

Tái nhiễm và tái phát vi khuẩn *H. pylori* ở bệnh nhân loét tá tràng sau điều trị tiệt trừ thành công tại Bệnh viện E Trung ương

Recrudescence or reinfection of *H. pylori* of duodenal ulcer patients after eradication in E Hospital

Đỗ Nguyệt Ánh*, Nguyễn Thúy Vinh*,
Nguyễn Thị Hồng Hạnh**, Nguyễn Thị Diệu Thúy**

*Bệnh viện E Hà Nội,
**Viện Công nghệ Sinh học

Tóm tắt

Mục tiêu: Phân biệt tái phát (recrudescence) hay tái nhiễm (reinfection) *H. pylori* sau điều trị tiệt trừ ở bệnh nhân loét tá tràng. **Đối tượng và phương pháp:** 303 bệnh nhân tham gia nghiên cứu có 110 bệnh nhân được điều trị tiệt trừ *H. pylori* thành công bằng phác đồ EAC. Sau 6 tháng theo dõi, có 52 bệnh nhân đã tiệt trừ thành công *H. pylori* đến tái khám trong khoảng thời gian từ 6 tháng đến 31 tháng. Bệnh nhân theo dõi được nội soi dạ dày tá tràng, làm xét nghiệm tìm *H. pylori* gồm test urease nhanh, mô bệnh học. Ở các bệnh nhân đã tiệt trừ thành công *H. pylori* nhiễm lại *H. pylori*, các chủng vi khuẩn nhiễm ban đầu (trước điều trị) và các chủng nhiễm lại sau điều trị sẽ được so sánh phân biệt bằng phương pháp phân tích PCR-RFLP gene UreC của vi khuẩn *H. pylori*. **Kết quả:** 52 bệnh nhân sau tiệt trừ thành công *H. pylori* (*H. pylori* âm tính sau điều trị) được theo dõi từ 6 tháng đến 31 tháng thấy tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở lần soi thứ 3 là 38,5%. Tỷ lệ tái phát *H. pylori* là 27,8% và tái nhiễm là 72,2%. **Kết luận:** Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm lại *H. pylori* sau tiệt trừ thành công cao hơn các nghiên cứu đã công bố. Tỷ lệ bệnh nhân bị tái nhiễm cao hơn tái phát. Từ kết quả này cho thấy để giảm tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori*, bên cạnh lựa chọn phác đồ điều trị hiệu quả thì việc kiểm soát nguồn lây vi khuẩn này cũng rất quan trọng.

Từ khóa: *H. pylori*, tái phát, tái nhiễm, loét hành tá tràng.

Summary

Objective: The aim of this study is to differentiate recrudescence from reinfection *H. pylori* after eradication therapy in duodenal ulcer. **Subject and method:** After successful eradication of *H. pylori*, 303 patients were followed up by endoscopy and rapid urease test. In recurrent patients, *H. pylori* strains isolated initially and after recurrence were compared using PCR-based restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis. **Result:** Recurrence of *H. pylori* occurred in 20 of 52 patients (38.5%) at follow-up time from 6 months to 31 months. PCR-based RFLP analysis of *H. pylori* strains isolated initially and after recurrence showed that 27.8% of bacteria were the same strains (Recrudescence) and 72.2% were different strains (reinfection). **Conclusion:** The rate of reinfection higher than recrudescence make the clinicians and community to have activities to control *H. pylori* transmission sources beside effective eradication therapy.

Ngày nhận bài: 14/12/2019, ngày chấp nhận đăng: 16/12/2019

Người phản hồi: Đỗ Nguyệt Ánh, Email: nguyetanhbve@gmail.com - Bệnh viện E Hà Nội

Keywords: *H. pylori*, recrudescence, reinfection, duodenal ulcer.

