

Nghiên cứu xây dựng quy trình chẩn đoán vi khuẩn *Helicobacter pylori* trong mẫu nước bọt bằng phương pháp PCR

Triệu Tiến Sang^{1*}, Trần Văn Khoa¹, Nguyễn Thanh Tùng¹,
Nguyễn Hoàng Hiệp¹, Nguyễn Thu Huyền², Nguyễn Thị Trang³

¹Học viện Quân y

²Khoa Sinh, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

³Bộ môn Y sinh học và Di truyền, Trường Đại học Y Hà Nội

Ngày nhận bài 10/5/2019; ngày chuyển phân biện 14/5/2019; ngày nhận phân biện 17/6/2019; ngày chấp nhận đăng 2/7/2019

Tóm tắt:

Helicobacter pylori (Hp) là một vi khuẩn tồn tại phổ biến trong niêm mạc dạ dày người. Hơn 50% dân số thế giới có vi khuẩn Hp trong đường tiêu hóa; 10-20% trong số đó có nguy cơ nhiễm trùng dạ dày và 1-2% có nguy cơ mắc ung thư dạ dày. Hiện nay có nhiều phương pháp chẩn đoán Hp, trong đó CLOtest trên mảnh sinh thiết dạ dày là phương pháp lâm sàng được sử dụng thường xuyên với độ chính xác cao, nhưng đòi hỏi phải có quá trình xâm lấn nội mô. Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã xây dựng thành công quy trình chẩn đoán vi khuẩn Hp trong mẫu nước bọt bằng phương pháp PCR thông qua việc xác định hai gen đặc hiệu *ureC* và *hsp60* của vi khuẩn Hp. Thử nghiệm quy trình trên 67 mẫu nước bọt cho thấy, phương pháp này cho kết quả tương đồng với phương pháp PCR trên mẫu mô sinh thiết dạ dày và phương pháp lâm sàng CLOtest.

Từ khóa: *Helicobacter pylori*, không xâm lấn, nước bọt, PCR.

Chỉ số phân loại: 3.2

Đặt vấn đề

Vi khuẩn Hp là một loại khuẩn dạng xoắn ốc tồn tại phổ biến trong đường tiêu hóa của hơn 50% dân số thế giới [1]. Khoảng 10-20% số người nhiễm Hp có nguy cơ bị nhiễm trùng dạ dày và 1-2% có nguy cơ mắc ung thư dạ dày [2]. Tại Hội nghị khoa học quốc tế chuyên ngành Tiêu hóa - Gan do Bệnh viện Bạch Mai tổ chức, một nghiên cứu đã công bố tỷ lệ nhiễm Hp ở Việt Nam có thể lên đến 70% - cao hơn nhiều so với các nước như Mỹ và Canada (khoảng 30%), Việt Nam hiện cũng đang đứng thứ 18 trong số 20 nước có tỷ lệ ung thư dạ dày cao nhất thế giới.

Hiện nay có nhiều phương pháp chẩn đoán vi khuẩn Hp trong dạ dày, bao gồm cả phương pháp xâm lấn và không xâm lấn. Tuy nhiên các phương pháp này đều có các nhược điểm như chỉ khẳng định được có vi khuẩn tiết Urease (nội soi, CLOtest, test Carbon đường thở), chỉ xác định được hình thái (mô bệnh học, tế bào học), đòi hỏi kỹ thuật cao (nuôi cấy), phải có một lượng vi khuẩn nhất định (CLOtest), độ nhạy và độ đặc hiệu thấp (xét nghiệm phân hoặc nước tiêu), không phân biệt được thời điểm xâm nhiễm (xét nghiệm huyết thanh). Phương pháp PCR trên mẫu sinh thiết mô có ưu điểm là chính xác, trực tiếp, khẳng định được sự có mặt của vi khuẩn Hp nên được sử dụng như một tiêu

chẩn vàng để chẩn đoán vi khuẩn Hp [3]. Phương pháp này có độ nhạy và độ đặc hiệu rất cao (90-100%) [4, 5], nhưng có nhược điểm là phải yêu cầu xâm lấn.

