

ĐỘT BIẾN KHÁNG AMOXICILLIN TRÊN GEN *PBP1* CỦA VI KHUẨN *HELICOBACTER PYLORI* Ở TRẺ EM LOÉT DẠ DÀY TÁ TRÀNG

Đỗ Thị Minh Phương^{1,2}, Nguyễn Thị Việt Hà^{1,2}

Lê Hữu Phương Anh^{3,4}, Nguyễn Hải Anh^{3,4}, Nguyễn Văn Tình²

Chu Thị Phương Mai^{1,2} và Trần Thị Huyền Trang^{3,4,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Nhi Trung ương

³Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

⁴Trung tâm nghiên cứu Y học Việt – Đức

Amoxicillin là kháng sinh đầu tay trong diệt trừ *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) ở trẻ em. Tình trạng kháng amoxicillin tại Việt Nam ngày càng gia tăng có liên quan đến sự xuất hiện đột biến trên gen *pbp1*. Mục tiêu: xác định tỷ lệ một số đột biến kháng amoxicillin trên gen *pbp1* và mối liên quan với tình trạng kháng kháng sinh của *H. pylori* ở trẻ em loét dạ dày tá tràng. Đối tượng và phương pháp: nghiên cứu cắt ngang trên 43 bệnh nhi loét dạ dày tá tràng có nhiễm *H. pylori*. Sử dụng kỹ thuật E-test xác định nồng độ ức chế tối thiểu và giải trình tự Sanger phát hiện các đột biến gen. Kết quả: 100% số mẫu xuất hiện đột biến trên gen *pbp1*. Phân tích gen *pbp1* ghi nhận tỷ lệ cao các đột biến F366L (90,7%), S414R (81,4%), Ins 464-465 (88,4%), F473V (88,4%), D534N (95,3%). Đột biến F366L, S414R và F473V trên gen *pbp1* liên quan đến kháng amoxicillin ($p < 0,05$). Tổ hợp đột biến F366L/S414R/ F473V có liên quan tới sự gia tăng nồng độ ức chế tối thiểu. Kết luận: đột biến gen *pbp1* xuất hiện với tần suất cao là nguyên nhân gây tỷ lệ kháng AMO cao ở bệnh nhân nhi loét dạ dày tá tràng.

Từ khóa: *Helicobacter pylori*, kháng amoxicillin, gen *pbp1*, trẻ em, loét dạ dày tá tràng.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Helicobacter pylori (*H. pylori*) là một trong những nguyên nhân chính gây loét dạ dày tá tràng ở trẻ em. *H. pylori* được tìm thấy ở 90% bệnh nhi có loét dạ dày tá tràng.^{1,2} Tiệt trừ *H. pylori* được khuyến cáo ở tất cả các bệnh nhân loét dạ dày tá tràng và điều trị thành công góp phần lành ổ loét, giảm nguy cơ loét tái phát và ngăn ngừa các biến chứng.^{3,4} Sự phát sinh tính kháng của *H. pylori* đối với các kháng sinh trong phác đồ điều trị là nguyên nhân chính làm giảm

hiệu quả diệt trừ *H. pylori*, do đó Hội Tiêu hóa, Gan mật, Dinh dưỡng Nhi khoa Châu Âu và Bắc Mỹ khuyến cáo cần thực hiện xét nghiệm đánh giá sự nhạy cảm kháng sinh trước khi lựa chọn phác đồ điều trị.⁴ Tuy nhiên, các xét nghiệm này chưa được thực hiện thường quy trong thực hành lâm sàng do đặc thù của *H. pylori* là vi khuẩn vi hiếu khí khó nuôi cấy, thời gian nuôi cấy lâu, tỷ lệ nuôi cấy thành công chỉ khoảng 65 – 70%. Vì vậy, việc đánh giá tính kháng của vi khuẩn dựa trên kháng sinh đồ vẫn còn nhiều hạn chế. Các nghiên cứu gần đây cho thấy đột biến gen là nguyên nhân chính gây ra tình trạng kháng kháng sinh ở vi khuẩn. Cùng với sự phát triển của trí tuệ nhân tạo, các đột biến đang là dấu ấn tiềm năng giúp việc tiên

Tác giả liên hệ: Trần Thị Huyền Trang

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Email: vythutrang83@gmail.com

Ngày nhận: 17/03/2025

Ngày được chấp nhận: 11/05/2025

lượng tính kháng kháng sinh của vi khuẩn trở nên thuận tiện hơn.