1. Đặt vấn đề

Helicobacter pylori đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của bệnh loét tá tràng. Tiệt trừ thành công *H. pylori* có vai trò quan trọng dự phòng loét tái phát. Giảm tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* sau tiệt trừ thành công vi khuẩn này là một vấn đề cốt lõi trong việc giải quyết triệt để bệnh loét dạ dày tá tràng. Có nhiều nghiên cứu về tình trạng nhiễm lại *H. pylori* đã đưa ra tỷ lệ rất khác nhau [2]. Các kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* ở các nước phương Tây từ 0,5% đến 2,5%. Ngược lại, tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* rất cao ở các nước đang phát triển như Brazil (20,7%), Peru (73%) và Bangladesh (13%) [3], [7]. Một nghiên cứu tiến hành tại Việt Nam năm 2005 đưa ra tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* 23,5% với thời gian theo dõi trung bình 11 tháng [6]. Vi khuẩn kháng kháng sinh làm giảm hiệu quả của các phác đồ điều trị là một trong những nguyên nhân khiến bệnh nhân sau điều trị tiệt trừ vẫn nhiễm *H. pylori*. Tuy nhiên, các yếu tố khác cũng được cho là ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm lại vi khuẩn này như các điều kiện kinh tế xã hội, tình trạng vệ sinh môi trường, yếu tố chủng tộc, tỷ lệ mắc hiện hành của khu vực. Chưa có nhiều nghiên cứu đánh giá tình trạng tái phát và tái nhiễm *H. pylori* tại Việt Nam được công bố. Nghiên cứu của chúng tôi tiến hành nhằm: *Đánh giá tỷ lệ nhiễm lại H. pylori sau điều trị tiệt trừ thành công và phân biệt tái phát (Recrudescence) hay tái nhiễm (Reinfection) các chủng H. pylori*. Kết quả của nghiên cứu có thể đóng góp vào việc lựa chọn phác đồ điều trị cũng như phòng nhiễm lại vi khuẩn này.

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Đối tượng gồm 303 bệnh nhân được chẩn đoán loét hành tá tràng có nhiễm *H. pylori* điều trị tiệt trừ *H. pylori* tại Bệnh viện E Trung ương từ tháng 5/2012 đến 5/2015. Trong đó, có 160 nam, 143 nữ, tuổi từ 15 đến 78, tuổi trung bình là $41,3 \pm 14$ tuổi. Bệnh nhân được khám lại sau điều trị 45 ngày, 6 tháng hoặc lâu hơn.

2.2. Phương pháp

Phác đồ điều trị

Bệnh nhân được nội soi dạ dày tá tràng chẩn đoán. Mỗi bệnh nhân được sinh thiết làm urease test nhanh, mô bệnh học tìm *H. pylori*, nuôi cấy làm kháng sinh đồ. Sau khi xác định nhiễm *H. pylori*, bệnh nhân được điều trị 7 ngày với phác đồ 3 thuốc EAC (Esomeprazole - amoxicillin - clarithromycin).

Sau 45 ngày bệnh nhân đến khám lại để đánh giá sự thuyên giảm triệu chứng, sự tuân thủ thuốc và tác dụng phụ. Bệnh nhân được soi lại dạ dày đánh giá liền sẹo ổ loét và sinh thiết làm các xét nghiệm urease test nhanh, mô bệnh học đánh giá tình trạng nhiễm *H. pylori*. Nếu hai xét nghiệm đều âm tính bệnh nhân được chẩn đoán là *H. pylori* âm tính.

Lấy mẫu sinh thiết: Các mẫu sinh thiết được lấy từ bờ cong lớn của thân vị và hang vị để làm xét nghiệm mô bệnh học, nuôi cấy và test nhanh urease, làm xét nghiệm PCR-RFLP và giải trình tự gene.

Mô bệnh học: Các mẫu sinh thiết nhuộm hematoxylin- eosin để đánh giá mô bệnh học và kết hợp với nhuộm giemsa để xác định vi khuẩn *H. pylori*.

Theo dõi bệnh nhân

Bệnh nhân được nội soi chẩn đoán và điều trị tiệt trừ *H. pylori*. Sau đó, bệnh nhân được theo dõi bằng nội soi tại các thời điểm sau điều trị 6 tháng, 9 tháng, 12 tháng, lớn hơn và bằng 24 tháng. Chẩn đoán nhiễm lại *H. pylori* khi có ít nhất một xét nghiệm dương tính (urease nhanh, mô bệnh học).

PCR và phân tích PCR-RFLP

Chuẩn bị DNA cho xét nghiệm PCR.

Khuếch đại các sản phẩm mỗi gene *UreC* của vi khuẩn *H. pylori* dùng sản phẩm mỗi *UreC*- F: 5'- TGG GAC TGA TGG CGT GAG

GG-3' và UreC- R: 5'- AAG GGC GTT TTT AGA TTT TT-3' có chiều dài là 820 cặp bazơ.

