

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC

PHẠM NGỌC DOANH

**NGHIÊN CỨU TỶ LỆ KHÁNG CLARITHROMYCIN
CỦA *HELICOBACTER PYLORI* BẰNG PHƯƠNG PHÁP
PCR-RFLP VÀ KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ CỦA PHÁC ĐỒ NỐI
TIẾP CẢI TIẾN RA-RLT Ở BỆNH NHÂN VIÊM DẠ DÀY MẠN**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HUẾ - NĂM 2019

**ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC**

PHẠM NGỌC DOANH

**NGHIÊN CỨU TỶ LỆ KHÁNG CLARITHROMYCIN
CỦA *HELICOBACTER PYLORI* BẰNG PHƯƠNG PHÁP
PCR-RFLP VÀ KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ CỦA PHÁC ĐỒ NỐI
TIẾP CẢI TIẾN RA-RLT Ở BỆNH NHÂN VIÊM DẠ DÀY MẠN**

Chuyên ngành: Nội khoa

Mã số: 972 01 07

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học

PGS. TS Trần Văn Huy

HUẾ - NĂM 2019

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác, có gì sai sót tôi xin chịu hoàn toàn trách nhiệm.

Tác giả Luận án

Phạm Ngọc Doanh

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	4
1.1. <i>Helicobacter pylori</i>	4
1.1.1. Dịch tễ học	4
1.1.2. Cơ chế gây bệnh của <i>H. pylori</i>	7
1.1.3. Viêm dạ dày mạn tiến triển do <i>H. pylori</i>	13
1.2. Đề kháng clarithromycin và phát hiện gen đề kháng bằng PCR-RFLP	15
1.2.1. Tình hình đề kháng kháng sinh của <i>H. pylori</i>	15
1.2.2. Tầm quan trọng và cơ chế đề kháng clarithromycin của <i>H. pylori</i>	17
1.2.3. Phương pháp PCR-RFLP phát hiện đề kháng clarithromycin của <i>H. pylori</i>	19
1.2.4. Các nghiên cứu đột biến đề kháng clarithromycin có liên quan đến đề tài luận án	23
1.3. Phác đồ nối tiếp có levofloxacin trong điều trị <i>H. pylori</i>	27
1.3.1. Phác đồ nối tiếp.....	27
1.3.2. Các cải tiến của phác đồ nối tiếp.....	33
1.3.3. Phác đồ nối tiếp cải tiến có levofloxacin	35
1.3.4. Các nghiên cứu phác đồ nối tiếp có liên quan với đề tài	37
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	40
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	40
2.1.1. Tiêu chuẩn chọn mẫu	40
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ	41
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	41
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	41
2.2.2. Cỡ mẫu	41
2.2.3. Các bước tiến hành nghiên cứu.....	42

2.2.4. Ghi nhận dữ liệu lâm sàng lần đầu.....	43
2.2.5. Thực hiện nội soi tiêu hóa trên.....	43
2.2.6. Đánh giá trên mô bệnh học	47
2.2.7. Thực hiện phát hiện <i>H. pylori</i> bằng PCR và phát hiện đề kháng clarithromycin bằng RFLP.....	50
2.2.8. Ghi nhận dữ liệu đánh giá kết quả điều trị.....	54
2.3. Xử lý thống kê.....	55
2.4. Đạo đức trong nghiên cứu y học	57
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	59
3.1. Kết quả nghiên cứu đột biến đề kháng clarithromycin của <i>H. pylori</i> bằng phương pháp PCR-RFLP	59
3.1.1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu.....	59
3.1.2. Kết quả xét nghiệm đột biến điểm đề kháng clarithromycin.....	65
3.1.3. Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với các đặc điểm khác	67
3.2. Kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> của phác đồ nối tiếp RA-RLT ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn	72
3.2.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu	72
3.2.2. Kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn nói chung.....	74
3.2.3. Mối liên quan giữa kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> bằng phác đồ nối tiếp RA-RLT với các đặc điểm khác.....	76
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	82
4.1. Nghiên cứu đột biến đề kháng clarithromycin bằng phương pháp PCR-RFLP	82
4.1.1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu.....	82
4.1.2. Kết quả xét nghiệm đột biến đề kháng clarithromycin bằng phương pháp PCR-RFLP.....	90
4.1.3. Mối liên quan giữa đột biến với các đặc điểm khác	97

4.2. Kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> và tính an toàn của phác đồ nối tiếp RA-RLT.....	101
4.2.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu	101
4.2.2. Kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> của phác đồ nối tiếp RA-RLT	101
4.2.3. Mối liên quan giữa hiệu quả tiết trừ <i>H. pylori</i> với các đặc điểm khác	114
4.3. Hạn chế của nghiên cứu	118

KẾT LUẬN..... 120

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN..... 119

TÀI LIỆU THAM KHẢO

PHỤ LỤC

PHỤ LỤC HÌNH

PHIẾU THU THẬP SỐ LIỆU

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> của 2 phác đồ	29
Bảng 1.2. Tỷ lệ tiết trừ <i>H. pylori</i> trong một số nghiên cứu	30
Bảng 2.1. Đánh giá mức độ viêm mạn.....	49
Bảng 2.2. Đánh giá mức độ viêm hoạt động.....	49
Bảng 2.3. Đánh giá mức độ viêm teo.....	49
Bảng 2.4. Đánh giá mức độ nhiễm <i>H. pylori</i>	50
Bảng 2.5. Các thành phần tham gia phản ứng trong PCR-RFLP	53
Bảng 3.1. Phân bố giới tính của mẫu nghiên cứu	59
Bảng 3.2. Phân bố tuổi trung bình theo giới tính.....	60
Bảng 3.3. Phân bố nhóm tuổi của mẫu	60
Bảng 3.4. Phân bố theo địa dư	60
Bảng 3.5. Phân bố theo tiền sử điều trị <i>H. pylori</i>	61
Bảng 3.6. Phân bố các vị trí tổn thương trên nội soi.....	62
Bảng 3.7. Phân bố các dạng viêm dạ dày trên nội soi	62
Bảng 3.8. Phân bố mức độ viêm mạn vùng hang vị trên mô bệnh học	63
Bảng 3.9. Mức độ nhiễm <i>H. pylori</i>	64
Bảng 3.10. Phân bố đề kháng clarithromycin theo giới tính	67
Bảng 3.11. Mối liên quan giữa đề kháng clarithromycin với tuổi trung bình	67
Bảng 3.12. Phân bố đột biến đề kháng clarithromycin theo nhóm tuổi.....	68
Bảng 3.13. Phân bố đột biến đề kháng clarithromycin theo đặc điểm địa dư	68
Bảng 3.14. Phân bố đột biến theo mức độ viêm mạn	69
Bảng 3.15. Phân bố đột biến theo mức độ viêm hoạt động trên mô bệnh học	70
Bảng 3.16. Phân bố đột biến theo mức độ viêm teo hang vị trên nội soi	70
Bảng 3.17. Phân bố đột biến theo mức độ nhiễm <i>H. pylori</i>	71
Bảng 3.18. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến mối liên quan và ảnh hưởng của các yếu tố lên đột biến đề kháng clarithromycin của <i>H. pylori</i>	71

Bảng 3.19. Đặc đặc điểm của mẫu và so sánh với mẫu trong mục tiêu 1	72
Bảng 3.20. Tỷ lệ đột biến đề kháng clarithromycin.....	73
Bảng 3.21. Kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> theo phân tích PP	74
Bảng 3.22. Kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> theo phân tích ITT	74
Bảng 3.23. Kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> theo đột biến đề kháng clarithromycin (phân tích PP).....	74
Bảng 3.24. Phân bố tiết trừ <i>H. pylori</i> theo đột biến đề kháng clarithromycin (phân tích ITT)	75
Bảng 3.25. Tỷ lệ bệnh nhân có tác dụng phụ.....	75
Bảng 3.26. Mức độ các tác dụng phụ.....	76
Bảng 3.27. Phân bố tiết trừ <i>H. pylori</i> theo giới tính	76
Bảng 3.28. Tuổi trung bình theo kết quả điều trị	77
Bảng 3.29. Phân bố kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> theo địa dư	77
Bảng 3.30. Phân bố kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i>	78
theo tiền sử điều trị <i>H. pylori</i>	78
Bảng 3.31. Phân bố kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i>	78
theo tình trạng hút thuốc lá ở nam giới	78
Bảng 3.32. Phân bố kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i>	79
theo vùng tổn thương trên nội soi	79
Bảng 3.33. Phân bố kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> theo mức độ viêm mạn hang vị	79
Bảng 3.34. Phân bố kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> theo mức độ viêm hoạt động ..	80
Bảng 3.35. Phân bố kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i> theo mức độ nhiễm <i>H. pylori</i> ...	80
Bảng 3.36. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến mối liên quan của các biến với kết quả tiết trừ <i>H. pylori</i>	81
Bảng 4.1. So sánh tuổi trung bình giữa các nghiên cứu tương tự.....	83
Bảng 4.2. So sánh tác dụng phụ với một số nghiên cứu khác	86
Bảng 4.3. Các loại đột biến của một số nghiên cứu.....	97
Bảng 4.4. Phân bố đột biến theo nhóm tuổi chọn lọc	98

Bảng 4.5. So sánh với các tác giả khác về tỷ lệ tiết trừ	105
Bảng 4.6. So sánh tác dụng phụ giữa các nghiên cứu cùng phác đồ nối tiếp có levofloxacin.....	113
Bảng 4.7. So sánh đề kháng kháng sinh trước và sau điều trị thất bại	115

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Minh họa các yếu tố đóng góp vào bệnh sinh nhiễm <i>H. pylori</i>	13
Hình 1.2. Hình ảnh mô học viêm dạ dày mạn	14
Hình 1.3. Cấu trúc phân tử clarithromycin	18
Hình 1.4. Mô hình vùng peptidyltransferase domain V gen <i>23S rRNA</i>	19
Hình 1.5. Minh họa nguyên lý của phương pháp PCR	21
Hình 1.6. Phát hiện các đột biến A2142G và A2143G bằng RFLP	24
Hình 1.7. Xác định các đột biến A2142G, A2143G và A2142C bằng RE.....	25
Hình 1.8. Phác đồ nối tiếp	28
Hình 1.9. Cấu trúc phân tử metronidazol và tinidazol	36
Hình 2.1. Máy nội soi dạ dày tá tràng Olympus CLV – 180	44
Hình 2.2. Kết quả xét nghiệm clotest.....	47
Hình 2.3. Các thiết bị chính sử dụng trong kỹ thuật PCR-RFLP	51
Hình 2.4. Minh họa sản phẩm PCR sau khi được cắt bởi các emzym.....	53
Hình 2.5. Sơ đồ nghiên cứu.....	57
Hình 3.1. Sản phẩm PCR	65
Hình 3.2. Sản phẩm PCR được ủ với các enzyme cắt đặc hiệu	66
Hình 3.3. Phân bố đột biến đề kháng clarithromycin theo tiền sử điều trị <i>H. pylori</i> ..	69

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 1.1. Tỷ lệ nhiễm <i>H. pylori</i> đang giảm dần ở nhật bản.....	4
Biểu đồ 1.2. Minh họa tỷ lệ đề kháng kháng sinh của <i>H. pylori</i> theo từng châu lục	16
Biểu đồ 3.1. Phân bố các triệu chứng lâm sàng	61
Biểu đồ 3.2. Các mức độ viêm hoạt động trên mô bệnh học.....	63
Biểu đồ 3.3. Phân bố các mức độ viêm teo hang vị trên mô bệnh học.....	64
Biểu đồ 3.4. Phân bố các đột biến đề kháng clarithromycin	65
Biểu đồ 3.5. Đặc điểm hút thuốc lá trong nhóm phân tích theo đề cương nghiên cứu	73
Biểu đồ 4.1. Phân bố mức độ viêm hang vị giữa bệnh nhân có loét và không có loét tiêu hóa	90
Biểu đồ 4.2. So sánh hiệu quả giữa phác đồ nối tiếp có levofloxacin và phác đồ 3 thuốc	107
Biểu đồ 4.3. Phân tích gộp so sánh hiệu quả phác đồ nối tiếp có levofloxacin với phác đồ 3 thuốc chuẩn.....	108
Biểu đồ 4.4. Tỷ lệ diệt trừ <i>H. pylori</i> theo mật độ <i>H. pylori</i> vùng hang vị	118

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

TIẾNG ANH

Bp	: base pair
CagA	: cytotoxin-associated gene A (gen độc tế bào A)
CI	: confidence interval (khoảng tin cậy)
CLA-ST	: clarithromycin - sequential therapy (phác đồ nối tiếp cổ điển)
CLO test	: campylobacter like organism test (xét nghiệm vi khuẩn dạng caplylobacter)
DEIA	: DNA enzyme immunoassay (xét nghiệm miễn dịch enzyme DNA)
DNA	: deoxyribonucleic acid (axit deoxyribonucleic)
dNTPs	: desoxyribonucleotide triphosphates
ELISA	: enzyme linked immunosorbent assay (phương pháp hấp phụ miễn dịch liên kết enzyme)
EM	: extensive metabolizer (kiểu chuyển hóa mạnh)
FISH	: fluorescent in situ hybridization (lai huỳnh quang tại chỗ)
FRET	: fluorescence resonance energy transfer (chuyển năng lượng huỳnh quang cộng hưởng từ)
H&E	: Hematoxylin & Eosin
<i>H. pylori</i>	: <i>Helicobacter pylori</i>
IM	: intermediate metabolizer (kiểu chuyển hóa trung bình)
IL	: interleukin
ITT	: intention to treat (ý định điều trị)
LiPA	: line probe assay (phương pháp đầu dò dạng đường)
LPS	: lipopolysaccharide
MALT	: mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma (u lympho liên quan đến niêm mạc dạ dày)
MIC	: minimum inhibitory concentration (nồng độ ức chế tối thiểu)

OLA	: oligonucleotide ligation assay (phương pháp liên kết oligonucleotide)
OR	: odds ratio (tỷ suất chênh)
OTC	: omeprazol, tetracycline và clarithromycin
PAI	: pathogenicity island (đảo sinh bệnh)
PPI	: proton pump inhibitor (ức chế bơm proton)
PP	: per protocol (đề cương nghiên cứu)
PM	: poor metabolizer (kiểu chuyển hóa yếu)
PCR	: polymerase chain reaction (phản ứng khuếch đại chuỗi gen)
QRDRS	: quinilone resistance determining region (vùng xác định đề kháng Quinolone)
UBT- test	: urea breath test (xét nghiệm urê hơi thở)
RNA	: ribonucleic acid (axit ribonucleic)

TIẾNG VIỆT

BMR	: biểu mô ruột
ĐB	: đột biến
EA-ELT	: phác đồ nối tiếp có levofloxacin (giai đoạn đầu esomeprazol và amoxicillin, giai đoạn sau esomeprazol, levofloxacin và metronidazol)
HS	: hệ số
HT	: hút thuốc lá
LA-LAM	: phác đồ nối tiếp, giai đoạn đầu lansoprazol và amoxicillin, giai đoạn sau lansoprazol, amoxicillin và metronidazol
LEV-ST250	: phác đồ nối tiếp có levofloxacin 250 mg, 2 lần/ ngày
LEV-ST500	: phác đồ nối tiếp có levo 500 mg, 2 lần/ ngày
MĐ nhiễm	: mức độ nhiễm
NT	: nối tiếp
OA	: omeprazol và amoxicillin
PĐ	: phác đồ
RA-RLT	: phác đồ nối tiếp, giai đoạn đầu rabeprazol và amoxicillin và

amoxicillin, giai đoạn sau rabeprazol, levofloxacin và tinidazol

RFLP : restriction fragment length polymorphism
(đa hình chiều dài đoạn cắt hạn chế)

TBVM : tế bào viêm mạn

TDD : tuyến dạ dày

TNDDTQ : Trào ngược dạ dày thực quản

UTDD : Ung thư dạ dày

VDD : Viêm dạ dày

VT : vi trùng

ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc xác nhận *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) là nguyên nhân của bệnh loét dạ dày tá tràng đã tạo ra một sự thay đổi lớn [150]. Từ một bệnh được cho là rối loạn tâm thể, viêm dạ dày và loét dạ dày tá tràng được xác định là bệnh nhiễm trùng và chữa được bằng kháng sinh, mặc dù vẫn còn trở ngại là đề kháng kháng sinh ngày càng gia tăng [97], [150]. Hơn nữa, tổ chức nghiên cứu ung thư thế giới đã xếp vi khuẩn *H. pylori* vào các tác nhân gây ung thư nhóm I từ năm 1994. Tiệt trừ *H. pylori* có ý nghĩa vô cùng quan trọng trong việc phòng và điều trị các bệnh loét dạ dày tá tràng và ung thư dạ dày [103]

Điều trị tiệt trừ *H. pylori* phổ biến nhất hiện nay là phác đồ 3 thuốc chuẩn [143]. Tuy nhiên hiệu quả của phác đồ này ngày càng giảm do vi khuẩn đề kháng với kháng sinh [74]. Tình hình đề kháng kháng sinh của *H. pylori* ngày càng gia tăng trên toàn thế giới, đặc biệt là clarithromycin, một kháng sinh chủ lực trong điều trị tiệt trừ *H. pylori* [152], [154]. Chẩn đoán sớm đề kháng kháng sinh có thể giảm nguy cơ thất bại trong điều trị [250]. Hơn nữa tỷ lệ đề kháng clarithromycin ở một địa phương có ý nghĩa quan trọng trong việc chọn lựa phác đồ điều trị *H. pylori*. Trên invitro phát hiện đề kháng kháng sinh của *H. pylori* được thực hiện bằng cách xác định đề kháng kiểu hình hay đề kháng kiểu gen của vi khuẩn [233]. Phát hiện đề kháng bằng kiểu hình cần phải nuôi cấy vi khuẩn. Việc nuôi cấy *H. pylori* khó thực hiện thường quy trên lâm sàng vì vi khuẩn phát triển chậm và yêu cầu điều kiện môi trường nghiêm ngặt [233]. Hơn nữa, cơ chế đề kháng kháng sinh của vi khuẩn chủ yếu là do các đột biến gen nên các phương pháp xác định kiểu gen là những thay thế thích hợp [167]. Xác định kiểu gen đề kháng kháng sinh chủ yếu bằng các phương pháp sinh học phân tử. Có nhiều phương pháp sinh học phân tử phát hiện đề kháng kháng sinh của *H. pylori*, trong đó PCR-RFLP (polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism, phản

ứng khuếch đại chuỗi gen- đa hình chiều dài cắt đoạn hạn chế) là một điển hình và đã được áp dụng trong nhiều nghiên cứu trên thế giới. Tại Việt Nam, phương pháp PCR-RFLP mới được áp dụng tại Trường Đại học Y Dược Huế và có kết quả bước đầu khả quan [29]. Áp dụng một phương pháp phân tử mới như PCR-RFLP để phát hiện đề kháng clarithromycin nhằm phục vụ cho nghiên cứu và điều trị là một nhu cầu cần thiết và qua đó đánh giá tình hình đề kháng clarithromycin tại địa phương góp phần cho việc chọn lựa phác đồ theo kinh nghiệm trong điều trị *H. pylori*.

Ngoài việc chẩn đoán sớm đề kháng kháng sinh, để khắc phục tình trạng phác đồ 3 thuốc chuẩn ngày càng kém hiệu quả, việc áp dụng nhiều phác đồ khác cũng đang được nghiên cứu [252]. Trong đó phác đồ nối tiếp khi mới ra đời tỏ ra có hiệu quả cao và được nghiên cứu nhiều [85]. Tuy nhiên về sau nhận ra phác đồ nối tiếp cũng có một số điểm hạn chế [136], [261]. Người ta đưa ra những cải tiến của phác đồ nối tiếp [252]. Những nghiên cứu áp dụng phác đồ nối tiếp cải tiến cho thấy kết quả cao hơn và khắc phục một số điểm hạn chế của phác đồ nối tiếp ban đầu [99], [262]. Phác đồ nối tiếp cải tiến có levofloxacin là một phác đồ mới và những nghiên cứu đầu tiên cho thấy có kết quả cao, dung nạp tốt [180], [189]. Phác đồ nối tiếp RA-RLT (5 ngày đầu dùng rabeprazol và amoxicillin, 5 ngày tiếp theo dùng rabeprazol, levofloxacin và tinidazol) là một phác đồ nối tiếp cải tiến có levofloxacin. Ở nước ngoài đã có một số nghiên cứu áp dụng phác đồ này và cho kết quả khả quan [77], [189]. Ở Việt Nam hiện chưa có nhiều nghiên cứu về phác đồ nối tiếp cải tiến. Chúng tôi chỉ tìm thấy một nghiên cứu áp dụng phác đồ nối tiếp RA-RLT [20].

Xuất phát từ nhu cầu khảo sát tình hình đề kháng clarithromycin ở một địa phương nhằm lựa chọn phác đồ điều trị lần đầu theo khuyến cáo của đồng thuận Maastricht V [142] và áp dụng một phương pháp phát hiện đề kháng mới, đồng thời đánh giá hiệu quả của một phác đồ mới là phác đồ nối tiếp cải

tiền có levofloxacin RA-RLT trong thực hành lâm sàng trước tình hình đề kháng sinh đang gia tăng rất nhanh trên toàn thế giới, chúng tôi tiến hành đề tài “Nghiên cứu tỷ lệ kháng clarithromycin của *H. pylori* bằng phương pháp PCR-RFLP và kết quả điều trị của phác đồ nối tiếp cải tiến RA-RLT ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn”

Mục tiêu nghiên cứu

1. Xác định tỷ lệ đột biến gen đề kháng clarithromycin của *H. pylori* bằng phương pháp PCR-RFLP ở các bệnh nhân viêm dạ dày mạn có *H. pylori* (+) tại Quảng Ngãi.
2. Đánh giá kết quả diệt trừ *H. pylori* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn nói chung và ở nhóm có đột biến gen đề kháng clarithromycin bằng phác đồ nối tiếp cải tiến RA-RLT 10 ngày.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

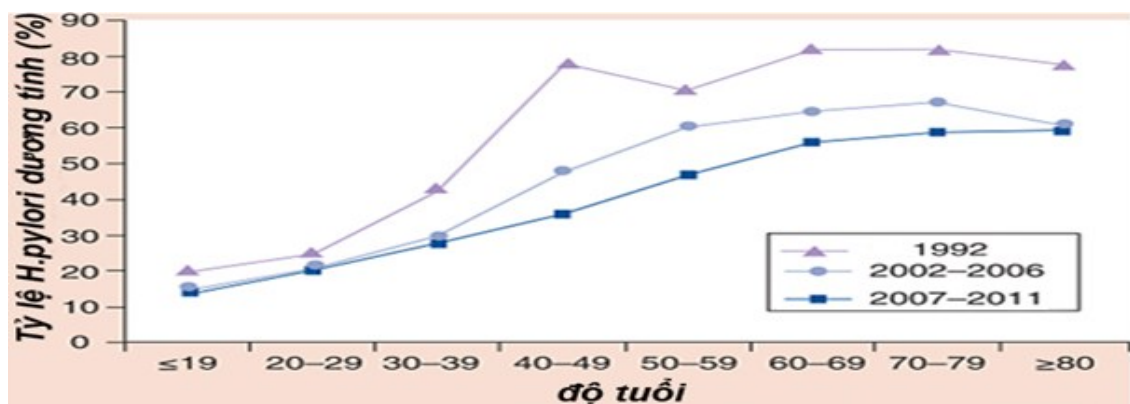
1.1. *Helicobacter pylori*

1.1.1. Dịch tễ học

1.1.1.1. Tỷ lệ hiện mắc

Nhiễm *H. pylori* là một nhiễm trùng phổ biến trên toàn thế giới, khoảng 50% dân số thế giới bị nhiễm [23]. Tỷ lệ nhiễm khác nhau trong mỗi nước và giữa các nước, tỷ lệ nhiễm cao hơn ở những người có điều kiện kinh tế xã hội thấp [157]. Tỷ lệ nhiễm trong cộng đồng ở một số nước có xu hướng giảm do cải thiện điều kiện kinh tế xã hội và điều trị tiệt trừ *H. pylori*, chủ yếu ở các nước phát triển [75].

Ở các nước phát triển, tỷ lệ nhiễm < 40%, các nghiên cứu dịch tễ học cho thấy tỷ lệ nhiễm khác nhau giữa các nhóm sắc tộc, quần thể, lứa tuổi [174]. Tỷ lệ nhiễm ở Hoa Kỳ 7,5% (2010) [208], Úc 15,1% (2008) [160], [208]. Tại Đức, (2003) tỷ lệ nhiễm của người Đức sống ở Đức 13,1%, và người Thổ Nhĩ Kỳ sống ở Đức là 30,4% [179]. Tỷ lệ nhiễm trong cộng đồng ở một số nước phát triển, đang có xu hướng giảm. Xu hướng giảm này là do kinh tế phát triển nhanh, điều kiện vệ sinh được cải thiện, sử dụng kháng sinh và thuốc ức chế bơm proton rộng rãi [125]. Tại Nhật Bản tỷ lệ nhiễm năm 1974, 1984 và 1994 lần lượt là 72,7%, 54,6% và 39,3% [81]. Nghiên cứu của Shiota S. và cs cho thấy tỷ lệ nhiễm ở Nhật Bản giảm theo thời gian ở mọi lứa tuổi (biểu đồ 1.1) [203].



Biểu đồ 1.1. Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* đang giảm dần ở nhật bản

(Nguồn: Shiota S., *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013) [203]

Ở các nước đang phát triển, tỷ lệ nhiễm trung bình 80-90%, các nghiên cứu có xu hướng phân tích về các điều kiện kinh tế xã hội có liên quan đến nhiễm *H. pylori* [174]. Trung Quốc (2010) tỷ lệ nhiễm 73%, Thái Lan (2015) 40-50% [123], [230].

Tại Việt Nam, một phân tích tổng hợp gồm 184 nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm *H. pylori* nhiều nơi trên thế giới đã ước đoán tỷ lệ nhiễm trong dân số khoảng 70,3% [96]. Theo Tạ Long tỷ lệ nhiễm *H. pylori* rất cao trong dân số, khoảng 70% ở miền Bắc và 50% ở miền Nam [130]. Nguyễn Lâm Tùng và cs nghiên cứu trên mẫu 270 bệnh nhân nội soi tại hai trung tâm nội soi lớn tại Hà Nội và thành phố Hồ Chí Minh, kết quả tỷ lệ *H. pylori* dương tính là 65,6% [166]

1.1.1.2. Tỷ lệ mới mắc

Tỷ lệ mới mắc ở người lớn thấp hơn trẻ em. Parsonnet J. và cs nghiên cứu trên một mẫu 341 người gồm những nhà dịch tễ học cho thấy tỷ lệ mới mắc là 0,49%/năm [173]. Một nghiên cứu khác cho thấy tỷ lệ mới mắc trung bình ở người lớn 2,4%/năm [55]. Nghiên cứu của Muhsen và cs (2010) tỷ lệ mới mắc ở trẻ em hàng năm là 5% [162].

1.1.1.3. Nguồn lây

Cho đến nay nguồn lây của *H. pylori* vẫn còn đang bàn luận. Một số nghiên cứu cho rằng động vật là nguồn lây, một số khác cho rằng nước là nguồn lây. Tuy nhiên, theo Lehour và cs người là nguồn lây duy nhất [117]. Bằng chứng là tỷ lệ nhiễm *H. pylori* tăng ở các đối tượng sống gần gũi nhau trong một số quần thể [110]. Việc lây truyền của *H. pylori* chủ yếu xảy ra trong gia đình. Nguy cơ tương đối của một đứa trẻ bị nhiễm *H. pylori* lớn hơn khoảng 8 lần nếu người mẹ bị nhiễm và lớn hơn khoảng 4 lần nếu người cha bị nhiễm [174]. Một số nghiên cứu đã chứng minh sự lây truyền từ mẹ sang con [113], [140]. Số thành viên trong gia đình càng nhiều càng dễ lây bệnh [90]. Có mối liên quan giữa tình trạng nhiễm của một người với tình trạng

nhiễm của vợ hoặc chồng của họ, nguy cơ lây nhiễm ngày càng tăng với số năm mà vợ chồng đã chung sống với nhau [52]. Mặc dù phần lớn các nghiên cứu ủng hộ quan điểm lây truyền *H. pylori* xảy ra trong gia đình, ở một số nước nguồn gốc của nhiễm *H. pylori* có thể nằm bên ngoài gia đình [195].

1.1.1.4. Đường lây

Đường lây truyền của vi khuẩn vẫn chưa rõ ràng. Lây truyền giữa con người với nhau là con đường chính, mặc dù lây truyền qua môi trường như nước uống bị nhiễm khuẩn vẫn có thể xảy ra [75].

†Đường truyền dạ dày- miệng

Sự hiện diện của *H. pylori* trong dịch dạ dày lên đến 58 % số bệnh nhân nhiễm *H. pylori* làm tăng khả năng cho rằng dịch dạ dày trào ngược là một phương tiện mang vi khuẩn truyền bệnh. Theo Axon A. T., đường truyền dạ dày miệng là đường truyền quan trọng ở trẻ em [41]. Chết nôn là một phương tiện truyền bệnh quan trọng [118].

†Đường truyền miệng -miệng

Sự hiện diện của *H. pylori* trong khoang miệng là bằng chứng gián tiếp ủng hộ đường truyền miệng - miệng. Krajden và cs phân lập được *H. pylori* từ các mảng bám răng của 1 trong 29 bệnh nhân đã được sinh thiết dạ dày dương tính với *H. pylori*. So sánh *H. pylori* của chủng phân lập từ dạ dày và chủng phân lập từ mảng bám răng của bệnh nhân này cho thấy 1 trong 3 chủng phân lập từ mảng bám răng là không thể phân biệt với mẫu phân lập từ dạ dày [201]. Vi khuẩn trong khoang miệng có thể lây nhiễm và gây tái nhiễm ở dạ dày [183].

† Đường truyền phân-miệng

Mặc dù có một số bằng chứng *H. pylori* có thể đi qua ruột, tuy nhiên vi khuẩn này khó thích ứng với môi trường này vì chúng rất nhạy cảm với những tác động của dịch mật, do đó sự tồn tại của vi khuẩn *H. pylori* sau khi đi qua đường ruột khó có thể xảy ra [70].

Nhiều nỗ lực nuôi cấy *H. pylori* từ phân phần lớn không thành công. Một số nghiên cứu phân lập được *H. pylori* trong phân [126], [224]. Tuy nhiên bằng chứng xác nhận các vi khuẩn *H. pylori* trong phân của các nghiên cứu này là không có căn cứ [115]. Mặc dù phát hiện DNA của *H. pylori* trong phân có thể thêm vào bằng chứng về đường lây truyền phân-miệng, nhưng cần lưu ý rằng việc tìm thấy DNA của *H. pylori* không nhất thiết có nghĩa là *H. pylori* có mặt trong phân [121], [164].

1.1.1.5. Các yếu tố nguy cơ

Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* có liên quan nghịch với tầng lớp xã hội của một cá nhân trong thời thơ ấu. Tỷ lệ nhiễm trong các tầng lớp xã hội thấp nhất (85%) cao hơn nhiều so với các tầng lớp xã hội cao nhất (11%) [137]. Điều kiện vệ sinh môi trường kém tăng tỷ lệ nhiễm *H. pylori* [88]. Mật độ dân số, việc dùng chung giường trong thời thơ ấu, trình độ học vấn cũng là những yếu tố có liên quan với nhiễm *H. pylori* [151], [220]. Ảnh hưởng của điều kiện sống đối với nhiễm *H. pylori* thể hiện rõ ở các nước có điều kiện kinh tế xã hội đã được cải thiện đáng kể trong vài thập kỷ qua. Tại Nhật Bản giảm tỉ lệ nhiễm *H. pylori* ở các đối tượng dưới 40 tuổi là do cải thiện nền kinh tế Nhật Bản [139]. Tỷ lệ nhiễm tại Hàn Quốc cũng đang giảm nhờ cải thiện nhiều về mức sống [138].

1.1.2. Cơ chế gây bệnh của H. pylori

H. pylori gây viêm kéo dài trong dạ dày người, nhưng chỉ có một số ít người nhiễm vi khuẩn này phát triển bệnh loét dạ dày tá tràng hoặc ung thư dạ dày [102]. Hậu quả lâm sàng của nhiễm *H. pylori* là do tương tác lâu dài giữa vi khuẩn ký chủ và đặc điểm môi trường [44], [94].

1.1.2.1. Các yếu tố vi khuẩn

† Vai trò của các tiêm mao

H. pylori có 4 - 5 tiêm mao. Cấu trúc cơ bản của các tiêm mao này gồm có vỏ ngoài liên tục với màng tế bào vi khuẩn. Bên trong là một lỗ dài được cấu tạo bởi nhiều thành phần. Các tiêm mao có vai trò quan trọng trong việc

xâm nhập của vi khuẩn vào tế bào ký chủ. Phương thức xâm nhập là di chuyển và hóa hướng động hướng về các tế bào niêm mạc dạ dày [209].

† *Vai trò của các yếu tố độc lực của H. pylori*

†† *Protein CagA*

Có những chủng *H. pylori* có độc lực cao hơn các chủng khác trong quá trình thay đổi hình thái, tạo không bào và thoái hóa trên invitro [119]. Ở những chủng có độc lực cao có sự hiện diện của một loại protein được đặt tên là CagA. Protein CagA là một loại protein có tính kháng nguyên cao được mã hóa bởi gen *cagA* [61]. Gen này chiếm khoảng 50% đến 70% các chủng vi khuẩn *H. pylori* và là một chỉ điểm cho một tiểu đảo sinh bệnh (PAI, pathogenicity island) [61], [62]. Chủng mang tiểu đảo sinh bệnh *cag* được gọi là chủng CagA⁺. Ở các nước phương Tây, bệnh nhân nhiễm chủng CagA⁺ có đáp ứng viêm mạnh hơn và nhiều nguy cơ loét dạ dày tá tràng hoặc ung thư dạ dày hơn, điều này khác với các nước Châu Á [115], [237]. Mười tám protein được đảo sinh bệnh *cag* mã hóa đóng vai trò như một cái bơm tiêm, bơm CagA, peptidoglycan, và các yếu tố vi khuẩn vào tế bào niêm mạc dạ dày của ký chủ [161]. Khi được bơm vào bên trong tế bào, protein CagA được phosphoryl hóa ở các vị trí tyrosine [210]. Sau đó CagA đã được phosphoryl hóa này tương tác với một loạt các phân tử tín hiệu của ký chủ làm thay đổi hình thái của các tế bào niêm mạc [165].

Tại Việt Nam, Lê Văn Nho và cs. nghiên cứu 60 bệnh nhân loét tá tràng nhiễm *H. pylori*, tỷ lệ CagA (+) là 80%. Tỷ lệ này cho thấy *H. pylori* có CagA (+) khá cao ở bệnh nhân loét tá tràng [23].

†† *Độc tố không bào VacA.*

Khoảng 50% của các chủng *H. pylori* tiết VacA, một protein 95 kDa có tính miễn dịch cao gây độc không bào mạnh trong biểu mô tế bào trên invitro [219]. Protein VacA đóng một vai trò quan trọng trong sinh bệnh học của cả loét dạ dày và ung thư dạ dày [244]. Có một sự không đồng nhất trong chuỗi

gen *vacA* tại vùng tín hiệu (*s*) và vùng giữa (*m*). Vùng *s* mã hóa các peptide tín hiệu, có 2 typ là *s1* và *s2* và vùng *m* có 2 typ *m1* và *m2* [236]. Hoạt động không bào cao ở kiểu gen *s1/m1*, trung gian ở kiểu gen *s1/m2*, và không có ở kiểu gen *s2/m2* [40]. Hơn nữa kiểu gen *vacA s1/m1* liên quan đến loét dạ dày và ung thư dạ dày nhiều hơn. VacA tạo lỗ hổng trên màng tế bào biểu mô, làm cho ure và các anion giải phóng từ tế bào ký chủ. VacA cũng làm tăng tính thấm qua màng, làm thoát các chất dinh dưỡng và các ion (+).

Ở các quần thể châu Âu, có mối tương quan rõ rệt giữa hoạt động độc tố và khả năng gây bệnh của *H. pylori* typ *vacA s1/m1* [245], một typ có độc tính mạnh nhất. Tuy nhiên ở các quần thể châu Á không tìm thấy mối tương quan này [134], [245].

† *Kháng acid.*

Một trong những tính năng nổi bật của *H. pylori* là có thể xâm nhập môi trường axit dạ dày dù không phải là một vi khuẩn ưa axit. Độ pH của niêm mạc dạ dày thay đổi trong khoảng 4 - 6,5, nhưng đôi khi cũng có thể thay đổi đột ngột, do đó đòi hỏi *H. pylori* phải có các cơ chế để tự bảo vệ. Xét theo khía cạnh này, ban đầu *H. pylori* di chuyển nhanh về phía lớp chất nhầy dạ dày bằng hóa hướng động sử dụng urê và chênh lệch bicarbonate có trong môi trường dạ dày. Việc di chuyển nhanh về phía pH trung tính hơn là cần thiết cho vi khuẩn vì nó có thể mất khả năng vận động trong lòng dạ dày có tính axit [196]. Thành phần chính kháng acid của *H. pylori* là enzyme urease có tác dụng chuyển urê thành amoniac và carbamate, rồi tự phân hủy thành amoniac và carbon dioxide [53]. Amoniac có tác dụng gây độc tế bào trên tế bào biểu mô dạ dày, bicarbonate có tác dụng ngăn chặn các tác dụng diệt khuẩn của peroxynitrite, một chất chuyển hóa nitric oxide [206].

† Các yếu tố bám dính và các protein màng ngoài

Nhiều yếu tố vi khuẩn tham gia vào sự bám dính của vi khuẩn *H. pylori* với niêm mạc dạ dày [170]. Ở đây chỉ đề cập đến các yếu tố bám dính được nghiên cứu nhiều nhất.

†† BabA (HopS).

Protein BabA 78 kDa là một đại diện cho protein bám dính tốt nhất của *H. pylori*, được mã hóa bởi gen *babA*. BabA làm trung gian bám dính với kháng nguyên nhóm máu Lewis b của ký chủ (Le^b) [49]. Có hai alen là *babA1* và *babA2*, nhưng chỉ có *babA2* có thể mã hóa protein có khả năng bám dính của vi khuẩn. Nghiên cứu ở động vật cho thấy độ bám dính qua trung gian BabA có liên quan đến sự xâm nhập và sinh bệnh học của *H. pylori* [93].

†† Các lipopolysaccharide (LPS)

Phần lớn các chủng *H. pylori* có LPS chứa kháng nguyên fucosylated oligosaccharide có cấu trúc và miễn dịch gần giống với các kháng nguyên nhóm máu của con người. Các kháng nguyên vi khuẩn (kháng nguyên Lewis) có khả năng tự thay đổi tính kháng nguyên rõ rệt và góp phần vào hiện tượng “trốn miễn dịch” [115]. Các biểu lộ kháng nguyên Lewis tăng cường tương tác của vi khuẩn với các tế bào biểu mô và do đó có khả năng tác động đến đáp ứng miễn dịch [131].

1.1.2.2. Các yếu tố ký chủ

† Vai trò của kháng thể trong miễn dịch bảo vệ

Cũng như những nhiễm trùng niêm mạc khác, đầu tiên là một phản ứng miễn dịch bảo vệ chống lại vi khuẩn *H. pylori* chủ yếu qua trung gian kháng thể. Mối liên quan giữa sự hiện diện của kháng thể kháng *H. pylori* trong sữa của các bà mẹ và *H. pylori* âm tính ở trẻ em bú sữa mẹ của họ hỗ trợ giả thuyết này [225]. Những thực nghiệm đầu tiên trên động vật cũng xác nhận điều đó [63]. Tuy nhiên kháng thể có thể ngăn ngừa nhiễm trùng và làm giảm

xâm nhập có hiệu quả trên mô hình động vật nhưng không làm sạch được vi khuẩn [149], [207]. Điều đáng lưu ý ở đây là miễn dịch tế bào đóng vai trò chủ yếu trong diệt vi khuẩn chứ không phải miễn dịch thể dịch, mặc dù sự phát triển của viêm dạ dày hoặc bệnh sinh do vi khuẩn *H. pylori* phụ thuộc chủ yếu vào các tế bào Th1 và cytokine Th1 [71], [79].

† Điều tiết miễn dịch

Nhiễm *H. pylori* luôn luôn dẫn đến đáp ứng miễn dịch mạnh mẽ của ký chủ chống lại vi khuẩn, nhưng phản ứng này hiếm khi diệt hết vi khuẩn. Thậm chí người ta còn cho rằng có rất nhiều bệnh lý liên quan với nhiễm *H. pylori* là do chính các hoạt động của hệ thống miễn dịch của ký chủ chứ không phải trực tiếp do các hoạt động của vi khuẩn [115]. *H. pylori* có khả năng điều hòa ngược quá trình viêm và kiểm soát các phản ứng miễn dịch của ký chủ thông qua một loạt các yếu tố độc lực có liên quan đến việc kích hoạt và duy trì đáp ứng miễn dịch tiền viêm [115].

† Tế bào T điều hòa

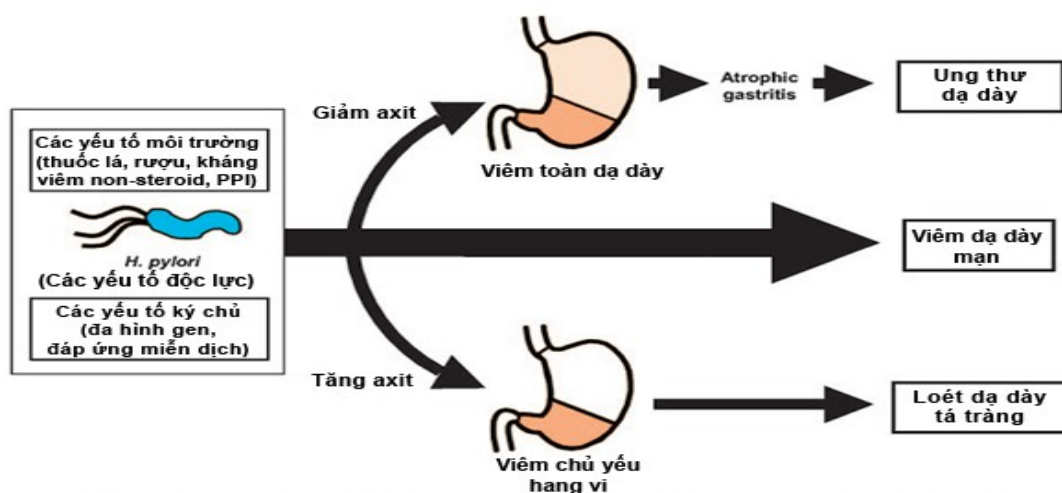
IL-10 (Interleukin-10) do các tế bào T sản xuất rất quan trọng trong sự kiểm soát quá trình viêm do *H. pylori*, nó tạo điều kiện cho các vi khuẩn tồn tại trong niêm mạc dạ dày. *H. pylori* không thể tồn tại ở chuột không có IL-10 [79]. Các tế bào T điều hòa CD25 có thể đóng một vai trò quan trọng trong việc này, vì những con chuột thiếu CD25 phát triển viêm dạ dày nặng trong khi đã có giảm tải lượng vi khuẩn ở niêm mạc dạ dày [182]. Tương tự như vậy, việc loại bỏ các tế bào CD25 từ những người tình nguyện nhiễm *H. pylori* dẫn đến tăng phát triển và sản xuất interferon gamma trên in vitro, điều đó cho thấy rằng nhiễm *H. pylori* điều hòa ngược đáp ứng miễn dịch thông qua sự tương tác với các tế bào T điều hòa [213].

† Các đặc tính di truyền

Không chỉ đặc tính của tác nhân gây bệnh mà đặc tính di truyền của ký chủ cũng đóng vai trò quan trọng trong việc xác định độ nặng của nhiễm trùng. Đa hình gen trực tiếp ảnh hưởng đến mức độ biểu lộ của các gen bằng cách tạo ra hoặc xóa đi vị trí các yếu tố phiên mã hoặc tác động vào kết nối RNA và quá trình giải mã sau đó. Ngoài ra, đa hình gen có thể hoặc ảnh hưởng đến sự chuyển hóa của các hợp chất nhất định hoặc gián tiếp ảnh hưởng đến biểu lộ của các chất trung gian miễn dịch của gen với một đa hình cụ thể [115]. Nhiều yếu tố bệnh sinh của nhiễm *H. pylori* có liên quan đến viêm mạn hoạt động, được điều khiển và duy trì bởi sự tương tác phức tạp của các yếu tố trung gian gây viêm và chống viêm [133].

1.1.2.3. Vai trò của các yếu tố môi trường

Vi khuẩn phản ứng và thay đổi biểu hiện của các yếu tố độc lực cho phù hợp với môi trường [94]. Những tác nhân mà *H. pylori* phải đối mặt là các phân tử sinh ra từ thức ăn. Một số thói quen ăn uống như thiếu sắt, nhiều muối, nitrite, protein, và chất béo tăng nguy cơ mắc các bệnh do *H. pylori* [77]. Thực nghiệm trên động vật gặm nhấm, chế độ ăn thiếu sắt cho thấy tỷ lệ mắc ung thư dạ dày cao hơn so với chế độ ăn đủ sắt. Phân tích gen của các chủng *H. pylori* từ những con vật này cho thấy rằng điều kiện sắt thấp gây ra biểu lộ của rất nhiều độc tố như độc tố tiêm mao, VacA, CagA, HopQ và Urease [168]. Tương tự như vậy, chế độ ăn nhiều muối tăng nguy cơ bệnh dạ dày. Thực nghiệm trên động vật gặm nhấm nhiễm *H. pylori*, động vật ăn nhiều muối có tỷ lệ mắc ung thư và viêm dạ dày cao hơn so với động vật có ăn muối bình thường [193].



