

Nghiên cứu chẩn đoán nhiễm *Helicobacter pylori* bằng kỹ thuật PCR đặc hiệu gene *ureA* từ mẫu mô sinh thiết niêm mạc dạ dày ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng

Hà Thị Minh Thi, Nguyễn Thị Mai Ngân, Nguyễn Duy
Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

Mục tiêu: (1) So sánh phương pháp PCR đặc hiệu gene *ureA* và xét nghiệm nhanh urease (RUT) trong chẩn đoán nhiễm *H. pylori* từ mẫu mô sinh thiết niêm mạc dạ dày; (2) Xác định tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng bằng hai phương pháp PCR và RUT. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 106 bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng được lấy mẫu mô sinh thiết qua nội soi dạ dày để thực hiện RUT, rồi tách chiết DNA và thực hiện PCR với mồi đặc hiệu gene *ureA* của *H. pylori*. **Kết quả:** PCR đặc hiệu gene *ureA* và RUT tương đồng cao trong chẩn đoán nhiễm *H. pylori* ($\kappa = 0,885$; 95%CI: 0,796 – 0,974). Tuy nhiên, PCR phát hiện thêm 5 (10,4%) ca nhiễm *H. pylori* trong số RUT âm tính; và chỉ 1 (1,7%) ca RUT dương tính có kết quả PCR âm tính. Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* được chẩn đoán bằng kết hợp cả hai phương pháp là 53,7%. Tỷ lệ này cao nhất ở nhóm loét dạ dày - tá tràng, 75% ($p = 0,015$) và nhóm không biết về tiền sử nhiễm và điều trị, 63,5% ($p = 0,029$). **Kết luận:** Phương pháp PCR đặc hiệu gene *ureA* có thể giúp phát hiện nhiều trường hợp nhiễm *H. pylori* bị bỏ sót khi chẩn đoán bằng RUT. Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* còn khá cao, đặc biệt ở nhóm loét dạ dày - tá tràng, và nhóm không biết về tiền sử nhiễm và điều trị *H. pylori* của bản thân.

Từ khóa: Gene *ureA*, *H. pylori*, bệnh lý dạ dày - tá tràng

Abstract

Diagnosis of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens of patients with gastroduodenal diseases by polymerase chain reaction using *ureA* gene-specific primers

Ha Thi Minh Thi, Nguyen Thi Mai Ngan, Nguyen Duy
Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Objectives: (1) To compare PCR method using *ureA* gene-specific primers and rapid urease test (RUT) for the diagnosis of *H. pylori* infection in gastric biopsy specimens; and (2) to determine the prevalence of *H. pylori* infection among patients with gastroduodenal diseases by the combination of both methods. **Materials and method:** Gastric biopsy specimens were collected from by endoscopy from 106 patients with gastroduodenal diseases. *H. pylori* infection was determined by the rapid urease test (RUT), followed by the PCR using *ureA* gene-specific primers. **Results:** This study reveals a high-level concordance ($\kappa = 0.885$; 95%CI: 0.796 – 0.974) between PCR and RUT for the diagnosis of *H. pylori* infection. However, PCR detected *H. pylori* in 5 (10.4%) of RUT-negative patients; and only 1 (1.7%) of RUT-positive cases were PCR-negative. The prevalence of *H. pylori* infection diagnosed by both PCR and RUT methods was 53.7%. The *H. pylori* infection was prevalent in gastroduodenal ulcers and patients with unknown medical history, 75% ($p = 0.015$) and 63.5% ($p = 0.029$), respectively. **Conclusion:** PCR using *ureA* gene-specific primers can detect several cases with *H. pylori* infection overlooked by RUT. The prevalence of *H. pylori* infection was still high, particularly in gastroduodenal ulcers and patients with an unknown medical history.

Key words: rapid urease test (RUT), *H. pylori*, *ureA* gene-specific primers

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Helicobacter pylori (*H. pylori*) là một loại xoắn khuẩn, vi hiếu khí gây bệnh ở người. Khoảng 80% loét dạ dày và 95% loét hành tá tràng là do nhiễm *H. pylori* [1]. Từ năm 1994, Cơ quan nghiên cứu ung

thư quốc tế (IARC) đã xác nhận *H. pylori* là tác nhân gây ung thư dạ dày nhóm I [2]. Vi khuẩn này có thể nhiễm ở mọi lứa tuổi, với tỷ lệ ở các khu vực thay đổi từ 20–80% [1], tỷ lệ nhiễm ở Việt Nam khoảng 55,5–74,6% [3]. Việc chẩn đoán nhiễm *H. pylori* để

điều trị tiết trừ là hết sức cần thiết, đóng vai trò quan trọng trong dự phòng ung thư dạ dày.