Thực tế, vi khuẩn Hp có thể xuất hiện trong nước bọt của những người mang vi khuẩn Hp trong dạ dày với tỷ lệ khá cao [6], điều này đã gợi ý về việc có thể phát triển một xét nghiệm chẩn đoán vi khuẩn Hp sử dụng mẫu bệnh phẩm là nước bọt bằng phương pháp PCR không xâm lấn với độ chính xác cao. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích xây dựng quy trình chẩn đoán vi khuẩn Hp trong dạ dày bằng phương pháp PCR thông qua việc xác định sự có mặt của vi khuẩn Hp trong mẫu nước bọt.

Gen *ureC* của Hp mã hóa cho phosphoglucosamine mutase - *glmM*, được coi như một gen “quản gia.2” góp phần cho sự sinh trưởng và phát triển của thành tế bào vi khuẩn. Gen *ureC* là gen bảo thủ ở hầu hết các chủng Hp, cung cấp cơ sở chính xác để nhận dạng nhiều chủng Hp khác nhau [7]. Gen *hsp60* mã hóa cho protein HSP60 - phân tử chaperone được Hp sản xuất nhiều nhất và đóng vai trò quan trọng trong sự xâm nhiễm và gây bệnh của vi khuẩn này, *hsp60* đã được chọn để phát hiện vi khuẩn Hp trong các mẫu bệnh phẩm vì nó là gen có độ bảo thủ cao, hiện diện trong tất cả các sinh vật [8] nhưng cũng đủ biến đổi để có các môi đặc hiệu cho loài. Chính vì vậy, nghiên cứu đã

*Tác giả liên hệ: Email: trieuangsang83@yahoo.com.vn

The development of PCR assay for diagnosis of *Helicobacter pylori* in saliva samples

Tien Sang Trieu^{1*}, Van Khoa Tran¹,
Thanh Tung Nguyen¹, Hoang Hiep Nguyen¹
Thu Huyen Nguyen², Thi Trang Nguyen³

¹Military Medical University

²Faculty of Biology, University of Natural Sciences,
Vietnam National University, Ha Noi

³Department of Medical Biology and Genetic,
Ha Noi Medical University

Received 10 May 2019; accepted 2 July 2019

Abstract:

Helicobacter pylori (Hp) is a common bacterium in human gastric mucosa. More than 50% of the world's population has Hp bacteria in the gastrointestinal tract; 10-20% of them is at risk of stomach infections; and 1-2% is at risk of stomach cancer. Currently, there are many methods of Hp diagnosis, in which CLOtest on gastric biopsy tissue samples is a frequently-used clinical method with high accuracy, but it requires a process of intracellular invasion. In this study, we have successfully developed a process to diagnose Hp in saliva samples using PCR method through identifying two specific genes *ureC* and *hsp60* of Hp. After designing primer pairs for two genes and optimising PCR reactions, we conducted a test on 67 saliva samples, and the results showed that this process gave similar results with PCR method on the gastric biopsy tissue samples and the clinical method CLOtest.

Keywords: *Helicobacter pylori*, non-invasive, PCR, saliva.

Classification number: 3.2

sử dụng hai gen *ureC* và *hsp60* để xây dựng quy trình chẩn đoán vi khuẩn Hp trong mẫu nước bọt bằng PCR. Quy trình tối ưu được thử nghiệm trên 67 mẫu bệnh phẩm và được so sánh với phương pháp xét nghiệm PCR trên mẫu sinh thiết và phương pháp CLOtest.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

9 mẫu chứng dương đã được xác định dương tính với vi khuẩn Hp.

Mẫu nước bọt cùng với mẫu mô dạ dày được lấy từ 67 bệnh nhân tại phòng khám thực hiện nội soi dạ dày tá tràng

của Bệnh viện Quân y 103.

