

Mối liên hệ giữa yếu tố độc lực của *H. pylori* và biểu hiện lâm sàng ở bệnh nhi: Những giá trị trong chỉ định điều trị

Đặng Thúy Hà^{1,2}, Phan Thị Ngọc Lan³, Trần Thị Thanh Huyền^{2,3},
Trần Thị Thu Hiền³, Phan Quốc Hoàn³, Nguyễn Thị Nhung⁴,
Nguyễn Thị Việt Hà¹, Vũ Văn Khiên⁵, Trần Thị Huyền Trang^{2,3}, Lê Hữu Song^{2*}

¹Bệnh viện Nhi Trung ương

²Trung tâm VGCARE, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

³Khoa Sinh học phân tử, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

⁴Khoa Chẩn đoán chức năng, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

⁵Viện Phẫu thuật tiêu hóa, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Ngày nhận bài 20/9/2019; ngày chuyển phản biện 23/9/2019; ngày nhận phản biện 25/10/2019; ngày chấp nhận đăng 29/10/2019

Tóm tắt:

Helicobacter pylori được xếp vào nhóm I các tác nhân vi khuẩn có thể gây ung thư ở người. Trái ngược với những triệu chứng điển hình ở người lớn, các biểu hiện của nhiễm *H. pylori* ở trẻ em thường nhẹ, không đặc hiệu và khó kiểm soát, do đó ít được quan tâm. Trong những năm gần đây, do sự bùng nổ của các chủng *H. pylori* kháng thuốc ở trẻ em cùng với những bằng chứng cho thấy mối liên hệ mật thiết giữa nhiễm *H. pylori* thời thơ ấu (kể cả khi không có triệu chứng) với tình trạng ung thư dạ dày ở tuổi trưởng thành, việc phát hiện và điều trị *H. pylori* ở trẻ em nhận được nhiều sự quan tâm của giới chuyên môn. Việc ra quyết định điều trị *H. pylori* đối với trẻ em thực sự là một thách thức đối với các nhà lâm sàng bởi số loại kháng sinh sử dụng được cho bệnh nhi khá giới hạn, đặc biệt đối với bệnh nhi dưới 8 tuổi. Nghiên cứu này phân tích mối liên hệ giữa yếu tố độc lực của vi khuẩn và bệnh cảnh lâm sàng của bệnh nhi nhằm tìm ra yếu tố nguy cơ cần chỉ định điều trị. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các chủng CagA(+) làm tăng nguy cơ loét dạ dày lên 4 lần so với các chủng CagA(-). Tỷ lệ CagA(+) và tỷ lệ loét dạ dày của bệnh nhi tăng cao theo lứa tuổi (50% ở bệnh nhi dưới 5 tuổi và 79,2% ở bệnh nhi trên 11 tuổi). Đối với bệnh nhi dưới 5 tuổi dương tính với CagA(+)/vacA1m1m2 và có cha mẹ mang *H. pylori* cần được kiểm soát và theo dõi chặt chẽ vì có thể làm tăng nguy cơ loét dạ dày lên hơn 6 lần.

Từ khóa: CagA, *H. pylori*, trẻ dưới 5 tuổi, VacA.

Chỉ số phân loại: 3.2

Đặt vấn đề

H. pylori được xác định là tác nhân quan trọng hàng đầu gây ra hàng loạt bệnh lý dạ dày như viêm dạ dày mạn tính, loét dạ dày, viêm teo và ung thư dạ dày. Rất nhiều bằng chứng cho thấy, nhiễm *H. pylori* thường mắc phải trong thời thơ ấu và nếu không được điều trị loại bỏ, vi khuẩn *H. pylori* có thể theo chúng ta suốt cả cuộc đời. Sự không ngừng biến đổi của *H. pylori* giúp vi khuẩn thích nghi với những thay đổi của cơ thể vật chủ và các yếu tố môi trường, được xem là một yếu tố quan trọng làm cho vi khuẩn tồn tại dai dẳng trong vật chủ [1-3]. Với bộ gene dài khoảng 1,6 triệu bp mang hơn 1,5 ngàn khung đọc mã hóa cho gần 9.000 protein chức năng, *H. pylori* được xếp vào nhóm vi khuẩn có mức độ biến đổi đa hình kiểu gene cao. Mối liên hệ chặt chẽ giữa những biến đổi kiểu gene của *H. pylori* với yếu tố vật chủ và điều kiện môi trường hỗ trợ rất nhiều cho những phát hiện di cư của người tiền sử [4, 5]. Trong đa hình kiểu gene của *H. pylori* thì tính đa hình của các yếu tố độc

lực như CagA, VacA, BabA, SabA... được đề cập nhiều nhất trong các nghiên cứu bởi chúng không chỉ giúp *H. pylori* tạo ra các mức độ độc tính khác nhau mà còn đóng vai trò quan trọng giúp vi khuẩn thích nghi để tồn tại trong cơ thể vật chủ [6-8].

