

**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 ĐỘ NÓI TIẾP  
CẢI TIẾN RA-RLT Ở BỆNH NHÂN VIÊM DẠ DÀY MẠN**

**Chuyên ngành: Nội khoa**  
**Mã số: 972 01 07**

**TÓM TẮT 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 ĐỘ NỐI TIẾP  
CẢI TIẾN RA-RLT Ở BỆNH NHÂN VIÊM DẠ DÀY MẠN**

**Chuyên ngành: Nội khoa  
Mã số: 972 01 07**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học  
PGS. TS. TRẦN VĂN HUY**

**HUẾ - NĂM 2019**

Công trình được hoàn thành tại:

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC  
ĐẠI HỌC HUẾ

Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. TRẦN VĂN HUY

Phản biện 1: .....

.....

Phản biện 2: .....

.....

Phản biện 3: .....

.....

Luận án sẽ được bảo vệ tại phiên họp mở của Hội đồng luận án  
tiến sĩ luận tại cấp Đại học Huế,

Họp tại: Số 3, đường Lê Lợi, Tp. Huế, tỉnh Thừa Thiên Huế

Vào lúc: ..... vào ngày... .. của tháng .....năm 2018.

Có thể tìm hiểu luận án tại: .....

.....

.....

.....

## ĐẶT VẤN ĐỀ

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) đã được xác nhận là nguyên nhân của bệnh loét dạ dày tá tràng và ung thư dạ dày. Do đó việc tiết trừ *H. pylori* là vô cùng quan trọng. Trở ngại quan trọng nhất trong tiết trừ *H. pylori* là đề kháng kháng sinh của vi khuẩn

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 tiết trừ *H. pylori*. Chẩn đoán sớm đề kháng kháng sinh có thể giảm nguy cơ thất bại trong điều trị. 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. 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. 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. 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. 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 kháng sinh lần đầu 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. Trong đó phác đồ nối tiếp khi mới ra đời tỏ ra có hiệu quả cao và được nghiên cứu nhiều. Tuy nhiên về sau nhận ra phác đồ nối tiếp cũng có một số điểm hạn chế. Người ta đưa ra những cải tiến của phác đồ nối tiếp. 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. 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. 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. 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.

Xuất phát từ nhu cầu khảo sát tình hình đề kháng clarithromycin ở Quảng Ngãi nhằm lựa chọn một phác đồ điều trị *H. pylori* thích hợp, 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.

### **Ý nghĩa khoa học**

Áp dụng một kỹ thuật mới là PCR-RFLP để xác định tỷ lệ đề kháng.

Áp dụng một phác đồ mới là phác đồ nối tiếp cải tiến RA-RLT như một lựa chọn có hiệu quả trong điều trị diệt trừ *H. pylori*.

### **Ý nghĩa thực tiễn**

Xác định tỷ lệ đề kháng clarithromycin làm cơ sở cho việc xây dựng phác đồ điều trị *H. pylori* tại Quảng Ngãi và cùng với các nghiên cứu khác xây dựng phác đồ cho miền Trung Việt Nam.

Trên cơ sở hiệu quả và tính an toàn của phác đồ nối tiếp RA-RLT, phác đồ này có thể được áp dụng cho điều trị bệnh nhân tại Quảng Ngãi nói riêng và khu vực miền Trung Việt Nam nói chung.

### **Những đóng góp mới của đề tài**

Xác định tỷ lệ đề kháng clarithromycin kiểu gen của *H. pylori* tại Quảng Ngãi là 66,5%. Đây là một tỷ lệ khá cao. Tỷ lệ này là cơ sở để khuyến cáo không nên sử dụng phác đồ 3 thuốc chuẩn làm phác đồ theo kinh nghiệm, đồng thời nên áp dụng phác đồ khác. Sống ở vùng thành thị và tiền sử đã điều trị diệt trừ *H. pylori* là 2 yếu tố gia tăng nguy cơ đề kháng clarithromycin

Phác đồ nối tiếp cải tiến RA-RLT 10 ngày có tỷ lệ diệt trừ *H. pylori* theo phân tích ITT và PP là 81,8% và 87,2%, tác dụng phụ ít và nhẹ. Đây là một phác đồ chấp nhận được tại Quảng Ngãi nói riêng và miền Trung Việt Nam nói chung. Hút thuốc lá ở nam giới và mức độ nhiễm *H. pylori* trên mô bệnh học là 2 yếu tố là giảm hiệu quả diệt trừ *H. Pylori*

## **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. Ở các nước phát triển, tỷ lệ nhiễm < 40%; Ở các nước đang phát triển, tỷ lệ nhiễm trung bình 80-90%. 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%.

#### *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. Một nghiên cứu khác cho thấy tỷ lệ mới mắc trung bình ở người lớn 2,4%/năm. Nghiên cứu của Muhsen và cs (2010) tỷ lệ mới mắc ở trẻ em hàng năm là 5%.

#### *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.

#### *1.1.1.4. Đường lây*

Đường lây truyền của vi khuẩn vẫn chưa rõ ràng. Những đường lây truyền có thể xảy ra gồm: Đường dạ dày- miệng, đường miệng -miệng, đường truyền phân-miệng

#### *1.1.1.5. Các yếu tố nguy cơ*

Các yếu tố nguy cơ nhiễm *H. pylori* gồm: Tầng lớp xã hội của cá nhân trong thời thơ ấu, điều kiện vệ sinh môi trường, mật độ dân số, trình độ học vấn.

### **1.1.2. Cơ chế gây bệnh của *H. pylori***

Hậu quả lâm sàng của nhiễm *H. pylori* là do tương tác lâu dài giữa vi khuẩn ký chủ và đặc điểm môi trường.

#### *1.1.2.1. Các yếu tố vi khuẩn*

Các yếu tố vi khuẩn bao gồm: Các tiêm mao, Các yếu tố độc lực (Protein CagA, Độc tố không bào VacA), Các chất kháng acid, các yếu tố bám dính và các protein màng ngoài

#### *1.1.2.2. Các yếu tố ký chủ*

Các yếu tố ký chủ bao gồm: Các kháng thể trong miễn dịch bảo vệ sự điều tiết miễn dịch, Các tế bào T điều hòa và các đặc tính di truyền.

#### *1.1.2.3. Các yếu tố môi trường*

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*.

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

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, tiếp theo là viêm teo, dị sản ruột, loạn sản ruột và cuối cùng là ung thư dạ dày. Quá trình này có thể kéo dài nhiều năm hay nhiều thập kỷ (được gọi là tiến trình Correa).

## **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***

† 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. Đề kháng clarithromycin, năm 2014, ở Bắc Âu < 10%, những vùng khác ở châu Âu > 15%. Tại Trung Quốc, khu vực Bắc Kinh, năm 2010 đề kháng 37,2%, khu vực ven biển Đông Nam năm 2013

21,5%. Tại Việt Nam, nghiên cứu tại 2 trung tâm lớn là bệnh viện Chợ Rẫy và Bệnh viện Bạch Mai (2013) đề kháng 33%. Nghiên cứu tại bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế (2013) đề kháng 42,9%.

#### *† 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. 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%. 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. Từ 1997-1998 đến 1999 - 2000, đề kháng ở Nhật Bản tăng lên gấp 2 lần. Tại Việt nam, năm 2004, một nghiên cứu được thực hiện tại Hà Nội tỷ lệ đề kháng clarithromycin 1%. Năm 2009 tại bệnh viện Buu Điện tỷ lệ đề kháng là 21,4%, năm 2012 là 28,8%.

### **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*

Việc phát hiện đề kháng clarithromycin trước khi bắt đầu điều trị sẽ giúp chọn lựa phác đồ thích hợp cho bệnh nhân. 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 gắn kết với vòng peptidyl transferase của domain V phân tử 23S rRNA, 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. 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 đột biến A2143G, A2142G và A2142C. Những đột biến này làm giảm ái lực của ribosome với một số macrolide, dẫn đến tăng sức đề kháng của vi khuẩn.

#### **1.2.3. 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. Sản phẩm PCR được cắt bằng các enzyme cắt hạn chế (RE, restriction enzyme) rồi điện di trên thạch aragose 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.

#### **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*

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 *Bsa*I 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 *Mbo*II 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 cặpbase, 350 bp (hình 1.8).

##### *1.2.4.2. Trong nước*

Năm 2016, Hà Thị Minh Thi và Trần Văn Huy nghiên cứu áp dụng thành công phương pháp PCR-RFLP để chẩn đoán 3 đột biến A2142G, A2143G và A2142C. Nhóm tác giả đã nghiên cứu trên 226 bệnh nhân được chẩn đoán xác

định viêm dạ dày mạn có *H.pylori* (+). Kết quả nghiên cứu này cho thấy: Tỷ lệ đột biến điểm vị trí 2142 và 2143 ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn là 35,4%, đột biến A2143G chiếm 92,5%, A2142G chiếm 7,5%; không có đột biến A2142C.

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

#### **1.3.1. Phác đồ nối tiếp**

*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 3 thuốc chuẩn diệt trừ *H. pylori* có từ 5 đến 10% thất bại, năm 1997, Rinaldi V. và cs đã chia bệnh nhân làm 2 nhóm. 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. 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.

† *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*. 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*

Trong phác đồ nối tiếp, 2 thuốc có amoxicillin trong 5 ngày đầu làm giảm số lượng vi khuẩn đáng kể tạo thuận lợi cho tác dụng của 3 thuốc trong 5 ngày sau. Hơn nữa dùng amoxicillin khởi đầu ngăn chặn vi khuẩn phát triển các kênh bơm đẩy thuốc ra ngoài. 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 diệt trừ *H. pylori* đáng khích lệ, cao nhất đến 98%, Sau năm 2009, Yakut M. và cs (2010) nghiên cứu trên 108 bệnh nhân dùng phác đồ nối tiếp, tỷ lệ diệt trừ 88. 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.

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

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.

#### *† Những hạn chế của phác đồ nối tiếp*

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. 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. Tại Việt Nam, tỷ lệ kháng clarithromycin khá cao. 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**

Để khắc phục những hạn chế của phác đồ nối tiếp, đã có nhiều cách cải tiến như: Kéo dài thời gian dùng thuốc, tăng liều thuốc đồng thời kéo dài thời gian dùng thuốc, sử dụng phác đồ lai. Trong đó phác đồ nối tiếp có levofloxacin là một cải tiến

#### **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, Amoxicillin, Tinidazol, Rabeprazol

##### *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. Tại Việt Nam đã có vài nghiên cứu phối hợp PPI với levofloxacin cho kết quả chấp nhận được và tuân thủ điều trị tốt.

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

##### *1.3.4.1. Nước ngoài*

Năm 2010 Romano M. và cs nghiên cứu so sánh 3 phác đồ nối tiếp 10 ngày. Kết quả cho thấy 2 phác đồ nối tiếp có levofloxacin ( 250 mg / ngày và 500 mg / ngày) hiệu quả cao hơn phác đồ nối tiếp chuẩn. Đồng thời tác dụng phụ giữa các phác đồ không có sự khác biệt. 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 tệt trừ *H. pylori*. 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. 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*

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 tệt 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%.

## 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

##### 2.1.1.1. Chẩn đoán viêm dạ dày

- Lâm sàng có triệu chứng gợi ý viêm dạ dày, 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

#### 2.1.2. 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 tiệt 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 tiền cứu, có theo dõi dọc

#### 2.2.2. Cỡ mẫu

Đối với mục tiêu 1:  $n = 203$  mẫu.

Đối với mục tiêu 2:  $n = 116$  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 tiệt 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

- Triệu chứng: Đau / nóng rát thượng vị; Ợ hơi / ợ chua; Đầy bụng / chập 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.

- 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.

## **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 xylôcain 2% và gel xylôcain

- Ống Eppendorf, một ống chứa dung dịch bảo TE (Tris - EDTA) có sẵn do bộ môn Di truyền 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.

+ Tiến hành nội soi: Theo quy trình đã xây dựng

+ Ghi nhận các hình thái tổn thương dạ dày theo phân loại Sydney.

+ 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, lưu trữ ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$ , 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): Phù nề xung huyết, trợt phẳng, trợt lõ, teo, xuất huyết, phì đại nếp niêm mạc, trào ngược dịch mật. 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.