Các mẫu bệnh phẩm được bảo quản ở -4°C. Thông tin về bệnh nhân và kết quả xét nghiệm được lưu lại trong bệnh án nghiên cứu.

Phương pháp

Tối ưu hóa phản ứng multiplex PCR: đầu tiên phản ứng PCR với mẫu bệnh phẩm Hp dương tính được lần lượt tối ưu với hai cặp mồi được thiết kế đặc hiệu cho vùng gen *ureC* (F1/R1) và *hsp60* (F2/R2). Trình tự của hai cặp mồi và kích thước của đoạn ADN nhân lên được thể hiện ở bảng 1. Phản ứng PCR được tiến hành với dải nhiệt độ từ 52 đến 60°C, sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2% để phân tích kết quả. Nhiệt độ nào cho ra băng sản phẩm rõ ràng, chính xác và ổn định nhất sẽ được lựa chọn làm nhiệt độ gắn mồi. Sau khi lựa chọn được nhiệt độ gắn mồi thích hợp cho phản ứng PCR đơn mồi, tiến hành phản ứng multiplex PCR với cùng nhiệt độ nhằm kiểm tra khả năng sử dụng phản ứng multiplex PCR phát hiện đồng thời cả hai gen.

Bảng 1. Trình tự mồi, kích thước của đoạn ADN được nhân lên.

| | Tên mồi | Trình tự | T _m (°C) | Kích thước đoạn ADN được nhân bản |
|--------------|---------|-----------------------------|---------------------|-----------------------------------|
| <i>ureC</i> | F1 | 5'AAGCTTTTAGGGG3' | 58,6 | 294 bp |
| | R1 | 5'AAGCTTACTTTCTAACACTAACG3' | 53,3 | |
| <i>hsp60</i> | F2 | 5'TTGATAGAGGCTACTCTCC3' | 52,7 | 501 bp |
| | R2 | 5'TGTCATAATCGCTTGTCTGTC3' | 55,7 | |
| <i>Nsea</i> | N-α | 5'AGGACCTTGGATGGCGTTGG3' | | 851 bp |
| | F-α | 5'TTCGACGGAACCTCGGTCTGTC3' | | |

Thử nghiệm quy trình chẩn đoán vi khuẩn Hp trong nước bọt multiplex PCR:

Tách chiết ADN tổng số từ mẫu nước bọt: ADN được tách chiết sử dụng bộ kit G-spin™ Total Extraction của iNtRON Biotechnology: 400 μl nước bọt được cho vào ống ly tâm 1,5 ml; thêm 400 μl CL Buffer, 20 μl Proteinase K, 5 μl RNase, trộn đều, ủ ở 56°C trong thời gian 30 phút; thêm 400 μl Buffer BL, trộn đều, ủ ở 70°C trong vòng 5 phút; thêm 400 μl EtOH 100%, trộn đều; chuyển 800 μl dung dịch từ ống ly tâm 1,5 ml vào cột lọc, ly tâm 13000 vòng/phút trong 1 phút ở 25°C, đổ dịch; chuyển hết toàn bộ dung dịch còn lại trong ống vào cột lọc và lặp lại bước trước đó; thêm 700 μl Buffer WA vào cột lọc, ly tâm 13000 vòng/phút trong 1 phút ở 25°C, đổ dịch; thêm 700 μl Buffer WB vào cột lọc, ly tâm 13000 vòng/phút trong 1 phút ở 25°C, đổ dịch; ly tâm 13000 vòng/phút trong 1 phút ở 25°C làm khô màng lọc, chuyển cột lọc sang một ống ly tâm 1,5 ml mới; thêm 85 μl nước khử ion đã được ủ ở 56°C vào cột lọc, ủ ở nhiệt độ phòng tối thiểu 5 phút, ly tâm 13000 vòng/phút

trong 1 phút ở 25°C, thu ADN ở ống ly tâm 1,5 ml. ADN được đo nồng độ và giá trị A260/A280 để kiểm tra chất lượng bằng máy Nanodrop.

