu dùng liều lượng lớn dù trong thời gian ngắn. Độc tính mạn tính của N_2O là thiếu máu hồng cầu khổng lồ, hội chứng tâm thần và tổn thương thần kinh, bao gồm thoái hóa kết hợp bán cấp, bệnh lý thần kinh tủy, bệnh lý tủy và bệnh lý thần kinh ngoại biên [1]. Đến nay, cơ chế gây ngộ độc N_2O vẫn chưa được làm sáng tỏ và thiếu vitamin B12 là cơ chế được nghiên cứu rộng rãi nhất [2]. Vitamin B12 là một đồng yếu tố quan trọng của methionine synthetase và methylmalonyl coenzyme A mutase và sự thiếu hụt của nó có thể dẫn đến giảm methionine, tetrahydrofolate và S-adenosylmethionine, đồng thời tăng homocysteine, 5-methyltetrahydrofolate và acid methylmalonic, dẫn đến mất

myelin và tổn thương thần kinh [1, 3]. Trong bài này, chúng tôi trình bày trường hợp của một nam BN 25 tuổi lạm dụng N₂O (3 tháng liên tục) có tổn thương tủy cổ bán cấp và tổn thương thần kinh ngoại vi.

BÁO CÁO CA BỆNH

Bệnh sử: BN nam 25 tuổi, tiền sử khoẻ mạnh, khởi phát bệnh trước khi vào viện 10 ngày (vào viện ngày 10/11/2023) với biểu hiện sốt nóng, dao động 38 - 38,5°C, không rét run, kèm đau họng, ho khạc đờm ít, không tiêu chảy. Sau 5 ngày hết sốt, đồng thời có biểu hiện tê bì bàn ngón tay hai bên tăng dần, lan dần lên cánh tay hai bên, yếu hai tay, cầm nắm khó khăn. Sau 2 ngày xuất hiện thêm cảm giác tê và yếu toàn bộ hai chân, đi đứng khó khăn, kèm cảm giác đau tức nặng vùng ngực, đại tiểu tiện bình thường.

Khám lâm sàng: Khám ngày thứ 10 của bệnh ghi nhận BN tỉnh, tiếp xúc tốt, không sốt, sức cơ tứ chi 4+/5, thất điều cảm giác, rối loạn thăng bằng, giảm cảm giác nông tứ chi và thân mình ngang mức C3 trở xuống, ấn gai sau C6, C7 đau, dấu hiệu Lhermitte dương tính, mất phản xạ gân xương hai tay, mất phản xạ da bụng; phản xạ gân gối hai bên nhạy, phản xạ gân gót hai bên bình thường, phản xạ bệnh lý bó thấp âm tính, không rối loạn cơ tròn, 12 đôi dây thần kinh sọ não không phát hiện tổn thương.

Cận lâm sàng: Chụp MRI cột sống cổ (ngày 12/11/2023) xung T2 trên mặt phẳng Sagital cho thấy tổn thương tăng tín hiệu ưu thế vùng cột sau (Bó Goll và bó Burdach) của tủy kéo dài từ C2 - C6, trên mặt phẳng Axial cho thấy hình ảnh tổn thương tăng tín hiệu cột sau tủy sống hình chữ “V” ngược; xét nghiệm dịch não tủy (ngày 12/11/2023) có màu sắc trong, số lượng tế bào là 8 tế bào/mm³, glucose 3,04 mmol/L, protein 0,5 g/L; xét nghiệm máu (ngày 12/11/2023): CRP 7,88 mg/L, bạch cầu 8,2 G/L, (Neut 68,95%), test nhanh HIV âm tính. BN được làm thêm xét nghiệm kháng thể kháng Aquaporin 4 (AQP4), dải đơn dòng (Oligoclonal band). Trong thời gian chờ kết quả xét nghiệm, BN được điều trị phác đồ Corticoid liều xung: Methyl prednisolon 1.000 mg/ngày, trong 5 ngày liên tục. Sau 5 ngày điều trị, các triệu chứng không cải thiện, kết quả xét nghiệm AQP4, Oligoclonal band đều âm tính. Khai thác lại bệnh sử, BN cho biết có lạm dụng việc sử dụng khí cười (N₂O) 3 tháng trước khi khởi phát bệnh, BN sử dụng hàng ngày, mỗi ngày dùng 1 bình tương đương 10 - 15 quả bóng cười, BN ngừng sử dụng sau khi khởi phát bệnh. Ngày 17/11/2023 BN được làm thêm các xét nghiệm với kết quả: Vitamin B12 99 pg/mL giảm thấp, đo dẫn truyền thần kinh ngoại vi ghi nhận mất dẫn truyền cảm giác (SNAP) dây thần kinh bắp chân phải, giảm biên độ SNAP dây thần kinh bắp

chân trái, dây thần kinh trụ phải, giảm biên độ vận động (CMAP) dây thần kinh mác hai bên. Tổng hợp lâm sàng và các xét nghiệm BN được chẩn đoán tổn thương tủy cổ bán cấp, tổn thương hệ thần kinh ngoại vi do nhiễm độc khí N₂O. BN được điều trị bổ sung vitamin B12 theo phác đồ Methylcobalamin 1.000ug tiêm bắp sâu hàng ngày từ ngày 17/11/2023. Sau 10 ngày điều trị, các triệu chứng lâm sàng cải thiện tốt, BN giảm nhiều tê bì tứ chi và thân

mình, triệu chứng thất điều cải thiện nhiều (đi lại vững). BN có thể tự đi lại sinh hoạt. Bản đồ dẫn truyền thần kinh ngoại vi ngày 28/11/2023 thể hiện sự hồi phục biên độ SNAP của các dây thần kinh cảm giác, hồi phục biên độ CMAP dây mác hai bên (Bảng 1, 2). BN được ra viện ngày 01/12/2023 sau 3 tuần điều trị. Sau khi xuất viện 2 tuần BN tự đi lại tốt, không mất thăng bằng, cảm giác tê bì đỡ nhiều, còn tê bì ít vùng cẳng chân hai bên.

Bảng 1. Kết quả dẫn truyền cảm giác trước và sau điều trị.

Dây thần kinh	16/11/2023			28/11/2023		
	Thời gian tiềm (ms)	Biên độ (µV)	Tốc độ (m/s)	Peak Lat (ms)	Biên độ (µV)	Tốc độ (m/s)
Dây giữa P	3,3	26,2	52	3,54	26,6	49
Dây giữa T	3,75	25,6	42	3,75	32,0	43
Dây trụ P	3,07	1,9	41	3,33	23,4	44
Dây trụ T	3,23	17,5	45	3,23	28,9	45
Dây bắp chân P	-	-	-	3,59	13,6	52
Dây bắp chân T	2,92	12,8	69	2,66	24,4	79

Bảng 2. Kết quả dẫn truyền vận động trước và sau điều trị.

Dây thần kinh	16/11/2023				28/11/2023			
	Thời gian tiềm (ms)	Biên độ (mV)	Thời khoảng (ms)	Tốc độ (m/s)	Thời gian tiềm (ms)	Biên độ (mV)	Thời khoảng (ms)	Tốc độ (m/s)
Dây mác P	3,91	0,2	7,08	40	4,53	4,1	5,68	41
Dây mác T	3,70	3,8	6,15	36	4,43	4,2	5,52	39

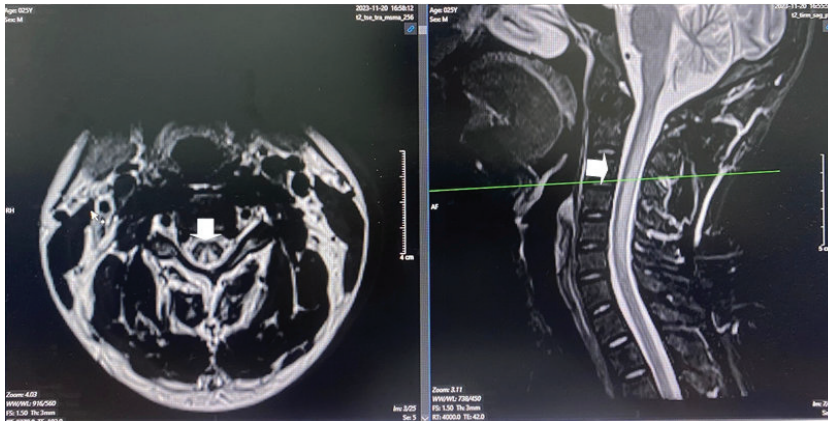
Kết quả sóng F trước và sau điều trị: Tại thời điểm trước điều trị bằng vitamin B12 thấy chỉ số thời gian tiềm nhỏ nhất sóng F tại dây thần kinh mác trái là 37,1ms; của sóng M là 4,2ms (hiệu thời gian tiềm giữa hai sóng là 32,9ms), ở dây

thần kinh mạc phải không thấy sóng F. Sau 2 tuần điều trị ở dây thần kinh mạc trái các chỉ số ấy lần lượt là 29ms, 4,4ms và 24,6ms (giảm đi rõ rệt so trước điều trị), ở dây thần kinh mạc phải sóng F đã thấy xuất hiện với các chỉ số là 49,9ms, 3,9ms và 45,9ms.

BÀN LUẬN

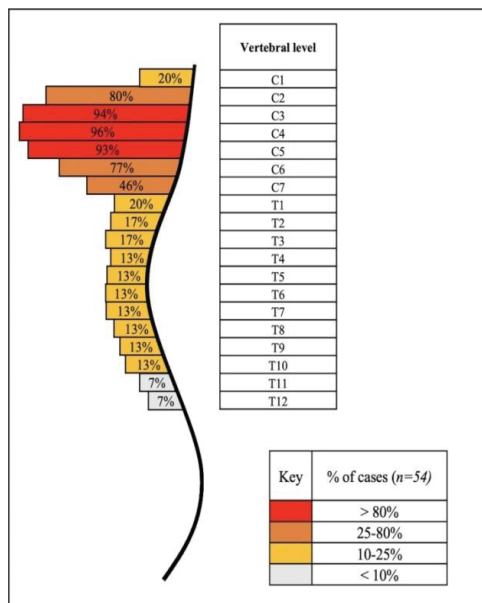
Trường hợp ca bệnh của chúng tôi khởi phát với triệu chứng sốt, tê bì, liệt tứ chi kèm theo triệu chứng thất điều, không có tổn thương thần kinh sọ não, hình ảnh MRI tủy cổ xung T2 trên mặt phẳng Sagital cho thấy tổn thương tăng tín hiệu ưu thế vùng cột sau (bó Goll và bó Burdach) của tủy kéo dài từ C2 - C6 tình trạng này thường được định hướng đầu tiên trên lâm sàng là do nhóm bệnh viêm tủy qua trung gian miễn dịch bao gồm nhóm bệnh rối loạn phổ viêm tủy thị thần kinh (NMOSD), xơ não tủy rải rác (MS), tổn thương do nhiễm độc đồng hoặc tổn thương tủy theo chiều dọc kéo dài vô căn. Điều này đã giải thích cho các xét nghiệm chuyên sâu đã được thực hiện thêm bao gồm xét nghiệm AQP4, dải đơn dòng (Oligoclonal band) để tìm nguyên nhân. Trong khi đợi kết quả xét nghiệm này, chẩn đoán viêm tủy do căn nguyên miễn dịch đã được đưa ra và BN được điều trị với corticoid liều xung (1 g/ngày, 5 ngày liên tục). Tuy nhiên, BN không đáp ứng với điều trị nên nguyên nhân khác của viêm tủy đã được chúng tôi nghĩ tới. Khai thác kỹ lại tiền sử, BN cho biết có sử dụng N₂O 3 tháng liên tục cho tới khi bệnh

khởi phát với 10 - 15 quả bóng khí/ngày. Đồng thời, trên lâm sàng BN biểu hiện chủ yếu là giảm cảm giác nông, yếu nhẹ tứ chi đối xứng hai bên, thất điều đáng đi (đáng đi không phù hợp với sức cơ), bảng lâm sàng này phù hợp với một số báo cáo [2]. Về cận lâm sàng, phân tích kỹ lại hình ảnh MRI trên mặt phẳng Axial cho thấy hình ảnh tổn thương tăng tín hiệu cột sau tủy sống hình chữ “V” ngược (*Hình 1*), đây là điểm cần được chú ý vì nó khá đặc trưng cho tổn thương tủy do thiếu hụt vitamin B12 (*Hình 1*) [6]. Tất cả những dữ liệu đó cho thấy tổn thương tủy do thiếu vitamin B12 (giảm do dùng khí cười) là phù hợp nhất. Vì vậy, chúng tôi cho làm xét nghiệm vitamin B12 máu, kết quả định lượng vitamin B12 là 99 pg/mL giảm thấp. Tiếp đó, xét nghiệm đo dẫn truyền thần kinh ngoại vi ghi nhận tổn thương sợi trục và myelin hỗn hợp, ưu thế sợi trục và ưu thế hai chi dưới cùng cổ thêm cho chẩn đoán trên. Điềm lại y văn về tổn thương tủy sống và thần kinh ngoại vi do thiếu vitamin B12 ở BN sử dụng khí cười lâu dài, chúng tôi thấy kết quả phù hợp với một số báo cáo và phân tích tổng hợp trước đó [4, 5, 6] (*Hình 2*).



Hình 1. Hình ảnh tổn thương tủy cổ trên MRI.

Trên xung T2, mặt phẳng Axial MRI cột sống cổ có hình ảnh tổn thương dạng chữ “V” ngược (mũi tên), tương ứng với tổn thương tủy cổ trên xung T2 mặt phẳng Sagittal từ C2 - C6.



Hình 2. Sự phân bố các đoạn tủy sống bị ảnh hưởng trong trường hợp tổn thương do N₂O, hay gặp nhất là ở tủy cổ, C2 (80%), C3 (94%), C4 (96%), C5 (93%), C6 (77%).

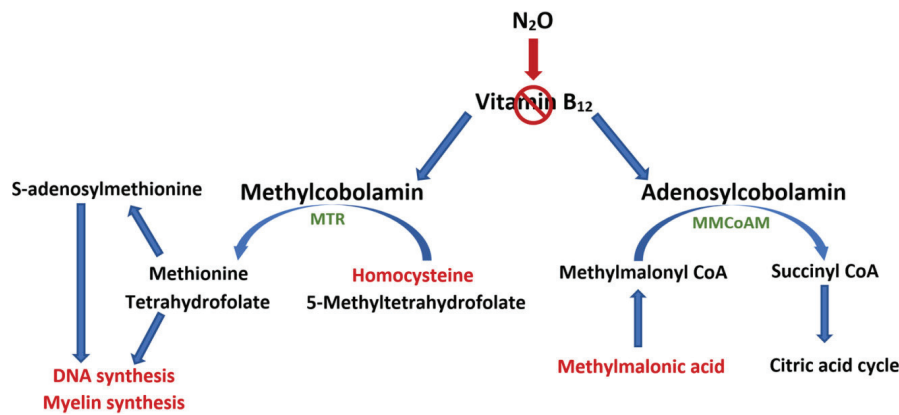
Ở BN, vị trí tổn thương cũng phù hợp như trên, với tổn thương chủ yếu từ C2 - C6 trên phim MRI sagittal (Hình 1) [6].