Amoxicillin (AMO) là một trong những kháng sinh chủ chốt trong phác đồ đầu tay diệt trừ *H. pylori* ở trẻ em. Tuy nhiên, tỷ lệ kháng AMO ngày càng gia tăng ảnh hưởng lớn đến hiệu quả diệt trừ *H. pylori*. Trong nghiên cứu của Nguyễn Hữu Hiếu (2022), tỷ lệ kháng AMO là 88,7%.⁵ Lê Thị Thúy Loan (2023) nghiên cứu trên 237 trẻ viêm loét dạ dày tá tràng có nhiễm *H. pylori* tại Cần Thơ cho thấy tỷ lệ kháng với AMO là 71,7%.⁶ Các cơ chế phân tử thúc đẩy tình trạng kháng kháng sinh của *H. pylori* rất đa dạng và phức tạp. Tình trạng kháng AMO của *H. pylori* chủ yếu do xuất hiện đột biến trên gen mã hóa cho protein gắn vào penicillin (penicillin binding protein *pbp1*) gây ra thay đổi cấu trúc *pbp1*, ngăn cản chúng liên kết với AMO.^{7,8} Okamoto đã phát hiện đột biến thay thế hoặc chèn thêm amino acid tại trình tự 659 amino acid có chứa phần liên kết với peniciline. Những thay đổi trong điểm trung tâm liên kết penicilin của *pbp1A* có liên quan đến tình trạng kháng kháng sinh.⁹ Nhiều nghiên cứu xác định các đột biến S414R, F473V/L, N562Y xuất hiện trên các chủng *H. pylori* và liên quan chặt chẽ đến tình trạng kháng AMO.^{8,10-12} Các đột biến F366L/D, S414R/N, Ins 464-465, F473V/L trên gen *pbp1* được Trần Thiện Trung ghi nhận có mối liên quan đến tình trạng kháng AMO của các chủng *H. pylori* tại Việt Nam.¹¹ Nhằm góp phần làm sáng tỏ ý nghĩa của các đột biến trên gen *pbp1* với tính kháng AMO của vi khuẩn *H. pylori*, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm mục tiêu: Xác định tỷ lệ một số đột biến kháng amoxicillin trên gen *pbp1* và mối liên quan với tình trạng kháng kháng sinh của *H. pylori* ở trẻ em loét dạ dày tá tràng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Tiêu chuẩn lựa chọn: bệnh nhân từ 3 – 17

tuổi đã được chẩn đoán loét dạ dày tá tràng có kết quả nuôi cấy *H. pylori* dương tính và được làm kháng sinh đồ.

Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân dùng kháng sinh hoặc Bismuth trong vòng 4 tuần; dùng thuốc antacid, kháng thụ thể H_2 hoặc thuốc ức chế bơm proton trong vòng 2 tuần trước khi đến khám. Bệnh nhân đang điều trị bệnh mạn tính khác, có tiền sử phẫu thuật thực quản, dạ dày, tá tràng.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu cắt ngang, chọn mẫu thuận tiện.

Quy trình nghiên cứu: Bệnh nhân từ 3 – 17 tuổi có triệu chứng nghi ngờ bệnh lý dạ dày tá tràng được chỉ định nội soi tiêu hóa trên. Nếu có loét dạ dày tá tràng, bệnh nhân sẽ được sinh thiết 6 mảnh tại 2 vị trí thân vị và hang vị để làm các xét nghiệm.

Lấy mẫu bệnh phẩm: 1 mảnh thân vị và 1 mảnh hang vị được sử dụng làm test nhanh Urease. 1 mảnh thân vị và 1 mảnh hang vị được sử dụng nuôi cấy và làm kháng sinh đồ theo phương pháp E-test tại khoa Vi sinh, Bệnh viện Nhi Trung ương. 1 mảnh thân vị và 1 mảnh hang vị được bảo quản trong môi trường để tách chiết DNA và xác định đột biến gen liên quan kháng kháng sinh của chủng *H. pylori* mà bệnh nhân bị nhiễm tại Trung tâm nghiên cứu Y học Việt - Đức VGCARE, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

