

Nghiên cứu

Khảo sát tách chiết DNA từ mẫu phân để giải trình tự gene 16S rRNA hệ vi sinh vật đường ruột

Phan Thị Minh Tâm¹, Ngô Thị Diệu Hương¹, Lê Phan Tường Quỳnh¹, Đặng Thanh Nhân², Hà Thị Minh Thi^{1*}

¹Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế
²Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

Tác giả liên hệ: Hà Thị Minh Thi, htmthi@huemed-univ.edu.vn; htmthi@hueuni.edu.vn

Ngày nhận bài (Received): 12/10/2025; Ngày duyệt đăng (Accepted): 24/11/2025; Ngày xuất bản (Published): 30/03/2026
DOI:10.34071/jmp.2026.1.737

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Sự mất cân bằng hệ vi sinh đường ruột góp phần vào viêm mạn tính, thúc đẩy tiến triển polyp tuyến và ung thư đại trực tràng (UTĐTT).

Mục tiêu: 1. Khảo sát hiệu quả tách chiết DNA hệ vi sinh đường ruột từ mẫu phân bằng kit QIAamp PowerFecal Pro DNA; 2. Đánh giá khả năng ứng dụng DNA sau tách chiết thông qua khảo sát hệ vi sinh vật đường ruột ở ba mẫu đại diện (chứng, polyp tuyến và ung thư đại trực tràng) bằng giải trình tự vùng V3-V4 gene 16S rRNA.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 30 mẫu phân (10 chứng, 10 polyp tuyến, 10 UTĐTT) được tách chiết DNA bằng kit QIAamp PowerFecal Pro DNA; mỗi nhóm chọn ngẫu nhiên 1 mẫu giải trình tự để phân tích hệ vi sinh trên hệ thống Miseq (Illumina).

Kết quả: Tách chiết 30 mẫu DNA đạt hiệu suất cao, giá trị trung vị nồng độ DNA là 252,1 (IQR: 162,0 - 311,9) ng/μL, độ tinh sạch tốt, sản phẩm khuếch đại đặc hiệu (550 bp). Khảo sát được hệ vi sinh vật đường ruột ở ba mẫu cho thấy tỷ lệ ngành *Firmicutes/Bacteroidota* tăng ở mẫu UTĐTT so với mẫu polyp tuyến và mẫu chứng; chi *Prevotella* chiếm ưu thế ở mẫu polyp tuyến; các loài *Fusobacterium nucleatum*, *Enterococcus faecalis* và *Streptococcus gallolyticus* không có ở mẫu chứng nhưng được phát hiện ở mẫu UTĐTT.

Kết luận: Chúng tôi đã tách chiết thành công DNA từ mẫu phân, đạt tiêu chuẩn giải trình tự 16S rRNA để phân tích hệ vi sinh vật đường ruột ở bệnh nhân polyp tuyến, UTĐTT.

Từ khóa: Tách chiết DNA từ mẫu phân; giải trình tự hệ vi sinh đường ruột; polyp tuyến; ung thư đại trực tràng.

Evaluation of DNA extraction from fecal samples for 16s rRNA gen sequencing of the gut microbiota

Phan Thị Minh Tâm¹, Ngô Thị Diệu Hương¹, Lê Phan Tường Quỳnh¹, Đặng Thanh Nhân², Hà Thị Minh Thi^{1*}

¹University of Medicine and Pharmacy, Hue University

²Hospital of University of Medicine and Pharmacy

Abstract

Background: Gut microbiota dysbiosis contributes to chronic inflammation, promoting the progression of adenomatous polyps and colorectal cancer (CRC).

Objectives: 1. To investigate the efficiency of gut microbiota DNA extraction from fecal samples using the QIAamp PowerFecal Pro DNA Kit; 2. To evaluate the applicability of extracted DNA by characterizing the gut microbiota in three representative fecal samples (derived from patients with adenomatous polyps, CRC, and healthy controls) using 16S rRNA gene V3-V4 region sequencing.

Methods: Thirty fecal samples (10 controls, 10 adenomatous polyps, 10 CRC) were subjected to DNA extraction using the QIAamp PowerFecal Pro DNA Kit. To characterise the gut microbiota, one sample was randomly selected from each group and sequenced on the Illumina MiSeq platform.