### **2.2.5.5. Xét nghiệm urease nhanh**

*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

### **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 xử lý thường quy nhuộm H&E và nhuộm Giem sa.

#### **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.

#### **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.

TBVM: Tế bào viêm mạn, VT: Vi trùng

#### **2.2.6.3. Nhuộm Giem sa đọc kết quả nhiễm *H. pylori***

Nhuộm Giem 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 Aydın và cs.

### **2.2.7. Thực hiện chẩn đoán *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

#### **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.

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

Mồi ngược 5' - CGCATGATATCCCATTAGCAGT-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 $\mu$ L gồm: 12,5  $\mu$ L Go Taq Green Master Mix 2X, 1  $\mu$ L mỗi xuôi (10pmol /  $\mu$ L), 1  $\mu$ L mỗi ngược (10pmol /  $\mu$ L), 9,5  $\mu$ L nước cất, 1  $\mu$ L DNA (100pmol /  $\mu$ L)

Điều kiện PCR: Thực hiện phản ứng trên máy luân nhiệt Applied Biosystem 2720, gồm 3 giai đoạn: Biến tính, bắt cặp và kéo dài

- 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 *Bbs*I, *Bas*I và *Bce*AI là 15  $\mu$ L.

Điều kiện ủ: 37<sup>0</sup> C 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 10 cm x7 cm x 0,4 cm trong 120 phút ở điện thế 80 V có kèm thang chuẩn 25 bp. Đọc kết quả dưới máy đọc UV.

## **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 triệt trừ *H. pylori***

Thời điểm thu thập 4-6 tuần sau lần nội soi đầu tiên. 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.

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

† Xét nghiệm clotest ghi nhận kết quả điều trị

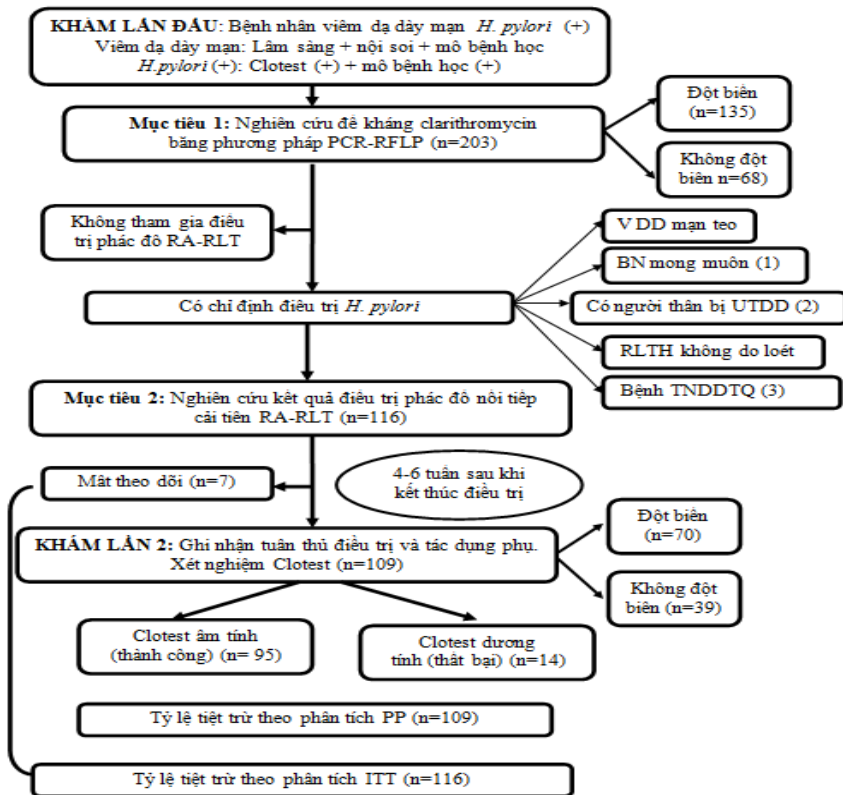
+ Clotest âm tính được xem là điều trị thành công

+ 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.

### SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU



## 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 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**

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**

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**

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,  $\geq 60$ , < 30.

#### **3.1.1.4. Địa dư**

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***

Đa số bệnh nhân nhiễm *H. pylori* chưa được điều trị tiệt trừ *H. pylori* (66,5%).

#### **3.1.1.6. Đặc điểm các triệu chứng lâm sàng**

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%), kể 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**

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**

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**

Mức độ viêm mạn nhẹ chiếm đa số (73,9%) so với mức độ viêm vừa hoặc nặng (26,1%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

#### **3.1.1.10. Mức độ viêm hoạt động trên mô bệnh học**

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**

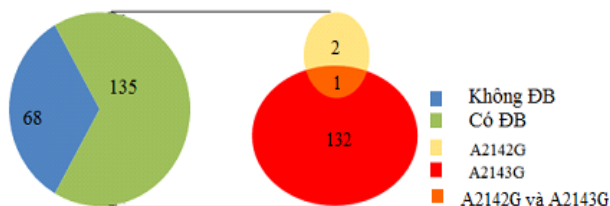
Trong tổng số 203 mẫu viêm dạ dày mạn nhiễm *H. pylori* trên mô bệnh học, viêm nông (không teo) chiếm 28,6% (58/203), viêm teo chiếm 71,4% (145/203)

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

Viêm mạn mức độ nhẹ có tỷ lệ 71,4%, cao hơn viêm vừa/ nặng có ý nghĩa thống kê.

### 3.1.2. Kết quả phát hiện đột biến điểm đề kháng clarithromycin



**Biểu đồ 3.1. Phân bố các đột biến điểm 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).

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

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

Tỷ lệ đột biến ở nam giới 60% (54/90), nữ giới 71,7% (81/113). 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 với tuổi trung bình của bệnh nhân

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 với nhóm tuổi

Tỷ lệ có đột biến cao nhất ở nhóm tuổi  $\geq 60$  (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 với đặc điểm địa dư

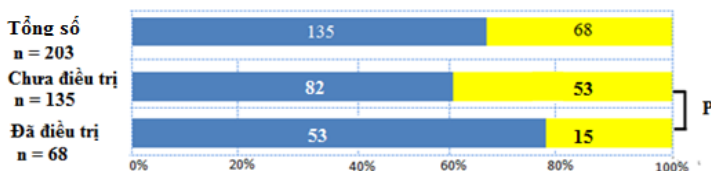
**Bảng 3.1. Phân bố đột biến theo đặc điểm địa dư**

Địa dư		Đột biến		POR (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	



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 có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,008$ ).

### 3.1.3.5. Mối liên quan giữa đột biến với tiền sử điều trị tiết trừ *H. pylori*



**Hình 3.1. Phân bố đột biến đề kháng clarithromycin theo tiền sử điều trị *H. pylori*.**

Nhận xét: Số bệnh nhân có đột biến trong tổng số bệnh nhân là 66,5% (135/303), trong số bệnh nhân đã điều trị *H. pylori* là 77,9% (53/68), trong số bệnh nhân chưa điều trị *H. pylori* là 60,7% (82/135). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,018$ )

### 3.1.3.6. Mối liên quan giữa đột biến với mức độ viêm mạn trên mô bệnh học

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 ( $p = 0,673$ )

### 3.1.3.7. Mối liên quan giữa đột biến với viêm hoạt động trên mô bệnh học

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 ( $p = 0,116$ )

### 3.1.3.8. Mối liên quan giữa đột biến với mức độ viêm teo trên mô bệnh học

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 ( $p = 0,381$ )

### 3.1.3.9. Mối liên quan giữa đột biến với mức độ nhiễm *H. pylori*

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 ( $p = 0,424$ ).

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

**Bảng 3.2. Phân tích hồi quy đa biến môi 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: 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 tiệt trừ *H. pylori* của phác đồ nối tiếp RA-RLT trong ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn

#### 3.2.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu

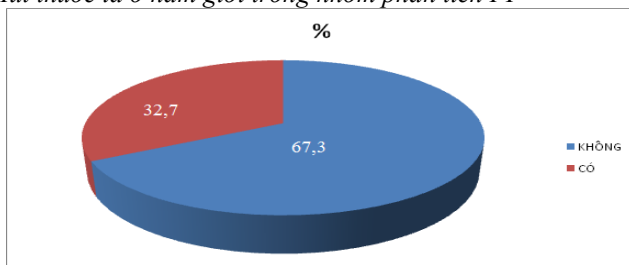
##### 3.2.1.1. Đánh giá sự tương đồng của mẫu nghiên cứu với mẫu trong mục tiêu 1

**Bảng 3.3. 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

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



**Biểu đồ 3.2. Đặc điểm hút thuốc lá trong nhóm phân tích theo đề cương nghiên cứu**

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 điểm đề kháng clarithromycin của H. pylori trong nhóm phân tích PP*

**Bảng 3.4. Tỷ lệ đột biến điểm 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 điểm 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 3.5. 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 3.6. 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 đột biến theo phân tích PP**

**Bảng 3.7. Kết quả diệt trừ *H. pylori* theo đột biến đề kháng clarithromycin (phân tích PP)**

Đột biến	Kết quả	Thành công	Thất bại	Tổng số
	Có đột biến	Số lượng	58	12
Tỷ lệ %		82,9	17,1	100
Không đột 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, tỷ lệ thành công ở nhóm không đột biến (94,9%) cao hơn nhóm có đột biến (82,9%). Tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

**Bảng 3.8. Kết quả tiệt 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, 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.

### 3.2.2.3. 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 tiệt 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

Tỷ lệ bệnh nhân có tác dụng phụ khi điều trị bằng phác đồ nối tiếp RA-RLT là 33,9% (37/72).

+ Các tác dụng phụ chủ yếu

Tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện tác dụng phụ 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.

### 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

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 ( $p = 0,457$ ).

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

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 ( $p = 0,232$ ).

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

Tỷ lệ thành công ở nhóm nông thôn 91,4% (64/70), ở nhóm thành thị 79,5% (31/39). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,074$ ).

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

Tỷ lệ thành công ở nhóm chưa điều trị *H. pylori* 91,5% (65/71), ở nhóm đã điều trị 78,9% (30/38). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,061$ ).

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

**Bảng 3.9. 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*

Tỷ lệ thành công ở nhóm tổn thương vùng hang vị 87,5 (63/72) ở nhóm thân vị / toàn dạ dày 86,5% 32/37). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,881$ ).

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

Tỷ lệ thành công ở nhóm viêm mạn nhẹ 90,1% (73/81), ở nhóm viêm mạn vừa và nặng 78,6% (22/28). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,115$ ).

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*

Tỷ lệ thành công ở nhóm viêm không hoạt động và hoạt động nhẹ 89,1% 57/64), ở nhóm viêm hoạt động vừa và nặng 84,4% (38/45). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,740$ ).

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

**Bảng 3.10. 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

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 ( $p = 0,006$ ).

### 3.2.3.9. Phân tích hồi quy logistic đa biến

**Bảng 3.11. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến mối liên quan của các biến với kết quả tiết trừ**

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: Mối liên quan giữa đột biến đề kháng clarithromycin với kết quả tiết 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

4.1.1.2. Chẩn đoán nhiễm *H. pylori*

4.1.1.3. Triệu chứng lâm sàng

4.1.1.4. Đặc điểm địa dư

4.1.1.5. Tiền sử điều trị *H. pylori*

4.1.1.6. Vùng tổn thương dạ dày trên nội soi

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

4.1.1.8. Viêm mạn vùng hang vị trên mô bệnh học

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

#### 4.1.2. Kết quả phát hiện đột biến đề kháng clarithromycin bằng phương pháp PCR-RFLP

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

Trong khi các xét nghiệm dựa vào kiểu hình tồn kém và mất nhiều thời gian thì các phương pháp phân tử đã được chứng minh là nhanh hơn và chính xác hơn. 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. Theo Viana J. S. và cs, phương pháp PCR-RFLP đã được chứng minh là đơn giản, nhanh chóng và chính xác. 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 thành

công tại bộ môn Di truyền y học, Trường Đại học Y Dược Huế đã chứng minh phương pháp này có độ chính xác cao trong việc phát hiện đột biến đề kháng clarithromycin của *H. pylori*. 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 có đột biến điểm đề kháng kháng sinh 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. Hơn nữa trên 90% các chủng đề kháng clarithromycin có đột biến trên gen *32S rRNA* gồm A2143G, A2142G và A2142C. So sánh với một số nghiên cứu đề kháng kiểu hình, tỷ lệ đề kháng trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của Nguyễn Đức Toàn và cs năm 2012 (36,6%), Phan Trung Nam và cs năm 2013 (42,6%), Đinh Cao Minh và cs năm 2014 (56,9%). So sánh với một số nghiên cứu kiểu gen tỷ lệ đề kháng trong nghiên cứu của chúng tôi cũng cao hơn nghiên cứu của Phan Trung Nam và cs năm 2013 (42,4%), Hà Thị Minh Thi và cs năm 2016 (35,4%)

#### 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 trong nước. Nghiên cứu của Hồ Đăng Quý Dũng và cs năm 2014 bằng giải trình tự gen, đột biến A2143G chiếm 98,7%, A2142G chiếm 1,3% và không có đột biến A2142C. Nghiên cứu của Hà Thị Minh Thi và cs năm 2015 cũng bằng giải trình tự gen, đột biến A2143G chiếm 90,9%, A2142G chiếm 9,1% và không có đột biến A2142C. Nghiên cứu của Hà Thị Minh Thi năm 2016 bằng PCR-RFLP đột biến A2143G chiếm 92,5%, A2142G chiếm 7,5% và không có đột biến A2142C.