Ngày nay, các kỹ thuật chẩn đoán nhiễm *H. pylori* đang được sử dụng chủ yếu dựa trên mẫu sinh thiết niêm mạc dạ dày như nuôi cấy, mô bệnh học, xét nghiệm nhanh urease (RUT: Rapid urease test) và kỹ thuật PCR (Polymerase chain reaction); hoặc chẩn đoán bằng kỹ thuật không xâm nhập như test thở, phát hiện kháng thể trong huyết thanh, phát hiện kháng nguyên trong phân... [1].

Việc nuôi cấy *H. pylori* đòi hỏi môi trường đặc hiệu, mất nhiều thời gian, tỷ lệ thành công phụ thuộc nhiều vào từng phòng xét nghiệm, vì vậy ít được sử dụng trong thực hành lâm sàng để chẩn đoán nhiễm *H. pylori*, mà thường chỉ được sử dụng khi cần chẩn đoán đề kháng kháng sinh [4]. Mô bệnh học được xem có độ nhạy và đặc hiệu cao, tuy nhiên nhiều nhà khoa học tỏ ra hoài nghi việc chỉ khảo sát hình thái vi khuẩn mà có thể khẳng định đó là *H. pylori* [1]. Test thở tuy có điểm thuận tiện cho bệnh nhân là không xâm nhập nhưng chi phí quá cao (giá thành đắt hơn cả nội soi chẩn đoán bệnh lý dạ dày – tá tràng) vì vậy thường ưu tiên sử dụng để theo dõi hiệu quả điều trị sau một liệu trình tiết trừ *H. pylori*.

Xét nghiệm nhanh urease (RUT) nhằm phát hiện enzyme urease của vi khuẩn *H. pylori* là loại enzyme giúp vi khuẩn này sống được trong môi trường acid dạ dày do phân hủy urea thành carbon dioxide và ammonia. RUT được thực hiện đơn giản và nhanh chóng tại phòng nội soi, tuy nhiên độ nhạy có thể giảm khi mật độ vi khuẩn thấp, ở bệnh nhân bị xuất huyết, hoặc có sử dụng các thuốc ức chế bơm proton, bismuth, kháng sinh [5]...

Với sự ra đời và phát triển không ngừng của các kỹ thuật sinh học phân tử, việc chẩn đoán nhiễm *H. pylori* có thể được thực hiện bằng kỹ thuật PCR khuếch đại gene đặc hiệu của vi khuẩn này như *ureA*, *ureC*, *16S rRNA*, *hpaA* [6]. Kỹ thuật PCR được thực hiện dựa trên DNA được chiết tách từ mẫu sinh thiết niêm mạc dạ dày, thậm chí là mẫu sinh thiết đã được thực hiện RUT. Chẩn đoán nhiễm *H. pylori* bằng kỹ thuật PCR có thể khắc phục được một số nhược điểm nói trên của RUT [7].

Mỗi kỹ thuật chẩn đoán đều có ưu nhược điểm nhất định và không có kỹ thuật đơn độc nào được xem là tiêu chuẩn vàng cho việc chẩn đoán xác định nhiễm *H. pylori*. Vì vậy việc phối hợp ít nhất hai phương pháp là biện pháp được khuyến cáo trong thực hành lâm sàng [1].

Tại Trung tâm Nội soi tiêu hóa, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế, chẩn đoán nhiễm *H. pylori* đã được thực hiện thường quy bằng phương pháp RUT. Năm 2017, chúng tôi đã khảo sát giá trị của việc

chẩn đoán nhiễm *H. pylori* bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu gene *ureC* và bước đầu cho kết quả đáng tin cậy [8]. Một số tác giả cho rằng bất kỳ một mẫu mô sinh thiết nào có kết quả dương tính với hai phản ứng PCR khuếch đại hai đoạn gene đích có trình tự bảo thủ khác nhau đều có thể cho phép chẩn đoán có nhiễm *H. pylori* [9]. Vì vậy, việc tối ưu hóa thêm một quy trình PCR chẩn đoán nhiễm *H. pylori* từ mẫu sinh thiết là điều cần thiết. Để nâng cao chất lượng chẩn đoán phục vụ điều trị bệnh, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm 2 mục tiêu sau:

(1) So sánh phương pháp PCR đặc hiệu gene *ureA* và xét nghiệm nhanh urease trong chẩn đoán nhiễm *Helicobacter pylori* từ mẫu mô sinh thiết niêm mạc dạ dày.

(2) Xác định tỷ lệ nhiễm *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng bằng phương pháp PCR đặc hiệu gene *ureA* kết hợp xét nghiệm nhanh urease.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân được nội soi dạ dày – tá tràng tại Trung tâm Nội soi Tiêu hóa, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế vì các dấu hiệu lâm sàng gợi ý bệnh lý dạ dày tá tràng (như đầy bụng, khó tiêu, đau, nóng rát vùng thượng vị, buồn nôn, nôn...), với kết quả nội soi có thương tổn niêm mạc dạ dày – tá tràng và có chỉ định sinh thiết niêm mạc dạ dày để chẩn đoán nhiễm *H. pylori* bằng RUT. Thời gian từ tháng 6 đến tháng 10 năm 2019.

