KHẢO SÁT TÍNH KHÁNG THUỐC CÁC CHỦNG *HELICOBACTER PYLORI* PHÂN LẬP TỪ CÁC BỆNH NHÂN VIÊM DẠ DÀY MẠN TÍNH, LOÉT DẠ DÀY VÀ UNG THƯ DẠ DÀY

NGUYỄN THỊ NGUYỆT, NGUYỄN THỊ HỒNG HẠNH
Viện Công nghệ Sinh học
TRẦN VĂN HỢP, *Đại học Y Hà Nội*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Trên thế giới cũng như ở Việt Nam, H. pylori trở nên kháng với nhiều loại kháng sinh là nguyên nhân thất bại của các phác đồ điều trị. Mục tiêu: Xác định tỷ lệ kháng thuốc của các chủng H. pylori phân lập ở các bệnh nhân bị các bệnh dạ dày (Viêm dạ dày mạn, Loét dạ dày và Ung thư dạ dày) với các kháng sinh đang được sử dụng cho điều trị. Đối tượng và phương pháp: 90 mẫu bệnh phẩm dạ dày được lấy từ bệnh nhân thuộc ba nhóm bệnh VDDMT, LDD, UTDD có tuổi từ 18-80, gồm 35 nữ 55 nam. Các bệnh nhân được nội soi và chẩn đoán các bệnh lý dạ dày theo phân loại của Sydney. Vi khuẩn H. pylori được nuôi cấy từ sinh thiết để xác định tính nhậy cảm với kháng sinh theo phương pháp khuyếch tán đĩa thạch Kết quả: 45 chủng H. pylori phân lập từ 90 mẫu bệnh phẩm dạ dày thuộc 3 nhóm bệnh VDDMT, LDD, UTDD có tỷ lệ kháng Apicillin, Amoxicillin, Tetracycllin, Metronidazol, Clarithromycin tương ứng là 33,3 %; 35,5%; 17,78%; 95,5%; 26,67%. Kết luận: Phát hiện đa kháng ở các chủng H. pylori lưu hành trong các bệnh nhân. Metronidazol là kháng sinh có tỷ lệ kháng cao nhất trong 5 kháng sinh đang dùng hiện nay với tỷ lệ kháng là 95,5%.

Từ khóa: H. Pylori, kháng thuốc, bệnh dạ dày

SUMMARY

Background: In the World as well as in Viet Nam, the resistance of H. pylori strains to antibiotics has been the major cause dealing with the failure in antibiotic therapy applied by medical doctors. Aim: Evaluate susceptibilities of H. pylori strains circulating in the patients with gastritis, gastric ulceration and gastric cancer to drugs used in antibiotic therapy. Subjects and Methods: 90 gastric biopsies taken from patients with gastritis, peptic ulcer, gastric cancer of aged ranging from 18 to 80, including 35 women 55 men were the subjects of the survey. The patients were diagnosed with endoscopy and the gastric pathology was evaluated by Sydney classification. The bacterial were isolated, then they were cultured to be evaluated for their susceptibilities to antibiotic using disk- diffusion method Results: 45 Helicobacter pylori strains isolated from patients with gastritis, peptic ulcer, gastric cancer were shown to have the resistance rate 33.3%; 35.5%; 17.78%; 95.5%; 26.67% to five antibiotics Ampicillin, Amoxicillin, Tetracycline, Metronidazol, Clarithromycin, respectively. Conclusion: Multidrug resistance was found in H.pylori strains isolated from the patients of three disease groups. The resistance rate of the bacteria to Metronidazol appears to be highest 95,5% among five antibiotics currently in use.

Keywords: H. Pylori, gastritis, gastric cancer

MỞ ĐẦU

H. pylori là một trong những nguyên nhân gây viêm, loét dạ dày & hành tá tràng, viêm dạ dày mạn tính và ung thư dạ dày. Hơn một nửa dân số thế giới bị nhiễm *H. pylori,* trong đó số người bị nhiễm tập trung chủ yếu ở các nước đang phát triển. Ở Việt Nam, số người bị nhiễm vi khuẩn *H. pylori* lên tới 70% [4]. Bệnh viêm loét dạ dày, hành tá tràng chiếm 26% các bệnh nội khoa, đứng đầu các bệnh về tiêu hoá [2]. Các tổn thương như viêm, loét dạ dày sau nhiều năm nhiễm khuẩn có thể được phục hồi khi điều trị tiệt trừ vi khuẩn thành công [4].