Phân tích RFLP: 10µl DNA đã được khuếch đại trộn với 20 đơn vị các enzyme Hha I, Hind III, và Mbo I. Thời gian ủ là 1 giờ đối với Hha I, Hind III và 3 giờ đối với Mbo I ở 37°C (trong dung dịch đệm). Sản phẩm trên sẽ được điện di trên thạch

3. Kết quả

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* sau điều trị tiệt trừ thành công

Bệnh nhân Tình trạng HP	Số lượng (n)	Tỷ lệ %
HP âm tính	32	61,5
HP dương tính	20	38,5
Tổng	52	100

Nhận xét: Tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* sau tiệt trừ thành công cao (38,5%).

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* sau điều trị tiệt trừ tại các thời điểm

Thời gian (Tháng)	Số lượng BN	Số BN nhiễm lại HP	Tỷ lệ %
≤ 12	35	14	40,0 (14/35)
> 12 - 31	17	6	35,3 (6/17)

Nhận xét: Do thời gian theo dõi kéo dài nên lượng bệnh nhân quay trở lại tái khám giảm nhiều. Theo dõi từ 6 đến 12 tháng thấy số lượng nhiều hơn (35/52 bệnh nhân) so với số bệnh nhân theo dõi sau 12 tháng. Số bệnh nhân ở các thời điểm theo dõi dài hơn giảm dần. Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm lại tại thời điểm theo dõi sau 12 tháng cao hơn trước 12 tháng.

Bảng 3. Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm lại *H. pylori* hàng năm sau điều trị tiệt trừ thành công

Thời gian theo dõi sau tiệt trừ <i>H. pylori</i> (năm)	Số BN theo dõi	Bệnh nhân-năm (person-year)	Số BN nhiễm lại HP
> 1 năm - 2,5 năm	17	23,8	6
Tỷ lệ nhiễm lại <i>H. pylori</i> hàng năm: 25,2% (6/23,8 bệnh nhân- năm)			

Nhận xét: Tỷ lệ nhiễm lại hàng năm (phần trăm năm) của *H. pylori* được tính là: Tổng số ca bị nhiễm lại/số năm cộng dồn theo dõi các bệnh nhân trong thời gian trên 1 năm. Tỷ lệ nhiễm lại hàng năm 25,2% là tỷ lệ cao.

Phân tích PCR- RFLP

Trong số 52 bệnh nhân tiệt trừ *H. pylori* có 20 bệnh nhân bị nhiễm lại vi khuẩn *H. pylori* trong quá trình theo dõi từ 6 tháng đến 31 tháng

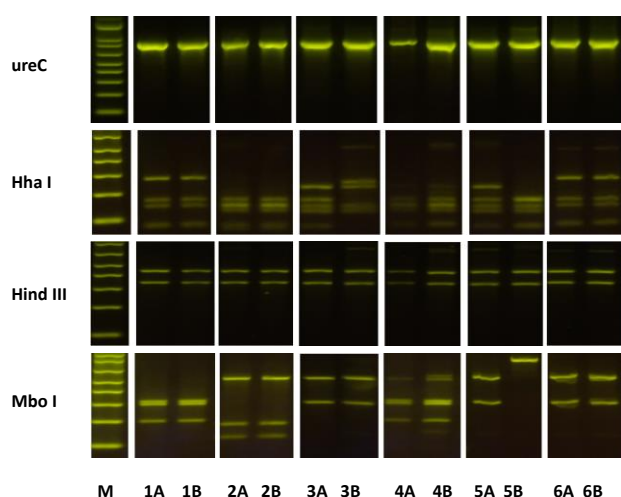
agarose 2%, soi dưới ánh sáng của đèn tử ngoại và chụp lại ảnh.

2.3. Xử lý số liệu

Phân tích thống kê sử dụng máy tính với phần mềm thống kê SPSS 16.0.

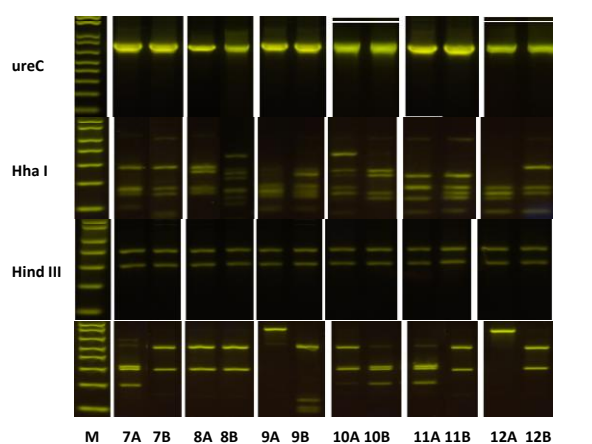
sau điều trị tiệt trừ thành công. 18 trong 20 bệnh nhân có thể nuôi cấy và phân tích PRC-RFLP của các chủng phân lập được.