Results: High-yield DNA extraction was achieved in all 30 samples, median DNA concentration was 252.1 (IQR: 162.0 - 311.9) ng/μL, with good purity and specific PCR amplification (550 bp). Analysis of gut microbiota in three representative samples revealed an increased *Firmicutes/Bacteroidota* ratio in the CRC sample compared with the adenomatous polyp and control sample; *Prevotella* predominated in the adenomatous polyp sample; *Fusobacterium nucleatum*, *Enterococcus faecalis*, and *Streptococcus gallolyticus* were detected in the CRC sample but were absent in the control sample.

Conclusion: DNA extraction from fecal samples was successful, providing sufficient quality for 16S rRNA sequencing to analyze the gut microbiota in patients with adenomatous polyps and colorectal cancer.

Keywords: Fecal DNA extraction; gut microbiota sequencing; adenomatous polyps; colorectal cancer.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hệ vi sinh vật đường ruột (gut microbiota) đóng vai trò thiết yếu trong điều hòa miễn dịch và duy trì tính toàn vẹn của hàng rào biểu mô ruột. Khi mất cân bằng hệ vi sinh, các cơ chế bảo vệ bị suy giảm, dẫn đến viêm mạn tính, gây rối loạn đáp ứng miễn dịch và tổn thương DNA. Đây là những yếu tố then chốt góp phần dẫn đến tổn thương tiền ung thư như polyp tuyến và thúc đẩy tiến trình sinh ung thư đại trực tràng (UTĐTT) [1,2]. Nhiều nghiên cứu gần đây đã ghi nhận sự gia tăng các loài vi khuẩn như *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis*, *Streptococcus gallolyticus*... ở bệnh nhân polyp tuyến và ung thư đại trực tràng. Những bằng chứng này cho thấy tiềm năng ứng dụng hệ vi sinh vật đường ruột trong việc phát hiện sớm polyp tuyến và UTĐTT [3,4].

Giải trình tự vùng biến đổi V3 - V4 gene 16S rRNA hiện là công cụ mạnh mẽ để phân tích thành phần và đa dạng hệ vi sinh vật đường ruột, cho phép định danh vi khuẩn đến cấp chi hoặc loài từ một mẫu phân ban đầu. DNA tách chiết từ mẫu phân thường chứa nhiều chất ức chế PCR phức tạp như polysaccharides, acid mật, hợp chất phenolic...[5], đồng thời mẫu phân cũng chứa đa dạng vi khuẩn nên các phương pháp tách chiết hiện nay phải sử dụng nhiều cơ chế khác nhau như ly giải cơ học, ly giải hóa học, xử lý nhiệt hoặc công nghệ loại bỏ chất ức chế... Những khác biệt của các phương pháp này tác động trực tiếp đến khả năng phá vỡ tế bào vi khuẩn, nồng độ và độ tinh sạch DNA, là những yếu tố liên quan đến việc phân tích tính đa dạng thành phần hệ vi sinh vật đường ruột [6]. Vì vậy, sự lựa chọn kit tách chiết DNA nào đóng một vai trò rất quan trọng. Trong các kit tách chiết DNA hiện nay, QIAamp PowerFecal Pro DNA là một kit có ưu thế nổi trội nhờ sự kết hợp đồng thời công nghệ ly giải cơ học bead - beating, công nghệ loại bỏ chất ức chế và tinh sạch bằng màng silica [5]. Ngoài ra, độ chính xác của phân tích giải trình tự còn phụ thuộc tính đặc hiệu và hiệu suất của phản ứng PCR nhằm khuếch đại vùng V3-V4 gene 16S rRNA.

Xuất phát từ những vấn đề trên, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với hai mục tiêu sau:

1. *Khảo sát hiệu quả tách chiết DNA hệ vi sinh đường ruột từ mẫu phân bằng kit QIAamp PowerFecal Pro DNA.*

2. *Đánh giá khả năng ứng dụng DNA sau tách chiết thông qua khảo sát hệ vi sinh vật đường ruột ở ba mẫu đại diện (chứng, polyp tuyến và ung thư*

đại trực tràng) bằng giải trình tự vùng V3-V4 gene 16S rRNA.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mục tiêu 1: 30 mẫu phân của 30 người bao gồm: 10 người nhóm chứng, 10 bệnh nhân polyp tuyến và 10 bệnh nhân UTĐTT tại Trung tâm Tiêu hóa - Nội soi và khoa Ngoại Tiêu hóa của Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế.