Hiện nay, có 5 loại kháng sinh đang được dùng trong điều trị *H. pylori* gồm Ampicillin, Amoxycillin, Tetracycllin, Metronidazole, Clarithromycin. Phác đồ dùng để tiệt trừ *H. pylori* thường kết hợp ít nhất là hai kháng sinh. Hiệu quả của các phác đồ điều trị tùy thuộc vào sự nhạy cảm với các kháng sinh của vi khuẩn *H. pylori*. *H. pylori* ngày càng trở nên kháng với nhiều loại kháng sinh. Vì thế chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm tìm hiểu tỷ lệ kháng với 5 loại kháng sinh kể trên ở ba nhóm bệnh nhân bị VDDMT, LDD và UTDD.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại bệnh viện Bưu Điện từ 07/2006 đến 07/2008 trên 90 BN gồm 55 nam và 35 nữ, tuổi từ 18 – 80, đã được khám và nội soi DDTT và sinh thiết, qua hình ảnh tổn thương dạ dày xác định 30 BN LDD, 30 BN VDDMT, 30 BN UTDD.

2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp tiến cứu, mô tả, cắt ngang. Các BN được khám lâm sàng và lấy sinh thiết ở vùng hang vị: Một mảnh được lưu giữ

trong N_2 lỏng cho nuôi cấy và làm kháng sinh đồ.

a, Nuôi cấy vi khuẩn

Môi trường nuôi cấy *H. pylori* (HPA) gồm:

- 39,5g Campylobacter base
- 5%-10% máu ngựa
- Nystatin: 1µg/ml
- Trimethroprim: 5µg/ml
- Vancomycin: 10µg/ml và một số kháng sinh khác

Môi trường được khử trùng trong 30 phút ở 121^{0}C, sau đó để hạ nhiệt độ xuống khoảng 50 - 55^{0}C và bổ xung 5% - 10% máu ngựa và các kháng sinh. Đổ môi trường ra đĩa Pettri. Có thể sử dụng để nuôi cấy ngay hoặc bảo quản môi trường ở nhiệt độ 4^0 C trong 3 - 5 ngày cho lần sử dụng tiếp theo.

Để nuôi cấy *H. pylori,* sinh thiết dạ dày được lấy ra từ bình nitơ, sau đó được đặt vào trong đá khoảng 20 phút để cân bằng nhiệt độ và được nghiền kỹ trong 0,5ml dung dịch muối sinh lý (0,09% NaCl). Khoảng 30 - 50µl dịch nghiền được nhỏ và trang khô trên đĩa thạch HPA. Đặt các đĩa Petri vào bình Jar. Lấy một bao khí đặt vào bên trong bình để tạo môi trường vi hiếu khí. Đặt bình Jar vào tủ ấm ở 37^{0}C trong vòng 48 - 72 giờ.

b, Kháng sinh đồ:

Tính nhậy cảm với kháng sinh của *H. pylori* được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. *H. pylori* được cấy ở mật độ cao trên bề mặt lớp thạch máu HPA, sau đó đặt các khoanh kháng sinh Bio- Rad lên trên bề mặt lớp thạch HPA của đĩa Petri và ủ đĩa ở 37^0 C trong vòng 48 - 72 giờ trong điều kiện vi hiếu khí. Đo đường kính vòng tròn kháng khuẩn (mm) tạo xung quanh khoanh kháng sinh và so sánh với kích thước vòng kháng khuẩn chuẩn.

Bảng 1. Đường kính vùng kháng khuẩn của các kháng sinh và đánh giá độ nhạy cảm của vi khuẩn *H. pylori* với kháng sinh.