Thực hiện phản ứng multiplex PCR: phản ứng PCR được tiến hành với hai cặp mồi thiết kế đặc hiệu cho vùng gen *ureC* (F1/R1) và *hsp60* (F2/R2) và cặp mồi của gen nội chuẩn *Nsea* (N- α /F- α) có trình tự như bảng 1. Tổng thể tích phản ứng là 25 μ l, bao gồm 12,5 μ l Master mix 2X, 0,5 μ l mỗi mồi. Chu trình nhiệt được thể hiện ở phần kết quả của quá trình tối ưu phản ứng multiplex PCR.

Đọc kết quả: sản phẩm PCR được tiến hành điện di trên gel agarose 2% và được chụp bằng máy để xác định kết quả.

Xét nghiệm Hp bằng phương pháp PCR trên mẫu mô sinh thiết dạ dày:

Tách chiết ADN tổng số từ mẫu mô sinh thiết dạ dày: ADN được tách chiết từ mẫu mô có khối lượng không quá 25 mg, bổ sung 180 μ l dung dịch ATL, 20 μ l proteinase K vào ống ly tâm 1,5 ml, trộn đều. Ủ ở 56°C từ 1 đến 3h. Bổ sung 200 μ l EtOH 100%, trộn đều trong 15 phút, ủ ở 70°C trong 10 phút. Chuyển toàn bộ dung dịch vào cột lọc, ly tâm 8000 vòng/phút trong 1 phút ở 25°C, bỏ dịch. Thêm 500 μ l Buffer AW1 vào cột lọc, ly tâm 8000 vòng/phút trong 1 phút ở 25°C, bỏ dịch. Thêm 500 μ l Buffer AW2 vào cột lọc, ly tâm 14000 vòng/phút trong 3 phút ở 25°C, bỏ dịch. Ly tâm 14000 vòng/phút trong 1 phút ở 25°C làm khô màng lọc. Thêm 200 μ l nước khử ion đã được ủ ở 56°C vào cột lọc, ủ trong nhiệt độ phòng tối thiểu 5 phút, ly tâm 8000 vòng/phút trong 1 phút ở 25°C, thu ADN. ADN sau khi thu sẽ được kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch bằng máy Nanodrop.

Thực hiện phản ứng multiplex PCR: phản ứng multiplex PCR được thực hiện sử dụng các cặp mồi và thành phần phản ứng giống với phản ứng trên mẫu nước bọt. Chu trình nhiệt của phản ứng: 95°C - 5 phút; 40 chu kỳ của các nhiệt độ 94°C - 30 giây, 56°C - 30 giây, 72°C - 30 giây; 72°C - 10 phút; 4°C - ∞ .

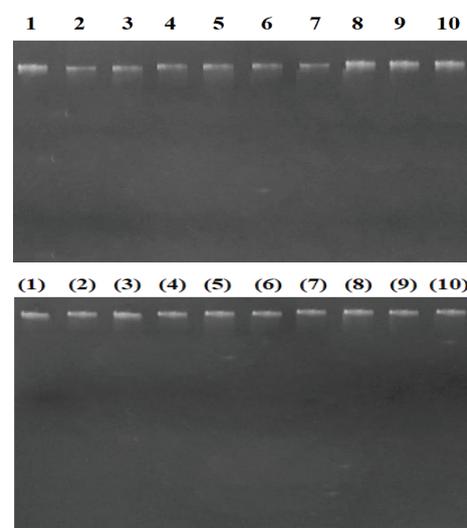
Đọc kết quả: sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2% và được chụp bằng máy để xác định kết quả.