* *Tiêu chuẩn chọn bệnh:*

- Nhóm chứng: những người được xác định không có thương tổn ở đại trực tràng qua nội soi (polyp, khối u, loét, viêm niêm mạc hoặc bất thường cấu trúc khác).

- Nhóm bệnh: bệnh nhân polyp tuyến và ung thư đại trực tràng được chẩn đoán xác định qua nội soi và mô bệnh học.

* *Tiêu chuẩn loại trừ:* sử dụng kháng sinh trong vòng 3 tháng trước thời điểm lấy mẫu, hóa xạ trị và phẫu thuật cắt bỏ khối u đại trực tràng, chế độ ăn chay, tiền sử mắc các loại ung thư khác.

Mục tiêu 2: 3 mẫu DNA tách chiết từ mẫu phân của 1 người nhóm chứng, 1 bệnh nhân polyp tuyến và 1 bệnh nhân UTĐTT được giải trình tự vùng V3 - V4 gene 16S rRNA.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang. Các bước nghiên cứu được thực hiện như sau:

Bước 1. Thu thập bệnh phẩm phân

Nhóm chứng và nhóm bệnh được hướng dẫn thực hiện quy trình lấy mẫu phân, mỗi người được cung cấp một lọ đựng phân đã được ghi họ tên, tuổi và một túi chứa giấy lấy phân. Mỗi mẫu phân được thu khoảng 250 mg (tương đương 1 thìa nhỏ đi kèm trong lọ chứa) theo hướng dẫn của kit tách chiết [5]. Trường hợp mẫu phân mềm hoặc lỏng, phần có độ sệt cao hơn được thu để đảm bảo lượng mẫu tương đương 250 mg. Mẫu phân sau khi thu thập sẽ được vận chuyển đến phòng xét nghiệm trong vòng 2 giờ, sau đó được lưu trữ ở -80°C để tiến hành tách chiết DNA.

Bước 2. Tách chiết DNA từ mẫu phân

Các mẫu phân được tiến hành tách chiết DNA bằng kit QIAamp PowerFecal Pro DNA (Qiagen, Đức) theo quy trình của nhà sản xuất sinh phẩm được tóm tắt như sau [5]:

- Khoảng 250 µg mẫu phân được đưa vào ống

chứa hạt (bead-beating), vortex ngang trong 10 phút nhằm đồng nhất và ly giải cơ học, sau đó ly tâm ở 15.000 μg trong 1 phút.

- Thu nhận 600 μL dịch nổi, bổ sung 200 μL dung dịch loại bỏ chất ức chế (Inhibitor Removal Technology: IRT), tiếp tục ly tâm và chuyển 600 μL dịch nổi sang cột (spin-column).

- Thêm 600 μL dung dịch muối nồng độ cao để gắn chọn lọc DNA lên màng silica của cột.

- Thực hiện rửa cột bằng 500 μL dung dịch đệm rửa nhằm loại bỏ protein, muối dư thừa và các chất ức chế PCR.

- Cuối cùng, cho 100 μL hoà tan DNA vào cột và

quay ly tâm 15.000 μg trong 1 phút để thu hồi DNA.

Bước 3. Định lượng và đánh giá độ tinh sạch DNA sau tách chiết

DNA được định lượng và đánh giá độ tinh sạch ở các bước sóng 260 nm và 280 nm bằng máy quang phổ NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Mỹ). Pha loãng DNA ở nồng độ 40 ng/ μL và lưu trữ ở -80°C cho đến khi thực hiện các bước phân tích tiếp theo.

Bước 4. Đánh giá hiệu suất tách chiết DNA từ mẫu phân bằng phản ứng PCR khuếch đại vùng V3 - V4 gene 16S rRNA

- Sử dụng cặp mồi vùng V3-V4 gene 16S rRNA với trình tự như sau [7]:

F: 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3'

R: 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3'

Trong đó, trình tự đầu 3' mỗi mồi (phần in đậm) đặc hiệu vùng V3 - V4, trình tự đầu 5' là trình tự tương ứng adapter, được sử dụng cho bước xây dựng thư viện của giải trình tự trên nền tảng Illumina [8].

- Thành phần phản ứng: 25 μL gồm 12,5 μL GoTaq Green MasterMix (Promega); 0,5 μL mỗi mồi (10 pmol/ μL); 0,5 μL DNA (40 ng/ μL); 11 μL nước cất đã khử DNase.

