

TỈ LỆ PHÁT HIỆN VI KHUẨN *HELICOBACTER PYLORI* TRÊN BỆNH NHÂN VIÊM LOÉT DẠ DÀY – TÁ TRÀNG TẠI BỆNH VIỆN TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC CẦN THƠ

Nguyễn Thành Nam^{1*}, Đỗ Hoàng Long², Hoàng Đức Trình²

1. Khoa Y Dược – Đại học Đà Nẵng

2. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: ntnam@smp.udn.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Vi khuẩn *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) đóng vai trò quan trọng trong bệnh nguyên, bệnh sinh của viêm loét dạ dày - tá tràng. Có nhiều phương pháp chẩn đoán *H. pylori* như giải phẫu bệnh, xét nghiệm urease nhanh, kỹ thuật Real-time PCR mẫu nước bọt. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định tỉ lệ phát hiện vi khuẩn *H. pylori* bằng các xét nghiệm: Real-time PCR trên mẫu nước bọt; xét nghiệm urease nhanh; xét nghiệm mô bệnh học trên bệnh nhân viêm loét dạ dày - tá tràng và tìm hiểu mối liên quan của các xét nghiệm. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 91 bệnh nhân có chẩn đoán lâm sàng viêm loét dạ dày - tá tràng có chỉ định nội soi dạ dày và sinh thiết mẫu mô tìm vi khuẩn *H. pylori*. **Kết quả:** Tỉ lệ phát hiện *H. pylori* bằng kỹ thuật Real-time PCR là 20,9% cao hơn xét nghiệm urease (19,8%) và thấp hơn xét nghiệm mô bệnh học (46,2%). Độ tương đồng của xét nghiệm Real-time PCR với xét nghiệm urease và mô bệnh học ở mức dưới trung bình với $0,2 < \kappa < 0,4$. **Kết luận:** Xét nghiệm mô bệnh học là xét nghiệm có tỉ lệ phát hiện vi khuẩn *H. pylori* cao hơn so với xét nghiệm urease và xét nghiệm Real-time PCR.

Từ khóa: *Helicobacter pylori*, Real-time PCR, nước bọt, viêm loét dạ dày-tá tràng.

ABSTRACT

**THE DETECTION RATE OF *HELICOBACTER PYLORI*
IN SALIVA OF GASTRITIS AND DUODENITIS PATIENTS
BY REAL-TIME PCR TECHNIQUE AT CAN THO UNIVERSITY OF
MEDICINE AND PHARMACY HOSPITAL**

Nguyen Thanh Nam^{1*}, Do Hoang Long², Hoang Duc Trinh²

1. School of Medicine And Pharmacy - University of Da Nang

2. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) plays an important role in the etiology and pathogenesis of gastritis and duodenitis. There are many methods to diagnose *H. pylori* such as pathology, rapid urease test, and Real-time PCR technique for saliva samples. **Objectives:** To determine the rate of *H. pylori* bacteria by tests: Real-time PCR of saliva samples; urease test; histopathology test of gastritis and duodenitis patients and find out the relationships of tests **Materials and methods:** A cross-sectional descriptive study was conducted on 91 patients being diagnosed with gastritis and duodenitis and indicated for gastric endoscopy, tissue biopsy to find *H. pylori*. **Results:** The rate of *H. pylori* detected in saliva using Real-time PCR technique was 20.9%, higher than urease test (19.8%) and lower than histopathology test (46.2%). The similarity of Real-time PCR test with urease test and histopathology is below average with $0.2 < \kappa < 0.4$. **Conclusion:** Histopathology is a test with a higher detection rate of *H. pylori* than urease test and Real-time PCR test.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Real-time PCR, saliva, gastritis and duodenitis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm loét dạ dày-tá tràng (DD-TT) do nhiễm vi khuẩn *H. pylori* là bệnh nhiễm trùng mạn tính đường tiêu hóa phổ biến nhất trên thế giới, các nghiên cứu dịch tễ học khác nhau đã chỉ ra rằng khoảng 50% dân số người bị nhiễm vi khuẩn này [10]. Thêm vào đó, *H. pylori* đóng vai trò quan trọng trong bệnh nguyên và bệnh sinh viêm loét DD-TT, đặc biệt *H. pylori* là yếu tố sinh ung nhóm I gây ung thư dạ dày [7].