Xét nghiệm Hp bằng phương pháp CLOtest: quy trình thực hiện xét nghiệm bằng phương pháp CLOtest được thực hiện theo đúng tiêu chuẩn tại phòng khám thực hiện nội soi dạ dày tá tràng, Bệnh viện Quân y 103.

Kết quả và thảo luận

Tách chiết ADN tổng số từ mẫu nước bọt

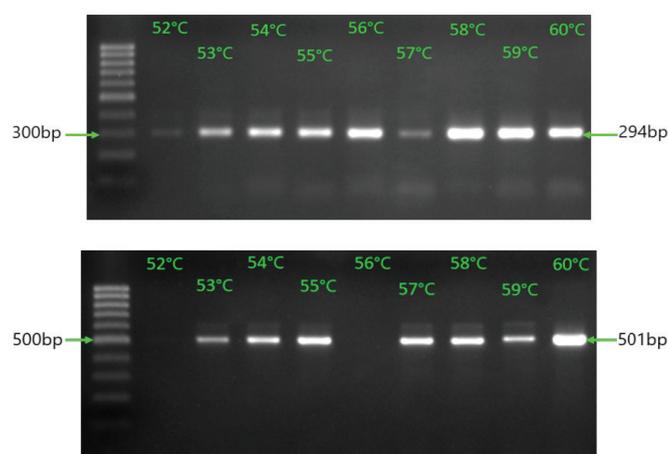
ADN tổng số sau khi được tách chiết và tiến hành đo quang phổ sẽ được tiến hành điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8%. Kết quả được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Ảnh điện di ADN tổng số của một số mẫu nghiên cứu. 1, 2, 3...: ADN tách từ mẫu nước bọt; (1), (2), (3)...: ADN tách từ mẫu mô dạ dày.

Các mẫu ADN được tách chiết từ nước bọt có độ tinh sạch đảm bảo, một số mẫu có nồng độ quá cao sẽ được pha loãng xuống nồng độ phù hợp cho phản ứng PCR.

Kết quả tối ưu phản ứng multiplex PCR

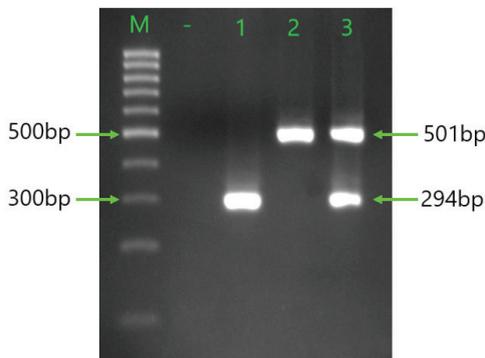


Hình 2. Tối ưu nhiệt độ gắn mồi của phản ứng PCR nhân bản gen *ureC* (trên) và *hsp60* (dưới) của vi khuẩn Hp.

Phân tích kết quả điện di sản phẩm sPCR trên gel agarose 2% (hình 2) cho thấy, các băng sản phẩm được khuếch đại của gen *ureC* và *hsp60* tại dải nhiệt độ từ 52 đến 60°C có kích thước phù hợp với tính toán khi thiết kế mồi: gen *ureC* có vị trí băng nằm dưới vạch 300 bp của thang chuẩn, vào khoảng phù hợp với dự kiến (294 bp); gen *hsp60* có vị trí băng nằm trên vạch 500 bp của thang chuẩn, vào khoảng phù hợp với dự kiến (501 bp). Kết quả điện di thu được tại nhiệt độ gắn mồi 60°C cho băng sáng rõ nhất, không có sản phẩm phụ với cả hai gen. Do đó, 60°C được lựa chọn làm nhiệt độ gắn mồi để tiến hành phản ứng multiplex PCR.