Nuôi cấy và làm kháng sinh đồ: mảnh sinh thiết được cho vào ống chứa 200 μ l canh thang Braint Heart Infusion (Oxoid – Anh) và được nghiền thành huyền dịch. Ria huyền dịch đều lên 2 đĩa Pylori agar (BioMérieux - Pháp). Đặt đĩa thạch vào túi GENbag (BioMérieux Pháp), tạo môi trường vi hiếu khí (5% O_2 , 10% CO_2 , 85% N_2) ủ ấm ở 37°C từ 3 – 7 ngày. *H. pylori* được xác định là trực khuẩn Gram âm hơi cong, đa hình thái, thử nghiệm oxidase (+), catalase

(+), urease (+). Chuồng *H. pylori* phân lập được thử nghiệm tính nhạy cảm với AMO bằng kỹ thuật E-test (BioMérieux – Pháp). Khuẩn lạc vi khuẩn *H. pylori* pha huyền dịch 2.0 McFarland trên thạch Muller Hinton và 5% máu cừu. Đĩa thạch có thanh E-test được đặt vào túi GENbag (vi hiếu khí), ủ ở nhiệt độ 37°C trong 3 ngày. Xác định chủng đề kháng kháng sinh khi MIC của AMO > 0,125 µg/mL.¹³

Tách chiết DNA và giải trình tự gen *pbp1*: tách chiết DNA từ mảnh sinh thiết dạ dày bằng phương pháp cổ điển, sử dụng Phenol-Isopropanol-Chloroform (25:24:1) để phân pha dựa trên tính tan và phân cực của DNA. Dung dịch DNA sau khi tách chiết được đo nồng độ và đánh giá độ tinh sạch bằng phương pháp đo quang phổ. Gen *pbp1* được khuếch đại bằng phản ứng PCR với bộ mồi đặc hiệu có trình tự mồi xuôi (5'-TCGTTACAGACACGAGCACC-3') và mồi ngược (5'-CGTGTTCATCGTCCCTCCCAA-3').⁹ Phản ứng PCR sử dụng bộ sinh phẩm GoTag (M7123, Promega, Mỹ) với chu trình nhiệt: 95°C - 5 phút sau đó 38 chu kỳ: 95°C - 30 giây, 58°C - 30 giây, 72°C - 45 giây và kết thúc 72°C - 7 phút. Sản phẩm PCR (761bp) sau khi phân tích kích thước bằng kỹ thuật điện di tiếp tục được tinh sạch và giải trình tự bằng kỹ thuật Sanger sequence trên hệ thống giải trình tự gen tự động 3500 Series Genetic Analyzer (Applied Biosystem, Mỹ).

Xử lý số liệu: nhập và xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 22.0. Sử dụng các phép thống kê mô tả biến định lượng và biến định tính, thuật toán kiểm định khi bình phương (χ^2), Fisher exact test, Kruskal-Wallis test. Giá trị

$p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê. Kết quả giải trình tự đối chiếu với trình tự tham chiếu của chủng *H. pylori* 26695 và J99 trên ngân hàng Genbank. Đọc kết quả bằng phần mềm Geneious Prime xác định các đột biến.

Thời gian: từ tháng 10/2022 đến tháng 9/2024.

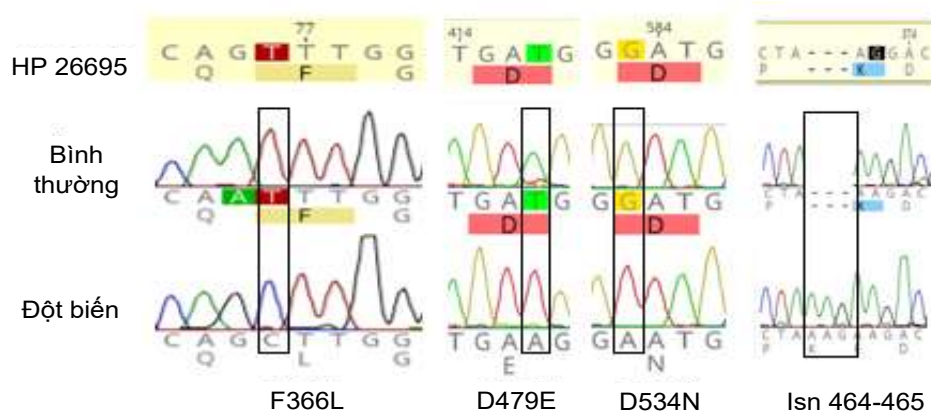
Địa điểm nghiên cứu: Bệnh viện Nhi Trung ương, Trung tâm nghiên cứu Y học Việt - Đức VGCARE - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thông qua Hội đồng Đạo đức Trường Đại học Y Hà Nội (mã số phê duyệt: 778/GCN-HĐDDNCYSH-DHYHN, ngày phê duyệt: 06 tháng 10 năm 2022) và Bệnh viện Nhi trung ương (mã số phê duyệt: 1983/BVNTW-HĐĐĐ, ngày phê duyệt: 29 tháng 8 năm 2022).