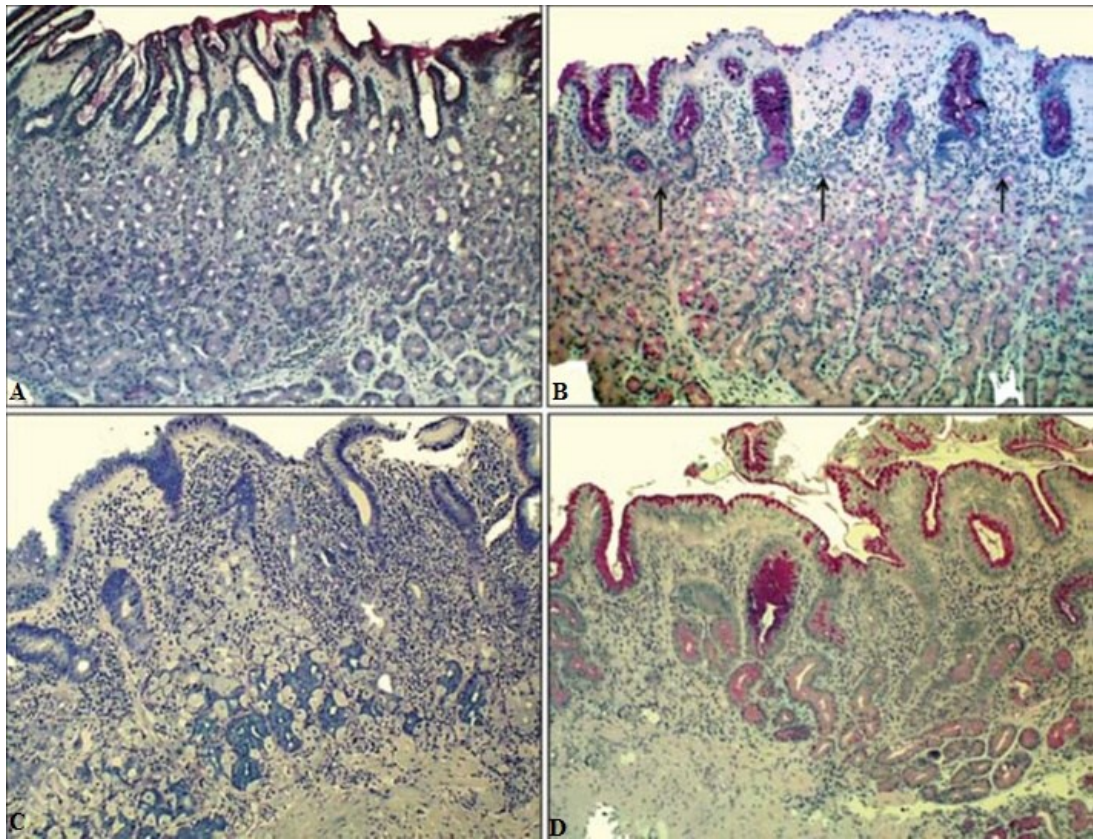
Hình 1.1. Minh họa các yếu tố đóng góp vào bệnh sinh nhiễm *H. pylori*

(Nguồn: Kusters J. G. và cs: *Clin Microbiol Rev* 19 (3), 449-490, 2006) [115]

1.1.3. Viêm dạ dày mạn tiến triển do *H. pylori*

Người ta ước đoán có hơn một nửa dân số thế giới mắc bệnh viêm dạ dày mạn với nhiều mức độ và phạm vi khác nhau [204]. Có nhiều nguyên nhân dẫn đến viêm dạ dày, trong đó vi khuẩn *H. pylori* là nguyên nhân phổ biến nhất [192], [215]. Cho đến nay đã có nhiều nghiên cứu cho thấy việc điều trị diệt trừ *H. pylori* làm thay đổi diễn biến tự nhiên của viêm dạ dày mạn. Sau đây là diễn biến tự nhiên của viêm dạ dày mạn

Viêm dạ dày mạn là một quá trình viêm tiến triển, kéo dài qua nhiều bước. Bắt đầu là tình trạng viêm mạn tính đơn thuần (viêm nông) [132]. Quá trình này có thể kéo dài nhiều năm hay nhiều thập kỷ dẫn đến viêm teo dạ dày [205], [204]. Nguy cơ tiến tới viêm teo hàng năm khoảng 2-3% [234]. Khoảng 50% số bệnh nhân viêm dạ dày mạn do *H. pylori* sẽ có viêm teo ở một mức độ nào đó và lan rộng trong suốt cuộc đời. Khoảng 5% số người bị nhiễm *H. pylori* có viêm teo nặng và tiến tới giai đoạn cao hơn [107]. Sự lan rộng chậm từ viêm hang vị lên thân vị tạo thành dạng viêm toàn dạ dày, viêm teo đa ổ hoặc viêm chủ yếu thân vị là một lộ trình chung [108].



Hình 1.2. Hình ảnh mô học viêm dạ dày mạn

(Nguồn Rugge M. và cs: *Dig Liver Dis*, 43 Suppl 4, S373-384, 2011) [192]

Niêm mạc thân vị. Bình thường (A): Lớp tuyến tiết axit bình thường. Viêm không teo (B): Viêm nhẹ với bạch cầu đơn nhân ở lớp trên của niêm mạc (viêm mạn nông) (mũi tên). Viêm teo thân vị mức độ vừa (C): Viêm với bạch cầu đơn nhân nhiều hơn ở cả lớp dưới kèm mất tuyến tiết axit rõ (teo). Viêm teo nặng thân vị (D): Tình trạng viêm nhẹ nhưng các tuyến tiết axit bị mất hoàn toàn. Một vài chỗ có dị sản ruột ở góc dưới phải.

Dị sản ruột (IM, intestinal metaplasia) hầu như luôn đi kèm với viêm dạ dày mạn teo đa ổ thậm chí ung thư hóa cũng được khởi động, quá trình này được gọi là tiến trình Correa (Correa cascade) [60]. Có nhiều yếu tố và cơ chế bệnh sinh tiềm tàng liên quan đến ung thư đóng vai trò là yếu tố kích hoạt trong tiến trình [204].

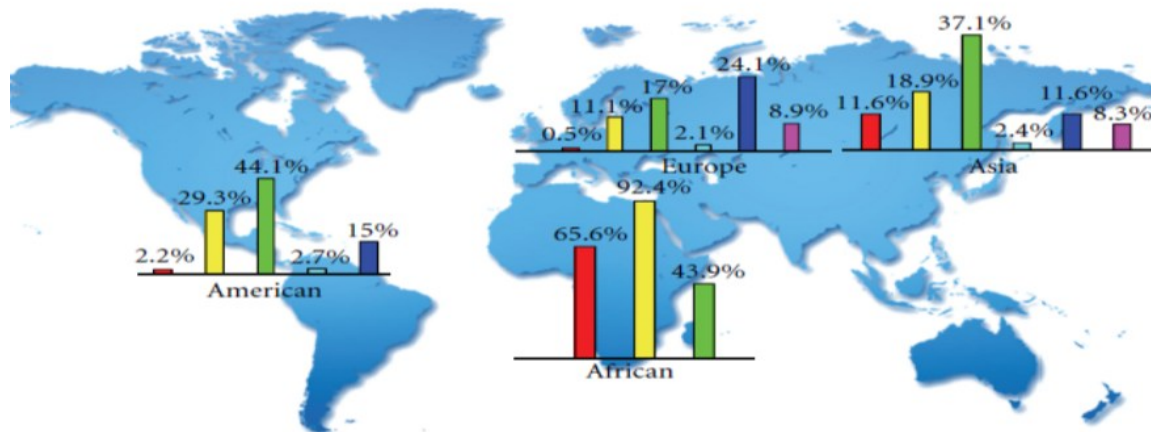
1.2. Đề kháng clarithromycin và phát hiện gen đề kháng bằng PCR-RFLP

1.2.1. Tình hình đề kháng kháng sinh của *H. pylori*

Điều trị tiệt trừ *H. pylori* cho đến nay chủ yếu vẫn dựa vào kinh nghiệm. Chiến lược “test và điều trị” của đồng thuận Maastricht V vẫn được khuyến cáo ở những nơi có tỷ lệ nhiễm *H. pylori* cao và hạn chế về tài chính [146]. Đề kháng kháng sinh của *H. pylori* là yếu tố chính ảnh hưởng đến hiệu quả của các phác đồ điều trị hiện nay và kháng sinh quan trọng nhất là clarithromycin [148], [232]. Do đó thông tin về tình hình đề kháng kháng sinh là cần thiết cho lâm sàng để chọn lựa phác đồ thích hợp [256].

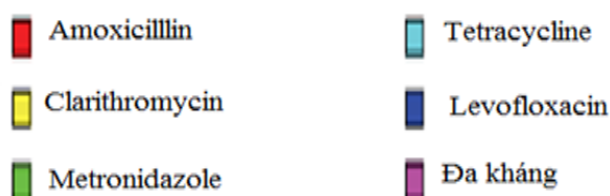
† Đề kháng clarithromycin khác nhau giữa các quốc gia và vùng miền

Tỷ lệ đề kháng kháng sinh của *H. pylori* khác nhau giữa các quốc gia và giữa các vùng miền trong một quốc gia [222]. Riêng đề kháng clarithromycin, một nghiên cứu đa trung tâm ở châu Âu (2014), cho thấy tỷ lệ đề kháng ở Bắc Âu < 10%, trong khi những vùng khác ở châu Âu > 15% (ngoại trừ Tây Ban Nha và Đức) [153]. Tại Alaska (Hoa Kỳ) (2011), tỷ lệ đề kháng là 30%, tỷ lệ này ở phụ nữ cao hơn nam giới. Tại Trung Quốc, khu vực Bắc Kinh (năm 2010) tỷ lệ đề kháng 37,2% [82], khu vực ven biển Đông Nam Trung Quốc tỷ lệ này là 21,5% (năm 2013) [214]. Tại Nhật Bản (2001) đề kháng 55,6%, trong đó đề kháng thứ phát đến 90% [254]. Tại Việt Nam, nghiên cứu tại 2 trung tâm lớn là bệnh viện Chợ Rẫy và Bệnh viện Bạch Mai (2013) đề kháng 33% [46]. Trong 1 nghiên cứu tại bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế (2013) đề kháng 42,9% [18]. Nghiên cứu tại Hà Nội (2015), đề kháng bằng phương pháp E-test 40,6%, bằng phương pháp PCR giải trình tự 36,7% [38].



Biểu đồ 1.2. Minh họa tỷ lệ đề kháng kháng sinh của *H. pylori* theo từng châu lục

(Nguồn Wu và cs: *Gastroenterol Res Pract*, Article ID 723183, 2012 [252])



† Đề kháng clarithromycin ngày càng gia tăng

Tỷ lệ đề kháng kháng sinh của *H. pylori* đang ngày càng gia tăng ở nhiều nơi trên thế giới [66]. Trong đó đề kháng clarithromycin là yếu tố quan trọng nhất. Đề kháng clarithromycin giảm 70% kết quả điều trị [152]. Nguyên nhân chính dẫn tới đề kháng clarithromycin là do sử dụng kháng sinh này rộng rãi trong cộng đồng chủ yếu là nhiễm trùng hô hấp [66], [256]. Tại Bulgari, tỷ lệ đề kháng clarithromycin giai đoạn 1996 - 1999 là 10 % và tăng lên 17,9% trong giai đoạn 2003 - 2005 [50]. Tại Ý trong khoảng 6 năm từ năm 1989 - 1990 đến năm 2004 - 2005 tỷ lệ đề kháng tăng gấp đôi, từ 10,2% lên 21,3% [64]. Mặc dù tỷ lệ đề kháng ở Hà Lan thấp so với những nơi khác nhưng chỉ trong 3 năm (1996 - 1999) cũng đã tăng từ 1% lên 1,6% [68], [238]. Tại Bắc Kinh, Trung Quốc đề kháng năm 2001 là 13,5% tăng lên gấp 3 lần (37,2%) năm 2010 và năm 2014 lên đến 52,6% [214], [256]. Trẻ em vùng Trung Bắc Hàn Quốc tỷ lệ đề kháng giai đoạn 1990 - 1994 là 6,9% lên 18,2%

giai đoạn 2005-2009 [199]. Từ 1997 - 1998 đến 1999 - 2000, đề kháng ở Nhật Bản tăng lên gấp 2 lần [175].

Tại Việt nam, năm 2004, một nghiên cứu được thực hiện tại Hà Nội tỷ lệ đề kháng clarithromycin 1% [247]. Năm 2009, nghiên cứu tại bệnh viện Bưu Điện tỷ lệ đề kháng là 21,4% [32]. Cũng tại bệnh viện này tỷ lệ đề kháng năm 2012 là 28,8% [33]. Như đã nêu trên, tỷ lệ đề kháng clarithromycin năm 2013 trong nghiên cứu tại Bệnh viện Bạch Mai và Bệnh viện Chợ Rẫy là 33%, tại Huế là 42,9% [18], [46]. Năm 2016, Quek và cs nghiên cứu trên 193 chủng vi khuẩn ở 13 bệnh viện khu vực phía Nam cả người lớn và trẻ em, đề kháng lên đến 85% [181].

1.2.2. Tầm quan trọng và cơ chế đề kháng clarithromycin của H. pylori

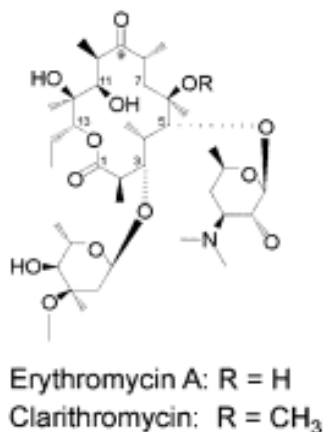
1.2.2.1. Tầm quan trọng của phát hiện đề kháng clarithromycin

Cho đến nay clarithromycin vẫn là kháng sinh chủ lực trong điều trị diệt trừ *H. pylori*. Tuy nhiên tỷ lệ đề kháng của *H. pylori* với kháng sinh này ngày càng gia tăng trên toàn thế giới làm giảm đáng kể hiệu quả của các phác đồ có clarithromycin [142], [163]. Để khắc phục tình trạng này, đồng thuận Maastricht V khuyến cáo ở những nơi tỷ lệ đề kháng clarithromycin > 15% nên từ bỏ phác đồ 3 thuốc chuẩn nếu không xét nghiệm độ nhạy kháng sinh [142]. Ngoài ra, phát hiện đề kháng clarithromycin có vai trò hết sức quan trọng. Việc phát hiện đề kháng clarithromycin trước khi bắt đầu điều trị sẽ giúp chọn lựa phác đồ thích hợp cho bệnh nhân. Tuy nhiên việc phát hiện đề kháng trước khi bắt đầu điều trị là việc khó khăn vì ít có cơ sở y tế đủ điều kiện để thực hiện các xét nghiệm này. Mặt khác, thiết thực hơn, việc nghiên cứu phát hiện đề kháng clarithromycin của *H. pylori* giúp biết được tỷ lệ đề kháng của địa phương, nhằm xây dựng phác đồ thích hợp cho việc điều trị theo kinh nghiệm.

1.2.2.2. Cơ chế đề kháng clarithromycin của H. pylori

Clarithromycin là kháng sinh thuộc nhóm macrolide, công thức phân tử là $C_{38}H_{69}NO_{13}$. Thuốc dưới dạng bột màu trắng, tan trong acetone, tan nhẹ

trong methanol, ethanol, acetonitrite và đặc biệt không tan trong nước. Clarithromycin là đồng phân 6-methoxy của erythromycin hiện đang sử dụng điều trị *H. pylori* (hình 1.3)



Hình 1.3. Cấu trúc phân tử clarithromycin

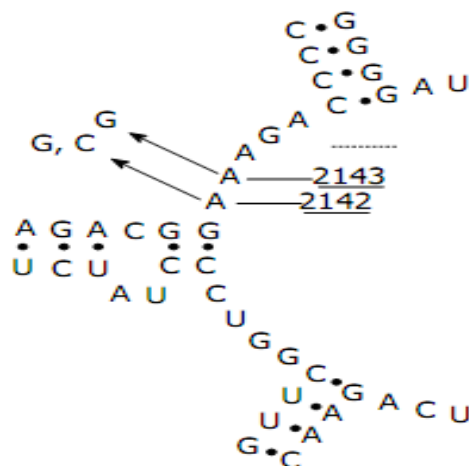
(Nguồn Vester: *Antimicrob Agents Chemother* 45 (1), 1-12, 2001 [241])

Clarithromycin gắn kết với vòng peptidyl transferase của domain V phân tử 23S rRNA [241]. Sự gắn kết này ngăn chặn việc kéo dài protein trong quá trình tổng hợp, và do đó có tác dụng ngăn chặn tổng hợp protein của vi khuẩn. Hoạt tính kháng khuẩn của clarithromycin là tương tự như của macrolide khác, nhưng clarithromycin được hấp thụ tốt hơn trong lớp niêm dịch dạ dày, ổn định với axit hơn, và do đó hiệu quả hơn với *H. pylori*.

Gen *23S rRNA* mã hoá cho phân tử 23S rRNA, phân tử này tham gia cấu tạo nên tiểu đơn vị lớn 50S của ribosome cùng với phân tử 5S rRNA và 33 phân tử protein khác nhau. Ngoài tiểu đơn vị lớn 50S, ribosome còn có tiểu đơn vị bé 30S được cấu tạo từ phân tử 16S rRNA và 20 đến 21 phân tử protein. Ribosome có chức năng tham gia vào quá trình dịch mã để tổng hợp nên phân tử protein.

Đề kháng với clarithromycin của *H. pylori* chủ yếu gây ra bởi đột biến điểm trong hai nucleotide liền kề của gen *23S rRNA*, cụ thể là ở vị trí 2142 và 2143. Tại đó adenine (A) được thay thế bởi guanine (G) ở một trong những vị

trí này hoặc thay thế adenine (A) bởi cytosine (C) ở vị trí 2142 (Hình 1.4) [212], [239]. Ở *H. pylori* những đột biến này làm giảm ái lực của ribosome với một số macrolide, dẫn đến tăng sức đề kháng [169]. Đa số các chủng có các đột biến A2143G, A2142G và A2142C có giá trị MIC cao (> 256 mg/ L) [235].



Hình 1.4. Mô hình vùng peptidyltransferase domain V gen 23S rRNA

(Nguồn: Giorgio F. và cs: *World J Gastrointest Pathophysiol*: 4 (3), 43-46, 2013 [87])

1.2.3. Phương pháp PCR-RFLP phát hiện đề kháng clarithromycin của *H. pylori*

Có nhiều phương pháp sinh học phân tử phát hiện đề kháng clarithromycin của *H. pylori*. Về nguyên lý, có thể chia thành 3 nhóm đó là các xét nghiệm dựa vào PCR truyền thống, các xét nghiệm dựa vào PCR thời gian thực (realtime PCR) và xét nghiệm không dựa vào PCR đó là lai huỳnh quang tại chỗ (FISH-fluorence insitu hybridazation) [227]. Ngoài ra, giải trình tự gen cũng xác định được đề kháng nhưng chỉ dùng để nghiên cứu phát hiện các đột biến mới, ít khi được áp dụng trong lâm sàng. Cho đến nay, 2 phương pháp chính được sử dụng là PCR-RFLP và real-time PCR [233]. Sau đây là phương pháp PCR-RFLP phát hiện đề kháng clarithromycin của *H. pylori*

Phương pháp PCR-RFLP gồm 2 bước theo thứ tự là PCR và RFLP.

Nguyên lý kỹ thuật PCR

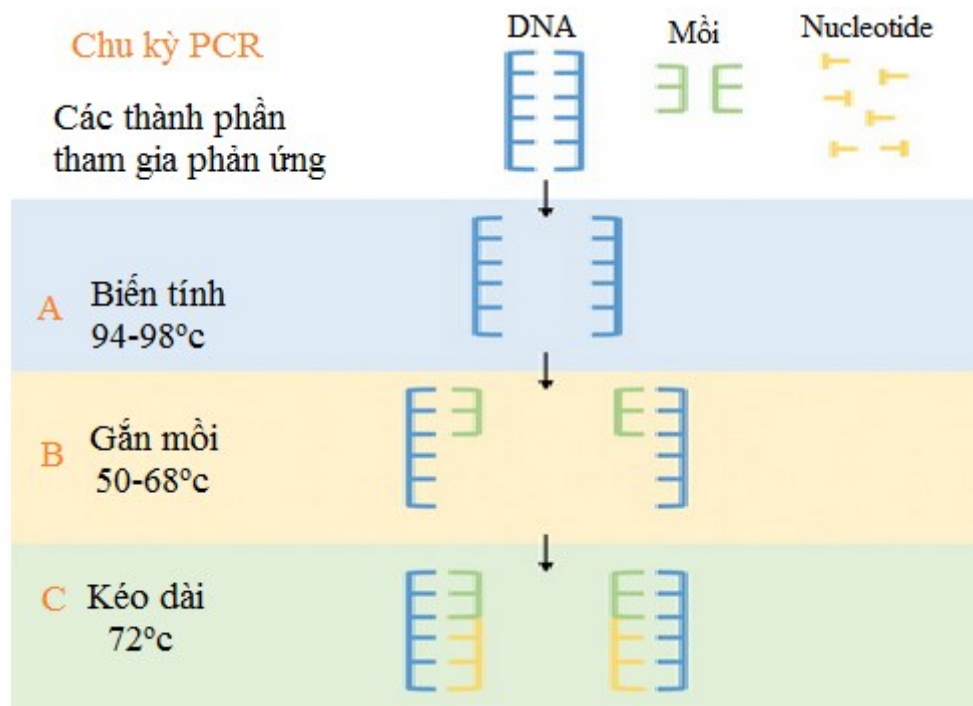
Phương pháp PCR là phương pháp sinh học phân tử cơ bản, trên nền tảng này có các biến thể của phương pháp PCR. PCR nhằm khuếch đại một đoạn DNA của tế bào sống hoặc vi sinh vật mà không cần dùng các sinh vật sống. PCR được Kary Mullis phát minh năm 1985. PCR là phương pháp trên invitro để tổng hợp một đoạn DNA đặc thù nhờ công hiệu của 2 đoạn mồi gắn vào 2 sợi đơn của đoạn DNA đích với sự tham gia của DNA polymerase. Đoạn mồi này sẽ được nối dài nhờ tác dụng của DNA polymerase để hình thành một mạch mới hoàn chỉnh. Nguyên lý của phương pháp PCR là một phản ứng có 3 bước, được lặp lại một cách có chu kỳ từ 30 đến 40 lần. Ba bước đó là biến tính, gắn mồi và kéo dài.

Trong quy trình phản ứng, nhiệt độ là vô cùng quan trọng, kèm theo là yếu tố thời gian. Phản ứng PCR được thực hiện qua 3 bước trong một chu kỳ (hình 1.5)

- Bước biến tính, chuỗi xoắn kép DNA khuôn bị biến tính, tách khỏi nhau thành 2 chuỗi đơn ở nhiệt độ 94°C trong vòng 30 giây đến 1 phút.

- Bước gắn mồi, nhiệt độ được hạ thấp xuống từ 50°C đến 65°C , tốt nhất là 55°C trong khoảng thời gian 1 đến 2 phút, thời gian kéo dài phụ thuộc vào hoạt độ enzyme và chiều dài sản phẩm. Các đoạn oligonucleotide gắn với sợi DNA khuôn.

- Bước kéo dài, nhiệt độ lúc này nâng lên 72°C trong vòng 30 giây đến 1 phút, nhờ tác dụng của enzyme Taq polymerase các nucleotid có sẵn trong ống nghiệm gắn vào các sợi khuôn theo nguyên tắc bổ sung kết quả là hình thành một bản sao DNA mới. Như vậy sau mỗi chu kỳ nhiệt, số lượng bản sao DNA có trong ống nghiệm sẽ tăng lên theo cấp số nhân 2.



Hình 1.5. Minh họa nguyên lý của phương pháp PCR

A. Mô phỏng bước 1 PCR: Đầu tiên là nhiệt độ được nâng lên khoảng 94°C để làm biến tính nucleic acid đích từ dạng sợi đôi thành sợi đơn đây là giai đoạn làm biến tính (denaturation) DNA đích. **B. Mô phỏng bước 2 PCR:** Đây là giai đoạn gắn mồi (annealing), lúc này nhiệt độ trong buồng ủ PCR hạ xuống khoảng $50 - 68^{\circ}\text{C}$ để các đoạn mồi (primer) gắn mồi theo nguyên tắc bổ sung vào hai đầu của chuỗi nucleic acid đích, đây là giai đoạn quyết định tính đặc hiệu của những sản phẩm PCR. **C. Mô phỏng Bước 3 PCR:** Đây là bước kéo dài (elongation): Nhiệt độ được tăng lên đến 72°C , để DNA polymerase hoạt động kéo dài mạch

Phương pháp PCR-RFLP

Sản phẩm PCR được cắt bằng các enzyme cắt hạn chế (RE, restriction enzyme) rồi điện di trên thạch agarose sau đó được nhuộm màu với chất huỳnh quang. Các sản phẩm cắt sẽ được đọc dễ dàng trên máy đọc gel có tia cực tím.

Khái niệm enzyme cắt hạn chế và hiện tượng đa hình chiều dài đoạn cắt hạn chế (RFLP, restriction fragment length polymorphism) :

Enzyme nuclease có khả năng bẻ gãy liên kết phosphodiester, làm phân huỷ phân tử DNA. Enzyme cắt hạn chế là một loại enzyme nuclease, có khả năng nhận biết được điểm cắt và cắt tại những điểm xác định trên DNA [16]. Enzyme cắt hạn chế được chiết tách ra từ các loại vi khuẩn. Các enzyme này được đặt tên như sau: Chữ cái đầu tiên viết in hoa đại diện cho giống (genus) vi khuẩn mà từ đó enzyme được chiết tách. Hai chữ cái tiếp theo viết thường đại diện cho loài (species) vi khuẩn. Chữ tiếp theo đại diện cho chủng vi khuẩn (nếu có), cuối cùng là chữ số La mã viết in là thứ tự được phát hiện [185]. Ví dụ: *MboII*: là enzyme cắt hạn chế thứ hai có nguồn gốc từ vi khuẩn *Moraxella bovis*, enzyme *BsaI* là enzyme cắt hạn chế thứ nhất có nguồn gốc từ *Bacillus stearothermophilus*. Mỗi enzyme cắt hạn chế sẽ nhận biết những điểm cắt trên một đoạn DNA và cắt tại những điểm đặc hiệu đó, và do đó sẽ cắt đoạn DNA thành một số đoạn có chiều dài nhất định. Khi có đột biến xảy ra ví dụ thay thế 1 nucleotide này thành 1 nucleotide khác, enzyme cắt hạn chế sẽ có thêm hoặc giảm số điểm cắt và do đó sẽ cắt đoạn DNA thành một số đoạn có chiều dài khác với số đoạn khi không có đột biến. Bằng kỹ thuật điện di sau đó nhuộm màu người ta phân tích các đoạn cắt này và do đó xác định có hay không có đột biến.

Lịch sử phát hiện các đột biến quan trọng liên quan đến đề kháng clarithromycin của H. pylori và các enzyme cắt hạn chế tương ứng

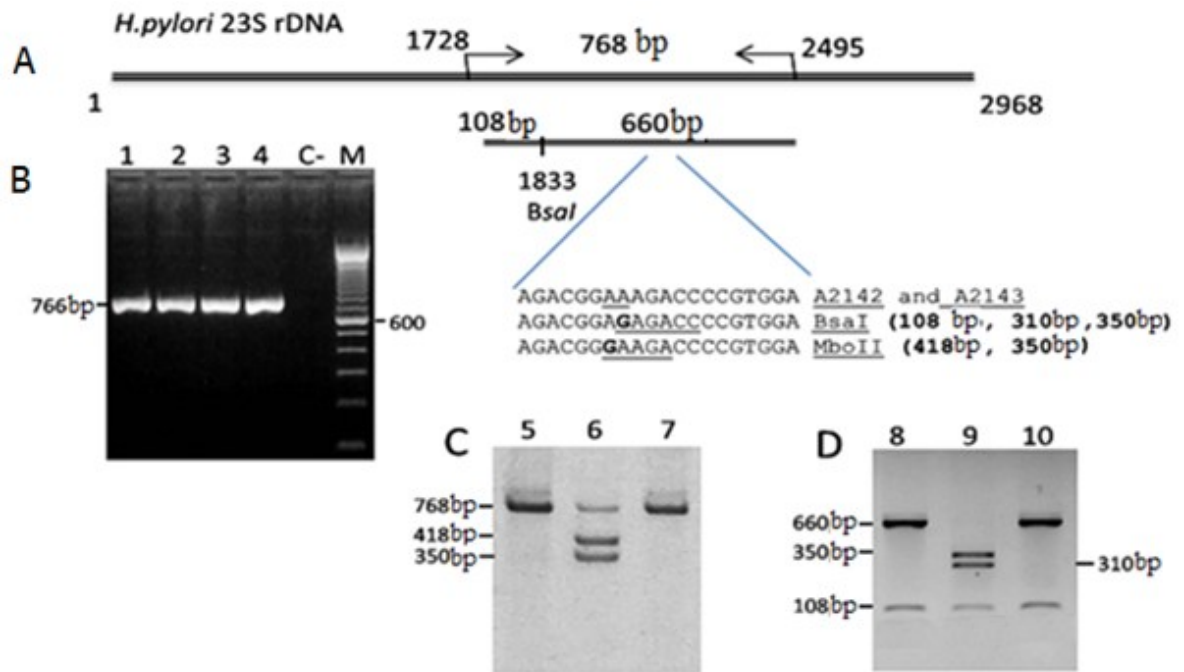
Năm 1996, tại Hoa Kỳ, lần đầu tiên Versalovic J. và cs phát hiện 2 đột biến gen của *H. pylori* trên domain V của gen *23S rRNA* liên quan đến đề kháng clarithromycin, đó là thay thế nucleotide A thành G ở vị trí 2058 và 2059, tính theo gen của *E. coli* (sau này được gọi tên lại là vị trí 2142 và 2143) [221], [239]. Cùng năm đó Stone G. G. và cs phát hiện thêm đột biến gen A2142C cũng liên quan đến đề kháng clarithromycin [211]. Đây là 3 đột

biến căn bản liên quan nhiều nhất đến đề kháng clarithromycin của *H. pylori*. Năm 1996 Versalovic J. phát hiện đột biến A2143G được nhận biết bằng enzyme cắt hạn chế *BsaI* [239]. Sau đó Occhialini áp dụng enzyme cắt hạn chế *BbsI* nhận biết đột biến A2142G [169]. Năm 2002 Menard A. sử dụng enzyme *BceAI* để phát hiện đột biến A2142C [154]. Từ đó về sau nhiều nghiên cứu áp dụng kỹ thuật RFLP sử dụng 3 enzyme cắt hạn chế này (*BsaI*, *BbsI* và *BceAI*) để phát hiện 3 đột biến tương ứng (A2143G, A2142G và A2142C).

1.2.4. Các nghiên cứu đột biến đề kháng clarithromycin có liên quan đến đề tài luận án

1.2.4.1. Nước ngoài

Như đã trình bày trên đây, mục đích của phát hiện đề kháng clarithromycin của *H. pylori* là xác định sự hiện diện của các đột biến gen A2142G, A2143G và A2142C, đây là 3 đột biến phổ biến nhất. Bằng phương pháp PCR-RFLP người ta sử dụng 3 enzyme hạn chế đặc hiệu cho các đột biến này. *BbsI* cho đột biến A2142G, *BsaI* cho đột biến A2143G và *BceAI* cho đột biến A2142C [154]. Cũng có nghiên cứu dùng *MboII* cho đột biến A2142G [216]. Trong nghiên cứu của Susuki R. P. và cs, một đoạn DNA 768 cặp base (bp) được khuếch đại. Khi có đột biến A2143G, enzyme hạn chế *BsaI* sẽ nhận biết 2 vị trí cắt và do đó sẽ cắt đoạn DNA này thành 3 đoạn ngắn hơn có chiều dài là 108 bp, 310 và 350 bp. Khi có đột biến A2142G, enzyme hạn chế *MboII* sẽ nhận biết 1 vị trí cắt và do đó sẽ cắt đoạn DNA 768 bp mẫu thành 2 đoạn ngắn hơn đó là 418 cặp base, 350 bp (hình 1.8) [216]



Hình 1.6. Phát hiện các đột biến A2142G và A2143G bằng RFLP

(Nguồn Suzuki R. B.và cs: *BMC Gastroenterol*: 13, 164, 2013 [216])

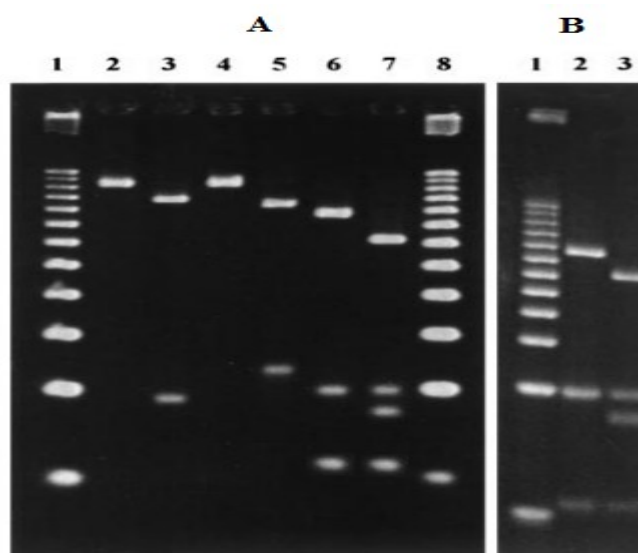
A. Mô phỏng đoạn gen được khuếch đại 768 bp, ghi chú vị trí các đoạn môi. Khi ủ với enzyme *BsaI* chủng hoang dại bị cắt thành 2 đoạn 108 bp và 660 bp.

B. Cột 1, 2, 3, 4: Chủng hoang dại, Cột C: chứng âm, M: thang chuẩn 100 bp.

C. Ủ với enzyme *MboII*, cột 5,7: chủng hoang dại, cột 6: chủng có đột biến A2142G.

D. Ủ với enzyme *BsaI*, Cột 8 và 10 chủng hoang dại, cột 9: Chủng có đột biến A2143G

Trong nghiên cứu của Menard A. (Hình 1.9), enzyme *BceAI* cắt đoạn DNA 267 bp ở chủng hoang dại thành 3 đoạn là 195, 48, 24 bp và chủng có đột biến A2142C thành 4 đoạn là 153, 48, 42, 24 bp [154]



Hình 1.7. Xác định các đột biến A2142G, A2143G và A2142C bằng RE

(Nguồn Menard A. và cs (2002) [154])

Các đoạn cắt của sản phẩm PCR gồm 267 bp được phân tích bằng điện di .

A. Kết quả PCR-RFLP các đột biến A2142G, A2143G, và A2142C điện di trên gel Resophor

Cột 1 và 8, thang chuẩn 25 bp DNA (Pomega)

Cột 2 và 3, sản phẩm PCR của chủng hoang dại và chủng A2142G ủ với BbsI theo thứ tự.

Cột 4 và 5 sản phẩm PCR của chủng hoang dại và chủng A2143G ủ với BsaI theo thứ tự.

Cột 6 và 7 sản phẩm PCR của chủng hoang dại và chủng A2142C ủ với BceAI, theo thứ tự.

B. Kết quả PCR-RFLP đột biến A2142C: Ủ với enzyme BceAI, điện di trên gel ethium bromide

Cột 1 thang chuẩn 25 bp (Promega);

Cột 2 sản phẩm PCR chủng hoang dại;

Cột 3 sản phẩm PCR chủng A2142C.

1.2.4.2. Trong nước

Năm 2014, Hồ Đăng Quý Dũng phân lập 34 chủng *H. pylori* đề kháng clarithromycin bằng xét nghiệm E-test. Thực hiện PCR giải trình tự gen các chủng này cho thấy trong số các chủng đề kháng clarithromycin có 76,5% có đột biến A2143G, 8,8% có đột biến A3142G và không có chủng nào có đột biến A2142C [3].

Năm 2015, Nguyễn Thúy Vinh thực hiện PCR giải trình tự gen trực tiếp trên mẫu sinh thiết dạ dày 188 bệnh nhân, phát hiện tỷ lệ có đột biến đề kháng clarithromycin là 36,7% và chỉ có 1 loại đột biến là A2143G, không có đột biến A2142G. Nghiên cứu này cũng cho thấy phương pháp PCR giải trình tự gen có độ nhạy 88,8% và độ đặc hiệu 71,9% [38].

Năm 2016, Hà Thị Minh Thi và Trần Văn Huy đã công bố 1 nghiên cứu áp dụng thành công phương pháp PCR-RFLP để chẩn đoán 3 đột biến A2142G, A2143G và A2142C và cho rằng có thể áp dụng phương pháp này thường quy trên lâm sàng. Nhóm tác giả đã nghiên cứu trên 226 bệnh nhân được chẩn đoán xác định viêm dạ dày mạn có *H.pylori* (+). Xác định các đột biến A2142G, A2143G bằng phương pháp PCR-RFLP trên các mẫu DNA chiết tách từ mẫu mô sinh thiết niêm mạc dạ dày. Kết quả nghiên cứu này cho thấy: Tỷ lệ đột biến điểm vị trí 2142 và 2143 trên gen *23S rRNA* của vi khuẩn *H. pylori* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn là 35,4%; trong đó đột biến A2143G chiếm 92,5% và đột biến A2142G chiếm 7,5%; không có đột biến A2142C. Các đột biến này không liên quan với tuổi, giới, vị trí viêm và tình trạng viêm teo. Tỷ lệ đột biến A2143G trong nhóm có tiền sử sử dụng clarithromycin là 44,9%, trong khi tỷ lệ này ở nhóm không có tiền sử sử dụng clarithromycin là 24,8% ($p < 0,01$) [29].

1.3. Phác đồ nối tiếp có levofloxacin trong điều trị *H. pylori*

1.3.1. Phác đồ nối tiếp

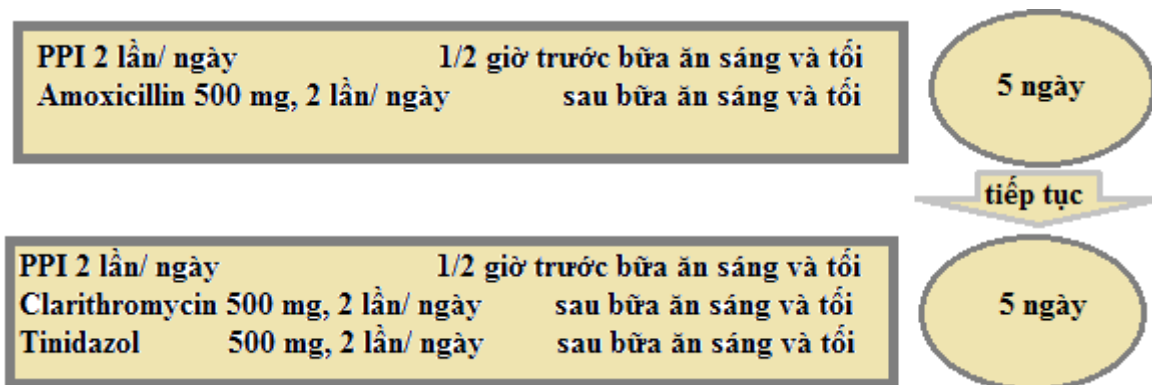
Nhằm thay thế phác đồ 3 thuốc chuẩn ngày càng kém hiệu quả, đã có nhiều phác đồ khác ra đời, trong đó phác đồ nối tiếp là một phác đồ được nghiên cứu nhiều và kết quả diệt trừ *H. pylori* cao. Đồng thuận Maastricht IV khuyến cáo ở những nơi có tỷ lệ đề kháng clarithromycin $\geq 20\%$ không nên sử dụng phác đồ 3 thuốc chuẩn mà nên áp dụng phác đồ 4 thuốc hoặc phác đồ nối tiếp [144].

1.3.1.1. Nguyên nhân ra đời, phác đồ nối tiếp ban đầu và cơ chế tác dụng của phác đồ nối tiếp

† Nguyên nhân ra đời của phác đồ nối tiếp.

Trước tình hình phác đồ điều trị 3 thuốc chuẩn diệt trừ *H. pylori* có từ 5 đến 10% thất bại, năm 1997, Rinaldi V. và cs đã thiết kế một nghiên cứu nhằm tăng tỷ lệ thành công bằng cách sử dụng 4 thuốc gồm 3 kháng sinh nhưng không dùng đồng thời mà phối hợp có thứ tự các thuốc [191]. Hai nhóm bệnh nhân được điều trị theo 2 cách khác nhau. Nhóm I (78 bệnh nhân) dùng OTC (omeprazol, tetracyclin và clarithromycin) 1 tuần, sau khi thất bại dùng OA (omeprazol và amoxicillin) 2 tuần, ngược lại nhóm II (75 bệnh nhân) dùng OA 2 tuần, sau khi thất bại dùng OTC 1 tuần. Kết quả cho thấy nhóm I có tỷ lệ thành công là 81,6%, nhóm II có tỷ lệ thành công là 97,3% sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Từ ý tưởng đó, năm 2000 lần đầu tiên Zullo A. và cs phát triển ý tưởng phác đồ nối tiếp. Thử nghiệm thực hiện lần đầu trên 52 bệnh nhân nhiễm *H. pylori* có loét và không loét với phác đồ điều trị “nối tiếp” gồm 5 ngày đầu dùng OA, 5 ngày tiếp theo dùng OCT [257]. Kết quả diệt trừ phân tích theo ý định điều trị (ITT, intention-to-treat) là 98%. Hình 1.8 minh họa phác đồ nối tiếp ban đầu.



Hình 1.8. Phác đồ nối tiếp

(Nguồn Zullo A., 2007 *Gut*, 56(10), 1353 - 1357 [259])

† *Phác đồ nối tiếp ban đầu*

Từ kết quả ban đầu với tỷ lệ diệt trừ *H. pylori* ngoạn mục trên, năm 2003 Zullo A. và cs công bố một nghiên cứu đa trung tâm ở Ý với mẫu 1.049 bệnh nhân chậm tiêu có bằng chứng nhiễm *H. pylori* [258]. Trong đó 527 bệnh nhân được điều trị bằng phác đồ nối tiếp 10 ngày (rabeprazol 40mg/ ngày và amoxicillin 1g 2 lần/ ngày trong 5 ngày đầu, sau đó rabeprazol 20 mg/ ngày, clarithromycin 500 mg và tinidazol 500 mg, ngày 2 lần trong 5 ngày tiếp theo) và 522 bệnh nhân được điều trị phác đồ 3 thuốc chuẩn 7 ngày (rabeparzol 20 mg/ ngày clarithromycin 500 mg và amoxicillin 1g 2 lần/ ngày). Kết quả cho thấy tỷ lệ diệt trừ *H. pylori* vượt trội ở phác đồ nối tiếp so với phác đồ 3 thuốc chuẩn. Theo phân tích ITT phác đồ nối tiếp có tỷ lệ thành công là 92 % phác đồ 3 thuốc chuẩn 77%, phân tích theo đề cương nghiên cứu (PP, per protocol) tương ứng là 95% và 77 %.

† *Cơ chế tác dụng của phác đồ nối tiếp*

Các nhà nghiên cứu cho rằng trong phác đồ nối tiếp 2 thuốc có amoxicillin trong 5 ngày đầu làm giảm số lượng vi khuẩn đáng kể trong dạ dày tạo thuận lợi cho tác dụng của 3 thuốc trong 5 ngày sau. Hơn nữa dùng amoxicillin khởi đầu có một lợi ích khác là ngăn chặn phát sinh đề kháng clarithromycin thứ phát [155], [259].

Bảng 1.1. Kết quả diệt trừ *H. pylori* của 2 phác đồ

	Phác đồ nối tiếp	Phác đồ chuẩn	Chênh lệch (%) (95%CI)	p
ITT (%: 95%CI)	481/522 (92: 89,9 - 94,5)	389/527 (74:70 - 77,6)	18,3 (13,9 - 22,7)	< 0,0001
PP (%: 95% CI)	481/506 (95: 93,2 - 97)	389/507 (77: 73 - 80,4)	18,3 (14,2 - 22,5)	< 0,0001
ITT PUD (%: 95% CI)	124/128 (97: 93,9 - 99,9)	101/135 (75: 67,5 - 82,1)	22,1 (14 - 30,2)	< 0,0001
PP PUD (%: 95% CI)	124/127 (98: 95 - 100)	102/133 (76: 68,7 - 83, 2)	21,7 (13,9 - 29,8)	< 0,0001
ITT NUD (%: 95% CI)	357/394 (91: 87,7 - 93,5)	288/392 (73:69,1 - 77,8)	17,1 (11,9 - 22,4)	< 0,0001
PP NUD (%: 95% CI)	357/379 (94: 91,8 - 96,5)	288/374 (77: 72,2 - 81,3)	17,2 (12,3 - 22,1)	< 0,0001
Cla-Re (%: 95% CI)	7/9 (78:45,3 - 93,7)	1/6 (17: 3 - 56,4)	61,1 (9,8 - 82,1)	0,04
Nitro-Re (%: 95% CI)	34 / 36 (94: 81,9 - 98,5)	26 / 37 (70: 54,2 - 82,5)	24,2 (6,6 - 40,7)	0,01
Cla+ Metro-Re (%: 95% CI)	8/10 (80: 49 - 93,4)	2/5 (40: 11,8 - 76,9)	40 (-8,2 - 71,7)	0,2

CI: confidence Interval, khoảng tin cậy; Cla: clarithromycin; Metr: metronidazol; NUD: non-ulcer dyspepsia, chậm tiêu không do loét; PUD: peptic ulcer disease, bệnh loét tiêu hóa.

(Nguồn Zullo và cs: *Aliment Pharmacol Ther*: 17 (5) 719 -726 [258])

Vi khuẩn có thể phát triển các kênh bơm đẩy thuốc ra ngoài (efflux chanel) đối với clarithromycin nhằm chuyển nhanh kháng sinh ra khỏi tế bào vi khuẩn, ngăn chặn sự gắn kết của kháng sinh vào ribosom. Amoxicillin phá vỡ vách tế bào vi khuẩn ngăn chặn sự hình thành các kênh bơm đẩy thuốc ra ngoài. Phác đồ nối tiếp ra đời trên cơ sở là ở những bệnh nhân đã điều trị thất bại lần đầu, liệu trình 2 thuốc (gồm PPI và amoxicillin) 14 ngày, tiếp theo sau đó là liệu trình 3 thuốc 7 ngày có hiệu quả cao hơn liệu trình ngược lại [186]. Vaira và cs cho rằng với liệu trình 2 thuốc trong giai đoạn đầu của phác đồ nối tiếp, một số lượng rất lớn vi khuẩn đã bị diệt trừ và thực tế với phác đồ 2

thuốc (PPI và amoxicillin) dưới 7 ngày đã đạt được tỷ lệ tiết trừ lên đến 50% [231]. Hơn nữa hiệu quả của phác đồ 3 thuốc chuẩn (PPI, clarithromycin và tinidazole) tỷ lệ nghịch với lượng vi khuẩn có trong dạ dày, nghĩa là hiệu quả tiết trừ cao nếu mật độ vi khuẩn trong dạ dày thấp và ngược lại. Như vậy, giai đoạn đầu của phác đồ nối tiếp giúp tăng hiệu quả của giai đoạn sau.

1.3.1.2. Các nghiên cứu áp dụng phác đồ nối tiếp

†Thành công của phác đồ nối tiếp

Trước năm 2009, Vaira D. và cs (2009) đã tổng kết các nghiên cứu về phác đồ nối tiếp (bảng 1.2) với những tỷ lệ tiết trừ *H. pylori* đáng khích lệ, cao nhất đến 98%, chỉ có một nghiên cứu có tỷ lệ thành công thấp (77,9%) ở Hàn Quốc theo phân tích ITT [231].