Phản ứng PCR khuếch đại đoạn DNA 820 cặp bazơ của gene UreC từ mẫu sinh thiết dạ dày, trộn với các enzyme giới hạn Hha I, Mbo I và Hind III. Mỗi đoạn DNA được điện di và so sánh với kích thước DNA chuẩn nhằm nhận dạng được chủng vi khuẩn *H. pylori*.

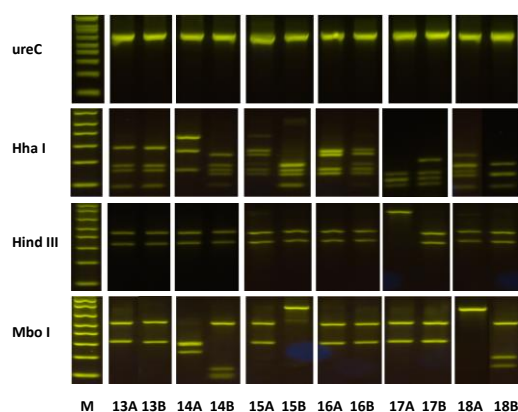


Hình 1. Kết quả PCR- RFLP của bệnh nhân có mã bệnh phẩm từ 1 đến 6.

Hình ảnh cột M: DNA chuẩn; cột A: Chứng vi khuẩn trước điều trị; cột B: Chứng vi khuẩn sau điều trị .



Hình 2. Kết quả PCR- RFLP của bệnh nhân có mã bệnh phẩm từ 7 đến 12



Hình 3. Kết quả PCR- RFLP của bệnh nhân có mã bệnh phẩm từ 13 đến 18

Nhận xét: 18 bệnh nhân bị nhiễm lại *H. pylori* sau từ 6 tháng đến 31 tháng tiết trừ thành công vi khuẩn này thấy có 5 bệnh nhân số 1, 2, 6, 13, 16 có chủng vi khuẩn trước và sau điều trị giống nhau, 13 bệnh nhân còn lại có các chủng trước và sau điều trị của khác nhau.

Bảng 4. Tỷ lệ tái nhiễm và tái phát *H. pylori*

	Tái phát	Tái nhiễm	Tổng
Số lượng	5	13	18
Tỷ lệ %	27,8	72,2	100

Nhận xét: Tỷ lệ tái nhiễm (nhiễm chủng khác so với chủng ban đầu) cao hơn gấp 3 lần tỷ lệ tái phát.

Bảng 5. Tỷ lệ tái nhiễm và tái phát *H. pylori* theo thời gian

Thời gian (tháng)	Tái phát	Tái nhiễm	Tổng	p
6 - ≤ 12	n	3	9	0,71
	Tỷ lệ %	25	75	
12 - 31	n	4	6	
	Tỷ lệ %	66,7	33,3	

	Tỷ lệ %	33,3	66,7	100	
Tổng	n	5	13	18	
	Tỷ lệ %	27,8	72,2	100	

Nhận xét: Tỷ lệ tái phát và tái nhiễm ở các thời điểm theo dõi từ 6 tháng đến 12 tháng không khác biệt với tỷ lệ tái phát, tái nhiễm ở các bệnh nhân theo dõi sau 12 tháng ($p>0,05$).