III. KẾT QUẢ

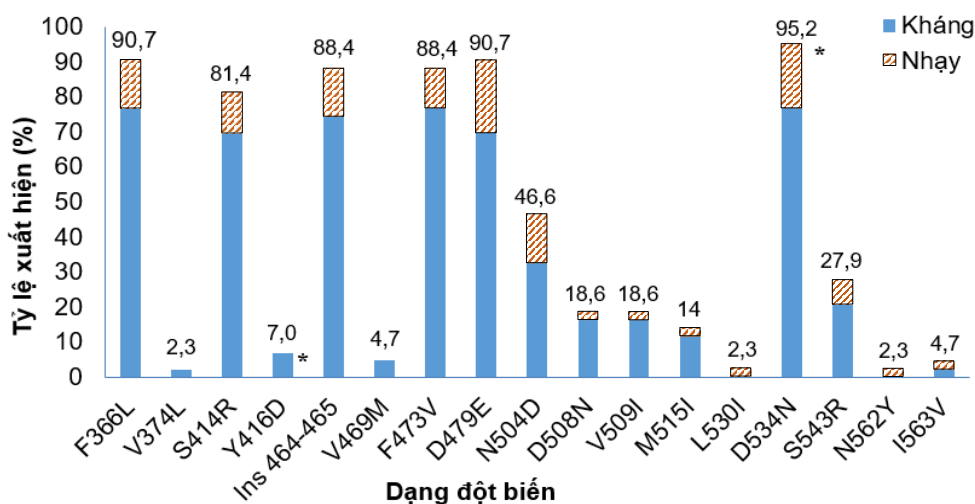
Trong thời gian nghiên cứu, chúng tôi thu thập được 176 bệnh nhân chẩn đoán loét dạ dày tá tràng có kết quả nuôi cấy *H. pylori* dương tính và được làm kháng sinh đồ. Dựa trên kết quả kháng sinh đồ, 37/176 bệnh nhân nhạy cảm AMO. Tỷ lệ kháng AMO chiếm 79%. Chúng tôi lựa chọn 9 trẻ nhạy AMO và 34 trẻ kháng AMO giải trình tự gen *pbp1*. Trong 34 trẻ kháng AMO, 28/34 trẻ (82,6%) có MIC thấp ($0,125 < MIC \leq 2$), 6/34 trẻ (17,4%) có MIC cao ($2 < MIC \leq 16$). So sánh kết quả giải trình tự với trình tự tham chiếu của chủng *H. pylori* 26695 và J99 phát hiện 17 loại đột biến trong đó 16 đột biến điểm thay đổi amino acid và 1 đột biến chèn amino acid.



Hình 1. Đột biến điểm và đột biến thêm đoạn trên gen *pbp1*

Đột biến thay đổi amino acid và đột biến dịch khung là hai dạng đột biến được phát hiện khi phân tích kết quả giải trình tự. Tại vị trí codon 366, nucleotid T được thay bằng C dẫn đến bộ ba mã hóa acid amin phenylalanine thành leucine. Nucleotid T được thay thế bằng A tại

vị trí codon 479 dẫn đến bộ ba mã hóa acid amin aspartic acid thành glutamic acid. Đột biến thêm đoạn Ins 464-465 xuất hiện khi chèn thêm 3 nucleotid vào trước bộ ba thứ 465 mã hóa acid amin aspartate.



* Đột biến mới

Biểu đồ 1. Phân bố các dạng đột biến trên gen *pbp1*

Trong số các đột biến điểm được ghi nhận, đột biến F366L, D479E và D534N xuất hiện với tần suất cao nhất (> 90%). Có 12 đột biến được

ghi nhận trên cả chủng nhạy và kháng AMO, 3 đột biến chỉ ghi nhận trên nhóm chủng kháng và 2 đột biến chỉ ghi nhận trên nhóm chủng nhạy.