Điều trị loại trừ *H. pylori* không chỉ làm giảm nguy cơ lây nhiễm từ cá nhân sang cá nhân mà còn có thể ngăn chặn đáng kể sự phát triển của ung thư dạ dày [9]. Các đồng thuận quốc tế đều khuyến cáo sàng lọc nhiễm *H. pylori* sau 12 tuổi và đề nghị tất cả các trường hợp dương tính nên được điều trị diệt trừ ngay cả khi không có triệu chứng hoặc tình trạng liên quan [10, 11]. Tuy nhiên, việc chuyển đổi những khuyến nghị được nêu ra trong các đồng thuận này thành thực tế cũng đòi hỏi cần có sự xem xét để có thể phù hợp với điều kiện ở mỗi quốc gia, đặc biệt là ở những nước đang phát triển như Việt Nam. Các nghiên cứu dịch tễ học phân tử cho thấy, ở Việt Nam, bên cạnh các chủng có độc tố cao liên quan mật thiết với sự gia tăng nguy cơ ung thư dạ dày còn có tỷ lệ khá

*Tác giả liên hệ: Email: lehuusong@108-icid.com

The clues of the relationship between *H. pylori* virulence factors and clinical outcomes in children: Relevant clinical indications

Thuy Ha Dang^{1,2}, Thi Ngoc Lan Phan³,
Thi Thanh Huyen Tran^{2,3}, Thi Thu Hien Tran³,
Quoc Hoan Phan³, Thi Nhung Nguyen⁴,
Thi Viet Ha Nguyen¹, Van Khien Vu⁵,
Thi Huyen Trang Tran^{2,3}, Huu Song Le^{2*}

¹Vietnam National Hospital of Pediatrics

²Center for Medical Research Vietnam Germany,
108 Military Central Hospital

³Molecular Biology Department, 108 Military Central Hospital

⁴Department of Diagnostic Functions, 108 Military Central Hospital

⁵Institute of Digestive Surgery, 108 Military Central Hospital

Received 20 September 2019; accepted 29 October 2019

Abstract:

H. pylori has been defined as class I of human carcinogene. Being dissimilar to the typical symptoms of *H. pylori*-infected adults, the symptoms of *H. pylori* in children are likely mild and unspecific. Recently, the drug-resistant strains of *H. pylori* are constantly increasing, and the causality between childhood *H. pylori* and gastric cancer in adulthood has elevated; therefore, clinicians have paid more interest in *H. pylori* detection and treatment (including asymptomatic children). Since the antibiotic weapons for children (especially for children under 8) are very limited, the challenges in indications for *H. pylori* treatment in children are part of today's clinical practice. The aim of the current study is to identify successful treatment indications based on illuminating the link of virulence factors and outcomes. The results show that, the risk of ulcer among CagA(+) *H. pylori*-positive children is 4 times higher than those infected with CagA(-). The prevalence of CagA(+) and peptic ulcer among the children increases with age (50% in child patients under 5 and nearly 79.2% in child patients over 11 years). The child patients under the age of 5 carrying CagA(+)/vacA1m1m2 and belonging to families with parents infected *H. pylori* have the 6-time higher risk of developing ulcer compared with other groups. Therefore, those patients might be considered to get early treatment.

Keywords: CagA, children under the age of 5, *H. pylori*, VacA.

Classification number: 3.2

cao (52%) các chủng không có độc tố (VacA s2m2) và gần như không gây tổn hại đến biểu mô dạ dày [12]. Hơn nữa, các báo cáo đánh giá vai trò của *H. pylori* trên khía cạnh khác ngoài dạ dày đã cho thấy vi khuẩn này có thể đóng vai trò có lợi cho sức khỏe [13]. Những kết quả nghiên cứu của Wu và cộng sự (2005) [14] đã ủng hộ giả thuyết rằng việc không nhiễm *H. pylori*, đặc biệt là trong thời thơ ấu, có thể làm tăng nguy cơ phát triển bệnh béo phì. Nghiên cứu của Halme và cộng sự (1996) [15] chỉ ra rằng, nhiễm *H. pylori* là hiếm, trong khi viêm dạ dày âm tính *H. pylori* tương đối phổ biến ở những bệnh nhân mắc bệnh Crohn, do đó sự thiếu vắng tình trạng nhiễm *H. pylori* dường như có liên quan đến bệnh Crohn hoạt động. Đề đạt được giá trị lâm sàng cao nhất, trước khi quyết định loại trừ *H. pylori* bằng các liệu pháp kháng sinh cần có đánh giá rõ ràng mức độ ảnh hưởng của *H. pylori*, tránh tình trạng lạm dụng kháng sinh. Các nghiên cứu gần đây [16-19] cho thấy, việc ra quyết định điều trị *H. pylori* không chỉ phụ thuộc vào kết quả dương tính *H. pylori*, đặc biệt đối với đối tượng trẻ em. Bên cạnh các yếu tố cần xem xét như tình trạng nhiễm, thể trạng bệnh nhân, mức độ tổn thương biểu mô dạ dày, yếu tố độc lực của *H. pylori*, đặc biệt là CagA và VacA là các yếu tố cần xem xét để có chỉ định điều trị phù hợp. Các nghiên cứu trên quần thể người Ireland [18, 19] đã chỉ ra rằng, việc xác định kiểu gene CagA và VacA có vai trò trong tiên lượng bệnh nhân kháng với Clarithromycin.