Tiêu chuẩn loại trừ: Có điều trị kháng sinh và/hoặc bismuth trong vòng 4 tuần trước khi nội soi, điều trị kháng thụ thể H₂ histamin và/hoặc ức chế bơm proton trong vòng 2 tuần trước khi nội soi.

Cỡ mẫu: N = 106

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Bước 1: Chọn mẫu tại Trung tâm Nội soi Tiêu hóa

- Ghi nhận thông tin chung của bệnh nhân, thăm khám lâm sàng, kết quả nội soi.

- Thu thập mẫu mô sinh thiết niêm mạc dạ dày.

Bước 2: Xét nghiệm nhanh urease (RUT)

- Thực hiện RUT trên các mẫu sinh thiết niêm mạc dạ dày của bệnh nhân bằng bộ kit Urease N.S VA.A01-001A (Việt Á).

- Kết quả dương tính được xác định nếu chất thử chuyển từ màu vàng sang đỏ trong vòng 30 phút sau khi đặt mẫu mô sinh thiết vào ống thử; kết quả âm tính nếu chất thử không đổi màu.

- Những mẫu mô sinh thiết sau khi đọc kết quả RUT được chuyển vào ống đựng dung dịch TE, rồi chuyển lên Bộ môn Di truyền Y học, Trường Đại học Y Dược Huế để lưu trữ ở -20°C và phân tích DNA.

Bước 3: Tách chiết DNA từ mẫu mô sinh thiết đã được thực hiện RUT

- Mẫu mô sinh thiết được nghiền nhỏ trong dung dịch TE, sau đó tách DNA bằng bộ sinh phẩm Wizard Genomic DNA Purification (Promega), theo protocol chuẩn.

- Dung dịch DNA sau khi tách chiết được đo nồng độ và đánh giá độ tinh sạch bằng máy NanoDrop, rồi lưu trữ ở -20°C cho đến khi phân tích.

Bước 4: Chẩn đoán nhiễm *H. pylori* bằng kỹ thuật PCR đặc hiệu gene *ureA*

- Hóa chất thực hiện PCR: GoTaq Green Master-Mix (Promega)

- Cặp mồi đặc hiệu gene *ureA* của *H. pylori* được thiết kế bởi Vinette [10] với trình tự mồi như sau:

HpF1: 5'- GATAAGTTGATGCTCCACTACGCTG -3'

HpB25: 5'- CTCAATAGGGGTATGCACGGTTAC -3'

- Thành phần phản ứng: 12,5 µl GoTaq Green MasterMix (Promega), 10 pmol mỗi mồi, 100 ng DNA khuôn mẫu và nước cất cho đủ 25 µl.

- Điều kiện nhiệt độ: Biến tính ban đầu 95°C, 5 phút; 30 chu kỳ 95°C 1 phút, 62°C 1 phút, 72°C 1 phút; kéo dài cuối cùng 72°C 8 phút (Máy Applied Biosystems 2720).

- Đọc kết quả: Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% có bổ sung Red view (thuốc nhuộm DNA), hiệu điện thế 80V, 30 phút, kèm thang chuẩn 100 bp. Xem hình ảnh điện di dưới đèn cực tím. Kích thước sản phẩm là 279 bp. Đọc kết quả chỉ khi sản phẩm PCR xuất hiện ở mẫu chứng dương và không có ở mẫu chứng âm. Có sản phẩm PCR: nhiễm *H. pylori*, không có sản phẩm PCR: không nhiễm *H. pylori*.

3. KẾT QUẢ

3.1. Đặc điểm nhóm nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Số	Tỷ lệ %
Tuổi (± SD = 41,2 ± 14,1)		
< 40	51	48,1
≥ 40	55	51,9
Giới		
Nam	54	50,9
Nữ	52	49,1
BMI (*)		
Gầy	9	8,5
Bình thường	69	65,1
Tiền béo phì	23	21,7
Béo phì	5	4,7
TỔNG	106	100

(*): BMI được phân nhóm theo tiêu chuẩn dành riêng cho người châu Á (IDI&WPRO).

Tỷ lệ các nhóm tuổi, giới tính tương đương nhau. Phần lớn các bệnh nhân có BMI bình thường.