Các triệu chứng tổn thương thần kinh do sử dụng N₂O xảy ra rất thường xuyên, Oussalah và CS báo cáo sự hiện diện của ít nhất một triệu chứng thần kinh ở 96% BN đã sử dụng N₂O để giải trí [7]. Xác suất phát triển các triệu chứng thần kinh tỷ lệ thuận với lượng N₂O tiêu thụ và tỷ lệ nghịch với độ tuổi tại thời điểm tiêu thụ [8]. Thiếu hụt vitamin B12 do N₂O gây tổn thương và giảm tổng hợp myelin do vitamin B12 đóng một vai trò quan trọng trong quá trình tổng hợp DNA và chuyển hóa acid béo chuỗi lẻ, cần thiết để duy trì tính toàn vẹn của myelin thần kinh. Nó hoạt động như một đồng yếu tố cho các enzyme sau (Hình 3) [3]:

Homocysteine methyltransferase: Enzyme này thực hiện quá trình chuyển đổi homocysteine thành methionine. Methionine là tiền chất của S-adenosyl methionine, là chất cho methyl và cần thiết để duy trì tính toàn vẹn của vỏ tế bào thần kinh. Sự thiếu hụt vitamin B12

sẽ làm gián đoạn phản ứng này, dẫn đến giảm sự hình thành S-adenosyl methionine. Điều này làm suy yếu quá trình methyl hóa protein và lipid cơ bản của myelin, dẫn đến tổn thương vỏ myelin. Homocysteinemethyltransferase cũng xúc tác quá trình chuyển đổi 5-methyl-tetrahydrofolate thành tetrahydrofolate, hoạt động như một chất cho một carbon để tổng hợp DNA. Sự thiếu hụt vitamin B12 khiến folate bị giữ lại ở dạng 5-methyl-tetrahydrofolate bị methyl hóa.

Methylmalonyl-CoA mutase: Enzyme này chịu trách nhiệm chuyển đổi methylmalonyl-CoA thành succinyl-CoA, cần thiết cho quá trình tổng hợp myelin. Sự gián đoạn của bước này dẫn đến sự tích tụ methylmalonyl-CoA và propionyl-CoA. Điều này làm gián đoạn quá trình tổng hợp myelin bình thường và dẫn đến sự tích tụ các acid béo bất thường.



Hình 3. Sơ đồ chuyển hóa và hoạt động của vitamin B12 [3].

Phát hiện kịp thời tổn thương tủy sống do N₂O là rất quan trọng vì nó quyết định tới sự hồi phục của BN khi được điều trị hợp lý bằng bổ sung vitamin B12. Ở BN này, chúng tôi đã dựa vào hình ảnh tổn thương tủy sống khá “đặc trưng” do thiếu hụt vitamin B12 là tổn thương cột sau dạng chữ “V” ngược, sau đó khai thác tìm hiểu lại thông tin về việc sử dụng chất kích thích (bóng cười) thường thấy ở đối tượng trẻ tuổi. BN đã được hồi phục tốt trên lâm sàng và cận lâm sàng chứng tỏ việc phát hiện kịp thời, chẩn đoán và điều trị thành công, mang lại chất lượng cuộc sống tốt cho người bệnh.

KẾT LUẬN

N₂O là một chất đang được sử dụng rộng rãi trong cộng đồng, nhất là ở những người trẻ, nó có thể gây ra tổn thương hệ thần kinh trung ương và ngoại vi thông qua làm giảm vitamin B12, một chất quan trọng cho sự toàn vẹn của sự dẫn truyền thần kinh. Tổn thương tủy sống ở cột sau dạng chữ “V” ngược là đặc điểm đặc trưng nên được chú ý khi phân tích hình ảnh chụp cộng hưởng từ. Chẩn đoán sớm và điều trị kịp thời bằng vitamin B12

sẽ mang tới cơ hội hồi phục tốt cho người bệnh.

Đạo đức nghiên cứu: BN đồng ý để nhóm nghiên cứu sử dụng thông tin cá nhân dưới dạng mã hoá và được bảo đảm bí mật. Các tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dong MX, Wang Q, Xu JF, Hu L, Yu Y, Li T. Case report: Recreational nitrous oxide abuse triggered peripheral neuropathy possibly through the immune-mediated pathogenesis. *Front Neurol*. 2022 Nov 14;13:1033327.
2. Senol MG, Sonmez G, Ozdag F, Saracoglu M. Reversible myelopathy with vitamin B12 deficiency. *Singapore Med J*. 2008 Nov; 49(11):e330-2. PMID: 19037544.
3. Parein G, Bollens B. Nitrous oxide-induced polyneuropathy, pancytopenia and pulmonary embolism: A case report. *J Med Case Reports* 17, 350 (2023).
4. Fang X, Yu M, Zheng D, Gao H, Li W, Ma Y. Electrophysiologic Characteristics of Nitrous-Oxide-Associated Peripheral Neuropathy: A retrospective study of 76 patients. *J Clin Neurol*. 2023 Jan; 19(1):44-51.

5. Vael L, Phyllis VW, Özsarlak Ö. MRI of Nitrous oxide-related subacute cervical myelopathy. *J Belg Soc Radiol*. 2021 Apr 8; 105(1):22
6. Mair D, Paris A, Zaloum SA, et al Nitrous oxide-induced myeloneuropathy: A case series *Journal of Neurology. Neurosurgery & Psychiatry*. 2023; 94:681-688.
7. Oussalah A, Julien M, Levy J, Hajjar O, Franczak C, Stephan C, et al. Global burden related to nitrous oxide exposure in medical and recreational settings: A systematic review and individual patient data meta-analysis. *JCM*. 2019; 8(4):551.
8. Winstock AR, Ferris JA. Nitrous oxide causes peripheral neuropathy in a dose dependent manner among recreational users. *J Psychopharmacol*. 2020; 34(2):229-236.

ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG Ở BỆNH NHÂN NHỒI MÁU CƠ TIM CẤP CÓ ST CHÊNH LÊN NHẬP VIỆN MUỘN

Nguyễn Duy Toàn^{1*}, Nguyễn Hồng Nguyên¹, Lương Công Thức¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Khảo sát đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân (BN) nhồi máu cơ tim (NMCT) cấp có ST chênh lên nhập viện muộn. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu tiền cứu mô tả, cắt ngang, có đối chứng trên 44 BN NMCT cấp có ST chênh lên nhập viện muộn được chẩn đoán xác định và can thiệp động mạch vành (ĐMV) qua da tại Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 10/2019 - 7/2020. **Kết quả:** Tuổi trung bình $64,6 \pm 12,6$, tỷ lệ nam giới 79,5%, BN được vận chuyển bằng xe cứu thương 40,9%. Các yếu tố nguy cơ của NMCT như hút thuốc (68,2%), tăng huyết áp (36,4%). Triệu chứng đau ngực 100%; trong đó, 25,0% đau ngực không điển hình. Tổn thương thường gặp trên điện tâm đồ là NMCT thành trước 52,3% và sau dưới 43,2%. Tỷ lệ BN được vận chuyển bằng xe cứu thương thấp hơn so với nhóm nhập viện sớm (40,9%, 95,7%, $p < 0,05$). BN đau thắt ngực không điển hình nhiều hơn (25,0%; 2,1% $p < 0,05$); nồng độ Troponins và NT-proBNP cao hơn ($p < 0,05$). **Kết luận:** Các BN đều có yếu tố nguy cơ, đặc biệt là hút thuốc, tăng huyết áp; 40,9% BN được vận chuyển bằng xe cứu thương. Tất cả BN khởi phát có đau ngực, trong đó, 25,0% đau ngực không điển hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở hình thức vận chuyển, đau thắt ngực không điển hình, nồng độ Troponins và NT-proBNP cao hơn.

Từ khóa: NMCT cấp có ST chênh lên; Nhồi máu cơ tim nhập viện muộn; Hội chứng mạch vành cấp.

STUDY ON CLINICAL, PARACLINICAL CHARACTERISTICS IN PATIENTS WITH LATE ST-ELEVATION ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

Abstract

Objectives: To evaluate clinical, paraclinical characteristics in patients with late ST-elevation myocardial infarction (STEMI). **Methods:** A prospective, descriptive,

¹Bộ môn - Trung tâm Tim mạch, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Duy Toàn (ndtoan.hvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 01/02/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 02/3/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.750>

cross-sectional, controlled study in STEMI patients with a confirmed diagnosis and percutaneous coronary angiography at Military Hospital 103 and Bach Mai Hospital from October 2019 to July 2020. **Results:** The mean age was 64.6 years. Males accounted for 79.5%. 40.9% of patients were transported by ambulance. Frequent risk factors for myocardial infarction (MI) were smoking (68.2%) and hypertension (36.4%). 100% of the symptoms were chest pain, with 25.0% being identified as atypical chest pain. The common lesions on the ECG include anterior wall MI (52.3%) and posterior wall MI (less than 43.2%). The proportion of patients in the late-arriving group transported by ambulance was lower than that in the early-arriving group (37.9%, 95.7%, $p < 0.05$). Atypical angina was more common (20.7%; 2.1% $p < 0.05$); Troponins and NT-proBNP concentrations were higher ($p < 0.05$). Late and very late patients with indications for coronary artery intervention have a high rate of stable discharge from the hospital (96.6%; 93.3%). **Conclusion:** All patients have risk factors, particularly smoking and hypertension. 40.9% of patients were transported by ambulance. All patients experienced chest pain at the beginning, with 25.0% reporting atypical chest pain. Statistically significant variations were seen in the form of transportation, the presence of atypical angina, and elevated levels of Troponins and NT-proBNP.

Keywords: ST-elevation acute myocardial infarction; Late presentation in acute myocardial infarction; Acute coronary syndrome.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhồi máu cơ tim cấp có ST chênh lên là cấp cứu nội khoa thường gặp trên lâm sàng [1]. Mặc dù, có những tiến bộ trong chẩn đoán và điều trị nhưng NMCT cấp thường diễn biến phức tạp, có nhiều biến chứng nguy hiểm đe dọa tính mạng, tỷ lệ tử vong còn cao, đặc biệt đối với những BN được tiếp cận và điều trị muộn. Theo khuyến cáo của Hội Tim mạch châu Âu năm 2017, điều trị can thiệp ĐMV thì đầu thường quy cho BN NMCT cấp nhập viện sớm trong vòng 12 giờ từ lúc

khởi phát triệu chứng [2]. Tuy nhiên, trên thực tế, đặc biệt ở Việt Nam, khi điều kiện vận chuyển BN còn nhiều khó khăn (phương tiện, đường xá giao thông), khoảng cách đến các trung tâm can thiệp xa, chuẩn bị về kinh tế, chi phí, thủ tục bảo hiểm còn phức tạp, cũng như nhận thức về bệnh của người dân chưa tốt nên còn nhiều BN NMCT cấp nhập viện muộn sau 12 giờ kể từ lúc khởi phát triệu chứng.

Trong hoàn cảnh nước ta hiện nay, không phải nơi nào cũng có đủ điều kiện và cơ sở vật chất để tiến hành

chụp ĐMV chọn lọc, nên việc chẩn đoán NMCT kịp thời có ý nghĩa quan trọng, ảnh hưởng đến tính mạng người bệnh. Tìm hiểu đặc điểm của BN NMCT cấp có ST chênh lên nhập viện muộn từ đó góp phần nâng cao chất lượng chăm sóc và điều trị BN. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Khảo sát đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở BN NMCT cấp có ST chênh lên nhập viện muộn.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

91 BN NMCT có ST chênh lên được chẩn đoán xác định và được chụp ĐMV qua da tại Trung tâm Tim mạch, Bệnh viện Quân y 103 và Viện Tim mạch Việt Nam, Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 10/2019 - 7/2020, trong đó, 44 BN NMCT có ST chênh lên nhập viện muộn và 47 BN NMCT cấp có ST chênh lên nhập viện sớm.

** Tiêu chuẩn lựa chọn:*

- BN được chẩn đoán NMCT cấp típ 1 dựa theo tiêu chuẩn của đồng thuận toàn cầu lần thứ 4 (2018) [3].

- BN được chẩn đoán NMCT cấp có ST chênh lên theo đồng thuận của ESC/ACCF/AHA/WHF (2012) [4].

- Phân loại NMCT cấp có ST chênh lên theo thời gian dựa vào khuyến cáo điều trị can thiệp ĐMV của Hội Tim

mạch châu Âu năm 2017 [2]: BN NMCT cấp đến ≤ 12 giờ (nhóm nhập viện sớm); đến > 12 giờ (nhóm nhập viện muộn).

** Tiêu chuẩn loại trừ:*

- BN NMCT cấp không có hình ảnh chụp ĐMV.

- BN dùng tiêu sợi huyết trước khi can thiệp ĐMV.

- BN đã được đặt máy tạo nhịp tim.

- BN thiếu dữ liệu nghiên cứu.

- Những BN không đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

** Một số tiêu chuẩn chẩn đoán trong nghiên cứu:*

- Chẩn đoán đái tháo đường (ĐTĐ) theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị đái tháo đường của Bộ Y tế.

- Chẩn đoán tăng huyết áp (THA) theo khuyến cáo chẩn đoán và điều trị tăng huyết áp của Hội Tim mạch học Việt Nam năm 2018.

- Chẩn đoán rối loạn lipid (RLLP) máu theo khuyến cáo của Hội Tim mạch học Việt Nam năm 2015.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả, cắt ngang, tiến cứu có đối chứng.

** Các bước tiến hành:*

BN được khám, xét nghiệm lâm sàng để chẩn đoán xác định, theo dõi, điều trị MNCT cấp theo mẫu thống

nhất, gồm trình độ học vấn, nghề nghiệp, tiền sử tim mạch, các yếu tố nguy cơ tim mạch, cấp cứu và vận chuyển từ tuyến trước, xét nghiệm, điện tâm đồ, siêu âm tim, chụp ĐMV qua da.

* *Xử lý số liệu:* Bảng phân mềm SPSS 26.0.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu không ảnh hưởng đến quá trình cấp cứu, điều trị và chăm sóc BN. Thông tin BN được bảo mật. Kết quả nghiên cứu có thể được sử dụng để nâng cao chất lượng điều trị cho BN. Chúng tôi cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung của các đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.