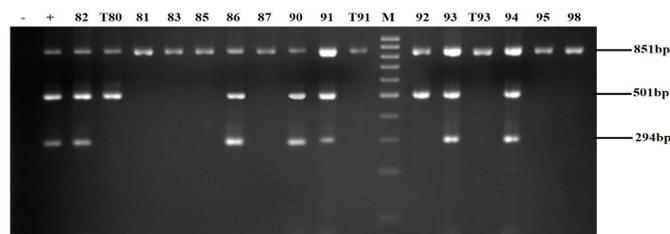
Từ hình ảnh điện di trên gel agarose 2% (hình 3) nhận thấy, khi tiến hành phản ứng multiplex PCR tại nhiệt độ gần mỗi 60°C cho hai băng sản phẩm khuếch đại của hai gen *ureC* và *hsp60* sáng, rõ nét, băng nằm tại vị trí có kích thước so với thang chuẩn phù hợp với tính toán khi thiết kế mỗi. Các băng sản phẩm khuếch đại của phản ứng multiplex PCR cho thấy sự ổn định khi so sánh với các băng sản phẩm khuếch đại của phản ứng sPCR, và không thấy xảy ra hiện tượng bắt cặp chéo giữa các cặp môi. Sản phẩm không có băng phụ, chứng tỏ chu trình nhiệt và nồng độ thành phần tham gia phản ứng là thích hợp. Trong quá trình tiến hành thí nghiệm với các nồng độ ADN khác nhau, chúng tôi nhận thấy nồng độ ADN thích hợp để thực hiện phản ứng multiplex PCR trên mẫu nước bọt là 5-20 ng/ μ l.

Chu trình nhiệt của phản ứng multiplex PCR sau khi tối ưu là: 95°C - 5 phút; 40 chu kỳ của 94°C - 30 giây, 60°C - 30 giây, 72°C - 30 giây; 72°C - 10 phút; 4°C - ∞ .



Hình 3. Nhân bản đồng thời cả hai gen *ureC* và *hsp60* đặc hiệu của vi khuẩn Hp bằng PCR. M: thang chuẩn ADN 100 bp; (-): đối chứng âm - nước khử ion; 1: sản phẩm PCR nhân bản gen *ureC*; 2: sản phẩm PCR nhân bản gen *hsp60*; 3: sản phẩm PCR nhân bản đồng thời cả hai gen *ureC* và *hsp60*.

Kết quả thử nghiệm quy trình chẩn đoán Hp trên mẫu nước bọt



Hình 4. Hình ảnh điện di sản phẩm khuếch đại sau khi áp dụng quy trình lên mẫu bệnh phẩm nước bọt. M: thang chuẩn ADN 100 bp; (-): đối chứng âm - nước khử ion; (+): đối chứng dương; T80, 81, 82...: mẫu bệnh phẩm xét nghiệm.

Kết quả điện di của các sản phẩm khuếch đại khi áp dụng phản ứng multiplex PCR đã được xây dựng trên các mẫu bệnh phẩm nước bọt (hình 4) cho thấy, tất cả các mẫu ADN

đều lên băng sản phẩm khuếch đại của gen nội chuẩn *Nsea* có vị trí băng nằm giữa vạch 800 và 900 bp của thang chuẩn, cho kích thước phù hợp với dự kiến (851 bp), chứng tỏ tất cả các mẫu đều đã tách chiết thành công ADN. Các băng sản phẩm của hai gen đặc hiệu cũng có vị trí phù hợp với kích thước tính toán khi thiết kế mỗi: *ureC* (294 bp) và *hsp60* (501 bp).

Các mẫu ADN vi khuẩn có chứa đoạn gen *ureC* đã khuếch đại được nhận định là dương tính với vi khuẩn Hp. Những nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng, kết quả về độ nhạy khi sử dụng phương pháp PCR với cặp môi đặc hiệu của gen *ureC* để xác định vi khuẩn Hp là tương đồng nhau giữa các phòng thí nghiệm [4, 7, 9, 10]. Tương tự, các mẫu ADN vi khuẩn có chứa đoạn gen *hsp60* đã khuếch đại được nhận định là dương tính với vi khuẩn Hp. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu được thực hiện trước đó, chẩn đoán sử dụng phương pháp Nested PCR với gen *hsp60* được nhận định có độ đặc hiệu cao nhất [3].