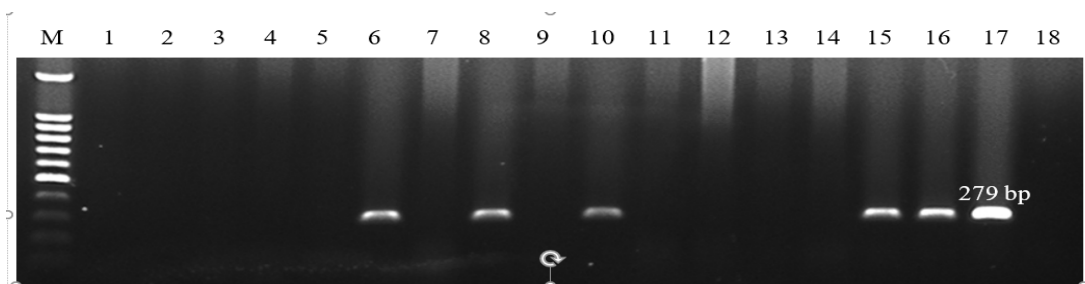
Bảng 2. Đặc điểm bệnh lý dạ dày – tá tràng

Đặc điểm lâm sàng	Số	Tỷ lệ %
Bệnh lý dạ dày – tá tràng		
Viêm dạ dày (n = 75)		70,8
Viêm hang-thân vị	36	48,0
Viêm hang vị	35	46,7
Viêm thân vị	4	5,3
Loét dạ dày – tá tràng (n = 28)		26,4
Loét dạ dày-tá tràng	4	14,3
Loét thân vị	1	3,6
Loét hang vị	7	25,0
Loét bờ cong nhỏ	1	3,6
Loét tá tràng	15	53,6
Khó tiêu chức năng (FD) (n = 3)	3	2,8

Tiền sử nhiễm và điều trị <i>H. pylori</i>		
<i>H. pylori</i> (+), có điều trị thành công	38	35,8
<i>H. pylori</i> (-)	5	4,7
Không biết	63	59,4
TỔNG	106	100

Đa số các bệnh nhân thuộc nhóm viêm dạ dày. Khoảng một phần ba số bệnh nhân có tiền sử điều trị *H. pylori* thành công. Hơn một nửa số bệnh nhân không biết tiền sử bệnh lý.

3.2. Kết quả chẩn đoán nhiễm *H. pylori*



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR chẩn đoán nhiễm *H. pylori*

M: thang chuẩn 100 bp; làn 17 chứng dương; làn 18 chứng âm.

Làn 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13, 14: kết quả PCR âm tính.

Làn 6, 8, 10, 15, 16: kết quả PCR dương tính.

Bảng 3. So sánh độ tương đồng giữa hai phương pháp chẩn đoán nhiễm *H. pylori*

Phương pháp chẩn đoán	RUT (%)		Tổng
	Dương tính	Âm tính	
PCR	Dương tính	57 (98,3)	62 (58,5)
	Âm tính	1 (1,7)	44 (41,5)
	Tổng	58 (54,7)	48 (45,3)

Hệ số Cohen's Kappa: $\kappa = 0,885$ (95%CI: 0,796 – 0,974); p (McNemar test) = 0,219

Hai phương pháp PCR đặc hiệu gene *ureA* và RUT tương đồng trong chẩn đoán nhiễm *H. pylori*. 10,4% ca RUT (-) có kết quả PCR (+); và chỉ 1,7% ca RUT (+) có PCR (-).

Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* được chẩn đoán bằng PCR cao hơn RUT 3,8%, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (kiểm định McNemar).

3.3. Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở bệnh nhân dạ dày-tá tràng được chẩn đoán bằng kết hợp cả hai phương pháp PCR đặc hiệu gene *ureA* và RUT

Bảng 4. Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* được chẩn đoán bằng kết hợp cả hai phương pháp

Đặc điểm nhóm nghiên cứu	Số ca (+)	Tỷ lệ %	p
Tuổi			
< 40 (n = 51)	29	56,9	0,538 (*)
≥ 40 (n = 55)	28	50,9	
Giới			
Nam (n = 54)	33	61,1	0,123 (*)
Nữ (n = 52)	24	46,2	
BMI			
Gầy (n = 9)	5	55,6	0,983 (**)
Bình thường (n = 69)	36	52,2	
Tiền béo phì (n = 23)	13	56,5	
Béo phì (n = 5)	3	60,0	
TỔNG (n = 106)	57	53,7	

(*): Kiểm định Chi bình phương; (**): Kiểm định Fisher's exact

Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* được chẩn đoán bằng kết hợp cả hai phương pháp là 53,7%. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ nhiễm giữa các nhóm khi xét theo theo tuổi, giới và BMI.