Đặc điểm nhân khẩu học		Nhóm nhập viện sớm (n = 47)		Nhóm nhập viện muộn (n = 44)		p
		n	%	n	%	
Tuổi (năm)	($\bar{X} \pm SD$)	66,7 $\pm$ 11,2		64,6 $\pm$ 12,6		> 0,05
Giới tính	Nam	39	82,9	35	79,5	> 0,05
	Nữ	8	17,1	9	20,5	
Trình độ tri thức	Phổ thông	20	42,6	25	56,8	> 0,05
	Trung cấp	17	36,2	9	20,5	
	Đại học	10	21,2	10	22,7	
Phương tiện vận chuyển	Xe cứu thương	45	95,7	18	40,9	< 0,05
	Phương tiện khác	2	4,3	26	59,1	
Các yếu tố nguy cơ mạch vành	ĐTĐ	7	14,9	9	20,5	> 0,05
	THA	24	51,1	16	36,4	> 0,05
	RLLP	16	34	10	22,7	> 0,05
	Hút thuốc	32	68,1	30	68,2	> 0,05
	Béo phì	4	8,5	7	15,9	> 0,05

91 BN đủ tiêu chuẩn để tham gia nghiên cứu; trong đó, 47 BN ở nhóm nhập viện sớm, 44 BN ở nhóm nhập viện muộn. Tuổi trung bình ở nhóm nhập viện muộn là 64,6 $\pm$ 12,6; tỷ lệ nam giới 79,5%, nữ giới 20,5%; hầu hết các BN đều

có yếu tố nguy cơ đặc biệt là hút thuốc, THA, RLLP máu. Sự khác biệt giữa hai nhóm nghiên cứu chưa có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Tỷ lệ BN được vận chuyển bằng xe cứu thương ở nhóm nhập viện muộn là 40,9%, thấp hơn ở nhóm nhập viện sớm là 95,7%, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 2. Đặc điểm các triệu chứng lâm sàng.

Triệu chứng		Nhóm nhập viện sớm (n = 47)		Nhóm nhập viện muộn (n = 44)		p
		n	%	n	%	
Đau thắt ngực	Điển hình	46	97,9	33	75,0	< 0,05
	Không điển hình	1	2,1	11	25,0	
Triệu chứng khác ngoài đau thắt ngực	Vã mồ hôi	24	51,1	25	56,8	> 0,05
	Khó thở	27	57,4	22	50,0	> 0,05
Thông số lúc nhập viện của BN giữa các nhóm	Nhịp tim (nhịp/phút)	84,5 ± 19,4		83,0 ± 24,5		> 0,05
	TS tim > 100 (nhịp/phút)	9	19,1	9	20,4	> 0,05
	TS tim < 60 (nhịp/phút)	3	6,4	8	18,2	> 0,05
	KILLIP III-IV	10	21,3	11	25,0	> 0,05
	Sốc tim	6	12,8	8	18,2	> 0,05
	Huyết áp tâm thu ≥ 140 (mmHg)	10	21,3	8	18,2	> 0,05
	Hhuyết áp tâm thu < 90 (mmHg)	6	12,8	8	18,2	> 0,05
	Huyết áp tâm thu (mmHg)	124,2 ± 29,4		120,4 ± 27,2		> 0,05
Thang điểm nguy cơ TIMI	$\bar{X} \pm SD$	5,3 ± 2,9		5,3 ± 2,4		> 0,05
	Nguy cơ thấp	10	21,3	6	13,6	> 0,05
	Nguy cơ vừa	11	23,4	13	29,5	
	Nguy cơ cao	26	55,3	25	56,8	

Tỷ lệ đau thắt ngực không điển hình ở nhóm nhập viện muộn là 25,0%, cao hơn ở nhóm nhập viện sớm là 2,1%, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Các triệu

chứng khác ngoài đau ngực, thông số nhập viện ban đầu và thang điểm nguy cơ TIMI có sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm với $p > 0,05$.

2. Đặc điểm các chỉ số xét nghiệm máu

Bảng 3. Các thông số về kết quả xét nghiệm máu lúc nhập viện.

Xét nghiệm máu	Nhóm nhập viện sớm (n = 47)	Nhóm nhập viện muộn (n = 44)	p
Hồng cầu (T/L)	4,6 ± 0,5	4,6 ± 0,7	> 0,05
Bạch cầu (G/L)	14,1 ± 4,6	12,2 ± 3,2	> 0,05
Tiểu cầu (G/L)	264,7 ± 69,9	252,1 ± 80,0	> 0,05
Glucose (mmol/L)	9,5 ± 4,3	8,2 ± 4,0	> 0,05
Ure (mmol/L)	6,7 ± 2,7	7,6 ± 4,2	> 0,05
Creatinin (μmol/L)	92,4 ± 27,2	100,6 ± 65,5	> 0,05
Cholesterol (mmol/L)	4,9 ± 1,0	4,7 ± 1,1	> 0,05
Triglycerid (mmol/L)	1,8 ± 0,9	1,5 ± 0,7	> 0,05
HDL-C (mmol/L)	1,2 ± 0,3	1,4 ± 0,6	> 0,05
LDL-C (mmol/L)	3,0 ± 0,7	2,6 ± 0,9	> 0,05
K (mmol/L)	3,8 ± 0,6	3,9 ± 0,5	> 0,05
Troponin I (ng/L)	2163,4 ± 3322,8	3525,9 ± 3402,5	< 0,05
Trung vị	509,6	2139,0	
NT-proBNP (pmol/L)	495,5 ± 1506,3	774,9 ± 1172,1	< 0,05
Trung vị	79,9	418,4	

Nồng độ Troponin I ở nhóm nhập viện muộn cao hơn ở nhóm nhập viện sớm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. NT-proBNP ở nhóm nhập viện muộn cao hơn ở nhóm nhập viện sớm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Các xét nghiệm khác không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm.

3. Đặc điểm về điện tâm đồ**Bảng 4.** Đặc điểm về điện tâm đồ.

Đặc điểm về điện tâm đồ		Nhóm nhập viện sớm (n = 47)		Nhóm nhập viện muộn (n = 44)		p
		n	%	n	%	
Vị trí NMCT	Thành trước	27	57,4	23	52,3	> 0,05
	NMCT dưới	19	40,4	19	43,2	
	NMCT thất phải	1	2,2	2	4,5	
Đặc điểm sóng Q, đoạn ST	Sóng Q	36	76,6	25	56,8	> 0,05
	Độ chênh ST	3,9 ± 3,1		2,8 ± 2,1		> 0,05
Rối loạn nhịp	Ngoại tâm thu thất	4	8,5	1	2,3	> 0,05
	Rung nhĩ	2	4,3	3	6,8	> 0,05
	Nhanh thất, rung thất	1	2,1	0	0	
Rối loạn dẫn truyền	Block nhánh phải	4	8,5	4	9,1	> 0,05
	Block nhánh trái	2	4,3	1	2,3	> 0,05
	Block nhĩ thất độ 1	9	19,1	2	4,6	> 0,05
	Block nhĩ thất độ 3	1	2,2	5	11,3	> 0,05

Tổn thương thường gặp nhất trên điện tâm đồ là NMCT thành trước (52,3%) và sau dưới (43,2%), NMCT thất phải (6,9%); sự khác biệt so với nhóm nhập viện sớm chưa có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Các rối loạn nhịp và dẫn truyền hay gặp là block nhĩ thất độ 3 (11,3%), block nhánh phải (9,1%), rung nhĩ (6,8%). Sự khác biệt so với nhóm nhập viện sớm chưa có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

BÀN LUẬN

1. Tuổi, điều kiện vận chuyển BN

BN NMCT cấp có tuổi càng cao tiên lượng càng nặng, do BN tuổi cao thường có triệu chứng không điển hình, nhiều bệnh kết hợp, tổn thương nhiều nhánh ĐMV nên tỷ lệ tử vong cao. Tuổi trung bình của 44 BN NMCT trong nghiên cứu của chúng tôi là $64,6 \pm 12,6$, cao nhất là 90 tuổi, thấp nhất là 53 tuổi, sự khác biệt so với nhóm nhập viện sớm không có ý nghĩa thống kê.

Về sử dụng phương tiện cứu thương trong cấp cứu vận chuyển, tỷ lệ người bệnh được vận chuyển đến cơ sở y tế bằng xe cứu thương trong nghiên cứu của chúng tôi ở nhóm nhập viện muộn (40,9%), thấp hơn ở nhóm nhập viện sớm (95,7%), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Đây cũng là yếu tố ảnh hưởng đến thời gian đến bệnh viện muộn của BN, nguyên nhân là do ý thức chưa tốt về chăm sóc sức khỏe cũng như điều kiện kinh tế trong nước còn kém. Kết quả này tương tự ở nghiên cứu của McNair PW và CS là nhóm nhập viện muộn vận chuyển bằng xe cứu thương (45%), thấp hơn nhóm nhập viện sớm (67%), $p = 0,005$ [5].

2. Yếu tố nguy cơ

Tăng huyết áp, RLLP máu, hút thuốc là những yếu tố rất quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của bệnh mạch

vành, đặc biệt là NMCT. Trong nhóm nghiên cứu tỷ lệ các yếu tố nguy cơ hút thuốc (68,2%), THA (36,4%), RLLP máu (22,5%), điều này tương tự các nghiên cứu đã công bố [5, 6, 7, 8], tuy nhiên, tỷ lệ có khác nhau giữa các nghiên cứu có thể do sự khác nhau về cơ cấu bệnh theo thời gian, vùng miền và chủng tộc...

Ngoài ra, các yếu tố khác như bệnh nền ĐTĐ, tình trạng béo phì cũng chiếm tỷ lệ cao và là các yếu tố nguy cơ của NMCT.

3. Đặc điểm về triệu chứng lâm sàng

Đau thắt ngực không điển hình thường làm cho BN chủ quan, nhân viên y tế dễ bỏ sót chẩn đoán NMCT, dẫn đến BN thường đến viện muộn sau khi khởi phát triệu chứng. Việc chậm trễ làm cho khả năng được tái tưới máu cũng như điều trị gặp nhiều khó khăn. Trong nghiên cứu, nhóm BN nhập viện muộn có 25% BN có đau ngực không điển hình, cao hơn ở nhóm nhập viện sớm là 2,1% với $p < 0,05$. Kết quả này tương tự trong nghiên cứu của McNair PW [5].

Ở BN NMCT cấp, do thiếu máu cơ quan đích và kích thích hệ thần kinh giao cảm để làm tăng sức bóp cơ tim làm cho xuất hiện các triệu chứng như chóng mặt, khó thở, vã mồ hôi... Trong nghiên cứu của chúng tôi, ở nhóm nhập viện muộn có tỷ lệ vã mồ hôi 56,8%, khó thở là 48,27%. Không

có sự khác biệt so với nhóm nhập viện sớm có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Ở BN NMCT có ST chênh lên, thang điểm TIMI nhằm phân tầng nguy cơ cũng như tiên lượng khả năng tử vong trong vòng 30 ngày của BN dựa trên các đặc điểm về lâm sàng, điện tim và thời gian nhập viện. BN có thang điểm TIMI càng cao thì nguy cơ tử vong trong vòng 30 ngày càng cao. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nhóm BN nhập viện muộn có 56,8% có thang điểm TIMI ở mức nguy cơ cao (điểm TIMI score > 4), chưa có sự khác biệt so với nhóm nhập viện sớm với $p > 0,05$.

4. Nồng độ Troponin I và NT-proBNP

Nồng độ Troponin ở nhóm BN NMCT cấp nhập viện muộn là ($3525,9 \pm 3402,5$; trung vị 2139,0 ng/L) cao hơn ở nhóm đến viện sớm ($2163,4 \pm 3322,8$; trung vị 509,6 ng/mL) với $p < 0,05$. Nguyên nhân do Troponin là các men đặc hiệu cho cơ tim. Troponin bắt đầu tăng 3 - 12 giờ sau NMCT, đạt đỉnh 24 - 48 giờ và tăng kéo dài 10 ngày.

Nồng độ NT-proBNP ở nhóm nhập viện muộn là $774,9 \pm 1172,1$ pmol/L cao hơn ở nhóm nhập viện sớm là $495,5 \pm 1506,3$ pmol/L với $p < 0,05$. Việc tăng cao nồng độ NT-proBNP cho thấy tình trạng thành tim bị giãn, phì đại hoặc tăng áp lực lên thành tim (tình trạng suy tim nặng hơn). Các chỉ số xét

nghiệm về phức hợp mỡ máu, đường máu, chức năng thận (ure, creatinin), tế bào máu ngoại vi đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm nghiên cứu.

5. Đặc điểm về điện tâm đồ

Trong nhóm nhập viện muộn có 23 BN có tổn thương thành trước (52,3%), 19 BN có tổn thương thành sau dưới (43,2%) và 2 BN NMCT thất phải (6,9%). Kết quả này tương tự kết quả nghiên cứu của Đỗ Hồng Kiên lần lượt là tổn thương thành trước (55,4%), tổn thương thành sau dưới (40,5%), tổn thương thất phải (1,4%) [6]. Trong nhóm nhập viện sớm có vị trí tổn thương thành trước (57,4%), tổn thương sau dưới (40,4%). Không có sự khác biệt về vị trí tổn thương trên điện tâm đồ giữa hai nhóm có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Độ chênh ST trung bình ở nhóm nhập viện muộn là $2,8 \pm 2,1$, thấp hơn ở nhóm nhập viện sớm là $3,91 \pm 3,17$. Giảm độ chênh ST trên điện tâm đồ theo thời gian phù hợp với biến đổi điện tâm đồ trong NMCT cấp theo thời gian.

Ở nhóm nhập viện muộn thường xuất hiện các rối loạn nhịp và dẫn truyền như rung nhĩ (6,8%), block nhĩ thất độ 3 (11,3%), block nhánh phải (9,1%). Sự khác biệt này so với nhóm nhập viện sớm chưa có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

KẾT LUẬN

Các BN đều có yếu tố nguy cơ, đặc biệt là hút thuốc, THA, RLLP máu. Có 40,9% BN được vận chuyển bằng xe cứu thương đến bệnh viện. Tất cả BN khởi phát có triệu chứng đau ngực trong đó có 25,0% là đau ngực không điển hình. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở hình thức vận chuyển, đau thắt ngực không điển hình, nồng độ Troponins và NT-proBNP cao hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Lâm Việt. Nhồi máu cơ tim cấp. *Thực hành bệnh tim mạch*. 2015:20-50.
2. Cardiology. ESO, 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *European Heart Journal*. 2017; 00:1-66.
3. Kristian Thygesen, Joseph S Alpert, Allan S Jaffe et al. Fourth universal definition of myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018; 72(18): 2231-2264.
4. Kristian Thygesen, Joseph S Alpert, Allan S Jaffe et al.

ESC/ACCF/AHA/WHF expert consensus document. *Circulation*. 2012; 126(16): 2020-2035.

5. McNair PW, Bilchick KC, Keeley EC. Very late presentation in ST elevation myocardial infarction: Predictors and long-term mortality. *Int J Cardiol Heart Vasc.* 2019; 22:156-159.
6. Đỗ Hồng Kiên. Nghiên cứu đánh giá kết quả sớm của phương pháp can thiệp động mạch vành qua da trên bệnh nhân nhồi máu cơ tim cấp nhập viện muộn. Đại học Y Hà Nội. 2012.
7. Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Đánh giá kết quả sau 6 - 12 tháng sau can thiệp động mạch vành ở bệnh nhân NMCT cấp nhập viện muộn tại viện tim mạch việt nam. Đại học Y Hà Nội. 2014.
8. Momar Dioum, Papa Guirane Ndiaye, Louise Hélène Ndiaye et al. Epidemiological, diagnostic, therapeutic, and evolutionary aspects of late-presenting St Segment Elevation Myocardial Infarction (STEMI): About 50 cases collected in four cardiology departments in Dakar. *Cardiol Vasc Res.* 2023; 7(2):1-4.