Hiện tượng sử dụng kháng sinh một cách thiếu kiểm soát là một trong những nguyên nhân gây ra sự bùng nổ của các chủng *H. pylori* kháng thuốc. Với gần 70% các chủng *H. pylori* phân lập tại Việt Nam kháng với Metronidazol và gần 40% chủng kháng Clarithromycin, Việt Nam được xếp vào nhóm có tỷ lệ *H. pylori* kháng kháng sinh cao trên thế giới [20]. Các báo cáo về tình trạng kháng kháng sinh của *H. pylori* tại Việt Nam hiện nay đều chủ yếu tập trung vào đối tượng người lớn, vẫn còn thiếu các báo cáo ghi nhận về tình trạng kháng kháng sinh của *H. pylori* trên trẻ em Việt Nam. Tuy nhiên, các ghi nhận lâm sàng hiện nay cho thấy, có khoảng hơn 50% trẻ nhiễm *H. pylori* khi vào viện có kháng với một trong các thuốc điều trị *H. pylori*. Mặc dù là nước có tỷ lệ nhiễm *H. pylori* cao, nhiều nghiên cứu về kiểu gene của *H. pylori* đã được thiết lập, nhưng Việt Nam vẫn chưa có khuyến cáo nào về chỉ định điều trị đối với từng chủng *H. pylori*. Hơn nữa, các nghiên cứu về kiểu gene *H. pylori* đều là những nghiên cứu được thực hiện trên người lớn, do đó việc đánh giá giá trị trong tiên lượng điều trị cũng gặp nhiều hạn chế vì khó kiểm soát lịch sử sử dụng kháng sinh. Để có đánh giá toàn diện hơn về vai trò tiên lượng điều trị của các kiểu gene *H. pylori*, chúng tôi thiết lập nghiên cứu đa hình yếu tố độc lực CagA, VacA trên trẻ em.

Đối tượng và phương pháp

Bệnh phẩm được thu thập từ các bệnh nhân nội trú và ngoại trú đến nội soi tại Khoa Nội soi tiêu hóa - Bệnh viện Nhi Trung ương từ 1/8/2018 đến 31/7/2019 với sự cho phép của Hội đồng đạo đức Bệnh viện Nhi Trung ương. Tất cả các mẫu bệnh phẩm mô bệnh học được bảo quản đúng quy trình và được thực hiện các xét nghiệm tại Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Nhi Trung ương, Khoa Sinh học phân tử - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân từ 3-15 tuổi đã được chẩn đoán viêm dạ dày, loét dạ dày, tá tràng *Có H. pylori* dương tính. Chẩn đoán viêm dạ dày, loét dạ dày, tá tràng dựa vào: nội soi tiêu hoá trên (có tổn thương viêm dạ dày đơn thuần hay kết hợp loét dạ dày, tá tràng); mô bệnh học (chẩn đoán viêm dạ dày theo tiêu chuẩn Sydney). Chẩn đoán nhiễm *H. pylori* khi bệnh nhân có ít nhất hai xét nghiệm (+): 1) CLO test (+); 2) Có thêm ít nhất một trong hai xét nghiệm mô bệnh học và PCR xác định *H. pylori* dương tính.

Trẻ và gia đình đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ:

- Bệnh nhân dùng kháng sinh hoặc Bismuth trong vòng 4 tuần; dùng thuốc kháng thụ thể H_2 hoặc PPI trong vòng 2 tuần trước đó.
- Bệnh nhân đang điều trị các bệnh lý: tim mạch, hô hấp, gan, thận, bệnh ác tính hoặc có bệnh rối loạn đông cầm máu trước đó.
- Bệnh nhân có tiền sử phẫu thuật thực quản, dạ dày, tá tràng.
- Bệnh nhân có chống chỉ định nội soi thực quản dạ dày, tá tràng.
- Bệnh nhân đã từng điều trị diệt trừ *H. pylori*.

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế theo phương pháp tiền cứu, mô tả loạt ca bệnh.

Lấy mẫu bệnh phẩm khi làm nội soi: khi nội soi, phát hiện tổn thương viêm dạ dày, loét dạ dày - tá tràng, tiến hành lấy sinh thiết để làm mô bệnh học. Số lượng mảnh sinh thiết: 3 mảnh. Vị trí và số lượng mảnh sinh thiết: làm test nhanh urease: 2 mảnh ở hang vị và thân vị, sau đó chuyển làm mô bệnh học; mô bệnh học: 2 mảnh tại hang vị và thân vị; làm PCR xác định gen *CagA*, *VacA*: 1 mảnh ở hang vị.

Đánh giá mức độ tổn thương dạ dày: bằng nội soi dựa trên những tiêu chuẩn của hệ thống phân loại "Sydney system" và phân loại xuất huyết tiêu hoá theo Forrest.

Phân tích giải phẫu bệnh để đánh giá tình trạng viêm mạn, mức độ xâm nhiễm hoạt động, mức độ viêm teo niêm mạc dạ dày, mức độ di sản ruột, mức độ nhiễm *H. pylori*.

Xác định các kiểu gen *CagA*, *VacA* bằng PCR và giải trình tự:

Tách chiết DNA: từ mảnh sinh thiết bằng phương pháp Phenol/Chloroform.

Trình tự mẫu cho phản ứng PCR:

Tên	Trình tự [21]
Vacs1/s2 F	5'-ATGGAAATACAACAAACACAC-3'
Vacs1/s2 R	5'-CGTCTTGAATGCGCCAAAC-3'
Vacm F	5'-CAATCTGTCCAATCAAGCGAG-3'
Vacm R	5'-GCGTCAAAATAATTCCAAGG-3'
CagT F	5'-ACCCTAGTCGGTAATGGG-3'
CagT R	5'-GCTTTAGCTTCTGAYACYGC-3'

Xử lý và phân tích số liệu: các test thống kê y sinh học được sử dụng bao gồm: Student T-test, Chi-square và Fisher's exact test nhằm kiểm định sự khác biệt giữa các nhóm. Mỗi tương quan được tính toán thông qua tỷ suất chênh (OR) và khoảng tin cậy 95%CI. Mức ý nghĩa thống kê $\alpha=0,05$ được áp dụng, theo đó, nếu giá trị $p<0,05$ là có ý nghĩa thống kê.