- Điều kiện luân nhiệt: 95°C trong 8 phút; tiếp theo là 30 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm: giai đoạn biến tính 95°C trong 1 phút, giai đoạn gắn mồi 65°C trong 1 phút, giai đoạn kéo dài mồi 72°C trong 1 phút, giai đoạn kéo dài cuối cùng 72°C trong 10 phút.

- PCR được thực hiện trên máy Applied Biosystems 2720. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% với hiệu điện thế 80 V trong 90 phút.

Bước 5. Giải trình tự vùng V3-V4 gene 16S rRNA và phân tích hệ vi sinh vật đường ruột

Chọn ngẫu nhiên 3 mẫu DNA toàn phần được tách chiết từ 3 nhóm (chứng, polyp tuyến, UTĐTT) để giải trình tự tại phòng xét nghiệm KTest (thành phố Hồ Chí Minh) trên nền tảng MiSeq (Illumina). Dữ liệu giải trình tự được xử lý bằng công cụ QIIME2 và định danh phân loại dựa trên cơ sở dữ liệu SILVA phiên bản 138 (SSURef Nr99).

2.3. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm SPSS 20.0. Các biến số không phân bố chuẩn được mô tả bằng trung vị và khoảng tứ phân vị (IQR: InterQuartile Range). Dùng phép kiểm Kruskal - Wallis để so sánh các trung vị, phép kiểm định có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

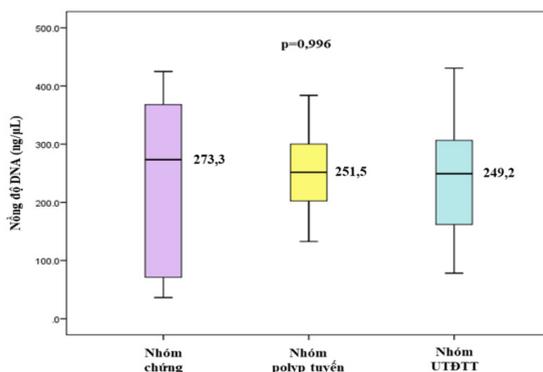
Đề tài này được thực hiện với sự chấp thuận của Hội đồng đạo đức nghiên cứu Y sinh học của Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế, mã số H2025/437.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Hiệu quả tách chiết DNA tách chiết từ mẫu phân

3.1.1. Nồng độ và độ tinh sạch DNA tách chiết từ mẫu phân

Nồng độ DNA tách chiết của 30 mẫu phân là 252,1 (IQR: 162,0 - 311,9) ng/ μL .



Biểu đồ 1. Nồng độ DNA tách chiết từ mẫu phân

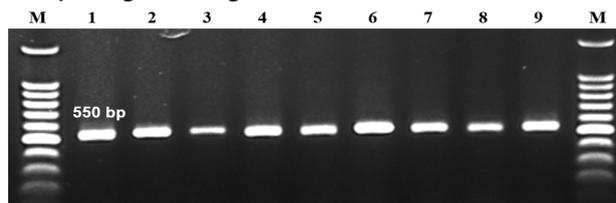
Nồng độ DNA tách chiết từ mẫu phân của nhóm chứng là 273,3 (IQR: 71,2 - 367,8) ng/ μL , nhóm polyp tuyến là 251,5 (IQR: 202,3 - 300,1) ng/ μL và nhóm UTĐTT là 249,2 (IQR: 162,0 - 306,4) ng/ μL . Sự khác biệt nồng độ DNA giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 1. Độ tinh sạch DNA tách chiết từ mẫu phân

Nhóm	Chứng	Polyp tuyến	UTĐTT
Tỷ số A260/280	1,87 - 1,93	1,83 - 1,9	1,82 - 1,90

Tỷ số A260/280 ở cả 3 nhóm mẫu đều trong khoảng 1,8 - 2,0, cho thấy DNA tách chiết đạt chất lượng về độ tinh sạch.