**BÁO CÁO CA LÂM SÀNG: PHÙ PHỔI ÁP LỰC ÂM
Ở BỆNH NHÂN CHẤN THƯƠNG SỌ NÃO**

Nguyễn Thanh Nga^{1}, Nguyễn Chí Tuệ¹, Nguyễn Quang Huy¹
Phạm Văn Công¹, Lê Đăng Mạnh¹, Phùng Việt Chiến¹, Hồ Sỹ Đông¹
Trần Văn Tùng¹, Nguyễn Đắc Khôi¹, Nguyễn Thị Thu Hà¹
Đặng Thị Ngọc Quỳnh², Nguyễn Trung Kiên¹*

Tóm tắt

Phù phổi áp lực âm (PPALA) là bệnh cảnh của tắc nghẽn đường thở trên, cơ chế chính là do cổ gồng hít vào để tạo áp lực âm lớn trong lồng ngực chống lại tắc nghẽn đường thở trên. PPALA là một biến chứng đe dọa tính mạng bệnh nhân (BN) nếu không được phát hiện và điều trị kịp thời. Tỷ lệ mắc PPALA ở BN tắc nghẽn đường hô hấp trên là khá cao, khoảng 12%. Tuy nhiên, tỷ lệ mắc bệnh thực sự vẫn chưa được biết và có thể cao hơn, vì nhiều trường hợp bỏ sót chẩn đoán do chưa nhận thức được triệu chứng. Đặc biệt khái niệm về PPALA vẫn chưa được phổ biến trong thực hành gây mê hồi sức. Chúng tôi báo cáo ca lâm sàng: BN nam 23 tuổi xuất hiện PPALA ở BN chấn thương sọ não có thông khí xâm nhập. BN được phát hiện và xử lý kịp thời và ổn định ra viện. Thông qua trường hợp này, chúng tôi nhấn mạnh sự cần thiết phải phát hiện và chẩn đoán sớm PPALA để xử trí phù hợp.

Từ khóa: Phù phổi áp lực âm.

**A CLINICAL CASE REPORT: NEGATIVE PRESSURE PULMONARY
EDEMA IN TRAUMATIC BRAIN INJURY PATIENT**

Abstract

Negative pressure pulmonary edema (NPPE) is a form of noncardiogenic pulmonary edema caused by increased negative intrathoracic pressure necessary to overcome upper airway obstruction. NPPE is a potentially life-threatening complication if it is not detected and treated promptly. The rate of NPPE in patients with upper airway obstruction is quite high, about 12%. However,

¹Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

²Bệnh viện Quân y 175

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thanh Nga (Hvan17021993@gmail.com)

Ngày nhận bài: 07/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 26/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.661>

the exact rate is unknown and may be higher, as many cases miss diagnosis due to the lack of awareness of symptoms. We report a clinical case: A 23-year-old male patient presented with NPPE in a traumatic brain injury patient with invasive ventilation. The patient was detected and treated promptly and was discharged from the hospital stably. Through this case, we emphasize the need to detect and diagnose NPPE early for appropriate treatment.

Keywords: Negative pressure pulmonary edema.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Phù phổi áp lực âm là tình huống lâm sàng nguy hiểm, đe dọa tính mạng BN, có thể gặp trong gây mê và hồi sức do tăng áp lực âm tính trong lồng ngực để chống sự tắc nghẽn đường thở trên. Điều này dẫn đến thiếu oxy máu nghiêm trọng và phù phổi. Tỷ lệ mắc PPALA ở BN tắc nghẽn đường hô hấp trên là khá cao, khoảng 12% [1].

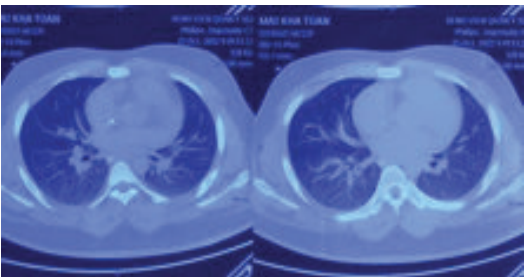
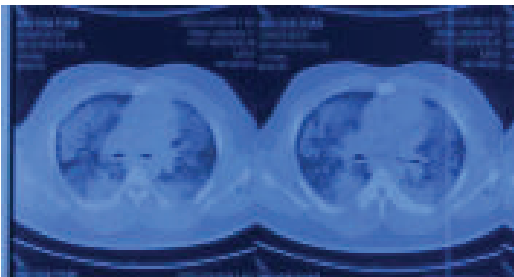
Ở Việt Nam, chưa có nhiều các báo cáo về PPALA trong thực hành lâm sàng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi: *Trình bày một ca bệnh PPALA gặp ở Khoa Hồi sức ngoại, Bệnh viện Quân y 103, đồng thời bàn luận về một số vấn đề về cơ chế bệnh sinh, chẩn đoán và điều trị tình trạng này.*

GIỚI THIỆU CA BỆNH

BN nam 23 tuổi tiền sử khỏe mạnh, bị tai nạn giao thông vào Khoa Hồi sức ngoại, Bệnh viện Quân y 103 với chẩn

đoán: Chấn thương sọ não nặng: Dập não xuất huyết bán cầu não phải. Tại Khoa Hồi sức ngoại, BN được điều trị: Thông khí nhân tạo, chống phù não tích cực. Sau điều trị 1 tuần, BN ý thức khá hơn, tỉnh táo tiếp xúc được, GCS: 15 điểm. BN được cho tự thở qua ống nội khí quản. Tuy nhiên, sau 30 phút, BN kích thích vật vã, cắn ống nội khí quản, tăng tần số thở (tần số: 30 l/p), tăng cử động thở, tím tái, mạch nhanh: 120 l/p; HA: 160/100 mmHg. Nghe phổi có nhiều ran ẩm 2 bên, SpO₂: 50 - 60%. Ngay sau đó, hút qua ống nội khí quản có nhiều bọt hồng. Về xét nghiệm: BN được siêu âm tim cấp cứu tại giường với kết quả: EF: 65%, vận động của thành tim bình thường, đo áp lực tĩnh mạch trung tâm với giá trị là 8 mmHg, đường kính tĩnh mạch chủ dưới (IVC): 1,2cm. Chụp X-quang: Hình ảnh tổn thương thâm nhiễm lan toả 2 phế trường. BN được chẩn đoán PPALA do cắn ống nội khí quản. BN

được xử trí: An thần (midazolam 5mg tiêm tĩnh mạch chậm), giãn cơ (esmeron 50mg tiêm tĩnh mạch chậm), sau đó duy trì thuốc fentanyl và midazolam truyền liên tục; kiểm soát lưu thông đường thở và thông khí nhân tạo áp lực dương với Vt: 420mL; tần số thở: 15 l/p; FiO₂: 100%; PEEP: 10, kiểm soát dịch vào ra đảm bảo không để thừa dịch. Sau khi thông khí được 6 giờ, tình trạng hô hấp của BN cải thiện hơn, SpO₂ tăng lên 100%. BN tiếp tục được điều chỉnh thông khí dựa theo kết quả khí máu động mạch.



Hình 1. Hình ảnh CLVT lồng ngực N1. **Hình 2.** Hình ảnh CLVT lồng ngực N2.

Ngày thứ 2 sau cấp cứu, BN ý thức gọi hỏi biết, làm được theo lệnh. Mạch: 80 l/p; HA: 120/80 mmHg, SpO₂: 98 %; đang thở máy Vt: 420mL, FiO₂: 35%, PEEP: 7; nghe rì rào phế nang 2 phổi rõ, phổi không ran, hút qua ống nội khí quản không có dịch tiết. BN được rút ống nội khí quản và chuyển khỏi Khoa Hồi sức ngoại về Khoa Phẫu thuật Thần kinh sau 4 ngày.

Bảng 1. Diễn biến về khí máu của BN qua thời gian.

Chỉ tiêu	G ₀	G ₆	G ₁₂
pH	7,39	7,4	7,41
pCO ₂ (mmHg)	35	39	34,6
pO ₂ (mmHg)	52	119	133
HCO ₃	21,6	24,6	22,8
Lactate (mmol/L)	2,6	2,2	1,9

BÀN LUẬN

1. Biểu hiện lâm sàng và nguyên nhân

Trường hợp trên minh họa triệu chứng lâm sàng nổi bật nhất của PPALA là sự khởi phát nhanh chóng của phù phổi sau những nỗ lực hít vào khi đường thở bị tắc nghẽn do BN cản ống nội khí quản. Năm 1973, ca lâm sàng PPALA được báo cáo đầu tiên [2]. Sau khi báo cáo lâm sàng đầu tiên về PPALA được công bố, nhiều báo cáo và loạt trường hợp đã xuất hiện trong tài liệu và một số nguyên nhân lâm sàng của PPALA đã được xác định. Hầu hết các trường hợp được báo cáo ở trẻ em là do tắc thanh môn hoặc tắc nghẽn dưới thanh môn do nhiễm trùng cấp tính viêm thanh quản hoặc viêm nắp thanh môn. Trong những trường hợp này, BN có biểu hiện bệnh hô hấp trên cấp tính và suy hô hấp do tắc nghẽn thanh môn hoặc trên thanh môn kèm theo thở rít kéo dài [3].

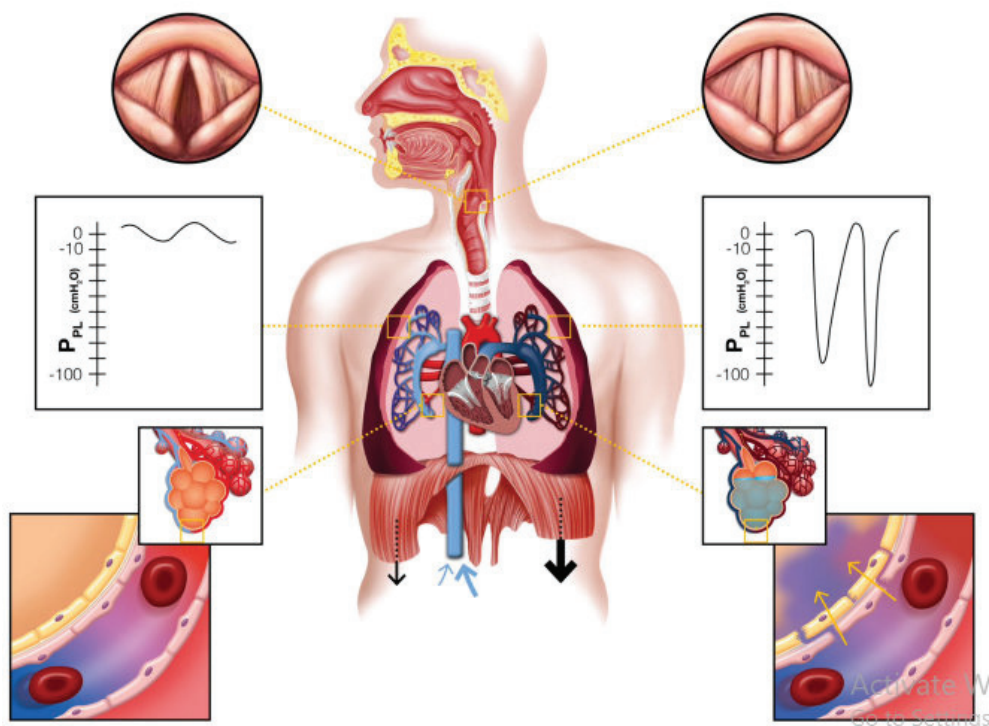
PPALA là một biến chứng hiếm gặp của việc rút ống nội khí quản và thường được báo cáo bởi các bác sĩ gây mê do hậu quả của co thắt thanh quản sau phẫu thuật.

Ở khoa hồi sức, vẫn có một tỷ lệ BN PPALA do nhiều nguyên nhân như rút ống nội khí quản, hoặc BN cản ống, tắc ống nội khí quản, mất đồng bộ giữa

BN và máy thở [4]. Bởi vì triệu chứng của nó gần giống với nhiều bệnh lý khác cho nên thường bị bác sĩ bỏ qua nếu như chưa nhận thức được bệnh này. Ở BN của chúng tôi, nguyên nhân gây tắc nghẽn đường hô hấp là do BN cản ống nội khí quản.

Các nhóm nguyên nhân của PPALA là: Tắc nghẽn đường thở cấp tính và tắc nghẽn đường thở mạn tính. Trong đó tắc nghẽn cấp tính thường gặp hơn với nguyên nhân chủ yếu là: Co thắt sau rút ống nội khí quản, viêm thanh quản, tắc ống, cản ống,...

Cơ chế bệnh sinh của PPALA: Gồm 2 cơ chế chính. Cơ chế thứ nhất là do tắc nghẽn đường hô hấp trên nghiêm trọng dẫn đến tăng áp lực âm tính trong lồng ngực ($> -100\text{cm H}_2\text{O}$) trong khi áp lực lồng ngực thở vào bình thường là (-2 đến $-5\text{cm H}_2\text{O}$). Điều này dẫn đến tăng áp lực màng phế nang - mao mạch gây rối loạn hàng rào mao mạch và hàng rào biểu mô phế nang. Tất cả những điều này gây ra sự tiết dịch của mạch máu, khiến xuất tiết hồng cầu vào phế nang và phù phổi cấp. Cơ chế thứ 2 là tăng thể tích tuần hoàn phổi xảy ra do sự gia tăng áp lực động mạch hệ thống thứ phát do tăng tiết norepinephrine để đáp ứng với tình trạng thiếu O_2 , tăng CO_2 và kích động [5].



Hình 3. Cơ chế bệnh sinh của PPALA [5].

2. Chẩn đoán

Chẩn đoán PPALA dựa vào bệnh sử có biểu hiện của tắc nghẽn đường hô hấp trên, triệu chứng lâm sàng của phù phổi cấp (giảm oxy máu, phổi nhiều ran, bọt hồng, X-quang có hình ảnh tổn thương lan toả). Dịch tiết phổi có bọt màu hồng là một trong những hội chứng quan trọng nhất để chẩn đoán PPALA. Trước khi chẩn đoán PPALA, các nguyên nhân gây phù phổi khác, đặc biệt là những nguyên nhân cần can thiệp nhanh (rối loạn phân phối dịch, sốc phản vệ và phù phổi do tim), phải được xem xét [6]. Ở BN chúng tôi sau khi được tự thở qua ống, BN kích thích

cần ống nội khí quản thì xuất hiện tình trạng khó thở, tím tái, SpO_2 tụt, nghe phổi có nhiều ran nổ, ran ẩm lan toả 2 bên, siêu âm tim với EF: 65%, vận động thành tim bình thường tim. Như vậy, BN của chúng tôi có tình trạng tắc nghẽn đường thở trên cấp tính, biểu hiện triệu chứng lâm sàng của suy hô hấp do phù phổi cấp không do căn nguyên tim mạch. Vì vậy, BN được chẩn đoán PPALA.