Một số mẫu dương tính đồng thời cả hai gen *ureC* và *hsp60* cũng được nhận định là dương tính với vi khuẩn Hp. Những mẫu âm tính đồng thời với cả hai gen sẽ được nhận định là âm tính với vi khuẩn Hp.

So sánh, đối chiếu giữa các phương pháp

Bảng 2. So sánh kết quả giữa hai phương pháp PCR trên mẫu nước bọt và mô dạ dày.

| | | <i>ureC</i> | <i>hsp60</i> | <i>ureC</i> và <i>hsp60</i> |
|-------------------------------|------------------------|-------------|--------------|-----------------------------|
| Số mẫu dương tính với Hp | PCR trên mẫu nước bọt | 38 | 41 | 42 |
| | PCR trên mẫu mô dạ dày | 45 | 43 | 46 |
| Tổng số mẫu dương tính với Hp | | 42 | 42 | 42 |

Từ bảng so sánh giữa phương pháp PCR trên mẫu nước bọt và mô dạ dày (bảng 2) cho thấy, tỷ lệ xác định được vi khuẩn Hp dương tính giữa hai phương pháp với gen *ureC* là 84% (38/45 mẫu), gen *hsp60* là 95% (41/43 mẫu) và khi áp dụng phản ứng multiplex PCR phát hiện đồng thời cả hai gen tỷ lệ này đạt được 91% (42/46 mẫu).

Bảng 3. So sánh kết quả giữa ba phương pháp PCR trên mẫu nước bọt, mô dạ dày và CLOtest.

| Các phương pháp | Dương tính | Âm tính | Tổng số mẫu |
|------------------------|------------|---------|-------------|
| PCR trên mẫu nước bọt | 42 | 25 | 67 |
| PCR trên mẫu mô dạ dày | 46 | 21 | 67 |
| CLOtest | 39 | 28 | 67 |

Khi so sánh kết quả phương pháp PCR trên mẫu nước bọt với hai phương pháp xâm lấn có độ chính xác cao hiện nay là phương pháp “tiêu chuẩn vàng” - PCR trên mẫu mô dạ dày và CLOtest (bảng 3) cho thấy, PCR trên mẫu nước bọt có kết quả tương đồng cao với phương pháp PCR trên mẫu mô dạ dày và CLOtest. Các mẫu dương tính Hp khi sử

dụng phương pháp CLOtest đều cho kết quả dương tính khi sử dụng phương pháp PCR trên mẫu nước bọt và mẫu mô dạ dày. Các mẫu âm tính Hp khi sử dụng hai phương pháp PCR trên mẫu nước bọt và PCR trên mẫu mô dạ dày đồng thời cũng cho kết quả âm tính khi sử dụng phương pháp CLOtest.

Mặc dù hai gen *ureC* và *hsp60* đều là các gen bảo thủ của vi khuẩn Hp, tỷ lệ phát hiện vi khuẩn sử dụng các gen này khác nhau phụ thuộc vào từng loại mẫu bệnh phẩm. Với các mẫu sinh thiết dạ dày, tỷ lệ phát hiện Hp sử dụng gen *ureC* và *hsp60* đều đạt tới 100%. Tuy nhiên, dù không có sự khác biệt nào được tìm thấy giữa trình tự các gen này ở nước bọt và mô sinh thiết dạ dày, tỷ lệ phát hiện Hp trên mẫu bệnh phẩm nước bọt sử dụng hai gen này vẫn chưa đạt 100% [11, 12].