Qua tham khảo các nghiên cứu trong nước và trên thế giới 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. Mô hình thứ 2, ở khu vực Nam Á đột biến A2142G chiếm ưu thế và mô hình thứ 3 ở khu vực Châu Phi và Đông Nam Á đột biến A2143G chiếm ưu thế. 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 đột biến đề kháng clarithromycin với tuổi bệnh nhân

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

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

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

## 4.2. Kết quả tiệt trừ 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.

#### **4.2.2. Hiệu quả diệt trừ *H. pylori* của phác đồ nối tiếp RA-RLT**

##### **4.2.2.1. Việc lựa chọn phác đồ nghiên cứu**

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. Levofloxacin là một thuốc mới trong điều trị diệt trừ *H. pylori*. Một vài nghiên cứu gần đây đã áp dụng phác đồ nối tiếp có levofloxacin với kết quả đáng khích lệ. 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. 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**

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.

##### **4.2.2.3. Kết quả diệt 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 diệt 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. 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 diệt 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. 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.

##### **4.2.2.4. Tuân thủ điều trị và tác dụng phụ**

###### **† 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%) thuộc vào phác đồ có tuân thủ tốt và không có



một bệnh nhân nào phải ngưng điều trị do tác dụng phụ của thuốc ngoài 7 bệnh nhân mất theo dõi.

† *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%. 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 nối tiếp có levofloxacin có 1 trong số 116 bệnh nhân phải ngưng điều trị do tác dụng. 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.

† *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 tất cả bệnh nhân đều hoàn thành phác đồ điều trị. Molina-Infante J. và cs nghiên cứu áp dụng 4 phác đồ 10 ngày. Trong nghiên cứu này phác đồ nối tiếp có levofloxacin có 4 trong số 115 bệnh nhân không tuân thủ điều trị. 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.

† *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 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. Nghiên cứu của Qian J. và cs (2012), có 5,17% (6/116) số bệnh nhân có tác dụng phụ và tất cả ở mức nhẹ và vừa, các triệu chứng tự khỏi sau khi ngưng điều trị. Nghiên cứu của Romano M. và cs (2010) có 23,5% (29/123) số bệnh nhân báo cáo tác dụng phụ, nhưng không đến mức phải ngưng điều trị. Nghiên cứu của Chuah S. K. và cs (2016) có 26,5% (23/81) số bệnh nhân 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.

Như vậy, tuy rằng phác đồ nối 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.

#### **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*

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

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

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

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

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

#### **4.3. Hạn chế của nghiên cứu**

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 áp dụng phác đồ 3 thuốc chuẩn khi chúng ta đã biết tỷ lệ đề kháng clarithromycin tại miền Trung Việt Nam trên 40%. Nghiên cứu này được thiết kế trước khi có vài nghiên cứu về đề kháng levofloxacin tại Việt Nam. Một số nghiên cứu trên thế giới áp dụng phác đồ nổi 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, lý do có thể đề kháng levofloxacin theo những nghiên cứu ban đầu là khá cao. Nghiên cứu này chỉ xác định kết quả diệt 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.

## 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 tiết 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 đề 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

**HUE UNIVERSITY  
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY**

**PHAM NGOC DOANH**

**STUDY ON THE RATE OF CLARITHROMYCIN  
RESISTANCE OF *H. PYLORI* BY THE PCR-RFLP  
METHOD AND THE THERAPEUTIC OUTCOME  
OF MODIFIED SEQUENTIAL REGIMEN RA-RLT IN  
PATIENTS WITH CHRONIC GASTRITIS**

**Speciality: Internal medicine  
Code : 972 01 07**

**SUMMARY OF MEDICAL DOCTORAL DISSERTATION**

**HUÉ - 2019**

**HUE UNIVERSITY  
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY**

**PHAM NGOC DOANH**

**STUDY ON THE RATE OF CLARITHROMYCIN  
RESISTANCE OF *H. PYLORI* BY THE PCR-RFLP  
METHOD AND THE THERAPEUTIC OUTCOME  
OF MODIFIED SEQUENTIAL REGIMEN RA-RLT IN  
PATIENTS WITH CHRONIC GASTRITIS**

**Speciality: Internal medicine**

**Code : 972 01 07**

**SUMMARY OF MEDICAL DOCTORAL DISSERTATION**

Supervisors:

**Prof TRAN VAN HUY**

**HUÉ - 2019**

The research was implemented at:

**UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY  
HUE UNIVERSITY**

Supervisors: **Prof TRAN VAN HUY**

Review 1: .....

Review 2: .....

Review 3: .....

The thesis will be report at the Council to protect thesis of Hue  
University. ....

At time: .....

Thesis could be found in:

.....  
.....  
.....

## INTRODUCTION

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) had been confirmed as causes of peptic ulcer disease and stomach cancer. Hence, eradication of *H. pylori* is extremely important. The most important barrier to *H. pylori* eradication is antibiotic resistance.

The antibiotic resistance of *H. pylori* is increasing throughout the world, especially clarithromycin, a major antibiotic for *H. pylori* eradication. Early diagnosis of antibiotic resistance may reduce the risk of treatment failure. Moreover, the prevalence of clarithromycin resistance in a geographic location is important in the selection of *H. pylori* therapy. In vitro antibiotic resistance detection of *H. pylori* is performed by determining phenotypic or genotypic resistance.

Detection of phenotypic resistance requires bacterial culture.

Culture of *H. pylori* is difficult to perform routinely in clinical practice because the bacteria grow slowly and require strict environmental conditions. In addition, bacterial antibiotic resistance is primarily due to genetic mutations, so genotypic methods are appropriate alternatives. Identification of antibiotic resistance genes mainly by molecular biology methods. There are many molecular biology methods for the detection of antibiotic resistance in *H. pylori*, in which polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, amplification (PCR-RFLP) is a typical and had been applied in many studies around the world. In Vietnam, the PCR-RFLP method had just been applied at the Hue College of Medicine and Pharmacy and had a good initial.

Applying a new molecular approach such as PCR-RFLP to detect clarithromycin resistance for research and treatment is a necessity and thus assessing local clarithromycin resistance contributes to selection of empiric regimen for *H. pylori* treatment.

In addition to the early diagnosis of antibiotic resistance, in order to overcome the ineffectiveness of standard triple regimen, the application of many other regimens is also being studied. In particular, sequential therapy, at the beginning, proved to be highly effective and well studied. However, later on, sequential therapy also showed some limitations. Modified sequential therapies have been proposed. Studies using modified sequential therapies showed higher outcomes and overcame some of the limitations of the initial sequential regimen. Levofloxacin sequential therapy is a novel regimen and early studies have shown high efficacy and good tolerability. RA-RLT regimen (first 5 days using rabeprazole and amoxicillin, the next 5 days using rabeprazole, levofloxacin and tinidazol) is a levofloxacin sequential regimen. Abroad, there are some studies that have applied this regimen and have shown good results. In Vietnam, there are not many studies on modified sequential regimen. We only found one study using RA-RLT sequential regimen. Based on the need to investigate clarithromycin resistance in Quang Ngai to select the appropriate empirical regimen, we conducted a study entitled "Study on the rate of clarithromycin resistance of *H. pylori* by the PCR-RFLP



method and the therapeutic outcome of modified sequential regimen RA-RLT in patients with chronic gastritis "

### **Targets of the study**

1. Determination of the rate of clarithromycin-resistant mutation of *H. pylori* by PCR-RFLP in patients with *H. pylori*-positive chronic gastritis in Quang Ngai

2. Evaluation of *H. pylori* eradication in patients with chronic gastritis in general and in patients with clarithromycin-resistant mutations with 10-day modified sequential regimen RA-RLT.

### **Scientific significance**

Applying a new technique is PCR-RFLP to determine the rate of clarithromycin resistance

Evaluation of a new regimen, modified sequential regimen RA-RLT as an effective option for *H. pylori* eradication .

### **Practical significance**

Determining the rate of clarithromycin resistance as the basis for the development of the *H. pylori* treatment regimen in Quang Ngai and in conjunction with other studies establishing regimens for central Vietnam.

Based on the efficacy and safety of the RA-RLT regimen, this regimen can be applied to the treatment of patients in Quang Ngai in particular and in Central Vietnam in general.

### **New contributions of the study**

The rate of *H. pylori* genus clarithromycin resistance in Quang Ngai was 66.5%. This is a pretty high rate. This rate is the basis for not recommending the use of standardized triple regimen as an empirical regimen, and should apply the other regimen. Living in urban and a history of *H. pylori*-treated patients were two risk factors for increasing clarithromycin-resistant mutation of *H. pylori*

The 10-day modified sequential regimen RA-RLT had an *H. pylori* eradication rate of 81.8% and 87.2% for ITT and PP analysis, respectively, with acceptable side-effects. This is an acceptable regimen in Quang Ngai and Central Vietnam in general. Cigarette smoking in men and the density of *H. pylori* infection in histopathology are two factors that reduce the effectiveness of *H. pylori* eradication.

## **CHAPTER 1: REVIEW OF THE LITERATURE**

### ***1.1. Helicobacter pylori***

#### ***1.1.1. Epidemiology***

##### ***1.1.1.1. prevalence of H. pylori infection***

*H. pylori* infection is a widespread infection worldwide, about 50% of the world's population is infected. In developed countries, infection rates are < 40%; In developing countries, an average infection rate of 80-90%. In Viet Nam, a comprehensive analysis of 184 studies of *H. pylori* infection rates in

many parts of the world has estimated a prevalence of 70.3% in the population.

#### *1.1.1.2. Incidence of *H. pylori**

Incidence in adults less than children. Parsonnet J. et al. studied a sample of 341 people, including epidemiologists, who reported 0.49% per year. Another study found that the incidence of adult on average 2.4% per year. The study by Muhsen et al. (2010) found that the incidence rate in children was 5% per year.

#### *1.1.1.3. Transmission source*

The source of *H. pylori* infection still remains controversial. Some studies suggest that animals are a transmission source, others suggest that water is a transmission source. However, according to Lehour et al, people are the only source of transmission.

#### *1.1.1.4. Transmission routes*

Transmission routes of bacteria have been not clear. Possible routes include: : Gastro-oral , oral-oral , oral-oral route

#### *1.1.1.5. Risk factors*

The risk factors of *H. pylori* infection include: social class of individuals in childhood, environmental sanitation, population density, education level.

### ***1.1.2. Pathogenesis of *H. pylori* infection***

The clinical outcomes of *H. pylori* infection are due to long-term interactions between bacteria, hosts and environmental characteristics.

#### *1.1.2.1. Bacterial factors*

Bacterial factors include: Flagella, virulence factors (CagA protein, VacA vacuolating cytotoxin), antacids, adhesion factors and outer membrane proteins

#### *1.1.2.2. Host factors*

Host factors include: Immune-protective antibodies, immune regulation, regulatory T-cells, and genetic characteristics

#### *1.1.2.3. The environmental factors*

The agents that *H. pylori* faces are the molecules produced by food. Some eating habits such as iron deficiency , high salt, nitrite, protein, and fat increase the risk of *H. pylori*-associated diseases.