Việc chẩn đoán chính xác nguyên nhân gây viêm, loét DD-TT do *H. pylori* hiện nay chủ yếu được căn cứ dựa trên các xét nghiệm cận lâm sàng với hai phương pháp: xâm lấn và không xâm lấn. Chẩn đoán bằng xét nghiệm urease nhanh thường được chỉ định vì xét nghiệm này có ưu điểm là cho kết quả nhanh với độ đặc hiệu từ 95 – 100%, tuy nhiên kỹ thuật này có nhược điểm là có thể cho kết quả âm tính giả khi dùng thuốc ức chế bơm proton, kháng sinh, kháng viêm, và phải kết hợp nội soi xâm lấn. Các phương pháp chẩn đoán khác như giải phẫu bệnh, huyết thanh chẩn đoán, xét nghiệm hơi thở, xét nghiệm kháng nguyên vi khuẩn trong phân cũng được áp dụng trong y học hiện nay [3]. Với mong muốn ứng dụng kỹ thuật PCR nhưng không phải liên kết với phương pháp lấy mẫu xâm lấn, đã có vài tác giả trong và ngoài nước tiến hành tìm vi khuẩn *H. pylori* ở trong nước bọt của bệnh nhân có hoặc không có viêm loét DD-TT và thu được kết quả rất hấp dẫn. Trên cơ sở đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu tỉ lệ phát hiện vi khuẩn *Helicobacter pylori* trong nước bọt bằng kỹ thuật Real-time PCR trên bệnh nhân viêm loét dạ dày – tá tràng tại Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Cần Thơ với mục tiêu:

Xác định tỉ lệ phát hiện vi khuẩn *H. pylori* bằng các xét nghiệm: Real-time PCR trên mẫu nước bọt; xét nghiệm urease nhanh; xét nghiệm mô bệnh học trên bệnh nhân viêm loét dạ dày-tá tràng và tìm hiểu mối liên quan giữa các xét nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- **Đối tượng nghiên cứu:** Bệnh nhân có chẩn đoán lâm sàng viêm loét DD-TT được chỉ định nội soi dạ dày và bấm sinh thiết mẫu mô phát hiện *H. pylori* tại Trung tâm Nội soi – Nội soi can thiệp của Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

- **Tiêu chuẩn loại trừ:**

Không đưa vào nghiên cứu những bệnh nhân có sử dụng thuốc kháng sinh hoặc phác đồ điều trị *H. pylori* trong vòng 28 ngày trước khi đến khám; bệnh nhân không có khả năng trả lời phỏng vấn hoặc không đủ điều kiện thực hiện nội soi theo chỉ định. Loại khỏi nghiên cứu những trường hợp không ghi nhận được một trong các kết quả xét nghiệm Real-time PCR, xét nghiệm urease và xét nghiệm mô bệnh học.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

- **Cỡ mẫu:** tính theo công thức:

$$n = \frac{Z^2 \times p \times (1 - p)}{d^2}$$

Với độ tin cậy 95% ($Z=1,96$), ($p = 0,63$) [5], sai số cho phép 10% ($d = 0,1$). Tính được cỡ mẫu tối thiểu là 89, trong nghiên cứu này, chúng tôi thu thập được $n = 91$.

- **Nội dung nghiên cứu:**

+ Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu: bao gồm tuổi được tính theo năm dương lịch (lấy năm nghiên cứu trừ năm sinh); giới tính, có 2 giá trị là nam hay nữ. Trình độ học vấn dựa theo lớp học cao nhất của đối tượng nghiên cứu xác định trên từ Trung học phổ thông (THPT) trở lên hay dưới THPT. Vùng sinh sống được chia là thành thị hay nông thôn.