Bảng 1.2. Tỷ lệ tiết trừ *H. pylori* trong một số nghiên cứu

Quốc gia	Thiết kế	n	Thành công	ITT (%)	PP (%)	Tham khảo
Ý	Người lớn	52	51	98,1	98,1	Zullo A. và cs (2000)
Ý	Người lớn	65	61	93,8	96,8	De Francesco V. và cs (2001)
Ý	Người lớn	94	90	95,7	95,7	Focareta R. và cs (2003)
Ý	Người lớn	522	481	92,1	95,1	Zullo D. và cs (2003)
Ý	Người lớn	152	142	93,4	96,6	Hassan C. và cs (2003)
Ý	Người lớn	174	166	95,4	95,4	Focareta R. và cs (2003)
Ý	Người lớn	162	151	93,2	94,4	De Francesco V. và cs (2004a)
Ý	Người lớn	45	43	95,6	97,7	De Francesco V. và cs (2004b)
Ý	Người lớn	116	110	94,8	95,6	De Francesco V. và cs (2004c)
Ý	Người lớn	40	38	95	97,4	Zullo D. và cs (2004)
Ý	Người già	89	84	94,4	96,6	Zullo D. và cs (2005)
Ý	Trẻ em	38	36	94,7	94,7	Francavilla R. và cs (2005)

Ý	Người lớn	72	68	94,4	97,1	Scaccianoce G. và cs (2006)
Ý	Trẻ em	40	33	82,5	82,5	Lionetti E. và cs (2006)
Ý	Trẻ em	25	23	92,0	92,0	Lerro P. và cs (2006)
Rumani	Trẻ em	45	39	86,6	86,6	Hurduc V. và cs (2007)
Ý	Người lớn	146	133	91,1	93,0	Vaira D. và cs (2007)
Ý	Trẻ em	108	92	85,2	85,2	Francavilla R. và cs (2008)
Ý	Người lớn	90	78	86,7	88,6	Paoluzi O. A. và cs (2008)
Bồ Đào Nha	Người lớn	137	117	84,2	90,7	Sanchez-Delgado J. và cs (2008)
Đài Loan	Người lớn	66	59	89,4	98,3	Wu D. C. và cs (2008)
Hàn Quốc	Người lớn	77	60	77,9	85,7	Choi W. H. và cs (2008)
Panama	Người lớn	76	65	85,5	85,5	Ruiz-Obaldia J. R. (2008)
Tổng số	Người lớn	2.433	2.220	91,2	93,7	

(Nguồn Vaira D. và cs: *Therap Adv Gastroenterol*: 2(6), 317-322 [231])

Sau năm 2009, Yakut M. và cs (2010) nghiên cứu trên 108 bệnh nhân dùng phác đồ nối tiếp, tỷ lệ tiết trừ 88%, và kiểm tra lại bằng test kháng nguyên phân cho kết quả 77% sau một năm [253].

Gao W. và cs (2010) nghiên cứu 3 nhóm bệnh nhân, nhóm A dùng phác đồ phối hợp 4 thuốc có Bimuth RABL (rabeprazol + amoxicillin + bismuth pectin + levofloxacin), nhóm B dùng phác đồ nối tiếp OA-OCT (omeprazole và amoxicillin trong 5 ngày đầu; omeprazole, clarithromycin và tinidazole trong 5 ngày tiếp theo), nhóm C dùng phác đồ 3 thuốc chuẩn OAC (omeprazole, amoxicillin và clarithromycin) kết quả tỷ lệ tiết trừ nhóm A 83,33%, nhóm B 88,89%, nhóm C 80,56% [83].

Mahachai V. và cs (2011) nghiên cứu 151 bệnh nhân tại bệnh viện Chulalongkorn Memorial (Thái Lan) sử dụng phác đồ nối tiếp 10 ngày gồm lanzoprazol 30mg và amoxicillin 1g ngày 2 lần trong 5 ngày đầu và

lanzoprazol 30mg, clarithromycin 500mg và nitroimidazol 500mg ngày 2 lần trong 5 ngày tiếp theo. Kết quả tỷ lệ tiết trừ là 94%. Tuy nhiên, trong nhóm kháng clarithromycin tỷ lệ tiết trừ chỉ 64,7% [136].

Năm 2014 nghiên cứu của De Francesco V. và cs cho thấy phác đồ nối tiếp có hiệu quả tương đương với phác đồ đồng thời và phác đồ lai 14 ngày nhưng có lợi thế hơn 2 phác đồ này ở giá thành thấp và số lượng thuốc ít hơn [67].

Mới đây, năm 2015 hướng dẫn điều trị *H. pylori* tại Ý khuyến cáo sử dụng phác đồ nối tiếp cho điều trị lần đầu với mức bằng chứng và đồng thuận cao nhất [255].

† *Tuân thủ điều trị của phác đồ nối tiếp*

Tuân thủ điều trị là một vấn đề lớn ảnh hưởng đến kết quả tiết trừ *H. pylori*. Tuân thủ điều trị tốt được định nghĩa là tổng số thuốc được sử dụng trên 90% số thuốc được cho [259]. Đã có nhiều nghiên cứu so sánh sự tuân thủ điều trị và tác dụng phụ của phác đồ nối tiếp với phác đồ 3 thuốc chuẩn. Trong một phân tích gộp 8 nghiên cứu phác đồ nối tiếp và phác đồ 3 thuốc chuẩn, Zullo D. và cs thấy rằng không có sự khác biệt về tỷ lệ tuân thủ điều trị và tỷ lệ tác dụng phụ giữa hai phác đồ [259]. Một số nghiên cứu khác cũng xác nhận không có sự khác biệt về sự tuân thủ điều trị giữa phác đồ nối tiếp và phác đồ 3 thuốc chuẩn [101], [116], [197].

† *Những hạn chế của phác đồ nối tiếp*

Mặc dù các nghiên cứu trên đây đã ủng hộ phác đồ nối tiếp về tỷ lệ tiết trừ *H. pylori* cao và tuân thủ điều trị tốt, phác đồ nối tiếp cũng có một số điểm hạn chế. Khi so sánh với phác đồ 3 thuốc chuẩn 14 ngày và các phác đồ khác như phác đồ 4 thuốc có và không có bismuth thì ưu thế của phác đồ nối tiếp trong các nghiên cứu còn mâu thuẫn nhau [85], [261].

Một hạn chế khác là phác đồ nối tiếp được khuyến cáo dùng ở những nơi có tỷ lệ kháng clarithromycin > 20%. Trong thực tế nghiên cứu đề kháng clarithromycin chưa thực hiện được ở nhiều nơi. Mới đây năm 2016, đồng thuận Maastricht V cho rằng đề kháng clarithromycin làm giảm hiệu quả của

phác đồ 3 thuốc và phác đồ nối tiếp, kháng metronidazol làm giảm hiệu quả phác đồ nối tiếp [142].

Tại Việt Nam, nghiên cứu đề kháng clarithromycin đã thực hiện ở hai trung tâm thành phố Hồ Chí Minh và Hà Nội cho thấy tỷ lệ kháng clarithromycin khá cao (33%) [46]. Đề kháng clarithromycin tại miền Trung Việt Nam theo Phan Trung Nam là 42,9% [18]. Do đó phác đồ nối tiếp cổ điển có thể không phù hợp với thực tế Việt Nam.

1.3.2. Các cải tiến của phác đồ nối tiếp

Phác đồ nối tiếp ban đầu là một phác đồ 10 ngày, trong đó 5 ngày đầu dùng omeprazol 20mg và amoxicillin 1g mỗi ngày 2 lần, 5 ngày tiếp theo dùng omeprazol 20mg, clarithromycin 500mg và tinidazol 500mg mỗi ngày 2 lần. Về sau nhiều nghiên cứu đã cải tiến bằng nhiều hình thức khác nhau [257]. Có hai lý do để phát sinh các hình thức cải tiến của phác đồ nối tiếp. Thứ nhất là tỷ lệ tiết trừ *H. pylori* của phác đồ nối tiếp thành công thấp với các chủng đề kháng clarithromycin [136], thứ hai là về sau tỷ lệ này càng giảm [136], [261].

1.3.2.1. Kéo dài thời gian dùng thuốc, thay đổi thuốc

Liou J. M. và cs (2013) nghiên cứu tại Đài Loan so sánh phác đồ nối tiếp 10 ngày, 14 ngày (pha đầu 5 ngày hoặc 7 ngày lansoprasol 30 mg, amoxicillin 1g, 2 lần/ ngày; pha sau 5 ngày hoặc 7 ngày tiếp theo lansoprasol 30 mg, amoxicillin 1 g, và metronidazole 500 mg, 2 lần/ ngày) (LA-LAM) và phác đồ 3 thuốc 10 ngày (lansoprasol 30 mg, amoxicillin 1 g, metronidazole 500 mg, 2 lần/ ngày) (LAM) [128]. Nghiên cứu gồm 900 bệnh nhân chia ba nhóm, mỗi nhóm 300 bệnh nhân. Kết quả cho thấy phác đồ nối tiếp LA-LAM 14 ngày có tỷ lệ tiết trừ *H. pylori* cao hơn (90,7%) phác đồ nối tiếp LA-LAM 10 ngày (87,0%) và phác đồ 3 thuốc chuẩn 14 ngày (82,3%). Hơn nữa, cả hai phác đồ nối tiếp có tỷ lệ tiết trừ thành công cao hơn phác đồ 3 thuốc (LAM). Tác dụng phụ và mức độ tuân thủ điều trị của 3 phác đồ tương đương nhau.

1.3.2.2. Tăng liều thuốc và kéo dài thời gian dùng thuốc

Graham D. Y. và cs nghiên cứu tại Hoa Kỳ (2006). Trong đó thời gian dùng thuốc kéo dài lên 12 ngày và tăng liều amoxicillin lên 3g/ ngày [91]. Ba mươi bệnh nhân dùng phác đồ nối tiếp 12 ngày trong đó 6 ngày đầu dùng esomeprazole 40mg và amoxicillin 1g 3 lần/ ngày, 6 ngày tiếp theo dùng thêm clarithromycin 400mg 1 lần/ ngày. Kết quả diệt trừ *H. pylori* là 80% theo phân tích ITT và 85,7% theo phân tích PP.

1.3.2.3. Tăng liều và thay đổi khoảng thời gian dùng thuốc

Zullo D. và cs đã thiết kế một nghiên cứu đa trung tâm theo hướng tăng liều thuốc và thay đổi khoảng thời gian dùng thuốc của phác đồ nối tiếp [263]. Nghiên cứu gồm 99 bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* được tuyển chọn để điều trị diệt trừ *H. pylori* lần đầu bằng phác đồ nối tiếp cải tiến. Phác đồ gồm 3 ngày đầu dùng rabeprazole 20 mg và amoxicillin 1 g, 3 lần/ ngày; 7 ngày tiếp theo dùng rabeprazole 20 mg, clarithromycin 250 mg, metronidazole 250 mg, 3 lần/ ngày. Kết quả nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ diệt trừ *H. pylori* theo phân tích ITT là 85,9%, theo phân tích PP là 93,4%. Tác giả kết luận phác đồ nối tiếp cải tiến 3 ngày + 7 ngày và tăng liều thuốc đạt tỷ lệ thành công cao nhưng chỉ theo phân tích PP

1.3.2.4. Phác đồ lai

Năm 2011, Hsu P. I. và cs cải tiến phác đồ nối tiếp theo hướng kéo dài thời gian của phác đồ lên 14 ngày và kéo dài thời gian sử dụng amoxicillin trong suốt 14 ngày đó chứ không phải chỉ sử dụng trong nửa thời gian đầu của phác đồ nối tiếp thông thường và gọi phác đồ này là phác đồ lai [99]. Mẫu nghiên cứu 117 bệnh nhân sử dụng phác đồ esomeprazole và amoxicillin trong 7 ngày đầu và esomeprazole, amoxicillin clarithromycin, and metronidazole trong 7 ngày tiếp theo). Tỷ lệ diệt trừ thành công lên đến 99,1% theo phân tích PP và 97,4% theo phân tích ITT.

1.3.3. Phác đồ nối tiếp cải tiến có levofloxacin

1.3.3.1. Các thuốc trong phác đồ nối tiếp cải tiến có levofloxacin

† Levofloxacin

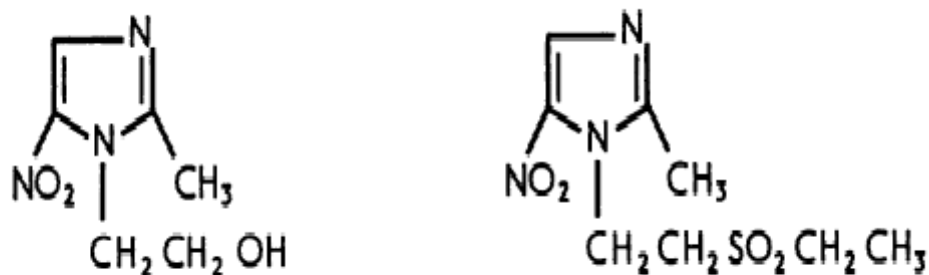
Levofloxacin là một fluoroquinolon mới, một đồng phân của ofloxacin có tác dụng đối với nhiều loại vi khuẩn gram dương và gram âm. Thuốc hấp thu nhanh, sinh khả dụng 100%, ít bị ảnh hưởng bởi thức ăn, phân bố rộng khắp cơ thể, thâm nhập tốt vào các mô và dịch cơ thể. Nồng độ thuốc trong mô và dịch cơ thể cao hơn huyết tương, thời gian bán hủy 6 - 8 giờ ở người có chức năng thận bình thường [54]. Các fluoroquinolon có tác dụng chống vi khuẩn *H. pylori* [194]. Hơn nữa, Tanaka M. và cs đã chứng minh rằng levofloxacin và PPI có tác dụng hiệp đồng chống vi khuẩn *H. pylori* [220].

† Amoxicillin

Amoxicillin là 1 trong số 3 kháng sinh được sử dụng phổ biến trong phác đồ 3 thuốc chuẩn. Thuộc nhóm kháng sinh betalactam. Thuốc dung nạp tốt và đặc biệt rất ít bị đề kháng bởi *H. pylori*

† Tinidazol

Tinidazol và metronidazol là 2 thuốc có cấu trúc hóa học liên quan với nhau thuộc nhóm 5 nitroimidazol [248]. Tuy nhiên tinidazol có thời gian bán hủy gần gấp đôi metronidazol. Với liều đơn 2g, thời gian bán hủy của tinidazol là 12,5 giờ so với metronidazol là 7,3 giờ, có lẽ vì vậy mà các phác đồ metronidazol kém hơn tinidazol [248], [260]. Tinidazol được sử dụng trong phác đồ nối tiếp ban đầu chứ không phải metronidazol và theo Zullo, về sau các phác đồ nối tiếp dùng metronidazol là một phần lý do giảm hiệu quả của phác đồ nối tiếp [258], [261].



Cấu trúc phân tử metronidazol Cấu trúc phân tử tinidazol

Hình 1.9. Cấu trúc phân tử metronidazol và tinidazol

† Rabeprazol

Rabeprazol là một thuốc PPI mới, được giới thiệu lần đầu tiên năm 1997 và là thuốc PPI đầu tiên được Hoa Kỳ công nhận trong điều trị *H. pylori* bằng phác đồ 7 ngày [124]. Phần lớn các PPI đều chuyển hóa ở gan qua enzyme CYP2C19. Đa hình gen CYP2C19 là một trong những yếu tố làm ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị diệt trừ *H. pylori* [114]. Tuy nhiên, trong số các PPI, rabeprazol ít phụ thuộc vào chuyển hóa CYP2C19 nhất. Trong các đa hình gen, kiểu gen chuyển hóa trung bình (IM, intermediate metabolizer) và chuyển hóa mạnh (EM, extensive metabolizer) làm giảm hiệu quả của PPI và do đó giảm hiệu quả của phác đồ điều trị diệt trừ *H. pylori*. Phân bố kiểu gen CYP2C19 ở Việt Nam EM 40%, IM 40%, chuyển hóa kém (PM, poor metabolizer) 20% [124]. Do đó việc lựa chọn rabeprazol để điều trị *H. pylori* có ích lợi hơn các PPI khác tại Việt nam. Theo Lim P. W. và cs ngoài yếu tố ít phụ thuộc vào chuyển hóa qua CYP2C19 rabeprazol còn có ưu điểm là giảm nhanh triệu chứng, dung nạp tốt và liều dùng tiện dụng và do đó là lựa chọn hàng đầu trong điều trị các rối loạn liên qua đến axit dạ dày [126].

1.3.3.2. Sự phối hợp levofloxacin với PPI trong điều trị H. pylori

Trên invitro, Tanaka M. và cs đã chứng minh rằng có một sự hiệp đồng tác dụng cao hơn khi phối hợp PPI với levofloxacin so với clarithromycin và amoxicillin [220]. Năm 2000, lần đầu tiên Camarota G. và cs đã sử dụng

levofloxacin trong điều trị tiệt trừ *H. pylori*. Tác giả áp dụng 2 phác đồ phối hợp PPI và levofloxacin với tinidazol hoặc amoxicillin. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ tiệt trừ *H. pylori* của 2 phác đồ 3 thuốc có levofloxacin $\geq 90\%$, tuân thủ điều trị tốt và tác dụng phụ nhẹ [54]. Sau đó nhiều nghiên cứu khác áp dụng levofloxacin trong điều trị *H. pylori*.

Tại Việt Nam, năm 2009, Đào Hữu Ngôi và cs đã áp dụng phác đồ 3 thuốc có levofloxacin. Tỷ lệ thành công của phác đồ này là 88,2% theo phân tích PP và 68% theo phân tích ITT và an toàn trong sử dụng [22]. Năm 2015 Hoàng Trọng Thắng đã áp dụng phác đồ này thời gian điều trị 7 ngày, tỷ lệ thành công là 86,3 % theo phân tích PP 74,6% theo phân tích ITT, đồng thời dung nạp tốt [25].

1.3.4. Các nghiên cứu phác đồ nối tiếp có liên quan với đề tài

Đã có một số nghiên cứu áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin và kết quả thu được có nhiều triển vọng

1.3.4.1. Nước ngoài

Năm 2010 Romano M. và cs nghiên cứu so sánh 3 phác đồ nối tiếp 10 ngày gồm phác đồ nối tiếp chuẩn, phác đồ nối tiếp có levofloxacin với liều 250 mg 2 lần/ ngày và phác đồ levofloxacin 500 mg, 2 lần/ ngày [189]. Nghiên cứu được thực hiện ở địa phương có tỷ lệ đề kháng clarithromycin $> 15\%$. Kết quả cho thấy 2 phác đồ nối tiếp có levofloxacin hiệu quả cao hơn phác đồ nối tiếp chuẩn. Đồng thời tác dụng phụ giữa các phác đồ không có sự khác biệt.

Năm 2012 Qian J. và cs so sánh hiệu quả và tác dụng phụ của 3 phác đồ gồm phác đồ 3 thuốc chuẩn, phác đồ nối tiếp chuẩn và phác đồ nối tiếp có levofloxacin trong điều trị lần đầu [180]. Kết quả nghiên cứu này cho thấy chỉ có phác đồ nối tiếp có levofloxacin có hiệu quả chấp nhận được (82,6%, 86,5%) đồng thời cả 3 phác đồ có tác dụng phụ thấp.

Năm 2015, trong một nghiên cứu phân tích tổng hợp các phác đồ nối tiếp có levofloxacin, Kale-Pradhan P. B. cho rằng phác đồ nối tiếp có levofloxacin là một hướng nghiên cứu có triển vọng trong điều trị tiệt trừ *H. pylori* [105].

Năm 2016 Liou J. M. và cs nghiên cứu so sánh phác đồ nối tiếp có levofloxacin với phác đồ 3 thuốc có levofloxacin 10 ngày [129]. Kết quả cho thấy phác đồ nối tiếp có levofloxacin có hiệu quả cao hơn phác đồ 3 thuốc có levofloxacin và đề nghị nên sử dụng trong điều trị lần thứ 2.

1.3.4.2. Trong nước

Các nghiên cứu trong nước đã chứng minh phác đồ 3 thuốc chuẩn hiện nay đã giảm hiệu quả rõ rệt đồng thời phác đồ nối tiếp có ưu thế hơn.

Bùi Hữu Hoàng so sánh hiệu quả của phác đồ 3 thuốc chuẩn (Pantoprazol, amoxicillin và clarithromycin) với phác đồ nối tiếp chuẩn ở 80 bệnh nhân viêm loét dạ dày tá tràng chưa từng điều trị *H. pylori*. Kết quả cho thấy phác đồ 3 thuốc chuẩn có tỷ lệ tiệt trừ thấp hơn phác đồ nối tiếp có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ tiệt trừ của phác đồ 3 thuốc chuẩn theo phân tích PP và ITT là 62,5% và 50%, của phác đồ nối tiếp là 86,1% và 72,5%. Đồng thời không có sự khác nhau về tác dụng phụ của 2 phác đồ [8]. Trương Văn Lâm cũng so sánh phác đồ nối tiếp với phác đồ 3 thuốc chuẩn và cho rằng phác đồ nối tiếp có tỷ lệ tiệt trừ *H. pylori* cao hơn, đồng thời phác đồ 3 thuốc chuẩn có tỷ lệ tiệt trừ < 70% theo phân tích ITT và PP [13]. Tuy nhiên cũng có nghiên cứu cho thấy phác đồ nối tiếp chuẩn hiệu quả thấp không chấp nhận được, Lê Thị Hương và cs áp dụng phác đồ nối tiếp 14 ngày (7 ngày đầu dùng esomeprazol và amoxicillin; 7 ngày sau dùng esomeprazol, clarithromycin và metronidazol) kết quả tiệt trừ theo phân tích ITT là và PP là 33% và 35% [11].

Một số tác giả đã áp dụng phác đồ 3 thuốc có levofloxacin nhằm khắc phục nhược điểm của phác đồ 3 thuốc chuẩn, tuy nhiên kết quả không thống nhất. Đào Hữu Ngôi so sánh hiệu quả của phác đồ 3 thuốc chuẩn với phác đồ 3 thuốc có levofloxacin ở 350 bệnh nhân viêm hoặc loét dạ dày tá tràng. Kết quả

nguyên cứu này cho thấy phác đồ có levofloxacin có hiệu quả diệt trừ cao hơn phác đồ 3 thuốc chuẩn. Theo phân tích ITT và PP của phác đồ có levofloxacin là 68% và 88,2%, của phác đồ 3 thuốc chuẩn là 68,5 và 57,1%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Không có sự khác biệt về tác dụng phụ giữa 2 phác đồ [21]. Tuy nhiên nghiên cứu của Trần Thiện Trung cho thấy hiệu quả diệt trừ của 2 phác đồ 3 chuẩn và phác đồ 3 thuốc có levofloxacin đều có hiệu quả diệt trừ thấp dưới hoặc xấp xỉ 70% theo cả 2 phân tích ITT và PP [35].

Năm 2016, Nguyễn Phan Hồng Ngọc nghiên cứu điều trị 102 bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* bằng phác đồ nối tiếp có levofloxacin tại bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế. Kết quả diệt trừ thành công theo phân tích PP là 81,5%, theo phân tích ITT là 73,5%. Trong đó 33,7% có tác dụng phụ và tuân thủ điều trị 90,2% [20].

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Những bệnh nhân đến nội soi dạ dày tá tràng tại phòng nội soi bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ngãi từ tháng 6 năm 2013 đến tháng 10 năm 2015 được phát hiện có viêm dạ dày, nhiễm *H. pylori* và đồng ý tham gia nghiên cứu.

Bệnh nhân tham gia nghiên cứu được thông tin, tư vấn đầy đủ về nghiên cứu này.

2.1.1. Tiêu chuẩn chọn mẫu

Chúng tôi đưa vào nghiên cứu những bệnh nhân được chẩn đoán viêm dạ dày, có nhiễm *H. pylori*, đồng ý tham gia nghiên cứu. Đối với mục tiêu 2, bệnh nhân có chỉ định điều trị *H. pylori* theo khuyến cáo của hội Khoa học tiêu hóa Việt Nam [9]

2.1.1.1. Chẩn đoán viêm dạ dày

- Lâm sàng có triệu chứng gợi ý viêm dạ dày như: Đau thượng vị, đầy bụng chậm tiêu, ợ hơi ợ chua...
- Có hình ảnh viêm dạ dày trên nội soi
- Xác định có viêm dạ dày mạn bằng mô bệnh học qua mẫu sinh thiết dạ dày vùng hang vị bằng kỹ thuật nhuộm H&E

2.1.1.2. Chẩn đoán nhiễm *H. pylori*

Tất cả bệnh nhân đưa vào nghiên cứu được xác định nhiễm *H. pylori* bằng 2 phương pháp

- Xét nghiệm urease nhanh dương tính với *H. pylori*
- Có hình ảnh vi khuẩn *H. pylori* trên mô bệnh học bằng kỹ thuật nhuộm Giem sa

2.1.1.3. Chỉ định điều trị *H. pylori*

Một số chỉ định điều trị *H. pylori* trong nghiên cứu này

- Viêm dạ dày mạn teo

- Có người thân quan hệ huyết thống trực tiếp bị ung thư dạ dày (cha, mẹ, anh, chị em ruột)
- Bệnh nhân mong muốn sau khi đã được tư vấn kỹ
- Rối loạn tiêu hóa không do loét
- Bệnh trào ngược dạ dày thực quản cần điều trị với PPI lâu dài

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

Đối với tất cả bệnh nhân tham gia nghiên cứu

- Tiền sử mổ dạ dày
- Có hình ảnh loét dạ dày tá tràng
- Đang dùng thuốc chống đông

Đối với bệnh nhân tham gia điều trị phác đồ nối tiếp cải tiến RA-RLT

- Có thai, cho con bú
- Dị ứng với các thuốc trong phác đồ
- Có bệnh nặng kèm theo như suy gan, suy thận, ác tính
- Có tiền sử điều trị diệt trừ *H. pylori* bằng phác đồ có levofloxacin nếu

khai thác được

- Bệnh nhân có sử dụng kháng sinh trong vòng 4 tuần và PPI trong vòng 2 tuần trước khi khám lần 2

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

- Đối với mục tiêu 1: Nghiên cứu cắt ngang mô tả
- Đối với mục tiêu 2: Nghiên cứu tiến cứu có theo dõi dọc

2.2.2. Cỡ mẫu

Đối với mục tiêu 1

Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Đức Toàn và cs năm 2012 cho thấy tỷ lệ đề kháng clarithromycin ở bệnh nhân viêm dạ dày là 41,5% [33]. Chúng tôi dựa vào tỷ lệ này để ước tính cỡ mẫu.

Áp dụng công thức ước tính cỡ mẫu để nghiên cứu một tỷ lệ [36] [36]
[36] [36] [36][35]

$$n \geq \left(\frac{1,96}{m} \right)^2 p(1 - p)$$

m cho phép 5%-10%. Ở đây chúng tôi chọn 7%

$$\text{N như vậy } n \geq \left(\frac{1,96}{0,07} \right)^2 0,415 \times (1 - 0,415,2) = 190,3$$

Trong nghiên cứu này chúng tôi lấy 203 mẫu.

Đối với mục tiêu 2

Kết quả nghiên cứu của Federico và cs năm 2012 áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin EA-ELT (5 ngày đầu esomeprazol 20 mg và amoxicillin 1g, ngày 2 lần; 5 ngày sau esomeprazol 20 mg, levofloxacin 500 mg và tinidazol 500 mg, ngày 2 lần) cho thấy tỷ lệ diệt trừ *H. pylori* là 93,3% [77]. Chúng tôi chọn tỷ lệ này để ước tính cỡ mẫu. Số m chúng tôi chọn 5%

Áp dụng công thức

$$n \geq \left(\frac{1,96}{m} \right)^2 p(1 - p)$$

$$\text{N như vậy } n \geq \left(\frac{1,96}{0,05} \right)^2 \times 0,933 \times 0,067 = 96,06$$

Trong nghiên cứu này chúng tôi lấy 116 mẫu.

2.2.3. Các bước tiến hành nghiên cứu

- Những bệnh nhân đến nội soi có viêm dạ dày đồng ý tham gia nghiên cứu được lấy 2 mẫu sinh thiết vùng hang vị.

- Sau đó bệnh nhân được khai thác bệnh sử, thăm khám lâm sàng, chỉ định xét nghiệm khác nếu thấy nghi ngờ có bệnh lý ảnh hưởng đến điều trị diệt trừ *H. pylori*.

2.2.4. Ghi nhận dữ liệu lâm sàng lần đầu

- Các thông tin hành chính: Tên, tuổi, giới tính, địa chỉ, số điện thoại liên lạc.

- Lý do đến khám bệnh và nội soi:

- + Đau thượng vị
- + Nóng rát thượng vị
- + Ợ hơi, ợ chua
- + Đầy bụng
- + Chậm tiêu
- + Nôn, buồn nôn, hoặc triệu chứng khác

- Tiền sử bản thân

+ Đã điều trị *H. pylori* chưa

+ Yếu tố địa dư: Thành thị hay nông thôn

+ Tiền sử hút thuốc lá: Được xem là đang hút thuốc lá khi số lượng thuốc hút >1 gói/ tuần [57].

-Thời gian khởi bệnh

- Khám lâm sàng: Mục đích chính là phát hiện các bệnh đi kèm có thể là tiêu chuẩn loại trừ trong nghiên cứu này như các bệnh lý suy gan, suy thận, bệnh ác tính.

- Trong lần khám này, ngoài tư vấn về tầm quan trọng của việc dùng đúng và đủ thuốc, chúng tôi khuyến khích bệnh nhân thông báo những trở ngại khi điều trị, đặc biệt là các tác dụng phụ của thuốc để kịp thời tư vấn.

2.2.5. Thực hiện nội soi tiêu hóa trên

2.2.5.1. Nơi thực hiện kỹ thuật

Phòng Nội soi Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ngãi

2.2.5.2. Phương tiện máy móc

- Máy nội soi mềm hiệu Olympus CLV – 180 do Nhật Bản sản xuất, máy hút, nguồn sáng, quan sát hình ảnh dạ dày tá tràng qua màn hình hiệu Sony

- Thuốc gây tê họng: Dung dịch xịt xylocain 2% và gel xylocain

- Ống Eppendorf, một ống chứa dung dịch bảo TE (Tris - EDTA) có sẵn do bộ môn Di truyền y học Trường Đại học Y Dược Huế cung cấp, một ống chứa formaldehyt 10% do khoa giải phẫu bệnh lý bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ngãi cung cấp.

2.2.5.3. Kỹ thuật nội soi

Người nghiên cứu thực hiện hoặc phối hợp và cùng thực hiện soi với các bác sĩ nội soi bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ngãi trong một số trường hợp.

- Chuẩn bị bệnh nhân

- + Bệnh nhân không ăn hay uống ít nhất 8 giờ trước khi làm nội soi
- + Giải thích, hướng dẫn để bệnh nhân yên tâm hợp tác trong quá trình soi
- + Gây tê họng bằng dung dịch phun lidocain 2%



Hình 2.1. Máy nội soi dạ dày tá tràng Olympus CLV – 180

- Tiến hành thủ thuật nội soi dạ dày

- + Chuẩn bị và kiểm tra máy: Vận hành máy, kiểm tra hệ thống ánh sáng, kiểm tra hệ thống bơm hơi và nước, hệ thống hút, nút điều khiển và độ uốn cong của ống soi

+ Tiến hành nội soi: Bệnh nhân nằm ở tư thế nghiêng trái. Đặt ngáng miệng vào giữa hai cung răng bệnh nhân. Đưa ống nội soi đã được bôi trơn bằng gel xylocain qua miệng vào thực quản, đến dạ dày. Bơm hơi và quan sát kỹ các vùng niêm mạc dạ dày. Sử dụng kỹ thuật quay ngược ống soi để quan sát cùng tâm vị, phình vị, bờ cong lớn, bờ cong nhỏ. Khi phát hiện có tổn thương thì ghi nhận chi tiết về hình thái và vị trí tổn thương. Đưa ống xuống tá tràng quan sát và ghi nhận tổn thương [12].

+ Ghi nhận các hình thái tổn thương dạ dày

Các hình thái tổn thương dạ dày theo phân loại Sydney [156].

+ Tiến hành lấy hai mẫu sinh thiết vùng hang vị.

- Xử lý 2 mẫu sinh thiết

Một mẫu được ngâm trong formol sau đó gửi khoa giải phẫu bệnh lý để làm xét nghiệm mô bệnh học.

Một mẫu làm xét nghiệm urease nhanh. Sau khi có kết quả dương tính với *H. pylori*, mẫu xét nghiệm này sẽ được tái sử dụng [122], lưu trữ ở nhiệt độ -20°C , sau đó gửi đến bộ môn Di truyền y học của Trường Đại học Y Dược Huế để xét nghiệm PCR xác định nhiễm *H. pylori*. Ngay sau khi có kết quả PCR dương tính với *H. pylori*, sản phẩm PCR sẽ được sử dụng để làm xét nghiệm RFLP xác định đề kháng clarithromycin.

2.2.5.4. Đánh giá các tổn thương dạ dày trên nội soi

- Vị trí viêm

+ Hang vị

+ Thân vị/ toàn dạ dày

- Mô tả tổn thương (theo tiêu chuẩn Sydney [156])

Đối với những bệnh nhân có đồng thời nhiều tổn thương trên nội soi, chúng tôi chỉ ghi nhận tổn thương rõ ràng và nổi trội nhất.

+ Phù nề xung huyết

+ Trợt phẳng

- + Trọt lõi
- + Teo
- + Xuất huyết
- + Phì đại nếp niêm mạc
- + Trào ngược dịch mật

2.2.5.5. Kỹ thuật xét nghiệm urease nhanh

Chúng tôi sử dụng test Urease được sản xuất bởi công ty cổ phần thương mại dịch vụ Việt Á.

Nguyên lý: Urê trong sản phẩm bị men urease của *H. pylori* thủy phân tạo ra NH_3 làm kiềm hóa môi trường. Chất chỉ thị màu giúp nhận biết nếu phản ứng xảy ra [22].

Sản phẩm được bảo quản lạnh 4 - 10°C.

Các đặc điểm kỹ thuật được nêu trong protocol của công ty là:

- + Độ nhạy > 90%
- + Độ đặc hiệu: > 95%
- + Chẩn đoán dương tính 100%
- + Chẩn đoán âm tính 86%
- + Độ chính xác chung 91%
- Phương pháp tiến hành
- + Kiểm tra hạn dùng, màu sắc mẫu trước khi sử dụng (màu vàng nhạt).

Thuốc thử được bảo quản trong tủ lạnh được lấy ra và để ổn định ở nhiệt độ phòng 15 - 20 phút.

- + Mảnh sinh thiết được cho ngập trong thuốc thử, đẩy nút và không lắc.
- + Ghi rõ ràng tên bệnh nhân và giờ thử trên thân ống bằng mực màu.
- + Đọc kết quả sau 60 phút

Nhận định kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất:

Clotest dương tính khi:

- Thuốc thử chuyển từ màu vàng cam sang màu đỏ tím trong vòng 5 phút: Mẫu chứa *H. pylori* có hoạt tính mạnh

- Thuốc thử chuyển từ màu cam sang màu đỏ cam sậm trong vòng 30 phút: Mẫu chứa ít *H. pylori* hoặc bệnh nhân đã có đợt điều trị nên *H. pylori* đang ở dạng thoái triển

Clotest âm tính khi :

- Thuốc thử chuyển từ màu vàng cam sang màu đỏ hồng sau 30 phút: Màu chuyển do tạp nhiễm các loài *Proteus*, *Morganella* hoặc do ảnh hưởng tạm thời bởi pH của dạ dày.

- Thuốc thử không thay đổi màu vàng cam sau 60 phút



Hình 2.2. Kết quả xét nghiệm clotest

A: Clotest âm tính, dung dịch trong ống thử không đổi màu.

B: Clotest dương tính, dung dịch trong ống thử đổi màu từ vàng cam sang đỏ cánh sen.

C: Hộp chứa sản phẩm

2.2.6. Đánh giá trên mô bệnh học

Mẫu sinh thiết niêm mạc vùng hang vị dạ dày được cho vào dung dịch formalin 10% và ghi tên chính xác. Các mẫu mô này được nhuộm H&E và nhuộm Giem sa [191].

2.2.6.1. Nơi thực hiện

Khoa giải phẫu bệnh lý bệnh viện đa khoa tỉnh Quảng Ngãi

Người đọc kết quả: Bác sĩ chuyên khoa cấp 1 chuyên ngành giải phẫu bệnh, trưởng khoa giải phẫu bệnh lý bệnh viện đa khoa tỉnh Quảng Ngãi.

Lam kính mô bệnh học đã được thẩm định đạt yêu cầu, có xác nhận của bộ môn Giải phẫu bệnh, Trường Đại học Y Dược Huế.

Các bước tiến hành

1. Cố định: Bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể được đưa ngay vào dung dịch cố định (formol đậm trung tính 10%) với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 – 30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2 - 24 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ. Sau khi cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các bước sau:

2. Chuyển bệnh phẩm
3. Vùi parafin
4. Đúc khối parafin
5. Cắt và dán mảnh cắt
6. Nhuộm

2.2.6.2. Nhuộm Hematoxylin- Eosin (H&E) đánh giá viêm dạ dày

Kỹ thuật nhuộm H&E được thực hiện theo “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành giải phẫu bệnh, tế bào học” của Bộ Y tế năm 2013.

Chúng tôi đánh giá viêm dạ dày dựa vào bảng đánh giá của Aydın và cs [43].

Bảng 2.1. Đánh giá mức độ viêm mạn

Viêm mạn		
Điểm	Mô tả	Mức độ
0	Không có TBVM	0, không viêm
1	< 10 TBVM / VT tốt	1-2-3 nhẹ
2	> 10 TBVM / VT tốt	
3	Có vài vùng dày đặc TBVM	
4	Thâm nhiễm lan tỏa dày đặc tế bào viêm mạn	4-5-6 vừa đến nặng
5	Gần như toàn bộ niêm mạc dày đặc TBVM	
6	Toàn bộ niêm mạc thâm nhiễm dày đặc TBVM	

TBVM: Tế bào viêm mạn, VT: Vi trường

Bảng 2.2. Đánh giá mức độ viêm hoạt động

Viêm hoạt động		
Điểm	Mô tả	Mức độ
0	Không có khe tuyến nào bị ảnh hưởng	0, không hoạt động
1	Chỉ có một khe tuyến bị ảnh hưởng	1-2 nhẹ
2	2 khe tuyến bị ảnh hưởng	
3	Nhiều khe tuyến bị ảnh hưởng (< 25%)	3-4-5-6 vừa - nặng
4	25-50% số khe tuyến bị ảnh hưởng	
5	> 50% số khe tuyến bị ảnh hưởng	
6	Tất cả các khe tuyến bị ảnh hưởng	

Bảng 2.3. Đánh giá mức độ viêm teo

Viêm teo		
Điểm	Mô tả	Mức độ
0	Không mất TDD	0, không teo
1	Ổ khu trú có ít TDD bị mất hoặc thay thế bởi BMR	1-2-3 nhẹ
2	Những vùng nhỏ TDD bị mất hoặc bị thay thế bởi BMR	
3	< 25% TDD bị mất hoặc bị thay thế bởi BMR	
4	25-50% TDD bị mất hoặc bị thay thế bởi BMR	4-5-6 vừa - nặng
5	> 50% TDD bị mất hoặc bị thay thế bởi BMR	
6	Chỉ có một ít vùng nhỏ còn TDD	

TDD: Tuyến dạ dày, BMR: Biểu mô ruột

2.6.2.3. Nhuộm Giêm sa đọc kết quả nhiễm *H. pylori*

Nhuộm Giêm sa được thực hiện theo “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành giải phẫu bệnh, tế bào học” của Bộ Y tế năm 2013.

H. pylori được xác định bằng hình dạng chữ S hoặc hình gậy cong kích thước 3 - 4 µm trong lớp nhày niêm mạc, giữa các khe tuyến dạ dày dưới độ phóng đại 400 và 1000 lần.

Chúng tôi đánh giá mức độ nhiễm *H. pylori* trên mô bệnh học dựa vào bảng đánh giá của Aydin và cs [43].

Bảng 2.4. Đánh giá mức độ nhiễm *H. pylori*

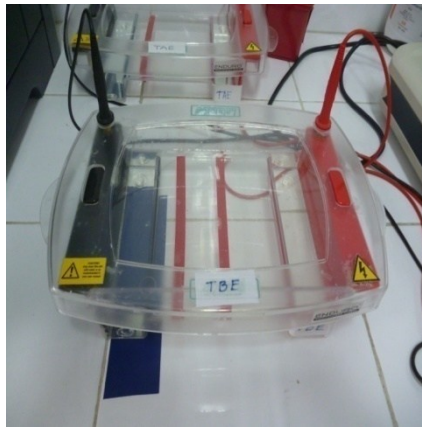
<i>H. pylori</i>		
Điểm	Mô tả	Mức độ
0	Không thấy <i>H. pylori</i>	0
1	Chỉ thấy <i>H. pylori</i> ở một chỗ	1-2-3-4 (nhẹ)
2	Chỉ thấy ít <i>H. pylori</i>	
3	Thấy <i>H. pylori</i> rải rác ở những vùng / ổ tách biệt	
4	Thấy nhiều <i>H. pylori</i> ở những vùng / ổ tách biệt	
5	Gần như toàn bộ bề mặt dạ dày bị phủ bởi một lớp <i>H. pylori</i>	5-6 (vừa / nặng)
6	Bề mặt dạ dày bị phủ một lớp dày <i>H. pylori</i>	

2.2.7. Thực hiện phát hiện *H. pylori* bằng PCR và phát hiện đề kháng clarithromycin bằng RFLP

Nơi thực hiện: Bộ môn Di truyền y học, Trường Đại học Y Dược Huế

2.2.7.1. Thiết bị, dụng cụ:

- + Máy luân nhiệt Applied Biosystem 2720
- + Bộ sinh phẩm Wizard Genomic DNA purification (Promega).
- + Máy Nanodrop
- + Bộ sinh phẩm Go Taq Green Master Mix (Promega)
- + Môi xuôi
- + Môi ngược
- + Nước cất



A



B



C



D

Hình 2.3. Các thiết bị chính sử dụng trong kỹ thuật PCR-RFLP

A: Buồng điện di, B: máy đọc kết quả điện di, C: Máy trộn, D: Máy luân nhiệt

2.2.7.2. Tách chiết DNA từ mẫu mô sinh thiết niêm mạc dạ dày

Tách chiết DNA từ mảnh sinh thiết niêm mạc dạ dày theo protocol chuẩn của kit Wizard Genomic DNA purification (Promega). DNA sau khi tách chiết được đo trên máy Nanodrop rồi pha loãng ở nồng độ 100 ng/μL

2.2.7.3. Xác định nhiễm *H. pylori* bằng kỹ thuật PCR

- Phương pháp PCR để khuếch đại đoạn gen 23SrRNA có chứa vị trí các đột biến phổ biến nhất: A2142G, A2143G và A2142C được thực hiện tại bộ môn di truyền học Trường Đại học Y Dược Huế

-Trình tự cặp mồi được thiết kế bởi Menard [157].

Mồi xuôi 5'- AGGTTAAGAGGATGCGTCAGTC-3' (HPY - S)

Mồi ngược 5' - CGCATGATATTCCCATTAGCAGT-3' (HPY - A)

- Các thành phần tham gia phản ứng PCR: Sử dụng bộ sinh phẩm Go Taq Green Master Mix (Promega)

Thể tích phản ứng là 25 μ L gồm:

+12,5 μ L Go Taq Green Master Mix 2X

+ 1 μ L mồi xuôi (10pmol / μ L)

+ 1 μ L mồi ngược (10pmol / μ L)

+ 9,5 μ L nước cất

+ 1 μ L DNA (100pmol / μ L)

- Điều kiện PCR: Thực hiện phản ứng trên máy luân nhiệt Applied Biosystem 2720, gồm các giai đoạn:

+ Biến tính ban đầu: 95⁰C trong 5 phút

+Tiếp theo 30 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm: Giai đoạn biến tính 94⁰ C trong 1 phút, giai đoạn gắn mồi 52⁰ C trong 1 phút, giai đoạn kéo dài mồi 72⁰C trong 1 phút

+ Giai đoạn kéo dài cuối cùng 72⁰C trong 10 phút

- Kiểm tra sản phẩm PCR: Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1% trong 30 phút, ở điện thế 80 V, có kèm theo thang chuẩn 100 bp. Đọc kết quả dưới máy đọc UV (transilluminator). Kích thước sản phẩm là 267 bp.

2.2.7.4. Xác định các đột biến A2142G, A2143G và A2142C trên gen 23S rRNA bằng phương pháp PCR-RFLP

Sau khi có được sản phẩm PCR và sản phẩm này được xác định là có gen đặc hiệu cho vi khuẩn *H. pylori*.

- Thành phần phản ứng: Thể tích phản ứng cắt bằng enzyme *BbsI*, *BasI* và *BceAI* là 15 μ L.

Bảng 2.5. Các thành phần tham gia phản ứng trong PCR-RFLP

Thành phần phản ứng	Xác định đột biến A2142G	Xác định đột biến A2143G	Xác định đột biến A2142C
Dung dịch đệm 10 X	1,5 µL	1,5 µL	1,5 µL
Enzyme	5 U <i>Bbs</i> I	5 U <i>Bsa</i> I	0,5 U <i>Bce</i> AI
Sản phẩm PCR	2µL	2µL	2µL
Nước cất	Thêm đủ 15µ	Thêm đủ 15µ	Thêm đủ 15µ

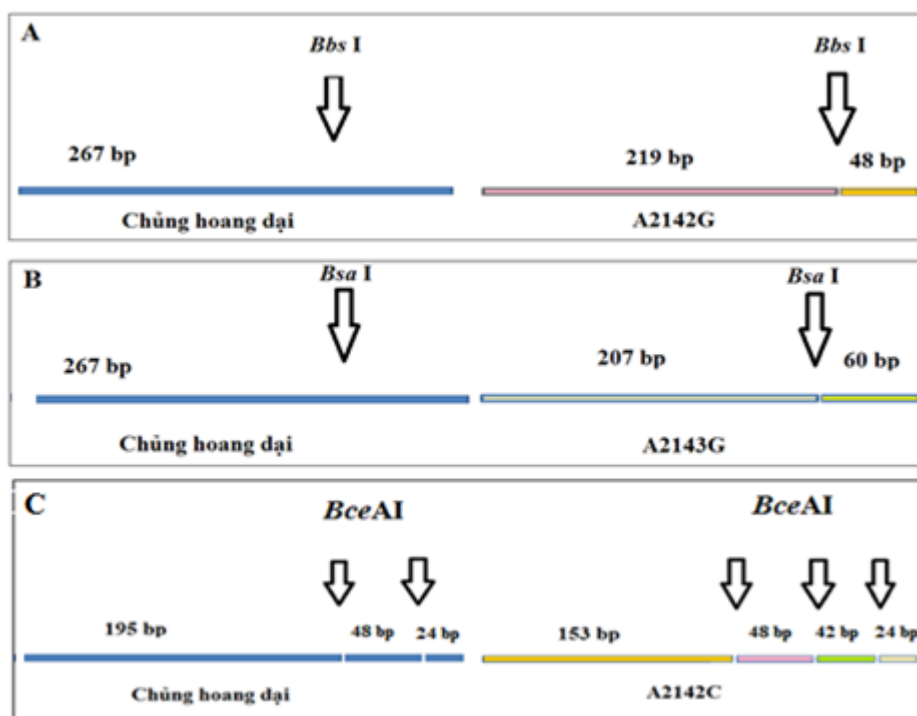
- Điều kiện ủ

Các thành phần của phản ứng sau khi được trộn đều, ủ ở 37⁰C trong bể điều nhiệt, thời gian ủ là 16 giờ

- Kiểm tra sản phẩm RFLP

Điện di sản phẩm trên gel agarose 2,5%, kích thước 10cm x 7cm x 0,4cm trong 120 phút ở điện thế 80 V có kèm thang chuẩn 25 bp. Đọc kết quả dưới máy đọc UV.