3. Điều trị

Điều trị PPALA phụ thuộc vào mức độ nghiêm trọng và nguyên nhân của nó. Trong những trường hợp nhẹ, chỉ

cần điều trị bằng oxy là đủ. Với chẩn đoán và điều trị thích hợp, BN có thể hồi phục sau PPALA trong vòng 24 giờ [7]. Các biện pháp điều trị bao gồm kiểm soát đường thở, hỗ trợ oxy, thông khí áp lực dương, đảm bảo cân bằng dịch. Đặt nội khí quản thường được yêu cầu để mở đường thở và hỗ trợ thở máy. Trong số các trường hợp được báo cáo bởi Lang và CS, 85% BN người lớn và trẻ em cần đặt nội khí quản, 50% cần thở máy và 50% cần thông khí áp lực dương cuối thì thở ra (PEEP) liên tục [7]. Hầu hết BN được điều trị bằng thở máy đều có thể hết phù phổi và rút ống nội khí quản trong vòng 24 giờ. Đối với những BN được điều trị bằng thở máy, PEEP có thể cải thiện quá trình oxy hóa và giảm nồng độ oxy thở vào. Tuy nhiên, trong một số trường hợp việc kiểm soát đường thở khó khăn do co thắt nhiều hoặc viêm thanh quản. Do đó, bác sĩ cần phải sẵn sàng các phương tiện để can thiệp đường thở khó như mở màng nhầy giáp hoặc mở khí quản cấp cứu.

Ở BN của chúng tôi, sau khi hướng đến chẩn đoán PPALA, BN được cho an thần, giãn cơ để đảm bảo thông thoáng đường thở, thông khí nhân tạo áp lực dương liên tục với PEEP cao để đảm bảo oxy hoá máu và tránh xẹp phổi, kiểm soát dịch. BN đáp ứng điều trị tốt.

Do PPALA là một biến chứng có khả năng đe dọa tính mạng BN nếu không được phát hiện và điều trị kịp thời, để giảm hoặc loại bỏ NPPE, một số biện pháp phòng ngừa đã được nghiên cứu bao gồm: Hút kỹ dịch tiết hầu họng BN trước khi rút ống nội khí quản do dịch tiết có máu có thể gây co thắt thanh quản; ngoài ra, có thể sử dụng corticoid trước khi rút ống nội khí quản để giảm phù nề thanh quản do đặt nội khí quản nhiều lần; việc kiểm tra rò rỉ cuff có thể giúp ngăn ngừa nguy cơ phù nề sau rút ống [8].

KẾT LUẬN

Phù phổi áp lực âm là một biến chứng hiếm gặp nhưng có khả năng gây tử vong do tắc nghẽn đường hô hấp trên BN có triệu chứng không điển hình thường bị chẩn đoán sai. PPALA nên được xem xét ở BN có triệu chứng phù phổi sau tắc nghẽn đường hô hấp trên, sau khi loại trừ các yếu tố góp phần khác. Việc điều trị PPALA bao gồm theo dõi chặt chẽ, giảm tắc nghẽn đường thở kịp thời, cung cấp oxy bổ sung và nếu cần thiết, hỗ trợ thông khí.

Đạo đức nghiên cứu: Bài báo tuân thủ quy trình nghiên cứu khoa học, việc lấy số liệu không ảnh hưởng đến chẩn đoán, điều trị, chi phí của BN cũng như bảo hiểm y tế. Chúng tôi cam kết không xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chu F Tami TA, Wildes TO, Kaplan M. Pulmonary edema and acute upper airway obstruction. *Laryngoscope*. 1986.
2. Kirkpatrick JA, Capitanio MA. Obstructions of the upper airway in children as reflected on the chest radiograph. *Radiology*. 1973.
3. Todres ID 7, Travis KW, Shannon DC. Pulmonary edema associated with croup and epiglottitis. *Pediatrics*. 1977.
4. Mariko Siyue Koh, Anne Ann Ling Hsu, Philip Eng. Negative pressure pulmonary oedema in the medical intensive care unit. 2003.
5. Malcolm Lemyze, Jihad Mallat. Understanding negative pressure pulmonary edema. *Intensive Care Med*. 2014.
6. John F, Fraser Balu Bhaskar. Negative pressure pulmonary edema revisited: Pathophysiology and review of management. 2011.
7. Duncan PG, Lang SA, Shephard DA, Ha HC. Pulmonary oedema associated with airway obstruction. *Can J Anaesth*. 1990.
8. Jin Ma, Tiantian Liu, Qiang Wang, Xiaohua Xia, Zhiqiang Guo, Qiupeng Feng, Yan Zhou, Hua Yuan. Negative pressure pulmonary edema (Review). 2023.

**ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ PHẪU THUẬT NỘI SOI SAU PHÚC MẠC
CẮT CHÔM NANG THẬN TẠI BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y THÁI BÌNH
GIAI ĐOẠN 2019 - 2023**

Nguyễn Minh An^{1}, Phan Hoài Nam²*

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá kết quả sớm phẫu thuật nội soi sau phúc mạc cắt chỏm nang thận tại Bệnh viện Đại học Y Thái Bình. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu, mô tả cắt ngang, không đối chứng trên 33 bệnh nhân (BN) nang thận được điều trị bằng phẫu thuật nội soi sau phúc mạc tại Bệnh viện Đại học Y Thái Bình. **Kết quả:** Tuổi trung bình của BN nghiên cứu là $60,9 \pm 3,9$ tuổi; kích thước nang thận trung bình trên siêu âm là $8,8 \pm 1,6$ cm; vị trí nang thận nằm ở cực trên chiếm 9,1%, cực giữa chiếm 75,8% và cực dưới chiếm 15,2%; thời gian phẫu thuật trung bình là $58,8 \pm 7,3$ phút; không có tai biến trong phẫu thuật. Biến chứng sau phẫu thuật có 3 trường hợp chiếm 9,1%; thời gian hậu phẫu trung bình là $4,6 \pm 1,3$ ngày; siêu âm lại kiểm tra nang thận sau mổ cho kết quả hết nang chiếm 93,9%, còn nang chiếm 6,1%; kết quả chung của phẫu thuật nội soi cắt chỏm nang thận: Tốt chiếm 93,9% và trung bình chiếm 6,1%. **Kết luận:** Kết quả nghiên cứu 33 BN nang thận được điều trị bằng phẫu thuật nội soi sau phúc mạc tại Bệnh viện Đại học Y Thái Bình cho kết quả: Không có tai biến trong phẫu thuật, biến chứng sau phẫu thuật chiếm 9,1%. Kết quả chung sau phẫu thuật tốt chiếm 93,9%.

Từ khóa: Nang thận; Phẫu thuật nội soi sau phúc mạc.

**RESULTS OF RETROPERITONEAL LAPAROSCOPIC CYST
DECORTICATION FOR SIMPLE RENAL CYST PATIENTS
AT THAI BINH MEDICAL UNIVERSITY HOSPITAL PERIOD 2019 - 2023**

Abstract

Objectives: To evaluate early results of retroperitoneal laparoscopic cyst decortication for simple renal cyst patients at Thai Binh Medical University Hospital.

¹Trường Cao đẳng Y tế Hà Nội

²Đại học Y Dược Thái Bình

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Minh An (Dr_minhan413@yahoo.com)

Ngày nhận bài: 22/11/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 20/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.566>

Methods: A retrospective, cross-sectional descriptive study without a control group on 33 patients with simple renal cysts treated with retroperitoneal laparoscopic cyst decortication at Thai Binh Medical University Hospital.

Results: The average age of patients was 60.9 ± 3.9 age; the average renal cyst size on ultrasound was 8.8 ± 1.6 cm; the location of renal cysts at the upper pole was 9.1%, at the middle pole was 75.8%, and at the lower pole 15.2%; the average surgery time was 58.8 ± 7.3 minutes; there was no complication during surgery; postoperative complications occurred at 3 cases with 9.1%; the average postoperative time was 4.6 ± 1.3 days; ultrasound to check renal cysts postoperatively: Successful removal was 93.9%, 6.1% patients had existing renal cysts; final result: Good was 93.9%, normal was 6.1%. **Conclusion:** The result of the study of 33 patients with simple renal cysts undergoing retroperitoneal laparoscopic cyst decortication at Thai Binh Medical University Hospital showed that there was no complication during surgery; postoperative complication accounted for 9.1%. The overall result after surgery was good with 93.9%.

Keywords: Kidney cyst; Retroperitoneal laparoscopic surgery.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nang thận là một túi chứa đầy chất lỏng ở thận với ranh giới rõ ràng. Nang thận thường phát triển trên bề mặt của thận. Tỷ lệ người có nang thận khá cao và gia tăng theo tuổi [1, 5]. Triệu chứng chủ yếu của nang thận là đau mỗi thất lưng, gây khó chịu và ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của BN. Ngoài ra, khi nang thận to, nếu không được điều trị thì nang thận vỡ có thể gây đau lưng, tiểu máu. Vỡ nang có thể vô căn, do chấn thương, do bác sĩ khi làm thủ thuật.

Một số phương pháp điều trị nang thận bao gồm phẫu thuật mở cắt chỏm nang nhưng đường mổ lớn xâm lấn,

hiện nay không còn được áp dụng. Chọc hút nang thận dưới hướng dẫn của siêu âm có bơm còn 90° tuy ít xâm lấn nhưng thường tái phát. Đầu thập niên 1990, Jahnsen (1992) đã có những báo cáo đầu tiên về việc áp dụng thành công phẫu thuật nội soi để điều trị nang thận, cho đến nay được áp dụng hết sức rộng rãi ở nhiều bệnh viện trên toàn quốc [1, 4, 6].

Trong những năm gần đây, phẫu thuật nội soi sau phúc mạc cắt chỏm nang thận đã là phẫu thuật thường quy tại các trung tâm ngoại khoa lớn trên toàn quốc. Bệnh viện Đại học Y Thái Bình đã triển khai phương pháp này từ năm 2019. Nhằm đánh giá kết quả phẫu thuật để tư vấn cho BN cũng như

giảng dạy cho sinh viên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Đánh giá kết quả phẫu thuật nội soi sau phúc mạc cắt chỏm nang thận tại Bệnh viện Đại học Y Thái Bình giai đoạn 2019 - 2023.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

33 BN được chẩn đoán nang đơn thận được điều trị bằng phẫu thuật nội soi cắt chỏm nang thận sau phúc mạc tại Bệnh viện Đại Học Y Thái Bình

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:* BN chẩn đoán là nang thận đơn thuần dựa vào chẩn đoán hình ảnh; được điều trị bằng phẫu thuật nội soi sau phúc mạc; kích thước đo trên siêu âm hoặc trên chụp cắt lớp vi tính $> 5\text{cm}$ (đường kính lớn nhất); hồ sơ bệnh án đầy đủ thông tin, hợp lệ.

* *Tiêu chuẩn loại trừ:* Nang $< 5\text{cm}$ không có triệu chứng lâm sàng; chống chỉ định gây mê nội khí quản; nang thận đơn thuần tái phát; lao hệ thống sinh dục tiết niệu; hồ sơ bệnh án thiếu thông tin.

* *Địa điểm nghiên cứu:* Bệnh viện Đại Học Y Thái Bình.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu hồi cứu, mô tả cắt ngang, không đối

chứng trên hồ sơ bệnh án từ tháng 01/2019 - 12/2023.

* *Chỉ tiêu nghiên cứu chính:*

- Đặc điểm nang thận trên siêu âm:
Ghi nhận các thông tin:

+ Số lượng nang trên một thận: 1 nang; 2 nang và > 2 nang;

+ Kích thước nang: Tính theo đường kính lớn nhất và được chia thành từ 5 - 10cm và $> 10\text{cm}$;

+ Vị trí nang: Cực trên, cực giữa thận và cực dưới.

- Đặc điểm nang thận trên phim chụp CLVT:

+ Số lượng nang trên một thận: 1 nang, 2 nang và > 2 nang;

+ Kích thước nang (theo đường kính lớn nhất): Từ 5 - 10cm và $> 10\text{cm}$;

+ Vị trí nang (theo cực): Cực trên, cực giữa thận, cực dưới.

- Thời gian phẫu thuật: Tính từ lúc chọc Trocar tới lúc khâu lỗ Trocar, tính theo phút.

- Tai biến trong phẫu thuật: Chảy máu lỗ Trocar gây bầm tím tụ máu dưới da; chảy máu; rách phúc mạc.

- Biến chứng sau phẫu thuật:

+ Chảy máu sau phẫu thuật;

+ Nhiễm khuẩn vết phẫu thuật.

- Thời gian nằm viện sau phẫu thuật: Tính từ ngày phẫu thuật đến khi ra viện.

- Đặc điểm siêu âm sau mổ 1 tháng, đánh giá: Còn nang < 50% kích thước; còn nang: > 50% kích thước; hết nang.

- Kết quả chung sau phẫu thuật
Đánh giá kết quả phẫu thuật theo tác giả Nguyễn Bá Tuấn [4] được chia làm các mức:

- + Tốt: Hết nang, hết triệu chứng;
- + Trung bình: Còn nang $\leq 50\%$ và hết triệu chứng;
- + Kém: Còn nang > 50% và hết triệu chứng hoặc còn nang $\leq 50\%$ và còn triệu chứng.

* *Xử lý số liệu*: Số liệu nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0 và thống kê y học. Chỉ tiêu nghiên cứu định tính được tính toán theo tỷ lệ phần trăm (%). Chỉ tiêu định lượng được mô tả dưới dạng giá trị trung bình.

2. Kết quả sớm phẫu thuật nội soi sau phúc mạc điều trị nang đơn thận

Thời gian phẫu thuật trung bình là $58,8 \pm 7,3$ phút. Không có tai biến trong phẫu thuật. Biến chứng sau phẫu thuật: Nhiễm khuẩn lỗ trocar chiếm 3,0%, chảy máu chiếm 6,1%. Thời gian rút dẫn lưu sau phẫu thuật trung bình là $1,2 \pm 0,4$ ngày. Thời gian nằm viện trung bình sau phẫu thuật là $4,6 \pm 1,3$ ngày.

Bảng 1. Kết quả siêu âm sau phẫu thuật.

Kết quả siêu âm	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
Hết nang	31	93,9
Còn nang	2	6,1
Tổng	33	100

Kết quả cho thấy có 2 BN siêu âm sau phẫu thuật còn nang chiếm 6,1%.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành khi có sự đồng ý của đối tượng tham gia nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu nhằm phục vụ nâng cao chất lượng khám chữa bệnh cho nhân dân, phục vụ nghiên cứu khoa học và đào tạo. Chúng tôi cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu là $60,9 \pm 3,9$ tuổi. Triệu chứng lâm sàng thường gặp là đau thắt lưng chiếm 84,8%. Kích thước nang thận trung bình trên siêu âm là $8,8 \pm 1,6$ cm. Vị trí nang thận trên siêu âm: cực trên 9,1%, cực giữa chiếm 75,8%, cực dưới chiếm 15,2%.

Bảng 2. Kết quả chung sau phẫu thuật.

Kết quả chung	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
Tốt	31	93,9
Trung bình	2	6,1
Kém	0	0,0
Tổng số	33	100

Kết quả nghiên cứu có 31/33 BN (chiếm 93,9%) đạt kết quả tốt và 6,1% BN đạt kết quả trung bình sau phẫu thuật.

Bảng 3. Mối liên quan giữa vị trí nang thận với kết quả phẫu thuật.