+ Tỷ lệ dương tính với *H. pylori* trong nước bọt bằng kỹ thuật Real-time PCR, tỷ lệ dương tính với xét nghiệm urease, tỷ lệ dương tính với *H. pylori* bằng xét nghiệm mô bệnh học: âm tính hay dương tính.

+ Độ tương thích giữa các xét nghiệm dựa trên chỉ số Cohen's kappa: Tương thích yếu khi $\kappa < 0,2$; độ tương thích dưới trung bình khi $0,21 < \kappa < 0,4$; độ tương thích trung bình khi $0,41 < \kappa < 0,6$; độ tương thích tốt khi $0,61 < \kappa < 0,8$; độ tương thích rất tốt khi $0,81 < \kappa < 1$.

- **Phương pháp thu thập số liệu:**

+ Thu thập thông tin bệnh nhân và đặc điểm chung bằng bộ câu hỏi phỏng vấn.

+ Với xét nghiệm Real-time PCR: Hướng dẫn bệnh nhân nhổ trực tiếp vào lọ đựng mẫu. Mẫu nước bọt được bảo quản ở tủ -20°C , thực hiện tách chiết thu DNA bằng bộ kit định tính *H. pylori* ^{iVA}HP rPCR Kit (VA.A02-019D - 50 Tests/Bộ) của công ty Cổ phần Công nghệ Việt Á. Phản ứng khuếch đại gen được thực hiện với PYLORI-PCR mix chứa cặp đoạn mồi (primers) và cho sản phẩm đích mong đợi có chiều dài 203 cặp base:

5' - AGCGCTCTCACTTCCATAGGC - 3'

5' - TCTTCGGTTAAAAAAGCGAT - 3'

Xác định mẫu dương tính khi chứng dương đạt yêu cầu và đường biểu diễn dương tính trước chu kỳ 36.

+ Với xét nghiệm urease nhanh: Bấm 1 mảnh sinh thiết trong lúc nội soi để kiểm tra, đọc kết quả sau 60 phút, xác định mẫu dương tính khi xuất hiện màu tím quanh mẫu mô trong môi trường gel màu vàng.

+ Với xét nghiệm mô bệnh học: Mẫu sinh thiết làm mô bệnh được lấy cùng lúc và

cùng vị trí với xét nghiệm urease, được bảo quản trong dung dịch formol 10%, thực hiện đúc paraffin, cắt mỏng 3 - 5µm dán lamelle và nhuộm Giemsa để tìm *H. pylori*. Kết quả được bác sĩ chuyên khoa giải phẫu bệnh đọc theo tiêu chuẩn hệ thống Sydney cải tiến [9].

- **Phương pháp xử lý số liệu:** sử dụng phần mềm SPSS 16.0, sử dụng test kiểm định Chi bình phương, xác định mức độ tương thích bằng chỉ số Cohen's kappa.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Kết quả nghiên cứu trên 91 bệnh nhân, độ tuổi $40,24 \pm 13,67$ (độ tuổi nhỏ nhất là 15 tuổi, lớn nhất là 68 tuổi).

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm		Số lượng (n)	Tỉ lệ (%)
Giới tính	Nam	39	42,9%
	Nữ	52	57,1%
Trình độ học vấn	THPT trở lên	35	38,5%
	Dưới THPT	56	62,5%
Nơi cư trú	Thành thị	44	48,4%
	Nông thôn	47	51,6%

Nhận xét: Nữ giới chiếm 57,1%, cao hơn nam giới là 42,9%, tỉ lệ nhóm có trình độ dưới THPT chiếm 62,5% cao hơn nhóm trên THPT là 38,5%, tỉ lệ nhóm đối tượng sống ở nông thôn chiếm 51,6%.