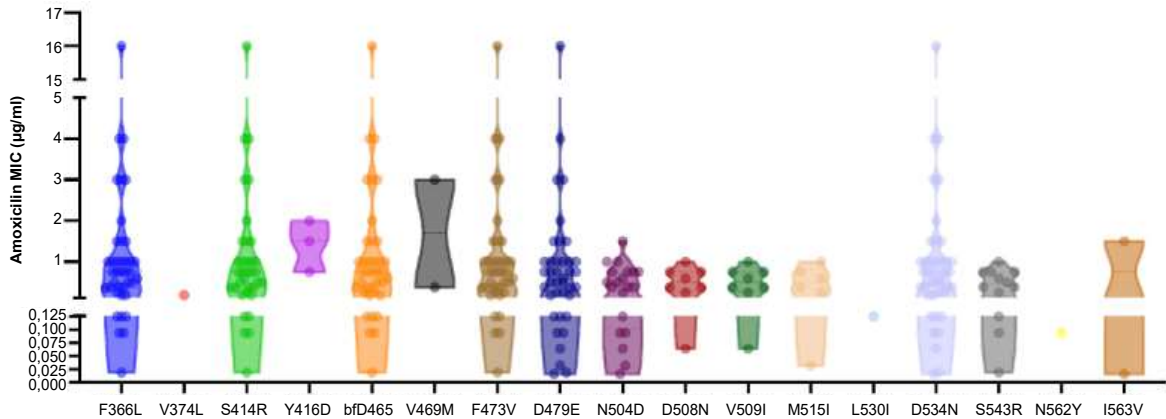
Bảng 1. Mối liên quan giữa các đột biến gen *pbp1* của *H. pylori* với kiểu hình kháng amoxicillin

Đột biến	Nhạy cảm		Đề kháng		p	OR (95% CI)
	n	%	n	%		
F366L	6	15,4	33	84,6	0,024	16,5 (1,1 – 248,3)
V374L	0	0	1	100	0,791	-
S414R	5	14,3	30	85,7	0,046	6 (1,1 – 36,6)
Y416D	0	0	3	100	0,485	-
Ins 464-465	6	15,8	32	84,2	0,054	8 (0,9 – 68,6)
V469M	0	0	2	100	0,621	-
F473V	5	13,2	33	86,8	0,005	26,4 (1,5 – 451,2)
D479E	9	23,1	30	76,9	0,376	-
N504D	6	30	14	70	0,162	0,35 (0,1 – 1,7)
D508N	1	12,5	7	87,5	0,459	2,1 (0,2 – 20,2)
V509I	1	12,5	7	87,5	0,459	2,1 (0,2 – 20,2)
M515I	1	16,7	5	83,3	0,631	1,4 (0,1 – 14,0)
L530I	1	100	0	0	0,209	-
D534N	8	19,5	33	80,5	0,379	4,1 (0,2 – 78,7)
S543R	3	25	9	75	0,489	0,7(0,1 – 3,6)
N562Y	1	100	0	0	0,209	-
I563V	1	50	1	50	0,379	0,2 (0,0 – 4,6)
F366L/S414R/F473V	4	12,1	29	87,9	0,020	7,3 (1,4 – 36,7)

Trong 17 điểm đột biến được ghi nhận từ các chủng phân lập, ba vị trí đột biến tại codon mã hóa acid amin 366, 414, 473 có liên quan đến tình trạng kháng AMO ($p < 0,05$). Trong số các tổ hợp đột biến, tổ hợp của ba đột biến F366L/S414R/F473V có liên quan đến tình

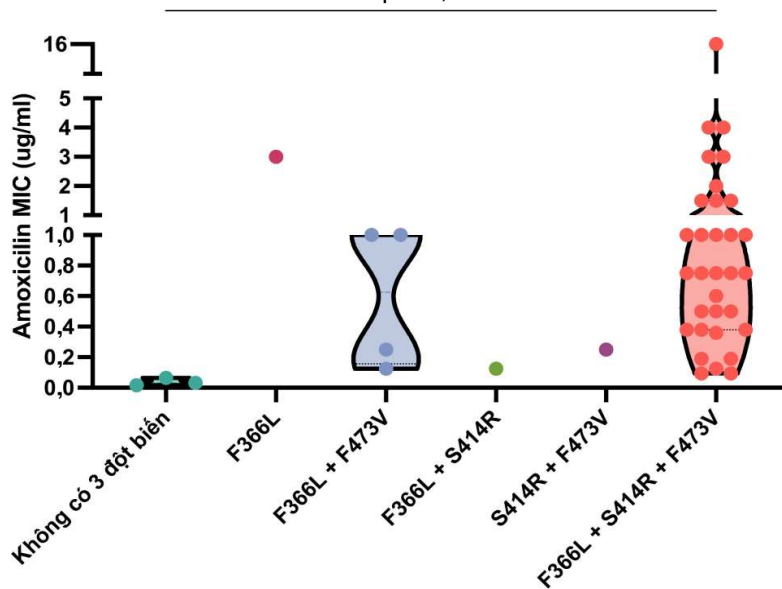
trạng kháng AMO ($p = 0,02$).