Sản phẩm sau khi cắt bằng các enzyme *Bbs*I, *Bsa*I, và *Bce*AI



Hình 2.4. Minh họa sản phẩm PCR sau khi được cắt bởi các emzym

A. Cắt bởi enzyme BbsI. **Bên trái:** Chủng hoang dại không có điểm cắt, sản phẩm còn nguyên là đoạn DNA 267 bp. **Bên phải:** Chủng đột biến A2142G, có 1 điểm cắt, sản phẩm PCR bị cắt thành 2 đoạn 207 bp và 60 bp.

B. Cắt bởi enzyme BsaI. **Bên trái:** Chủng hoang dại không có điểm cắt, sản phẩm còn nguyên là một đoạn DNA 267 bp. **Bên phải:** Chủng đột biến A2143G, có 1 điểm cắt, sản phẩm PCR bị cắt thành 2 đoạn là 219 và 48 bp.

C. Cắt bởi enzyme BceAI. **Bên trái:** Chủng hoang dại có 2 điểm cắt, sản phẩm PCR bị cắt thành 3 đoạn 195 bp, 48 bp và 24 bp. **Bên phải:** Chủng đột biến A2142C có 3 điểm cắt, bị cắt thành 4 đoạn 153 bp, 48 bp, 42 bp và 24 bp.

2.2.7.5. Các chỉ tiêu nghiên cứu PCR-RFLP:

- Có hay không có đột biến
- Loại đột biến: A2142G, A2143G hoặc A2142C

2.2.8. Ghi nhận dữ liệu đánh giá kết quả điều trị

2.2.8.1. Điều trị *H. pylori* theo phác đồ nối tiếp cải tiến RA-RLT

Phác đồ gồm:

- 5 ngày đầu:

Amoxicillin (Servamox) 1000 mg, ngày 2 lần sau bữa ăn

Rabeprazol (Pariet) 20 mg) ngày 2 lần, trước bữa ăn 30 phút

- 5 ngày sau

Levofloxacin (Tavanic) 500 mg ngày 2 lần sau bữa ăn

Tinidazol 500 mg ngày 2 lần, sau bữa ăn

Rabeprazol (Pariet) 20 mg, ngày 2 lần trước bữa ăn 30 phút

2.2.8.2. Ghi nhận dữ liệu lần 2 sau điều trị tiệt trừ *H. pylori*

Thời điểm thu thập 4-6 tuần sau lần nội soi đầu tiên [145]. Trong giai đoạn này bệnh nhân không sử dụng bất cứ một kháng sinh gì và nếu có sử dụng PPI thì phải ngừng ít nhất 2 tuần trước khi khám lần 2.

† Ghi nhận dữ liệu về sự tuân thủ điều trị và tác dụng phụ

Mức độ tuân thủ được đánh giá là tốt nếu số lượng thuốc được uống > 90%.

Các tác dụng phụ có thể xảy ra gồm: Đau đầu, rối loạn vị giác, mệt mỏi, tiêu chảy, đau bụng, nôn/ buồn nôn, đầy bụng, ngứa.

Độ nặng của tác dụng phụ được đánh giá khi hỏi bệnh, dựa vào mức độ ảnh hưởng đến sinh hoạt hàng ngày của bệnh nhân [178].

† Nội soi, mô tả các tổn thương dạ dày trên nội soi

† Xét nghiệm clotest ghi nhận kết quả điều trị

+ Clotest âm tính được xem là điều trị thành công

+ Clotest dương tính được xem là điều trị thất bại

2.3. Xử lý thống kê

Tất cả các dữ liệu được mã hóa dưới dạng các biến, được đưa vào phần mềm thống kê SPSS phiên bản 22.0 và được xử lý tự động trên máy vi tính bằng các thuật toán thống kê thông thường.

- Thống kê đặc điểm của mẫu. Trong trường hợp cần thiết xem xét ý nghĩa của tỷ lệ các đặc điểm của 1 biến, chúng tôi xử lý thống kê 1 mẫu. Đối với biến định tính có 2 khả năng, sử dụng test thị thức 1 mẫu (one sample binominal test), hoặc test Chi bình phương 1 mẫu với xác suất kỳ vọng chọn trước (0,5).

- Phân tích mối liên quan giữa các biến

Các biến phân loại được so sánh bằng test Chi-square hoặc test chính xác Fisher khi tần số lý thuyết < 5.

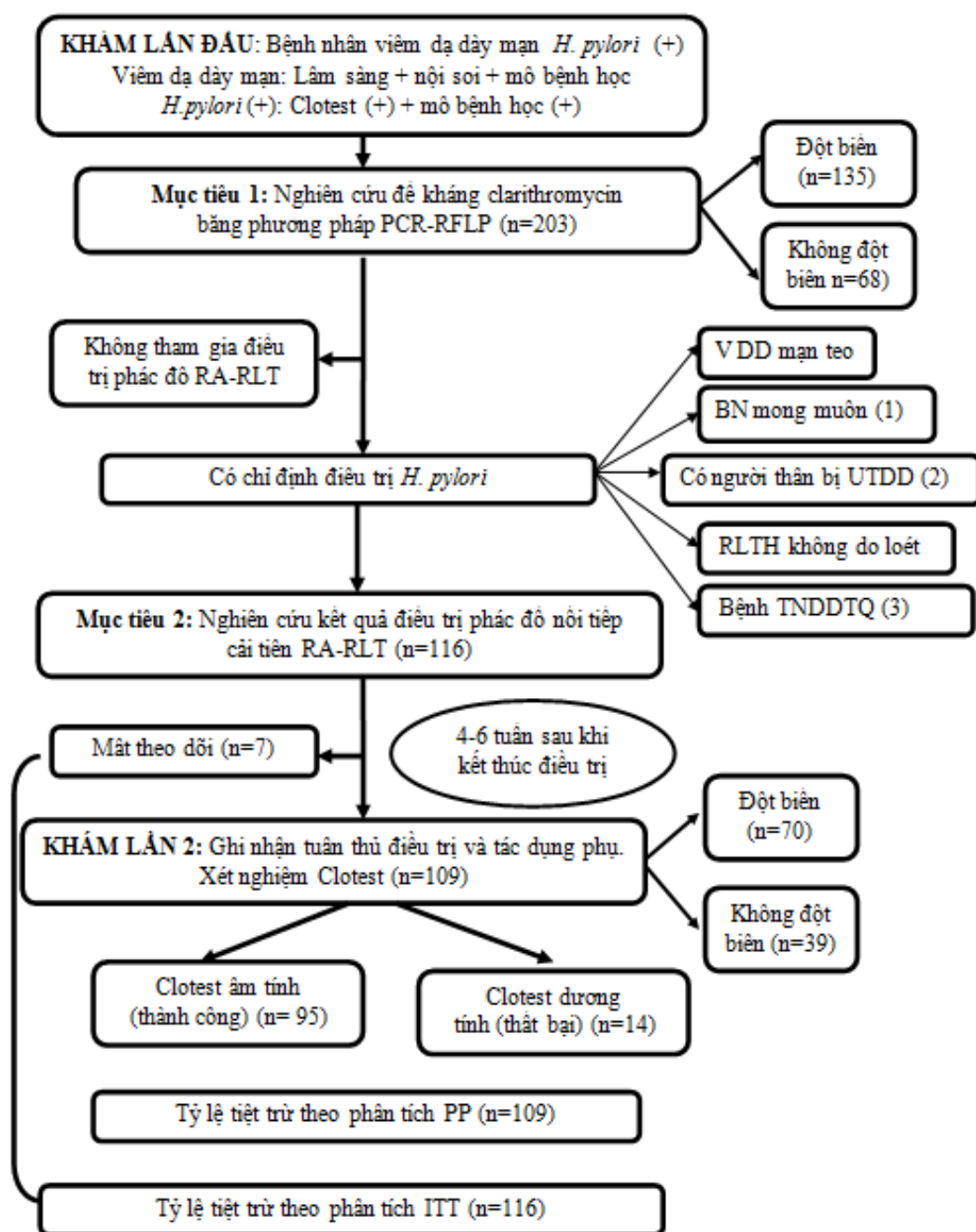
- Phân tích hồi quy logistic đơn biến: Phân tích mối tương quan và mức độ ảnh hưởng của từng biến độc lập với biến phụ thuộc thông qua mức độ ý nghĩa (p) và tỷ suất chênh (OR). Với mục tiêu 1, phân tích mối tương quan và mức độ ảnh hưởng của giới tính, yếu tố địa dư và tiền sử điều trị *H. pylori* lên đột biến đề kháng clarithromycin. Với mục tiêu 2, phân tích mối tương quan và mức độ ảnh hưởng của đột biến đề kháng clarithromycin, mức độ nhiễm *H.*

pylori trên mô bệnh học, và tình trạng đang hút thuốc lá lên kết quả tiết trừ *H. pylori*. Mỗi tương quan được cho là có ý nghĩa thống kê nếu $p < 0,05$.

- Phân tích hồi quy logistic đa biến: Phân tích mỗi tương quan đồng thời của biến phụ thuộc đó là đột biến đề kháng clarithromycin theo mục tiêu 1 và kết quả tiết trừ *H. pylori* theo mục tiêu 2 với một số biến độc lập được chọn lọc. Các biến độc lập được chọn lọc để đưa vào phân tích hồi quy đa biến gồm những biến có mức ý nghĩa liên quan $p < 0,1$ hoặc có ý nghĩa trong các nghiên cứu khác. Đồng thời đánh giá mức độ ảnh hưởng của các biến độc lập thông qua tỷ suất chênh hiệu chỉnh (AOR, adjusted odd risk) và khoảng tin cậy (CI, confident interval) 95%. Giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

- Phân tích kết quả tiết trừ *H. pylori* theo 2 phương pháp đó là phân tích ITT và phân tích PP.

Phân tích thống kê được thực hiện trên phần mềm SPSS cho windows (Phiên bản 22.0; IBM Corp., Armonk, NY, USA)



Hình 2.5. Sơ đồ nghiên cứu

VDD: Viêm dạ dày, UTDD: Ung thư dạ dày, TNDDTQ: Trào ngược dạ dày thực quản, (1): Sau khi đã được bác sĩ chuyên khoa tư vấn kỹ, (2): Người cùng huyết thống, (3) cần điều trị PPI lâu dài

2.4. Đạo đức trong nghiên cứu y học

Tất cả các bệnh nhân đều được giải thích về các yêu cầu của nghiên cứu, các thủ thuật sẽ được tiến hành như nội soi dạ dày tá tràng ống mềm,

sinh thiết dạ dày. Đối với bệnh nhân điều trị phác đồ RA-RLT, giải thích về phác đồ điều trị, kết quả điều trị hy vọng có được, khả năng thất bại, các tác dụng phụ của thuốc có thể xảy ra và cách xử trí.

Nội soi dạ dày tá tràng, sinh thiết dạ dày qua nội soi, xét nghiệm mô bệnh học, xét nghiệm sinh học phân tử là những xét nghiệm đã được áp dụng rộng rãi trên lâm sàng và tương đối an toàn đối với bệnh nhân có chỉ định. Đồng thời kết quả này có lợi cho bệnh nhân trong việc chẩn đoán, tiên lượng, định hướng điều trị và chúng tôi sẵn sàng cung cấp nếu có lợi cho bệnh nhân. Bệnh nhân hoàn toàn không trả chi phí cho các xét nghiệm này.

Trong nghiên cứu này chúng tôi không áp dụng phác đồ 3 thuốc chuẩn để đối chiếu vì xét thấy tỷ lệ đề kháng clarithromycin tại địa phương nơi thực hiện nghiên cứu khá cao do đó khả năng thành công sẽ thấp, không có lợi cho bệnh nhân.

Tất cả bệnh nhân tham gia nghiên cứu đều được đọc bản thông tin đầy đủ về đề tài nghiên cứu, ký cam kết đồng ý tham gia nghiên cứu.

Đề cương nghiên cứu đã được thông qua hội đồng y đức cấp bộ môn và cấp trường cùng với sự cho phép của Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ngãi.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Từ tháng 6 năm 2013 đến tháng 10 năm 2015, chúng tôi thu thập số liệu từ 203 bệnh nhân đủ điều kiện đưa vào nghiên cứu. Tất cả những bệnh nhân trong số này đủ điều kiện tham gia nghiên cứu đề kháng clarithromycin bằng phương pháp PCR-RFLP (mục tiêu 1), trong đó có 116 bệnh nhân đủ điều kiện tham gia nghiên cứu phác đồ nối tiếp RA-RLT (mục tiêu 2)

3.1. Kết quả nghiên cứu đột biến đề kháng clarithromycin của *H. pylori* bằng phương pháp PCR-RFLP

3.1.1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu

3.1.1.1. Giới tính

Bảng 3.1. Phân bố giới tính của mẫu nghiên cứu

Giới	Số lượng	Tỷ lệ %
Nam	90	44,3
Nữ	113	55,7
Tổng số	203	100

Test Chi bình phương 1 mẫu với tỷ lệ kỳ vọng 50% ở nam giới, $p = 0,122$

Nhận xét: Viêm dạ dày nhiễm *H. pylori* trong mẫu nghiên cứu gặp ở nữ giới 55,7%, nam giới 44,3%. Sự khác biệt về tỷ lệ giữa nữ và nam không có ý nghĩa thống kê.

3.1.1.2. Tuổi

Trong tổng số 203 bệnh nhân trong nghiên cứu này, bệnh nhân nhỏ tuổi nhất là 16 bệnh nhân lớn tuổi nhất là 85. Tuổi trung bình là $44,1 \pm 13,5$. Tuổi trung vị là 42.

Bảng 3.2. Phân bố tuổi trung bình theo giới tính

Giới	Số lượng	Tuổi trung bình	Độ lệch chuẩn	p
Nam	90	43,1	13,95	0,33
Nữ	113	44,9	13,09	

Test T, p = 0,473

Nhận xét: Tuổi trung bình viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* trong mẫu nghiên cứu ở nam giới là $43,08 \pm 13,95$, ở nữ giới là $44,93 \pm 13,09$. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.1.1.3. Nhóm tuổi

Bảng 3.3. Phân bố nhóm tuổi của mẫu

Nhóm tuổi	Số lượng	Tỷ lệ %
< 30	25	12,3
30 - 39	62	30,5
40 - 49	42	20,7
50 - 59	41	20,2
≥ 60	33	16,3
Tổng số	203	100,0

Nhận xét: Nhóm tuổi viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* trong mẫu có tỷ lệ cao nhất là 30 - 39 (30,5%), thấp nhất là < 30 tuổi. Theo thứ tự tỷ lệ cao nhất đến thấp là 30 - 39, 40 - 49, 50 - 59, 60 - 69, ≥ 60 , < 30.

3.1.1.4. Địa dư

Căn cứ vào địa chỉ của bệnh nhân và trả lời phỏng vấn, chúng tôi chia yếu tố địa dư làm 2 nhóm là thành thị và nông thôn.

Bảng 3.4. Phân bố theo địa dư

Địa dư	Số lượng	Tỷ lệ %
Thành thị	80	39,4
Nông thôn	123	60,6
Tổng số	203	100,0

Test nhị thức 1 mẫu, p = 0,003

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* trong mẫu nghiên cứu sống ở thành thị 39,4% (80/203), nông thôn 60,6% (123/203). Với tỷ lệ kỳ vọng 50%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3.1.1.5. Tiền sử điều trị tiệt trừ *H. pylori*

Trong mẫu nghiên cứu này, chỉ có thể khai thác được tiền sử đã hoặc chưa từng điều trị *H. pylori*.

Bảng 3.5. Phân bố theo tiền sử điều trị *H. pylori*

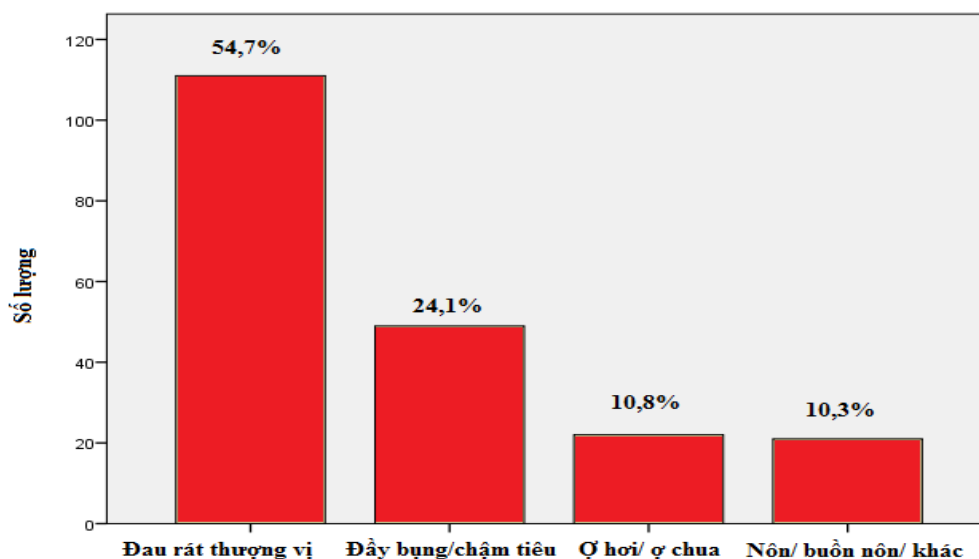
Tiền sử điều trị <i>H. pylori</i>	Số lượng	Tỷ lệ %
Chưa điều trị	135	66,5
Đã điều trị	68	35,5
Tổng số	203	100.0

Test nhị thức 1 mẫu, tỷ lệ kỳ vọng chưa điều trị là 50%, $p = 0,000$

Nhận xét: Đa số bệnh nhân nhiễm *H. pylori* chưa được điều trị tiệt trừ (66,5%). Sự khác biệt về tỷ lệ đã điều trị và chưa điều trị có ý nghĩa thống kê.

3.1.1.6. Đặc điểm các triệu chứng lâm sàng

Phân bố các triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori*



Biểu đồ 3.1. Phân bố các triệu chứng lâm sàng

Nhận xét: Triệu chứng lâm sàng viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* trong mẫu nghiên cứu chiếm tỷ lệ cao nhất là đau/ nóng rát vùng thượng vị (54,7%), kế đến là đầy bụng / chậm tiêu (24,1%), ợ hơi / ợ chua (10,8%), nôn / buồn nôn và các triệu chứng khác (10,3%).

3.1.1.7. Vùng tổn thương dạ dày trên nội soi

Bảng 3.6. Phân bố các vị trí tổn thương trên nội soi

Tổn thương	Số lượng	Tỷ lệ %
Hang vị	141	69,5
Thân vị / toàn dạ dày	62	30,5
Tổng số	203	100

Test Chi bình phương 1 mẫu, tỷ lệ kỳ vọng viêm hang vị là 50%, $p = 0,000$

Nhận xét: Trên nội soi, hình ảnh viêm dạ dày vùng hang vị chiếm tỷ lệ cao hơn so với viêm thân vị và toàn dạ dày. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3.1.1.8. Dạng viêm dạ dày trên nội soi

Bảng 3.7. Phân bố các dạng viêm dạ dày trên nội soi

Các dạng viêm trên nội soi	Số lượng	Tỷ lệ %
Phù nề xung huyết	62	30,5
Trợt lồi	25	12,3
Trợt phẳng	40	19,7
Viêm teo	18	8,9
Phì đại	18	8,9
Xuất huyết	18	8,9
Trào ngược dịch mật	22	10,8
Tổng số	203	100

Nhận xét: Hình ảnh nội soi gặp nhiều nhất trong nghiên cứu này là phù nề xung huyết (30,5%), ít gặp nhất là viêm teo, phì đại, xuất huyết. Theo thứ tự thường gặp là: Phù nề xung huyết, trợt phẳng, trợt lồi, trào ngược dịch mật, xuất huyết, viêm teo và phì đại nếp niêm mạc.

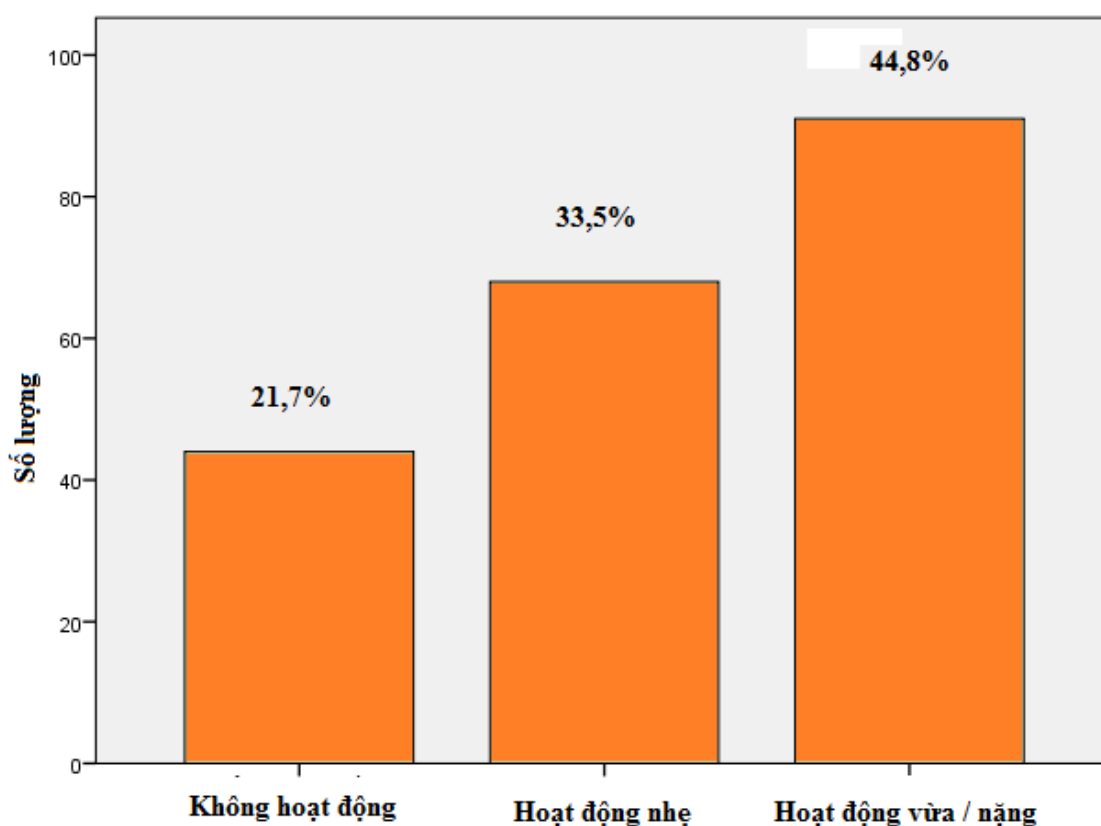
3.1.1.9. Mức độ viêm mạn hang vị trên mô bệnh học

Bảng 3.8. Phân bố mức độ viêm mạn vùng hang vị trên mô bệnh học

Mức độ viêm mạn	Số lượng	Tỷ lệ %
Nhẹ	150	73,9
Vừa / nặng	53	26,1

Nhận xét: Mức mức độ viêm mạn nhẹ chiếm đa số (73,9%) so với mức độ viêm vừa hoặc nặng (26,1%)

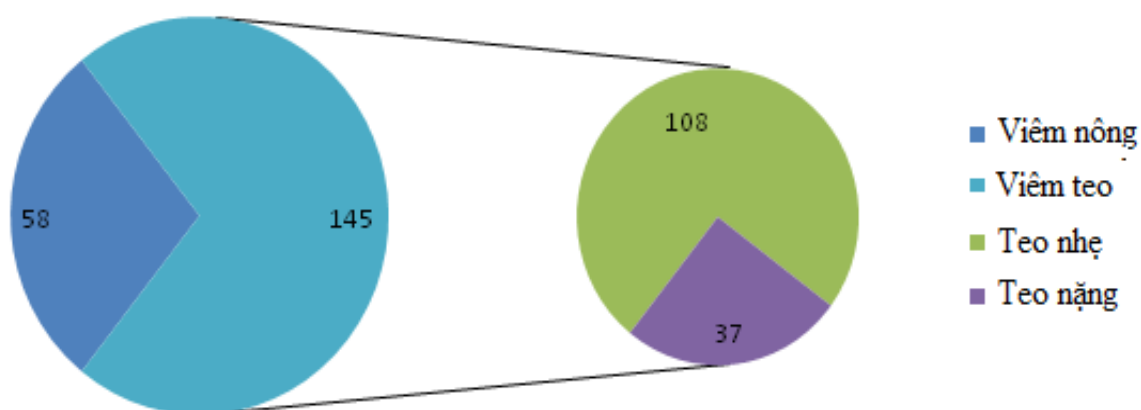
3.1.1.10. Mức độ viêm hoạt động trên mô bệnh học



Biểu đồ 3.2. Các mức độ viêm hoạt động trên mô bệnh học

Nhận xét: Mức độ viêm hoạt động gặp nhiều nhất là vừa hoặc nặng. Theo thứ tự giảm dần: Viêm hoạt động vừa hoặc nặng (44,8%), viêm hoạt động nhẹ (33,5%) và viêm không hoạt động (21,7%).

3.1.1.11. Viêm teo hang vị trên mô bệnh học



Biểu đồ 3.3. Phân bố các mức độ viêm teo hang vị trên mô bệnh học

Nhận xét: Trong tổng số 203 mẫu viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* trên mô bệnh học, viêm nông (không teo) chiếm 28,6% (58/203), viêm teo chiếm 71,4% (145/203)

Trong số những mẫu viêm teo, viêm teo mức độ nhẹ chiếm 74,5% (108/145), viêm teo mức độ vừa hoặc nặng chiếm 25,5% (37/145).

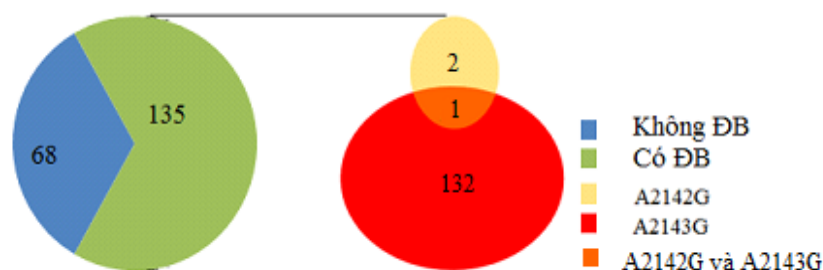
3.1.1.12. Mức độ nhiễm *H. pylori* vùng hang vị trên mô bệnh học

Bảng 3.9. Mức độ nhiễm *H. pylori*

Mức độ nhiễm <i>H. pylori</i>	Số lượng	Tỷ lệ %
Nhẹ	145	71,4
Vừa / nặng	58	28,6
Tổng số	203	100,0

Nhận xét: Viêm mạn mức độ nhẹ có tỷ lệ 71,4%, cao hơn viêm vừa/ nặng.

3.1.2. Kết quả xét nghiệm đột biến điểm đề kháng clarithromycin

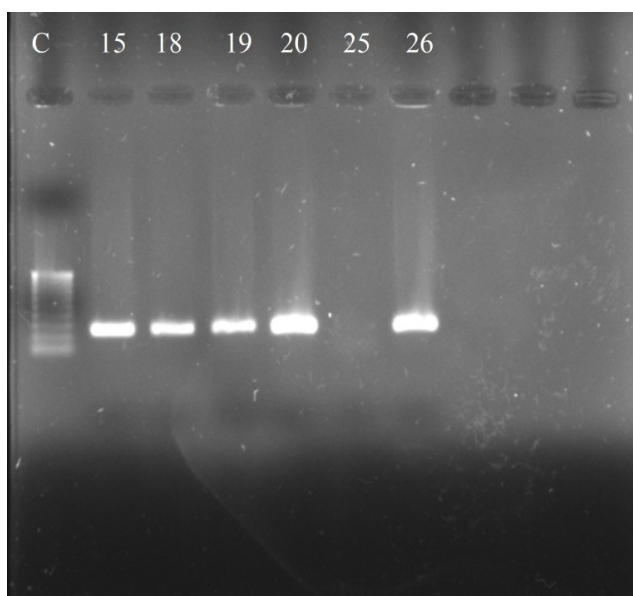


Biểu đồ 3.4. Phân bố các đột biến đề kháng clarithromycin

ĐB: Đột biến

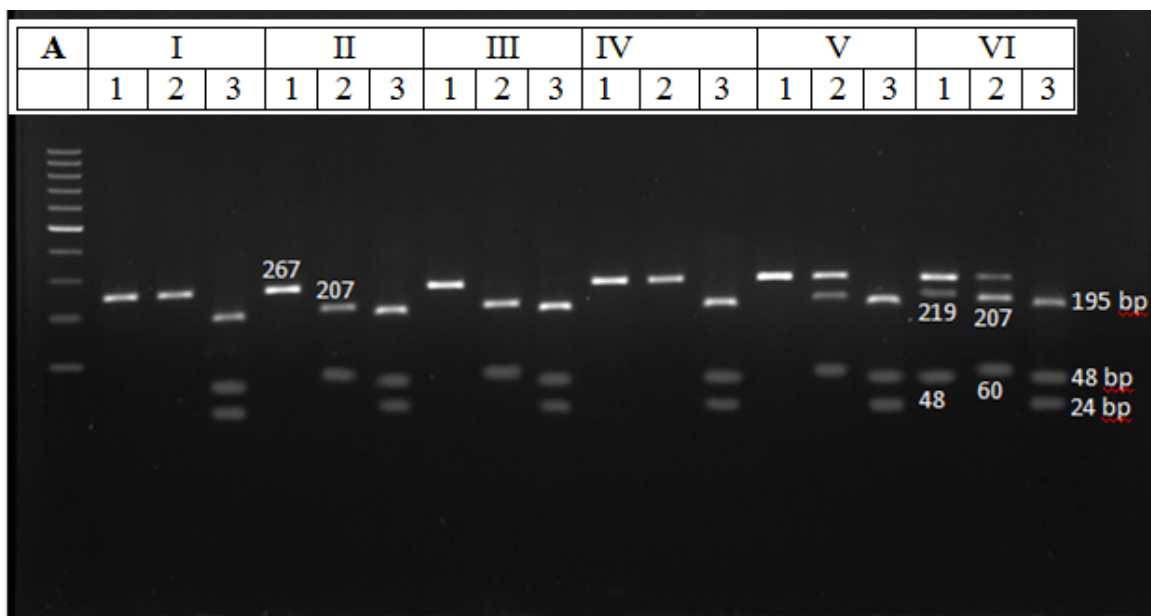
Nhận xét: Trong số 203 mẫu xét nghiệm PCR-RFLP, số mẫu có đột biến chiếm 66,50% (135/203), số mẫu không có đột biến chiếm 33,50% (68/203).

Trong số 135 mẫu có đột biến, đột biến A2143G đơn thuần chiếm 97,8% (132/135), đột biến A2142G đơn thuần chiếm 1,5% (2/135) và đặc biệt có 1 mẫu có đồng thời 2 đột biến A2143G và A2142G chiếm 0,7% (1/135).



Hình 3.1. Sản phẩm PCR

C: Thang chuẩn, 15 → 26: Mã số xét nghiệm. Điện di sản phẩm PCR ở các mẫu có mã số 15,18,19,20, 25, 26. Kích thước 267 bp, đặc trưng cho *H. pylori*. Mã số mẫu 25 không có sản phẩm PCR (*H. pylori* âm tính) loại khỏi nghiên cứu này



Hình 3.2. Sản phẩm PCR được ủ với các enzyme cắt đặc hiệu

A: Thang chuẩn 25 bp. Kích thước các băng điện di được chú thích kèm theo

1: Ủ với enzyme BbsI phát hiện đột biến A2142G

2: Ủ với enzyme BsaI phát hiện đột biến A2143G

3: Ủ với enzyme BceAI phát hiện đột biến A2142C

I: Lâm Thị B., mã số 127, không có đột biến

II: Lê Văn Ch., mã số 128, có đột biến A2143G

III: Lê Hữu Hoàng S., mã số 129, có đột biến A2143G

IV: Võ Đình N., mã số 130, không có đột biến

V: Phạm Thị Ch., mã số 131, có đột biến A2143G

VI: Lê Đ., mã số 132, có đồng thời 2 đột biến A2142G và A2143G (mẫu duy nhất)

3.1.3. Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với các đặc điểm khác

3.1.3.1. Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với giới tính

Bảng 3.10. Phân bố đề kháng clarithromycin theo giới tính

Giới		Đột biến		Tổng số
		Có đột biến	Không đột biến	
Nam	Số lượng	54	36	90
	Tỷ lệ %	60,0	40,0	100
Nữ	Số lượng	81	32	113
	Tỷ lệ %	71,7	28,3	100

Test Chi bình phương, $p = 0,080$

Nhận xét: Tỷ lệ đột biến ở nam giới 60%, nữ giới 71,7%. Sự khác biệt về tỷ lệ đột biến giữa 2 giới không có ý nghĩa thống kê.

3.1.3.2. Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với tuổi bệnh nhân

Bảng 3.11. Mối liên quan giữa đề kháng clarithromycin với tuổi trung bình

Đột biến	Số lượng	Tuổi trung bình	Độ lệch chuẩn	Sai số chuẩn
Có đột biến	135	44,7	13,101	1,128
Không đột biến	68	43,0	14,225	1,725

Test T, $p = 0,413$

Nhận xét: Tuổi trung bình nhóm có đột biến $44,7 \pm 13,1$; nhóm không có đột biến $43,0 \pm 14,2$. Sự khác biệt về tuổi trung bình không có ý nghĩa thống kê $p = 0,41$. Đột biến đề kháng clarithromycin của *H. pylori* xảy ra không phụ thuộc vào tuổi bệnh nhân viêm dạ dày mạn

3.1.3.3. *Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với nhóm tuổi bệnh nhân*

Bảng 3.12. Phân bố đột biến đề kháng clarithromycin theo nhóm tuổi

Nhóm tuổi		Đột biến		Tổng số
		Có đột biến	Không đột biến	
< 30	Số lượng	15	10	35
	Tỷ lệ %	60	40	100
30-39	Số lượng	40	22	62
	Tỷ lệ %	64,5	35,5	100
40-49	Số lượng	30	12	42
	Tỷ lệ %	71,4	28,6	100
50-59	Số lượng	26	15	41
	Tỷ lệ %	63,4	36,6	100
≥ 60	Số lượng	24	9	33
	Tỷ lệ %	72,7	27,3	100

Test Chi bình phương, $p = 0,774$.

Nhận xét: Tỷ lệ có đột biến cao nhất ở nhóm tuổi ≥ 60 (72,7%), thấp nhất ở nhóm tuổi < 30 (60%). Tuy nhiên sự khác biệt về tỷ lệ đột biến giữa các nhóm tuổi không có ý nghĩa thống kê.

3.1.3.4. *Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với đặc điểm địa dư*

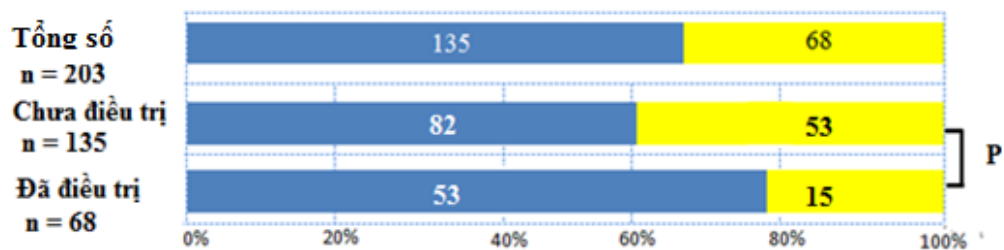
Bảng 3.13. Phân bố đột biến đề kháng clarithromycin theo đặc điểm địa dư

Địa dư		Đột biến		P OR (95%CI)
		Có đột biến	Không đột biến	
Thành thị	Số lượng	62	18	0,008 2,34 (1,25-4,46)
	Tỷ lệ %	77,5	22,5	
Nông thôn	Số lượng	73	50	
	Tỷ lệ %	59,3	40,7	

Test Chi bình phương, $P = 0,008$

Nhận xét: Tỷ lệ đột biến ở nhóm bệnh nhân sống ở thành thị 77,5%, ở nhóm bệnh nhân sống ở nông thôn 59,3%. Sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê.

3.1.3.5. *Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với tiền sử điều trị H. pylori*



Hình 3.3. Phân bố đột biến đề kháng clarithromycin theo tiền sử điều trị *H. pylori*.

■ Có đột biến ■ Không đột biến

Test Chi bình phương, $p = 0,018$

Nhận xét: Trong tổng số 203 bệnh nhân viêm dạ dày mạn được đưa vào xác định đột biến đề kháng clarithromycin bằng phương pháp PCR - RFLP, có 135 bệnh nhân mang chủng có đột biến (66,5%). Trong số 135 bệnh nhân chưa được điều trị *H. pylori*, số bệnh nhân mang chủng đột biến là 82 (60,7%). Trong số 68 bệnh nhân còn lại đã được điều trị *H. pylori*, có 53 (77,9%) bệnh nhân mang chủng có đột biến. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,018$) (Hình 3.10).

3.1.3.6. *Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với mức độ viêm mạn trên mô bệnh học*

Bảng 3.14. Phân bố đột biến theo mức độ viêm mạn

Mức độ viêm mạn		Đột biến		Tổng số
		Có đột biến	Không đột biến	
Nhẹ	Số lượng	101	49	150
	Tỷ lệ %	67,3	32,7	100
Vừa / nặng	Số lượng	34	19	53
	Tỷ lệ %	64,2	35,8	100

Test Chi bình phương, $p = 0,673$

Nhận xét: Tỷ lệ đột biến ở nhóm viêm mạn nhẹ 67,3%, ở nhóm viêm mạn vừa/ nặng 64,2%. Sự khác biệt về tỷ lệ đột biến giữa 2 nhóm không có ý nghĩa thống kê.

3.1.3.7. *Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với viêm hoạt động trên mô bệnh học*

Bảng 3.15. Phân bố đột biến theo mức độ viêm hoạt động trên mô bệnh học

Mức độ hoạt động		Đột biến		Tổng số
		Có đột biến	Không đột biến	
Không hoạt động	Số lượng	24	20	44
	Tỷ lệ %	54,5	45,5	100
Hoạt động nhẹ	Số lượng	45	23	68
	Tỷ lệ %	66,2	33,8	100
Hoạt động vừa/ nặng	Số lượng	66	25	91
	Tỷ lệ %	72,5	27,5	100

Test Chi bình phương, $p = 0,116$

Nhận xét: Tỷ lệ đột biến ở các nhóm không hoạt động, hoạt động nhẹ và hoạt động vừa / nặng lần lượt là 54,5%, 66,2% và 72,5%. Sự khác biệt về tỷ lệ đột biến giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê.

3.1.3.8. *Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với mức độ viêm teo trên mô bệnh học*

Bảng 3.16. Phân bố đột biến theo mức độ viêm teo hang vị trên nội soi

Mức độ teo niêm mạc		Đột biến		Tổng số
		Có đột biến	Không đột biến	
Không teo	Số lượng	40	18	58
	Tỷ lệ %	69,0	31,0	100
Teo nhẹ	Số lượng	74	34	108
	Tỷ lệ %	68,5	31,5	100
Teo vừa/ nặng	Số lượng	21	16	37
	Tỷ lệ %	56,8	43,2	100

Test Chi bình phương, $p = 0,381$

Nhận xét: Tỷ lệ đột biến ở các nhóm không teo, teo nhẹ và teo vừa/ nặng lần lượt là 69%, 68,5% và 56,8%. Sự khác biệt về tỷ lệ đột biến giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê

3.1.3.9. *Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với mức độ nhiễm H. pylori*

Bảng 3.17. Phân bố đột biến theo mức độ nhiễm *H. pylori*

Mức độ nhiễm <i>H. pylori</i>		Đột biến		Tổng số
		Có đột biến	Không đột biến	
Nhẹ	Số lượng	94	51	145
	Tỷ lệ %	64,8	35,2	100
Vừa / nặng	Số lượng	41	17	58
	Tỷ lệ %	70,7	29,3	100

Test Chi bình phương, $p = 0,424$

Nhận xét: Tỷ lệ đột biến ở nhóm nhiễm *H. pylori* mức độ nhẹ 64,8% (94/145) ở nhóm nhiễm *H. pylori* mức độ vừa/ nặng 70,7% (41/58). Sự khác biệt về tỷ lệ đột biến giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê.

3.1.3.10. *Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến*

Hồi quy đơn biến và đa biến phân tích mối liên quan và mức độ ảnh hưởng của các biến đến đột biến đề kháng clarithromycin. Chúng tôi đưa vào phân tích hồi quy đa biến với các biến mà mức ý nghĩa thống kê trong phân tích đơn biến với $p \leq 0,1$ hoặc có ý nghĩa trong các nghiên cứu khác. Các biến này bao gồm: Giới tính, địa dư, tiền sử điều trị *H. pylori*. Kết quả phân tích hồi quy logistic đa biến như sau:

Bảng 3.178. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến mối liên quan và ảnh hưởng của các yếu tố lên đột biến đề kháng clarithromycin của *H. pylori*

Đặc điểm	Đơn biến		Đa biến	
	p	OR (95%CI)	p	AOR (95%CI)
Giới tính	0,080	0,59 (0,33-1,07)	0,130	0,63 (0,34-1,15)
Tiền sử điều trị	0,018	2,28 (1,17 - 4,46)	0,024	2,20 (1,11-4,36)
Địa dư	0,008	2,34 (1,25 - 4,46)	0,020	2,16 (1,13-4,14)

Nhận xét: Theo phân tích hồi quy logistic đa biến

- Ảnh hưởng giới tính của bệnh nhân lên đột biến đề kháng clarithromycin không có ý nghĩa thống kê

- Bệnh nhân có tiền sử đã điều trị *H. pylori*, nguy cơ đột biến đề kháng clarithromycin cao hơn bệnh nhân chưa được điều trị với tỷ suất chênh theo phân tích hồi quy đơn biến và đa biến lần lượt là 2,28 và 2,20, mức ý nghĩa thống kê lần lượt là 0,018 và 0,024.

- Bệnh nhân ở vùng thành thị có nguy cơ đột biến đề kháng clarithromycin cao hơn vùng nông thôn với tỷ suất chênh theo phân tích hồi quy đơn biến và đa biến lần lượt là 2,34 và 2,16, với mức ý nghĩa thống kê lần lượt là 0,008 và 0,020.

3.2. Kết quả tiết trừ *H. pylori* của phác đồ nối tiếp RA-RLT ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn

3.2.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu

3.2.1.1. Đánh giá sự tương đồng của mẫu nghiên cứu với mẫu trong mục tiêu 1

Trong mục 3.1 chúng tôi đã giới thiệu và phân tích đặc điểm các biến trong mẫu nghiên cứu. Trong mục này vì mẫu để phân tích là một bộ phận của mẫu trên, do đó sẽ không phân tích lặp lại. Chúng tôi chỉ đánh giá tính tương đồng của 2 nhóm mẫu theo 2 mục tiêu nghiên cứu khác nhau, ngoại trừ biến hút thuốc lá chưa xuất hiện và biến đột biến đề kháng clarithromycin cần nhấn mạnh

Bảng 3.19. Đặc điểm của mẫu và so sánh với mẫu trong mục tiêu 1

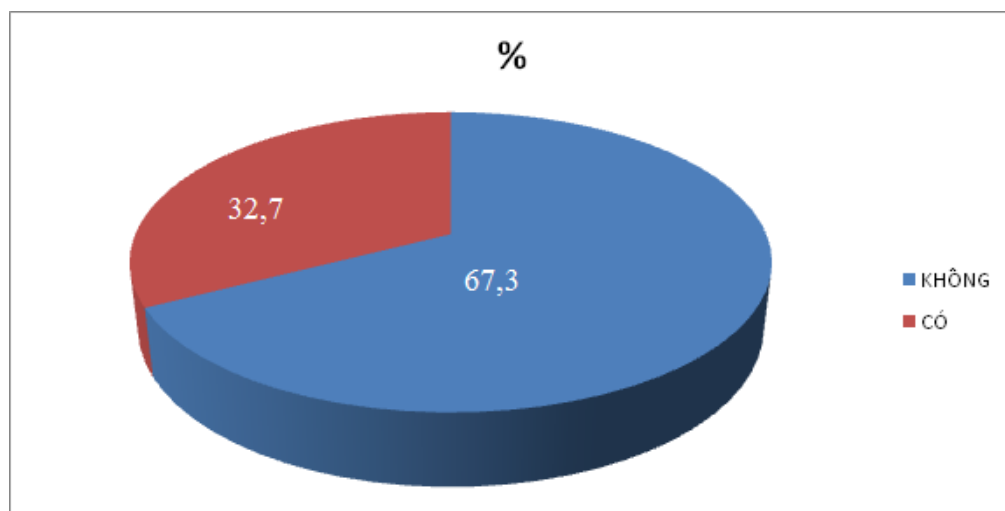
	MT 1 (n=203)	MT 2 (ITT) (n=116)	p
Giới (nam / nữ)	90/113	52/64	0,489
Tuổi trung bình	44,1	44,9	0,404
Địa dư (thành thị / nông thôn)	80/123	41/75	0,135
Tiền sử (đã điều trị / chưa điều trị)	68/135	39/77	0,521
Vùng tổn thương (HV/ TV, toàn DD)	141/62	77/39	0,184
Viêm mạn (nhẹ / vừa, nặng)	150/53	87/29	0,384
Nhiễm <i>H. pylori</i> (nhẹ / vừa, nặng)	145/58	75/41	0,137
Đột biến (có ĐB / không ĐB)	135/68	75/41	0,323

MT: Mục tiêu

Nhận xét: Mẫu nghiên cứu trong mục tiêu 2 có số lượng nhỏ hơn (n=116), tuy nhiên vẫn có tính tương đồng với mẫu nghiên cứu trong mục tiêu 1 (n = 203)

3.1.1.2. Hút thuốc lá ở nam giới trong nhóm phân tích PP

Chúng tôi chỉ xem xét đặc điểm hút thuốc lá của bệnh nhân nam trong nhóm phân tích kết quả điều trị theo phân tích PP



Biểu đồ 3.5. Đặc điểm hút thuốc lá trong nhóm phân tích theo đề cương nghiên cứu

Test nhị thức 1 mẫu, xác suất kỳ vọng hút thuốc lá 0,5, $p = 0,022$

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân nam có hút thuốc lá 32,7% thấp hơn bệnh nhân nam không hút thuốc có ý nghĩa thống kê.