### ***1.1.3. Progressive chronic gastritis associated with *H. pylori****

Chronic gastritis is a progressive inflammation that lasts several steps. The onset is chronic inflammation , followed by atrophy, intestinal dysplasia, intestinal dysplasia and eventually gastric cancer. This process can last for many years or decades (the Correa process).

## **1.2. Clarithromycin resistance and resistance gene detection by PCR-RFLP**

### ***1.2.1. Antibiotic resistance of *H. pylori****

#### ***† Clarithromycin resistance varies between countries and regions***

The antibiotic resistance rate of *H. pylori* differs between countries and between regions within a country. In 2014, the rate of clarithromycin resistance in Scandinavia was less than 10%, in other regions in Europe exceeding 15%. In China (2010), the Beijing area, the rate of clarithromycin resistance was 37.2%. In the southeastern coastal area (2013), this rate is 21.5%. In Vietnam,

according to the research at Cho Ray hospital and Bach Mai hospital (2013), the resistance rate was 33%. According to a study at the Hue College of Medicine and Pharmacy (2013), the rate of resistance was 42.9%.

#### *† Clarithromycin resistance is increasing*

The prevalence of antibiotic resistance of *H. pylori* is increasing in many parts of the world. In Italy for about 6 years from 1989 - 1990 to 2004 - 2005 the rate of resistance doubled, from 10.2% to 21.3%. The prevalence of clarithromycin resistance in children in the north-central region of South Korea in the period 1990 to 1994 was 6.9%, reaching 18.2% in the period 2005-2009. From 1997-1998 to 1999-2000, resistance in Japan doubled. In Vietnam (2004), a study was conducted in Hanoi with a 1% clarithromycin resistance rate. The study at the Post Hospital, the rate of resistance in 2009 and 2012 were 21.4% and 28.8%, respectively.

### **1.2.2. Importance and mechanism of clarithromycin resistance of *H. pylori***

#### **1.2.2.1. Importance of detecting clarithromycin resistance**

Detection of clarithromycin resistance prior to initiation of therapy will help to select the appropriate regimen. On the other hand, the study of *H. pylori*'s clarithromycin resistance was conducted to determine the prevalence of local resistance, in order to develop a suitable regimen for empiric therapy.

#### **1.2.2.2. The mechanism of clarithromycin resistance of *H. pylori***

Clarithromycin binds to the peptidyl transferase loop of domain V of the 23S rRNA molecular, which prevents protein elongation during synthesis, and thus inhibits bacterial protein synthesis. Clarithromycin resistance of *H. pylori* is primarily caused by point mutations in two adjacent nucleotides of the 23S rRNA gene, namely mutations A2143G, A2142G and A2142C. These mutations reduce the affinity of the ribosomes with some macrolides, leading to increased resistance of bacteria.

#### **1.2.3. The method PCR-RFLP detecting clarithromycin resistance of *H. pylori***

The method PCR-RFLP consists of two steps, in order, PCR and RFLP. The PCR product was cut with the restriction enzyme (RE, restriction enzyme) and electrophoresis on agarose then stained with fluorescent substances. Cutting products will be read easily on ultraviolet gels.

### **1.2.4. Studies of clarithromycin resistance have been linked to thesis**

#### **1.2.4.1. On the World**

The study by Susuki R.P. et al., A DNA fragment of 768 base pairs (bp) amplified. With the A2143G mutation, the restriction enzyme *Bsa* I will recognize two cleavage sites and thus cut the DNA into 3 shorter fragments of 108 bp, 310 bp and 350 bps. When mutations A2142G, restriction enzymes *Mbo* II will recognize one cutting position and will therefore cut 768 bps DNA fragment into 2 shorter fragments that is 418 bps and 350 bps (figure 1.8).

#### **1.2.4.2. In Vietnam**

In 2016, Ha Thi Minh Thi and Tran Van Huy study successfully applied PCR-RFLP method to detect mutations A2142G, A2143G and A2142C. The authors have studied 226 patients diagnosed with chronic gastritis with *H. pylori* (+). Results of this study showed rate of mutation rate at position 2142 and 2143 in patients with gastritis was 35.4%, mutation A2143G 92.5%, A2142G 7.5%; No mutation A2142C.

### **1.3. Levofloxacin-containing sequential therapy in the treatment of *H. pylori***

#### **1.3.1. Sequential therapy**

1.3.1.1. Reason for appearance, initial sequential regimen and mechanism of action of sequential regimen

##### *† Causes of serial therapy.*

To overcome the situation of the standard triple regimen with failure rate from 5 to 10% failure, in 1997, Rinaldi V. and cs divided patients into two groups. Group I (78 patients) received OTC (omeprazole, tetracycline and clarithromycin) for 1 week, after failure received OA (omeprazole and amoxicillin) for 2 weeks. In contrast, group II (75 patients) received OA for 2 weeks, after failure, received OTC for 1 week. The results showed that group I had the success rate of 81.6%, group II had the success rate of 97.3%. The difference was statistically significant.

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. Kết quả tiết trừ phân tích theo ý định điều trị (ITT, intention-to-treat) là 98%.

##### *† Initial sequential regimen*

From the initial results with the exceptionally high rate of *H. pylori* eradication, in 2003 Zullo A. et al published a multi-center study in Italy with a sample of 1,049 patients with dyspepsia and evidence of *H. pylori* infection. Results showed that sequential regimen had a much higher eradication rate than the standard triple regimen. According to the ITT analysis, the eradication rate of the sequential regimen was 92% and that of the standard triple regimen was 77%. According to PP analysis, eradication rates were 95% and 77%, respectively.

##### *† Mechanism of action of sequential therapy*

In the sequential, two drugs containing amoxicillin in the first 5 days reduced the number of bacteria significantly facilitating the effect of the three drugs in the next 5 days. In addition, amoxicillin for the first 5 days prevents bacteria to develop efflux channels for clarithromycin, which rapidly transfer the drug out of the bacterial cell. Thus, the first stage of sequential therapy increases the efficiency of later stage.

##### *1.3.1.2. Studies on sequential therapy*

##### *† Eradication rates of sequential regimen*

Prior to 2009, Vaira D. et al. (2009) summarized the study of sequential regimen (Table 1.2) with encouraging eradication rates of *H. pylori* up to

98%. After 2009, Yakut M. et al. (2010) studied 108 patients on sequential therapy, eradication rate 88%. In 2015, the guidelines for the treatment of *H. pylori* in Italy recommend the use of sequential regimen for the first line with the highest grade of evidence and commendation.

#### † *Adherence to the treatment of sequential therapy*

There have been a number of studies comparing treatment adherence and side effects of sequential regimens to standard triple regimens. In a meta-analysis of eight study on sequential and standard triple regimen, Zullo D. et al found no difference in treatment adherence rates and rates of side effects between the two regimens.

#### † *Limitations of sequential therapy*

When compared with standard 14-day regimen and other regimens such as 4-drug with and without bismuth, the superiority of the sequential regimen in the studies is contradictory. Sequential regimen is recommended in settings where the rate of clarithromycin resistance is greater than 20%. In fact, clarithromycin resistance research has not been done in many places. In Vietnam, the rate of clarithromycin resistance is quite high. Classical sequential therapy may therefore not be suitable for Vietnam..

#### **1.3.2. Modifications of sequential therapy**

In order to overcome the limitations of sequential regimens, there have been several modifications: Prolonged drug use, increased dose and prolonged drug use, using hybrid regimens. Where levofloxacin-containing sequential therapy is an modification

#### **1.3.3. Levofloxacin-containing sequential therapy**

##### **1.3.3.1. The drugs in the modified sequential regimen with levofloxacin**

Levofloxacin, Amoxicillin, Tinidazole, Rabeprazole

##### **1.3.3.2. Combination of levofloxacin with PPI for *H. pylori* eradication**

Invitro, Tanaka M. et al. demonstrated that a higher synergistic combination of levofloxacin with PPI compared with clarithromycin and amoxicillin. In Vietnam, there have been some studies that combined PPI with levofloxacin for acceptable results and good adherence.

#### **1.3.4. Studies on levofloxacin--containing sequential regimen have been associated with the our thesis**

##### **1.3.4.1. In the World**

In 2010, Romano M. et al. compared three 10-day sequential regimens. Results showed that two consecutive regimens containing levofloxacin (250 mg per/ day and 500 mg per day) were more effective than the standard sequential regimen. In addition, side effects between regimens are not different. In 2015, in an meta-analysis of levofloxacin-containing sequential regimens, Kale-Pradhan PB suggested that levofloxacin-containing sequential therapy was a promising prospect for *H. pylori* eradication. In 2016 Liou J.M. et al. compared levofloxacin-containing sequential therapy with levofloxacin 3-drug regimen for 10 days. Results showed that levofloxacin-containing sequential regimen was more effective than levofloxacin 3 drugs regimen and recommended for second-line treatment.

### 1.3.4.2. In Viet Nam

In 2016, Nguyen Phan Hong Ngoc studied the treatment of 102 patients with *H. pylori* chronic gastritis with levofloxacin-containing sequential in Hue University Hospital. Eradication rate in PP and ITT analysis were 81.5% and 73.5%, respectively. Of these, 33.7% had side effects and 90.2% were adherence

## CHAPTER 2: MATERIALS AND METHODS

### 2.1. Patients

Patients with gastroduodenoscopy at the Quang Ngai General Hospital from June 2013 to October 2015 were found to have gastritis, *H. pylori* infection and agreed to participate in the study.

#### 2.1.1. Inclusion criteria

##### 2.1.1.1. Diagnosis of gastritis

- Clinical symptoms suggest gastritis. There are lesions of gastritis on the endoscope

- Chronic gastritis is defined by histopathology through HE staining of an antrum biopsy specimen.

##### 2.1.1.2. Diagnosis of *H. pylori* infection

All patients included in the study were identified with *H. pylori* infection by 2 methods

- Rapid urease test for *H. pylori*: Positive

- Confirmed *H. pylori* in histopathology by Giemsa staining

#### 2.1.2. Exclusion criteria

† For all patients participating in the study :

- Having history of gastric surgery

- Having pictures of peptic ulcer ;

- Taking anticoagulants

† For patients receiving RA-RLT regimen:

- Being pregnant,

- Breast-feeding;

- Having a history of allergic reactions to drugs in the regimen ;

- Having severe illness including liver failure, kidney failure, malignancy ...

- Having a history of *H. pylori* eradication with levofloxacin-containing regimen if possible

- Taking antibiotics for 4 weeks and PPI for 2 weeks before the second visit.

### 2.2. Methods

#### 2.2.1. Study design

- For target 1 : Describe cross sectional studies

- For target 2 : prospective study

#### 2.2.2. Sample size

For target 1 : n = 203

For target 2 : n = 116

### **2.2.3. Steps to conduct study**

- Patients with gastroduodenal endoscopy who agreed to participate in the study were taken two biopsy specimens.

Patients are then screened for history, clinical examination, and other laboratory tests if suspected pathogens affect *H. pylori* treatment

### **2.2.4. Record clinical data for the first time**

- Administrative information: Name, age, gender, address, telephone number

- Symptoms: Epigastric pain or burn; reflux with gas or acids; feeling of fullness or delayed digestion.; vomiting, nausea or others

- History : Treated *H. pylori* or not; Geographic factors: urban or rural

History of smoking : Considered as a smoker when the number of cigarettes smoked more than 1 packet per week.

- Clinical examination: The main purpose is to detect the associated diseases that may be the criteria for exclusion in this study, such as hepatic impairment, renal failure, malignancy.

### **2.2.5. Perform upper gastroduodenal endoscopy**

#### **2.2.5.1. Gastroduodenal endoscopy**

The gastroscopy was implemented in Quang Ngai general hospital

#### **2.2.5.2. Machinery**

- Olympus CLV-180, manufactured by Japan, vacuum, light source, Sony monitor

- Throat anesthetic: 2% xylocain spray and xylocain gel

- Eppendorf tubes: A tube containing TE solution (Tris - EDTA) available by the Department of Medical Genetics, Hue College of Medicine and Pharmacy, another one containing 10% formaldehyde by the pathology department, Quang Ngai general hospital

#### **2.2.5.3. Endoscopic technique**

The researcher conducted or co-ordinates with the other doctors in the Quang Ngai General Hospital

+ Endoscopy: According to the process has been built

Recognize gastric lesions according to Sydney classification .