Kết luận

Nghiên cứu đã tách chiết thành công ADN vi khuẩn từ mẫu nước bọt và mẫu mô dạ dày. Tối ưu thành công phản ứng sPCR khuếch đại hai gen đặc hiệu (*UreC* và *Hsp60*) của vi khuẩn Hp với nhiệt độ gắn mỗi đều là 60°C. Phản ứng multiplex PCR khuếch đại đồng thời hai gen đặc hiệu với chu trình nhiệt 95°C - 5 phút; 40 chu kỳ của 94°C - 30 giây, 60°C - 30 giây, 72°C - 30 giây; 72°C - 10 phút; 4°C - ∞ và nồng độ ADN sử dụng nằm trong khoảng 5-20 ng/μl. Bước đầu khảo sát khả năng áp dụng quy trình bằng việc tiến hành so sánh với hai phương pháp xâm lấn là PCR trên mẫu mô dạ dày và CLOtest: ứng dụng trên 67 mẫu bệnh phẩm nước bọt cho kết quả 42 mẫu dương tính và 25 mẫu âm tính, có sự tương đồng cao với phương pháp PCR trên mẫu mô dạ dày (46 mẫu dương tính, 21 mẫu âm tính) và CLOtest (39 mẫu dương tính và 28 mẫu âm tính).

Cần tiếp tục mở rộng quy mô thí nghiệm nhằm đánh giá độ tin cậy của quy trình với một cỡ mẫu lớn có ý nghĩa thống kê cao; tiếp tục nghiên cứu nhằm xác định chính xác độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Amieva, et al. (2016), "Pathobiology of *Helicobacter pylori* induced gastric cancer", *Gastroenterology*, **150(1)**, pp.64-78.
- [2] Jose A. Mendoza, Kevin K. Weinberger, Matthew J. Swan (2017), "The Hsp60 protein of *Helicobacter pylori* displays chaperone activity under acidic conditions", *Biochemistry and Biophysics Reports*, **9**, pp.95-99.
- [3] Jang Jih Lu, et al. (1999), "Comparison of Five PCR Methods for Detection of *Helicobacter pylori* DNA in Gastric Tissues", *J. Clin. Microbiol.*, **37**, pp.772-774.
- [4] C.L. Clayton, et al. (1992), "Sensitive detection of *Helicobacter pylori* by using polymerase chain reaction", *J. Clin. Microbiol.*, **30**, pp.192-200.
- [5] C.Y. Hachem, et al. (1995), "Comparison of agar based media for primary isolation of *Helicobacter pylori*", *J. Clin. Pathol.*, **48**, pp.714-716.
- [6] C. Li, et al. (1995), "High prevalence of *Helicobacter pylori* in saliva demonstrated by a novel PCR assay", *J. Clin. Pathol.*, **48**, pp.662-666.
- [7] R.K. El Dairouty, et al. (2016), "*Helicobacter pylori* and its Interrelations with other Foodborne Pathogenic Bacteria in Egyptian Meat and some Meat Products", *Curr. Sci. Int.*, **5(2)**, pp.139-146.
- [8] S. Karlin (2001), "Detecting anomalous gene clusters and pathogenicity islands in diverse bacterial genomes", *Trends in Microbiology*, **9(7)**, pp.335-343.
- [9] M.G.C. Espinoza, et al. (2011), "Detection of the glmM gene in *Helicobacter pylori* isolates with a novel primer by PCR", *Journal of Clinical Microbiology*, **49(4)**, pp.1650-1652.
- [10] C. Habich, V. Burkart (2007), "Heat shock protein 60: regulatory role on innate immune cells", *Cellular and Molecular Life Sciences*, **64(6)**, pp.742-751.
- [11] A.N. Al Thwai, S.F. Ali (2013), "Detection of *Helicobacter pylori* in saliva and biopsy specimens of some Iraqi patients using PCR technique", *International Journal of Advanced Biological Research*, **3(4)**, pp.593-598.
- [12] S. Mishra, et al. (2008), "Prevalence of *Helicobacter pylori* in asymptomatic subjects - a nested PCR based study", *Infection, Genetics and Evolution*, **8(6)**, pp.815-819.