Kết quả nghiên cứu

Nghiên cứu tiến hành trên 160 bệnh nhi đáp ứng đủ tiêu chuẩn lựa chọn, có 123 trẻ viêm loét dạ dày, tá tràng có kết quả CLO test (+). Trong đó có 114 trẻ xác định được yếu tố độc lực, bao gồm 44 trẻ được chẩn đoán viêm dạ dày và 70 trẻ viêm dạ dày có loét dạ dày, tá tràng. Bệnh nhân nhỏ tuổi nhất là 3 tuổi và lớn nhất là 15 tuổi.

Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm chung của trẻ trong nghiên cứu.

Biến số nghiên cứu	Chung n=114 (%)	Viêm n=44 (%)	Loét n=70 (%)	P
Giới				
Nam	79 (69,3)	29 (65,9)	50 (71,4)	0,534 ^a
Nữ	35 (30,7)	15 (34,1)	20 (28,6)	
Tuổi (năm)				
3-5 tuổi	7 (6,1)	6 (13,6)	1 (1,4)	0,000 ^b
6-10 tuổi	83 (72,8)	35 (79,6)	48 (68,6)	
≥ 11 tuổi	24 (21,1)	3 (6,8)	21 (30,0)	0,001 ^c
X±SD	8,2±2,8	6,6±2,3	9,2±2,6	
Địa dư				
Thành thị	72 (63,2)	27 (61,4)	46 (65,7)	0,637 ^a
Nông thôn	41 (36,0)	17 (38,6)	24 (34,3)	
Thời gian bị bệnh (tháng)	5,6±5,4	4,1±3,7	6,5±6,0	0,012 ^c

^aChi-square test; ^bFisher's exact test; ^cStudent T-test.

Nhận xét: không có sự khác biệt phân bố giới giữa nhóm loét và nhóm viêm. Trẻ bị loét dạ dày, tá tràng có độ tuổi trung bình cao hơn so với nhóm trẻ viêm dạ dày (9,2±2,6 tuổi so với 6,6±2,3 tuổi, $p=0,001$). Tỷ lệ loét dạ dày, tá tràng đặc biệt tăng cao hơn so với nhóm viêm ở nhóm trẻ ≥ 11 tuổi (bảng 1).

Mối liên hệ tình trạng bệnh lý và tiền sử gia đình

Bảng 2. Tiền sử gia đình mắc bệnh lý dạ dày, tá tràng ở hai nhóm.

Tiền sử	Chung n=114 (%)	Viêm n=44 (%)	Loét n=70 (%)	P
Viêm dạ dày	63 (55,3)	23 (52,3)	40 (57,1)	0,611 ^a
Loét dạ dày - tá tràng	13 (11,4)	3 (6,8)	10 (14,3)	
Bố/mẹ bị nhiễm <i>H. pylori</i>	41 (36,0)	6 (13,6)	35 (50,0)	0,0001 ^a
Khoẻ mạnh	38 (33,3)	18 (40,9)	20 (28,6)	

^a Chi-square test; ^b Fisher's exact test.

Nhận xét: tỷ lệ trẻ loét dạ dày, tá tràng có bố/mẹ bị nhiễm *H. pylori* cao hơn gần 4 lần so với nhóm viêm, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,0001$ (bảng 2).

Đặc điểm nội soi

Hình ảnh tổn thương thường gặp nhất là viêm dạng hạt và phù nề xung huyết. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ các tổn thương theo phân loại Sydney giữa hai nhóm viêm và loét. Tổn thương trợt nông và chảy máu gặp ở nhóm loét dạ dày, tá tràng cao hơn nhóm viêm dạ dày. Định khu tổn thương chủ yếu ở dạ dày và tá tràng chiếm tỷ lệ 65,8%.

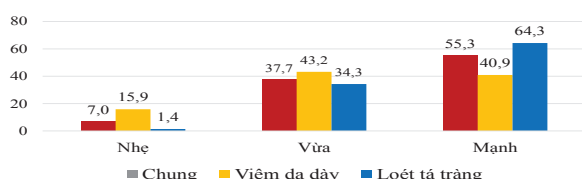
Bảng 3. Đặc điểm ổ loét ở nhóm bệnh nhân loét tá tràng.

Tổn thương trên nội soi	n	%
Tổn thương dạ dày, tá tràng (n=70)		
Viêm dạ dày + loét tá tràng	68	97,1
Loét dạ dày	2	2,9
Số ổ loét dạ dày, tá tràng (số bệnh nhân có ổ loét =70)		
1 ổ loét	37	52,9
2 ổ loét	31	44,3
≥3 ổ loét	2	2,8
Kích thước ổ loét (số ổ loét =103)		
0,5 -<1 cm	40	38,8
1 -<2 cm	63	61,2
X±SD (cm)	1,0±0,4	
Vị trí ổ loét ở tá tràng (số ổ loét =103)		
Mặt trước hành tá tràng	64	62,1
Mặt sau hành tá tràng	37	35,9
D1	2	2,0
Phân loại Forrest (số bệnh nhân có loét tá tràng =68)		
IIb	10	14,7
III	58	85,3

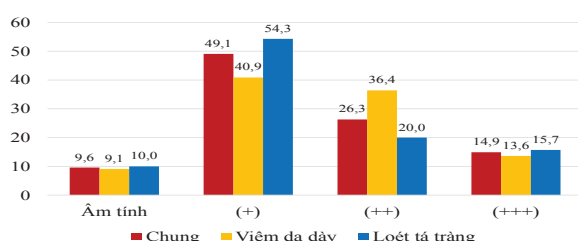
Nhận xét: 97,1% bệnh nhân có tổn thương viêm toàn bộ dạ dày và loét tá tràng. 47,1% bệnh nhân có từ 2 ổ loét trở lên. 70 trẻ loét tá tràng với 103 ổ loét phát hiện qua nội soi, tỷ lệ trẻ có ổ loét kích thước từ 1 đến 2 cm chiếm đa số (61,2%); kích thước trung bình ổ loét là 1,0±0,4 cm. 62,1% trẻ có ổ loét ở mặt trước tá tràng. Tỷ lệ trẻ có ổ loét ở mặt sau hành tá tràng và loét gây hẹp D1 thấp hơn, lần lượt là 35,9 và 2,0%. Tỷ lệ trẻ có tổn thương Forrest độ IIb và III lần lượt là 14,7 và 85,3%. Không gặp các trường hợp loét đang chảy máu hoặc mới chảy máu (bảng 3).