Bảng 5. Mối liên quan giữa nhiễm *H. pylori* và bệnh lý dạ dày – tá tràng

Đặc điểm lâm sàng	Số ca (+)	Tỷ lệ %	p (Fisher's exact)
Bệnh lý dạ dày – tá tràng			0,015
Viêm (n = 75)	35	46,7	
Loét (n = 28)	21	75,0	
Khó tiêu chức năng (n = 3)	1	33,3	
Tiền sử nhiễm và điều trị <i>H. pylori</i>			0,029
<i>H. pylori</i> (+), có điều trị (n = 38)	16	42,1	
<i>H. pylori</i> (-) (n = 5)	1	20,0	
Không biết (n = 63)	40	63,5	
TỔNG (n = 106)	57	53,7	

Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* cao nhất ở nhóm loét dạ dày – tá tràng và nhóm không biết về tiền sử nhiễm và điều trị, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

4. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm nhóm nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện trên 106 bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng được nội soi chẩn đoán tại Trung tâm Nội soi tiêu hóa, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế. Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $41,2 \pm 14,1$, trong đó nhóm dưới 40 tuổi chiếm 48,1%, nhóm từ 40 tuổi trở lên chiếm 51,9%. Tỷ lệ nam và nữ trong nhóm nghiên cứu không có sự khác biệt, lần lượt là 50,9% và 49,1%. Phần lớn các bệnh nhân có BMI ở mức bình thường, 65,1% (Bảng 1).

Về các bệnh lý dạ dày – tá tràng, đa số trong nhóm nghiên cứu là viêm dạ dày, với phần lớn là viêm hang vị có hoặc không có kèm viêm thân vị, chiếm 70,8%. Bệnh loét dạ dày – tá tràng chiếm 26,4%, trong đó hơn một nửa là loét tá tràng. Chỉ có 3 trường hợp, chiếm 2,8% là bệnh lý khó tiêu chức năng (FD). Trong số các bệnh nhân thuộc nhóm nghiên cứu, 35,8% có tiền sử nhiễm *H. pylori* và đã được điều trị, có 4,7% đã từng nội soi chẩn đoán bệnh dạ dày–tá tràng và xác định không nhiễm *H. pylori*. Đặc biệt, có đến 59,4% bệnh nhân không biết rõ tiền sử bệnh lý và tình trạng nhiễm *H. pylori* cũng như các phác đồ điều trị (Bảng 2).

4.2. Kết quả chẩn đoán nhiễm *H. pylori* bằng PCR và RUT

Kết quả điện di sản phẩm PCR đặc hiệu gene *ureA* ở Hình 1 cho thấy các băng phù hợp kích thước 279 bp, không có băng sản phẩm không đặc hiệu. Chứng dương và chứng âm đạt tiêu chuẩn.

Kết quả so sánh độ tương đồng giữa hai phương pháp chẩn đoán nhiễm *H. pylori* cho thấy hệ số Cohen's Kappa: $\kappa = 0,885$ (95%CI: 0,796–0,974). Như vậy, hai phương pháp của nghiên cứu này có độ tương đồng cao trong chẩn đoán nhiễm *H. pylori*.

Tuy nhiên, phương pháp PCR tỏ ra ưu thế hơn khi phát hiện thêm 5 (10,4%) trường hợp nhiễm *H. pylori* nhưng kết quả RUT âm tính, trong khi đó PCR chỉ âm tính ở 1 (1,7%) trường hợp có RUT dương tính (Bảng 3). Do đó, tỷ lệ nhiễm *H. pylori* được phát hiện bằng phương pháp PCR là 58,5%, cao hơn 3,8% so với phương pháp RUT (chỉ 54,7%). Tuy nhiên, kiểm định McNemar cho thấy sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê, có lẽ do cỡ mẫu khảo sát còn nhỏ (n = 106).

Một số nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy sự khác biệt trong phát hiện nhiễm *H. pylori* giữa hai phương pháp PCR và RUT, với ưu thế thuộc về phương pháp PCR, như nghiên cứu của Oktem-Okullu trên 109 bệnh nhân cho thấy PCR phát hiện được 28 trường hợp nhiễm *H. pylori* âm tính với RUT, trong khi PCR chỉ âm tính ở 6 trường hợp có RUT dương tính, hệ số Kappa trong nghiên cứu của tác giả là 0,34 (tương đồng yếu) [11]. Nghiên cứu của Lage trên 104 bệnh nhân cho thấy tỷ lệ nhiễm *H. pylori* được phát hiện bằng PCR và RUT lần lượt là 38,5% và 34,6%, chênh lệch 3,9% tương tự như nghiên cứu của chúng tôi [12]. Nghiên cứu của Nevoa trên 85 mẫu cho thấy tỷ lệ phát hiện nhiễm *H. pylori* của RUT chỉ 17,6%, trong khi của PCR là 83,4% [13].