Tên kháng sinh	Nồng độ µg/khoanh	Đường kính vùng kháng khuẩn (mm)		
		Nhạy cảm (S)	Trung gian (I)	Kháng (R)
Ampicillin	10	> 22	21-11	< 11
Metronidazole	4	> 13	12-11	< 11
Tetracylline	30	> 28	27 - 16	< 16
Amoxicilline	25	> 27	26- 16	< 15
Clarithromycine	15	> 21	20- 15	< 15

KẾT QUẢ

1, Nuôi cấy vi khuẩn:

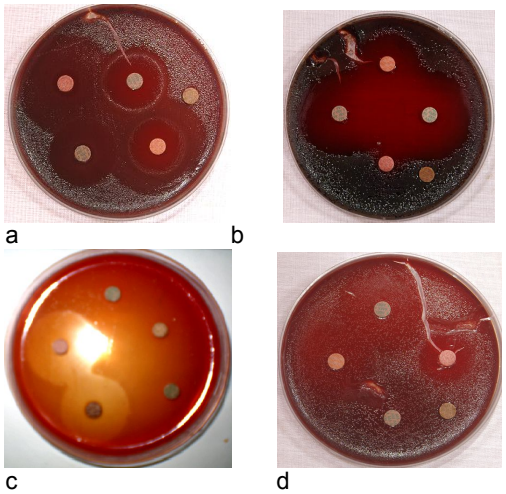
Sau 48 giờ khi nuôi cấy ở điều kiện vi hiếu khí, các khuẩn lạc màu trắng đục nhỏ li ti xuất hiện mọc dày trên mặt đĩa thạch (hình 1). 45 chủng *H.pylori* đã được nuôi cấy từ 90 mẫu bệnh phẩm dạ dày.

Hình 1. Kết quả nuôi cấy vi khuẩn *H. pylori* từ mẫu sinh thiết của BN BDV96

2, Khảo sát tính nhậy cảm của các chủng vi khuẩn với 5 loại kháng sinh đang sử dụng để điều trị bệnh.

Các chủng *H. pylori* phân lập từ các bệnh nhân của ba nhóm bệnh VDDMT, LDD và UTDD có tính nhậy cảm khác nhau đối với các loại kháng sinh : trong khi chủng vi khuẩn phân lập từ bệnh nhân a chỉ kháng một kháng sinh, thì các chủng khác phân lập từ các bệnh nhân b, c, d đã trở nên kháng 2, 3 hoặc cả năm kháng sinh (hình 2).

Tỷ lệ kháng kháng sinh của 45 chủng *H. pylori* được trình bầy ở bảng 3.



a b c d

Hình 2. Các chủng *H. pylori* phân lập từ các bệnh nhân khác nhau kháng với 1(a), 2(b), 3(c) hoặc 5(d) loại kháng sinh .

Bảng 3. Tỷ lệ kháng các loại kháng sinh của 45 chủng vi khuẩn *H. Pylori*

Nhóm	Tetracyclin (%)	Metronidazol (%)	Amoxicllin (%)	Ampicillin (%)	Clarithromycin (%)
VDDMT (n=13)	15,38	94,44	23,07	38,46	38,46
LDD (n=18)	5,5	94,44	27,78	27,78	11,11
UTDD (n=14)	35,71	92,85	50	42,85	35,7
Tổng	17,78	95,5	33,3	35,5	26,67

BÀN LUẬN

Một trong nhiều nguyên nhân dẫn đến sự thất bại của các phác đồ tiệt trừ vi khuẩn *H. pylori* là do vi khuẩn ngày càng trở nên kháng với nhiều loại kháng sinh. Trong nghiên cứu này, các chủng *H. pylori* phân lập từ các nhóm bệnh dường như kháng hoàn toàn với metronidazole là 95,5%. Tỷ lệ này cao hơn nhiều so với kết quả của các tác giả nước ngoài.

Đối với amoxicilline và ampicilline là hai loại kháng sinh gần nhau về cấu trúc và chức năng, tỷ lệ kháng của *H. pylori* là 33 - 35%, cũng cao hơn so Tahereh Falsafi. Đặc biệt, đối với tetracyclline là một kháng sinh ít được sử dụng trong điều trị, tỷ lệ kháng là 17,78%, đây là tỷ lệ thấp, mặt khác tetracyclin là một kháng sinh rẻ tiền việc

phối kết hợp với kháng sinh thứ hai trong phác đồ sẽ giúp bệnh nhân giảm chi phí điều trị.