+ Two biopsy samples were taken.

+ For the 2 biopsy specimens: A specimen is soaked in formalin then sent to Pathology Department for Histopathology. Another one for rapid urease testing. After the results were positive for *H. pylori*, this specimen will be reused, stored at -20<sup>0</sup> C temperature, then sent to the Medical Genetics Department of Hue University of Medicine and Pharmacy for PCR testing to determine *H. pylori* . Shortly after PCR positive for *H. pylori* , PCR products will be used for RFLP testing to detect clarithromycin resistance.

#### **2.2.5.4. Assessment of gastric lesions on endoscopy**

- Region of lesions : antrum, corpus, or antrum and corpus

- Forms of lesions: Erythematous, flat erosive, raised erosive, rugal hyperplastic, reflux, atrophic, haemorrhagic form

#### **2.2.5.5. Test rapid urease**

Clotest is positive when :

-The reagent changed from orange to violet within 5 minutes: *H. pylori* was found to be highly active

- The reagent changes from orange to dark orange within 30 minutes: The sample contains less *H. pylori*

*Clotest negative when :*

- The reagent changes from orange-yellow to reddish-pink after 30 minutes: Transmission due to contamination of *Proteus*, *Morganella* or temporary effects by pH of the stomach.

- Reagent does not change orange color after 60 minutes

### **2.2.6. Evaluation on histopathology**

The biopsy specimens were soaked in 10% formalin solution and accurately labeled, and then sent to the pathology department.

#### **2.2.6.1. Place of performance**

Pathological anatomy General Hospital Quang Ngai. The biopsy specimens were stained using hematoxylin and eosin (H&E) for evaluating histopathology and Giem sa for detecting *H. pylori*

Readers : Doctor in pathology, head of department. The finished products have been evaluated satisfactorily, with confirmation from the Department of Pathology, Hue College of Medicine and Pharmacy..

#### **2.2.6.2. H & E staining for evaluating gastritis**

H & E staining technique was based on instruction of Ministry of Health for pathologic techniques evaluating gastritis was based on the score **table of Aydin et al .**

#### **2.2.6.3. Giemsa staining for evaluating *H. pylori* densities**

Giemsa staining technique was based on instruction of Ministry of Health for pathologic techniques

evaluating *H. pylori* densities were based on the score table of Aydin et al .

### **2.2.7. Detection of *H. pylori* by PCR and detection of clarithromycin resistance by RFLP**

Place of practice: Department of Medical Genetics, Hue College of Medicine and Pharmacy

#### **2.2.7.1. Equipment and tools :**

Applied Biosystem 2720 PCR, Wizard Genomic DNA purification (Promega), Nanodrop, Go Taq Green Master Mix (Promega),

#### **2.2.7.2. DNA extraction from biopsy specimens of the gastric mucosa**

DNA extraction from the gastric mucosa of the gastric mucosa following the standard protocol of the Wizard Genomic DNA purification kit (Promega). DNA after extraction was measured on a Nanodrop and diluted to 100 ng /  $\mu$ L

#### **2.2.7.3. Identification of *H. pylori* infection by PCR**

- PCR methods to amplify 23SrRNA segments containing the most common mutation sites: A2142G, A2143G and A2142C were performed at the Department of Genetics at the Hue College of Medicine and Pharmacy.

The primer is designed by Menard .

The forward primer 5' AGGTTAAGAGGATGCGTCAGTC-3 '(H PY - S)

The reverse primer 5' - CGCATGATATTCCCATTAGCAGT-3' (HPY - A)



- Components involved in PCR reaction: Use Go Taq Green Master Mix (Promega)

25µL reaction volume is composed of: 12.5 uL Go Green Master Mix Taq 2X , 1 uL of the forward primer (10pmol / uL) , 1 uL reverse primer (10pmol / uL) , 9.5 uL of distilled water , 1 uL DNA ( 100 pmol / µL)

- PCR conditions: Reacts on Applied Biosystem 2720, consisting of 3 stages: denaturation, pairing, and elongation.

- PCR assay: PCR electrophoresis on 1% agarose gel for 30 min at 80 V, followed by 100 bp. Read the results under the UV reader ( transilluminator) . The product size is 267 bp.

*2.2.7.4. Identification of mutations A2142G, A2143G and A2142C on 23S rRNA gene by PCR-RFLP*

After obtaining the PCR product and this product was identified as a specific gene for *H. pylori* .

Reaction components: Reaction volume cut with BbsI, BasI and BceAI was 15 µL..

Incubation conditions : 37 ° C in a thermostatic tank, incubation time is 16 hours

RFLP product detection: Product gelatin on 2.5% agarose gel, size 10 cm x 7 cm x 0.4 cm in 120 minutes at 80 V voltage with 25 bp standard scale. Read the results under the UV reader .

#### **2.2.8. Record treatment outcome data**

##### **2.2.8.1. Treatment of *H. pylori* following RA-RLT regimen**

The regimen includes:

† First 5 days:

Amoxicillin (Servamox) 10 00 mg , twice daily after meals

Rabeprazol ( Pariet) 20 mg) twice a day, before meals 30 minutes

† 5 days later

Levofloxacin (Tavanic) 500 mg twice daily after meals

Tinidazole 500 mg twice daily, after meals

Rabeprazol (Pariet) 20 mg, twice daily before meals 30 minutes

##### **2.2.8.2. Second data recording after *H. pylori* treatment**

The time is 4-6 weeks after the first colonoscopy. During this period the patient did not use any antibiotics and if using PPI, stopped at least 2 weeks

† *Record data on treatment compliance and side effects*

Compliance is considered to be good if the number of pills had been taken more than 90%.

Possible side effects include headache, taste disturbance, fatigue, diarrhea, abdominal pain, nausea or vomiting, abdominal distension, itching

The severity of side effects is assessed at the time of questioning, based on the extent to which the patient's daily activities are affected.

† *Endoscopy, description of gastric lesions*

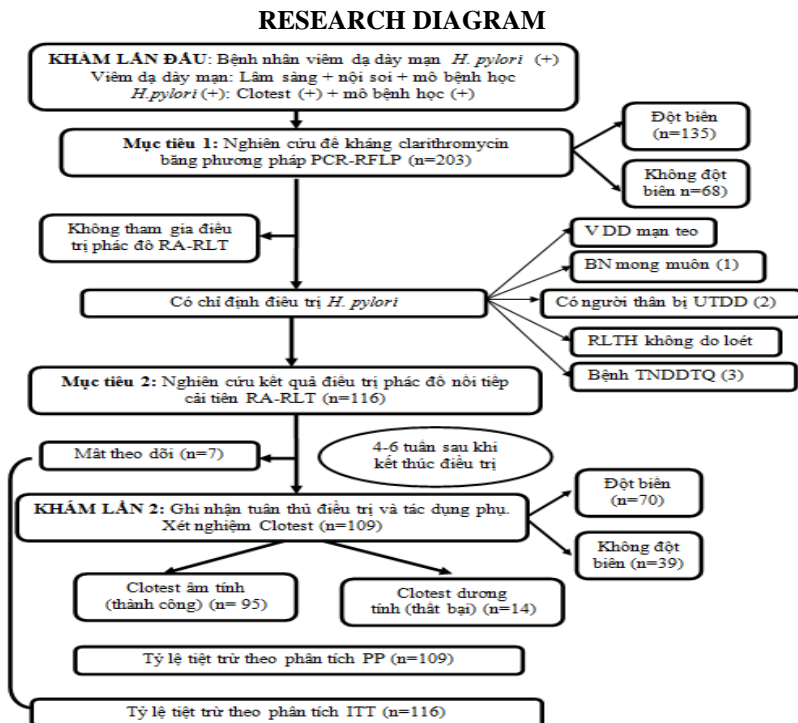
† The clotest test records the results of the treatment

Clotest negative is considered to be success

The positive clotest is considered failure

## 2.3. Statistical processing

All data is encoded as variables, included in SPSS statistical software version 22.0 and automatically processed on a computer by regular statistical algorithms.



## CHAPTER 3: RESULTS

From June 2013 to October 2015, we collected data from 203 patients eligible for the study of resistance to clarithromycin by method PCR-RFLP (target 1), in which 116 patients enough conditions for participating in the RA-RLT regimen (target 2)

### 3.1. Results of the study on clarithromycin resistance mutation of *H. pylori* by PCR-RFLP method

#### 3.1.1. Patients characteristics

##### 3.1.1.1. Sex

*H. pylori* gastritis in the sample was 55.7% for women and 44.3% for men. There is no statistically significant difference in the proportion of women and men.

### *3.1.1.2. Age*

The mean age of *H. pylori* chronic gastritis in males was  $43.08 \pm 13.95$ , in females was  $44.93 \pm 13.09$ . The difference was not statistically significant .

### *3.1.1.3. Age group*

The age group of *H. pylori* gastritis in the sample had the highest rate of 30 - 39 (30.5%), the lowest is <30 years. In order of the highest to low ratio is 30 - 39, 40 - 49, 50 - 59, 60 - 69,  $\geq 60$ , <30.

### *3.1.1.4. Geography*

Patients with *H. pylori* infection live in urban areas, 39.4% (80/203), rural areas 60.6% (123/203). With the expected rate of 50%, the difference is statistically significant.

### *3.1.1.5. History of H. pylori treatment*

Most patients with *H. pylori* infection have not been treated for *H. pylori* eradication (66.5 %).

### *3.1.1.6. Characteristics of clinical symptoms*

The highest incidence was pain / burning in the epigastrium (54.7%), followed by abdominal distention (24.1%), belching (10.8%) , vomiting / nausea and other symptoms (10.3%).

### *3.1.1.7. Regions of gastric lesions on endoscopy*

In endoscopy, gastritis in antrum is more common than in corpus. Difference is statistically significant.a

### *3.1.1.8. Forms of gastritis on endoscopy*

The common order is erythematous, flat erosive, raised erosive, reflux, haemorrhagic, atrophic and rugal hyperplastic

### *3.1.1.9. Levels of chronic inflammation in histopathology*

Levels of mild inflammation are the majority (73.9%) compared with moderate or severe inflammation (26.1%), the difference is statistically significant.

### *3.1.1.10. Levels of active inflammation in histopathology*

Most active inflammation is moderate or severe. In descending order: moderate or severe inflammation (44.8%), mild inflammation (33.5%) and inflammation (21.7%).

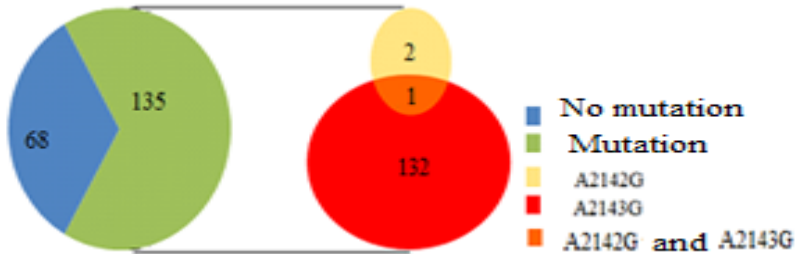
### *3.1.1.11. Levels of atrophy in histopathology*

Of the 203 *H. pylori* gastritis in histopathology, 28.6% (58/203) of superficial gastritis (58%), and 71.4% (145/203) of atrophic gastritis. Of the atrophic gastritis, mild atrophy were 74.5% (108/145), moderate or severe atrophy were 25.5% (37/145).

### *3.1.1.12. Densities of H. pylori on the histopathology*

Mild chronic inflammation is 71.4%, significantly higher than moderate / severe inflammation.

## **3.1.2. Results of the detection of clarithromycin-resistant mutations**



**Chart 3. 4 . Distribution of clarithromycin-resistant mutations**

Of the 203 samples tested for PCR-RFLP, with mutations accounted for 66.50% (135/203), with no mutations accounting for 33.50% (68/203). Of the 135 samples with mutations, single A2143G mutations accounted for 97.8% (132/135), single mutations A2142G accounted for 1.5% (2/135), and in particular there is one sample with simultaneous two A2143G and A2142G mutation accounted for 0.7% (1/135).