Vị trí	Kết quả tốt		Kết quả trung bình	
	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
Cực trên	3	100	0	0,0
Cực giữa	25	96,0	1	4,0
Cực dưới	4	80,0	1	20,0
Tổng	31	93,9	2	6,1

Kết quả nghiên cứu mối tương quan giữa vị trí nang thận với kết quả trung sau phẫu thuật cho thấy tỷ lệ BN đạt kết quả tốt đối với nang thận cực trên là 100%, cực giữa là 96,0% và cực dưới là 80,0%.

Bảng 4. Mối liên quan giữa kích thước nang thận với kết quả phẫu thuật

Kích thước	Kết quả tốt		Kết quả trung bình	
	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
5 - 10mm	26	96,2	1	3,8
> 10mm	5	83,3	1	16,6
Tổng	31	93,9	2	6,1

Kết quả nghiên cứu mối tương quan giữa kích thước nang thận với kết quả trung sau phẫu thuật cho thấy tỷ lệ BN đạt kết quả tốt đối với nang thận có kích thước từ 5 - 10cm là 96,2% và kích thước > 10cm là 83,3%.

BÀN LUẬN

1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

** Phân bố BN theo tuổi:*

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $60,9 \pm 3,9$, thấp nhất là 38 và cao nhất là 79 tuổi.

Theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Bá Tuấn [4], tuổi trung bình là $54,5 \pm 13,8$. Hay gặp nhất ở người > 50 tuổi, chiếm 75%. Theo Trần Chí Thanh, tuổi trung bình là $54,7 \pm 11,3$ [3], theo Phạm Ngọc Minh là $54,6 \pm 13,8$ tuổi [2].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trong và ngoài nước, các tác giả cũng cho rằng, tuổi càng cao thì tỷ lệ mắc bệnh càng cao, đây cũng là tuổi hay có những bệnh lý mãn tính kết hợp. Vì vậy, việc áp dụng phương pháp mổ nội soi cho những BN này sẽ giảm thiểu được tai biến, biến chứng do phẫu thuật mở gây ra, đặc biệt là thời gian phẫu thuật, thời gian hậu phẫu ngắn và nhẹ nhàng hơn. [1, 2, 4].

** Triệu chứng lâm sàng:*

Trong nhiều nghiên cứu đã chỉ ra, đau thắt lưng là triệu chứng chính của bệnh lý nang thận, đây là triệu chứng không đặc hiệu, tuy nhiên thường là lý

do chính BN đến khám bệnh [2, 3, 7]. Nguyên nhân có thể do tăng áp lực trong nang hoặc có chèn ép gây ứ trệ nước tiểu trong hệ thống đài bể thận gây nên. Triệu chứng gây khó chịu cho BN trong sinh hoạt và trong công việc hàng ngày, mức độ đau là yếu tố để lựa chọn BN phẫu thuật. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, có 84,4% BN đến khám có triệu chứng đau thắt lưng và đây cũng là triệu chứng chính của 33 BN trong nhóm nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả trong và ngoài nước như Nguyễn Bá Tuấn [4], có 48/56 BN có triệu chứng đau thắt lưng từng đợt hoặc tức nặng chiếm 85,7%, với thời gian đau trung bình $9,3 \pm 2,2$ tháng. Theo nghiên cứu của Trần Chí Thanh 100% đến viện vì đau thắt lưng từng đợt [3]. Theo Roberts WW [8], tỷ lệ BN có triệu chứng đau thắt lưng trong nghiên cứu là 87%.

Kết quả về tai biến và biến chứng sớm sau phẫu thuật của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trong và ngoài nước [2, 5, 7].

** Đặc điểm nang thận trên siêu âm:*

Siêu âm phương pháp đơn giản, an toàn và hiệu quả trong bệnh lý nang thận đơn thuần. Kết quả khảo sát đặc điểm nang thận trên siêu âm cho 33

BN cho thấy có 81,8% BN có kích thước từ 5 - 10cm. Kích thước trung bình nang thận trên siêu âm là $8,8 \pm 1,6$ cm.

Theo Nguyễn Bá Tuấn [4], kích thước nang thận trung bình trên siêu âm là $9,24 \pm 1,54$ cm. Trong đó nang có kích thước từ 5 - 10cm chiếm 71,4%, nang đường kính > 10cm chiếm 28,6%. Theo Phạm Ngọc Minh [2], kết quả nghiên cứu cho thấy nang thận có kích thước 5 - 10cm chiếm 84% và 16% số BN có kích thước nang > 10cm.

Về vị trí nang thận trên siêu âm, kết quả nghiên cứu cho thấy có 3/33 BN nang thận cực trên (9,1%), 25/33 BN nang thận cực giữa (75,8%) và có 15,2% BN nang thận cực dưới.

2. Đánh giá kết quả sớm sau phẫu thuật

** Thời gian phẫu thuật:*

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, thời gian phẫu thuật trung bình trong nhóm nghiên cứu là $58,8 \pm 7,3$ phút, ngắn nhất là 35 phút và dài nhất là 72 phút.

Theo Nguyễn Bá Tuấn [4], trong nghiên cứu 56 BN nang thận được điều trị bằng phẫu thuật nội soi tại Bệnh viện Bạch Mai, trong đó có 26 BN được phẫu thuật nội soi trong phúc mạc và 30 BN sau phúc mạc. Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian phẫu

thuật trung bình của nhóm đi trong phúc mạc là $39,7 \pm 12,5$ phút, của nhóm đi sau phúc mạc là $54,4 \pm 17,8$ phút. Nhận thấy rằng thời gian của nhóm đi trong phúc mạc ngắn hơn nhóm đi sau phúc mạc, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Thời gian phẫu thuật của chúng tôi với tương tự với các tác giả như: Tác giả Trần Chí Thanh thời gian phẫu thuật trung bình là 46,36 phút [3], Castillo OA là 52 phút [5].

** Tai biến và biến chứng phẫu thuật:*

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy không có tai biến trong phẫu thuật và biến chứng sớm sau phẫu thuật là 9,1%, trong đó có 1 BN có biểu hiện nhiễm khuẩn lỗ trocar, BN này được điều trị kháng sinh và ổn định ra viện sau 6 ngày. Nghiên cứu của chúng tôi có 2 BN có biểu hiện chảy máu qua sonde dẫn lưu ngày thứ nhất (chiếm 6,1%), BN này được hướng dẫn hạn chế vận động sau 1 ngày BN hết chảy máu.

Theo Nguyễn Bá Tuấn [4], kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ tai biến gặp 2 trường hợp chiếm 3,6%; trong đó, có 1 trường hợp tổn thương ruột gặp ở nhóm phẫu thuật trong phúc mạc. Biến chứng sau phẫu thuật gặp 4 trường hợp chiếm 7,2%.

** Thời gian nằm viện sau phẫu thuật:*

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, thời gian nằm viện trung bình sau phẫu thuật là $4,6 \pm 1,3$ ngày, ngắn nhất là 3 ngày và dài nhất là 7 ngày.

Theo Nguyễn Bá Tuấn [4], kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian điều trị trung bình sau mổ của nhóm I, II lần lượt là $4,81 \pm 1,65$ ngày, $5,05 \pm 1,84$ ngày. Không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm.

Theo Phạm Ngọc Minh [2], thời gian nằm viện trung bình của nhóm BN nghiên cứu là $3,85 \pm 1,18$ ngày. Thời gian nằm viện ngắn nhất là 2 ngày, dài nhất là 10 ngày. Theo Porpiglia F [7], thời gian nằm viện trung bình là 3,4 ngày (3 - 6 ngày). Trong nghiên cứu của Castillo OA [5] là 42 giờ.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về thời gian phẫu thuật hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trong và ngoài nước và các tác giả đều thống nhất rằng, phẫu thuật nội soi sau phúc mạc điều trị nang thận là phương pháp hiệu quả và thời gian hậu phẫu ngắn [1, 2, 4].

** Kết quả siêu âm sau phẫu thuật:*

Kết quả siêu âm kiểm tra sau phẫu thuật cho thấy có 31/33 BN hết nang sau phẫu thuật (93,9%) có 2 BN có biểu hiện còn nang sau phẫu thuật

(6,1%). Hai BN này kích thước nang khoảng 1,5 - 2cm, nhỏ hơn 50% so với kích thước ban đầu và thời điểm đánh giá lại BN không còn triệu chứng lâm sàng.

Theo Phạm Ngọc Minh [2], kết quả siêu âm lại sau mổ tối thiểu 3 tháng cho thấy, số BN hết nang, không tái phát là 76 BN (93,8%), có 5 BN nang tái phát (6,2%).

Theo Nguyễn Bá Tuấn [4], kết quả nghiên cứu cho thấy có 12/36 BN còn nang sau phẫu thuật khi kiểm tra lại bằng siêu âm ở thời điểm > 6 tháng (33,3%).

Theo Francesco Porpiglia (2009), sau nội soi cắt chỏm nang thận, có chèn lớp mỡ quanh thận vào hốc nang, kết quả 100% BN không tái phát nang [7]. Tác giả Nguyễn Hoàng Đức (2005) cũng cho thấy không có trường hợp nang thận nào tái phát sau phẫu thuật [1].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt về kết quả siêu âm sau phẫu thuật, nguyên nhân sự khác biệt này có thể do số lượng BN trong các nghiên cứu khác nhau, đặc biệt là thời điểm siêu âm kiểm tra trong các nghiên cứu khác nhau.

** Kết quả chung sau phẫu thuật:*

Kết quả nghiên cứu 33 BN nang đơn thận được điều trị bằng phẫu thuật nội

soi sau phúc mạc cho thấy, tỷ lệ đạt kết quả tốt chiếm 93,9%, trung bình có 2/33 BN chiếm 6,1%, không có BN nào có kết quả xấu sau phẫu thuật.

Theo Phạm Ngọc Minh [2], kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ thành công trong nghiên cứu của tác giả là 93,8%. Tác giả cũng cho rằng, kết quả phẫu thuật không phụ thuộc vào vị trí, kích thước và loại nang thận.

Theo Nguyễn Bá Tuấn [4], kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ đạt kết quả tốt trong nghiên cứu của tác giả là 66,7%, trung bình là 22,2% và xấu là 11,1%.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả trong và ngoài nước và các tác giả đều cho rằng, với sự ra đời của nội soi ổ bụng và ứng dụng rộng rãi của nó trong phẫu thuật tiết niệu, nội soi xử trí nang thận đã được chứng minh có hiệu quả và ít biến chứng, giảm thời gian phẫu thuật, thời gian nằm viện. Trước đây khi phẫu thuật nội soi sau phúc mạc chưa phát triển, phẫu thuật viên chưa nhiều kinh nghiệm thì nội soi qua phúc mạc là lựa chọn chính trong phẫu thuật nội soi cắt chỏm nang thận. Họ cho rằng khoang sau phúc mạc là khoang hẹp, khoảng cách giữa các trocar sẽ bị hạn chế, khó định hướng hơn trong phẫu thuật mổ. Tuy nhiên, với BN đã từng

phẫu thuật ổ bụng, sẽ hạn chế phẫu thuật. Ngoài ra, có thể kể đến một số vấn đề khi phẫu thuật qua phúc mạc như phải di chuyển ruột, thời gian mổ càng lâu càng có nguy cơ di chứng dính ruột sau mổ, tổn thương tạng, nguy cơ tăng hấp thụ CO₂ trong mổ, hạ thân nhiệt, thoát vị vết mổ... Những biến chứng này ít gặp hơn với nội soi sau phúc mạc. Với nội soi sau phúc mạc, do không động đến ruột nên sau mổ BN ăn uống bình thường, có thể tiến hành dễ dàng ở BN đã phẫu thuật bụng [1, 4, 5, 6].

KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu 33 BN nang đơn thận được điều trị bằng phẫu thuật nội soi sau phúc mạc tại Bệnh viện Đại học Y Thái Bình cho thấy tỷ lệ biến chứng sau phẫu thuật là 6,1% và kết quả tốt sau phẫu thuật là 93,9%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hoàng Đức, Nguyễn Hoàng Bắc, Trần Lê Linh Phương, Nguyễn Minh Quang. Phương pháp cắt chỏm nang thận nội soi sau phúc mạc và qua phúc mạc. *Y học Thành phố Hồ Chí Minh*. 2005; 1(9).
2. Phạm Ngọc Minh. Đánh giá kết quả phẫu thuật nội soi cắt chỏm nang thận tại Bệnh viện Bạch Mai giai đoạn 2016 - 2021. *Luận văn Bác sỹ chuyên khoa 2*. Đại học Y Hà Nội. 2021.

3. Trần Chí Thanh. Nghiên cứu chỉ định và kết quả điều trị nang thận đơn thuần bằng phương pháp soi ổ bụng cắt chỏm nang. *Luận văn tốt nghiệp bác sỹ nội trú*. Trường Đại Học Y Hà Nội. 2002.

4. Nguyễn Bá Tuấn. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đánh giá kết quả phẫu thuật nội soi nang đơn thận tại Bệnh viện Bạch Mai. *Luận văn Thạc sỹ Y học*. Đại học Y Hà Nội. 2018.

5. Castillo OA, DeGiovanni D, Sánchez - Salas R, Foneron A, Vitaliano G, Díaz MA, Fardo M. Laparoscopic treatment of symptomatic

simple renal cysts. *Urol.* 2008 April; 61(3):397-400.

6. Jahnsen JU, Solhaug JH. Extirpation of benign renal cysts with laparoscopic technique. *Tidsskr Den Nor Laegeforening Tidsskr Prakt Med Ny Raekke*. 1992; 112(28):3552-3554.

7. Porpiglia F, Fiori C, Billia M, et al. Retroperitoneal decortication of simple renal cysts vs. decortication with wadding using perirenal fat tissue: Results of prospective randomized trial. *BJU Int*. 2009; 103(11):1532 -1536.

8. Roberts JA, Roth JH. Benign renals cyst and renal function. *J of Urol*. 1980; 123:625-628.

**BÁO CÁO LÂM SÀNG:
GÂY Mê CHO PHẪU THUẬT CẮT RUỘT THỪA NỘI SOI
Ở BỆNH NHÂN CÓ HỘI CHỨNG WOLFF-PARKINSON-WHITE**

Nguyễn Ngọc Thạch^{1}, Đào Văn Sơn¹, Nguyễn Văn Quỳnh²*

Tóm tắt

Hội chứng Wolff-Parkinson-White (WPW) là rối loạn điện sinh lý của tim do kích thích sớm đường dẫn truyền phụ bất thường, có thể không có triệu chứng hoặc chỉ có biểu hiện lâm sàng đánh trống ngực hoặc khó thở khi gắng sức. Gây mê cho bệnh nhân (BN) có bệnh lý tim mạch nói chung và BN có mắc hội chứng WPW nói riêng được phát hiện trên điện tim là thách thức đối với các bác sĩ gây mê vì có thể xảy ra các biến chứng như rối loạn nhịp tim, ngừng tim và tử vong. Chúng tôi báo cáo 01 trường hợp BN nữ 66 tuổi, tiền sử tăng huyết áp (HA), được chẩn đoán viêm ruột thừa cấp giờ thứ 60 trên BN mắc hội chứng WPW, có chỉ định cắt ruột thừa nội soi dưới gây mê toàn thân mà không có triệu chứng lâm sàng của hội chứng này. Chúng tôi đã thực hiện các biện pháp phòng ngừa cần thiết để tránh nhịp tim nhanh, chuẩn bị đầy đủ các loại thuốc và thiết bị, theo dõi chặt chẽ đã mang lại kết quả tốt ở BN này.