Đặc điểm mức độ tổn thương trên mô bệnh học

Hầu hết bệnh nhân có mức độ viêm trên mô bệnh học là mức độ vừa và mạnh (lần lượt là 37,7 và 55,3%). Không có sự khác biệt về tỷ lệ tổn thương viêm trên mô bệnh học mức độ mạnh ở nhóm viêm dạ dày mạn tính so với nhóm loét (64,3% và 40,9%, p>0,05) (hình 1).



Hình 1. Đặc điểm mức độ viêm mạn tính trên mô bệnh học.



Hình 2. Mật độ H. pylori trên mô bệnh học theo từng nhóm bệnh nhân.

Tỷ lệ bệnh nhân có mật độ H. pylori (+) chiếm tỷ lệ cao nhất (49,1%). Nhìn chung không có sự khác biệt mật độ H. pylori giữa nhóm loét và nhóm viêm (hình 2).

Đặc điểm độc lực của các chủng H. pylori

Đặc điểm của CagA:

Bảng 4. Phân bố tỷ lệ H. pylori mang gen CagA(+) theo tổn thương trên nội soi.

Đặc điểm	Chung n (%)	Loét dạ dày - tá tràng n (%)	Viêm dạ dày n (%)	p	OR (95% CI)
CagA(+)	81 (71,1)	58 (82,9)	23 (52,3)	<0,001 ^a	4,4 (1,7-10,9)
CagA(-)	33 (28,9)	12 (17,1)	21 (47,7)		
Tổng	114 (100)	70 (100)	44 (100)		

^aChi-square test.

Nhận xét: các chủng vi khuẩn H. pylori có mang gen CagA(+) chiếm tỷ lệ 71,1% (81/114) bệnh nhân bị viêm loét dạ dày, tá tràng. Tỷ lệ trẻ nhiễm H. pylori mang gen CagA(+) tăng dần theo nhóm tuổi. Không có sự khác biệt về phân bố H. pylori mang gen CagA(+) theo giới. Trẻ nhiễm vi khuẩn H. pylori có gen CagA(+) làm nguy cơ loét tá tràng tăng gấp 4,4 lần so với nhiễm vi khuẩn CagA(-) với khoảng tin cậy 95% là 1,7-10,9 (bảng 4).

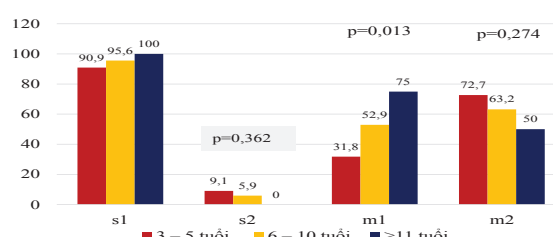
Bảng 5. Mối liên quan của gen CagA trong tổn thương mô bệnh học.

	CagA(+)	CagA(-)	p
Mức độ tổn thương			
Nhẹ	1 (1,2)	2 (6,1)	0,176 ^a
Vừa	34 (42,0)	17 (51,5)	
Nặng	46 (56,8)	14 (42,4)	
Mức độ hoạt động			
Nhẹ	12 (14,8)	11 (33,3)	0,007 ^a
Vừa	41 (50,6)	19 (57,6)	
Mạnh	28 (34,6)	3 (9,1)	
Mật độ H. pylori			
Không	5 (6,2)	6 (18,2)	0,270 ^b
+	41 (50,6)	14 (42,4)	
++	8 (24,2)	8 (24,2)	
+++	5 (15,2)	5 (15,2)	

^aChi-square test; ^bFisher's exact test.

Nhận xét: không có sự khác biệt về mức độ tổn thương cũng như mật độ H. pylori giữa nhóm bệnh nhân mang gen CagA(+) và nhóm mang gen CagA(-). Tuy nhiên, bệnh nhân nhiễm vi khuẩn H. pylori mang gen CagA(+) có mức độ hoạt động viêm mạnh cao hơn có ý nghĩa thống kê so với CagA(-) (34,6% so với 9,1%, p=0,007) (bảng 5).

Đặc điểm của VacA:



Hình 3. Phân bố kiểu gen VacA theo nhóm tuổi.