**3.1.3. The relationship between clarithromycin-resistant mutations and other characteristics**

**3.1.3.1. Relationship between clarithromycin-resistant mutations and sex**

Mutation rates in men and women were 60 % (54/90) and 71.7% (81/113), respectively. The difference in mutations rate between sexes was not statistically significant ( $p = 0.08$ )

**3.1.3.2. Relationship between clarithromycin-resistant mutations and age**

Mean age of the group with mutation was  $44.7 \pm 13.1$ ; group without mutation  $43.0 \pm 14.2$ . Mean age difference was not statistically significant ( $p = 0.41$ ).

**3.1.3.3. The relationship between clarithromycin-resistant mutations and the age group**

The mutation rates were highest in the age group  $\geq 60$  (72.7%), lowest in the group  $< 30$  (60%). The difference in the rates of mutations between the groups was not statistically significant

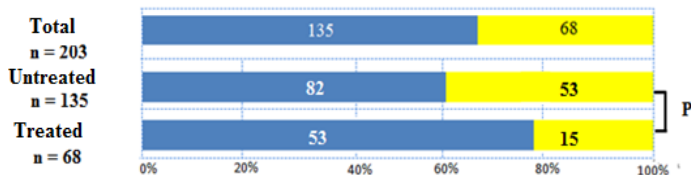
**3.1.3.4. The relationship between clarithromycin-resistant mutations and geography**

**Table 3. 13 . Distribution of clarithromycin-resistant mutations based on geographical characteristics**

Geography		Mutation		P, OR(95% CI)
		Yes	No	
Urban	Amount	62	18	0.008 2,34(1.25-4.46)
	%	77.5	22.5	
Rural	Amount	73	50	
	%	59.3	40.7	

Comment: The mutation rates in the group of patients in urban and living in rural were 77.5% and 59.3%, respectively. The difference in the rates of mutations between the two groups was not statistically significant ( $p = 0.008$ ).

3.1.3.5. *The relationship between clarithromycin-resistant mutations and the history of H. pylori treatment*



**Hình 3. 10 . Distribution of clarithromycin resistance mutations in the history of *H. pylori* treatment.**

Comment: The number of patients with mutation of the total of patients were 66.5% (135/203), of patients treated *H. pylori* were 77.9% (53/68), of patients untreated *H. pylori* were 60.7% (82/135). The difference was statistically significant ( $p = 0.018$ )

3.1.3.6. *The relationship between clarithromycin-resistant mutations and levels of chronic inflammation on histopathology*

Mutation rates in the group of mild gastritis and group of moderate or severe gastritis were 67.3% and 64.2%, respectively. The difference in the rate of mutations between the two groups was not statistically significant ( $p = 0.673$ )

3.1.3.7. *The relationship between clarithromycin-resistant mutations and levels of active inflammation in histopathology*

Mutation rates in the group of no activity, mild activity and moderate or severe active were 54.5%, 66.2% and 72.5%, respectively. The difference in the rate of mutations between groups was not statistically significant ( $p = 0.116$ )

3.1.3.8. *The relationship between clarithromycin-resistant mutations and the level of atrophy in histopathology*

Mutation rates in the group of no atrophy, mild atrophy and moderate or severe atrophy were 69%, 68.5% and 56.8%, respectively. The difference in the rate of mutations between groups was not statistically significant ( $p = 0.381$ )

3.1.3.9. *The relationship between clarithromycin-resistant mutations and densities of H. pylori*

Mutation rates in the group of mild density and moderate or severe density were 64.8% and 70.7%, respectively. The difference in the rate of mutations between the two groups was not statistically significant ( $p = 0.424$ ).

3.1.3.10 . Univariate and multivariate regression analysis

**Table 3. 21 . Univariate and multivariate regression analysis of the association and effect of factors on the clarithromycin resistance mutation of *H. pylori***

Characteristics	univariable		Multivariate	
	p	OR (95% CI)	p	AOR (95% CI)
Sex	0.080	0.59 (0.33-1.07)	0,130	0.63 (0.34-1.15)
Treatment history	0,018	2.28 ( 1.17 - 4.46)	0,024	2.20 (1.11-4.36)
Geography	0.008	2.34 (1.25 - 4.46)	0.020	2.16 (1.13-4.14)

The sex effect of patients on clarithromycin resistance mutations was not statistically significant .

Patients with treated *H. pylori* , a higher risk for clarithromycin-resistant mutations than the untreated with OR 2.28 and AOR 2.20, p= 0.018 and 0.024, respectively .

Patients in urban had a higher risk for clarithromycin-resistant mutations than those in rural with OR 2.34 and AOR 2.16, respectively, p = 0.008 and 0.020, respectively.

**3.2. *H. pylori* eradication of sequential regimen RA-RLT in patients with chronic gastritis**

**3.2.1. Patients characteristics**

**3.2.1.1. Evaluate the similarity of two samples in target 1 and target 2**

**Table 3. 22 . Characterize the sample and compare it with the sample in goal 1**

	Target 1 (n = 203)	Target 2 (n = 116)	P
Gender (male / female)	90/ 113	52 /64	0,489
The average age	44.1	44.9	0.404
Geography (urban / rural)	80 /123	41/75	0,135
History (treated / untreated)	68/135	39/77	0.521
Damage area (HV / TV, full DD)	141/62	77/39	.184
Chronic (mild / moderate)	150 /53	87/29	0.384
<i>H. pylori</i> infection (mild / moderate, severe)	145/58	75 / 41	0.137
Mutations (NE / NE)	135 /68	75/41	0.323

Remarks: The sample size in target 2 was smaller (n = 116), although it was similar to that in target 1 (n = 203).

**3.1.1. 2 . Cigarette smoking in men**

**Figure 3. 5 . Features of smokers in men**

Male smokers were 32.7% less likely than male non-smokers to be statistically significant.

3.2.1.3 . Clarithromycin-resistant mutations in the PP analysis group

**Table 3. 23 . Rates of clarithromycin-resistant mutations**

Mutation	Amount	%
Yes	70	64.2
No	39	35.8
total	109	100.0

The rate of clarithromycin-resistant mutations of *H. pylori* in patients included in the PP analysis was 64.2%

**3.2.2. *H. pylori* eradication in patients with chronic gastritis in general**

**3.2.2.1. *H. pylori* eradication rate by PP analysis**

**Table 3. 24 . *H. pylori* eradication rate by PP analysis**

Result	Amount	Ratio %
Success	95	87.2
Failure	14	12.8
total	109	100.0

Sequential regimen RA-RLT in patients with *H. pylori* chronic gastritis had a eradication rate of 87.2%

**3.2.2.2. *H. pylori* eradication rate by the ITT analysis**

**Table 3. 25 . *H. pylori* eradication rate by ITT analysis**

Result	Success	Failure	Lost to follow up	total
Amount	95	14	7	116
Ratio %	81.9	12.1	6.0	100

Sequential regimen RA-RLT in patients with *H. pylori* chronic gastritis had a eradication rate of ITT analysis of 81.9%

**3.2.2.3. *H. pylori* eradication in patients with and without clarithromycin-resistant mutations**

**Table 3. 26 . *H. pylori* eradication by clarithromycin- resistant mutations (analyse PP)**

Result			Success	Failure	total
Mutation	Yes	Amount	58	12	39
		%	82.9	17.1	100
	No	Amount	37	2	70
		%	94.9	5.1	100

*Test Chi squared, p = 0.071*

Comment: According to PP analysis, the success rate in the non-mutant group ( 94.9% ) was higher than the mutant group (82.9%). However, the difference was not statistically significant.

**Table 3. 27 . *H. pylori* eradication by clarithromycin- resistant mutations (analysis ITT )**

Result		Success	Failure	Lost to follow up	total	
Mutation	Yes	Amount	58	12	5	75
		%	77.3	16.0	6.7	100
	NO	Amount	37	2	2	41
		%	90.2	12.1	6.0	100

*Chi squared test, p = 0.183*

According to the ITT analysis, eradication rate in the group of no-clarithromycin-resistant mutations were higher (90.2%) than those with clarithromycin-resistant mutations (77.3%). However, the difference was not statistically significant

### 3.2.2.3. Adherence and side effects of regimen RA-RLT

† The adherence

Except for seven patients with unexplained follow-up loss, 116 patients underwent follow-up assessments of *H. pylori* eradication, with no patients discontinuing the drug because of adverse events. We assessed a compliance rate of 100%

† Side effects

Thirty seven of 109 (33.9%) patients treated with RA-RLT regimen reported side effects with RA-RLT

† The main side effects

The rates of patients with high-to-low adverse events was fatigue (6.5%), diarrhea (5.5%), abdominal pain (4.6%), altered taste (3.7%), nausea and vomiting (3.7%), itching (3.7%) and headache (1.8%). No patient has any serious side effects.

### 3.2.3. Relationship between *H. pylori* eradication by sequential regimen RA-RLT with other characteristics

#### 3.2.3.1. Relationship between *H. pylori* eradication and sex

Eradication rate for men are 89.8%, for women 85%. The difference in eradication rates between sexes was not statistically significant ( $p = 0.457$ ).

#### 3.2.3.2. Relationship between *H. pylori* eradication and age

The mean of age of eradicated and non eradicated group were  $46.30 \pm 14.96$  and  $41.79 \pm 11.1$ , respectively. The difference in age between the two groups was not statistically significant ( $p = 0.232$ ).

#### 3.2.3.3. Relationship between *H. pylori* eradication and geographic characteristic

Eradication rate in rural group and in urban group were 91.4% and 79.5%, respectively. The difference in between the two groups was not statistically significant ( $p = 0.074$ ).

#### 3.2.3.4. Relationship between *H. pylori* eradication and history of *H. pylori* treatment



Eradication rate in group of *H. pylori* untreated and treated were 91.5% and 78.9%, respectively. The difference in between the two groups was not statistically significant ( $p = 0.061$ ).

### 3.2.3.5. Relationship between *H. pylori* eradication and smoking status in men

**Table 3.34 . Distribution of *H. pylori* eradication by smoking status in men**

Smoking		Eradication result		Total
		Success	Failure	
Yes	Amount	32	first	33
	%	97	3	100
No	Amount	12	4	16
	%	75	25	100

Eradication rates in group of non-smokers and smokers were 97% and 75%, respectively. Difference is statistically significant ( $p = 0.017$ )

### 3.2.3.6. The relationship between *H. pylori* eradication and the lesion region on the endoscope

Eradication rates in the group with gastritis of antrum and group of gastritis of corpus or pangastritis were 87.5 and 86.5%, respectively. The difference between the two groups was not statistically significant ( $p = 0.881$ )

### 3.2.3.7. The relationship between *H. pylori* eradication and chronic inflammation in histopathology

Eradication rates in group of mild inflammation and moderate to severe inflammation were 90.1% and 78.6%, respectively. The difference between the two groups was not statistically significant ( $p = 0.115$ ).

### 3.2.3.8. The relationship between *H. pylori* eradication and inflammatory activity in histopathology

Eradication rate in non-active and mild inflammatory group was 89.1%, in moderate and severe inflammatory group was 84.4%. The difference between the two groups was not statistically significant ( $p = 0.740$ )

### 3.2.3.9. Relationship between *H. pylori* eradication and *H. pylori* density in antrum

**Table 3.38. Distribution eradication on the densities of *H. pylori***

<i>H. pylori</i> infection level		Eradication result		total
		Success	Failure	
Mild	Amount	69	5	74
	%	93.2	6.8	100
Moderated / severe	Amount	26	9	35
	%	74.3	25.7	100

Eradication rate in group of the mild density of *H. pylori* group was 93.2% , in the group of the moderate / severe was 74.3%. The difference between the two groups was statistically significant ( $p = 0.006$ ) .

### 3.2.3.9. Multivariate logistic regression analysis

**Table 3.39 . Univariate and multivariate regression analysis of variables with eradication results**

Characteristics	Univariate		Multivariate	
	p	OR (95% CI)	p	AOR (95% CI)
Mutation	0.090	0.26 (0.055-1.234)	0.63 4	0.06 (0.037 - 7.484)
<i>H. pylori</i> density	0,010	0.21 (0.064-0.683)	0.03 3	0.06 (0.004 - 0.795)
Smoking	0,043	0.09 (0.009-0.925)	0,0 29	0.05 (0.004 - 0.748)

The relationship between the clarithromycin-resistant mutation and *H. pylori* eradication was not statistically significant.