Đột biến F366L, S414R, Ins 464-464, F473V, D479E và D534N được ghi nhận ở các chủng kháng AMO có MIC cao hơn các đột biến khác. Hầu hết các chủng *H. pylori* kháng AMO ở MIC thấp ($< 2 \mu\text{g/mL}$) (Bảng 2).



Biểu đồ 2. Phân bố nồng độ ức chế tối thiểu của amoxicillin đối với từng điểm đột biến trên gen *pbp1*

$p = 0,0454$



Biểu đồ 3. Mối liên quan giữa nồng độ ức chế tối thiểu và sự xuất hiện của tổ hợp đột biến F366L/S414R/F473

Tổ hợp đột biến F366L/S414R/ F473V có mối liên hệ chặt chẽ với tính trạng kháng AMO và sự gia tăng MIC với AMO của *H. pylori* ($p < 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Vì khuẩn *H. pylori* kháng AMO là vấn đề được các nhà lâm sàng Nhi khoa quan tâm vì khác với một số kháng sinh khác được lựa chọn theo tuổi, AMO có thể được sử dụng ở mọi lứa

tuổi. AMO là thành phần chính trong phác đồ đầu tay diệt trừ *H. pylori* ở trẻ em. Tuy nhiên, tình trạng kháng AMO ngày càng gia tăng tại Việt Nam. Nếu trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Việt Hà (2006) các chủng *H. pylori* hầu hết chưa kháng AMO thì sau gần 20 năm, tỉ lệ kháng AMO đã lên tới 98,3% khi cùng tiến hành nghiên cứu tại Bệnh viện Nhi trung ương.^{14,15} Kháng sinh β -lactam ức chế sự phát triển của *H. pylori* bằng cách gắn với các protein liên kết

với penicillin, làm gián đoạn quá trình tổng hợp vách tế bào. Những biến đổi trên gen *pbp1A* có khả năng làm thay đổi đặc tính của protein liên kết với penicillin của vi khuẩn từ đó tạo điều kiện cho sự phát sinh tính kháng của vi khuẩn đối với AMO.

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tất cả các chủng *H. pylori* đều mang tối thiểu 3 đột biến trên gen *pbp1*. Hầu hết các đột biến trên *pbp1* đã được ghi nhận trong các nghiên cứu trước đây tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi xuất hiện với tần suất cao hơn. So với kết quả của Trần Thiện Trung (2022) tiến hành trên 270 người bị khó tiêu, các vị trí đột biến được xác định có liên quan tới kháng AMO như F366L/D, S414R/N, Ins 464-465, F473V/L đều được ghi nhận với tần suất cao hơn trong nghiên cứu của chúng tôi lần lượt là 45,6% so với 90,7%, 33,7% so với 81,4%, 40,7% so với 88% và 45,4% so với 88,4%.¹¹ Tuy nhiên, đột biến D479E và D534N được xác định với tần suất cao (> 90%) ở cả hai nghiên cứu. Sự xuất hiện với tần suất cao của các đột biến trên gen *pbp1* trong nghiên cứu này so với nghiên cứu của Trần Thiện Trung có thể do một số yếu tố như: đối tượng nghiên cứu tập trung vào nhóm bệnh nhi loét dạ dày tá tràng so với nhóm bệnh khó tiêu, tỷ lệ kháng AMO trong nghiên cứu ở trẻ em cao (79% so với 25,7%), phương pháp phát hiện đột biến trực tiếp từ các mảnh sinh thiết thay vì khảo sát đột biến trên các chủng sau phân lập nhờ đó đảm bảo không bỏ sót các chủng đồng nhiễm. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi gợi ý giả thuyết tần suất cao các đột biến trên gen *pbp1* có thể liên quan tới sự tăng cao tỷ lệ kháng AMO cũng như tình trạng loét của bệnh nhân.