3.2. Tỉ lệ phát hiện vi khuẩn *H. pylori* bằng các xét nghiệm Real-time PCR, urease nhanh, mô bệnh học và mối liên quan giữa các xét nghiệm

Bảng 2. Tỉ lệ phát hiện *H. pylori* trong nước bọt bằng xét nghiệm Real-time PCR

Kết quả	Số lượng (n)	Tỉ lệ (%)
Dương tính	19	20,9%
Âm tính	72	79,1%
Tổng	91	100%

Nhận xét: Tỉ lệ phát hiện *H. pylori* trong nước bọt bằng xét nghiệm Real-time PCR của đối tượng nghiên cứu là 20,9%.

Bảng 3. Tỉ lệ phát hiện *H.pylori* bằng xét nghiệm Urease

Kết quả	Số lượng (n)	Tỉ lệ (%)
Dương tính	18	19,8%
Âm tính	73	80,2%
Tổng	91	100%

Nhận xét: Tỉ lệ phát hiện vi khuẩn *H.pylori* bằng xét nghiệm Urease của đối tượng nghiên cứu là 19,8%.

Bảng 4: Tỉ lệ phát hiện *H.pylori* bằng xét nghiệm mô bệnh học

Kết quả	Số lượng (n)	Tỉ lệ (%)
Dương tính	42	46,2%
Âm tính	49	53,8%
Tổng	91	100%

Nhận xét: Tỉ lệ dương tính với vi khuẩn *H.pylori* trong nước bọt là 46,2%.

Bảng 5: Mối liên quan giữa tỉ lệ phát hiện *H.pylori* bằng Real-time PCR trong nước bọt với tỉ lệ phát hiện *H.pylori* bằng xét nghiệm urease

Xét nghiệm Urease		Real-time PCR		Tổng số	OR	p	Kappa
		Dương tính	Âm tính				
Dương tính	Số lượng	7	11	18	3,235	0,036	0,22
	Tỉ lệ %	38,9	61,1	100			
Âm tính	Số lượng	12	61	73			
	Tỉ lệ %	16,4	83,6	100			

Nhận xét: Tỉ lệ phát hiện bằng PCR khi đã dương tính với xét nghiệm urease là 38,9%, tỉ lệ âm tính với PCR khi đã âm tính với xét nghiệm urease là 83,6%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê và độ tương đồng giữa hai xét nghiệm ở mức dưới trung bình.

Bảng 6. Mối liên quan giữa tỉ lệ phát hiện *H.pylori* bằng Real-time PCR trong nước bọt với xét nghiệm mô bệnh học

Xét nghiệm mô bệnh học		Real-time PCR		Tổng số	OR	p	Kappa
		Dương tính	Âm tính				
Dương tính	Số lượng	15	27	42	6,25	0,001	0,29
	Tỉ lệ %	35,7	64,3	100,0			
Âm tính	Số lượng	4	45	49			
	Tỉ lệ %	8,2	91,8	100,0			

Nhận xét: Tỉ lệ phát hiện *H.pylori* bằng PCR khi đã dương tính với xét nghiệm mô bệnh học là 35,7%, tỉ lệ âm tính với PCR khi đã âm tính với xét nghiệm mô bệnh học là 91,8%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê và độ tương đồng giữa hai xét nghiệm ở dưới trung bình.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ nữ giới có chẩn đoán lâm sàng viêm, loét dạ dày và được chỉ định nội soi chiếm 57,1%, cao hơn nam giới 42,9%. Tỉ lệ phân bố giới tính của chúng tôi cũng tương tự với tác giả cũng phù hợp với tác giả Trần Thiện Trung và cộng sự năm 2016 ghi nhận tỉ lệ nữ giới là 57,2%, nam giới là 42,8% [13]. Tác giả Trần Thị Như Lê nghiên cứu về thực trạng nhiễm *H. pylori* trên bệnh nhân viêm, loét DD – TT tại Bệnh viện Đa khoa trung tâm Tiền Giang ghi nhận tỉ lệ nữ giới 50,5%, nam giới 49,5% [4].