4. Bàn luận

Sau điều trị diệt trừ *H. pylori* bệnh nhân có thể nhiễm lại vi khuẩn này với hai hình thức: Khi bệnh nhân nhiễm cùng chủng vi khuẩn đã nhiễm trước điều trị được coi là tái phát, nhiễm chủng khác là tái nhiễm. Ở các nước phát triển nơi có tỷ lệ nhiễm *H. pylori* rất thấp, các nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* cũng rất thấp. Tỷ lệ này dưới 2% một năm ở các nước phát triển [8]. Tỷ lệ này rất khác nhau ở các nước đang phát triển từ 4,3 đến 73% [4]. Số lượng nghiên cứu tiến hành tại châu Á nơi có tỷ lệ nhiễm *H. pylori* cao chưa nhiều. Một nghiên cứu tại Hàn Quốc theo dõi 186 bệnh nhân được diệt trừ *H. pylori* trong thời gian 7 năm thấy tỷ lệ nhiễm lại vi khuẩn này là 31,2% [9]. Tại Bangladesh tỷ lệ nhiễm lại là 13% [3]. Nhật Bản là một quốc gia tại châu Á nhưng tỷ lệ nhiễm lại sau diệt trừ *H. pylori* rất thấp từ 0,7% đến 3,4% năm. Tuy nhiên, các nghiên cứu này chưa phân biệt tái nhiễm (reinfection) hay tái phát (recrudescence). Nghiên cứu của chúng tôi đề cập đến tình trạng nhiễm lại *H. pylori* đồng thời phân biệt giữa tái nhiễm và tái phát vi khuẩn này tại Việt Nam. Theo dõi từ 6 tháng đến 31 tháng có 20 bệnh nhân bị nhiễm lại vi khuẩn *H. pylori* sau diệt trừ chiếm tỷ lệ 38,5% (Bảng 1). Tỷ lệ nhiễm lại vi khuẩn sau thời gian theo dõi trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của Wheeldon đã tiến hành ở Việt Nam đưa ra tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* là 23,5%. Tại thời điểm theo dõi từ 6 tháng đến 12 tháng, số bệnh nhân nhiễm lại *H. pylori* là 28,8% và 12 tháng đến 31 tháng có tỷ lệ nhiễm lại là 35,3% (6/17) (Bảng 2). Tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* hàng năm trong nghiên

cứu của chúng là 25,2% (Bảng 3). Các nghiên cứu khác có tỷ lệ nhiễm lại hàng năm thấp hơn như nghiên cứu tại Bangladesh có thời gian theo dõi từ 3 đến 18 tháng thấy tỷ lệ nhiễm lại *H. pylori* là 13% [3] nghiên cứu tại Nhật Bản là 2%, Hàn Quốc là 9,3%. Có sự khác biệt lớn này giữa nghiên cứu của chúng tôi và các nghiên cứu trên có thể do trong nghiên cứu của chúng tôi, số lượng bệnh nhân được theo dõi ở các thời điểm ít và thời gian theo dõi ngắn hơn nên tỷ lệ tái phát được đưa ra luôn cao hơn các nghiên cứu đã nêu. Nghiên cứu tại Nhật Bản có 274 bệnh nhân theo dõi trong 6 năm, Hàn Quốc có 1283 bệnh nhân theo dõi trong 4 năm [5].

Một số nghiên cứu đã phân biệt sự tái nhiễm hay tái phát bằng dấu ấn vân tay DNA. Hildebrand và cộng sự đã báo cáo về tình trạng nhiễm lại *H. pylori* trong 3 tháng sau diệt trừ và thấy các chủng trước và sau điều trị khác nhau. Đó là tình trạng tái nhiễm (reinfection) *H. pylori* [3]. So sánh ở 18 bệnh nhân sau 6 tháng đến 31 tháng thấy có 5 bệnh nhân nhiễm cùng chủng *H. pylori* (tái phát) chiếm tỷ lệ 27,8%; 13 bệnh nhân nhiễm chủng *H. pylori* khác với chủng ban đầu (tái nhiễm) chiếm tỷ lệ 72,2% (Bảng 4). Trong đó, số bệnh nhân được theo dõi ở thời điểm sau 12 tháng có 3/10 bệnh nhân (bệnh nhân số 2, 13, 16) nhiễm lại chủng *H. pylori* giống với chủng ban đầu. Ở các bệnh nhân theo dõi sau 12 tháng thấy có 2/8 chủng khác với chủng vi khuẩn nhiễm trước điều trị. (Bệnh nhân số 1 và 6) (Bảng 5). Sự khác biệt về tái phát hay tái nhiễm tại hai giai đoạn theo dõi không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Okimoto và cộng sự đưa ra tỷ lệ 62,5% là tái nhiễm ở thời điểm 6 tháng và 100% tái nhiễm sau thời gian theo dõi 1 năm ở các bệnh nhân loét dạ dày tá tràng sau diệt trừ *H. pylori* [5]. Với tỷ lệ tái nhiễm cao hơn tái phát trong nghiên cứu của chúng tôi có thể lý giải các nguyên nhân. Một là bệnh nhân nhiễm cùng một chủng vi khuẩn đã nhiễm từ cùng một nguồn (từ các thành