Moderate and severe *H. pylori* infection was a risk factor for the reduction of *H. pylori* treatment efficacy with OR 0.21 and AOR 0.06. Statistical significance was 0.010 and 0.033%, respectively.

Cigarette smoking is a risk factor for the reduction of *H. pylori* treatment efficacy with OR 0.09 and AOR 0.05, Statistical significance was 0.043 and 0.029, respectively

## CHAPTER 4: DISCUSSION

### 4.1. Study on clarithromycin-resistant mutations by PCR-RFLP method

#### 4.1.1 . Patients characteristics

##### 4.1.1.1. Gender and age

The rates of women and men were 55.7% and 44.3%, respectively. However, the difference was not statistically significant (Table 3.1). A meta-analysis in 2017 includes a number of studies from around the world. Of the four studies in Viet Nam, the proportion of women is higher than that of men. The study by Saito et al., In 2015, also found that females were more likely than males (42 woman, 38 men). Study by Nguyen Van Thinh et al. also showed similar trends (142 females, 137 males).

The mean age in our sample was  $44.1 \pm 13.47$  . The average age in our study was approximately equal to the average age in some other studies. The study of Saito et al in Japan, mean age 57.2, was higher than our study.

##### 4.1.1 .2. Diagnosis of *H. pylori* infection

There are many methods for diagnosing *H. pylori* infection , each with its own advantages disadvantages. According to Tongtawee T. et al., many methods will give more reliable results. In this study, patients were only included in the study when *H. pylori* was positive with 2 diagnostic methods.

##### 4.1.1 .3. Clinical symptoms

The most common clinical symptoms are epigastric pain or burning. The remaining in the order of high to low rates were abdominal distention, belching, vomiting or nausea or other symptoms (Figure 3.1).In comparison with the study by Le Thanh Hai et al., Takagi A. et al., Rodriguez-Garcia JL et

al., we found that all studies agree that epigastric pain is the most prominent manifestation.

#### *4.1.1.4. Geographic features*

The number of patients living in rural was higher (60.6%) than in urban (39.4%). The difference was statistically significant  $P < 0.05$  ( Table 3.4 ). We also suspected that in Quang Ngai and surrounding areas, the prevalence of *H. pylori* infection in rural areas was higher than in urban areas because of lower hygiene and socio-economic conditions..

#### *4.1.1.5. History of H. pylori treatment*

Patients with untreated *H. pylori* were 66.5% (Table 3.5). This suggests that understanding *H. pylori* in the community is low and therefore less likely to be treated for *H. pylori*, although the benefits of *H. pylori* treatment have been identified

#### *4.1.1.6. Regions of gastric lesions on endoscopy*

The lesion in *H. pylori* gastritis was mainly in the antrum (69.5%) (Table 3.6). This result is similar to that of Le Thanh Hai et al., 68.5%. This is lower than the study by Nguyen Thanh Dung et al., 87.63%. General characteristics of the study, the lesions in *H. pylori* gastritis only in the antrum are the most common. However, there is a difference in the proportion of studies.

#### *4.1.1.7. Forms of gastritis on endoscopy*

In endoscopy, the most common type of gastritis is erythematous, 30.5%, followed by flat erosive 19.7%. Other forms of gastritis such as raised erosive, rugal hyperplastic, reflux, atrophic, haemorrhagic are less common. This result is equivalent to that of Nguyen Thanh Dung and Quach Trong Duc. The similarities between these studies are: The most common form of gastritis is erythematous (Table 3.7).

#### *4.1.1.8. Chronic inflammation of the anal area on histopathology*

All patients had chronic inflammation on histopathology. Of these, 73.9% (150 cases) of mild inflammation, 26.1% (53 cases) moderate / severe chronic inflammation (table 3.8). The study of Khulusi S. showed that in patients with duodenal ulcer the rate of severe chronic inflammation was higher than that of patients without duodenal ulcer. Our study only patients with *H. pylori* gastritis without ulcers. Therefore, the rate of patients with severe chronic inflammation is significantly lower than that of chronic inflammation.

#### *4.1.1.9. Densities of H. pylori on the histopathology*

In this study, density of HP (+) accounted for the majority (71.4%) statistically significant (Table 3.9). According to Khulusi S. et al., The level of *H. pylori* infection in patients without duodenal ulcer was lower than that of ulcer patients . Our sample of patients is non-ulcer patients, so most patients have mild *H. pylori* infection .

### **4.1.2. Clarithromycin resistance mutation detected by PCR-RFLP method**

#### *4.1.2.1. PCR-RFLP method and applicability*

While expensive and time-consuming phenotypic methods, molecular methods have been proven to be faster and more accurate.. According to Klesiewicz K. et al., The two most important methods used to identify mutations are PCR-RFLP and Real-Time PCR, although other methods may be

used. According to Viana JS et al, the PCR-RFLP method has been proven to be simple, fast and accurate. Early studies applying the PCR-RFLP method to identify clarithromycin-resistant mutation of *H. pylori* in Vietnam have been successfully performed at the Department of Medical Genetics, Hue College of Medicine and Pharmacy. Researchers have demonstrated that this method is highly accurate in detecting clarithromycin-resistant mutations. Thus, in theory and practice, the application of PCR-RFLP method to the reality of Vietnam in general and in the Central region is very feasible.

#### *4.1.2.2. Rate of clarithromycin-resistant mutations*

The rate of clarithromycin-resistant mutations in our sample was 66.5% (135/320) (Figure 3.4).. According to Raymond J. et al., There is a strong correlation between the rate of clarithromycin resistance mutations and the rate of resistance detected by disk diffusion and E-test. In addition, over 90% of the strains of clarithromycin resistance have mutations in the *32S rRNA* gene, including A2143G, A2142G and A2142C. Compared with some phenotypic resistance studies, the rate of resistance in our study was higher than that of Nguyen Duc Toan et al. (36.6%), Phan Trung Nam et al. (42) , Dinh Cao Minh et al. (56.9%). Compared with some genotypic resistance studies, the rate of resistance in our study was higher than in the study by Phan Trung Nam et al. (42.4%) in 2013 , Ha Thi Minh Thi et al 2011 in 6 ( 35.4%)

#### *4.1.2.3. Types of clarithromycin-resistant mutations*

In this study, mutation rates of A2143G accounted for 97.8% (132/135), mutations A2142G accounted for 1.5% (2/135), and two mutations A2143G and the A2142G was 0.7% (1/203) and no A2142C mutation (Figure 3.4). This is equivalent to some other studies in the country . The study of Ho Dang Quy Dung et al. in 2014 by sequencing the gene, A2143G mutation accounted for 98.7%, A2142G mutation accounted for 1.3% and no mutation A2142C. The study of Ha Thi Minh Thi in 2016 by PCR-RFLP, mutation A2143G accounted for 92.5%, A2142G mutation accounted for 7.5% and no mutation A2142C.

With reference to national and international studies, we have commented that there are three models clarithromycin-resistant mutations of *H. pylori*. The first, in Europe and North America, mutations A2142G and A2143G have approximately the same rate. The second, in South Asia, mutation A2142G dominates and the third in Africa and Southeast Asia A2143G mutation dominates. Most studies, mutations A2142C very rare

### ***4.1.3. Relationship between mutations and other characteristics***

*4.1.3.1. Relationship between clarithromycin resistance mutations and patient age group*

Our study showed that rates of clarithromycin-resistant mutations were not associated with age group (Table 3.12). In 2016, Ji Z. et al. studied clarithromycin resistance on a large sample of 9687 *H. pylori*-infected patients who found that clarithromycin resistance in the 31-50 and 71-80 age group had a high rate of resistance than other age groups. We did not find the difference. Perhaps our sample is smaller.

#### *4.1.3.2. Relationship between clarithromycin-resistant mutation and sex*

The rates of resistance in women and men were 71.7 and 60%, respectively. The difference was not statistically significant ( $p = 0.08$ ) (Table 3.10). Trends in the rate of resistance in women are higher than those of men in the same way as those reported by Kobayashi I., et al (2007), Eghbali Z., et al (Italy), 2016, Vannarath S. et al. Laos) in 2016. Kobayashi I. explained that Japanese women are more likely to treat mild respiratory infections with clarithromycin due to childbirth experience and the prevalence of empiric clarithromycin use in respiratory infections .

#### *4.1.3.3. Relationship between clarithromycin-resistant mutations and geographic characteristic*

The rate of clarithromycin-resistant mutations detected by PCR-RFLP in patients living in urban was higher (75.5%) than that in rural (59.3%) (Table 3.13). Difference is statistically significant. Univariate regression analysis and multivariate (bait ng 3. 21 ) shows that living in urban increased risk of resistance mutations with OR = 2.34 claitromycin and AOR = 2.16. In Thailand, clarithromycin resistance in large cities (14%) is higher than in rural (3.7%). Maleknejad S. et al. Suggest that the prevalence of antibiotic resistance depends on socioeconomic conditions, living conditions, geographic area, drug use, and widespread drug use due to other deseases. In our country, there are differences in social and economic conditions, the level of ng between urban and rural areas. The use of antibiotics such as clarithromycin in urban areas may be more common in rural areas. This would suggest that the prevalence of clarithromycin resistance in urban areas is higher than in rural areas .

#### *4.1.3.4. Relationship between clarithromycin-resistant mutations and the history of treatment for H. pylori*

Figure 3.9 shows that in *H. pylori*-treated group the rate of clarithromycin-resistant mutations was higher (77.9%) than that of the *H. pylori*-untreated group (60.3%). Difference is statistically significant. Univariable and multivariate regression analysis revealed that *H. pylori*-treated individuals increased the risk of clarithromycin-resistant mutations with OR 2.28 and AOR 2.20 (Table 3.21).

In Vietnam, in 2013, Phan Trung Nam et al. studied the clarithromycin resistance of *H. pylori* by E-test. The rate of clarithromycin resistance in patients with *H. pylori* treated was 84.6%, untreated 30.2%. In 2014, Dinh Cao Minh and Bui Huu Hoang studied the clarithromycin resistance of *H. pylori* in patients who failed treatment. The results showed that the rate of clarithromycin resistance was 56.9%. In our study, the rate of clarithromycin resistance in patients treated was similar to that of Phan Trung Nam and higher than that of Selgrade's and Dinh Cao Minh's study. These similarities and differences may be due to geographical factors

## **4.2. H. pylori eradication and safety of sequential regimen RA-RLT**

### **4.2.1 . Patients characteristics**

In section 4.1, we analyzed the characteristics of patients in target 1. In Table 3.22 we have analyzed the similarities of the two samples of target 1 and target 2.

### **4.2.2 . H. pylori eradication results of sequential regimen RA-RLT**

#### **4.2.2.1. Selection of H. pylori treatment regimen**

The consequences of clarithromycin resistance are reduced efficacy of the standard 3-drug regimen. Therefore, a new regimen is needed to replace the standard 3 regimen. Levofloxacin is a new drug in the treatment of *H. pylori*. Some recent studies have used levofloxacin sequential regimen with encouraging results. Tinidazole in this regimen, compared with metronidazole, has some advantages over pharmacodynamics, pharmacokinetics, safety and tolerability, and had the potential to counteract metronidazole-resistant microorganisms. The choice of rabeprazole in our regimen is to limit the effect of the enzyme CYP2 C19. In terms of number of days of treatment, a pooled analysis of six levofloxacin sequential regimens showed that the difference in efficacy between treatment duration 10 versus 12 or 14 days was not statistically significant. Therefore, the number of days of treatment (10 days) in our study was reasonable.