3.2.1.3. Đột biến đề kháng clarithromycin của *H. pylori* trong nhóm phân tích PP

Bảng 3.20. Tỷ lệ đột biến đề kháng clarithromycin

Đột biến	Số lượng	Tỷ lệ %
Có đột biến	70	64,2
Không đột biến	39	35,8
Tổng số	109	100.0

Nhận xét: Đột biến đề kháng clarithromycin của *H. pylori* trong số bệnh nhân đưa vào phân tích PP là 64,2%

3.2.2. Kết quả diệt trừ *H. pylori* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn nói chung

3.2.2.1. Kết quả diệt trừ *H. pylori* theo phân tích PP

Bảng 3.21. Kết quả diệt trừ *H. pylori* theo phân tích PP

Kết quả	Số lượng	Tỷ lệ %
Thành công	95	87,2
Thất bại	14	12,8
Tổng số	109	100.0

Nhận xét: Phác đồ nối tiếp RA-RLT ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* có tỷ lệ thành công theo phân tích PP là 87,2%

3.2.2.2. Kết quả diệt trừ *H. pylori* theo ý phân tích ITT

Bảng 3.22. Kết quả diệt trừ *H. pylori* theo phân tích ITT

Kết quả	Thành công	Thất bại	Mất theo dõi	Tổng số
Số lượng	95	14	7	116
Tỷ lệ %	81,9	12,1	6,0	100

Nhận xét: Phác đồ nối tiếp RA-RLT ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* có tỷ lệ thành công theo phân tích ITT 81,9%

3.2.2.3. Kết quả diệt trừ *H. pylori* ở nhóm bệnh nhân có và không có đợt biến theo phân tích PP

Bảng 3.183. Kết quả diệt trừ *H. pylori* theo đợt biến đề kháng clarithromycin (phân tích PP)

Kết quả		Thành công	Thất bại	Tổng số
Có đợt biến	Số lượng	58	12	39
	Tỷ lệ %	82,9	17,1	100
Không đợt biến	Số lượng	37	2	70
	Tỷ lệ %	94,9	5,1	100

Test Chi bình phương, $p = 0,071$

Nhận xét: Theo phân tích PP, phác đồ nối tiếp RA-RLT có tỷ lệ thành công ở nhóm không đợt biến đề kháng clarithromycin (94,9%) cao hơn nhóm có đợt biến (82,9%). Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3.194. Phân bố tiết trừ *H. pylori* theo đột biến đề kháng clarithromycin (phân tích ITT)

Kết quả		Thành công	Thất bại	Mất theo dõi	Tổng cộng
Có đột biến	Số lượng	58	12	5	75
	Tỷ lệ %	77,3	16,0	6,7	100
Không đột biến	Số lượng	37	2	2	41
	Tỷ lệ %	90,2	12,1	6,0	100

Test Chi bình phương, $p = 0,183$

Nhận xét: Theo phân tích ITT phác đồ nối tiếp RA-RLT có tỷ lệ thành công ở nhóm không đột biến đề kháng clarithromycin (90,2%) cao hơn nhóm có đột biến (77,3%). Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.2.2.4. Mức độ tuân thủ điều trị và tác dụng phụ của phác đồ nối tiếp RA-RLT

+ Sự tuân thủ điều trị

Ngoài 7 bệnh nhân mất theo dõi không rõ lý do, 116 bệnh nhân đến tái khám đánh giá kết quả tiết trừ *H. pylori*, không có một bệnh nhân nào bỏ uống thuốc vì tác dụng phụ. Chúng tôi đánh giá tỷ lệ tuân thủ điều trị là 100%

+ Tác dụng phụ

Bảng 3.205. Tỷ lệ bệnh nhân có tác dụng phụ

Tác dụng phụ	Có	Không	Tổng số
Số lượng	37	72	109
Tỷ lệ %	33,9	66,1	100

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân có tác dụng phụ khi điều trị bằng phác đồ nối tiếp RA-RLT là 33,9% (37/109).

+ Các tác dụng phụ chủ yếu

Bảng 3.26. Mức độ các tác dụng phụ

Tác dụng phụ	Triệu chứng n=37 (33,9%)
Mệt mỏi	7 (6,5%)
Tiêu chảy	6 (5,5%)
Đau bụng	5 (4,6%)
Thay đổi vị giác	5 (4,6%)
Đầy bụng	4 (3,7%)
Buồn nôn, nôn	4 (3,7%)
Ngứa	4 (3,7%)
Đau đầu	2 (1,8%)

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện tác dụng phụ do điều trị phác đồ nối tiếp RA-RLT theo thứ tự từ cao đến thấp là mệt mỏi (6,5%), tiêu chảy (5,5%), đau bụng (4,6%), thay đổi vị giác (4,6%), đầy bụng (3,7%), buồn nôn và nôn (3,7%), ngứa (3,7%) và đau đầu (1,8%). Không có bệnh nhân nào có tác dụng phụ nặng phải ngưng điều trị.

3.2.3. Mối liên quan giữa kết quả tiệt trừ *H. pylori* bằng phác đồ nối tiếp RA-RLT với các đặc điểm khác

3.2.3.1. Mối liên quan giữa kết quả tiệt trừ *H. pylori* với giới tính

Bảng 3.27. Phân bố tiệt trừ *H. pylori* theo giới tính

Giới		Kết quả tiệt trừ		Tổng số
		Thành công	Thất bại	
Nam	Số lượng	44	5	49
	Tỷ lệ %	89,8	10,2	100,0
Nữ	Số lượng	51	9	60
	Tỷ lệ %	85,0	15,0	100,0

Test Chi bình phương, $p = 0,457$

Nhận xét: Tỷ lệ thành công ở nam giới 89,8%, ở nữ giới 85%. Sự khác biệt về tỷ lệ thành công giữa hai giới không có ý nghĩa thống kê.

3.2.3.1. Mối liên quan giữa kết quả tiệt trừ *H. pylori* với tuổi

Bảng 3.28. Tuổi trung bình theo kết quả điều trị

Kết quả Tiệt trừ	n	Trung bình	Độ lệch chuẩn	95%CI	Thấp nhất	Cao nhất
Thất bại	14	41,79	11,1	34,97- 48,60	29	61
Thành công	95	46,30	14,96	43,23- 49,36	16	85
Tổng số	109	45,71	14,62	42,92- 48,50	16	85

Test T, p = 0,232

Nhận xét: Ở nhóm điều trị thành công, tuổi trung bình $46,30 \pm 14,96$. Ở nhóm điều trị thất bại, tuổi trung bình $41,79 \pm 11,1$. Sự khác biệt về tuổi trung bình không có ý nghĩa thống kê.

3.2.3.2. Mối liên quan giữa kết quả tiệt trừ *H. pylori* với địa dư

Bảng 3.29. Phân bố kết quả tiệt trừ *H. pylori* theo địa dư

Địa dư		Kết quả tiệt trừ		Tổng số
		Thành công	Thất bại	
Thành thị	Số lượng	31	8	39
	Tỷ lệ %	79,5	20,5	100
Nông thôn	Số lượng	64	6	70
	Tỷ lệ %	91,4	8,6	100

Test Chi bình phương, p = 0,074

Nhận xét: Tỷ lệ thành công ở nhóm nông thôn 91,4%, ở nhóm thành thị 79,5%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.2.3.3. *Mối liên quan giữa kết quả tiết trừ *H. pylori* với tiền sử điều trị*

Bảng 3.30. Phân bố kết quả tiết trừ *H. pylori* theo tiền sử điều trị *H. pylori*

Điều trị		Kết quả tiết trừ		Tổng số
		Thành công	Thất bại	
Chưa điều trị	Số lượng	65	6	71
	Tỷ lệ %	91,5	8,5	100
Đã điều trị	Số lượng	30	8	38
	Tỷ lệ %	78,9	21,1	100

Test Chi bình phương, $p = 0,061$

Nhận xét: Tỷ lệ thành công của phác đồ RA-RLT ở nhóm chưa điều trị *H. pylori* 91,5%, ở nhóm đã điều trị 78,9%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.2.3.4. *Mối liên quan giữa kết quả tiết trừ với tình trạng hút thuốc lá ở nam giới*

Bảng 3.31. Phân bố kết quả tiết trừ *H. pylori* theo tình trạng hút thuốc lá ở nam giới

Hút thuốc		Kết quả tiết trừ		Tổng số
		Thành công	Thất bại	
Không	Số lượng	32	1	33
	Tỷ lệ %	97	3	100
Có	Số lượng	12	4	16
	Tỷ lệ %	75	25	100

Nhận xét: Tỷ lệ thành công ở nhóm không hút thuốc lá 97%, nhóm có hút thuốc lá 75%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,017$).

3.2.3.5. *Mối liên quan giữa kết quả tiết trừ với vùng tổn thương trên nội soi*

Bảng 3.32. Phân bố kết quả tiết trừ *H.pylori* theo vùng tổn thương trên nội soi

Vùng tổn thương		Kết quả tiết trừ		Tổng số
		Thành công	Thất bại	
Hang vị	Số lượng	63	9	72
	Tỷ lệ %	87,5	12,5	100
Thận vị / toàn dạ dày	Số lượng	32	5	37
	Tỷ lệ %	86,5	13,5	100

Test Chi bình phương, $p = 0,881$

Nhận xét: Tỷ lệ thành công ở nhóm tổn thương vùng hang vị 87,5%, ở nhóm thận vị/ toàn dạ dày 86,5%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.2.3.6. *Mối liên quan giữa kết quả tiết trừ *H. pylori* với mức độ viêm mạn trên mô bệnh học*

Bảng 3.33. Phân bố kết quả tiết trừ *H. pylori* theo mức độ viêm mạn hang vị

Mức độ viêm mạn		Kết quả tiết trừ		Tổng số
		Thành công	Thất bại	
Nhẹ	Số lượng	73	8	81
	Tỷ lệ %	90,1	9,9	100
Vừa và nặng	Số lượng	22	6	28
	Tỷ lệ %	78,6	21,4	100
	Tỷ lệ %	87,2	12,8	100

Test Chi bình phương, $p = 0,115$

Nhận xét: Tỷ lệ thành công ở nhóm viêm mạn nhẹ 90,1%, ở nhóm viêm mạn vừa và nặng 78,6%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.2.3.7. *Mối liên quan giữa kết quả tiết trừ H. pylori với mức độ hoạt động viêm hang vị trên mô bệnh học*

Bảng 3.34. Phân bố kết quả tiết trừ *H. pylori* theo mức độ viêm hoạt động

Hoạt động		Kết quả tiết trừ		Tổng số
		Thành công	Thất bại	
Không HD/ HD nhẹ	Số lượng	57	7	64
	Tỷ lệ %	89,1	10,9	100
HD vừa/ HD mạnh	Số lượng	38	7	45
	Tỷ lệ %	84,4	15,6	100

HD: Hoạt động

Test Chi bình phương, $p = 0,740$

Nhận xét: Tỷ lệ thành công ở nhóm viêm không hoạt động và hoạt động nhẹ 89,1%, ở nhóm viêm hoạt động vừa và nặng 84,4%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.2.3.8. *Mối liên quan giữa kết quả tiết trừ H. pylori với mức độ nhiễm H. pylori*

Bảng 3.35. Phân bố kết quả tiết trừ *H. pylori* theo mức độ nhiễm *H. pylori*

Mức độ nhiễm <i>H. pylori</i>		Kết quả tiết trừ		Tổng số
		Thành công	Thất bại	
Nhẹ	Số lượng	69	5	74
	Tỷ lệ %	93,2	6,8	100
Vừa / nặng	Số lượng	26	9	35
	Tỷ lệ %	74,3	25,7	100

Test Chi bình phương, $p = 0,006$,

Nhận xét: Tỷ lệ thành công ở nhóm nhiễm *H. pylori* mức độ nhẹ 93,2%, ở nhóm nhiễm *H. pylori* mức độ vừa và nặng 74,3%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3.2.3.9. Phân tích hồi quy logistic đa biến

Chúng tôi chọn 3 biến độc lập đưa vào phân tích hồi quy đa biến, đó là tình trạng đang hút thuốc lá ở nam giới, mức độ nhiễm *H. pylori* và đột biến đề kháng clarithromycin, kết quả như sau:

Bảng 3.36. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến mối liên quan của các biến với kết quả diệt trừ *H. pylori*

Đặc điểm	Đơn biến		Đa biến	
	p	OR (95%CI)	p	AOR (95%CI)
Đột biến	0,090	0,26 (0,055-1,234)	0,634	0,06 (0,037-7,484)
MĐ nhiễm	0,010	0,21 (0,064-0,683)	0,033	0,06 (0,004-0,795)
HT	0,043	0,09 (0,009-0,925)	0,029	0,05 (0,004-0,748)

MĐ nhiễm: Mức độ nhiễm *H. pylori*, HT: hút thuốc lá

Nhận xét: Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến mối liên quan giữa kết quả diệt trừ *H. pylori* theo phân tích PP với các yếu tố khác cho thấy:

- Mối liên quan giữa đề kháng clarithromycin với kết quả diệt trừ *H. pylori* không có ý nghĩa thống kê.

- Mức độ nhiễm *H. pylori* vừa và nặng là một yếu tố nguy cơ làm giảm hiệu quả điều trị *H. pylori* với tỷ suất chênh theo phân tích hồi quy đơn biến và đa biến lần lượt là khoảng 0,21 và 0,06 mức ý nghĩa thống kê lần lượt là 0,010 và 0,033%,

- Hút thuốc lá là một yếu tố nguy cơ làm giảm hiệu quả điều trị *H. pylori* với tỷ suất chênh theo phân tích hồi quy đơn biến và đa biến lần lượt là 0,09 và 0,05, mức ý nghĩa thống kê lần lượt là 0,043 và 0,029.

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. Nghiên cứu đột biến đề kháng clarithromycin bằng phương pháp PCR-RFLP

4.1.1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu

4.1.1.1. Giới và tuổi của mẫu nghiên cứu

Người ta ước đoán có hơn một nửa dân số thế giới mắc bệnh viêm dạ dày mạn với nhiều mức độ và phạm vi khác nhau [204]. Viêm dạ dày là một bệnh nặng nhưng không được chú ý đúng mức trên lâm sàng, ngay cả khi vai trò của viêm dạ dày trong bệnh sinh của loét dạ dày tá tràng và ung thư dạ dày là hiển nhiên [204]. Có nhiều nguyên nhân dẫn đến viêm dạ dày, trong đó vi khuẩn *H. pylori* là nguyên nhân phổ biến nhất [192]. Mẫu nghiên cứu của chúng tôi gồm 203 bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori*.

Về giới tính, nữ giới chiếm 55,7% cao hơn nam giới 44,3%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (bảng 3.1). Nhiễm trùng *H. pylori* luôn luôn dẫn đến viêm dạ dày mạn và đa số mắc từ thuở ấu thơ [69], [251]. Do đó mặc dù mẫu nghiên cứu chọn bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* nhưng bàn về tỷ lệ nam/nữ thực chất là bàn về tỷ lệ nam/ nữ ở bệnh nhân nhiễm *H. pylori*. Theo Trindade L. M. và cs, tỷ lệ nhiễm *H. pylori* bằng xét nghiệm huyết thanh trên y văn giữa nam và nữ tương đương nhau [228]. Tuy nhiên trong một phân tích tổng hợp năm 2017, Tỷ lệ nhiễm giữa nam và nữ khác nhau tùy theo từng nghiên cứu [97]. Trong bài phân tích này, tác giả trích dẫn 4 nghiên cứu ở Việt Nam đều cho thấy tỷ lệ nữ nhiều hơn nam giới. Mẫu nghiên cứu của chúng tôi cũng không ngoại lệ. Như vậy gộp những nghiên cứu khác có thể cho rằng ở Việt Nam tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở nữ giới cao hơn nam giới. Trong phân tích tổng hợp của Hooi và cs gồm nhiều nghiên cứu trên toàn thế giới có nhiều nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở nam cao hơn nữ [97]. Đặc biệt trong bài phân tích tổng hợp này đa số các nghiên cứu ở Thượng Hải,

Trung Quốc tỷ lệ nam nhiều hơn nữ. Các nghiên cứu ở Nhật Bản tỷ lệ nam / nữ thay đổi tùy theo nghiên cứu.

So sánh với các mẫu nghiên cứu nhỏ điều trị *H. pylori* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn chúng tôi nhận thấy: Tại Nhật bản, năm 2015, trong một nghiên cứu điều trị diệt trừ *H. pylori* ở bệnh nhân viêm dạ dày, mẫu nghiên cứu của Saito và cs cũng cho thấy nữ nhiều hơn nam (42 nữ, 38 nam) [193]. Trong một nghiên cứu có mẫu chọn lựa là bệnh nhân viêm dạ dày mạn có nhiễm *H. pylori*, Nguyễn Văn Thịnh và cs cũng cho thấy xu hướng tương tự (142 nữ, 137 nam) [31].

Tuổi trung bình trong mẫu nghiên cứu của chúng tôi là $44,1 \pm 13,47$. Tham khảo một số nghiên cứu trong nước có mẫu lựa chọn là viêm dạ dày nhiễm *H. pylori* ở người lớn, chúng tôi nhận thấy tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi xấp xỉ tuổi trung bình trong các mẫu nghiên cứu này, có cao hơn một số nghiên cứu và thấp hơn một số nghiên cứu khác tuy rằng sự khác biệt không đáng kể. Nghiên cứu của Saito và cs ở Nhật Bản, tuổi trung bình cao hơn nghiên cứu của chúng tôi (57,2) (bảng 4.1) [193]

Bảng 4.1. So sánh tuổi trung bình giữa các nghiên cứu tương tự

Tác giả	Năm	n	Tuổi TB
NQ Chung [3]	2007	117	40,5± 9,9
NV Thịnh [31]	2009	279	39,46 ±12,67
NV Thịnh [30]	2014	130	39,46 ± 12,6
HT Thắng [25]	2015	59	44,63 ± 12,05
ĐNQ Huệ [10]	2016	166	38,70 ± 10,47
Saito Y. và cs [83]	2015	80	57,2
Chúng tôi	2017	203	44,1 ± 13,47

Về nhóm tuổi, so sánh với các nghiên cứu về viêm dạ dày mạn khác chúng tôi thấy phân bố nhóm tuổi trong mẫu nghiên cứu của chúng tôi tương đương.

Nhóm tuổi thường gặp nhất trong nghiên cứu của chúng tôi là 30-39 (30,5%), tiếp theo là 40 - 49 (20,7%) (bảng 3.3). Nghiên cứu của Nguyễn Văn Thịnh và cs về tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn cũng cho

thấy nhóm tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất là 30-39 (28,7%), tiếp theo là 40-49 (25,5%) [31]. Nghiên cứu của Nguyễn Quang Chung và cs về hình ảnh nội soi và mô bệnh học của viêm dạ dày mạn có nhiễm *H. pylori*, 2 nhóm tuổi có tỷ lệ cao nhất là 40-49 và 30-39. Tuy nhiên nhóm tuổi 40 - 49 (40,1%) cao hơn nhóm tuổi 30-39 (26,5%) [1].

4.1.1.2. Chẩn đoán nhiễm *H. pylori*

Có nhiều phương pháp chẩn đoán nhiễm *H. pylori*, mỗi phương pháp có những ưu nhược điểm riêng. Theo Tongtawee T. và cs, các phương pháp chẩn đoán nhiễm *H. pylori* gồm: Urê nhanh, mô học, nuôi cấy, PCR, urê hơi thở, kháng nguyên phân và huyết thanh [226]. Theo Wang Y. K. và cs không có một phương pháp đơn độc nào được xem là tiêu chuẩn vàng chẩn đoán nhiễm *H. pylori*, nhiều phương pháp sẽ cho kết quả tin cậy hơn [246]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng 2 phương pháp chẩn đoán nhiễm *H. pylori*, đó là xét nghiệm urê nhanh, mô bệnh học. Bệnh nhân chỉ được đưa vào nghiên cứu khi dương tính với *H. pylori* trong 2 phương pháp chẩn đoán.

Xét nghiệm urê nhanh là xét nghiệm tỏ ra tiện lợi, cho kết quả nhanh, giá thành rẻ nên có thể áp dụng rộng rãi. Theo hướng dẫn của nhà sản xuất, xét nghiệm urease nhanh trong nghiên cứu này có độ nhạy > 90 %, độ đặc hiệu 100%, giá trị tiên đoán dương tính 100%, giá trị tiên đoán âm tính 86% và độ chính xác chung 91%.

Về xét nghiệm mô bệnh học, chúng tôi sử dụng phương pháp nhuộm Giemsa để tìm *H. pylori* trong mẫu sinh thiết hang vị. Đây là phương pháp thích hợp cho lâm sàng vì đơn giản, độ nhạy cao và không đắt tiền [190].

Từ khi được áp dụng để chẩn đoán nhiễm *H. pylori*, PCR đã được sử dụng rộng rãi để chẩn đoán nhiễm *H. pylori* trong mẫu sinh thiết dạ dày, nước bọt, phân, dịch dạ dày và nhiều loại bệnh phẩm khác. PCR có độ nhạy và độ đặc hiệu cao (> 95%) so với các xét nghiệm phổ biến khác. Có nhiều gen đích được sử dụng như *ureA*, *glmM*, *16rRNA*, *23S rRNA*, *HSP60* và *vacA* [246].

Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng cặp mồi của gen *23S rRNA* do Menard D. thiết kế, chuỗi cụ thể:

5-AGGTTAAGAGGATGCGTCAGTC-3(HPY-S)

5-CGCATGATA TTCCC ATTAGCAGT-3(HPY-A) [154].

Tại Việt Nam, Nguyễn Thị Hồng Hạnh và Nguyễn Thúy Vinh đã nghiên cứu áp dụng thành công cặp mồi TH2 để chẩn đoán nhiễm *H. pylori* bằng phương pháp PCR trên 113 bệnh nhân loét dạ dày và hành tá tràng. Nghiên cứu này cho thấy độ nhạy 99,11% và độ đặc hiệu 100% khi sử dụng cặp mồi TH2 [5].

4.1.1.3. Triệu chứng lâm sàng

Tuy rằng với bằng chứng ở cấp độ B, đồng thuận Maastricht V cũng vẫn khuyến cáo với cấp độ A rằng viêm dạ dày do *H. pylori* là một bệnh nhiễm trùng cho dù có hay không có triệu chứng hay biến chứng [145]. Nhiều bệnh nhân nhiễm *H. pylori* nhưng không có triệu chứng lâm sàng, một số ít có triệu chứng. Các nghiên cứu dịch tễ học đã chứng minh rằng chứng khó tiêu có liên quan với nhiễm *H. pylori* [47]. Các nghiên cứu chứng khó tiêu ở bệnh nhân nhiễm *H. pylori* xếp loại triệu chứng không giống nhau [6], [7], [187], [218]. Chúng tôi xếp loại các biểu hiện của chứng khó tiêu theo triệu chứng thường gặp trên lâm sàng. Vì các biểu hiện của chứng khó tiêu đa dạng và phụ thuộc cách mô tả riêng của mỗi bệnh nhân nên khó có sự so sánh một cách chặt chẽ giữa các nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy triệu chứng lâm sàng chiếm tỷ lệ cao nhất là đau/ nóng rát vùng thượng vị. Còn lại, theo thứ tự về tỷ lệ từ cao xuống thấp là đầy bụng/ chướng bụng, ợ hơi/ ợ chua, nôn/ buồn nôn, và các triệu chứng khác (biểu đồ 3.1). Sau đây là so sánh với một số nghiên cứu khác.

Bảng 4.2. So sánh tác dụng phụ với một số nghiên cứu khác

	Takagi và cs [218]	Rodriguez- Garcia và cs [187]	L.T. Hải và cs [6]	Chúng tôi
Đầy bụng sau ăn	29,5%	107/336 (31,8%)		
Đau thượng vị	13,1%	285/336 (84,8%)	100%	54,7%
Nóng rát	27,9%	207/336 (61,6%)		
Buồn nôn	26,2%	140/336 (41,7%)		4,9%
Trướng bụng/ đầy bụng/ chậm tiêu	31,1%	141/336 (42%)	25%	24,4%
Ợ	Ợ hơi	129/336 (38,4%)	25%	10,8%
	Ợ chua		50%	
	Ợ nóng		25%	
Mau no		116/336 (34,5%)		
Rối loạn đại tiện			25%	
khác				5,4%

Có ít nghiên cứu mô tả triệu chứng lâm sàng của viêm dạ dày nhiễm *H. pylori*. Lý do có thể là vì triệu chứng khá đa dạng, và cách mô tả cũng khá khác nhau trên từng bệnh nhân. Một bệnh nhân có thể có nhiều triệu chứng và mức độ của triệu chứng cũng khó lượng giá.

Năm 2013 Lê Thanh Hải và cs đã nghiên cứu 150 bệnh nhân viêm dạ dày mạn hoạt động. Phân tích triệu chứng lâm sàng thấy rằng ở cả 3 nhóm bệnh nhân nhiễm *H. pylori* (+), (++) và (+++), triệu chứng lâm sàng chiếm tỷ lệ cao nhất là đau thượng vị. Năm 2016 Takagi A. và cs nghiên cứu sử dụng vi khuẩn có lợi ở bệnh nhân khó tiêu nhiễm *H. pylori*. Triệu chứng lâm sàng chiếm tỷ lệ nhiều nhất là trướng bụng chiếm 31% [218]. Cùng năm đó, Rodriguez-Garcia J. L. và cs so sánh các triệu chứng khó tiêu chức năng giữa bệnh nhân nhiễm *H. pylori* và bệnh nhân không nhiễm *H. pylori*. Trong nhóm bệnh nhân nhiễm *H. pylori* triệu chứng nổi trội nhất là đau thượng vị (84,8%). Kết luận quan trọng của nghiên cứu này là không có sự khác biệt về triệu chứng lâm sàng giữa bệnh nhân nhiễm *H. pylori* và không nhiễm *H. pylori* [187].

Đa số các nghiên cứu đều thống nhất đau thượng vị, đầy bụng là các biểu hiện nổi trội nhất trong viêm dạ dày có nhiễm *H. pylori*. Nhận định này cũng phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi.

4.1.1.4. Tỷ lệ bệnh nhân theo địa dư

Số bệnh nhân sống ở vùng nông thôn (60,6%) cao hơn thành thị (39,4%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) (bảng 3.4). Tại Việt Nam, cho đến nay chưa có một nghiên cứu dịch tễ học trên phạm vi cả nước, do đó chúng ta chưa biết được sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm *H. pylori* giữa thành thị và nông thôn [15]. Một nghiên cứu ở Hà Nội cho thấy tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở khu vực thành thị (Hà Nội) 77,8% và khu vực nông thôn (Hà Tây) 69,2%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê [96]. Nghiên cứu của chúng tôi tỏ ra không phù hợp với nhận định này. Có lẽ do sự khác nhau giữa mật độ dân cư đông đúc của Hà Nội so với mật độ dân cư khu vực thành thị trong nghiên cứu của chúng tôi, đó là thành phố mới Quảng Ngãi và các thị trấn trong tỉnh. Ở miền Đông Sudan, Abdallaha và cs thực hiện nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến nhiễm *H. pylori*, trong số 122 bệnh nhân nhiễm *H. pylori* được xác định bằng xét nghiệm ELISA huyết thanh có 62,8% người ở nông thôn và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ bệnh nhân ở thành thị [39]. Tại Venezuela, Contreras M. và cs nghiên cứu so sánh tỷ lệ nhiễm *H. pylori* giữa nông thôn và thành thị, bằng xét nghiệm khuếch đại chuỗi gen của các gen *23S rRNA*, *glmM*, và *ureA* kết quả cho thấy tỷ lệ nhiễm ở nông thôn (87,2%) cao hơn thành thị (55,0%) có ý nghĩa thống kê. Tác giả cho rằng sự khác nhau này là do điều kiện vệ sinh kém ở nông thôn so với thành thị [59]. Các nghiên cứu dịch tễ học trên thế giới cho thấy điều kiện thu nhập thấp, thiếu nước sạch, thói quen và ý thức thực hành vệ sinh hạn chế trong thời thơ ấu, trình độ học vấn thấp sẽ làm tăng lây nhiễm *H. pylori* [88], [137], [151], [223]. Chúng tôi cũng cho rằng tại thành phố Quảng Ngãi và vùng phụ cận tỷ lệ bệnh nhân viêm dạ dày nhiễm *H. pylori* ở nông thôn cao hơn vùng thành thị vì điều kiện vệ sinh và điều kiện kinh tế xã hội nói chung thấp hơn.

4.1.1.5. Tiền sử điều trị *H. pylori*

Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm *H. pylori* có triệu chứng chưa được điều trị trong nghiên cứu này là 66,5% (bảng 3.5). Điều đó cho thấy sự hiểu biết về *H. pylori* trong cộng đồng còn thấp do đó chưa tiếp cận với điều trị *H. pylori* mặc dù lợi ích của điều trị *H. pylori* đã được xác định

4.1.1.6. Vùng tổn thương dạ dày trên nội soi

Chúng tôi chia vùng tổn thương trên nội soi làm 2 nhóm, nhóm tổn thương hang vị đơn thuần và nhóm tổn thương thân vị và/ hoặc hang vị. Cách phân chia này tương tự cách phân chia của Nguyễn Thanh Dung và cs và khác với cách phân chia vùng tổn thương trên nội soi của Lê Minh Tuất và cs [4], [37]. Vùng tổn thương trên nội soi trong viêm dạ dày nhiễm *H. pylori* trong nghiên cứu này chủ yếu ở hang vị (69,5%) (bảng 3.6). Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Lê Thanh Hải và cs là 68,5%. Thấp hơn nghiên cứu của của Nguyễn Thanh Dung và cs là 87,63% [4]. Đặc điểm chung của các nghiên cứu mô tả vùng tổn thương trên nội soi trong viêm dạ dày nhiễm *H. pylori* là viêm hang vị đơn thuần gặp nhiều nhất. Tuy nhiên có khác nhau về tỷ lệ giữa các nghiên cứu. Điều đó có thể do kinh nghiệm của người đọc khác nhau.

4.1.1.7. Các dạng viêm dạ dày trên nội soi theo phân loại Sydney.

Kết quả nghiên cứu các dạng viêm dạ dày trên nội soi ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* cho thấy dạng viêm phổ biến nhất là phù nề sung huyết 30,5% kế đến là trợt phẳng 19,7%. Các dạng viêm khác như trợt lõm, phì đại nếp niêm mạc, trào ngược dịch mật, viêm teo, xuất huyết ít gặp hơn. Kết quả này tương tự một số nghiên cứu khác (bảng 3.7). Nguyễn Thanh Dung và cs nghiên cứu trên bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* dạng phù nề sung huyết gặp nhiều nhất (45,36%) [4]. Quách Trọng Đức nghiên cứu các dạng nội soi ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn (trong đó nhiễm *H. pylori* 61,9%) [2] có dạng viêm phù nề sung huyết phổ biến nhất chiếm tỷ lệ 36,2%

[2]. Điểm giống nhau giữa các nghiên cứu này là dạng viêm dạ dày trên nội soi chủ yếu là dạng phù nề sung huyết.

Mới đây Gomes A. và cs mô tả 52 trường hợp viêm dạ dày nhiễm *H. pylori* 14 bệnh nhân (26,92%) có viêm dạng nốt hang vị, trong khi đó 118 trường hợp viêm dạ dày không nhiễm *H. pylori* không có 1 trường hợp nào viêm dạng nốt hang vị [89]. Như vậy, viêm dạng nốt hang vị trên nội soi là một dấu hiệu khá đặc hiệu. Trong nghiên cứu này chúng tôi phân loại dựa theo các nghiên cứu trước đây, không mô tả dạng này và trên một bệnh nhân có thể có nhiều dạng viêm, chúng tôi chỉ mô tả đặc điểm nổi trội do đó có thể bỏ qua đặc điểm này.

4.1.1.8. Viêm mạn vùng hang vị trên mô bệnh học

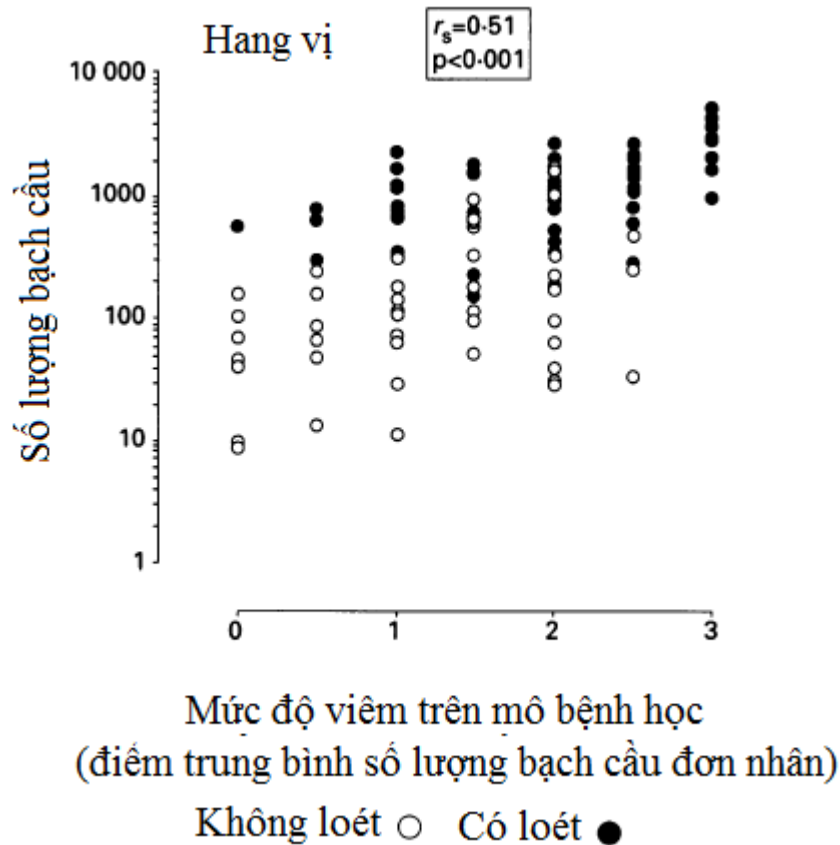
Tất cả bệnh nhân đều viêm mạn trên mô bệnh học bằng kỹ thuật nhuộm H & E. Trong đó 150 (73,9%) trường hợp viêm mức độ nhẹ, 53 (26,1%) viêm mạn mức độ vừa / nặng. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Đa số các trường hợp viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* có mức độ viêm mạn nhẹ (bảng 3.8).

Khulusi S. nghiên cứu so sánh mô bệnh học 55 bệnh nhân nhiễm *H. pylori* có loét tá tràng với 55 bệnh nhân nhiễm *H. pylori* không có loét tá tràng. Kết quả cho thấy ở bệnh nhân có loét tá tràng tỷ lệ mức độ viêm mạn nặng cao hơn bệnh nhân không có loét tá tràng [109]. Nghiên cứu của chúng tôi chỉ có bệnh nhân viêm dạ dày nhiễm *H. pylori* mà không có loét. Do đó tỷ lệ bệnh nhân có mức độ viêm mạn nặng thấp hơn so với viêm mạn nhẹ một cách rõ rệt. Và có thể cho rằng đa số bệnh nhân có viêm mạn nặng có thể đã có loét và do đó đã được loại khỏi nghiên cứu của chúng tôi. Nhận định này phù hợp với nhận định của Khulusi S. và cs, tác giả cho rằng có một ranh giới bản lề về mức độ nhiễm *H. pylori* và do đó cũng như mức độ viêm mạn nhất định để hình thành loét dạ dày tá tràng [109].

4.1.1.9. Mức độ nhiễm H. pylori trên mô bệnh học

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ mức độ nhiễm (+) chiếm đa số (71,4%) có ý nghĩa thống kê (bảng 3.9). Theo Khulusi S. và cs, mức độ nhiễm *H. pylori* ở

bệnh nhân không có loét tá tràng thấp hơn so với bệnh nhân có loét [109]. Mẫu nghiên cứu của chúng tôi là những bệnh nhân không có loét, do đó đa số bệnh nhân có mức độ nhiễm *H. pylori* nhẹ.



Biểu đồ 4.1. Phân bố mức độ viêm hang vị giữa bệnh nhân có loét và không có loét tiêu hóa

(Nguồn Khulusi S. và cs [109]).

Trong biểu đồ này, số lượng bạch cầu ở nhóm bệnh nhân không có loét thấp hơn nhóm bệnh nhân có loét.

4.1.2. Kết quả xét nghiệm đột biến đề kháng clarithromycin bằng phương pháp PCR-RFLP

4.1.2.1. Phương pháp PCR-RFLP và khả năng ứng dụng

Có nhiều phương pháp để phát hiện đề kháng clarithromycin của *H. pylori*, các phương pháp này được chia làm 2 nhóm đó là kiểu hình và kiểu gen. Xác định độ nhạy của vi khuẩn với kháng sinh thông thường sử dụng nhóm

kiểu hình. Các phương pháp này áp dụng sau khi nuôi cấy vi khuẩn, thực hiện kỹ thuật khuếch tán hoặc pha loãng trên thạch hoặc dùng kháng sinh có nồng độ khác nhau được thấm vào các dải giấy (E-test). Mặc dù có nhiều ưu điểm, các phương pháp này thường đắt tiền và tốn nhiều thời gian. Một xét nghiệm hoàn chỉnh phải mất đến 2 tuần [111]. Hơn nữa, các phương pháp dựa vào nuôi cấy vi khuẩn có tỷ lệ thất bại khoảng 10% do nhiễm bẩn mẫu sinh thiết hoặc vi khuẩn khó mọc [86]. Trong khi các xét nghiệm dựa vào kiểu hình tốn kém và mất nhiều thời gian thì các phương pháp phân tử đã được chứng minh là nhanh hơn và chính xác hơn [111]. Phát hiện đề kháng clarithromycin của *H. pylori* kiểu gen được thực hiện bằng các phương pháp sinh học phân tử, chủ yếu là phân tích các đột biến trên gen *23S rRNA*. Các phương pháp này có thể thực hiện sau khi nuôi cấy nhưng cũng có thể thực hiện trực tiếp trên mẫu sinh thiết hoặc mẫu phân [48], [95], [184]. Theo Klesiewicz K. và cs, hai phương pháp quan trọng nhất được sử dụng để xác định các đột biến là PCR-RFLP và Real-Time PCR, mặc dù các phương pháp khác cũng có thể được áp dụng [111].

Năm 1997 Occhialini A. và cs đã thực hiện nghiên cứu 2 đột biến A2142G A2143G (lúc đó chưa tìm được enzyme cắt hạn chế đặc hiệu cho đột biến gen A2142C) và cho rằng mặc dù giải trình tự gen là phương pháp tốt nhất để xác định đột biến điểm, nhưng khó thực hiện và tốn thời gian, do đó việc sử dụng phương pháp thuật PCR-RFLP bằng cách sử dụng các enzyme cắt hạn chế *BsaI* và *BbsI* để xác định các đột biến A2142G và A2143G là hữu ích khi nghiên cứu dịch tễ học đề kháng macrolide trong tương lai [86].

Năm 2014 Klesiewicz K. và cs thực hiện nghiên cứu các đột biến đề kháng clarithromycin ở Bò Đào Nha, tác giả cho rằng phương pháp PCR-RFLP thực hiện trên các chủng *H. pylori* được nuôi cấy thuần khiết rút ngắn thời gian 4 ngày so với xác định đề kháng bằng kiểu hình [80]. Trong nghiên cứu này chúng tôi thực hiện phương pháp PCR-RFLP trực tiếp trên mẫu sinh

thiết dạ dày, xác định nhiễm *H. pylori* bằng 3 phương pháp đó là xét nghiệm ure nhanh, mô bệnh học và khuếch đại gen, không qua bước nuôi cấy, do đó thời gian không quá 2 ngày.

Năm 2007 nghiên cứu của Raymond J. và cs cho thấy rằng có mối liên quan chặt chẽ giữa 3 phương pháp phát hiện đề kháng clarithromycin là khuếch tán trên đĩa, E-test và PCR-RFLP [184]. Trên 90 % các chủng đề kháng clarithromycin có đột biến trên gen 23S rRNA gồm A2143G, A2142G và A2142G [45]. Như vậy PCR-RFLP xác định 3 đột biến này có thể được áp dụng để phát hiện đề kháng kháng sinh của *H. pylori*. Ngoài ra, PCR-RFLP còn có thể được sử dụng để xét nghiệm trên mẫu phân, đây là xét nghiệm không xâm lấn có ích trong việc chọn lựa phác đồ điều trị [48].

Theo Viana J. S. và cs, phương pháp PCR-RFLP đã được chứng minh là đơn giản, nhanh chóng và chính xác [242]. Các nghiên cứu ứng dụng phương pháp PCR-RFLP để xác định đột biến điểm đề kháng clarithromycin của *H. pylori* đầu tiên tại Việt Nam được thực hiện tại bộ môn Di truyền y học, Trường Đại học Y Dược Huế. Năm 2013 Hà Thị Minh Thi và cs đã ứng dụng phương pháp PCR-RFLP xác định 2 đột biến A2143G và A2142G liên quan đến đề kháng clarithromycin của *H. pylori* ở bệnh nhân loét dạ dày nhiễm *H. pylori* [26]. Nghiên cứu này đã tối ưu hóa thành phần của phản ứng cắt sản phẩm PCR bằng enzyme cắt hạn chế đồng thời cho thấy tính khả thi của việc áp dụng thường quy phương pháp này trên lâm sàng. Năm 2015, Hà Thị Minh Thi và cs nghiên cứu trên 226 bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* [29]. Nghiên cứu này kết luận: Các đột biến điểm vị trí 2142 và 2143 gen 23S rRNA của *H. pylori* chiếm tỷ lệ cao, trong đó hầu hết là đột biến A2143G. Đột biến A2143G có liên quan với tiền sử sử dụng clarithromycin. Một nghiên cứu trong nước năm 2016 đối chiếu kết quả phát hiện đột biến bằng giải trình tự gen với PCR-RFLP ở 170 bệnh nhân viêm dạ dày mạn cho thấy có một sự tương thích cao giữa 2 phương pháp với chỉ số Kappa $\kappa = 0,989$ (95% CI: 0,966 – 1) [28]. Điều

đó cho thấy phương pháp PCR-RFLP có độ chính xác cao trong việc phát hiện đột biến đề kháng clarithromycin của *H. pylori*.

Những nghiên cứu trên thế giới và nghiên cứu trong nước gần đây cho thấy phương pháp PCR-RFLP có thể được áp dụng rộng rãi để phát hiện đề kháng clarithromycin của *H. pylori* nhằm phục vụ cho nghiên cứu và điều trị. Trên cơ sở kết quả của phương pháp PCR-RFLP, người thầy thuốc có kết quả chẩn đoán nhanh và áp dụng phác đồ điều trị thích hợp.

Như vậy, xét về mặt lý thuyết lẫn thực tiễn, phương pháp PCR-RFLP áp dụng vào thực tế Việt Nam nói chung và khu vực miền Trung là hoàn toàn khả thi.

4.1.2.2. Tỷ lệ đột biến đề kháng clarithromycin

Tỷ lệ đột biến điểm đề kháng clarithromycin trong mẫu nghiên cứu của chúng tôi là 66,5% (135/ 203) (biểu đồ 3.4). Theo Raymond J. và cs, có một mối tương quan chặt chẽ giữa tỷ lệ các đột biến điểm đề kháng clarithromycin với tỷ lệ đề kháng bằng xét nghiệm khuếch tán trên đĩa và E-test [184]. Hơn nữa trên 90% các chủng đề kháng clarithromycin có đột biến trên gen *32S rRNA* gồm A2143G, A2142G và A2142C [135]. Do đó có thể ước đoán gần đúng rằng tỷ lệ đề kháng clarithromycin của *H-pylori* trong mẫu nghiên cứu của chúng tôi > 66,5%. Tần suất đề kháng kháng sinh của *H. pylori* ngày càng tăng trên thế giới và trở thành vấn đề sức khỏe toàn cầu, trong đó đề kháng clarithromycin là yếu tố quan trọng nhất dẫn đến thất bại điều trị [48], [232]. Đề kháng clarithromycin có thể giảm đến 70% hiệu quả của phác đồ 3 thuốc (PPI, clarithromycin và amoxicillin hoặc metronidazol) [152]. Hơn nữa, tần suất đề kháng clarithromycin rất khác nhau giữa các quốc gia, và ngay cả các vùng khác nhau trong một quốc gia [222].

Tại Việt Nam đã có một số nghiên cứu về đề kháng kháng sinh của *H. pylori*

Các nghiên cứu đề kháng dựa vào kiểu hình:

Năm 2012 Nguyễn Đức Toàn và cs thực hiện kháng sinh đồ bằng kỹ thuật khoan giấy kháng sinh khuếch tán ở bệnh nhân viêm dạ dày và loét tá tràng, tỷ lệ đề kháng clarithromycin là 36,6% [33]. Cùng năm đó, Phan Trung Nam và cs bằng phương pháp E-test đã cho thấy tỷ lệ đề kháng clarithromycin ở bệnh nhân nội soi tại Trường Đại học Y Dược Huế là 42,6% [19]. Năm 2014 Đinh Cao Minh và Bùi Hữu Hoàng thực hiện kháng sinh đồ bằng phương pháp pha loãng kháng sinh trong thạch bệnh nhân loét dạ dày tá tràng đã điều trị diệt trừ *H.pylori* thất bại tỷ lệ đề kháng clarithromycin là 56,9% [17].

Các nghiên cứu dựa vào kiểu gen:

Nghiên cứu của Hà Thị Minh Thi và cs tỷ lệ có đột biến trên gen *23S rRNA* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn là 35,4% [29]. Nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ đề kháng clarithromycin kiểu gen trong các mẫu sinh thiết là 66,5 % là một tỷ lệ khá cao, cao hơn nghiên cứu trong nước của Phan Trung Nam và cs (42,4%) [177], Hà Thị Minh Thi và cs [29].

Theo Vianna J.S. và cs, đề kháng clarithromycin của *H. pylori* gồm đề kháng nguyên phát, thứ phát và hỗn hợp [242]. Chúng tôi không phân biệt từng loại. Kết quả tỷ lệ đột biến clarithromycin (gồm các loại trên) tại Quảng Ngãi rất cao. Điều đó cho thấy việc sử dụng macrolit quá rộng rãi. Sự sử dụng này bao gồm điều trị *H. pylori* và các bệnh lý khác như nhiễm trùng hô hấp, tai mũi họng... Kết quả này là một cảnh báo việc sử dụng quá mức clarithromycin trong cộng đồng tại Quảng Ngãi.

Đồng thuận Masstricht V khuyến cáo ở những nơi tỷ lệ đề kháng clarithromycin $\geq 15\%$ thì không nên dùng phác đồ 3 thuốc có clarithromycin làm phác đồ lần đầu [145]. Phan Trung Nam trong bài tổng quan năm 2015 đã khuyến cáo không nên sử dụng phác đồ 3 thuốc chuẩn làm phác đồ lần đầu ở Việt Nam nếu chưa đánh giá độ nhạy của clarithromycin [176]. Tỷ lệ đề

kháng clarithromycin kiểu gen của *H. pylori* trong nghiên cứu của chúng tôi là 66,5% là phù hợp với quan điểm này.