3.1.2 Kết quả PCR khuếch đại vùng V3 - V4 gene 16S rRNA



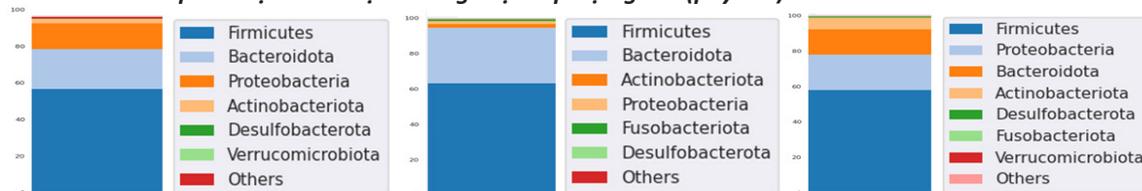
Chú thích: M: thang chuẩn 100 bp; cột 1-9: băng sản phẩm PCR

Hình 1. Hình ảnh gel điện di sản phẩm PCR vùng V3 - V4 gene 16S rRNA

Các băng sản phẩm PCR đậm, sắc nét, kích thước 550 bp, không có sản phẩm không đặc hiệu.

3.2. Thành phần hệ vi sinh vật (taxonomy) đường ruột ở ba mẫu nghiệm phẩm được khảo sát

3.2.1. Thành phần hệ vi sinh vật đường ruột cấp độ ngành (phylum)



Hình 2. Biểu đồ phân bố thành phần hệ vi sinh vật theo cấp độ ngành được phân tích bằng công cụ QIIME2

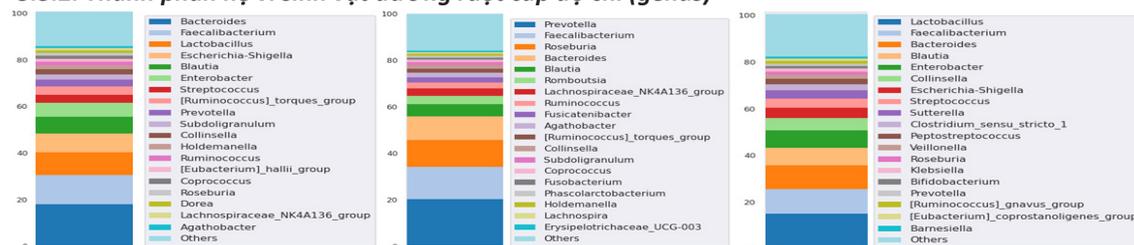
Ngành *Firmicutes* chiếm đa số ở cả 3 mẫu, ngành *Bacteroidota* đứng hàng thứ hai ở mẫu chứng và polyp tuyến, nhưng đứng hàng thứ ba ở mẫu UTĐTT.

Bảng 2. Tỷ lệ giữa hai ngành *Firmicutes* và *Bacteroidota* (F/B) ở ba mẫu được khảo sát

Ngành	Chứng	Polyp tuyến	UTĐTT
<i>Firmicutes</i> (F)	59,4%	63,5%	58,0%
<i>Bacteroidota</i> (B)	22,3%	31,5%	14,3%
Tỷ lệ F/B	2,7	2,0	4,1

Tỷ lệ F/B (*Firmicutes*/*Bacteroidota*) ở mẫu chứng là 2,7; mẫu polyp tuyến là 2,0 và đặc biệt cao ở mẫu UTĐTT, lên đến 4,1.

3.3.2. Thành phần hệ vi sinh vật đường ruột cấp độ chi (genus)



a. Mẫu chứng

b. Mẫu polyp tuyến

c. Mẫu UTĐTT

Hình 3. Biểu đồ phân bố thành phần hệ vi sinh vật (taxonomy) theo cấp độ chi được phân tích bằng công cụ QIIME2

Các chi chiếm cao nhất ở mẫu chứng là *Bacteroides* (18,8%), mẫu polyp tuyến là *Prevotella* (20,3%) và ở mẫu UTĐTT là *Lactobacillus* (14,6%).

rRNA. Sản phẩm PCR sắc nét, không xuất hiện băng không đặc hiệu, với kích thước đoạn mục tiêu là 483 bp. Trên gel điện di, sản phẩm quan sát được có kích thước 550 bp là có bao gồm cả đoạn adapter (67 bp) cho giải trình tự Illumina.

Như vậy, kit QIAamp PowerFecal Pro DNA đảm bảo hiệu quả tách chiết DNA, đáp ứng tốt cho các phân tích hệ vi sinh vật đường ruột dựa trên kỹ thuật giải trình tự gene.