Trong chẩn đoán nhiễm *H. pylori* bằng phương pháp RUT, khả năng âm tính giả có thể cao vì sự sử dụng kháng sinh, bismuth hoặc ức chế bơm proton trước đó, đây cũng là lý do dẫn đến sự chênh lệch cao về tỷ lệ dương tính giữa hai phương pháp chẩn đoán trong nghiên cứu của Nevoa, tác giả đã không loại trừ các bệnh nhân sử dụng thuốc trước đó 2-4 tuần. Ngược lại, nghiên cứu của chúng tôi đã loại trừ những bệnh nhân dùng kháng sinh hoặc bismuth trong vòng 4 tuần, ức chế bơm proton trong vòng 2

tuần trước khi xét nghiệm, nên những trường hợp âm tính với RUT nhưng dương tính với PCR là do yếu tố khác. Những nguyên nhân lý giải trong trường hợp này là độ nhạy của RUT có thể bị ảnh hưởng bởi số lượng và khả năng sống của vi khuẩn trong mẫu mô sinh thiết [13]. Vì vậy, việc chẩn đoán nhiễm *H. pylori* bằng phương pháp PCR có thể khắc phục được hạn chế này của RUT.

4.3. Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở bệnh nhân dạ dày – tá tràng được chẩn đoán bằng kết hợp cả hai phương pháp PCR đặc hiệu gene *ureA* và RUT

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy tỷ lệ nhiễm *H. pylori* khi chẩn đoán bằng kết hợp cả hai phương pháp PCR đặc hiệu gene *ureA* và RUT là 53,7%. Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* này nằm trong phạm vi tỷ lệ nhiễm chung ở các bệnh nhân dạ dày – tá tràng ở Việt Nam, 55,5–74,6% [3]. Một nghiên cứu cắt ngang trên 270 bệnh nhân được nội soi dạ dày – tá tràng tại các bệnh viện thành phố Hồ Chí Minh và Hà Nội năm 2010 có tỷ lệ nhiễm *H. pylori* là 65,6% [14].

Một khảo sát năm 2014 – 2015 tại miền Trung trên 412 bệnh nhân viêm dạ dày mạn có tỷ lệ nhiễm *H. pylori* là 59,5%, tương đương tỷ lệ nhiễm hiện nay. Nhìn chung, tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở các bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng tại Việt Nam hầu như trên 50%. Thực trạng này đặt ra một gánh nặng về y tế cũng như kinh tế trong việc điều trị triệt trừ vi khuẩn *H. pylori*. Do phác đồ điều trị *H. pylori* khá phức tạp, phối hợp nhiều thuốc vừa kháng sinh vừa ức chế bơm proton, đồng thời phác đồ này có nhiều tác dụng phụ cho bệnh nhân như mệt mỏi, mất ngủ, buồn nôn... nên tỷ lệ không tuân thủ phác đồ điều trị khá cao. Ngoài ra, do tình hình sử dụng kháng sinh ở Việt Nam khá tùy tiện làm gia tăng tỷ lệ đề kháng của *H. pylori* với các kháng sinh thuộc các phác đồ điều trị như clarithromycin, levofloxacin, tetracycline và metronidazole [15], [16]. Đó là những lý do làm cho tỷ lệ nhiễm *H. pylori* hầu như không hề giảm, mặc dù điều kiện kinh tế của đa số bệnh nhân đủ để áp dụng các phác đồ điều trị tiêu chuẩn.

Kết quả ở Bảng 4 còn cho thấy sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm *H. pylori* theo tuổi, giới và BMI trong nghiên cứu này không có ý nghĩa thống kê. Hầu hết các nghiên cứu về nhiễm *H. pylori* ở các vùng khác nhau của Việt Nam đều cho thấy không có sự khác biệt về tuổi giới trong tỷ lệ nhiễm [8]. Nghiên cứu của Aftab tại Bangladesh trên 133 bệnh nhân dạ dày – tá tràng cũng cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm *H. pylori* giữa các nhóm tuổi và giới [17]. Trong khi đó, một nghiên cứu của Siddiqui ở Pakistan trên 698 bệnh nhân dạ dày – tá tràng cho thấy tỷ lệ nhiễm *H. pylori* nổi trội ở nhóm tuổi 31 – 50 tuổi [18]. Ngoài ra, nghiên cứu của tác giả Siddiqui còn