#### 4.2.2.2. *H. pylori* eradication results in sequential regimen RA-RLT in patients with chronic gastritis

The rate of *H. pylori* eradication in this study in PP and ITT analysis were 87.2% and 81.9%, respectively (Table 3.24 and Table 2.25). This is not an ideal eradication rate but can be considered as a useful a regimen, especially in the current situation, antibiotic resistance is increasing in the world as well as in the country and the treatment of *H. pylori* is increasingly difficult

##### † Comparison with levofloxacin and tinidazole sequential regimens

Our results are lower than those of Romano M. et al in Italy (98.4% according to the PP analysis and 96.8% according to the ITT analysis). The author also suggests that levofloxacin sequential regimen should be used as a first-line regimen.. Compared with the 2012 study by Qian J. et al. In China (86.5% according to the PP analysis and 82.8% according to the ITT analysis) our results are similar. In Vietnam, in 2016, Nguyen Phan Hong Ngoc studied the levofloxacin-containing sequential regimen similar to our study. Eradication of *H. pylori* according to the ITT and PP analysis, respectively 73.5% and 81.5% were lower than our study

##### † Comparison with levofloxacin and metronidazole sequential regimens

In 2010, in Spain, Molina-Infante J. et al. compared 4 regimens. Results of this study show the eradication rate of levofloxacin-containing sequential regimen was 85.5% according to the PP analysis and 82.5% according to the ITT analysis. This rate was significantly higher than the standard triple regimen with clarithromycin. In 2011, in Taiwan, Liou JM et al applied levofloxacin sequential regimen for the second line. The results of this study, the eradication rate of 96.4% according to PP analysis and 95.1 % according to ITT analysis. This is an ideal rate and this result is influenced by metronidazole resistance. Thus, international studies have shown that levofloxacin sequential regimen is superior to the standard triple regimen

#### 4.2.2.3. *H. pylori* eradication in patients with and without clarithromycin-resistant mutations

Table 3.2 6 and Table 3.2 7 show that, according to PP and ITT analysis, the association between *H. pylori* eradication efficacy of regimen RA-RLT and clarithromycin resistance mutations was not statistically significant.

Clarithromycin resistance has been shown to reduce the efficacy of the standard triple regimen and sequential regimen, two clarithromycin-based regimens. The RA-RLT is a modified sequential regimen without clarithromycin and is therefore not associated with clarithromycin resistance. Liou et al. applied a 10-day levofloxacin-containing sequential regimen in patients who had first-time treatment with eradication rates of 96.4% and 95%, according to PP and ITT analysis, respectively. The eradication rate was 90.2% in the group with clarithromycin resistance mutation, 94.7% in the non clarithromycin-resistant group, the difference was not statistically significant. This comparative study is similar to our own. Based on this finding, we believe that RA-RLT regimen can be used for both patients with and without clarithromycin resistance. In addition, if using this regimen, clarithromycin sensitivity testing before treatment is not necessary. This can save significant cost and time.

#### *4.2.2.4. Adherence to treatment and side effects*

##### *† Adherence*

Except for 7 patients who lost their follow-up, patients in our study who completed the regimen were 109 out of 109 (100%), and no patient was discontinued due to side effects. Adherence is an important factor influencing *H. pylori* eradication. Poor adherence is defined as less than 80%, good adherence is over 90% of the drug is given. According to this definition, regimen RA-RLT in this study belongs to good compliance regimens

*† Comparison with studies applying the same levofloxacin and tinidazole sequential regimen.*

Romano M. et al. applied three sequential regimens with clarithromycin, levofloxacin 250 mg and levofloxacin 500 mg regimen. The two regimens with levofloxacin are compliant 100%. Qian J. et al. Used 3 regimens including 3 drugs with levofloxacin, the standard sequential and the levofloxacin sequential regimen. In terms of adherence, one of 116 patients who used levofloxacin sequential regimen had to stop treatment due to side effects. Thus, compared with the same studies, all showed that the regimen RA-RLT had a good level of adherence.

*† Comparison with other studies applying levofloxacin and metronidazole sequential regimens*

Aydin A. et al. applied 14 days sequential regimens with levofloxacin and metronidazole. All patients completed the treatment regimen. Molina-Infante J. et al. studied four 10-day regimens. In this study, 4 out of 115 patients with levofloxacin-containing sequential regimen dropped out. A meta-analysis of Kale- Pradhan PB et al., included 738 patients using levofloxacin-containing sequential regimen and 733 patients using standard triple standard or standard sequential regimen. Considering the number of patients quitting due to side effects, there was no statistically significant difference between the regimens. Thus, the adherence level of levofloxacin

-Containing sequential regimen RA-RLT is acceptable in clinical practice similar to the standard triple regimen and the standard serial regimen.

##### *† Side effects*

Our study regimen has a variety of adverse effects in terms of common levels: fatigue, diarrhea, altered taste, abdominal pain, headache, nausea, vomiting, itching. However, these side effects occur at low frequency (highest is fatigue, diarrhea 5.8%), and the majority have mild symptoms (Table 3.29). Compared with other studies in the same regimen, we found differences in the rate of side effects, but were generally low and self-recovery. The study by Qian J. et al. (2012), found that 5,17% (6/116) of patients had side effects and all were mild and moderate, self-recovery symptoms following complete treatment. Romano M. et al. (2010) reported that 23.5% (29/123) of patients reported side effects, but not to the extent that treatment was stopped. The study by Chuah SK et al. (2016) found that 26.5% (23/81) of patients on levofloxacin- containing sequential regimens reported side effects and were not severe enough to stop treatment.

Thus, although the sequential regimen RA-RLT in our study have many side effects and these side effects are quite diverse, but most only mild and self-recovery. Of those patients who had a second visit, none of the patients had discontinued the drug because of side effects.

### **4.2.3. Relationship between *H. pylori* eradication efficacy with other characteristics**

#### *4.2.3.1. Relationship between *H. pylori* eradication and sex*

In our study, the incidence of *H. pylori* eradication in males was 89.8%, in females 85.0%, the difference was not statistically significant (Table 3.35). The study on the levofloxacin sequential regimen of Branquinho D. et al in Portugal, eradication rates in females was 62% and no statistically significant differences compared to males. The study of Lee H. et al in Italy with the levofloxacin sequential regimen *H. pylori* eradication rate was 72.3% of men and 86.4% in women. The difference was not statistically significant ( $p = 0.016$ ).

#### *4.2.3.2. Relationship between *H. pylori* eradication results and patient age*

Our study showed that the rate of *H. pylori* eradication was not related to the mean age of the patients (Table 3.36). In a levofloxacin-containing sequential regimen study in 75 patients with dyspepsia non-ulcer in 2012, Polat et al found that the eradication rate was not related to the patient's age

#### *4.2.3.3. Relationship between *H. pylori* eradication and geographic characteristic*

Analysis of eradication of *H. pylori* by geography showed that the eradication rate in patients living in rural areas was 91.4%, in urban areas 79.5%, but the difference was not significant statistics with  $p = 0.71$  (table 3.37). The study by Shin W. G. et al., 2016, shows that eradication rates depend on the total number of macrolides used by the locality. The urban success rate in urban areas in our study may be related to the number of clarithromycin in particular and to antibiotics in general between urban and rural geographic groups. However, our sample size is not large enough.

#### *4.2.3.4. Relationship between eradication and *H. pylori* treatment history*

In this study, the eradication rate with modified levofloxacin-containing sequential RA-RLT regimen in the *H. pylori*-treated and non-treated *H. pylori* group was 91.5% versus 78.9% (Table 3.33). However, the difference was not



statistically significant.. In the Romano et al. Study, after 1 or more treatment failure, the rate of amoxicillin resistance increased from 3.1% to 3.1%, metronidazole increased from 27% to 41.3%, levofloxacin increased from 3% up 14.6%. All three antibiotics are included in our regimen RA-RLT. Thus, in our study the eradication rate in the treated group was lower than in the untreated group. However, the difference was not statistically significant because the sample size was not large enough

#### 4.2.3.5. Relationship between *H. pylori* eradication and smoking status

Table 3.34 showed that *H. pylori* eradication was statistically related to smoking status among in men. In the group of smokers, the eradication rate is 75%, in the the non-smokers group, the rate is 97%. The univariate and multivariate regression showed that smoking reduced *H. pylori* eradication with OR = 0.09 and AOR = 0.05 (table 3.39). In 2017, Itskoviz D. et al analyzed 120,914 *H. pylori* infections.. Results of this study showed that smoking increased treatment failure rates significantly with  $p < 0.001$ , OR = 1.15.. However, there are some studies that show no association between smoking status and *H. pylori* eradication rates.

#### 4.2.3.6. Relationship between eradication and *H. pylori* density in antrum

The results of this study show that *H. pylori* eradication rates in patients with mild *H. pylori* infection were higher (93.2%) than those with moderate and severe infections (Table 3.38). Difference is statistically significant. The univariate and multivariate regression analysis (Table 3.39) showed moderate and severe *H. pylori* infection that reduced the *H. pylori* eradication rate of regimen RA-RLT with OR = 0.21 and AOR = 0.06. The study by Shah D. K. and the treating patients with *H. pylori* infection showed that the eradication rate was significantly higher in patients with mild to moderate *H. pylori* infection (Figure 4.4). Moshkowitz M. et al. Suggest that *H. pylori* infection should be considered a predictor of *H. pylori* eradication. Our research is consistent with the results of this study.

### 4.3 . Limitations of the study

We do not apply the standard triple regimen that is currently in widespread use for more convincing results. However, it is not ethical to study the use of standard triple regimen when we know that the rate of clarithromycin resistance in central Vietnam is over 40%.

This study was designed prior to some studies of levofloxacin resistance in Vietnam. Some studies in the world that use levofloxacin sequential regimen similar to our study achieved a high eradication rate of over 90%. Meanwhile, the success rate in our study was only acceptable. The reason for the possible resistance of levofloxacin according to early studies is quite high .

This study only identified *H. pylori* eradication by Clotest at antrum. This can lead to false negative results. Recent recommendations recommend sampling both at corpus and antrum

## CONCLUSIONS

By studying genetic mutations of resistance to clarithromycin of *H. pylori* by PCR-RFLP method in 203 patients with chronic gastritis and results of eradication of *H. Pylori* of levofloxacin-containing modified sequential regimen RA-RLT in 116 patients Of these patients from January 2013 - 12/2015, we have some conclusions

### **1. Mutations of *H. Pylori* clarithromycin resistant in patients with chronic gastritis**

1.1. The rate of clarithromycin-resistant mutation gene of *H. pylori* detected by PCR-RFLP was 65.5%, among them, 97.8% of A2143G alone, 1.5% of A2142G alone, specially 0.7% of mutations A and B and no A214C

1.2. Living in urban and a history of *H. pylori*-treated patients were two risk factors for increasing clarithromycin-resistant mutation of *H. pylori* at AOR with the multivariate regression analysis of 2.16 and 2.0, respectively

### **2. The results of *H. pylori* eradication with the modified sequential regimen RA-RLT**

The rates of *H. pylori* eradication of RA-RLT regimen in all patients with chronic gastritis in PP and ITT analysis were 87.2% and 81.8%, respectively, in patients with clarithromycin-resistant mutation were 82.9% and 77.3%, respectively, in patients without clarithromycin-resistant were 94.9% and 90.2%, respectively. There was no statistically significant difference in the eradication between the group with and without the clarithromycin-resistant mutation. The adherence rate is 100%, the rate of side effects is 33.9%.

2.2. Smoking status in men and moderate or severe *H. pylori* densities were two risk factors for the reduction of *H. pylori* eradication in modified levofloxacin-containing sequential regimen RA-RLT in patients with gastritis. The odds ratios of multiple regression analysis were 0.06 and 0.06

## SUGGESTIONS

Based on this research, we have the following recommendations:

In Quang Ngai in particular and Central Vietnam in general

1. The easy-to-use, less time-consuming PCR-RFLP can be used to detect clarithromycin resistance as a substitute for culture and antibiotic sensitive test, serving local clarithromycin resistance research and *H. pylori* treatment for each patient

2. Modified sequential regimen with levofloxacin RA-RLT may be considered as one of the options for the first or second eradication of *H. pylori* after failure by other regimens in areas with high rates of clarithromycin resistance

**LIST OF PUBLISHED ARTICLES  
OF THE AUTHOR RELATED TO THE THESIS**

1. **Pham Ngoc Doanh, Tran Van Huy** (2016). Sequential Regimens in The Treatment of *Helicobacter pylori*. *Journal of Practical Medicine* No. 5, 4-7.

2. **Pham Ngoc Doanh, Tran Van Huy, Ha Thi Minh Thi** (2015). Study on Mutations of Clarithromycin Resistance of *Helicobacter pylori* in Quang Ngai by PCR-RFLP method Vietnam Digestive Science Journal IX (41), 2620-2628

3. **Pham Ngoc Doanh, Tran Van Huy** (2018) Effectiveness and tolerability of modified sequential regimen with levofloxacin in *Helicobacter pylori* eradication treatment. *Journal of Medicine and Pharmacy* 7, No. 6, 73-77