Chúng tôi ghi nhận tỉ lệ bệnh nhân sống ở vùng nông thôn (51,6%) cao hơn thành thị (48,4%). Tại Việt Nam, cho đến nay chưa có một nghiên cứu dịch tễ học trên phạm vi cả nước, do đó chúng ta chưa biết được sự khác nhau về tỉ lệ nhiễm *H. pylori* giữa thành thị và nông thôn [2].

4.2. Tỉ lệ phát hiện vi khuẩn *H. pylori* và mối liên quan giữa xét nghiệm Real-time PCR, urease nhanh và mô bệnh học

Nghiên cứu được thực hiện trên 91 bệnh nhân có triệu chứng viêm, loét DD-TT được chỉ định nội soi, bấm sinh thiết từ tháng 12/2020 đến tháng 06/2021 tại Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Cần Thơ. Chúng tôi ghi nhận tỉ lệ phát hiện vi khuẩn *H. pylori* bằng xét nghiệm mô bệnh học chiếm tỉ lệ cao nhất. Các tài liệu nghiên cứu đều chỉ ra rằng *H. pylori* lây từ người sang người theo đường tiêu hóa, các phương thức lây truyền chính là qua đường miệng – miệng, đường phân – miệng, đường dạ dày – miệng [1]. Trong nghiên cứu của chúng tôi cũng đã phát hiện vi khuẩn *H. pylori* trong nước bọt bằng kỹ thuật Real – time PCR nhưng với tỉ lệ thấp.

Kết quả ghi nhận tỉ lệ phát hiện vi khuẩn *H. pylori* trong nước bọt bằng kỹ thuật Real – time PCR thấp hơn so với nghiên cứu của tác giả Sekhar Goud và cộng sự thực hiện năm 2019 là 75% [12]. Khác biệt này có thể do cỡ mẫu nghiên cứu, khi tác giả đánh giá trên 4 trường hợp có triệu chứng viêm, loét dạ dày thì có 3 trường hợp dương tính với *H. pylori* trong nước bọt. Theo tác giả Triệu Tiến Sang và cộng sự, tỉ lệ phát hiện *H. pylori* bằng PCR trong nước bọt của các bệnh nhân có triệu chứng viêm loét dạ dày tá tràng là 63% [6], cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi, nghiên cứu của tác giả sử dụng 2 cặp mồi đặc hiệu cho vi khuẩn, do đó độ nhạy sẽ cao hơn so với chúng tôi khi chỉ sử dụng 1 cặp mồi.

Tỉ lệ dương tính với xét nghiệm urease trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của tác giả Trần Thị Như Lê và cộng sự thực hiện tại Bệnh viện Đa khoa Trung tâm Tiền Giang năm 2020 [2]. Các mẫu dương tính với xét nghiệm urease có tỉ lệ dương tính với *H. pylori* trong nước bọt là 38,9%, thấp hơn so với nghiên cứu của Triệu Tiến Sang và cộng sự là 100% [6]. Khi so sánh kết quả phương pháp Real-time PCR trên mẫu nước bọt với xét nghiệm urease cho thấy tỉ lệ phát hiện tương đương, tuy nhiên độ tương thích ở mức thấp.

Đối với kết quả xét nghiệm mô bệnh học bằng kỹ thuật nhuộm Giemsa phát hiện vi khuẩn *H. pylori* thì kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tỉ lệ phát cao hơn so với kết quả nghiên cứu của tác giả Trần Minh Luận thực hiện tại Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Cần Thơ năm 2018 [5]. Với độ đặc hiệu là >95%, khi kết hợp với xét nghiệm nuôi cấy thành công thì phương pháp mô bệnh học xem như tiêu chuẩn vàng trong xét nghiệm phát hiện *H. pylori* [8], [11]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ phát hiện *H. pylori* bằng Real-time PCR trong nước bọt thấp hơn nhiều so với tỉ lệ phát hiện trên mô bệnh học. Kết quả này có thể xuất phát từ sự phân bố mật độ vi khuẩn trong dạ dày và trong nước bọt khác nhau.