cho thấy nhóm BMI > 23,1 có tỷ lệ nhiễm *H. pylori* cao hơn nhóm còn lại, với OR = 2,91 (95% CI: 2,01 – 4,20) [18]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở nhóm gầy và bình thường là 55,6% và 52,2%, trong khi ở nhóm tiền béo phì và béo phì là 56,5% và 60,0%; tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi còn khảo sát mối liên quan giữa tỷ lệ nhiễm *H. pylori* và các nhóm bệnh lý dạ dày – tá tràng, cũng như các nhóm có và không có tiền sử điều trị *H. pylori*. Kết quả ở Bảng 5 cho thấy, tỷ lệ nhiễm *H. pylori* cao nhất ở nhóm loét dạ dày – tá tràng, lên đến 75%; trong khi ở nhóm viêm dạ dày tỷ lệ nhiễm là 46,7%; và đặc biệt ở nhóm khó tiêu chức năng chỉ 33,3%; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, với $p = 0,015$. Theo y văn, khoảng 80% loét dạ dày và 95% loét hành tá tràng là do nhiễm *H. pylori* [1], trong khi đó viêm dạ dày và khó tiêu chức năng có thể do nhiều nguyên nhân tiềm tàng khác ngoài yếu tố *H. pylori* nên tỷ lệ nhiễm *H. pylori* trong nhóm loét cao hơn nhóm viêm và khó tiêu chức năng là hoàn toàn hợp lý. Khó tiêu chức năng là một rối loạn của dạ dày mà có thể do nhiều nguyên nhân khác nhau, phần lớn là do yếu tố tâm thần như stress, trầm cảm, trạng thái lo lắng; hoặc lối sống, chế độ ăn...[19]. Vì vậy, khá nhiều bệnh nhân rối loạn khó tiêu chức năng bị bỏ sót xét nghiệm chẩn đoán nhiễm *H. pylori*. Tuy nhiên theo Suzuki, điều trị triệt trừ *H. pylori* cho bệnh nhân khó tiêu chức năng có nhiễm vi khuẩn này đã cải thiện triệu chứng kể, đặc biệt là ở các nước châu Á, nơi mà tỷ lệ nhiễm vi khuẩn này khá cao, thì hiệu quả điều trị càng gia tăng đáng kể [20].

Đối với các bệnh nhân dạ dày – tá tràng có nhiễm *H. pylori* thì ý thức tuân thủ liệu trình điều trị là hết sức quan trọng, ngoài ra cần phải có kế hoạch theo dõi lâu dài cho bệnh nhân, đề phòng tái nhiễm cũng như kháng trị. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ tái nhiễm trong nhóm đã có tuân thủ phác đồ điều trị là 42,1%. Điều này cho thấy yếu tố sinh hoạt gia đình và cộng đồng đóng vai trò khá quan trọng. Những thói quen không tốt trong ăn uống của người Việt Nam như dùng đũa, muỗng lấy thức ăn chung, dùng chung nước chấm thức ăn... là những yếu tố nguy cơ cần tránh. Ngoài ra, trong nghiên cứu này có đến 63 bệnh nhân (chiếm 59,4%) không hề biết bản thân đã có nhiễm *H. pylori* và điều trị hay chưa. Trong số này, có thể có nhiều người bị nhiễm và đã điều trị mà không biết. Việc không có ý thức về bệnh tình của bản thân cho thấy nhóm này có thể có tỷ lệ khá cao không tuân thủ phác đồ điều trị. Đây cũng là một nguyên nhân quan trọng làm gia tăng tỷ lệ đề kháng kháng sinh của *H. pylori*. Vì vậy, tỷ lệ nhiễm *H.*

pylori hiện nay tăng cao ở nhóm bệnh nhân không biết tiền sử nhiễm và điều trị *H. pylori* là điều hợp lý. Tỷ lệ nhiễm ở nhóm này lên đến 63,5%, cao hơn so với nhóm có điều trị mà tái nhiễm (42,1%) và nhóm tiền sử âm tính nhưng nay dương tính (20%), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, $p = 0,029$.

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu trên 106 bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng được chẩn đoán bằng nội soi, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

5.1. Chẩn đoán nhiễm *H. pylori* bằng phương pháp PCR đặc hiệu gene *ureA* thực hiện từ mẫu mô sinh thiết có tỷ lệ tương đồng cao với xét nghiệm nhanh urease (RUT), tuy nhiên phương pháp chẩn đoán bằng PCR có thể giúp phát hiện nhiều trường hợp bị bỏ sót khi chẩn đoán đơn thuần bằng RUT.