Từ khóa: Gây mê; Hội chứng Wolff-Parkinson-White; Tăng huyết áp; Phẫu thuật cắt ruột thừa nội soi.

**A CLINICAL CASE REPORT: GENERAL ANESTHESIA
FOR LAPAROSCOPIC APPENDECTOMY
IN A PATIENT WITH WOLFF-PARKINSON-WHITE SYNDROME**

Abstract

Wolff-Parkinson-White syndrome is an electrophysiological cardiac condition caused by premature stimulation of the abnormal accessory pathway, which may

¹Bệnh viện Quân y 103, Học viên Quân y

²Bệnh viện Bông Quốc gia Lê Hữu Trác, Học viên Quân y

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Ngọc Thạch (nnthach1970@gmail.com)

Ngày nhận bài: 07/12/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 10/02/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i3.574>

have asymptomatic or only clinical manifestations such as palpitations or dyspnea on exertion. We reported a case of a 66-year-old female patient with a medical history of hypertension. She had an indication for laparoscopic appendectomy under general anesthesia. Her Wolff-Parkinson-White syndrome was accidentally discovered on an electrocardiogram when doing the testing before surgery. The anesthetic management of these patients is challenging because they are susceptible to life-threatening tachyarrhythmias. We took all necessary precautions to prevent tachycardia, balanced anesthesia, close monitoring, and being prepared with the necessary drugs and equipment to deal with all complications, resulting in positive results.

Keywords: Anesthesia; Wolff-Parkinson-White syndrome; Hypertension; Laparoscopic appendectomy.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng WPW còn được gọi là hội chứng tiền kích thích, là một rối loạn điện sinh lý của tim, phổ biến ở khoảng 0,9 - 3% dân số nói chung [1]. Được đặc trưng bởi rối loạn nhịp tim như hội chứng QT ngắn, khoảng PR ngắn, sóng Delta, ST chênh xuống và rung nhĩ [1, 2]. BN có điện tim (ECG) theo các tiêu chuẩn trên mà không có biểu hiện lâm sàng được gọi là WPW không triệu chứng (WPW pattern). BN vừa có điện tim dạng WPW, vừa có các rối loạn nhịp tim đặc trưng thường được gọi là hội chứng WPW.

BN mắc hội chứng WPW phải trải qua phẫu thuật dưới gây mê sẽ là thách thức với bác sĩ gây mê, vì một số loại thuốc gây mê có xu hướng làm thay đổi sinh lý dẫn truyền nhĩ thất (AV) và gây rối loạn nhịp tim [3, 4]. Hơn nữa,

các thủ thuật như đặt và rút ống nội khí quản (NKQ) có thể kích hoạt hệ giao cảm, có thể gây rối loạn nhịp tim ở BN mắc hội chứng WPW [5]. Do đó, chiến thuật gây mê hồi sức cho những BN này nên được điều chỉnh theo tình trạng của BN trước, trong phẫu thuật cũng như theo tính chất và diễn biến của quá trình phẫu thuật. Chúng tôi báo cáo một trường hợp BN nữ 66 tuổi có tiền sử tăng HA được chẩn đoán viêm ruột thừa cấp giờ thứ 60 trên BN mắc hội chứng WPW, đã được gây mê NKQ để phẫu thuật cắt ruột thừa nội soi thành công tại Bệnh viện Quân y 103.

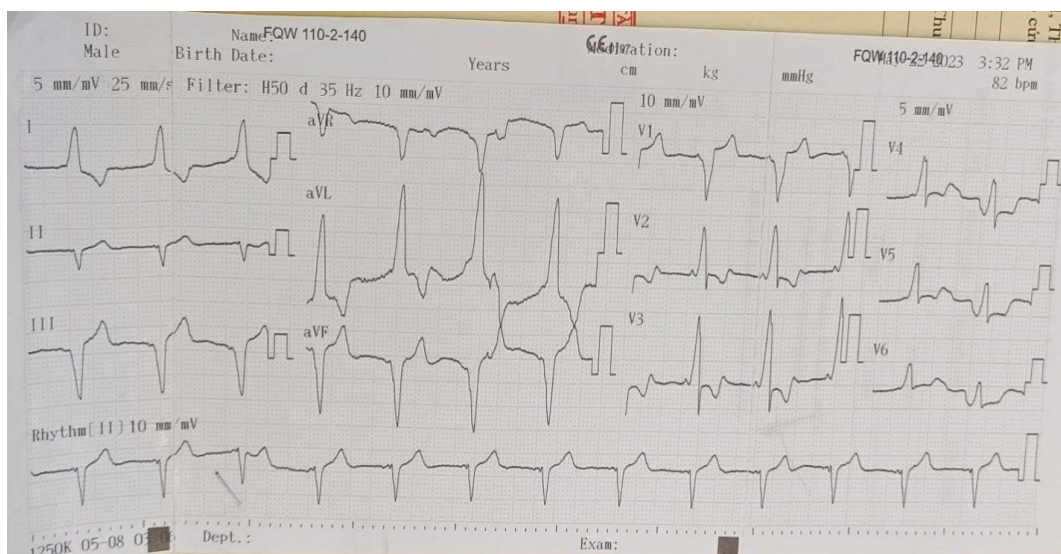
GIỚI THIỆU CA BỆNH

BN nữ (N.T.Y, 23B02001302), 66 tuổi, nặng 52kg; vào viện với lý do đau bụng vùng hố chậu phải. Bệnh biểu hiện cách vào viện 60 giờ với triệu

chứng đau bụng khu trú hố chậu phải, đau âm ỉ, liên tục, tăng dần, không rõ sốt, không nôn, trung đại tiện bình thường, bụng chướng nhẹ, tự mua thuốc dạ dày uống nhưng không đỡ; vào Khoa Ống tiêu hóa, Bệnh viện Quân y 103 lúc 21h ngày 23/5/2023. BN có tiền sử tăng HA cách đây 5 năm, HA cao nhất 180/100 mmHg, dùng thuốc amlor 5 mg/ngày, HA duy trì ổn định thường xuyên. BN không có tiền sử đau ngực, không hồi hộp trống ngực, không khó thở, không ngất; không có tiền sử về ngoại khoa, gây mê. Khám BN tỉnh táo, tần số tim 84 lần/phút, HA 160/90 mmHg, nhiệt độ 36,7°C, tần số thở 18 lần/phút, nghe

phổi không có rale, đau vùng hố chậu phải, ấn điểm MacBurney đau, phản ứng cơ thành bụng hố chậu phải rõ. Xét nghiệm tại khoa Ống tiêu hóa có hồng cầu 4,17 T/L, huyết sắc tố 121 g/L, hematocrit 0,364 L/L, tiểu cầu 224 G/L, bạch cầu 8 G/L, NEUT 86,19%, PT 71%, APTT 31,9s, glucose 7,02 mmol/L, ure 7,09 mmol/L, creatinine 98,28 μ mol/L, GOT 93 U/L, GPT 39 U/L, K⁺ 3,68 mmol/L. Siêu âm ổ bụng: Hình bia bắn (lát cắt ngang ruột thừa), hình ngón tay đeo găng (lát cắt dọc), phù nề, dịch xung quanh ruột thừa.

Điện tim khi vào Khoa Ống tiêu hóa: Hội chứng WPW type B, nhịp xoang 82 lần/phút (Hình 1).



Hình 1. Điện tim khi vào Khoa Ống tiêu hóa.

X-quang tim phổi: Không thấy bất thường.

BN được chẩn đoán viêm ruột thừa cấp giờ thứ 60 trên BN hội chứng WPW, tăng HA. Được khám chuyên khoa tim mạch, kê đơn captopril 25mg x 1 viên ngâm dưới lưỡi, furosemid 20mg x 1 ống tiêm tĩnh mạch, amlor 5mg x 1 viên uống, betalokzok 25mg x 1 viên uống; uống trước mổ 1 giờ. Tại Khoa Ống tiêu hóa, BN được truyền dịch, kháng sinh. Dự kiến phẫu thuật cắt ruột thừa nội soi và dự kiến vô cảm là gây mê NKQ

Vào lúc 2 giờ ngày 24/5/2023 BN lên phòng mổ trong tình trạng tỉnh tiếp xúc tốt, nhịp tim không đều 92 lần/phút, HA 177/87 mmHg, SpO₂ 99% với thở oxy hỗ trợ 3 lít/phút, tần số thở 16 lần/phút, được đặt đường truyền tĩnh mạch với kim luer 18G, đặt catheter động mạch quay trái theo dõi HA xâm nhập, theo dõi liên tục điện tim đạo trình DII, nhịp tim, SpO₂. Các loại thuốc được chuẩn bị sẵn gồm adenosine, esmolol, lidocain và máy sốc điện để sẵn sàng xử trí khi có cơn nhịp nhanh, rung nhĩ... BN được khởi mê lúc 2h15 ngày 24/5/2023 bằng propofol 50mg, fentanyl 100mcg, rocuronium 50mg sau 2 phút đặt ống NKQ số 6,5 qua miệng thuận lợi, duy trì chế độ thở máy kiểm soát thể tích (VCV) cài đặt thể tích khí lưu thông (Vt) 350mL, tần số thở 14 lần/phút, tỷ lệ thời gian thở vào/thở ra (I/E) 1/2. Sau đặt ống, phản ứng giao cảm được quan sát thấy với sự tăng nhẹ nhịp tim,

tăng HA, ECG thấy sóng delta nổi bật và khoảng PR ngắn. Duy trì mê bằng truyền propofol bơm tiêm điện 100 - 200 µg/kg/phút, bổ sung fentanyl và rocuronium trong mổ đảm bảo đủ độ mê, độ giãn cơ và giảm đau, khí máu được làm ngay trước khi kết thúc ca mổ, ở thời điểm đã ngừng bơm và xả hết CO₂: pH 7,434, PaO₂ 463,7 mmHg, PaCO₂ 37,5 mmHg, HCO₃⁻ 25,4 mmol/L, hemoglobin 10 g/L, hematocrit 37%, điện giải đồ: Na⁺ 142,1 mmol/L, K⁺ 3,32 mmol/L, Cl⁻ 109,9 mmol/L, glucose 10 mmol/L, lactat 1,8 mmol/L.

Phẫu thuật bắt đầu lúc 2h30 ngày 24/5/2023; kết thúc phẫu thuật lúc 3h30 ngày 24/5/2023. Khi mổ ra, hình ảnh ruột thừa viêm xung huyết, phù hợp với chẩn đoán ban đầu. Trong quá trình phẫu thuật BN không có bất cứ diễn biến bất thường nào về nhịp tim, nhịp tim dao động 90 - 110 lần/phút, không xuất hiện rung nhĩ hay cơn nhịp nhanh trong mổ, HA dao động 115/72 - 151/86 mmHg, SpO₂ dao động 98 - 100%. Liều lượng thuốc và dịch truyền sử dụng trong phẫu thuật bao gồm propofol 300mg, fentanyl 200mcg, rocuronium 50mg, ringerlactat 500mL.

Trong quá trình phẫu thuật, chú ý tăng từ từ áp lực ổ bụng, giữ giới hạn trên của áp lực ổ bụng trong vòng 12 mmHg, EtCO₂ duy trì trong khoảng 35 - 40 mmHg. BN được đặt ở tư thế Trendelenburg không ảnh hưởng gì đến nhịp tim.

Bảng 1. Mạch, HA, SpO₂ và điện tim của BN ở các thời điểm.

STT	Thời điểm	M	HA	SpO ₂	Dấu hiệu trên ECG
1	Trước mổ	84	160/90	97	Nhịp xoang; hội chứng WPW
2	Trước gây mê	92	177/87	99	Nhịp xoang; hội chứng WPW
3	Sau khởi mê	95	100/62	99	Nhịp xoang; hội chứng WPW
4	Sau đặt ống NKQ	102	149/78	100	Nhịp xoang; hội chứng WPW
5	Thì rạch da	93	135/80	100	Nhịp xoang; hội chứng WPW
6	Bơm CO ₂	105	155/80	100	Nhịp xoang; hội chứng WPW
7	Kết thúc cuộc mổ	90	91/47	100	Nhịp xoang; hội chứng WPW
8	Rút ống NKQ	97	113/90	99	Nhịp xoang; hội chứng WPW

Sau mổ BN được chuyển về Khoa Hồi sức ngoại, tiếp tục sử dụng thuốc an thần, thở máy, kháng sinh, truyền dịch và theo dõi sát, đặc biệt ở đạo trình DII để phát hiện và xử trí các rối loạn nhịp có thể xảy ra. BN được rút ống NKQ sau 7 giờ. Sau rút ống NKQ, BN tỉnh táo, tiếp xúc tốt; tự thở oxy hỗ trợ 3 lít/phút, SpO₂ dao động 98 - 99%, nhịp tim 97 lần/phút, HA 113/90 mmHg. Sau 01 ngày điều trị tại đây, BN ổn định được chuyển về Khoa Ống tiêu hóa và được ra viện vào ngày 26/5/2023.

BÀN LUẬN

Nhiều trường hợp BN mắc hội chứng WPW không có triệu chứng đã được mô tả, những BN này có nguy cơ xuất hiện cơn nhịp nhanh kịch phát trên thất, thậm chí là rung thất và đột tử trong giai đoạn phẫu thuật [6]. Con đường dẫn truyền phụ giữa tâm nhĩ và tâm thất cho phép dẫn truyền điện ở một vị trí khác với nút AV, gây ra kích hoạt tâm thất sớm hơn so với xung điện nếu chỉ đi qua nút nhĩ thất. Thuốc gây mê và các can thiệp có xu hướng thay đổi sinh lý của dẫn truyền nút nhĩ thất [7].

Trong một số trường hợp, gây tê vùng có thể có lợi hơn gây mê toàn thân do tránh được thao tác đặt ống NKQ, tránh dùng nhiều loại thuốc có thể gây rối loạn nhịp tim. Tuy nhiên cần thận trọng với mức độ phong bế giao cảm, vì nhịp xoang chậm và rối loạn dẫn truyền trong tim sẽ tăng lên nếu phong bế đến T4. Các trường hợp bộc lộ hội chứng WPW khi mức độ phong bế cao đã được báo cáo, đặc biệt khi kết hợp với các thuốc kích thích giao cảm. BN trong báo cáo của chúng tôi có tiền sử tăng HA, khi gây tê tùy sống sẽ có nguy cơ cao tụt HA; đồng

thời để đảm bảo mổ nội soi thuận lợi, chúng tôi đã thực hiện gây mê NKQ thành công trên BN này.

Mục tiêu gây mê để tránh tăng kích thích giao cảm do đau, lo lắng, phản ứng căng thẳng khi đặt và rút ống NKQ, tránh gây mê nông và giảm thể tích tuần hoàn.