Nhận xét: 95,6% chủng đều mang kiểu s1, trong khi đó phân bố m1 và m2 tương đối đều. Tỷ lệ m1 tăng dần theo lứa tuổi, trong khi đó ghi nhận ngược lại đối với m2 (hình 3). Kiểu s1m2 của gen VacA chiếm ưu thế với tỷ lệ 59,1% ở nhóm trẻ 3-5 tuổi, sau đó giảm dần khi trẻ có độ tuổi cao hơn, ngược lại với kiểu s1m2 thì s1m1 có xu hướng tăng dần theo nhóm tuổi, sự khác biệt trong các nhóm tuổi kiểu s1m1 có ý nghĩa thống kê với $p=0,008$. Tương tự, kiểu s1m1m2 cũng tăng dần theo nhóm tuổi, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kiểu s2m2 chỉ ghi nhận gặp ở nhóm trẻ 3-5 tuổi và 6-10 tuổi, không ghi nhận trường hợp nào ở nhóm trẻ lớn ≥ 11 tuổi và tổ hợp gen s1m1m2 gặp 1 trường hợp do loét tá tràng ở nhóm 6-10 tuổi. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ trẻ nhiễm *H. pylori* mang gene s1 giữa 2 nhóm viêm và loét (88,6 và 100%, $p=0,007$), tuy nhiên không có sự khác biệt về phân bố kiểu gene s2, m1, m2 giữa hai nhóm. Kiểu gene s1s2m1 xuất hiện ở 1 bệnh nhân loét tá tràng có xuất huyết tiêu hoá.

Bảng 6. Mối liên quan của gen VacA trong tổn thương mô bệnh học.

	s1m1 n (%)	s1m2 n (%)	s2m2 n (%)	s1m1m2 n (%)	s1s2m1 n (%)
Mức độ tổn thương					
Nhẹ	0 (0,0)	1 (2,0)	2 (40,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Vừa	15 (35,7)	29 (59,2)	3 (60,0)	4 (23,5)	0 (0,0)
Nặng	27 (64,3)	19 (38,8)	0 (0,0)	13 (76,5)	1 (100)
P	p=0,0001 ^b				
Mức độ hoạt động					
Nhẹ	6 (14,3)	11 (22,4)	4 (80,0)	2 (11,8)	0 (0,0)
Vừa	25 (59,5)	26 (53,1)	1 (20,0)	7 (41,2)	1 (100)
Mạnh	11 (26,2)	12 (24,5)	0 (0,0)	8 (47,0)	0 (0,0)
P	p=0,067 ^b				
Mật độ <i>H. pylori</i>					
0	4 (9,5)	4 (8,2)	0 (0,0)	3 (17,6)	0 (0,0)
+	21 (50,0)	21 (42,9)	4 (80,0)	8 (47,1)	1 (100)
++	13 (31,0)	13 (26,5)	0 (0,0)	4 (23,5)	0 (0,0)
+++	4 (9,5)	11 (22,4)	1 (20,0)	2 (11,8)	0 (0,0)
P	p=0,746 ^b				
Tổng	42 (100)	49 (100)	5 (100)	17 (100)	1 (100)

^bFisher's exact test.

Nhận xét: mặc dù không có sự khác biệt về mật độ *H. pylori* giữa các kiểu gene vac, nhưng mức độ tổn thương nặng cũng như mức độ hoạt động mạnh chủ yếu được ghi nhận ở các bệnh nhân mang kiểu gene s1m1/s1m2 (bảng 6).

Tác động tổng hợp CagA và VacA:

Bảng 7. Nguy cơ loét tá tràng khi có sự kết hợp gene CagA với các kiểu gen VacA.

Gene CagA	Kiểu gene VacA	p-value	OR	95%CI
CagA(+)		0,0005 ^a	4,4	1,7-10,9
CagA(+)	s1m1	0,32 ^a	2,2	0,6-3,7
	s1m2	0,003 ^a	6,5	1,5-27,9
	s2m2	-	-	-
	s1m1m2	0,65 ^b	2,0	0,09-43,6
	s1s2m1	-	-	-

^aChi-square test; ^bFisher's exact test.

Nhận xét: trẻ nhiễm chủng *H. pylori* mang gen CagA(+) có

nguy cơ loét dạ dày, tá tràng cao gấp 4,4 lần (95%CI là 1,7-10,9) so với nhóm nhiễm chủng *H. pylori* mang gene CagA(-); trẻ nhiễm chủng *H. pylori* mang gene s1m1 và CagA(+) thì nguy cơ loét dạ dày, tá tràng có xu hướng cao gấp 2,2 lần (95%CI là 0,6-3,7) so với nhóm nhiễm chủng *H. pylori* mang gene s1m1 và CagA(-); trẻ nhiễm chủng *H. pylori* mang gene s1m2 khi kết hợp với CagA(+) có nguy cơ loét dạ dày, tá tràng cao gấp 6,5 lần (95%CI là 1,5-27,9) so với nhóm CagA(-) (bảng 7).

Bàn luận

Trong các nghiên cứu về *H. pylori*, độ tuổi, giới và điều kiện sống là các yếu tố ảnh hưởng nhiều tới bệnh cảnh lâm sàng của bệnh nhân nhiễm *H. pylori*. Trong nghiên cứu trên 123 bệnh nhân nhi, tình trạng nhiễm *H. pylori* không được xác nhận có liên quan tới lứa tuổi và giới, tuy nhiên các bé sống ở thành phố có tỷ lệ nhiễm *H. pylori* cao hơn gần 2 lần so với các bé ở nông thôn. Hơn 60% các bé có *H. pylori* được sinh ra bởi có cha mẹ từng nhiễm *H. pylori*. Kết quả này của nhóm nghiên cứu tương tự như kết quả nghiên cứu trước đây [22, 23]. Hầu hết các nghiên cứu trước đây chưa đánh giá được nguy cơ tiến triển của các bệnh dạ dày ở trẻ nhỏ có mẹ dương tính với *H. pylori*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ ra các bé này có nguy cơ loét cao hơn gần 4 lần so với nhóm có cha mẹ không bị nhiễm.