Cũng trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ kháng clarithromycine của *H. pylori* là 26,67%, cao hơn kết quả của Lục Thị Vân Bích và tương đương tỷ lệ kháng ở Mỹ, Pháp và Ba Lan [1], [6] nhưng lại thấp hơn tỷ lệ kháng ở Thổ Nhĩ Kỳ [8] và cao hơn ở Hàn Quốc, Bungari, Hungari,Trung Quốc và Italy [7]. So sánh với các số liệu đã được công bố cách đây 10 năm bởi Phan Quốc Hoàn, tính kháng thuốc của *H. pylori* đã tăng gấp 3 - 4 lần [3].

Như vậy ở thời điểm hiện tại, các chủng *H. pylori* lưu hành trong ba nhóm bệnh nhân VDDMT, LDD và UTDD đã kháng nhiều loại kháng sinh đang sử dụng. Đặc biệt, hầu như tất cả các chủng vi khuẩn đã kháng metronidazol và nhiều chủng vi khuẩn đã kháng lại tất cả các loại kháng sinh đang lưu hành.

Sự tồn tại của các chủng *H. pylori* kháng thuốc trong tất cả các nhóm bệnh nhân là cản trở lớn cho điều trị các bệnh dạ dày nhiễm *H. pylori*. Một trong những hậu quả nhìn thấy ngay là các bệnh nhân không được điều trị triệt để nên tình trạng bệnh càng ngày càng nặng hơn. Do nhiễm *H. pylori* gây giảm tiết axít, nên chắc chắn quá trình đồng nhiễm các vi sinh vật khác phải xảy ra, làm sâu hơn các tổn thương dạ dày có thể dẫn tới ung thư dạ dày ở nhiều năm về sau.

KẾT LUẬN

Hiện tượng đa kháng thuốc của *H. pylori* đã xuất hiện ở các bệnh nhân ở cả ba nhóm bệnh VDDMT, LDD và UTDD trong đó, các chủng vi khuẩn hầu như kháng lại hoàn toàn với Metronidazol với tỷ lệ kháng 95,5%. So sánh với các số liệu công bố cách đây 10 năm , tính kháng thuốc của *H. pylori* đã tăng gấp 3 - 4 lần

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lục Thị Vân Bích (2002), Đánh giá một số phương pháp chẩn đoán và khảo sát tính kháng thuốc kháng sinh của H. pylori. Luận án tiến sỹ Y học, ĐHYD TP Hồ Chí Minh.

2. Nguyễn Xuân Huyên. (1999), *Bệnh loét dạ dày hành tá tràng*. Nhà xuất bản y học, Hà Nội.

3. Phan Quốc Hoàn, Tạ Long (2000). Kháng kháng sinh của *H. pylori* trong điều trị bệnh loét hành tá tràng. *Nội khoa,* 1, 8-11.

4. Tạ Long. (2003), Bệnh lý dạ dày- tá tràng và vi khuẩn Helicobacter pylori. Nhà xuất bản Y học.

5. Aguemon B., Struelens M., Devisore J., Denis O., Golstein P., Salmon I., Nagy N. (2005), Primary antibiotic resistance and effectiveness of *Helicobacter pylori* triple therapy in ulcero-inflammatory pathologies of the upper digestive tract. *Acta Gastroenterol Belg*, 68(3): 287-93.

6. Alarco T., et al. (2003), Clarithromycin resistance among *Helicobacter pylori* strains isolated from children: prevalence and study of mechanism of resistance by PCR- restriction fragment length polymorphism analysis. *J. Clin. Microbiol*, 41(1): 486- 499.

7. Bang S.Y., Han D.S., Eun C.S., Kim J.E., Ahn S.B., Sohn J.H., Jeon Y.C., Kang J.O. (2007), Changing patterns of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in patients with peptic ulcer disease. *Korean J Gastroenterol*. 50(6): 407-9. [60]

8. Boyanova L., Gergova G., Nikolov R., Davidkov L., Kamburov V., Jelev C., Mitov I., (2008). Prevalence and evolution of *Helicobacter pylori* resistance to 6 antibacterial agents over 12 years and correlation between susceptibility testing methods. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 60(4): 409-15.