4.1.2.3. Các loại đột biến đề kháng clarithromycin

Trong nghiên cứu này, trong số những mẫu có đột biến, tỷ lệ đột biến A2143G đơn thuần chiếm 97,8,% (132/135), đột biến A2142G đơn thuần chiếm 1,5% (2/135), có đồng thời 2 đột biến A2143G và A2142G chiếm 0,7% (1/203) và không có đột biến A2142C (biểu đồ 3.4). Kết quả này tương đương với một số nghiên cứu khác [34], [84], và thuộc nhóm có mức độ đề kháng cao [65]. Ba đột biến quan trọng nhất liên quan đến > 90% số trường hợp đề kháng clarithromycin của *H. pylori* là A2142G, A2143G và A2142C đã được nhiều tài liệu chứng minh. Trong đó đột biến A2143G làm cho hiệu quả diệt trừ rất thấp [177].

Tại Việt Nam, Hồ Đăng Quý Dũng và cs nghiên cứu tại 2 trung tâm lớn là bệnh viện Chợ Rẫy và Bệnh viện Trung ương quân đội 108 năm 2014 bằng giải trình tự gen. Trong mẫu nghiên cứu có 26 trong số 29 chủng (98,7%) có đột biến A2143G, 3 trong số 29 chủng (1,3%) có đột biến A2142G và không chủng nào có đột biến A2142C [3].

Nghiên cứu bước đầu của Hà Thị Minh Thi bằng phương pháp PCR-RFLP nhằm phát hiện đột biến ở vị trí 2142 và 2143 trên gen *23S rRNA*, 17 chủng trong số 38 chủng nghiên cứu có đột biến và tất cả đều là đột biến A2143G (100%), không có chủng nào có đột biến A2142G [26].

Năm 2015, Hà Thị Minh Thi nghiên cứu trên 170 bệnh nhân viêm dạ dày mạn bằng phương pháp giải trình tự, đã phát hiện 8 loại đột biến điểm trên domain V của gen *23S rRNA*. Trong đó vị trí 2143 và 2142 có 66 chủng có đột biến. Đột biến A2143G chiếm 90,9% (60/66) và đột biến A2142G chiếm 9,1% (6/66) và không có đột biến A2142C [27].

Năm 2016, Hà Thị Minh Thi và cs nghiên cứu 226 bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori*, 35,4% có đột biến điểm vị trí 2143 và 2142. Trong

đột biến A2143G chiếm 92,5% đột biến A2142G chiếm 7,5% và không có đột biến A2142C [29].

Tại Hoa Kỳ, nghiên cứu của Versalovic J. và cs, trong số 59 chủng có gen đề kháng, 33 chủng có đột biến A2143G (trước kia là A2144G) (chiếm 52,5%), 23 chủng có đột biến A2142G (trước kia là A2143G) (chiếm 38,9%), còn lại 5 trường hợp không xác định (8,5%) [240]. Ben Mansour K. và cs nghiên cứu trên 273 mẫu sinh thiết cả người lớn và trẻ em người Tunisia, trong số 42 chủng có đột biến gen đề kháng trên gen 23S *rRNA*, đột biến A2143G có 5 chủng (88%), đột biến A2142G có 37 chủng (12%) và không có đột biến A2142C [45]. Nghiên cứu của Stone G. G. và cs cũng tại Hoa Kỳ, tỷ lệ đột biến A2142G 55% có cao hơn A2143G nhưng không quá nhiều (45%) [212]. Nghiên cứu của Klesiewicz K. và cs ở Bồ Đào Nha đột biến A2142G 50% và A2143G 50%, (nghiên cứu này không xác định đột biến A2142C). Như vậy các nghiên cứu ở Việt Nam, đột biến chiếm tỷ lệ ưu thế là A2143G. Các nghiên cứu ở Hoa Kỳ và châu Âu đột biến A2143G cũng cao nhất nhưng tỷ lệ xấp xỉ 50%. Ngược lại, nghiên cứu ở Sri-Lanka của Ubhayawardana N.L. và cs [229], tất cả 15 chủng đề kháng kháng sinh đều có đột biến A2142G (100%), không có một đột biến A2143G nào [229]. Nhìn chung tỷ lệ các đột biến có khác nhau giữa các nghiên cứu và có lẽ mang tính vùng miền. Đột biến A2142C ít gặp. Châu Phi (Tunisia), Đông Á đột biến A2143G chiếm đa số (Việt Nam), Nam Á đột biến A2142G chiếm ưu thế (Sri-lanka), Châu Âu và Hoa Kỳ đột biến A2142G và A2143G xấp xỉ nhau (bảng 4.3).

Bảng 4.3. Các loại đột biến của một số nghiên cứu

Tác giả	n	Đột biến		
		A2143G	A2142C	A2142G
BenMansour K. [39]	n = 42	37 (88%)	0 (0%)	5 (12%)
Ubhayawardana N. L. [89]	n = 15	0 (0%)	0 (0%)	15 (100%)
Klesiewicz K. [54]	n = 18	9 (50%)		9 (50%)
Stone G.G. [84]	n = 40	18 (38%)	3 (7%)	19 (45%)
Chúng tôi	n = 135	132 (97,8%)	0 (0%)	3 (2,2%)
HDQ Dũng [47]	n = 29	26 (98,7%)	0(0%)	3 (1,3%)

Qua tham khảo các nghiên cứu này chúng tôi có nhận xét rằng có 3 mô hình phân bố đột biến đề kháng clarithromycin của *H. pylori*. Mô hình thứ nhất, ở khu vực châu Âu và Bắc Mỹ, đột biến A2142G và A2143G có tỷ lệ xấp xỉ nhau [54], [84]. Mô hình thứ 2, ở khu vực Nam Á đột biến A2142G chiếm ưu thế [89] và mô hình thứ 3 ở khu vực Châu Phi và Đông Nam Á đột biến A2143G chiếm ưu thế [39],[47]. Hầu hết các nghiên cứu, đột biến A2142C rất ít gặp.

4.1.3. Mối liên quan giữa đột biến với các đặc điểm khác

4.1.3.1. Mối liên quan giữa đề kháng clarithromycin với tuổi bệnh nhân

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ đột biến đề kháng clarithromycin không phụ thuộc vào nhóm tuổi bệnh nhân (bảng 3.12). Mới đây, năm 2016, Ji Z. và cs đã nghiên cứu đề kháng clarithromycin trên một mẫu lớn gồm 9687 bệnh nhân nhiễm *H. pylori*, tác giả thấy rằng đề kháng clarithromycin ở nhóm tuổi 31-50 và 71-80 có tỷ lệ đề kháng cao hơn các nhóm tuổi khác [104]. Chúng tôi phân tích theo nhóm tuổi này, kết quả cho thấy rằng trong mẫu nghiên cứu của chúng tôi, nhóm tuổi 31-50 và 71 - 80 có tỷ lệ đột biến 68,8% cũng cao hơn các nhóm tuổi còn lại (bảng 4.4). Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Có lẽ mẫu nghiên cứu của chúng tôi nhỏ hơn.

Bảng 4.4. Phân bố đột biến theo nhóm tuổi chọn lọc

		Nhóm tuổi	
		Nhóm khác	31 - 50 và 71 - 80
Có đột biến	Số lượng	60	75
	Tỷ lệ %	63,8	68,8
Không đột biến	Số lượng	34	34
	Tỷ lệ %	36,2	31,2
Tổng số	Số lượng	94	109
	Tỷ lệ %	100	100

4.1.3.2. Mối liên quan giữa đề kháng clarithromycin với giới tính

Phân tích đề kháng clarithromycin theo giới tính trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy đề kháng ở nữ 71,7%, ở nam 60%. Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,08$) (bảng 3.10). Eghbali Z. và cs (năm 2016) nghiên cứu đề kháng clarithromycin của *H. pylori* trên 89 bệnh nhân bằng phương pháp PCR-RFLP cũng thấy rằng tỷ lệ đề kháng ở nữ cao hơn nam nhưng không có ý nghĩa thống kê [72]. Vannarath S. và cs nghiên cứu tại Lào trên 119 bệnh nhân nhiễm *H. pylori*, tỷ lệ đề kháng clarithromycin ở nữ cao hơn nam (16,7% so với 8,5%), $p = 0,18$. Cũng theo xu hướng này, năm 2007 Kobayashi I. và cs nghiên cứu trên 3707 chủng *H. pylori* ở Nhật Bản, thấy rằng tỷ lệ đề kháng clarithromycin ở nữ (27,0%) cao hơn nam giới (19,2%) rất có ý nghĩa thống kê [112].

Kobayashi I. giải thích rằng phụ nữ Nhật có xu hướng điều trị nhiễm trùng hô hấp nhẹ bằng clarithromycin nhiều hơn do kinh nghiệm nuôi con và sự phổ biến của việc sử dụng clarithromycin theo kinh nghiệm trong nhiễm trùng hô hấp [112].

Vianna J. S. và cs phân loại đề kháng kháng sinh của *H. pylori* thành 3 loại: Thứ nhất, đề kháng tiên phát là đề kháng ở những đối tượng đã dùng kháng sinh tương ứng trong các bệnh khác như nhiễm trùng hô hấp. Thứ hai,

đề kháng thứ phát là đề kháng ở những đối tượng đã điều trị *H. pylori* trước đó. Thứ ba là đề kháng hỗn hợp có cả đề kháng tiên phát và thứ phát [242].

Trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ khai thác tiền sử có hay không có điều trị *H. pylori* theo ghi nhớ của bệnh nhân chứ không khai thác được tiền sử có hay không dùng thuốc clarithromycin (hoặc macrolide) cho các bệnh khác, vì đa số bệnh nhân không nhớ chính xác tên thuốc đã từng điều trị. Vì vậy nghiên cứu này không xem xét đề kháng tiên phát hay thứ phát mà chỉ xem đó là đề kháng hỗn hợp theo quan điểm của Vianna J. S. và cs [242]. Đó là điểm khác biệt của nước ta với một số nước tiên tiến khác. Lý do có thể là bệnh nhân mua kháng sinh ở các nơi bán thuốc mà không cần có đơn thuốc của bác sĩ.

4.1.3.3. Mối liên quan giữa đề kháng clarithromycin với đặc điểm địa dư

Nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ đột biến đề kháng clarithromycin bằng phương pháp PCR-RFLP ở bệnh nhân sống ở vùng thành thị (75,5%) cao hơn ở nông thôn (59,3%) (bảng 3.13). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến cho thấy sống ở vùng thành thị tăng nguy cơ đột biến đề kháng clarithromycin với $OR = 2,34$ và $AOR = 2,16$ (bảng 3.21).

Một báo cáo tình hình đề kháng kháng sinh của *H. pylori* ở các nước ASEAN cho thấy ở Thái Lan, đề kháng clarithromycin ở các thành phố lớn (14%) cao hơn vùng nông thôn (3,7%) [243].

Maleknejad S. và cs cho rằng tỷ lệ đề kháng với kháng sinh khác nhau trên toàn thế giới và phụ thuộc vào điều kiện kinh tế xã hội, điều kiện sống, vùng địa lý, liều lượng thuốc, và việc cho thuốc quá nhiều do các bệnh khác [141].

Ở nước ta, có sự khác biệt về điều kiện kinh tế xã hội, mức sống giữa thành thị và nông thôn. Việc sử dụng kháng sinh như clarithromycin ở thành thị có thể phổ biến hơn ở nông thôn. Điều đó có thể giải thích tỷ lệ đề kháng clarithromycin ở thành thị cao hơn nông thôn.

4.1.3.4. *Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với tiền sử điều trị H. pylori*

Hình 3.9 cho thấy ở nhóm bệnh nhân có tiền sử đã điều trị *H. pylori*, tỷ lệ có đột biến đề kháng clarithromycin (77,9%) cao hơn nhóm chưa từng điều trị *H. pylori* (60,3%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến cho thấy yếu tố đã từng điều trị *H. pylori* gia tăng nguy cơ đột biến đề kháng clarithromycin với OR = 2,28 và AOR = 2,20 (bảng 3.21).

Năm 2013, tại Đức, Segrade M. và cs đã nghiên cứu trên 436 bệnh nhân nội soi dạ dày nhiễm *H. pylori*, xét nghiệm đề kháng clarithromycin bằng E-test cho thấy tỷ lệ đề kháng tiên phát, thứ phát và hỗn hợp lần lượt là: 11,7%, 17,6% và 36,4% [198].

Tại Việt Nam, năm 2013 Phan Trung Nam và cs nghiên cứu đề kháng clarithromycin của *H. pylori* bằng phương pháp E-test, tỷ lệ đề kháng clarithromycin ở bệnh nhân đã điều trị *H. pylori* là 84,6%, bệnh nhân chưa điều trị là 30,2%.

Năm 2014, tại Việt Nam, Đinh Cao Minh và Bùi Hữu Hoàng nghiên cứu đề kháng kháng sinh của *H. pylori* ở bệnh nhân đã điều trị thất bại, kết quả này cho thấy tỷ lệ đề kháng clarithromycin là 56,9% [11]

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ đề kháng ở bệnh nhân đã điều trị tương đương với nghiên cứu của Phan Trung Nam, cao hơn nghiên cứu của Selgrade và nghiên cứu của Đinh Cao Minh [11]. Sự giống và khác nhau này có thể do yếu tố địa lý. Nghiên cứu của Phan Trung Nam thực hiện tại Huế, thuộc miền Trung Việt Nam, nghiên cứu của chúng tôi thực hiện tại Quảng Ngãi cũng thuộc miền Trung và có nhiều bệnh nhân ở Quảng Ngãi khám bệnh và điều trị tại Huế. Selgrade M. và cs nghiên cứu tại Châu Âu, nơi có tỷ lệ đề kháng thấp hơn Châu Á [198]. Đinh Cao Minh nghiên cứu tại TP Hồ Chí Minh, thuộc miền Nam Việt Nam.

Vianna J. S. và cs cho rằng yếu tố tiền sử điều trị bằng clarithromycin làm tăng cơ hội mắc phải đề kháng với kháng sinh này [242]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, mặc dù không phân biệt phác đồ nào đã sử dụng trước đó, nhưng cũng có thể cho rằng đề kháng cao hơn ở nhóm đã điều trị *H. pylori* so với nhóm chưa điều trị là do đã sử dụng clarithromycin. Bởi vì thực tế cho đến nay, mặc dù đã có một vài khuyến cáo không nên sử dụng phác đồ 3 thuốc chuẩn trong điều trị lần đầu [18], phác đồ này vẫn còn sử dụng phổ biến, đặc biệt ở tuyến cơ sở.

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ đề kháng clarithromycin của *H. pylori* là khá cao, và còn cao hơn nữa khi bệnh nhân đã thất bại với điều trị *H. pylori* trước đó. Điều đó một lần nữa chúng tôi ủng hộ quan điểm không nên sử dụng phác đồ 3 thuốc chuẩn để điều trị *H. pylori* lần đầu theo kinh nghiệm. Một mặt là giảm thiểu khả năng thất bại và hạn chế phát sinh đề kháng mới.

4.2. Kết quả tiệt trừ *H. pylori* và tính an toàn của phác đồ nối tiếp RA-RLT

4.2.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu

Ở mục 4.1 chúng tôi đã nêu các đặc điểm của mẫu nghiên cứu thuộc mục tiêu nghiên cứu 1. Trong bảng 3.22 chúng tôi đã nêu tính tương đồng của 2 mẫu nghiên cứu. Trong mục này (đặc điểm của bệnh nhân tham gia điều trị, theo mục tiêu nghiên cứu 2), các đặc điểm sẽ không phân tích lặp lại tuy rằng cỡ mẫu có nhỏ hơn.

4.2.2. Kết quả tiệt trừ *H. pylori* của phác đồ nối tiếp RA-RLT

4.2.2.1. Việc lựa chọn phác đồ nghiên cứu

Tình hình đề kháng clarithromycin đang ngày càng tăng trên thế giới, đặc biệt mới đây có 2 nghiên cứu ở miền Trung Việt Nam, cho thấy tỷ lệ đề kháng clarithromycin là 35,4% và 42,4% [29], [176]. Hậu quả của đề kháng clarithromycin là giảm hiệu quả của phác đồ 3 thuốc chuẩn. Do đó tìm một phác đồ mới là cần thiết nhằm thay thế phác đồ 3 thuốc chuẩn. Theo

Maatritch IV, ở những nơi có tỷ lệ đề kháng clarithromycin > 20 % nên sử dụng phác đồ 4 thuốc hoặc phác đồ nối tiếp [144]. Đồng thời đã có nghiên cứu cho thấy phác đồ 3 thuốc chuẩn có nhiều tác dụng phụ hơn phác đồ 3 thuốc có levofloxacin [120]. Hơn nữa, phác đồ nối tiếp cổ điển có hiệu quả thấp đối với các quần thể đề kháng clarithromycin. Levofloxacin là một thuốc mới trong điều trị tiệt trừ *H. pylori*, ban đầu được áp dụng theo phác đồ 3 thuốc gồm PPI, levofloxacin và amoxicillin. Đây là một kháng sinh hấp thu tốt qua đường uống [58]. Tuy nhiên phác đồ 3 thuốc có levofloxacin này cũng đã có xu hướng giảm hiệu quả [73]. Đồng thuận Toronto 2016 đã khuyến cáo không dùng phác đồ nối tiếp trong tiệt trừ *H. pylori* [76]. Tuy nhiên đồng thuận này không đề cập đến các phác đồ nối tiếp có levofloxacin. Một vài nghiên cứu gần đây đã áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin với kết quả đáng khích lệ. Romano M. và cs nghiên cứu áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin 10 ngày cho thấy tỷ lệ tiệt trừ của phác đồ này là 98,4% theo phân tích ITT và 96,8% theo phân PP [189]. Qian J. và cs so sánh 3 phác đồ gồm phác đồ 3 thuốc có levofloxacin 7 ngày, phác đồ 3 thuốc chuẩn 10 ngày và phác đồ nối tiếp có levofloxacin 10 ngày. Kết quả cho thấy phác đồ nối tiếp có levofloxacin có tỷ lệ tiệt trừ *H. pylori* cao hơn so với 2 phác đồ còn lại, 82,8% theo phân tích ITT và 86,5% theo phân tích ITT [185].

Tinidazol trong phác đồ này, so với với metronidazol, có một số ưu điểm hơn như dược lực học, dược động học, an toàn và dung nạp tốt hơn, đồng thời có tiềm năng chống lại các vi khuẩn đề kháng với metronidazol [147].

Việc chọn lựa rabeprazol trong phác đồ của chúng tôi nhằm hạn chế tác động của enzyme CYP2 C19. Chúng ta biết rằng các thuốc PPI chuyển hóa ở gan qua enzyme CYP2 C19. Enzyme này có 3 kiểu hình là chuyển hóa kém, chuyển hóa trung bình và chuyển hóa mạnh [14]. Ở những trường hợp bệnh nhân có kiểu hình chuyển hóa trung bình và chuyển hóa mạnh thì hiệu quả của đa số thuốc PPI giảm rõ rệt, chỉ riêng có rabeprazol ít chịu ảnh hưởng của enzyme này [124]. Theo Trần Ngọc Lưu Phương và Phạm Hùng Vân ở bệnh

nhân viêm loét dạ dày do *H. pylori* tỷ lệ bệnh nhân có kiểu hình CYP2 C19 chuyển hóa trung bình và mạnh lên đến 92,43% [24]. Như vậy ở Việt Nam, tỷ lệ bệnh nhân có kiểu hình của enzyme CYP2C19 loại chuyển hóa trung bình và mạnh khá cao và do đó đa số các PPI sẽ có tác dụng kém, ngoại trừ rabeprazol.

Về số ngày điều trị, phân tích gộp 6 nghiên cứu phác đồ nối tiếp có levofloxacin cho thấy thời gian điều trị 10 ngày so với 12 hoặc 14 ngày sự khác biệt về hiệu quả không có ý nghĩa thống kê [56], [105]. Do đó số ngày điều trị (10 ngày) trong nghiên cứu của chúng tôi là hợp lý.

4.2.2.2. *Kết quả diệt trừ H. pylori của phác đồ nối tiếp RA-RLT ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn*

Theo ZulloA. và cs phác đồ kháng sinh lý tưởng là phác đồ có tỷ lệ thành công ít nhất là 90%, tỷ lệ tác dụng phụ thấp và có sẵn thuốc trên toàn thế giới [258]. Tuy nhiên cho đến nay chưa có một phác đồ lý tưởng nào được xác lập và mọi cố gắng để tìm ra một phác đồ kinh nghiệm lý tưởng vẫn còn tiếp tục [171], [263]. Đồng thuận MaastrichtI định nghĩa một phác đồ là hữu ích nếu đạt tỷ lệ thành công trên 80% theo phân tích ITT và định nghĩa này vẫn còn là tiêu chuẩn của nhóm đồng thuận Maastricht trong các hội thảo về sau [92]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ diệt trừ thành công theo PP và ITT lần lượt là 87,2% và 81,9% (bảng 3.24 và bảng 2.25). Đây là tỷ lệ thành công không lý tưởng tuy nhiên có thể xem như là một phác đồ hữu ích, đặc biệt là trong tình hình hiện nay, đề kháng kháng sinh ngày càng tăng trên thế giới cũng như trong nước và điều trị *H. pylori* ngày càng khó khăn [76].

Trong số các nghiên cứu áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin, một số phối hợp với tinidazol, một số khác phối hợp với metronidazol. Tuy rằng tinidazol và metronidazol đều cùng nhóm imidazol nhưng có vài điểm khác biệt như đã trình bày trên đây (mục 1.3.3). Chúng tôi so sánh theo 2 nhóm riêng biệt.

† So sánh với các phác đồ nối tiếp có levofloxacin và tinidazol

Năm 2010, Romano M. và cs nghiên cứu so sánh 3 phác đồ nối tiếp, gồm phác đồ nối tiếp cổ điển (CLA-ST), phác đồ nối tiếp có levofloxacin 250 mg 2 lần/ ngày (LEV-ST250) và phác đồ nối tiếp có levofloxacin 500mg 2 lần/ ngày (LEV-ST500) [189]. Trong đó phác đồ LEV-ST500 tương tự như nghiên cứu của chúng tôi. Kết quả nghiên cứu này cho thấy phác đồ nối tiếp có levofloxacin LEV - ST 500 có tỷ lệ tiết trừ thành công khá lý tưởng 98,4% theo phân tích PP và 96,8% theo phân tích ITT. Hơn nữa phác đồ LEV-250 cũng đạt hiệu quả cao (98,3% và 96% theo phân tích PP và ITT). Phác đồ nối tiếp cổ điển mặc dù có tỷ lệ thành công chấp nhận được nhưng thấp hơn 2 phác đồ có levofloxacin một cách rõ rệt.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phác đồ nối tiếp có levofloxacin thấp hơn kết quả nghiên cứu của Romano M. và cs. Tác giả này cũng khuyến cáo rằng phác đồ nối tiếp có levofloxacin nên được áp dụng làm phác đồ lần đầu.

Tại Trung Quốc, năm 2012 Qian J. và cs nghiên cứu so sánh 3 phác đồ gồm phác đồ 3 thuốc có levofloxacin, phác đồ nối tiếp chuẩn và phác đồ nối tiếp có levofloxacin [180]. Trong đó phác đồ nối tiếp có levofloxacin tương tự như nghiên cứu của chúng tôi, chỉ có điểm khác là phác đồ này chỉ sử dụng levofloxacin 500 mg ngày 1 lần. Kết quả nghiên cứu này tỷ lệ thành công của phác đồ nối tiếp có levofloxacin theo phân tích PP và ITT là 86,5% và 82,8%.

Năm 2012 tại Ý Federico A. và cs đã so sánh 2 phác đồ có levofloxacin là phác đồ đồng thời 5 ngày (esomeprazol 40 mg, 2 lần/ ngày, amoxicillin 500 mg 2 lần/ ngày, levofloxacin 500 mg 2 lần/ ngày và tinidazol 500 mg 2 lần/ ngày) và phác đồ nối tiếp có levofloxacin 10 ngày (5 ngày đầu: oesomeprazol 40 mg 2 lần/ ngày và amoxicillin 500 mg 2 lần/ ngày; 5 ngày sau oesomeprazol 40 mg 2 lần/ ngày, levofloxacin 500 mg 2 lần/ ngày và tinidazol 500 mg 2 lần/ ngày). Mỗi phác đồ 90 bệnh nhân. Kết luận chính của nghiên cứu này là phác đồ đồng thời 5 ngày có levofloxacin

hiệu quả, an toàn và rẻ hơn phác đồ nối tiếp có levofloxacin. Tuy nhiên qua nghiên cứu này chúng ta nhận thấy hiệu quả của phác đồ nối tiếp có levofloxacin (như nghiên cứu của chúng tôi) cũng đạt tỷ lệ thành công ở mức độ cao (96,5% theo phân tích PP và 93,3% theo phân tích ITT) [77].

Trong nước, năm 2016, Nguyễn Phan Hồng Ngọc nghiên cứu áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin cùng với tinidazol tương tự như nghiên cứu của chúng tôi. Kết quả diệt trừ *H. pylori* theo phân tích ITT và PP lần lượt là 73,5% và 81,5% thấp hơn nghiên cứu của chúng tôi [20].

Bảng 4.5. So sánh với các tác giả khác về tỷ lệ diệt trừ

Tác giả		Qian J. và cs [180]	Romano M. A. và cs [189]	Federico và cs [77]	PTH. Ngọc [20]	Chúng tôi
n		116	123	90	102	116
Tỷ lệ thành công	ITT	82,8%	96,8%	93,3%	73,5%	81,9%
	PP	86,5%	98,4%	96,5%	81,5%	87,2%

† So sánh với các phác đồ nối tiếp có levofloxacin và metronidazol

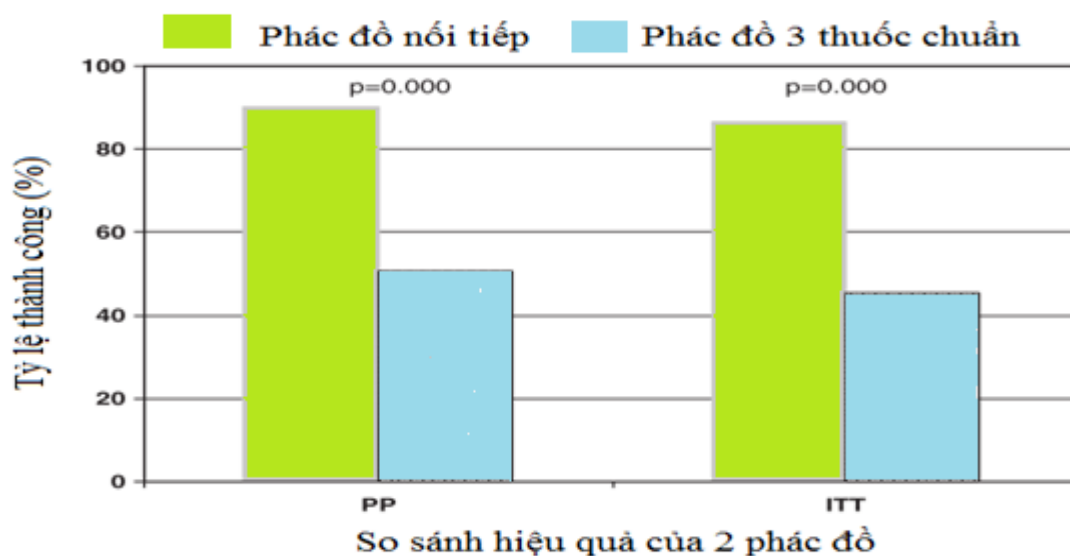
Năm 2009 Tại Thổ Nhĩ Kỳ, trước tình hình phác đồ nối tiếp có clarithromycin đạt hiệu thấp (65,2% theo phân tích PP) trong điều trị *H. pylori* lần đầu, người ta nhận thấy rằng cần phải thay đổi thuốc trong phác đồ nối tiếp. Hơn nữa, phác đồ 3 thuốc có levofloxacin đã được đề nghị áp dụng sau khi thất bại lần đầu. Lần đầu tiên Aydın A. và cs đã áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin. Phác đồ này gồm rabeprazol và amoxicillin trong 7 ngày đầu, tiếp theo là rabeprazol, levofloxacin và metronidazol trong 7 ngày sau. Kết quả diệt trừ chung trong nghiên cứu này theo phân tích PP là 84,2%, theo phân tích ITT là 80%. Trong nhóm điều trị lần đầu, theo phân tích PP là 86,7%, theo phân tích ITT là 82,5% [42]. Tác giả kết luận rằng phác đồ nối tiếp có levofloxacin có tỷ lệ thành công chấp nhận được trong điều trị *H. pylori* lần đầu ở Thổ Nhĩ Kỳ.

Năm 2010, tại Tây Ban Nha, Molina-Infante J. và cs nghiên cứu so sánh 4 phác đồ gồm: Phác đồ 3 thuốc liều cao (omeprazol, clarithromycin và amoxicillin, liều chuẩn 3 lần/ ngày), phác đồ 3 thuốc có levofloxacin liều cao (omeprazol, levofloxacin và amoxicillin, liều chuẩn 3 lần/ ngày), phác đồ nối tiếp có clarithromycin (5 ngày đầu: Omeprazol và amoxicillin, liều chuẩn 2 lần/ ngày; 5 ngày tiếp theo: Omeprazol, levofloxacin và metronidazol, liều chuẩn 3 lần/ ngày). Mẫu nghiên cứu gồm 460 bệnh nhân. Trong đó nhóm điều trị theo phác đồ nối tiếp có levofloxacin gồm 115 bệnh nhân. Kết quả nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ thành công của phác đồ nối tiếp có levofloxacin theo phân tích PP là 85,5% theo phân tích ITT là 82,5% [158]. Tỷ lệ này cao hơn phác đồ 3 thuốc có clarithromycin có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu này chứng tỏ rằng phác đồ nối tiếp có levofloxacin có khả năng áp dụng trên lâm sàng.

Năm 2011, tại Thổ Nhĩ Kỳ, Polat Z. và cs đã thực hiện nghiên cứu so sánh phác đồ nối tiếp có levofloxacin với phác đồ 3 thuốc chuẩn. Trong đó phác đồ nối tiếp có levofloxacin gồm: 7 ngày đầu esomeprazol 40 mg, 2 lần/ ngày và amoxicillin 500 mg, 2 lần/ ngày; 7 ngày sau esomeprazol 40 mg, 2 lần/ ngày, levofloxacin 500 mg, 1 lần/ ngày và metronidazol 500 mg, 3 lần/ ngày. Phác đồ 3 thuốc chuẩn 14 ngày gồm: Esomeprazol 40 mg, amoxicillin 500 mg và clarithromycin 500 mg, tất cả các thuốc đều sử dụng 2 lần/ ngày. Kết quả nghiên cứu này cho thấy theo phân tích PP, tỷ lệ thành công của phác đồ nối tiếp có levofloxacin là 90% và của phác đồ 3 thuốc chuẩn là 57%. Sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê. Tác giả kết luận nên sử dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin làm phác đồ lần đầu [178].

Năm 2011, tại Đài Loan, Liou J. M. và cs áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin trong điều trị lần thứ 2. Phác đồ gồm: Năm ngày đầu esomeprazol 40 mg và amoxicillin 500 mg, ngày 2 lần; Năm ngày sau esomeprazol 40 mg, levofloxacin 250 mg và metronidazol 500 mg, tất cả các thuốc được sử dụng 2 lần/ ngày. Kết quả nghiên cứu này, tỷ lệ tiết trừ thành

công 96,4% theo phân tích PP và 95,1% theo phân tích ITT [127]. Đây là một tỷ lệ lý tưởng và kết quả này chịu ảnh hưởng bởi đề kháng metronidazol.



Biểu đồ 4.2. So sánh hiệu quả giữa phác đồ nối tiếp có levofloxacin và phác đồ 3 thuốc

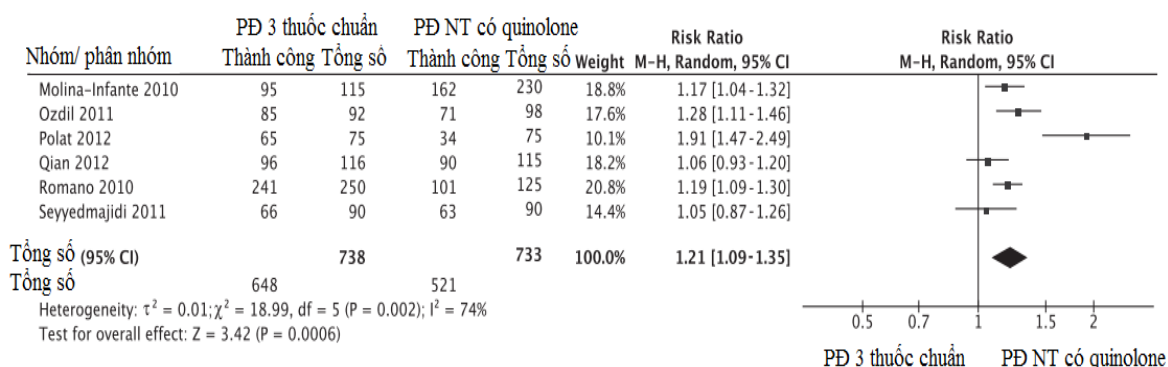
(Nguồn của Polat Z. và cs: *Eur J Intern Med*: 23 (2), 165-168 [178])

Trong một phân tích tổng hợp gồm 6 nghiên cứu so sánh phác đồ nối tiếp có levofloxacin với phác đồ 3 thuốc chuẩn từ năm 2010 đến 2012, Kale-Pradhan P. B. và cs đã chứng rằng phác đồ nối tiếp có levofloxacin có ưu thế vượt trội về kết quả diệt trừ *H. pylori* so với phác đồ 3 thuốc chuẩn. Tác giả kết luận rằng phác đồ nối tiếp có levofloxacin có thể được xem là một lựa chọn trong điều trị *H. pylori* lần đầu [105].

Năm 2013, Zullo D. và cs đã báo cáo một phân tích tổng hợp gồm 21 nghiên cứu nhằm so sánh hiệu quả của các phác đồ nối tiếp cải tiến (có tetracycline hoặc levofloxacin) với phác đồ nối tiếp cổ điển hoặc 3 thuốc chuẩn. Tác giả kết luận rằng phác đồ nối tiếp có levofloxacin có hiệu quả hơn các phác đồ 3 thuốc chuẩn [262].

Mới đây, năm 2016, tại Đài Loan, Liou J. M. và cs công bố nghiên cứu so sánh phác đồ nối tiếp có levofloxacin với phác đồ 3 thuốc có levofloxacin ở những bệnh nhân đã thất bại với các phác đồ có clarithromycin. Nghiên cứu

này cho thấy phác đồ nối tiếp có levofloxacin có kết quả tiết trừ cao hơn phác đồ 3 thuốc có levofloxacin trong điều trị lần thứ 2 [129].



Biểu đồ 4.3. Phân tích gộp so sánh hiệu quả phác đồ nối tiếp có levofloxacin với phác đồ 3 thuốc chuẩn

PD: Phác đồ, NT: Nối tiếp

(Nguồn Kale- Pradhan P. B.: *Pharmacotherapy*: 35 (8) 719-730, 2015 [105])

Trong nước, năm 2015, Hoàng Trọng Thắng nghiên cứu phác đồ 3 thuốc rabeprazol, levofloxacin và tinidazol, tỷ lệ thành công của phác đồ này là 74,6% theo phân tích ITT) và 86,3% theo phân tích PP. Nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ thành công có phần cao hơn tuy không đáng kể [25].

Như vậy, các nghiên cứu nước ngoài cho thấy phác đồ nối tiếp có levofloxacin ưu thế hơn so với với phác đồ 3 thuốc chuẩn. Nghiên cứu trong nước trong cùng một khoảng thời gian so sánh với phác đồ 3 thuốc có levofloxacin, phác đồ nối tiếp có levofloxacin cũng chứng tỏ có ưu thế hơn.

Một khía cạnh khác, xét về lợi ích về chi phí điều trị. Chúng tôi so sánh chi phí thuốc của phác đồ RA-RLT với các phác đồ 10 ngày gồm: Phác đồ 3 thuốc chuẩn (clarithromycin, metronidazol và PPI), phác đồ lai (PPI và amoxicillin trong 5 ngày đầu, sau đó PPI, amoxicillin, clarithromycin và metronidazol trong 5 ngày sau) và phác đồ đồng thời (PPI, amoxicillin, clarithromycin và metronidazol). Trong đó có các thuốc chính gốc như Pariet (rabeprazol 20 mg, Eisai), Klacid Fort (clarithromycin 500 mg, Aesica Queenborough), Tavanic (levofloxacin 500 mg, Sanofi Aventis), Flagyl

(metronidazol 25m mg, Sanofi Aventis) và một số thuốc generic sử dụng phổ biến tại Quảng Ngãi như Tinidazol 500 mg (Domexco), Amoxillin 500 mg (Mekofar) để đồng nhất trong sự so sánh về giá. Kết quả, chi phí thuốc cho các phác đồ như sau: Phác đồ RA-RLT 958.000 đồng, phác đồ 3 thuốc chuẩn 10 ngày 1.472.000 đồng, phác đồ lai 987.000 đồng và phác đồ đồng thời 1.502.000 đồng. Như vậy chi phí cho phác đồ RA-RLT là thấp nhất trong các phác đồ nêu trên.

De Francesco, V. đã so sánh chi phí thuốc của 4 phác đồ gồm phác đồ nối tiếp 10 ngày, phác đồ đồng thời 5 ngày, phác đồ đồng thời 14 ngày và phác đồ lai 14 ngày [67]. Kết quả chi phí thuốc cho các phác đồ theo thứ tự 28 euro, 23,7 euro, 66,4 euro và 44,8 euro. Như vậy chi phí thuốc điều trị của phác đồ nối tiếp chỉ cao hơn rất ít so với phác đồ đồng thời 5 ngày và cao hơn rất nhiều so với phác đồ đồng thời 14 ngày và phác đồ lai 14 ngày.

4.2.2.3. Kết quả tiệt trừ H. pylori ở bệnh nhân có và không có đột biến đề kháng clarithromycin

Bảng 3.26 và bảng 3.27 cho thấy, theo phân tích PP và ITT, mối liên quan giữa kết quả tiệt trừ *H. pylori* của phác đồ RA-RLT với đột biến đề kháng clarithromycin không có ý nghĩa thống kê.

Đề kháng clarithromycin làm giảm hiệu quả của phác đồ 3 thuốc chuẩn và phác đồ nối tiếp, là 2 phác đồ có clarithromycin, đã được chứng minh [142]. Phác đồ RA-RLT là phác đồ nối tiếp cải tiến không có clarithromycin do đó không có mối liên quan với đề kháng clarithromycin.

Liou và cs áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin 10 ngày ở những bệnh nhân đã điều trị thất bại lần đầu cho kết quả thành công 96,4% và 95% theo phân tích PP và ITT. Kết quả tiệt trừ ở nhóm có đột biến đề kháng clarithromycin 90,2%, ở nhóm không có đột biến 94,7%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê [129]. Kết quả so sánh này tương tự nghiên cứu của chúng tôi.

Qua kết quả này chúng tôi cho rằng phác đồ RA-RLT có thể sử dụng cho cả bệnh nhân đề kháng và không đề kháng clarithromycin. Hơn nữa, nếu sử dụng phác đồ này thì việc xét nghiệm độ nhạy với clarithromycin trước khi điều trị là không thực sự cần thiết. Qua đó có thể tiết kiệm chi phí và thời gian đáng kể.

† Tuân thủ điều trị

Số bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi, hoàn thành phác đồ là 109 trong số 109 bệnh nhân (100%) và không có một bệnh nhân nào phải ngưng điều trị do tác dụng phụ của thuốc ngoài 7 bệnh nhân mất theo dõi. Tuân thủ điều trị là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến kết quả diệt trừ *H. pylori* [100]. Tuân thủ điều trị kém được định nghĩa là sử dụng dưới 80%, tuân thủ điều trị tốt là trên 90% số thuốc được cho [98], [259]. Theo định nghĩa đó, Phác đồ RA-RLT trong nghiên cứu này thuộc vào phác đồ có tuân thủ tốt.

† So sánh với các nghiên cứu cùng phác đồ nối tiếp có levofloxacin và tinidazol.

Romano M. và cs áp dụng 3 phác đồ là phác đồ nối tiếp có clarithromycin, phác đồ nối tiếp có levofloxacin 250 mg và phác đồ nối tiếp có levofloxacin 500 mg. Cả hai phác đồ có levofloxacin đều được tuân thủ 100%, chỉ có 1 bệnh nhân trong số 122 bệnh nhân sử dụng phác đồ nối tiếp có clarithromycin ngưng điều trị sau 3 ngày tiêu chảy do điều trị [189].

Qian J. và cs áp dụng 3 phác đồ là phác đồ 3 thuốc có levofloxacin, phác đồ nối tiếp chuẩn và phác đồ nối tiếp có levofloxacin. Về mặt tuân thủ điều trị, phác đồ 3 thuốc có levofloxacin không có bệnh nhân nào trong số 114 bệnh nhân phải ngưng điều trị do tác dụng phụ. Phác đồ nối tiếp chuẩn có 1 bệnh nhân phải ngưng điều trị do tác dụng phụ trong số 115. Phác đồ nối tiếp có levofloxacin có 1 bệnh nhân phải ngưng điều trị do tác dụng phụ trong số 116 bệnh nhân [180].

Federico A. và cs đã so sánh phác đồ đồng thời có levofloxacin 5 ngày với phác đồ nối tiếp có levofloxacin 10 ngày. Số bệnh nhân phải ngưng điều trị do tác dụng phụ trong phác đồ đồng thời có levofloxacin là 4 trong số 90 bệnh nhân và phác đồ nối tiếp có levofloxacin là 2 trong số 90 bệnh nhân [77].

Như vậy, so sánh với các nghiên cứu cùng phác đồ, tất cả đều cho thấy phác đồ này có mức độ tuân thủ điều trị tốt. Trong nghiên cứu của chúng tôi, ngoài 7 bệnh nhân mất theo dõi, không có bệnh nhân nào phải ngưng điều trị do tác dụng phụ, vài nghiên cứu khác có ít bệnh nhân phải ngưng điều trị do tác dụng phụ, nhưng không quá 2%.

† *So sánh với các nghiên cứu áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin và metronidazol.*

Aydin A. và cs áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin và metronidazol 14 ngày ở 100 bệnh nhân. Xét về mặt tuân thủ điều trị, 100 bệnh nhân (100%) hoàn thành phác đồ điều trị [42].

Molina-Infante J. và cs nghiên cứu áp dụng 4 phác đồ 10 ngày gồm: Phác đồ 3 thuốc chuẩn OAC (omeprazol, clarithromycin và amoxicillin), phác đồ 3 thuốc có levofloxacin OLA (omeprazol, levofloxacin và amoxicillin), phác đồ nối tiếp OACM (omeprazol và amoxicillin 5 ngày đầu; omeprazol, clarithromycin và metronidazol 5 ngày sau) và phác đồ nối tiếp có levofloxacin OALM (thay clarithromycin bằng levofloxacin trong phác đồ OACM). Các phác đồ đều có mẫu 115 bệnh nhân, số bệnh nhân tuân thủ kém theo từng phác đồ OAC, OLA, OACM và OALM lần lượt là 1, 1, 3 và 4. Không có bệnh nhân nào có tác dụng phụ nặng. Như vậy trong nghiên cứu này phác đồ nối tiếp có levofloxacin có 4 trong số 115 bệnh nhân không tuân thủ điều trị [158].

Trong một phân tích tổng hợp của Kale-Pradhan P. B. và cs gồm 738 bệnh nhân sử dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin và 733 bệnh nhân sử dụng phác đồ 3 thuốc chuẩn hoặc phác đồ nối tiếp chuẩn. Xem xét số bệnh

nhân bỏ trị do tác dụng phụ, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các phác đồ nghiên cứu. Như vậy mức độ tuân thủ điều trị của phác đồ nối tiếp có levofloxacin RA-RLT có thể chấp nhận được trong thực hành lâm sàng tương tự như phác đồ 3 thuốc chuẩn và phác đồ nối tiếp chuẩn [105].

† *Tác dụng phụ*

Phác đồ nghiên cứu của chúng tôi có tác dụng phụ đa dạng theo thứ tự mức độ thường gặp là: Mệt mỏi, tiêu chảy, thay đổi vị giác, đau bụng, đau đầu, nôn buồn nôn, đầy bụng, ngứa. Tuy nhiên các tác dụng phụ này xảy ra với tần số thấp (cao nhất là mệt mỏi, tiêu chảy 5,8%) và đa số có triệu chứng nhẹ (bảng 3.29)

So sánh với các nghiên cứu khác cùng một phác đồ [180], [189] chúng tôi nhận thấy có khác nhau về tần suất xảy ra các tác dụng phụ, nhưng nhìn chung đều có tỷ lệ thấp và tự hồi phục.

Trong nghiên cứu của Qian J. và cs (2012), 116 bệnh nhân sử dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin, có 6 bệnh nhân (5,17%) có tác dụng phụ và tất cả ở mức nhẹ và vừa, các triệu chứng tự khỏi sau khi ngưng điều trị [180]. Trong nghiên cứu của Romano M. và cs (2010) 123 bệnh nhân sử dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin có 29 bệnh nhân (23,5%) báo cáo tác dụng phụ, nhưng không đến mức phải ngưng điều trị [189]. Nghiên cứu của Chuah S. K. và cs (2016) 23 / 81 (26,5%) bệnh nhân sử dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin báo cáo có tác dụng phụ và cũng không nặng đến mức phải ngưng điều trị [57]. Bảng 4.7 liệt kê và so sánh tỷ lệ các tác dụng phụ giữa nghiên cứu của chúng tôi với các nghiên cứu khác.

**Bảng 4.6. So sánh tác dụng phụ giữa các nghiên cứu cùng phác đồ
nội tiếp có levofloxacin**

Tác dụng phụ	Tác giả			
	Chuah S. K. [57] n = 81	RomanoM. [189] n =123	Qian J [180] n = 116	Chúng tôi n = 109
Mệt mỏi				7 (6,5%)
Tiêu chảy	2 (1,2%)	7 (5,7%)	1 (0,86)	6 (5,5%)
Đau bụng	5 (6%)	5 (4,1%)		5 (4,6%)
Thay đổi vị giác		9 (7,3%)	1(0,86)	5 (4,6%)
Đầy bụng				4 (3,7%)
Buồn nôn, nôn	7 (8,6%)	6 (4,9%)	1 (0,86)	4 (3,7%)
Ngứa	0	1 (0,8%)	1(0,86)	4 (3,7%)
Đau đầu	3 (3,7%)	1 (0,8%)	1(0,86)	2 (1,8%)
Chóng mặt	4 (4,9%)			
Nấc cục			1(0,86)	
khác	2 (2,5%)			
Tổng số	23 (26,5%)	29 (23,5%)	6 (5,17%)	37 (33,9%)

Như vậy, tuy rằng phác đồ nội tiếp RA-RLT có nhiều tác dụng phụ và các tác dụng phụ khá đa dạng nhưng đa số chỉ ở mức độ nhẹ và tự hồi phục, trong số những bệnh nhân được khám lần 2 không có bệnh nhân nào ngưng thuốc vì tác dụng phụ.