Các triệu chứng lâm sàng là một trong các yếu tố tiên lượng mức độ nghiêm trọng của bệnh lý dạ dày, tuy nhiên đối với nhóm bệnh nhi kết quả cho thấy các dấu hiệu không đủ rõ ràng để phân biệt tình trạng loét và viêm, do đó ít có giá trị trong tiên lượng. Tình trạng loét dạ dày ở trẻ em ít được ghi nhận ở các nghiên cứu về *H. pylori* trước đây [24-26], tuy nhiên trên nhóm bệnh nhân dương tính với *H. pylori* của chúng tôi, tỷ lệ bệnh nhi bị loét là khá cao. Sự khác biệt này có thể do quá trình sàng lọc đã tập trung nhiều vào các bệnh nhân có nhiều dấu hiệu lâm sàng điển hình để tiến hành nội soi. Đối tượng nghiên cứu của chúng tôi tập trung chủ yếu vào các bệnh nhi dương tính với *H. pylori*, tuy nhiên mật độ *H. pylori* cao (dương tính ++++) không phản ánh được mức độ trầm trọng của biểu hiện lâm sàng. Kết quả này cho thấy tình trạng nhiễm *H. pylori* cũng như mật độ của vi khuẩn không đủ bằng chứng thuyết phục giúp tiên lượng bệnh.

CagA là một trong các độc tố quan trọng nhất của *H. pylori*. Các mô hình động vật cho nhiễm *H. pylori* đã được phát triển để đánh giá vai trò của các độc tố vi khuẩn, trong đó nổi bật nhất là tầm quan trọng của CagA trong sinh bệnh học. Trong thử nghiệm với mô hình gerbils Mông Cổ, CagA(+) *H. pylori* có thể kích hoạt các bệnh lý tiền ung thư. 4 tuần sau thử thách thử nghiệm, gần như mọi động vật đều mắc chứng loạn sản dạ dày và đến 8 tuần, khoảng 2/3 đã phát triển ung thư tuyến [27]. Các nghiên cứu trước đây của nhóm nghiên cứu [12] chỉ ra rằng, hầu hết các chủng *H. pylori* phân lập từ người lớn đều dương tính với CagA (95%) và do đó không xác định được vai trò trong tiên lượng tình trạng loét của CagA. Kết quả trên các bệnh nhi cho thấy, mặc dù tần suất chủng dương tính với CagA thấp hơn báo cáo trước (71%), tuy nhiên việc nhiễm các chủng dương tính với CagA làm tăng nguy cơ loét lên hơn 4 lần. Các chủng dương tính với CagA cũng có mức độ hoạt

động viêm mạnh cao hơn gần 4 lần so với các chủng CagA(-). Kết quả cho thấy, CagA có thể là một ứng cử viên sáng giá cho tiên lượng bệnh đối với bệnh nhi nhiễm *H. pylori*, đồng thời các bệnh nhi dương tính với chủng *H. pylori* CagA(+) có thể cũng sẽ được xem như là đối tượng ưu tiên điều trị hơn là các chủng CagA(-). Một số báo cáo gần đây [28] cũng cho thấy mối liên hệ giữa kiểu gene CagA và tình trạng kháng metronidazole. Điều này mở ra triển vọng lựa chọn kháng sinh phù hợp cho bệnh nhân dựa vào kiểu gene CagA. Tuy nhiên, để có thể áp dụng vào thực tế cần có những nghiên cứu bổ sung trên quần thể người Việt Nam.

VacA là một protein độc tố nội màng tác động lên các con đường tín hiệu để hình thành không bào trong các tế bào nhân chuẩn của biểu mô dạ dày và cuối cùng làm chết tế bào. Cùng với CagA, VacA có vai trò quan trọng trong tiên lượng bệnh sinh của bệnh nhân nhiễm *H. pylori*. Nghiên cứu trước đây của chúng tôi [12] cho thấy, VacA m có vai trò quan trọng trong phân biệt nhóm có nguy cơ loét so với nhóm viêm khi tất cả các chủng được phân lập từ hai nhóm này đều dương tính với CagA và VacAs1. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy hầu hết các chủng đều dương tính với kiểu gene s1, các chủng dương tính với s1m1/s1m2 đều có mức độ tổn thương nặng và mức độ hoạt động mạnh hơn các chủng khác. Đáng chú ý, bệnh nhân dương tính với s1m1m2 có hiện tượng loét đa ổ với mức độ tổn thương nặng (76,5%). Đặc biệt, sự kết hợp giữa CagA, s1 và m1/m2 có thể làm tăng nguy cơ loét lên từ 4 đến 6 lần.

Kết luận

Đối với bệnh nhi, phổ lựa chọn kháng sinh bị giới hạn hơn so với người lớn, do đó việc chẩn đoán và ra quyết định điều trị cần phải được cân nhắc thận trọng hơn để vừa đạt được mục đích điều trị, vừa đảm bảo tính an toàn cho bệnh nhân. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy, đối với bệnh nhi có tiền sử gia đình nhiễm *H. pylori*, dương tính với *H. pylori* chủng CagA/s1m1/m2 nên được xếp vào nhóm ưu tiên điều trị do yếu tố nguy cơ loét tăng cao. Việc tham chiếu yếu tố độc lực đặc biệt có vai trò quan trọng trong tiên lượng lâm sàng đối với các bệnh nhi dưới 5 tuổi, bởi hầu hết các bệnh nhi này đều không có chỉ định điều trị *H. pylori*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] B. Linz, et al. (2014), "A mutation burst during the acute phase of *Helicobacter pylori* infection in humans and rhesus macaques", *Nat. Commun.*, **5**, Doi: 10.1038/ncomms5165.
- [2] A.T.B. Abadi (2017), "Strategies used by *Helicobacter pylori* to establish persistent infection", *World J. Gastroenterol.*, **23**(16), pp.2870-2882.
- [3] J.A. Bugaytsova, et al. (2017), "*Helicobacter pylori* adapts to chronic infection and gastric disease via pH-responsive BabA-mediated adherence", *Cell Host & Microbe*, **21**(3), pp.376-389.
- [4] Y. Yamaoka (2009), "*Helicobacter pylori* typing as a tool for tracking human migration", *Clin. Microbiol. Infect.*, **15**(9), pp.829-834.
- [5] R. Suzuki and Y. Yamaoka (2013), "Detection of prehistoric human migration by *Helicobacter pylori*", *Nihon Rinsho*, **71**(8), pp.1368-1373.
- [6] M. Oleastro and A. Menard (2013), "The role of *Helicobacter pylori* outer membrane proteins in adherence and pathogenesis", *Biology (Basel)*, **2**(3), pp.1110-1134.
- [7] F. Ailloud, et al. (2019), "Within-host evolution of *Helicobacter pylori* shaped by niche-specific adaptation, intragastric migrations and selective sweeps", *Nat. Commun.*, **10**(1), Doi: 10.1038/s41467-019-10050-1.