5.2. Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở các bệnh nhân dạ dày – tá tràng còn khá cao, đặc biệt ở nhóm bệnh loét dạ dày – tá tràng, và nhóm không biết về tiền sử nhiễm và điều trị *H. pylori* của bản thân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Patel SK, Pratap CB, Jain AK, Gulati AK, Nath G, (2014), Diagnosis of Helicobacter pylori: What should be the gold standard?. *World J Gastroenterol*, 20(36), 12847–12859.
- IARC Helicobacter pylori Working Group, (2014), Helicobacter pylori eradication as a strategy for preventing gastric cancer. *International Agency for Research on Cancer 150 cours Albert Thomas Lyon Cedex 08, France*. Lyon, France, 1–59.
- Ha TMT, Le TNU, Nguyen VN, Tran VH, (2019), Association of TP53 gene codon 72 polymorphism with Helicobacter pylori-positive non-cardia gastric cancer in Vietnam. *J Infect Dev Ctries*, 13(11), 984–991.
- Megraud F, (1997), How should Helicobacter pylori infection be diagnosed?. *Gastroenterology*, 113(6 SUPPL.).
- Lerang F, Moum B, Mowinckel P, Haug JB, Ragnhildstveit E, Berge T, Bjørneklett A, (1998), Accuracy of seven different tests for the diagnosis of Helicobacter pylori infection and the impact of H2-receptor antagonists on test results. *Scand J Gastroenterol*, 33(4), 364–369.
- Khalifehgholi M, Shamsipour F, Ajhdarkosh H, Daryani NE, Reza Pourmand M, Hosseini M, Ghasemi A, Hasan Shirazi M, (2013), Comparison of five diagnostic methods for Helicobacter pylori. *Iran J Microbiol*, 5(4), 396–401.
- Wahab H, Khan T, Ahmad I, Jan A, (2015), Detection of *H. pylori* by PCR method using ureA and ureC gene in gastric biopsy sample Detection of *H. pylori* By PCR Method using UreA and UreC Gene in Gastric Biopsy Sample. *J Pure Appl Microbiol* ·, 9(January), 50–55.
- Hà TMT, Trần VH, (2017), Chẩn đoán nhiễm Helicobacter pylori bằng kỹ thuật PCR (polymerase chain reaction) ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn. *Tạp Chí Nội Khoa*, 4, 274–282.
- Cirak MY, Yilmaz D, Turet S, Ozdek A, Bayiz U, Samim E, (2003), Detection of Helicobacter pylori and Its CagA Gene in Tonsil and Adenoid Tissues by PCR. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg*, 129(11), 1225–1229.
- Vinette KMB, Gibney KM, Proujansky R, Fawcett PT, (2004), Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing *H. pylori* infection in pediatric patients. *BMC Microbiol*, 4, 1–7.
- Oktem-Okullu S, Tiftikçi A, Saruc M, Cicek B, Vardareli E, Tozun N, Kocagöz T, Sezerman U, Yavuz A-S, Sayi-Yazgan A, (2017), A Multiplex - Urease PCR Assay for Detection of Helicobacter pylori Infection Directly from Gastric Biopsy Specimens and Comparison of Multiplex - Urease PCR Results with Rapid Urease Test and Histopathology. *Clin Microbiol*, 6(2), 3–6.
- Lage AP, Godfroid E, Fauconnier A, Burette A, Butzler JP, Bollen A, Glupczynski Y, (1995), Diagnosis of Helicobacter pylori infection by PCR: Comparison with other invasive techniques and detection of cagA gene in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol*, 33(10), 2752–2756.
- Nevoa R, Menezes G, Lopes A, Hemelly F, Morelli M, Barbosa M, (2017), Molecular technique for detection and identification of Helicobacter pylori in clinical specimens: a comparison with the classical diagnostic method. *J Bras Patol e Med Lab*, 53(February), 13–19.
- Nguyen T., Uchida T, Tsukamoto Y, Trinh DT, Ta L, Mai BH, Le SH, Thai KD, Ho DD, Hoang HH, Matsuhisa T, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Fujioka T, Yamaoka Y, Moriyama M, (2010), Helicobacter pylori infection and gastroduodenal diseases in Vietnam: A cross-sectional, hospital-based study. *BMC Gastroenterol*, 10, no pagination.
- Phan TN, Santona A, Tran VH, Tran TNH, Le VA, Cappuccinelli P, Rubino S, Paglietti B, (2015), High rate of levofloxacin resistance in a background of clarithromycin- and metronidazole-resistant Helicobacter pylori in Vietnam. *Int J Antimicrob Agents*, 45(3), 244–248.
- Tran VH, Ha TMT, Le PTQ, Phan TN, Tran TNH, (2019), Characterisation of point mutations in domain V of the 23S rRNA gene of clinical Helicobacter pylori strains and clarithromycin-resistant phenotype in central Vietnam. *J Glob Antimicrob Resist*, 16, 87–91.
- Aftab H, Yamaoka Y, Ahmed F, Khan AKA, Subsomwong P, Miftahussurur M, Uchida T, Malaty HM, (2018), Validation of diagnostic tests and epidemiology of Helicobacter pylori infection in Bangladesh. *J Infect Dev Ctries*, 12(5), 305–312.
- Siddiqui B, Yakoob J, Abbas Z, Azmat R, Fatima SS, Awan S, (2018), Distribution of Helicobacter pylori infection and abnormal body-mass index (BMI) in a developing country. *J Infect Dev Ctries*, 12(5), 342–346.
- Madisch A, Andresen V, Enck P, Labenz J, Frieling T, Schemann M, (2018), The diagnosis and treatment of functional dyspepsia. *Dtsch Arztebl Int*, 115(13), 222–232.
- Suzuki H, Moayyedi P, (2013), Helicobacter pylori infection in functional dyspepsia. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 10(3), 168–174.