Kết quả của nghiên cứu này về hiệu quả diệt trừ *H. pylori* và sự tuân thủ điều trị của phác đồ nội tiếp cải tiến có levofloxacin cùng với một số nghiên cứu khác trong nước và trên thế giới cho thấy rằng phác đồ này có thể được xem là một lựa chọn trong diệt trừ *H. pylori* ở Quảng Ngãi nói riêng và miền Trung Việt Nam nói chung. Phác đồ này có thể áp dụng theo kinh nghiệm lần đầu hoặc lần thứ 2 nếu trước đó chưa sử dụng.

Một vấn đề đặt ra là đối với vi khuẩn đề kháng levofloxacin liệu có thể áp dụng phác đồ này hay không trước tình hình đề kháng levofloxacin khá

cao ở nước ta và miền Trung Việt Nam. Nghiên cứu của Chuah và cs đã chứng minh rằng chỉ có yếu tố đề kháng kép với levofloxacin và metronidazol mới có vai trò như là một yếu tố nguy cơ độc lập đối với khả năng thất bại của phác đồ [57]. Đồng thời Chuah S. K. cho rằng chỉ có một yếu tố đề kháng kháng sinh không đủ để giải thích sự thất bại của một phác đồ mà yếu tố tuân thủ điều trị mới là yếu tố quan trọng [57]. Chúng tôi cho rằng vẫn có thể xem phác đồ nối tiếp cải tiến có levofloxacin là 1 lựa chọn nếu vi khuẩn không đề kháng kép levofloxacin và metronidazol.

4.2.3. Mối liên quan giữa hiệu quả diệt trừ *H. pylori* với các đặc điểm khác

4.2.3.1. Mối liên quan giữa kết quả diệt trừ *H. pylori* với giới tính

Tỷ lệ diệt trừ *H. pylori* ở nam 89,8%, ở nữ 85,0%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (bảng 3.35). Nghiên cứu phác đồ nối tiếp có levofloxacin của Branquinho D. và cs ở Bồ Đào Nha, tỷ lệ diệt trừ ở nữ 62% và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nam giới [51]. Nghiên cứu của Lee H. và cs tại Ý, áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin tỷ lệ thành công ở nam 72,3%, ở nữ 86,4% sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,016$) [116].

4.2.3.2. Mối liên quan giữa kết quả diệt trừ *H. pylori* với tuổi bệnh nhân

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ diệt trừ *H. pylori* không liên quan với tuổi trung bình của bệnh nhân (bảng 3.36). Trong một nghiên cứu với phác đồ nối tiếp có levofloxacin năm 2012 trên 75 bệnh nhân khó tiêu không do loét, Polat và cs cũng thấy rằng tỷ lệ thành công không liên quan với tuổi của bệnh nhân [178].

4.2.3.3. Mối liên quan giữa kết quả diệt trừ *H. pylori* với đặc điểm địa dư

Phân tích kết quả diệt trừ *H. pylori* theo địa dư chúng tôi nhận thấy tỷ lệ thành công ở bệnh nhân sống ở vùng nông thôn 91,4%, ở thành thị 79,5%, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,71$ (bảng 3.37). Năm 2016, Shin W. G. và cs đã nghiên cứu so sánh tỷ lệ diệt trừ *H. pylori* của phác đồ 3 thuốc có clarithromycin giữa các vùng địa lý khác nhau và thấy rằng tỷ

lệ này phụ thuộc vào tổng số lượng macrolide mà vùng đó sử dụng [202]. Có thể tỷ lệ thành công ở vùng nông thôn cao hơn thành thị trong nghiên cứu của chúng tôi liên quan đến số lượng clarithromycin nói riêng và kháng sinh nói chung giữa hai nhóm địa dư là nông thôn và thành thị. Mặc dù chúng ta không lượng giá được số lượng kháng sinh sử dụng ở 2 vùng địa dư này nhưng sự tiếp cận với y tế ở vùng nông thôn sẽ thấp hơn thành thị và do việc điều trị các bệnh nhiễm trùng với kháng sinh sẽ ít hơn. Phác đồ của chúng tôi không có clarithromycin nhưng tinidazol và levofloxacin cũng có thể sử dụng trong các bệnh nhiễm trùng khác như clarithromycin.

4.2.3.4. Mối liên quan giữa kết quả tiệt trừ *H. pylori* với tiền sử điều trị

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ điều trị thành công bằng phác đồ nối tiếp cải tiến RA-RLT ở nhóm chưa điều trị *H. pylori* và nhóm đã điều trị *H. pylori* lần lượt là 91,5% so với 78,9% (bảng 3.33). Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Romano và cs cho rằng thất bại điều trị lần đầu góp phần phát sinh đề kháng thứ phát với một kháng sinh hoặc đa kháng [188]. Điều đó làm giảm thêm hiệu quả điều trị lần sau và giảm đi đáng kể số kháng sinh để chọn lựa cho điều trị. Romano M. và cs so sánh đề kháng với kháng sinh ở bệnh nhân chưa điều trị *H. pylori* với bệnh nhân đã điều trị thất bại một hoặc nhiều lần (bảng 4.7) [188].

Bảng 4.7. So sánh đề kháng kháng sinh trước và sau điều trị thất bại

	Chưa điều trị n (%)	Đã điều trị n (%)	p
Amoxicillin	0 (0)	3(3,1)	NS
Metronidazol	27 (27)	40 (41,3)	0,03
Levofloxacin	3 (3)	14 (14,6)	0,04

Nghiên cứu của Romano M. và cs không đề cập đến kháng sinh cụ thể trong các phác đồ đã sử dụng trước đó, tương tự như nghiên cứu của chúng tôi. Trong nghiên cứu của Romano và cs, sau thất bại điều trị 1 hoặc nhiều lần, tỷ lệ đề kháng amoxicillin từ 0% tăng lên 3,1%, metronidazol từ 27%

tăng lên 41,3%, levofloxacin từ 3% tăng lên 14,6%. Cả 3 kháng sinh này đều có trong phác đồ RA-RLT của chúng tôi. Như vậy trong nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ thành công ở nhóm đã điều trị thất bại thấp hơn nhóm chưa điều trị là hợp lý. Tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê có thể mẫu nghiên cứu chưa đủ lớn.

4.2.3.5. Mối liên quan giữa kết quả diệt trừ *H. pylori* với tình trạng hút thuốc lá

Bảng 3.34 đã phân tích, kết quả diệt trừ *H. pylori* liên quan có ý nghĩa thống kê với tình trạng hút thuốc lá của bệnh nhân nam. Ở nhóm bệnh nhân hút thuốc lá tỷ lệ thành công 75% so với nhóm không hút thuốc tỷ lệ 97%. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến cho thấy hút thuốc lá làm giảm hiệu quả diệt trừ *H. pylori* của phác đồ nối tiếp RA-RLT với OR = 0,09 và AOR = 0,05 (bảng 3.39)

Kamada T. và cs đã so sánh hiệu quả điều trị của phác đồ 3 thuốc chuẩn giữa nhóm bệnh nhân hút và không hút thuốc lá [106]. Kết quả nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ thành công ở nhóm không hút thuốc lá (80%) cao hơn nhóm hút thuốc lá (58%) có ý nghĩa thống kê. Phân tích đa biến cho thấy hút thuốc lá là một yếu tố nguy cơ độc lập làm giảm hiệu quả điều trị với tỷ suất chênh 2,94, 95% CI, 1,27-6,82.

Wu C. J. và cs [249] nghiên cứu áp dụng 2 phác đồ 3 thuốc [249]. Khi so sánh hiệu quả diệt trừ *H. pylori* giữa nhóm bệnh nhân có và không hút thuốc lá, thấy rằng hút thuốc lá là một yếu tố nguy có độc lập với kết quả diệt trừ với $p < 0,05$.

Mới đây, năm 2017, Itskoviz D. và cs [103] phân tích gộp gồm 120.914 bệnh nhân nhiễm *H. pylori* [103]. Kết quả nghiên cứu này cho thấy hút thuốc làm tăng tỷ lệ thất bại điều trị rất có ý nghĩa thống kê với $p < 0.001$, tỷ suất chênh 1,15, 95% CI 1,10-1,20.

Cơ chế làm giảm hiệu quả điều trị của hút thuốc lá đã được giải thích như sau: Thứ nhất, hút thuốc lá làm giảm tưới máu cho niêm mạc dạ dày [78], do

đó giảm lượng thuốc diệt vi khuẩn tại chỗ [78]. Thứ hai, hút thuốc làm tăng bài tiết axit pentagastrin do đó tăng tính axit dạ dày. Môi trường axit cao hơn làm tăng số lượng vi khuẩn không sao chép do đó giảm hiệu lực của thuốc lên vi khuẩn [172].

Đã có nhiều nghiên cứu chứng minh hút thuốc lá làm giảm hiệu quả điều trị diệt trừ *H. pylori*. Trên cơ sở đó, Suzuki còn đề nghị làm rõ thêm liệu có nên xem cai thuốc là một yêu cầu thường quy trong thực hành điều trị *H.pylori* [217]. Tuy nhiên cũng có một số nghiên cứu cho rằng không có mối liên quan giữa tình trạng hút thuốc lá với tỷ lệ diệt trừ *H. pylori*. Lim J. H. và cs so sánh giữa nhóm có hút thuốc lá và nhóm không hút thuốc lá ở 98 bệnh nhân điều trị với phác đồ 3 thuốc có moxifloxacin. Tỷ lệ diệt trừ ở nhóm không hút thuốc 64,4%, nhóm có hút thuốc 62,5% và sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Như vậy việc đánh giá ảnh hưởng của hút thuốc lá lên tỷ lệ diệt trừ *H. pylori* còn chưa thống nhất, cần phải nghiên cứu thêm.

4.2.3.6. Mối liên quan giữa hiệu quả diệt trừ với mức độ nhiễm *H. pylori*

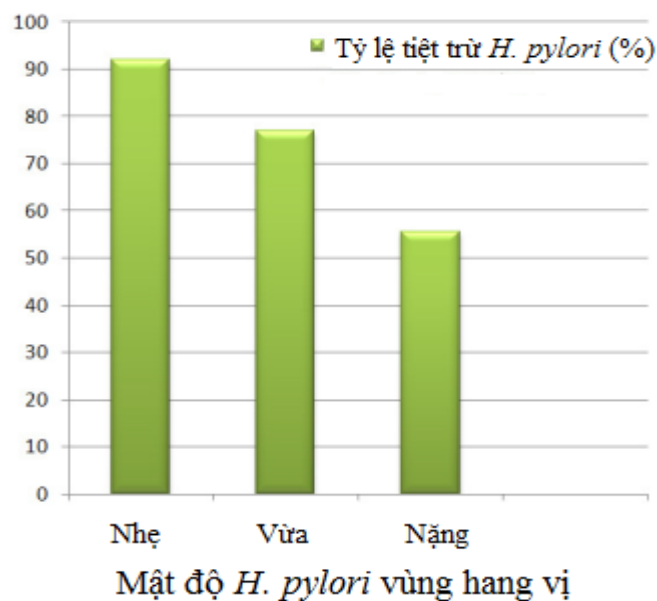
Kết quả nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ diệt trừ *H. pylori* ở bệnh nhân có mức độ nhiễm *H. pylori* nhẹ (93,2%) cao hơn so với bệnh nhân nhiễm vừa và nặng (74,3%) (bảng 3.38). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến cho thấy mức độ nhiễm *H. pylori* vừa và nặng làm giảm hiệu quả diệt trừ *H. pylori* của phác đồ RA-RLT với OR = 0,21 và AOR = 0,06 (bảng 3.39)

Một số nghiên cứu khác đã chứng minh mức độ nhiễm *H. pylori* có ảnh hưởng đến kết quả diệt trừ.

Sheu và cs nghiên cứu 136 bệnh nhân xuất huyết tiêu hóa do loét tá tràng nhiễm *H. pylori*. Mức độ nhiễm *H. pylori* được đánh giá bằng mô bệnh học. Thang điểm đánh giá từ 0 (không thấy *H. pylori*) đến 5 điểm theo mật độ

vi khuẩn tăng dần. Kết quả nhóm điều trị thành công có điểm trung bình 2,48, nhóm thất bại 3,41 và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Nghiên cứu của Shah D. K. và cs điều trị bệnh nhân nhiễm *H. pylori* cho thấy tỷ lệ tiết trừ thành công ở bệnh nhân nhiễm *H. pylori* mức độ nhẹ cao hơn mức độ vừa và nặng (biểu đồ 4.4) [200].



Biểu đồ 4.4. Tỷ lệ tiết trừ *H. pylori* theo mật độ *H. pylori* vùng hang vị

(Nguồn Shah và cs: *Trop Gastroenterol*: 36 (2), 101-106 [200])

Moshkowitz M. và cs nghiên cứu trên 132 bệnh nhân viêm hang vị hoặc loét tá tràng nhiễm *H. pylori*. Kết quả tiết trừ được đánh giá bằng hoạt độ urease qua test hơi thở. Nghiên cứu cho thấy mối liên quan giữa tỷ lệ tiết trừ *H. pylori* và hoạt độ urease (được cho là đại diện cho mức độ nhiễm *H. pylori*) có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ tiết trừ ở các nhóm mức độ nặng, vừa và nhẹ lần lượt là 37,5%, 69,5% và 87,5%. Tác giả cho rằng mức độ nhiễm *H. pylori* nên được xem là một yếu tố dự báo kết quả tiết trừ *H. pylori* [159].

Nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các kết quả nghiên cứu này.

4.3. Hạn chế của nghiên cứu

Trong nghiên cứu này chúng tôi không áp dụng đối chiếu với phác đồ 3 thuốc chuẩn hiện đang được sử dụng rất phổ biến để có kết quả thuyết phục

hơn. Tuy nhiên, sẽ không phù hợp về mặt đạo đức nghiên cứu nếu nghiên cứu đối chiếu với phác đồ 3 thuốc chuẩn khi chúng ta đã biết tỷ lệ đề kháng clarithromycin tại miền Trung Việt Nam trên 40% [176].

Đề kháng levofloxacin tại Việt Nam theo những nghiên cứu ban đầu mặc dù với mẫu nhỏ là khá cao. Điều đó phần nào giải thích kết quả tiết trừ *H. pylori* không được lý tưởng mà chỉ ở mức chấp nhận được. Nghiên cứu này được thiết kế trước khi có vài nghiên cứu về đề kháng levofloxacin tại Việt Nam [177], [181]. Một số nghiên cứu trên thế giới áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin tương tự như nghiên cứu của chúng tôi đạt tỷ lệ thành công cao, trên 90%, nhưng tỷ lệ thành công trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ đạt mức chấp nhận được [77], [262].

Nghiên cứu này chỉ xác định kết quả tiết trừ *H. pylori* bằng 1 xét nghiệm Clotest vùng hang vị. Điều này có thể dẫn đến kết quả âm tính giả. Những khuyến cáo gần đây khuyên nên lấy mẫu cả hang vị và thân vị.

Để đảm bảo đạo đức nghiên cứu trong y học, chúng tôi không áp dụng điều trị phác đồ RA-RLT cho tất cả những bệnh nhân viêm dạ dày mạn có *H. pylori* dương tính mà chỉ điều trị cho những bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu. Điều đó phần nào cũng làm giảm tính đại diện của mẫu nghiên cứu.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu đột biến gen đề kháng clarithromycin của *H. pylori* bằng phương pháp PCR-RFLP ở 203 bệnh nhân viêm dạ dày mạn và kết quả tiết trừ *H. pylori* của phác đồ nối tiếp RA-RLT ở 116 bệnh nhân đồng ý điều trị trong số các bệnh nhân nói trên từ tháng 1/2013 - 12/2015, chúng tôi có một số kết luận như sau:

1. Về đột biến gen đề kháng clarithromycin của *H. pylori* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn

1.1. Tỷ lệ đột biến gen đề kháng clarithromycin của *H. pylori* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn tại Quảng Ngãi phát hiện bằng phương pháp PCR-RFLP là 66,5%. Trong số các đột biến, đột biến A2143G 97,8%, đột biến A2142G 1,5%, đặc biệt có một mẫu (0,7%) có đồng thời 2 đột biến A2143G và A2142G; không có đột biến A2142C nào được tìm thấy trong nghiên cứu.

1.2. Sống ở vùng thành thị và tiền sử đã điều trị *H. pylori* là 2 yếu tố nguy cơ tăng đột biến đề kháng clarithromycin của *H. pylori* với tỷ suất chênh theo phân tích hồi quy đa biến lần lượt là 2,16 và 2,20.

2. Về kết quả tiết trừ *H. pylori* bằng phác đồ nối tiếp cải tiến RA-RLT

2.1. Tỷ lệ tiết trừ *H. pylori* của phác đồ nối tiếp cải tiến RA-RLT phân tích PP và ITT theo thứ tự ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn nói chung là 87,2% và 81,8%, ở bệnh nhân có đột biến đề kháng clarithromycin là 82,9% và 77,3%, ở bệnh nhân không có đột biến đề kháng clarithromycin là 94,9% và 90,2%. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về kết quả tiết trừ giữa nhóm có và không có đột biến đề kháng clarithromycin, tỷ lệ tuân thủ điều trị là 100%, tỷ lệ có tác dụng phụ là 33,9%.

2.2. Tình trạng đang hút thuốc lá ở nam giới và mức độ nhiễm *H. pylori* vừa hoặc nặng là 2 yếu tố nguy cơ giảm hiệu quả tiết trừ *H. pylori* của phác đồ nối tiếp cải tiến có levofloxacin RA-RLT ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn với tỷ suất chênh theo phân tích hồi quy đa biến lần lượt là 0,06 và 0,06.

KIẾN NGHỊ

Qua kết quả nghiên cứu này, chúng tôi có những kiến nghị sau:

Tại Quảng Ngãi nói riêng và khu vực miền Trung nói chung

1. Phương pháp PCR-RFLP dễ thực hiện, ít tốn thời gian, có thể áp dụng để phát hiện đề kháng clarithromycin thay thế cho phương pháp nuôi cấy và làm kháng sinh đồ phục vụ cho nghiên cứu đề kháng clarithromycin và điều trị *H. pylori* tại địa phương cũng như cho từng bệnh nhân.

2. Phác đồ nối tiếp cải tiến có levofloxacin RA-RLT có thể được xem là một trong số các lựa chọn trong điều trị tiệt trừ *H. pylori* lần đầu hoặc lần thứ 2 sau khi thất bại bởi phác đồ khác ở các vùng dịch tễ có tỷ lệ đột biến kháng clarithromycin cao.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ ĐÃ
CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN**

1. Phạm Ngọc Doanh, Trần Văn Huy (2016). Phác đồ nối tiếp trong điều trị *Helicobacter pylori*. *Tạp chí Y học Thực Hành* số 5 (2016), 4-7.
2. Phạm Ngọc Doanh, Trần Văn Huy, Hà Thị Minh Thi. Nghiên cứu đột biến điểm đề kháng clarithromycin của *H. pylori* ở Quảng Ngãi bằng phương pháp PCR-RFLP (2015). *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt Nam*. Tập IX (41), 2620-2628
3. Phạm Ngọc Doanh, Trần Văn Huy (2018) Hiệu quả và tính dung nạp của phác đồ nối tiếp cải tiến có levofloxacin trong điều trị tệt trừ *H. pylori*. *Tạp chí Y dược học*. Tập 7, số 6, 73-77

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TIẾNG VIỆT

1. Nguyễn Quang Chung (2007), "Hình ảnh nội soi, mô bệnh học của viêm dạ dày mạn nhiễm *Helicobacter pylori*". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, II(7), 389-394.
2. Quách Trọng Đức (2003), "Khảo sát đặc điểm viêm dạ dày mạn theo phân loại Sydney và mối liên quan giữa các đặc điểm này với *Helicobacter pylori*". *Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 7(Phụ bản số 1), 118-122.
3. Hồ Đăng Quý Dũng và cs (2014), "Khảo sát kiểu đột biến điểm ở gen 23s rRNA của *Helicobacter pylori* đề kháng clarithromycin". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, IX(37), 2384-2390.
4. Nguyễn Thanh Dung, Bùi Quang Đi và Hoàng Trọng Thắng (2011), "Lâm sàng, nội soi và mô bệnh học viêm dạ dày mạn do *Helicobacter pylori*". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, Hội nghị khoa học tiêu hóa Việt nam lần thứ 17. Tóm tắt các báo cáo, 8
5. Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Nguyễn Thúy Vinh (2011), "Nghiên cứu cặp môi TH2 trên bệnh phẩm sinh thiết dạ dày để chẩn đoán *Helicobacter pylori*". *Y học thực hành*, 762 (4), 54-56
6. Lê Thanh Hải, Trần Việt Tú, Phạm Ngọc Hùng, và cs (2013), "Tỷ lệ nhiễm *Helicobacter pylori* trên bệnh nhân viêm dạ dày mạn tính hoạt động và mối liên quan với lâm sàng, hình ảnh nội soi và bệnh học". *Y HỌC THỰC HÀNH* 874(6), 23-25.
7. Vũ Minh Hoàn, Nguyễn Nhược Kim, Bùi Văn Khôi, và cs (2013), "Đánh giá hiệu quả điều trị viêm dạ dày mãn tính có nhiễm *Helicobacter pylori* của thuốc Vị quản kháng". *Y học thực hành* 884(10), 116-119.

8. Hoàng (2011), "Hiệu quả của phác đồ nối tiếp trong điều trị tiết trừ *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân viêm loét dạ dày tá tràng". *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, 15(Phụ san của số 1), 303-307.
9. Hội, Khoa học tiêu hóa Việt nam, D. D. (2013), "Khuyến cáo chẩn đoán và điều trị *helicobacter pylori* tại Việt Nam".
10. Huệ, Đặng Ngọc Quý (2016), "Viêm dạ dày mạn do *helicobacter pylori*: Hiệu quả tiết trừ của phác đồ bốn thuốc có bismuth (EBMT)". *Tạp chí Y Dược Học*(32), 149-158.
11. HUONG (2017), "So sánh hiệu quả diệt *Helicobacter pylori* của phác đồ trình tự và phác đồ cổ điển có tetracyclin ở trẻ trên 8 tuổi mắc viêm dạ dày". *Tạp chí nghiên cứu y học*, 108(3), 119-126.
12. Trần Văn Huy và Trần Quang Trung (2016), Nội soi thực quản dạ dày, tá tràng, trong "Giáo trình nội soi tiêu hóa cơ bản". Nhà xuất bản Đại học Huế, 19-33.
13. Lam (2013), "So sánh phác đồ điều trị nhiễm *Helicobacter pylori* theo trình tự với phác đồ bộ ba chuẩn". *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, 17, 4.
14. Đào Văn Long (chủ biên). (2014). Thuốc liên quan đến axit dịch vị, trong *Bài tiết acide dịch vị và bệnh lý liên quan*. Nhà xuất bản Y học, 79-80
15. Tạ Long (2010), "Nhiễm khuẩn *Helicobacter pylori*, bệnh loét dạ dày tá tràng và ung thư dạ dày". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam* V, 1317a.
16. Chu Hoàng Mậu (2004). Enzyme sử dụng trong kỹ thuật sinh học phân tử trong *Cơ sở và phương pháp sinh học phân tử*. NXB Đại học sư phạm, Hà Nội.
17. Đinh Cao Minh và Bùi Hữu Hoàng (2014), "Đánh giá đề kháng kháng sinh của *Helicobacter pylori* trên bệnh nhân viêm loét dạ dày tá tràng đã điều trị tiết trừ thất bại". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, Hội nghị tiêu hóa các nước Đông Nam Á lần thứ 10.
18. Phan Trung Nam, Trần Văn Huy và cs (2013), "Tình hình đề kháng kháng sinh của *Helicobacter pylori* tại khu vực miền Trung hai năm 2012-2013

bằng kỹ thuật E-test". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt Nam*, VIII(33), 2112-2132.

19. Phan Trung Nam và cs (2014), "Đề kháng clarithromycin và levofloxacin của *Helicobacter pylori*: so sánh phương pháp đĩa khuếch tán và E- test". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam, Tài liệu hội nghị tiêu hóa các nước Đông Nam Á lần thứ 10*, 13-14.
20. Nguyễn Phan Hồng Ngọc. (2016), "Nghiên cứu hiệu quả điều trị của phác đồ nối tiếp có chứa levofloxacin ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn *Helicobacter pylori* dương tính". *Luận văn thạc sỹ y học, chuyên ngành nội. Trường Đại học Y dược Huế*.
21. Ngoi (2010), "Hiệu quả của phác đồ omeprazol + amoxicillin + levofloxacin so với omeprazol + amoxicillin + clarithromycin trong điều trị diệt trừ *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân viêm loét dạ dày tá tràng ". *Y Học TP. Hồ Chí Minh* 14 (phụ bản số 1), 184-189.
22. Ngô Đào Hữu Ngôi và cs (2009), "Phác đồ Omeprazol +Amoxicillin + Levofloxacin so với phác đồ Omeprazol + Amoxicillin + Clarithromycin trong điều trị diệt trừ *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân viêm loét dạ dày tá tràng ". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, IV(16), 1051-1060.
23. Lê Văn Nho, Hoàng Trọng Thắng, Trần Văn huy, (2013), "Nghiên cứu mối liên quan giữa tỷ lệ gen cagA, các alen của vagA và hiệu quả điều trị phác đồ Esomeprazol-Amoxicillin-Clarithromycin ở bệnh nhân loét tá tràng *Helicobacter pylori* dương tính". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt Nam* VIII(31), 1983-1989.
24. Trần Ngọc Lưu Phương và Phạm Hùng Vân, (2014), "Tính đa hình của enzyme CYP2C19 trên bệnh nhân Việt Nam bị viêm loét dạ dày tá tràng do nhiễm *Helicobacter pylori* đã được điều trị". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, IX(37), 2391-2399.

25. Hoàng Trọng Thắng (2015), "Đánh giá hiệu quả của phác đồ Rabeprazol - Levofloxacin-Tinidazol trên bệnh nhân viêm dạ dày mạn nhiễm *Helicobacter pylori*". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, IX(41), 2629-2636.
26. Hà Thị Minh Thi và Trần Văn Huy (2013), "Ứng dụng kỹ thuật PCR-RFLP để xác định các đột biến A2142G và A2143G trên gen 23S rRNA gây đề kháng clarithromycin của vi khuẩn *Helicobacter pylori*". *Tạp chí Y Dược Học, trường Đại học Y Dược Huế*(14), 56-63.
27. Hà Thị Minh Thi (2015), "Xác định đột biến gene 23S rRNA của *Helicobacter pylori* và mối liên quan của các đột biến gene này với đề kháng clarithromycin ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn.". *Tạp chí Y Dược học - Trường Đại học Y Dược Huế* (28+29).
28. Thi Hà Thị Minh Thi (2016), "Nghiên cứu một số đột biến gene 23S rRNA gây kháng thuốc clarithromycin của vi khuẩn *Helicobacter pylori* ở các bệnh nhân viêm dạ dày mạn". *Đề tài khoa học cấp tỉnh, tỉnh Thừa Thiên Huế*, Mã số: TTH.2013-KC.09.
29. Hà Thị Minh Thi và cs (2016), "Nghiên cứu các đột biến điểm vị trí 2142 và 2143 trên gen 23S rRNA của *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn". *Tạp chí Y Dược học - Trường Đại học Y Dược Huế - Số 30*, 30, 12-20.
30. Thịnh (2014), "Nghiên cứu tình trạng đồng nhiễm một số vi khuẩn kỵ khí trong viêm dạ dày mạn". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, IX(35), 2250-2259.
31. Nguyễn Văn Thịnh và cs (2009), "Tỷ lệ nhiễm *Helicobacter pylori* trong viêm dạ dày mạn tính qua kết hợp nhiều phương pháp phát hiện". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, IV(17), 1113- 1119.
32. Nguyễn Văn Thịnh và Cs (2009), "Tình hình kháng kháng sinh của *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân loét hành tá tràng trong 6 tháng đầu năm 2009.". *Tạp chí Y Học Thực Hành*, 8(669), 14-18.

33. Nguyễn Đức Toàn và cs, (2012), "Tình hình kháng kháng sinh của *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân viêm dạ dày và loét tá tràng". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, VII(27), 1783-1789.
34. Trần Thiện Trung và cs (2014), "Nghiên cứu bước đầu các đột biến kháng thuốc Clarithromycin và Levofloxacin của vi khuẩn *Helicobacter pylori* bằng giải trình tự gen". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, IX(37), 2367-2375.
35. Trung (2009), "Hiệu quả của phác đồ đầu tay EAC và EAL trong diệt trừ *Helicobacter pylori*". *Y Học TP. Hồ Chí Minh* 13(Supplement 13), 5-10.
36. Nguyễn Văn Tuấn (chủ biên). (2008). *Y học thực chứng*. NXB Y HỌC, Chi nhánh TP Hồ Chí Minh.
37. Lê Minh Tuất, Nguyễn Ngọc Kha (2009), "Đặc điểm hình ảnh nội soi, mô bệnh học và tỷ lệ nhiễm *Helicobacter pylori* của viêm dạ dày mạn tính ở người lớn tuổi". *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt nam*, V(18), 1203-1212.
38. Vinh, Nguyễn Thúy, Ánh, Đỗ Nguyệtand Hạnh, Nguyễn Thị Hồng (2015), "Xác định tính kháng clarithromycin của vi khuẩn *Helicobacter pylori* bằng phương pháp PCR giải trình tự gen 23S rRNA từ bệnh phẩm sinh thiết".

TIẾNG ANH

39. Abdallaha Tm., Mohammedb Hb., Mohammedc Mh., et al. (2014), "Sero-prevalence and factors associated with *Helicobacter pylori* infection in eastern Sudan ". *Asian Pac J Trop Dis* 4, 115-119.
40. Atherton J C, Cao P, Peek R M, Jr., et al. (1995), "Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration". *J Biol Chem*, 270(30), 17771-17777.
41. Axon A T (1995), "Review article: is *Helicobacter pylori* transmitted by the gastro-oral route?". *Aliment Pharmacol Ther*, 9(6), 585-588.

42. Aydin A, Oruc N, Turan I, et al. (2009), "The modified sequential treatment regimen containing levofloxacin for *Helicobacter pylori* eradication in Turkey". *Helicobacter*, 14(6), 520-524.
43. Aydin O, Egilmez R, Karabacak T, et al. (2003), "Interobserver variation in histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis". *World J Gastroenterol*, 9(10), 2232-2235.
44. Basso D, Plebani M, Kusters J G (2010), "Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection". *Helicobacter*, 15 Suppl 1, 14-20.
45. Ben Mansour K, Buruoa C, Zribi M, et al. (2010), "Primary resistance to clarithromycin, metronidazole and amoxicillin of *Helicobacter pylori* isolated from Tunisian patients with peptic ulcers and gastritis: a prospective multicentre study". *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 9, 22.
46. Binh T T, Shiota S, Nguyen L T, et al. (2013), "The incidence of primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in Vietnam". *J Clin Gastroenterol*, 47(3), 233-238.
47. Bode G, Brenner H, Adler G, et al. (2002), "Dyspeptic symptoms in middle-aged to old adults: the role of *Helicobacter pylori* infection, and various demographic and lifestyle factors". *J Intern Med*, 252(1), 41-47.
48. Booka M, Okuda M, Shin K, et al. (2005), "Polymerase chain reaction--restriction fragment length polymorphism analysis of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* infection in children using stool sample". *Helicobacter*, 10(3), 205-213.
49. Boren T, Falk P, Roth K A, et al. (1993), "Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens". *Science*, 262(5141), 1892-1895.
50. Boyanova L, Gergova G, Nikolov R, et al. (2008), "Prevalence and evolution of *Helicobacter pylori* resistance to 6 antibacterial agents over

12 years and correlation between susceptibility testing methods". *Diagn Microbiol Infect Dis*, 60(4), 409-415

51. Branquinho, D. Auid-Orcid [http orcid org](http://orcid.org), Almeida, N., Gregorio, C., Cabral, J. E., Casela, A., Donato, M. M., et al. (2017), "Levofloxacin or Clarithromycin-based quadruple regimens: what is the best alternative as first-line treatment for *Helicobacter pylori* eradication in a country with high resistance rates for both antibiotics?". *BMC Gastroenterol.*, 17(1), 31. doi: 10.1186/s12876-12017-10589-12876.
52. Brenner H, Rothenbacher D, Bode G, et al. (1999), "Active infection with *Helicobacter pylori* in healthy couples". *Epidemiol Infect*, 122(1), 91-95.
53. Bury-Mone S, Skouloubris S, Dauga C, et al. (2003), "Presence of active aliphatic amidases in *Helicobacter* species able to colonize the stomach". *Infect Immun*, 71(10), 5613-5622.
54. Cammarota G, Cianci R, Cannizzaro O, et al. (2000), "Efficacy of two one-week rabeprazole/levofloxacin-based triple therapies for *Helicobacter pylori* infection". *Aliment Pharmacol Ther*, 14(10), 1339-1343.
55. Carraher S, Chang H J, Munday R, et al. (2013), "*Helicobacter pylori* incidence and re-infection in the Aklavik *H. pylori* Project". *Int J Circumpolar Health*, 72.
56. Chey W D, Leontiadis G I, Howden C W, et al. (2017), "ACG Clinical Guideline: Treatment of *Helicobacter pylori* Infection". *Am J Gastroenterol*, 112(2), 212-239.
57. Chuah S Kand Al. E (2012), "The Efficacy of Second-Line Anti-*Helicobacter pylori* Therapy Using an Extended 14-Day Levofloxacin/Amoxicillin/Proton-Pump Inhibitor Treatment – A Pilot Study". *Helicobacter*, 17(5), 374-381.

58. Chuah S K, Liang C M, Lee C H, et al. (2016), "A Randomized Control Trial Comparing 2 Levofloxacin-Containing Second-Line Therapies for *Helicobacter pylori* Eradication". *Medicine (Baltimore)*, 95(19), e3586.
59. Contreras M, Fernandez-Delgado M, Reyes N, et al. (2015), "*Helicobacter pylori* Infection in Rural and Urban Dyspeptic Patients from Venezuela". *Am J Trop Med Hyg*, 93(4), 730-732.
60. Correa P (1988), "A human model of gastric carcinogenesis". *Cancer Res*, 48(13), 3554-3560.
61. Covacci, A., Censini, S., Bugnoli, M., Petracca, R., Burroni, D., Macchia, G., et al. (1993), "Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90(12), 5791-5795.
62. Cover, T. L., Glupczynski, Y., Lage, A. P., Burette, A., Tummuru, M. K., Perez-Perez, G. I., et al. (1995), "Serologic detection of infection with cagA+ *Helicobacter pylori* strains". *J Clin Microbiol*, 33(6), 1496-1500.
63. Czinn S J, Cai A and Nedrud J G (1993), "Protection of germ-free mice from infection by *Helicobacter felis* after active oral or passive IgA immunization". *Vaccine*, 11(6), 637-642.
64. De Francesco, V., Margiotta, M., Zullo, A., et al. (2007), "Prevalence of primary clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* strains over a 15 year period in Italy". *J Antimicrob Chemother*, 59(4), 783-785.
65. De Francesco V, Zullo A, Ierardi E, et al. (2009), "The A2143G point mutation of clarithromycin resistance affects *Helicobacter pylori* eradication". *J Clin Gastroenterol*, 43(4), 386.
66. De Francesco V, Giorgio F, Hassan C, et al. (2010), "Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: a systematic review". *J Gastrointestin Liver Dis*, 19(4), 409-414.

67. De Francesco V, Hassan C, Ridola L, et al. (2014), "Sequential, concomitant and hybrid first-line therapies for *Helicobacter pylori* eradication: a prospective randomized study". *J Med Microbiol*, 63(Pt 5), 748-752.
68. Debets-Ossenkopp Y J, Herscheid A J, Pot R G, et al. (1999), "Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxycillin, tetracycline and trovafloxacin in The Netherlands". *J Antimicrob Chemother*, 43(4), 511-515.
69. Dooley C P, Cohen H, Fitzgibbons P L, et al. (1989), "Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons". *N Engl J Med*, 321(23), 1562-1566.
70. Dye K R, Marshall B J, Frierson H F, Jr., et al. (1990), "Campylobacter pylori colonizing heterotopic gastric tissue in the rectum". *Am J Clin Pathol*, 93(1), 144-147.
71. Eaton K A and Mefford M E (2001), "Cure of *Helicobacter pylori* infection and resolution of gastritis by adoptive transfer of splenocytes in mice". *Infect Immun*, 69(2), 1025-1031.
72. Eghbali Z, Mojtahedi A, Moien Ansar M, et al. (2016), "Detection of 23S rRNA Mutations Strongly Related to Clarithromycin Resistance in *Helicobacter pylori* Strains Isolated From Patients in the North of Iran". *Jundishapur J Microbiol*, 9(2), e29694. DOI 10.5812/jjm.29694
73. Enzo Ierardi, Giuseppe Losurdo, Floriana Giorgio, et al. (2015), "Quinolone-based first, second and third-line therapies for *Helicobacter pylori*". *World J Pharmacol* 4(4), 274-280.
74. Ermis F and Senocak Tasci E (2015), "Current *Helicobacter pylori* treatment in 2014". *World J Methodol*, 5(2), 101-107.
75. Eusebi L H, Zagari R and Bazzoli F (2014), "Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection". *Helicobacter*, 19 Suppl 1, 1-5.

76. Fallone C A, Chiba N, Van Zanten S V, et al. (2016), "The Toronto Consensus for the Treatment of *Helicobacter pylori* Infection in Adults". *Gastroenterology*, 151(1), 51-69.
77. Federico A, Nardone G, Gravina A G, et al. (2012), "Efficacy of 5-day levofloxacin-containing concomitant therapy in eradication of *Helicobacter pylori* infection". *Gastroenterology*, 143(1), 55-61.
78. Fletcher D R, Shulkes A and Hardy K J (1985), "The effect of cigarette smoking on gastric acid secretion and gastric mucosal blood flow in man". *Aust N Z J Med*, 15(4), 417-420.
79. Fox J G, Beck P, Dangler C A, et al. (2000), "Concurrent enteric helminth infection modulates inflammation and gastric immune responses and reduces helicobacter-induced gastric atrophy". *Nat Med*, 6(5), 536-542.
80. Francesco V D, Zullo A, Hassan C, et al. (2011), "Mechanisms of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance: An updated appraisal". *World J Gastrointest Pathophysiol*, 2(3), 35-41..
81. Fujisawa T, Kumagai T, Akamatsu T, et al. (1999), "Changes in seroepidemiological pattern of *Helicobacter pylori* and hepatitis A virus over the last 20 years in Japan". *Am J Gastroenterol*, 94(8), 2094-2099.
82. Gao W, Cheng H, Hu F, et al. (2010), "The evolution of *Helicobacter pylori* antibiotics resistance over 10 years in Beijing, China". *Helicobacter*, 15(5), 460-466.
83. Gao X Z, Qiao X L, Song W C, et al. (2010), "Standard triple, bismuth pectin quadruple and sequential therapies for *Helicobacter pylori* eradication". *World J Gastroenterol*, 16(34), 4357-4362.
84. Gasparetto M, Pescarin M and Guariso G (2012), "*Helicobacter pylori* Eradication Therapy: Current Availabilities". *ISRN Gastroenterol*, 2012, 186734.

85. Gatta L, Vakil N, Vaira D, et al. (2013), "Global eradication rates for *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis of sequential therapy". *BMJ*, 347, f4587. DOI 10.1136/bmj.f4587
86. Gerrits M M, Godoy A P, Kuipers E J, et al. (2006), "Multiple mutations in or adjacent to the conserved penicillin-binding protein motifs of the penicillin-binding protein 1A confer amoxicillin resistance to *Helicobacter pylori*". *Helicobacter*, 11(3), 181-187.
87. Giorgio F, Principi M, De Francesco V, et al. (2013), "Primary clarithromycin resistance to *Helicobacter pylori*: Is this the main reason for triple therapy failure?". *World J Gastrointest Pathophysiol*, 4(3), 43-46.
88. Goh K L, Chan W K, Shiota S, et al. (2011), "Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications". *Helicobacter*, 16 Suppl 1, 1-9.
89. Gomes, A., Skare, T. L., Prestes, M. A., Costa Mda, S., Petisco, R. D. and Ramos, G. P. (2016), "Conventional videoendoscopy can identify *Helicobacter pylori* gastritis?". *Arq Bras Cir Dig*, 29(2), 73-76.
90. Goodman K J and Correa P (2000), "Transmission of *Helicobacter pylori* among siblings". *Lancet*, 355(9201), 358-362.
91. Graham D Y, Abudayyeh S, El-Zimaity H M, et al. (2006), "Sequential therapy using high-dose esomeprazole-amoxicillin followed by gatifloxacin for *Helicobacter pylori* infection". *Aliment Pharmacol Ther*, 24(5), 845-850.
92. Graham D Y, Lu H and Yamaoka Y (2007), "A report card to grade *Helicobacter pylori* therapy". *Helicobacter*, 12(4), 275-278.
93. Guruge J L, Falk P G, Lorenz R G, et al. (1998), "Epithelial attachment alters the outcome of *Helicobacter pylori* infection". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(7), 3925-3930.

94. Haley K Pand Gaddy J A (2015), "*Helicobacter pylori*: Genomic Insight into the Host-Pathogen Interaction". *Int J Genomics*, 2015, 386905.
95. Ho S L, Tan E L, Sam C K, et al. (2010), "Clarithromycin resistance and point mutations in the 23S rRNA gene in *Helicobacter pylori* isolates from Malaysia". *J Dig Dis*, 11(2), 101-105.
96. Hoang, T. T., Bengtsson, C., Phung, D. C., Sorberg, M. and Granstrom, M. (2005), "Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in urban and rural Vietnam". *Clin Diagn Lab Immunol*, 12(1), 81-85.
97. Hooi J K Y, Lai W Y, Ng W K, et al. (2017), "Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-analysis". *Gastroenterology*.
98. Hsu P I, Lai K H, Tseng H H, et al. (2001), "Eradication of *Helicobacter pylori* prevents ulcer development in patients with ulcer-like functional dyspepsia". *Aliment Pharmacol Ther*, 15(2), 195-201.
99. Hsu P I and Peng N J (2013), "*H. pylori* Eradication Therapy". *Gastroenterol Res Pract*, 2013, 935635. DOI 10.1155/2013/935635
100. Hsu P I, Wu D C, Chen W C, et al. (2014), "Randomized controlled trial comparing 7-day triple, 10-day sequential, and 7-day concomitant therapies for *Helicobacter pylori* infection". *Antimicrob Agents Chemother*, 58(10), 5936-5942.
101. Hsu P I, Wu D C, Wu J Y, et al. (2011), "Modified sequential *Helicobacter pylori* therapy: proton pump inhibitor and amoxicillin for 14 days with clarithromycin and metronidazole added as a quadruple (hybrid) therapy for the final 7 days". *Helicobacter*, 16(2), 139-145.
102. Israel D A and Peek R M (2001), "pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation". *Aliment Pharmacol Ther*, 15(9), 1271-1290.

103. Itskoviz D, Boltin D, Leibovitzh H, et al. (2017), "Smoking increases the likelihood of *Helicobacter pylori* treatment failure". *Dig Liver Dis*, 49(7), 764-768.
104. Ji Z, Han F, Meng F, et al. (2016), "The Association of Age and Antibiotic Resistance of *Helicobacter pylori*: A Study in Jiaying City, Zhejiang Province, China". *Medicine(Baltimore)*, 95(8), e2831. DOI 0.1097/md.0000000000002831
105. Kale-Pradhan P B, Mihaescu A and Wilhelm S M (2015), "Fluoroquinolone Sequential Therapy for *Helicobacter pylori*: A Meta-analysis". *Pharmacotherapy*, 35(8), 719-730.
106. Kamada T, Haruma K, Komoto K, et al. (1999), "Effect of smoking and histological gastritis severity on the rate of *H. pylori* eradication with omeprazole, amoxicillin, and clarithromycin". *Helicobacter*, 4(3), 204-210.
107. Kekki M, Siurala M and Ihmaki T (1991), "Enrichment of combined antral and corpus atrophic gastritis ("combined AG") in sibs of gastric carcinoma patients". *Scand J Gastroenterol Suppl*, 186, 24-28.
108. Kekki M, Siurala M, Varis K, et al. (1987), "Classification principles and genetics of chronic gastritis". *Scand J Gastroenterol Suppl*, 141, 1-28.
109. Khulusi S, Mendall M A, Patel P, et al. (1995), "*Helicobacter pylori* infection density and gastric inflammation in duodenal ulcer and non-ulcer subjects". *Gut*, 37(3), 319-324.
110. Kimura A, Matsubasa T, Kinoshita H, et al. (1999), "*Helicobacter pylori* seropositivity in patients with severe neurologic impairment". *Brain Dev*, 21(2), 113-117.
111. Klesiewicz K, Nowak P, Karczewska E, et al. (2014), "PCR-RFLP detection of point mutations A2143G and A2142G in 23S rRNA gene conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori* strains". *Acta Biochim Pol*, 61(2), 311-315.