4.2. Thành phần hệ vi sinh vật đường ruột cấp độ ngành, chi, loài ở ba mẫu đại diện của nhóm chứng, polyp tuyến và ung thư đại trực tràng

4.2.1. Cấp độ ngành

Ở cấp độ ngành, tỷ lệ *Firmicutes/Bacteroidota* (F/B) là một chỉ số đặc trưng phản ánh trạng thái cân bằng của hệ vi sinh vật đường ruột. Sự biến đổi tỷ lệ F/B (tăng hoặc giảm) có thể dẫn đến mất cân bằng hệ vi sinh (dysbiosis), một yếu tố được cho là liên quan đến cơ chế hình thành và tiến triển của polyp tuyến và ung thư đại trực tràng [10].

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tỷ lệ *Firmicutes* ở mẫu chứng và UTĐTT tương tự nhau, lần lượt là 59,4% và 58,3%. Trong khi đó, tỷ lệ *Bacteroidota* ở mẫu UTĐTT giảm đáng kể so với mẫu chứng (14,3% so với 22,3%) (Hình 1). Sự mất cân bằng này được thể hiện ở tỷ lệ F/B ở mẫu UTĐTT rất cao, lên đến 4,1, trong khi ở mẫu chứng chỉ 2,7 (Bảng 1). Mặc dù chỉ mới khảo sát trên một mẫu chứng và một mẫu UTĐTT, nhưng kết quả của chúng tôi khá phù hợp với một nghiên cứu mới đây của Kadhim (2025), tác giả cho thấy nhóm UTĐTT có sự giảm đáng kể *Bacteroidota* (16,9 % so với 36,3% ở nhóm chứng) và tăng tỷ lệ F/B (3,7 so với 1,5 ở với nhóm chứng, $p = 0,0093$) [11].

Bacteroidota, một ngành vi khuẩn có lợi, sản xuất acid béo chuỗi ngắn (short-chain fatty acids: SCFAs) như acetate và propionate. SCFAs giúp duy trì hàng rào niêm mạc ruột, điều hòa miễn dịch và ức chế tăng sinh bất thường tế bào. Sự suy giảm *Bacteroidota* làm giảm SCFAs, rối loạn điều hòa biểu sinh và chuyển hóa năng lượng, dẫn đến viêm mạn tính và thúc đẩy hình thành, tiến triển UTĐTT [12]. Điều này có thể giải thích cho việc tăng tỷ lệ F/B ở mẫu UTĐTT trong nghiên cứu của chúng tôi.

Ngoài ra, chúng tôi còn khảo sát hệ vi sinh vật đường ruột ở một bệnh nhân polyp tuyến. Kết quả cho thấy tỷ lệ F/B ở mẫu polyp tuyến là 2,0, thấp hơn so với mẫu UTĐTT (4,1). Ghi nhận của chúng tôi khá tương đồng với nghiên cứu của El Leithy (2025) trên mẫu sinh thiết mô đại tràng của 15 bệnh nhân UTĐTT và 14 bệnh nhân polyp, với tỷ lệ F/B tăng ở nhóm UTĐTT so với nhóm polyp ($p = 0,0054$) [13].

4.2.2. Cấp độ chi

Ở mẫu chứng, thành phần vi sinh vật phản ánh

rõ nét đặc điểm hệ vi sinh vật đường ruột của người khỏe mạnh, với sự hiện diện ưu thế của nhiều chi vi khuẩn có lợi như *Bacteroides*, *Faecalibacterium* (sản xuất acid béo chuỗi ngắn) [12], *Lactobacillus* (duy trì cân bằng miễn dịch, chuyển hóa năng lượng và bảo vệ niêm mạc ruột) [14].

Ở mẫu polyp tuyến, *Prevotella* chiếm ưu thế, phản ánh thay đổi đáng chú ý trong thành phần hệ vi sinh đường ruột. *Prevotella* được biết đến có khả năng kích hoạt các phản ứng viêm mạn tính thông qua việc tương tác với hệ miễn dịch niêm mạc để tạo ra các cytokine tiền viêm như IL-6 và TNF- α , tạo điều kiện thuận lợi cho sự tiến triển từ polyp tuyến sang UTĐTT [15].

Về cấp độ chi, chúng tôi chưa ghi nhận dấu hiệu đặc trưng nào ở mẫu UTĐTT.