V. KẾT LUẬN

Tỉ lệ phát hiện *H. pylori* bằng xét nghiệm mô bệnh học là cao nhất, tiếp theo là xét nghiệm Real-time PCR trong mẫu nước bọt, tỉ lệ phát hiện bằng xét nghiệm urease thấp nhất. Mỗi phương pháp có ưu điểm riêng và độ tương đồng giữa xét nghiệm Real-time PCR với xét nghiệm urease và xét nghiệm mô bệnh học ở mức thấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Quang Cừ (2008), *Helicobacter pylori* vi khuẩn gây bệnh dạ dày - tá tràng, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 8 - 25.
2. Phạm Ngọc Doanh (2019), *Nghiên cứu tỷ lệ kháng clarithromycin của H. pylori bằng phương pháp PCRRFLP và kết quả điều trị của phác đồ nối tiếp cải tiến RA-RLT ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn*, Luận án tiến sĩ, tr. 4-12.
3. Châu Ngọc Hoa (2012), *Bệnh học Nội khoa*, Nhà xuất bản Y học, Thành phố Hồ Chí Minh, tr. 247 – 257.
4. Trần Thị Như Lê (2020), *Thực trạng nhiễm Helicobacter pylori trên bệnh nhân viêm loét dạ dày – tá tràng tại Bệnh viện Đa khoa Trung tâm Tiền Giang*, *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ* (33)
5. Trần Minh Luận (2018), *Nhận xét đặc điểm lâm sàng, hình ảnh nội soi, mô bệnh học bệnh viêm dạ dày mạn do nhiễm Helicobacter pylori tại bệnh viện Trường Đại học Y Dược Cần Thơ năm 2017-2018*, *Luận văn tốt nghiệp*, tr. 45-49.
6. Triệu Tiến Sang và cộng sự (2019), *Nghiên cứu xây dựng quy trình chẩn đoán Helicobacter pylori trong mẫu nước bọt bằng phương pháp PCR*, *Tạp chí khoa học công nghệ Việt Nam*, 61(12), tr. 9 - 13.

7. Hoàng Trọng Thăng (2007), *Helicobacter pylori* và bệnh lý liên quan đến dạ dày tá tràng, *Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt Nam*, 2(6), tr. 362 - 369.
8. Adler et al (2014), *Helicobacter pylori* and oral: relationship with the gastric infection *World J Gastroenterol*, 20(29), pp. 9922 - 9935.
9. Andrew A, Wyatt JL, Dixon MF(1994), Observer variation in the assessment of chronic gastritis according to the Sydney system. *Histopathology*, 25(4), pp. 317 - 322.
10. Atherton John C, Blaser Martin J (2015), *Helicobacter pylori* infections *Harrison's principles of internal medicine*, The Mc Graw Hill, New York, 19e(1), pp. 1038 - 1042.
11. Dana L Bruden et al (2011), Diagnostic accuracy of tests for *Helicobacter pylori* in an Alaska Native population, *World J Gastroenterol*, 17(42), pp. 4682 - 4688.
12. Sekhar Goud E V S et al (2019), Identification of *Helicobacter pylori* in saliva of patients with and without gastritis by polymerase chain reaction, *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, (3), pp. 523 - 529.
13. Tran Thien Trung et al (2019), Value of CIM, CLO Test and Multiplex PCR for the Diagnosis of *Helicobacter Pylori* Infection Status in Patients with Gastritis and Gastric Ulcer, *Asian Pac J Cancer Prev*, 20 (11), pp. 3497-3503.

(Ngày nhận bài: 06/7/2021 – Ngày duyệt đăng: 01/10/2021)