Mổ nội soi ổ bụng từng được coi là phẫu thuật xâm lấn tối thiểu nhưng về mặt gây mê hồi sức phẫu thuật này chỉ là đường vào tối thiểu; do mổ nội soi gây ra những thay đổi sinh lý bệnh có thể dẫn đến nguy hiểm ở BN có yếu tố nguy cơ nếu không được phát hiện và xử lý đúng. Thay đổi sinh lý bệnh do bơm CO₂ ổ bụng, tăng áp lực ổ bụng và do tư thế BN. Về mặt huyết động, mổ nội soi làm tăng sức cản mạch máu ngoại vi, tăng HA. Thiếu thể tích tuần hoàn ảnh hưởng nghiêm trọng đến huyết động. BN trong báo cáo của chúng tôi là BN cao tuổi, có tiền sử tăng HA, điện tim có hội chứng WPW, vì vậy để hạn chế ảnh hưởng của mổ nội soi tới huyết động và hô hấp; trong quá trình phẫu thuật, chúng tôi chú ý tăng từ từ áp lực ổ bụng, giữ giới hạn trên của áp lực ổ bụng trong vòng 12 mmHg, theo dõi EtCO₂ liên tục, duy trì trong khoảng 35 - 40 mmHg, kết hợp bù đủ dịch. Kết quả cho thấy các chỉ số về mạch, HA được duy trì ổn định, ít

dao động trong quá trình phẫu thuật, không xuất hiện rối loạn nhịp. Đồng thời, chúng tôi làm xét nghiệm khí máu để đánh giá khả năng trao đổi khí của phổi, cân bằng kiềm toan và tình trạng điện giải của BN.

Một số loại thuốc thường được sử dụng trong thực hành gây mê có khả năng gây loạn nhịp tim ở BN mắc hội chứng WPW. Bao gồm các thuốc kháng muscarinic như atropin, thuốc có đặc tính hủy phó giao cảm như pancuronium, thuốc gây giải phóng histamin như atracurium và thuốc kích thích thần kinh giao cảm như ketamin, đặc biệt là chất chủ vận β_1 [3, 4]. Do đó, các thuốc này nên tránh sử dụng trong quá trình vô cảm ở những BN mắc hội chứng WPW.

Năm 1999, Sumhiko Seki và CS báo cáo về việc bình thường hóa khoảng PR và phức hợp QRS rộng khi truyền propofol. Có 2 cách giải thích cho sự biến mất sóng Delta trong trường hợp trên, đó là giảm thời gian dẫn truyền qua con đường nhĩ thất bình thường hoặc tăng thời gian dẫn truyền qua con đường phụ. Sự suy giảm dẫn truyền qua đường phụ là nguyên nhân bình thường hóa phức hợp QRS (mất sóng Delta) trong quá trình gây mê bằng propofol. Propofol dường như có tác dụng bình thường hóa phức bộ QRS vì

sóng Delta biến mất ngay sau khi gây mê bằng propofol và xuất hiện trở lại 5 phút sau khi ngừng propofol [8]. Trường hợp BN của chúng tôi không quan sát thấy sự biến mất của sóng Delta khi duy trì mê bằng propofol.

Propofol được cho là thích hợp với những BN có hội chứng WPW vì không ảnh hưởng đến thời kỳ trơ của đường dẫn truyền phụ. Các nghiên cứu đã được tiến hành dựa trên ý kiến cho rằng propofol không có ảnh hưởng trực tiếp đến nút xoang (SA), nút nhĩ thất và dẫn truyền tim. Tuy nhiên nghiên cứu gần đây cho thấy propofol có thể ức chế dẫn truyền tim [9].

BN trong báo cáo của chúng tôi là BN cao tuổi, có tiền sử tăng HA, đã được sử dụng các thuốc điều trị tăng HA trước mổ do vậy chúng tôi dùng liều thấp propofol 50mg và tiêm tĩnh mạch chậm khi khởi mê để dự phòng nguy cơ tụt HA; đồng thời để làm mất các phản xạ, các kích thích do đặt ống NKQ chúng tôi phối hợp với liều fentanyl 100mcg và thuốc giãn cơ rocuronium 1 mg/kg. Các thuốc này đều không gây ảnh hưởng đến nhịp tim, kết quả cho thấy BN nhanh chóng mất ý thức, đủ độ giảm đau và giãn cơ để đặt NKQ thuận lợi và thành công. Sau đặt NKQ, tình trạng huyết động của BN ổn định. Mặc dù propofol ảnh hưởng tới huyết động nhiều, có nguy

cơ ức chế cơ tim ở người cao tuổi, tuy nhiên không ảnh hưởng đến thời kỳ trơ của đường dẫn truyền phụ. Trong khi đó nếu dùng ketamin để khởi mê sẽ hạn chế tình trạng tụt HA, nhưng gây kích giao cảm, có nguy cơ rối loạn nhịp ở BN WPW. Do đó propofol là lựa chọn phù hợp ở BN này. Ở BN của chúng tôi, sau khi khởi mê bằng liều thấp propofol (1 mg/kg), duy trì mê bằng truyền propofol bơm tiêm điện liều 100 - 200 μ g/kg/phút. Liều propofol được điều chỉnh như vậy để duy trì độ mê phù hợp. Trong trường hợp hạ HA, dùng phenylephrin.

Khi sử dụng thuốc giảm đau nhóm opioid, tốt nhất là nên tránh dùng pethidine vì tác dụng phụ gây nhịp tim nhanh. Alfentanil, sufentanil và fentanyl không có bất kỳ ảnh hưởng nào đến thời gian trơ của AV [10]. Như vậy, hầu hết các opioid đều phù hợp với BN có nguy cơ rối loạn nhịp tim nhanh do đặc tính duy trì sự ổn định huyết động với làm chậm nhịp tim.

Thuốc giãn cơ succinylcholin có thể có tác dụng phụ là gây loạn nhịp tim. Trong số các thuốc giãn cơ không khử cực, atracurium có thể gây mất ổn định hệ thần kinh tự động do giải phóng histamin và pancuronium có thể kích thích nhịp nhanh trên thất do tăng dẫn truyền nhĩ thất và nhịp tim. Rocuronium, vecuronium và

cisatracurium có thể là những lựa chọn tốt hơn cho gây mê toàn thân. Việc hóa giải giãn cơ sau phẫu thuật cũng có thể gây ra các biến chứng bất lợi trên các BN này. Sự kết hợp giữa thuốc kháng cholinesterase và thuốc kháng cholinergic có thể gây loạn nhịp tim nghiêm trọng. Rung nhĩ với phức hợp QRS rộng đã được báo cáo sau khi dùng neostigmin ở một BN mắc hội chứng WPW [11]. Atropine và glycopyrrolat dẫn đến nhịp tim nhanh, nên tránh sử dụng. Để phục hồi phong bế thần kinh cơ, sugammadex là lựa chọn an toàn [11].

Chúng tôi dùng rocuronium liều 1mg/kg cho BN để khởi mê tạo điều kiện thuận lợi khi đặt ống NKQ, cũng như duy trì độ giãn cơ phù hợp cho phẫu thuật. Tác dụng hủy phó giao cảm của rocuronium ít, không rõ ràng như pancuronium. Các nghiên cứu chỉ ra rocuronium là thuốc giãn cơ an toàn khi dùng cho BN WPW. BN của chúng tôi không dùng sugammadex do tại thời điểm đó không có sẵn thuốc để sử dụng, trong khi đó nếu dùng neostigmin để hóa giải giãn cơ sẽ có nguy cơ gây rối loạn nhịp tim; do vậy, BN được chuyển về Khoa Hồi sức ngoại để theo dõi điều trị tiếp. Những BN này có nguy cơ đột tử sau phẫu thuật nên việc chăm sóc hậu phẫu cần theo dõi sát.

Tóm lại, BN mắc hội chứng WPW trải qua phẫu thuật có thể được kiểm soát tốt dưới gây mê toàn thân với các biện pháp phòng ngừa đầy đủ để ngăn ngừa và kiểm soát rối loạn nhịp tim.

KẾT LUẬN

Hội chứng WPW mặc dù hiếm gặp nhưng là một tình huống nguy hiểm trong gây mê. Gây mê hồi sức cho BN mắc hội chứng WPW là khó khăn, một số thuốc gây mê có xu hướng làm thay đổi sinh lý dẫn truyền nhĩ thất, kết hợp các thủ thuật, can thiệp gây kích thích hệ giao cảm, rối loạn nhịp tim. Mục tiêu gây mê hồi sức là duy trì ổn định huyết động, tránh các tình trạng cường giao cảm, dự phòng và điều trị các rối loạn nhịp. Do đó, việc khám đánh giá tình trạng BN trước phẫu thuật, theo dõi chặt chẽ trong gây mê, chuẩn bị đầy đủ thuốc và phương tiện cấp cứu là cần thiết để hạn chế các nguy cơ tai biến có thể xảy ra, mang lại kết quả điều trị tốt ở các BN này.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin cảm ơn sự tham gia và cho phép công bố nghiên cứu của BN, người nhà BN. BN và người nhà BN được tư vấn về vấn đề nghiên cứu và các thông tin cung cấp được giữ bí mật. Chúng tôi xin cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ. Clinical anesthesiology. 4th ed. New York: Lange medical books. *McGraw Hill Medical Publishing Division*. 2006:435-439.
2. Bengali R, Wellens HJJ, Jiang Y. Perioperative management of the Wolff-Parkinson-White syndrome. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2014; 28(5):1375-1386.
3. Stoelting RK, Hines RL, Marschall KE. Abnormalities of cardiac conduction and cardiac rhythm. Stoelting's Anaesthesia and Co-existing Disease. *Saunders, Elsevier Philadelphia*. 2012.
4. Schoenstadt DA, Whitcher CE. Observations on the mechanism of succinylcholine-induced cardiac arrhythmias. *Anesthesiology*. 1963; 24:358-362.
5. Kurer J, Enescu V, Utsu F, Boszormenyi E, Bernstein H, Corday E. Cardiac arrhythmias during anesthesia. *Dis Chest*. 1967; 52(5):580-587.
6. Klein GJ, Bashore TM, Sellers TD, Pritchett EL, Smith WM, Gallagher JJ. Ventricular fibrillation in the Wolff-Parkinson-White syndrome. *N Engl J Med*. 1979; 301(20):1080-1085.
7. Sahu S, Karna ST, Karna A, Lata I, Kapoor D. Anaesthetic management of Wolff-Parkinson-White syndrome for hysterectomy. *Indian J Anaesth*. 2011; 55(4):378-380.
8. Seki S, Ichimiya T, Tsuchida H, Namiki A. A case of normalization of Wolff-Parkinson-White syndrome conduction during propofol anesthesia. *Anesthesiology*. 1999 Jun; 90(6): 1779-1781.
9. Udaybhaskar V, Sreemayee C, Ingley P. Wolff-Parkinson-White syndrome: Implications for an anaesthesiologist. *Journal of Neuronaesthesiology and Critical Care*. 2017; 4:49-52.
10. Sabuncu Ü, Yağar S, Yömen Vy. Normalization of electrocardiography pattern due to anesthesia in a patient with Wolff-Parkinson-White syndrome during non-cardiac surgery. *Turkiye Klinikleri Cardiovasc Sci*. 2018; 30(2):82-85.
11. Şahin SH., Öztekin I, Kuzucuoğlu A, Aslanoğlu A. Sugammadex use in a patient with Wolff-Parkinson-White (WPW) syndrome. *Balkan Med J*. 2015; 32:327-329.

THỂ LỆ GỬI BÀI ĐĂNG TRONG TẠP CHÍ Y - DƯỢC HỌC QUÂN SỰ

Tạp chí Y - Dược học quân sự xuất bản 9 số/năm, đăng tải các công trình nghiên cứu, các bài tổng quan về y dược học quân sự, y sinh học và y xã hội học, những thông tin Y - Dược học trong nước và quốc tế, thông tin về nghiên cứu và đào tạo.

I. Một số yêu cầu về bài đăng công trình nghiên cứu khoa học.

1. Bài gửi đăng công trình nghiên cứu khoa học chưa đăng ở bất kỳ tạp chí quốc gia nào.
2. Các thuật ngữ thống nhất theo từ điển Bách khoa Việt Nam.
3. Bài gửi đăng đánh máy bằng tiếng Việt, rõ ràng, cách dòng, một bài không dài quá 7 trang khổ A4, kể cả bảng biểu và tài liệu tham khảo. Các danh từ tiếng Việt nếu dịch từ tiếng nước ngoài viết kèm theo tiếng nước ngoài. Các chữ viết tắt phải có chú thích các từ gốc của các chữ viết tắt.
4. Trình tự các mục trong bài:
 - a) Đầu đề.
 - b) Họ và tên tác giả: Không ghi học hàm, học vị, chức danh. Có ghi chú đơn vị công tác của từng tác giả ở cuối trang thứ nhất bài báo.
 - c) Nội dung:

Tóm tắt tiếng Việt và tiếng Anh, bao gồm mục tiêu, đối tượng và phương pháp nghiên cứu, kết quả và kết luận (khoảng 250 từ). Ghi từ khóa tiếng Việt và tiếng Anh.

Đặt vấn đề: bao gồm cả phần mục tiêu nghiên cứu.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu và bàn luận.

Kết luận.

Tài liệu tham khảo.

Chỉ sử dụng những bảng, biểu, hình ảnh cần thiết và phải có chú thích rõ. Mỗi bài viết không quá 5 hình. Cuối bài phải nêu rõ xuất xứ của công trình, làm tại đâu, thời gian.

Tài liệu tham khảo (không quá 10 tài liệu và phải mang tính cập nhật) sắp xếp theo thứ tự xuất hiện trong bài báo. Tài liệu tham khảo ghi theo thứ tự sau: Họ tên tác giả, tên cuốn sách (bài báo), tên tạp chí, năm xuất bản, tập, số và trang tài liệu tham khảo

Dùng font Unicode.
5. Mỗi tác giả đứng tên đầu của bài báo chỉ được đăng tối đa một bài trong một số.
6. Bài gửi đăng không trả lại bản thảo.
7. Cuối mỗi bài báo, tác giả ghi số điện thoại cá nhân và địa chỉ email của người chịu trách nhiệm chính.

II. Đối với các bài tổng quan, thông tin, bài dịch.

- Đối với các bài tổng quan cần có đầy đủ các tài liệu tham khảo và nguồn số liệu đã được trích dẫn trong bài. Tác giả bài tổng quan ghi rõ chức danh, học hàm, học vị, chuyên ngành, cơ quan và hội chuyên khoa ở phần ghi chú cuối trang đầu tiên của bài tổng quan. Bài tổng quan cũng được đánh máy trên khổ A4 và không dài quá 7 trang kể cả biểu bảng và tài liệu tham khảo.
- Các thông tin, bài dịch cần ghi rõ xuất xứ của nguồn dữ liệu. Đối với bài dịch cần chụp toàn văn bài báo tiếng nước ngoài gửi kèm theo bản dịch.

*** BÀI VIẾT XIN GỬI VỀ TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - HỌC VIỆN QUÂN Y**

SỐ 160 ĐƯỜNG PHÙNG HƯNG, HÀ ĐÔNG - HÀ NỘI

ĐIỆN THOẠI: 069. 566. 250 HẶC GỬI THEO ĐỊA CHỈ EMAIL: tcydhqs@vmmu.edu.vn