4.2.3. Cấp độ loài

Ở mẫu UTĐTT, chúng tôi ghi nhận được có sự xuất hiện của *Fusobacterium nucleatum* và *Enterococcus faecalis*, nhưng không có ở mẫu polyp tuyến và mẫu chứng. *Fusobacterium nucleatum* làm tăng tính ác tính của tế bào ung thư bằng cách kích hoạt các con đường tín hiệu hỗ trợ khối u và thay đổi hoạt động của các tế bào miễn dịch như đại thực bào và tế bào lympho T [16]. *Enterococcus faecalis* thúc đẩy tiến triển UTĐTT qua chuyển hóa bilirubin, giúp tế bào ung thư sống sót, tăng sinh khối u, kích hoạt tân sinh mạch, tăng IL-8 và tạo vi môi trường thuận lợi cho di căn sớm [17].

Ngoài ra, *Streptococcus gallolyticus* xuất hiện ở mẫu polyp tuyến và UTĐTT, không có mặt ở mẫu chứng. Vi khuẩn này kích hoạt quá trình ung thư thông qua tăng sinh bất thường tế bào, rối loạn tín hiệu nội bào, suy giảm miễn dịch, gây tổn thương DNA và viêm mạn tính [18].

Bacteroides fragilis được phát hiện ở cả mẫu chứng và mẫu UTĐTT, phù hợp với vai trò vi sinh vật cộng sinh. Tuy nhiên, các chủng sinh độc tố (enterotoxigenic *B. fragilis*: ETBF) mới liên quan đến sinh UTĐTT thông qua độc tố *B. fragilis* toxin (bft), gây cắt E-cadherin, giải phóng β -catenin, hoạt hóa con đường WNT/ β -catenin và các gene sinh ung thư (*MYC*, *CCND1*). Ngoài ra, bft còn kích hoạt IL-8 và tín hiệu MAPK, thúc đẩy viêm, tăng sinh tế bào và tạo vi môi trường ung thư [19]. Do nghiên cứu của chúng tôi không tiến hành định type độc tố vi khuẩn nên chưa thể xác định sự hiện diện của ETBF, vì vậy chưa thể suy luận sự khác biệt về vai trò của *B. fragilis* giữa mẫu chứng và mẫu UTĐTT.

Như vậy, chúng tôi đã tách chiết được DNA hệ vi sinh đường ruột từ 30 mẫu phân của ba nhóm chứng, polyp tuyến, UTĐTT và đã giải trình tự thành công trên ba mẫu đại diện cho ba nhóm. Bước đầu đã ghi nhận những dấu chứng đặc trưng của mỗi

mẫu. Đây là cơ sở để chúng tôi tiếp tục triển khai trên cỡ mẫu lớn hơn.

5. KẾT LUẬN

Qua việc tách chiết DNA từ 30 mẫu phân và phân tích hệ vi sinh vật của 3 mẫu đại diện, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

5.1. Tách chiết DNA hệ vi sinh đường ruột từ mẫu phân bằng Kit QIAamp PowerFecal Pro DNA có hiệu suất cao, độ tinh sạch tốt, khả năng khuếch đại vùng V3 - V4 gene 16S rRNA đạt yêu cầu, phù hợp với phân tích hệ vi sinh vật đường ruột.

5.2. Đã khảo sát được hệ vi sinh vật đường ruột ở ba mẫu nghiệm phẩm (được phân lập từ các bệnh nhân polyp tuyến, ung thư đại trực tràng và người bình thường) bằng kỹ thuật giải trình tự vùng V3 - V4 gene 16S rRNA, bước đầu ghi nhận được:

- Cấp độ ngành: tỷ lệ *Firmicutes/Bacteroidota* tăng ở mẫu ung thư đại trực tràng so với mẫu polyp tuyến và mẫu chứng.

- Cấp độ chi: *Prevotella* chiếm ưu thế ở mẫu polyp tuyến.

- Cấp độ loài: *Fusobacterium nucleatum*, *Enterococcus faecalis* và *Streptococcus gallolyticus* đều được phát hiện ở mẫu ung thư đại trực tràng và không xuất hiện ở mẫu chứng.

Lời cảm ơn: Đề tài này được hỗ trợ kinh phí từ Quỹ nghiên cứu khoa học của Đại học Huế, mã số đề tài DHH2025-04-230.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kim J, Gunathilake M, Yeo HY, Oh JH, Kim BC, Han N, et al. Fecal Microbial Dysbiosis is Associated with Colorectal Cancer Risk in a Korean Population. *Cancer Res Treat.* 2024 Jul 26;57(1):198-211.