viên trong cùng một gia đình) do nhiễm *H. pylori* trong một nhóm của gia đình. Hai là có thể bệnh nhân bị nhiễm từ người bạn đời cũng đang mang vi khuẩn *H. pylori*. Và cũng có thể bệnh nhân nhiễm nhiều hơn một chủng *H. pylori* [10]. Yếu tố vệ sinh môi trường đặc biệt là nguồn nước nhiễm vi khuẩn đã được coi là một nguyên nhân gây nhiễm lại *H. pylori* sau điều trị triệt trừ. Nhiều nghiên cứu đã thấy mối liên quan giữa nguồn nước nhiễm *H. pylori* và người dùng bị nhiễm vi khuẩn này đặc biệt ở các nước đang phát triển nơi có điều kiện vệ sinh chưa tốt [1].

Điều này cũng gợi ý cho nhân viên y tế khuyến cáo và cùng cộng đồng xây dựng một môi trường sống sạch với nguồn nước sạch, vệ sinh môi trường xung quanh nơi ở tốt. Các thói quen sinh hoạt hàng ngày trong gia đình phải thay đổi để tránh lây nhiễm giữa các thành viên trong gia đình.

5. Kết luận

Chúng tôi nhận thấy tỷ lệ nhiễm lại vi khuẩn *H. pylori* sau triệt trừ cao hơn các báo cáo trước đây trong và ngoài nước. Tỷ lệ tái nhiễm trung bình là 25,2% năm. Tình trạng tái nhiễm *H. pylori* cao hơn tái phát vi khuẩn này. Kết quả này gợi ý cho nhân viên y tế và cộng đồng cùng có giải pháp kiểm soát nguồn lây nhiễm *H. pylori*.

Tài liệu tham khảo

1. Ramy Aziz K et al (2015) *Contaminated water as a source of Helicobacter pylori infection: A review*. J Adv Res 6(4): 539-547.
2. Gisbert JP (2005) *The recurrence of Helicobacter pylori infection: Incidence and variables influencing it. A critical review*. Am J Gastroenterol 100: 2083-2099.
3. Hildebrand P, Rossi L, Bardhan P et al (2001) *Recrudescence and reinfection with Helicobacter pylori after eradication therapy in Bangladeshi adults*. Gastroenterology 121(4): 792-798.
4. Hyun JJ, Kim SY, Jung SW, Koo JS, Yim HJ, Lee SW (2014) *Helicobacter pylori recurrence after first- and second-line eradication therapy in Korea: The problem of recrudescence or reinfection*. Helicobacter 19(3): 202-206.
5. Tadayoshi O, Ryugo S, Kazunari M, Hajime M, Masaru N, Jiro K, Masaaki K and Toshio Fu (2003) *Is the recurrence of Helicobacter pylori infection after eradication therapy resultant from recrudescence or reinfection, in Japan*. Helicobacter 8: 186-191.
6. Wheeldon T U, Hoang TT, Phung DC, Bjorkman A, Granstrom M, Sorberg M (2005) *Long-term follow-up of Helicobacter pylori eradication therapy in Vietnam: Reinfection and clinical outcome*. Aliment Pharmacol Ther 21(8): 1047-1053.
7. Rollan A, Fuster F, Giancaspero R et al (2000) *The long-term reinfection rate and the course of duodenal ulcer disease after eradication of Helicobacter pylori in a developing country*. Am J Gastroenterol 95(1): 50-56.
8. Bell GD, Powell KU (1996) *Helicobacter pylori reinfection after apparent eradication the Ipswich experience*. Scand J Gastroenterol 215: 96-104.
9. Ryu KH, Yi SY, Na YJ, Baik SJ, Yoon SJ, Jung HS, Song HJ (2010) *Reinfection rate and endoscopic changes after successful eradication of Helicobacter pylori*. World J Gastroenterol 16(2): 251-255.
10. Jorgensen M, Daskalopoulos G, Warburton V, Mitchell HM, Hazell SL (1996) *Multiple strain colonization and metronidazole resistance in Helicobacter pylori-infected patients: Identification from sequential and multiple biopsy specimens*. J Infect Dis 174(3): 631-635.