- [8] G.M. Buzas (2014), "Metabolic consequences of *Helicobacter pylori* infection and eradication", *World J. Gastroenterol.*, **20**(18), pp.5226-5234.
- [9] I.J. Choi, et al. (2018), "*Helicobacter pylori* therapy for the prevention of metachronous gastric cancer", *N. Engl. J. Med.*, **378**(12), pp.1085-1095.
- [10] Q. Chen and H. Lu (2016), "Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis and its impact on Chinese clinical practice", *J. Dig. Dis.*, **17**(6), pp.353-356.
- [11] K. Sugano, et al. (2015), "Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis", *Gut*, **64**(9), pp.1353-1367.
- [12] T.L. Nguyen, et al. (2010), "*Helicobacter pylori* infection and gastroduodenal diseases in Vietnam: a cross-sectional, hospital-based study", *BMC Gastroenterol.*, **10**, Doi: 10.1186/1471-230X-10-114.
- [13] D. Bravo, et al. (2018), "*Helicobacter pylori* in human health and disease: mechanisms for local gastric and systemic effects", *World J. Gastroenterol.*, **24**(28), pp.3071-3089.
- [14] M.S. Wu, et al. (2005), "A case-control study of association of *Helicobacter pylori* infection with morbid obesity in Taiwan", *Arch. Intern. Med.*, **165**(13), pp.1552-1555.
- [15] L. Halme, et al. (1996), "High frequency of *Helicobacter* negative gastritis in patients with Crohn's disease", *Gut*, **38**(3), pp.379-383.
- [16] M. Sugimoto and Y. Yamaoka (2009), "Virulence factor genotypes of *Helicobacter pylori* affect cure rates of eradication therapy", *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, **57**(1), pp.45-56.
- [17] M. Sarem and R. Corti (2016), "Role of *Helicobacter pylori* coccoid forms in infection and recrudescence", *Gastroenterol. Hepatol.*, **39**(1), pp.28-35.
- [18] J.W. Seo, et al. (2019), "The analysis of virulence factors and antibiotic resistance between *Helicobacter pylori* strains isolated from gastric antrum and body", *BMC Gastroenterol.*, **19**(1), Doi: 10.1186/s12876-019-1062-5.
- [19] D.E. Brennan, et al. (2018), "Can bacterial virulence factors predict antibiotic resistant *Helicobacter pylori* infection?", *World J. Gastroenterol.*, **24**(9), pp.971-981.
- [20] S. Ansari and Y. Yamaoka (2018), "Current understanding and management of *Helicobacter pylori* infection: an updated appraisal", *F1000Research*, Doi: 10.12688/f1000research.14149.1
- [21] Y. Yamaoka, et al. (1998), "Variants of the 3' region of the CagA gene in *Helicobacter pylori* isolates from patients with different *H. pylori*-associated diseases", *J. Clin. Microbiol.*, **36**(8), pp.2258-2263.
- [22] A. Ceylan, et al. (2007), "Prevalence of *Helicobacter pylori* in children and their family members in a district in Turkey", *J. Health Popul. Nutr.*, **25**(4), pp.422-427.
- [23] Y.T. van Duynhoven and R. de Jonge (2001), "Transmission of *Helicobacter pylori*: a role for food?", *Bull. World Health Organ.*, **79**(5), pp.455-460.
- [24] C.H. Peng, C.H. Wei, and C.Y. Yeung (2018), "Biliary-enteric fistula, a rare complication of peptic ulcer disease in children", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, **66**(3), Doi: 10.1097/MPG.0000000000001152.
- [25] E.J. Lee, Y.J. Lee, and J.H. Park (2019), "Usefulness of ultrasonography in the diagnosis of peptic ulcer disease in children", *Pediatr. Gastroenterol. Hepatol. Nutr.*, **22**(1), pp.57-62.
- [26] C.O. Ecevit, et al. (2012), "Peptic ulcer disease in children: an uncommon disorder with subtle symptomatology", *Turk. J. Gastroenterol.*, **23**(6), pp.666-669.
- [27] S. Backert and M.J. Blaser (2016), "The role of CagA in the gastric biology of *Helicobacter pylori*", *Cancer Res.*, **76**(14), pp.4028-4031.
- [28] M. Bachir, et al. (2018), "Primary antibiotic resistance and its relationship with CagA and VacA genes in *Helicobacter pylori* isolates from Algerian patients", *Braz. J. Microbiol.*, **49**(3), pp.544-551.