2. Deng D, Zhao L, Song H, Wang H, Cao H, Cui H, et al. Microbiome analysis of gut microbiota in patients with colorectal polyps and healthy individuals. *Sci Rep.* 2025 Dec 1;15(1):7126

3. Périchon B, Lichtl-Häfele J, Bergsten E, Delage V, Trieu-Cuot P, Sansonetti P, et al. Detection of *Streptococcus gallolyticus* and Four Other CRC-Associated Bacteria in Patient Stools Reveals a Potential “Driver” Role for Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022 Mar 11; 12:794391

4. Rebersek M. Gut microbiome and its role in colorectal cancer. *BMC Cancer. BioMed Central Ltd;* 2021 Dec; 21:1325.

5. Qiagen. QIAamp® PowerFecal® Pro DNA Kit Handbook. 2020

6. Fernández-Pato A, Sinha T, Gacesa R, Andreu-Sánchez S, Gois MFB, Gelderloos-Arends J, et al. Choice of DNA extraction method affects stool microbiome recovery and subsequent phenotypic association analyses. *Sci Rep.* 2024 Dec 1;14(1):3911.

7. Rezasoltani S, Aghdaei HA, Jasemi S, Gazouli M,

Dovrolis N, Sadeghi A, et al. Oral Microbiota as Novel Biomarkers for Colorectal Cancer Screening. *Cancers (Basel).* 2023 Jan 1;15(1):192.

8. Illumina. 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation. Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System.

9. Lim MY, Park YS, Kim JH, Nam Y Do. Evaluation of fecal DNA extraction protocols for human gut microbiome studies. *BMC Microbiol.* 2020 Jul 17;20(1):212.

10. Singh G, Chaudhry Z, Boyadzhyan A, Sasaninia K, Rai V. Dysbiosis and colorectal cancer: conducive factors, biological and molecular role, and therapeutic prospects. *Explor Target Antitumor Ther.* 2025; 6:1002329.

11. Kadhim FJ, Aziz ZS, Ibrahim KS. Gut Microbiome Profiles in Colorectal Cancer Patients in Iraq. *Microbiol Res (Pavia).* 2025 Jan 1;16(1):22

12. Dong Y, Zhang K, Wei J, Ding Y, Wang X, Hou H, et al. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids regulate gastrointestinal tumor immunity: a novel therapeutic strategy? *Frontiers in Immunology. Frontiers Media S.A.* 2023 Apr; 14:1158200

13. El Leithy AA, Youssef ASED, Nassar A, Aziz RK, Khaled NM, Mahrous MT, et al. Long-read 16S rRNA amplicon sequencing reveals microbial characteristics in patients with colorectal adenomas and carcinoma lesions in Egypt. *Gut Pathog.* 2025 Dec 1;17(1):8.

14. Shah AB, Baiseitova A, Zahoor M, Ahmad I, Ikram M, Bakhsh A, et al. Probiotic significance of *Lactobacillus* strains: a comprehensive review on health impacts, research gaps, and future prospects. *Gut Microbes. Taylor and Francis Ltd.* 2024 Jan-Dec;16(1):2431643.

15. Lo CH, Wu DC, Jao SW, Wu CC, Lin CY, Chuang CH, et al. Enrichment of *Prevotella intermedia* in human colorectal cancer and its additive effects with *Fusobacterium nucleatum* on the malignant transformation of colorectal adenomas. *J Biomed Sci.* 2022 Dec 1;29(1):88.

16. Ou S, Wang H, Tao Y, Luo K, Ye J, Ran S, et al. *Fusobacterium nucleatum* and colorectal cancer: From phenomenon to mechanism. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. Frontiers Media S.A.* 2022 Nov 29; 12:1020583.

17. Zhang L, Liu J, Deng M, Chen X, Jiang L, Zhang J, et al. *Enterococcus faecalis* promotes the progression of colorectal cancer via its metabolite: biliverdin. *J Transl Med.* 2023 Feb 2;21(1):72.

18. Eldeglia HE, Abdel-Wahhab M, Moemen D. Association between *Streptococcus gallolyticus* and colorectal cancer in Mansoura University hospitals. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences.* 2021;8(1):397-406.

19. Dadgar-Zankbar L, Shariati A, Bostanghadiri N, Elahi Z, Mirkalantari S, Razavi S, et al. Evaluation of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* correlation with the expression of cellular signaling pathway genes in Iranian patients with colorectal cancer. *Infect Agent Cancer.* 2023 Dec 1;18(1):48.