112. Kobayashi I, Murakami K, Kato M, et al. (2007), "Changing antimicrobial susceptibility epidemiology of *Helicobacter pylori* strains in Japan between 2002 and 2005". *J Clin Microbiol*, 45(12), 4006-4010.
113. Konno M, Fujii N, Yokota S, et al. (2005), "Five-year follow-up study of mother-to-child transmission of *Helicobacter pylori* infection detected by a random amplified polymorphic DNA fingerprinting method". *J Clin Microbiol*, 43(5), 2246-2250.
114. Kuo C H, Lu C Y, Shih H Y, et al. (2014), "CYP2C19 polymorphism influences *Helicobacter pylori* eradication". *World J Gastroenterol*, 20(43), 16029-16036.
115. Kusters J G, Van Vliet A Hand Kuipers E J (2006), "Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection". *Clin Microbiol Rev*, 19(3), 449-490.
116. Lee H, Hong S N, Min B H, et al. (2015), "Comparison of efficacy and safety of levofloxacin-containing versus standard sequential therapy in eradication of *Helicobacter pylori* infection in Korea". *Dig Liver Dis*, 47, 114-118.
117. Lehours Pand Yilmaz O (2007), "Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection". *Helicobacter*, 12 Suppl 1, 1-3.
118. Leung W K, Siu K L, Kwok C K, et al. (1999), "Isolation of *Helicobacter pylori* from vomitus in children and its implication in gastro-oral transmission". *Am J Gastroenterol*, 94(10), 2881-2884.
119. Leunk R D, Johnson P T, David B C, et al. (1988), "Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*". *J Med Microbiol*, 26(2), 93-99.
120. Li B Z, Threapleton D E, Wang J Y, et al. (2015), "Comparative effectiveness and tolerance of treatments for *Helicobacter pylori*: systematic review and network meta-analysis". *BMJ*, 351, h4052. DOI 10.1136/bmj.h4052

121. Li C, Ha T, Ferguson D A, Jr., et al. (1996), "A newly developed PCR assay of *H. pylori* in gastric biopsy, saliva, and feces. Evidence of high prevalence of *H. pylori* in saliva supports oral transmission". *Dig Dis Sci*, 41(11), 2142-2149.
122. Li Y, Rimbara E, Thirumurthi S, et al. (2012), "Detection of clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* following noncryogenic storage of rapid urease tests for 30 days". *J Dig Dis*, 13(1), 54-59.
123. Li Z, Zou D, Ma X, et al. (2010), "Epidemiology of peptic ulcer disease: endoscopic results of the systematic investigation of gastrointestinal disease in China". *Am J Gastroenterol*, 105(12), 2570-2577.
124. Lim P W, Goh K Land Wong B C (2005), "CYP2C19 genotype and the PPIs--focus on rabeprazole". *J Gastroenterol Hepatol*, 20 Suppl, S22-28.
125. Lim S H, Kwon J W, Kim N, et al. (2013), "Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in Korea: Nationwide multicenter study over 13 years". *BMC Gastroenterol*, 13, 104.
126. Lin S K, Lambert J R, Schembri M A, et al. (1998), "The prevalence of *Helicobacter pylori* in practising dental staff and dental students". *Aust Dent J*, 43(1), 35-39.
127. Liou J M, Bair M J, Chen C C, et al. (2016), "Levofloxacin Sequential Therapy vs Levofloxacin Triple Therapy in the Second-Line Treatment of *Helicobacter pylori*: A Randomized Trial". *Am J Gastroenterol*, 111(3), 381-387.
128. Liou J M, Chen C C, Chen M J, et al. (2013), "Sequential versus triple therapy for the first-line treatment of *Helicobacter pylori*: a multicentre, open-label, randomised trial". *Lancet*, 381(9862), 205-213.
129. Liou J M, Chen C C, Chen M J, et al. (2011), "Empirical modified sequential therapy containing levofloxacin and high-dose esomeprazole in

- second-line therapy for *Helicobacter pylori* infection: a multicentre clinical trial". *J Antimicrob Chemother*, 66(8), 1847-1852.
130. Long T, Dung T T, Truong B X, et al. (2010), "*Helicobacter pylori* infection, peptic disease and gastric cancer in Viet Nam". *Vietnamese Journal of Gastroenterology*, V(20), 1317-1334.
 131. Lozniewski A, Haristoy X, Rasko D A, et al. (2003), "Influence of Lewis antigen expression by *Helicobacter pylori* on bacterial internalization by gastric epithelial cells". *Infect Immun*, 71(5), 2902-2906.
 132. Maarros H I, Rago T, Sipponen P, et al. (1991), "*Helicobacter pylori* and gastritis in children with abdominal complaints". *Scand J Gastroenterol Suppl*, 186, 95-99.
 133. Macarthur M, Hold G Land El-Omar E M (2004), "Inflammation and Cancer II. Role of chronic inflammation and cytokine gene polymorphisms in the pathogenesis of gastrointestinal malignancy". *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 286(4), G515-520.
 134. Maeda S, Ogura K, Yoshida H, et al. (1998), "Major virulence factors, VacA and CagA, are commonly positive in *Helicobacter pylori* isolates in Japan". *Gut*, 42(3), 338-343.
 135. Maeda S, Yoshida H, Matsunaga H, et al. (2000), "Detection of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains by a preferential homoduplex formation assay". *J Clin Microbiol*, 38(1), 210-214.
 136. Mahachai V, Sirimontaporn N, Tumwasorn S, et al. (2011), "Sequential therapy in clarithromycin-sensitive and -resistant *Helicobacter pylori* based on polymerase chain reaction molecular test". *J Gastroenterol Hepatol*, 26(5), 825-828.
 137. Malaty H Mand Graham D Y (1994), "Importance of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori* infection". *Gut*, 35(6), 742-745.

138. Malaty H M, Graham D Y, Isaksson I, et al. (1998), "Co-twin study of the effect of environment and dietary elements on acquisition of *Helicobacter pylori* infection". *Am J Epidemiol*, 148(8), 793-797.
139. Malaty H M, Kim J G, Kim S D, et al. (1996), "Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Korean children: inverse relation to socioeconomic status despite a uniformly high prevalence in adults". *Am J Epidemiol*, 143(3), 257-262.
140. Malaty H M, Kumagai T, Tanaka E, et al. (2000), "Evidence from a nine-year birth cohort study in Japan of transmission pathways of *Helicobacter pylori* infection". *J Clin Microbiol*, 38(5), 1971-1973.
141. Maleknejad S, Mojtahedi A, Safaei-Asl A, et al. (2015), "Primary Antibiotic Resistance to *Helicobacter pylori* Strains Isolated From Children in Northern Iran: A Single Center Study". *Iran J Pediatr*, 25(6), e2661. DOI 10.5812/ijp.2661
142. Malfertheiner P, et al. (2016), "Guidelines Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence Consensus Report". *Gut* doi:10.1136/gutjnl-2016-312288.
143. Malfertheiner P, Megraud F, O'morain C, et al. (2007), "Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report". *Gut*, 56(6), 772-781.
144. Malfertheiner P, Megraud F, O'morain C A, et al. (2012), "Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report". *Gut*, 61(5), 646-664.
145. Malfertheiner P, Megraud F, O'morain C A, et al. (2017), "Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report". *Gut*, 66 (1), 6-30
146. Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C., Bazzoli, F., El-Omar, E., Graham, D., et al. (2007), "Current concepts in the management of

Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report". *Gut*, 56(6), 772-781.

147. Manes Gand Balzano A (2004), "Tinidazole: from protozoa to *Helicobacter pylori*--the past, present and future of a nitroimidazole with peculiarities". *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2(5), 695-705.
148. Manfredi M, Gismondi P, Maffini V, et al. (2015), "Primary Antimicrobial Susceptibility Changes in Children with *Helicobacter pylori* Infection over 13 Years in Northern Italy". *Gastroenterol Res Pract*, 2015, 717349. DOI 10.1155/2015/717349
149. Marnila P, Rokka S, Rehnberg-Laiho L, et al. (2003), "Prevention and suppression of *Helicobacter felis* infection in mice using colostral preparation with specific antibodies". *Helicobacter*, 8(3), 192-201.
150. Marshall B J and Warren J R (1984), "Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration". *Lancet*, 1(8390), 1311-1315.
151. McCallion W A, Murray L J, Bailie A G, et al. (1996), "*Helicobacter pylori* infection in children: relation with current household living conditions". *Gut*, 39(1), 18-21.
152. Megraud F (2004), "H *pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing". *Gut*, 53(9), 1374-1384.
153. Megraud F, Coenen S, Versporten A, et al. (2013), "*Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption". *Gut*, 62(1), 34-42.
154. Menard A, Santos A, Megraud F, et al. (2002), "PCR-restriction fragment length polymorphism can also detect point mutation A2142C in the 23S rRNA gene, associated with *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin". *Antimicrob Agents Chemother*, 46(4), 1156-1157.

155. Miftahussurur Mand Yamaoka Y (2015), "Appropriate first-line regimens to combat *Helicobacter pylori* antibiotic resistance: an Asian perspective". *Molecules*, 20(4), 6068-6092.
156. Misiewicz J J (1991), "The Sydney System: a new classification of gastritis. Introduction". *J Gastroenterol Hepatol*, 6(3), 207-208.
157. Mitchell Hand Katelaris P (2016), "Epidemiology, clinical impacts and current clinical management of *Helicobacter pylori* infection". *Med J Aust*, 204(10), 376-380.
158. Molina-Infante J, Perez-Gallardo B, Fernandez-Bermejo M, et al. (2010), "Clinical trial: clarithromycin vs. levofloxacin in first-line triple and sequential regimens for *Helicobacter pylori* eradication". *Aliment Pharmacol Ther*, 31(10), 1077-1084.
159. Moshkowitz, M., Konikoff, F. M., Peled, Y., Santo, M., Hallak, A., Bujanover, Y., et al. (1995), "High *Helicobacter pylori* numbers are associated with low eradication rate after triple therapy". *Gut*, 36(6), 845-847.
160. Moujaber T, Macintyre C R, Backhouse J, et al. (2008), "The seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in Australia". *Int J Infect Dis*, 12(5), 500-504.
161. Muhsen K, Athamna A, Bialik A, et al. (2010), "Presence of *Helicobacter pylori* in a sibling is associated with a long-term increased risk of *H. pylori* infection in Israeli Arab children". *Helicobacter*, 15(2), 108-113.
162. Muhsen K, Barak M, Henig C, et al. (2010), "Is the association between *Helicobacter pylori* infection and anemia age dependent?". *Helicobacter*, 15(5), 467-472.
163. Munoz-Gomez P, Jordan-Castro J A, Abanades-Tercero M, et al. (2017), "Macrolide use in the previous years is associated with failure to eradicate *Helicobacter pylori* with clarithromycin-containing regimens". *Helicobacter* DOI: 10.1111/hel.12452

164. Namavar F, Roosendaal R, Kuipers E J, et al. (1995), "Presence of *Helicobacter pylori* in the oral cavity, oesophagus, stomach and faeces of patients with gastritis". *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 14(3), 234-237
165. Naumann, M., Wessler, S., Bartsch, C., Wieland, B., Covacci, A., Haas, R., et al. (1999), "Activation of activator protein 1 and stress response kinases in epithelial cells colonized by *Helicobacter pylori* encoding the cag pathogenicity island". *J Biol Chem*, 274(44), 31655-31662
166. Nguyen T L, Uchida T, Tsukamoto Y, et al. (2010), "*Helicobacter pylori* infection and gastroduodenal diseases in Vietnam: a cross-sectional, hospital-based study". *BMC Gastroenterol*, 10, 114.
167. Nishizawa Tand Suzuki H (2014), "Mechanisms of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance and molecular testing". *Front Mol Biosci*, 1, 19.
168. Noto J M, Gaddy J A, Lee J Y, et al. (2013), "Iron deficiency accelerates *Helicobacter pylori*-induced carcinogenesis in rodents and humans". *J Clin Invest*, 123(1), 479-492.
169. Occhialini A, Urdaci M, Doucet-Populaire F, et al. (1997), "Macrolide resistance in *Helicobacter pylori*: rapid detection of point mutations and assays of macrolide binding to ribosomes". *Antimicrob Agents Chemother*, 41(12), 2724-2728.
170. Odenbreit S, Till M, Hofreuter D, et al. (1999), "Genetic and functional characterization of the alpAB gene locus essential for the adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric tissue". *Mol Microbiol*, 31(5), 1537-1548.
171. Papastergiou V, Georgopoulos S Dand Karatapanis S (2014), "Current and Future Insights in *H. pylori* Eradication Regimens: The Need of Tailoring Therapy". *Curr Pharm Des*, 20(28), 4521-4532.
172. Parente F., Lazzaroni M., Sangaletti O., et al. (1985), "Cigarette smoking, gastric acid secretion, and serum pepsinogen I concentrations in duodenal ulcer patients. ". *Gut*, 26(12), 1327-1332.

173. Parsonnet J, Blaser M J, Perez-Perez G I, et al. (1992), "Symptoms and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of epidemiologists". *Gastroenterology*, 102(1), 41-46.
174. Perez-Perez G I, Rothenbacher D and Brenner H (2004), "Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection". *Helicobacter*, 9 Suppl 1, 1-6.
175. Perez Aldana L, Kato M, Nakagawa S, et al. (2002), "The relationship between consumption of antimicrobial agents and the prevalence of primary *Helicobacter pylori* resistance". *Helicobacter*, 7(5), 306-309.
176. Phan, T.N., Tran, V. H., Tran, T.T. N., et al. (2015), "Antimicrobial resistance in *Helicobacter pylori*: current situation and management strategy in Vietnam". *J Infect Dev Ctries* 9(6), 609-613.
177. Phan T N, Santona A, Tran V H, et al. (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.
178. Polat Z, Kadayifci A, Kantarcioglu M, et al. (2012), "Comparison of levofloxacin-containing sequential and standard triple therapies for the eradication of *Helicobacter pylori*". *Eur J Intern Med*, 23(2), 165-168.
179. Porsch-Ozcurumez M, Doppl W, Hardt P D, et al. (2003), "Impact of migration on *Helicobacter pylori* seroprevalence in the offspring of Turkish immigrants in Germany". *Turk J Pediatr*, 45(3), 203-208.
180. Qian J, Ye F, Zhang J, et al. (2012), "Levofloxacin-containing triple and sequential therapy or standard sequential therapy as the first line treatment for *Helicobacter pylori* eradication in China". *Helicobacter*, 17(6), 478-485.
181. Quek C, Pham S T, Tran K T, et al. (2016), "Antimicrobial susceptibility and clarithromycin resistance patterns of *Helicobacter pylori* clinical isolates in Vietnam". *F1000Res*, 5, 671. DOI: 10.12688/f1000research.8239.1
182. Raghavan S, Fredriksson M, Svennerholm A M, et al. (2003), "Absence of CD4+CD25+ regulatory T cells is associated with a loss of regulation

- leading to increased pathology in *Helicobacter pylori*-infected mice". *Clin Exp Immunol*, 132(3), 393-400.
183. Rasmussen L T, Labio R W, Gatti L L, et al. (2010), "*Helicobacter pylori* detection in gastric biopsies, saliva and dental plaque of Brazilian dyspeptic patients". *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 105(3), 326-330.
 184. Raymond J, Buruoa C, Pietrini O, et al. (2007), "Clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* strains isolated from French children: prevalence of the different mutations and coexistence of clones harboring two different mutations in the same biopsy". *Helicobacter*, 12(2), 157-163.
 185. Richard J. Roberts M B, Timothy Bestor², Ashok S. Bhagwat³, and A. T (2003), "A nomenclature for restriction enzymes, DNA methyltransferases, homing endonucleases and their genes". *Nucleic Acids Research*, 2003, Vol. 31(7), 1805-1812. DOI: 10.1093/nar/gkg274
 186. Rinaldi V, Zullo A, Pugliano F, et al. (1997), "The management of failed dual or triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication". *Aliment Pharmacol Ther*, 11(5), 929-933.
 187. Rodriguez-Garcia, J. L. and Carmona-Sanchez, R. (2016), "Functional dyspepsia and dyspepsia associated with *Helicobacter pylori* infection: Do they have different clinical characteristics?". *Rev Gastroenterol Mex*, 81(3), 126-133.
 188. Romano M, Cuomo A, Gravina A G, et al. (2010), "Empirical levofloxacin-containing versus clarithromycin-containing sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a randomised trial". *Gut*, 59(11), 1465-1470.
 189. Romano M, Iovene M R, Russo M I, et al. (2008), "Failure of first-line eradication treatment significantly increases prevalence of antimicrobial-resistant *Helicobacter pylori* clinical isolates". *J Clin Pathol*, 61(10), 1112-1115.

190. Rotimi O, Cairns A, Gray S, et al. (2000), "Histological identification of *Helicobacter pylori*: comparison of staining methods". *J Clin Pathol*, 53(10), 756-759.
191. Roy A D, Deuri Sand Dutta U C (2016), "The diagnostic accuracy of rapid urease biopsy test compared to histopathology in implementing "test and treat" policy for *Helicobacter pylori*". *Int J Appl Basic Med Res*, 6(1), 18-22.
192. Rugge M, Pennelli G, Piloizzi E, et al. (2011), "Gastritis: the histology report". *Dig Liver Dis*, 43 Suppl 4, S373-384.
193. Saito Y, Serizawa H, Kato Y, et al. (2015), "First-line eradication for *Helicobacter pylori*-positive gastritis by esomeprazole-based triple therapy is influenced by CYP2C19 genotype". *World J Gastroenterol*, 21(48), 13548-13554.
194. Sanchez J E, Saenz N G, Rincon M R, et al. (2000), "Susceptibility of *Helicobacter pylori* to mupirocin, oxazolidinones, quinupristin/dalfopristin and new quinolones". *J Antimicrob Chemother*, 46(2), 283-285.
195. Sarker S A, Rahman M M, Mahalanabis D, et al. (1995), "Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in infants and family contacts in a poor Bangladesh community". *Dig Dis Sci*, 40(12), 2669-2672.
196. Schreiber S, Bucker R, Groll C, et al. (2005), "Rapid loss of motility of *Helicobacter pylori* in the gastric lumen in vivo". *Infect Immun*, 73(3), 1584-1589.
197. Seddik H, Ahid S, El Adiou T, et al. (2013), "Sequential therapy versus standard triple-drug therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a prospective randomized study". *Eur J Clin Pharmacol*, 69(9), 1709-1715.
198. Selgrad M, Meissle J, Bornschein J, et al. (2013), "Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* in central Germany and its

- relationship with the number of eradication therapies". *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 25(11), 1257-1260.
199. Seo J H, Jun J S, Yeom J S, et al. (2013), "Changing pattern of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in children during 20 years in Jinju, South Korea". *Pediatr Int*, 55(3), 332-336.
 200. Shah D K, Jain S S, Mohite A, et al. (2015), "Effect of *H. pylori* density by histopathology on its complications and eradication therapy". *Trop Gastroenterol*, 36(2), 101-106.
 201. Shames B, Krajden S, Fuksa M, et al. (1989), "Evidence for the occurrence of the same strain of *Campylobacter pylori* in the stomach and dental plaque". *J Clin Microbiol*, 27(12), 2849-2850.
 202. Shin W Gand V à Cs (2016), "Eradication Rates of *Helicobacter pylori* in Korea Over the Past 10 years and Correlation of the Amount of Antibiotics Use: Nationwide Survey". *Helicobacter*, Volume 21, Issue 4, August 2016, Pages: 266–278(4), 266-278.
 203. Shiota S, Murakawi K, Suzuki R, et al. (2013), "*Helicobacter pylori* infection in Japan". *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 7(1), 35-40.
 204. Sipponen Pand Maaros H I (2015), "Chronic gastritis". *Scand J Gastroenterol*, 50(6), 657-667.
 205. Siurala M, Sipponen Pand Kekki M (1985), "Chronic gastritis: dynamic and clinical aspects". *Scand J Gastroenterol Suppl*, 109, 69-76.
 206. Smoot D T, Mobley H L, Chippendale G R, et al. (1990), "*Helicobacter pylori* urease activity is toxic to human gastric epithelial cells". *Infect Immun*, 58(6), 1992-1994.
 207. Smythies L E, Waites K B, Lindsey J R, et al. (2000), "*Helicobacter pylori*-induced mucosal inflammation is Th1 mediated and exacerbated in IL-4, but not IFN-gamma, gene-deficient mice". *J Immunol*, 165(2), 1022-1029.

208. Sonnenberg A, Lash R Hand Genta R M (2010), "A national study of *Helicobacter pylori* infection in gastric biopsy specimens". *Gastroenterology*, 139(6), 1894-1901
209. Spohn Gand Scarlato V. (2001). *Chapter 21 Motility, Chemotaxis, and Flagella*. ASM Press, Washington (DC). In : *Helicobacter pylori* physiology and genetics. Mobley HLT, Mendz GL, Hazell SL (ed)
210. Stein, M., Rappuoli, R. and Covacci, A. (2000), "Tyrosine phosphorylation of the *Helicobacter pylori* CagA antigen after cag-driven host cell translocation". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(3), 1263-1268.
211. Stone G G, Shortridge D, Flamm R K, et al. (1996), "Identification of a 23S rRNA gene mutation in clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori*". *Helicobacter*, 1(4), 227-228.
212. Stone G G, Shortridge D, Versalovic J, et al. (1997), "A PCR-oligonucleotide ligation assay to determine the prevalence of 23S rRNA gene mutations in clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori*". *Antimicrob Agents Chemother*, 41(3), 712-714.
213. Stromberg E, Lundgren A, Edebo A, et al. (2003), "Increased frequency of activated T-cells in the *Helicobacter pylori*-infected antrum and duodenum". *FEMS Immunol Med Microbiol*, 36(3), 159-168.
214. Su P, Li Y, Li H, et al. (2013), "Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated in the Southeast Coastal Region of China". *Helicobacter*, 18(4), 274-279.
215. Sugano K, Tack J, Kuipers E J, et al. (2015), "Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis". *Gut*, 64(9), 1353-1367.
216. Suzuki R B, Lopes R A, Da Camara Lopes G A, et al. (2013), "Low *Helicobacter pylori* primary resistance to clarithromycin in gastric biopsy specimens from dyspeptic patients of a city in the interior of Sao Paulo, Brazil". *BMC Gastroenterol*, 13, 164.

217. Suzuki, T., Matsuo, K., Ito, H., Sawaki, A., Hirose, K., Wakai, K., et al. (2006), "Smoking increases the treatment failure for *Helicobacter pylori* eradication". *Am J Med*, 119(3), 217-224.
218. Takagi A, Yanagi H, Ozawa H, et al. (2016), "Effects of *Lactobacillus gasseri* OLL2716 on *Helicobacter pylori*-Associated Dyspepsia: A Multicenter Randomized Double-Blind Controlled Trial". *Gastroenterol Res Pract*, 2016, 7490452. DOI: 10.1155/2016/7490452
219. Take S, Mizuno M, Ishiki K, et al. (2011), "The long-term risk of gastric cancer after the successful eradication of *Helicobacter pylori*". *J Gastroenterol*, 46(3), 318-324.
220. Tanaka M, Isogai E, Isogai H, et al. (2002), "Synergic effect of quinolone antibacterial agents and proton pump inhibitors on *Helicobacter pylori*". *J Antimicrob Chemother*, 49(6), 1039-1040.
221. Taylor D E, Ge Z, Purych D, et al. (1997), "Cloning and sequence analysis of two copies of a 23S rRNA gene from *Helicobacter pylori* and association of clarithromycin resistance with 23S rRNA mutations". *Antimicrob Agents Chemother*, 41(12), 2621-2628.
222. Tepes B, O'connor A, Gisbert J P, et al. (2012), "Treatment of *Helicobacter pylori* infection 2012". *Helicobacter*, 17 Suppl 1, 36-42.
223. The Eurogast Study Group (1993), "Epidemiology of, and risk factors for, *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations.". *Gut*, 34(12), 1672-1676.
224. Thomas J E, Bunn J E, Kleanthous H, et al. (2004), "Specific immunoglobulin A antibodies in maternal milk and delayed *Helicobacter pylori* colonization in Gambian infants". *Clin Infect Dis*, 39(8), 1155-1160.
225. Thomas J E, Gibson G R, Darboe M K, et al. (1992), "Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces". *Lancet*, 340(8829), 1194-1195.

226. Tongtawee, T., Kaewpitoon, S., Kaewpitoon, N., et al. (2016), "Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection". *Asian Pac J Cancer Prev*, 17(4), 1631-1635.
227. Trebesius K, Panthel K, Strobel S, et al. (2000), "Rapid and specific detection of *Helicobacter pylori* macrolide resistance in gastric tissue by fluorescent in situ hybridisation". *Gut*, 46(5), 608-614.
228. Trindade L M, Menezes L B, De Souza Neta A M, et al. (2017), "Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in Samples of Gastric Biopsies". *Gastroenterology Res*, 10(1), 33-41.
229. Ubhayawardana N L, Weerasekera M M, Weerasekera D, et al. (2015), "Detection of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains in a dyspeptic patient population in Sri Lanka by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism". *Indian J Med Microbiol*, 33(3), 374-377.
230. Uchida T, Miftahussurur M, Pittayanon R, et al. (2015), "*Helicobacter pylori* Infection in Thailand: A Nationwide Study of the CagA Phenotype". *PLoS One*, 10(9), e0136775. DOI: 10.1371/journal.pone.0136775
231. Vaira D, Zullo A, Hassan C, et al. (2009), "Sequential Therapy for *Helicobacter pylori* Eradication: The Time is Now!". *Therap Adv Gastroenterol*, 2(6), 317-322.
232. Vakil Nand Megraud F (2007), "Eradication therapy for *Helicobacter pylori*". *Gastroenterology*, 133(3), 985-1001.
233. Vale F F, Rosa M Rand Oleastro M (Eds.). (2011). *Helicobacter pylori resistance to antibiotics* (Vol. 2). Formatex Research Center, Badajoz, Spain. 745-752

234. Valle J, Kekki M, Sipponen P, et al. (1996), "Long-term course and consequences of *Helicobacter pylori* gastritis. Results of a 32-year follow-up study". *Scand J Gastroenterol*, 31(6), 546-550.
235. Van der Ende, A., van Doorn, L. J., Rooijackers, S., Feller, M., Tytgat, G. N. and Dankert, J. (2001), "Clarithromycin-susceptible and -resistant *Helicobacter pylori* isolates with identical randomly amplified polymorphic DNA-PCR genotypes cultured from single gastric biopsy specimens prior to antibiotic therapy". *J Clin Microbiol*, 39(7), 2648-2651.
236. Van Doorn L J, Figueiredo C, Sanna R, et al. (1998), "Expanding allelic diversity of *Helicobacter pylori* vacA". *J Clin Microbiol*, 36(9), 2597-2603.
237. Van Doorn, L. J., Figueiredo, C., Sanna, R., Pena, S., Midolo, P., Ng, E. K., et al. (1998), "Expanding allelic diversity of *Helicobacter pylori* vacA". *J Clin Microbiol*, 36(9), 2597-2603.
238. Van Zwet A A, De Boer W A, Schneeberger P M, et al. (1996), "Prevalence of primary *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole and clarithromycin in The Netherlands". *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 15(11), 861-864.
239. Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, et al. (1996), "Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*". *Antimicrob Agents Chemother*, 40(2), 477-480.
240. Versalovic, J., Osato, M. S., Spakovsky, K., et al. (1997), "Point mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* associated with different levels of clarithromycin resistance". *J Antimicrob Chemother*, 40(2), 283-286.
241. Vester Band Douthwaite S (2001), "Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA". *Antimicrob Agents Chemother*, 45(1), 1-12.
242. Vianna J S, Ramis I B, Ramos D F, et al. (2016), "Drug resistance in *Helicobacter pylori*". *Arq Gastroenterol*, 53(4), 215-223.

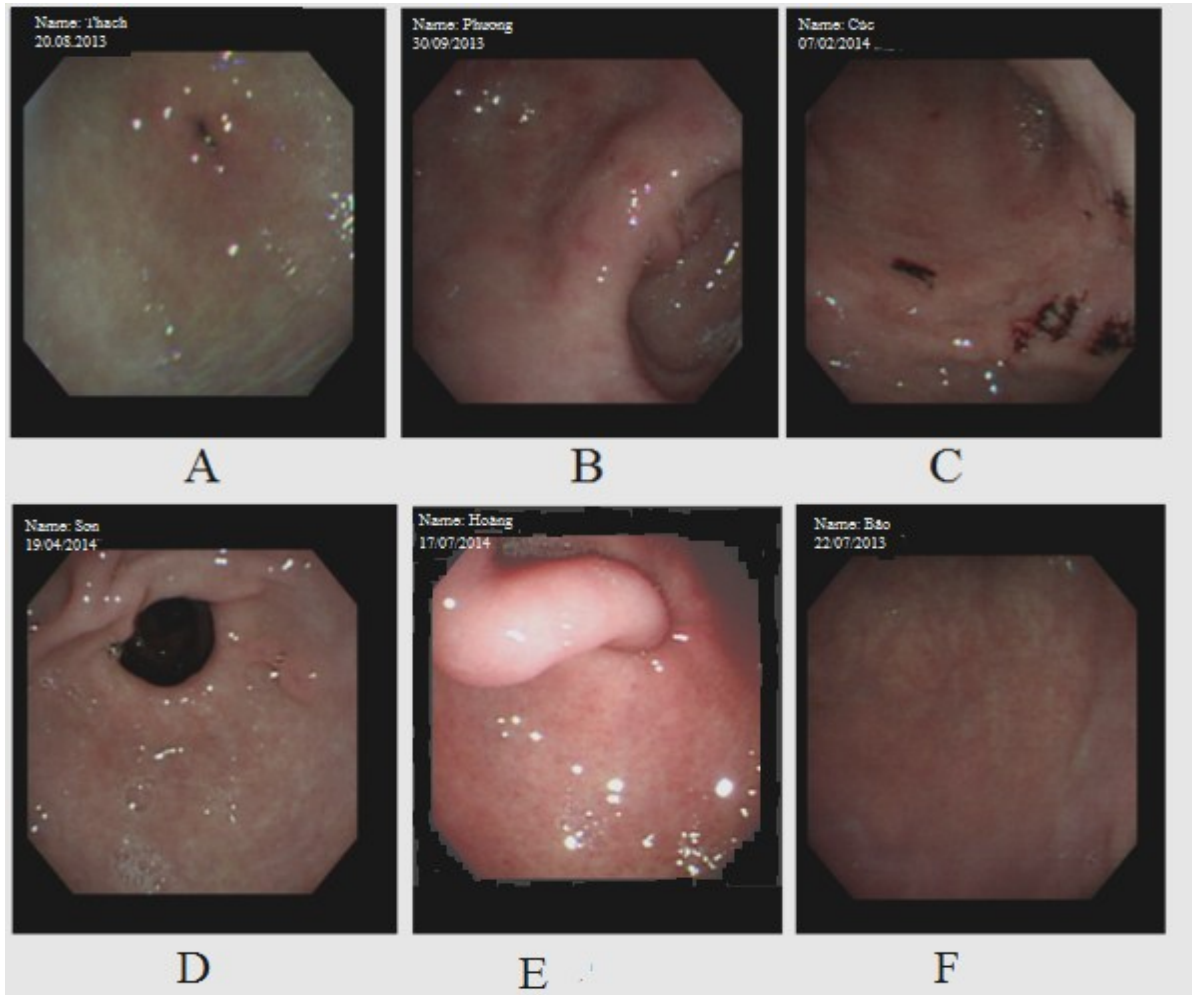
243. Vilaichone, R. K., Quach, D. T., Yamaoka, Y., Sugano, K. and Mahachai, V. (2018), "Prevalence and Pattern of Antibiotic Resistant Strains of *Helicobacter Pylori* Infection in ASEAN". *Asian Pac J Cancer Prev*, 19(5), 1411-1413.
244. Wada A, Yamasaki E and Hirayama T (2004), "*Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, VacA, is responsible for gastric ulceration". *J Biochem*, 136(6), 741-746.
245. Wang H J, Kuo C H, Yeh A A, et al. (1998), "Vacuolating toxin production in clinical isolates of *Helicobacter pylori* with different vacA genotypes". *J Infect Dis*, 178(1), 207-212.
246. Wang Y K, Kuo F C, Liu C J, et al. (2015), "Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: Current options and developments". *World J Gastroenterol*, 21(40), 11221-11235.
247. Wheeldon, T. U., Granstrom, M., Hoang, T. T., et al. (2004), "The importance of the level of metronidazole resistance for the success of *Helicobacter pylori* eradication". *Aliment Pharmacol Ther*, 19(12), 1315-1321.
248. Wood B A and Monro A M (1975), "Pharmacokinetics of tinidazole and metronidazole in women after single large oral doses". *Br J Vener Dis*, 51(1), 51-53.
249. Wu, C. J., Hsu, P. I., Lo, G. H., et al. (2004), "Comparison of cetraxate-based and pantoprazole-based triple therapies in the treatment of *Helicobacter pylori* infection". *J Chin Med Assoc*, 67(4), 161-167.
250. Wu, J. Y., Wang, S. S., Lee, Y. C., et al. (2014), "Detection of genotypic clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* by string tests". *World J Gastroenterol*, 20(12), 3343-3349.

251. Wu, J. Y., Liou, J. M. and Graham, D. Y. (2014), "Evidence-based recommendations for successful *Helicobacter pylori* treatment". *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 8(1), 21-28.
252. Wu, W., Yang, Y. and Sun, G. (2012), "Recent insights into antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* eradication". *Gastroenterol Res Pract*, 2012, 723183.
253. Yakut, M., Cinar, K., Seven, G., et al. (2010), "Sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication". *Turk J Gastroenterol*, 21(3), 206-211
254. Yamade, M., Sugimoto, M., Uotani, T., et al. (2011), "Resistance of *Helicobacter pylori* to quinolones and clarithromycin assessed by genetic testing in Japan". *J Gastroenterol Hepatol*, 26(9), 1457-1461
255. Zagari, R. M., Romano, M., Ojetti, V., et al. (2015), "Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection in Italy: The III Working Group Consensus Report 2015". *Dig Liver Dis*
256. Zhang, Y. X., Zhou, L. Y., Song, Z. Q., et al. (2015), "Primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with dyspeptic symptoms in Beijing: a prospective serial study". *World J Gastroenterol*, 21(9), 2786-2792.
257. Zullo, A., Rinaldi, V., Winn, S., et al. (2000), "A new highly effective short-term therapy schedule for *Helicobacter pylori* eradication". *Aliment Pharmacol Ther*, 14(6), 715-718.
258. Zullo, A., Vaira, D., Vakil, N., et al. (2003), "High eradication rates of *Helicobacter pylori* with a new sequential treatment". *Aliment Pharmacol Ther*, 17(5), 719-726.
259. Zullo, A., De Francesco, V., Hassan, C., et al. (2007), "The sequential therapy regimen for *Helicobacter pylori* eradication: a pooled-data analysis". *Gut*, 56(10), 1353-1357.

260. Zullo, A., Hassan, C., D'Ercole, C., et al. (2010), "Clarithromycin or levofloxacin in the sequential therapy for *H. pylori* eradication?". *Aliment Pharmacol Ther*, 31(11), 1248-1249; author reply 1249-1250.
261. Zullo, A., Hassan, C., Ridola, L., et al. (2013), "Standard triple and sequential therapies for *Helicobacter pylori* eradication: an update". *Eur J Intern Med*, 24(1), 16-19.
262. Zullo, A., De Francesco, V., Hassan, C., et al. (2013), "Modified sequential therapy regimens for *Helicobacter pylori* eradication: a systematic review". *Dig Liver Dis*, 45(1), 18-22.
263. Zullo, A., Ridola, L., Efrati, C., et al. (2014), "First- and second-line eradication with modified sequential therapy and modified levofloxacin-amoxicillin-based triple therapy". *Ann Gastroenterol*, 27(4), 357-361.

PHỤ LỤC
MỘT SỐ HÌNH ẢNH ĐIỂN HÌNH

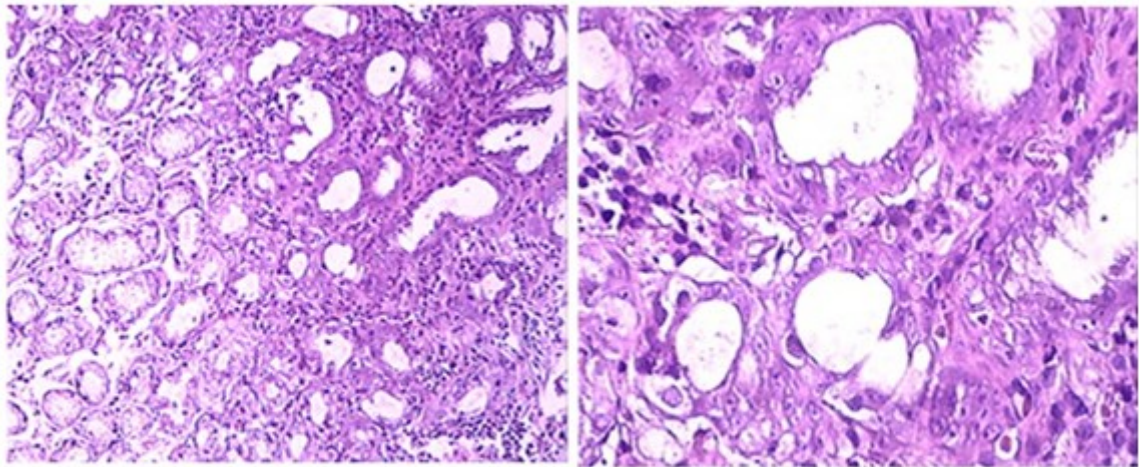
Một số hình ảnh nội soi



Hình 1. Hình ảnh các dạng viêm dạ dày

A: *Phù nề xung huyết* (BN Tống Ngọc T., mã số 16) B: *Trợt phẳng* (BN Nguyễn Duy P., mã số 32) C: *Trợt xuất huyết* (BN Nguyễn Thị Hồng C., mã số 43) D: *Trợt lồi* (BN Phan Đình S., mã số 52) E: *Phì đại nếp niêm mạc* (BN Nguyễn Văn H, mã số 61), F: *Teo niêm mạc*, (BN Võ Thị Quốc B, mã số 6)

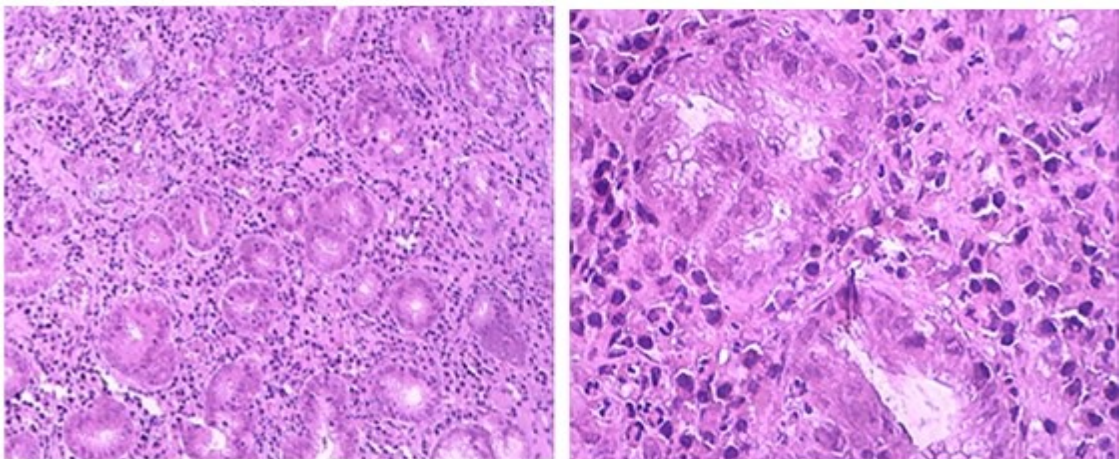
Một số hình ảnh mô bệnh học



nhuộm H&E x 100

nhuộm H&E x 400

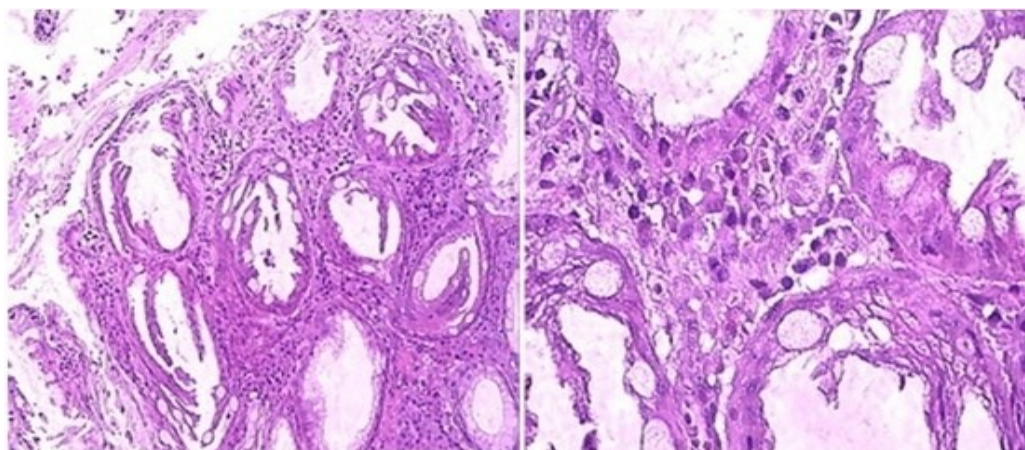
Hình 2. Viêm nhẹ, hoạt động vừa, teo nhẹ
(Bệnh nhân Nguyễn Thị Kim C., mã số 72)



Nhuộm H&E x 100

Nhuộm H&E x 400

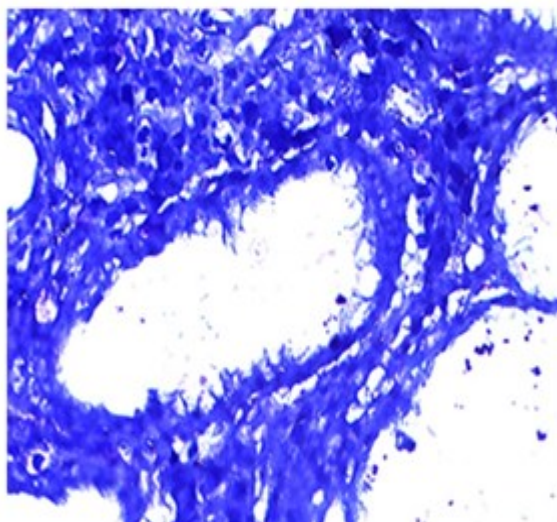
Hình 3. Viêm vừa, hoạt động mạnh, teo vừa
(Bệnh nhân Đỗ Thị Mai P., mã số 139)



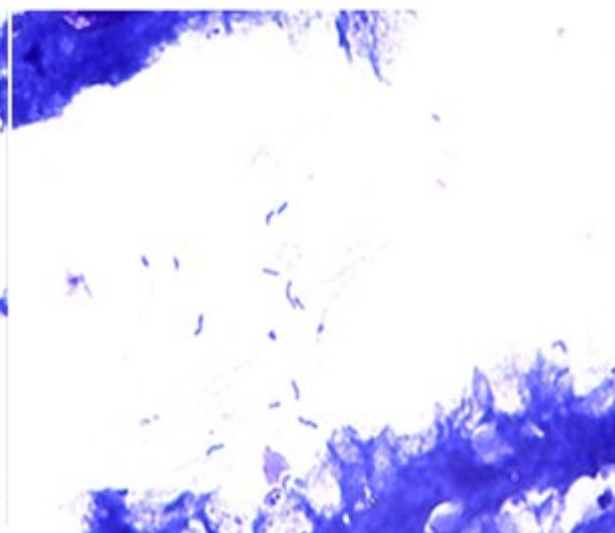
Nhuộm H&E x 100

Nhuộm H&E x 400

Hình 4. Viêm nặng, hoạt động vừa, teo nhẹ
(Bệnh nhân Lê Trọng Đ., mã số 55)

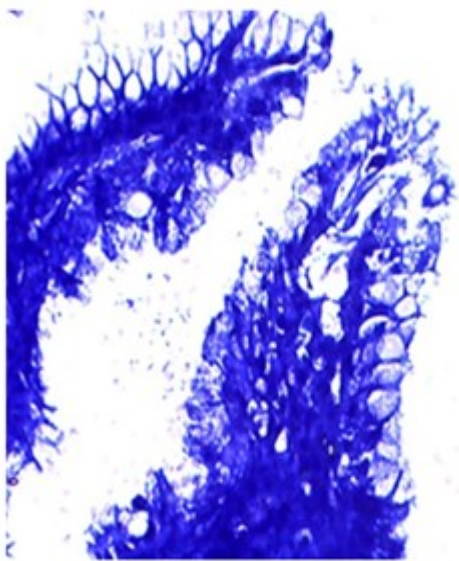


Nhuộm Giem sa X 400

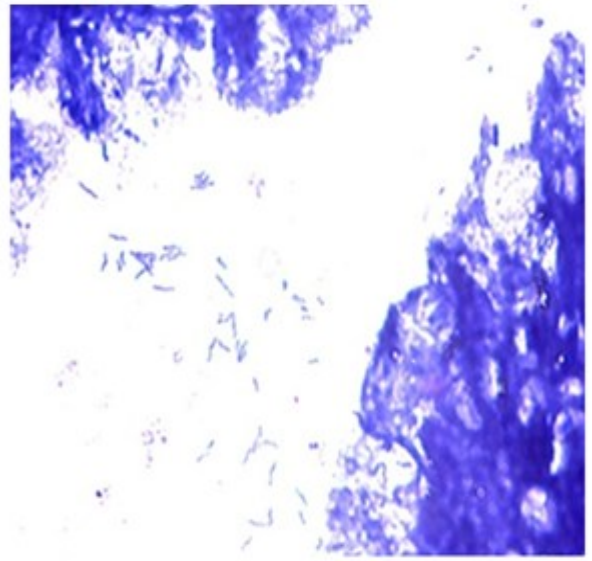


Nhuộm Giem sa X 1000

Hình 5. Nhiễm *H. pylori* 1 +
(Bệnh nhân Bùi Duy D, mã số 18)

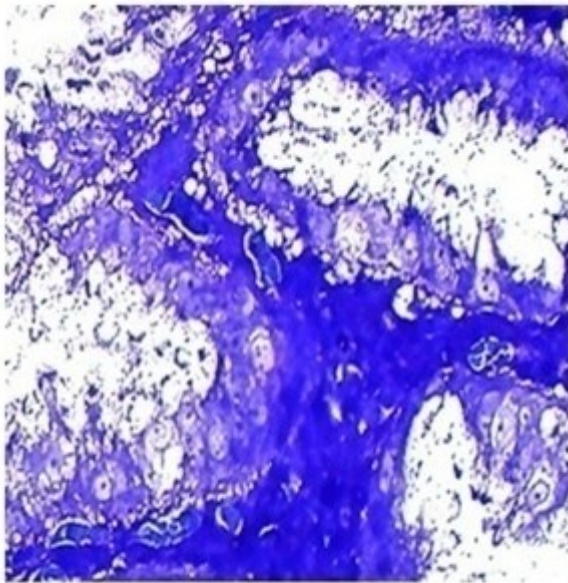


Nhuộm Giêm sa X 400

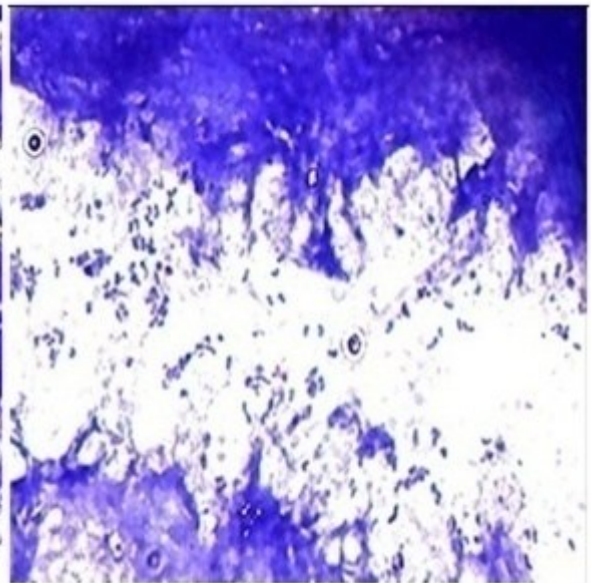


Nhuộm Giêm sa X 1000

Hình 6. Nhiễm *H. pylori* 2+
(Bệnh nhân Võ Quốc D, mã số 105)



Nhuộm Giêm sa x 400



Nhuộm Giêm sa x 1000

Hình 7. Nhiễm *H. pylori* 3+
(Bệnh nhân Đỗ Thanh V, mã số 190)