Hầu hết các nghiên cứu tập trung đánh giá vai trò của từng đột biến đối với kháng AMO trong các chủng *H. pylori* phân lập. Các đột biến này được xác định bằng cách so sánh

các chủng *H. pylori* kháng AMO với các chủng tham chiếu như *H. pylori* 26695, J99 và 43504. Gerrits và cộng sự nhận thấy các thay thế amino acid S402G, E406A, S414R, S417T, T555S và N561Y đóng vai trò quan trọng trong cơ chế kháng AMO.¹⁰ Chúng tôi xác định được các đột biến F366L ($p = 0,024$), S414R ($p = 0,046$) và F473V ($p = 0,005$) có liên quan đến kháng AMO. Đây cũng là 3 đột biến được đề cập nhiều trong nghiên cứu trong và ngoài nước.^{8,10-12} Các thay đổi amino acid này có thể xuất hiện riêng lẻ hoặc kết hợp thành các cụm đột biến. 76,7% số mẫu được phân tích xuất hiện đồng thời 3 đột biến F366L, S414R, F473V và tăng nguy cơ biểu hiện tính kháng lên 7,3 lần so với các chủng không mang đột biến (OR = 7,3, 95% CI: 1,4 – 36,7). Các đột biến gây ra tình trạng kháng thuốc khác nhau nhưng kết quả từ các nghiên cứu cũng nhận thấy sự kết hợp của nhiều đột biến làm gia tăng khả năng kháng AMO.¹⁰

Đánh giá phân bố MIC giữa các chủng mang đột biến, chúng tôi ghi nhận các chủng mang đột biến F366L, S414R, Ins 464-465, F473V, D479E và D534N đều có phân bố MIC cao hơn các đột biến khác. Đặc biệt chủng mang tổ hợp 3 đột biến F366L/S414R/ F473V có MIC cao hơn hẳn so với các chủng còn lại. Các chủng nhạy cảm (MIC < 0,125 µg/mL) thường có 3 - 5 đột biến, trong khi các chủng kháng có trên 5 đột biến. Phân tích chủng *H. pylori* có MIC thấp nhất trong nghiên cứu (MIC = 0,016) thấy có 4 đột biến tại các codon D479E, N504D, D534N và I563V. Chủng có MIC 16 µg/mL (cao nhất trong nghiên cứu) mang 6 đột biến bao gồm 5 đột biến thay đổi amino acid (F366L, S414R, F473V, D479E, D534N) và 1 đột biến dịch khung. Kết quả này cho thấy sự xuất hiện của tổ hợp nhiều đột biến, đặc biệt là tổ hợp F366L/ S414R/ F473V có thể là nguyên nhân làm tăng nguy cơ xuất hiện tính kháng thuốc cao của *H. pylori*. Nghiên cứu của Cimuanga-Mukanya A

đã chỉ ra sự kết hợp của các đột biến T558S, N562H, T593A và G595S trên gen *pbp1* có thể tạo ra hiệu ứng hiệp đồng, làm tăng mức độ kháng AMO của *H. pylori*.¹⁶

V. KẾT LUẬN

Đột biến gen *pbp1* xuất hiện với tần suất cao có thể là nguyên nhân gây tỷ lệ kháng AMO cao ở bệnh nhân nhi loét dạ dày tá tràng. Tổ hợp đột biến F366L/S414R/ F473V có mối liên hệ chặt chẽ với tình trạng kháng AMO và sự gia tăng MIC của *H. pylori*. Kết quả nghiên cứu là cơ sở cho việc phát triển các xét nghiệm phân tử nhằm phát hiện nhanh tình trạng kháng AMO của *H. pylori* thông qua các biến đổi trên gen *pbp1*.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được thực hiện với sự tài trợ từ đề tài NĐT.83.GB/20. Chúng tôi bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến các bệnh nhi và gia đình bệnh nhi đã tham gia nghiên cứu, cũng như sự hỗ trợ tận tình từ Khoa Tiêu hóa và Khoa Vi sinh, Bệnh viện Nhi Trung ương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Shashidhar H, Flomenhoft D, Tolia V. *Helicobacter pylori* & beyond: pediatric peptic ulcer disease. *Therapy*. 2009;6(1):65-73. doi:10.2217/14750708.6.1.65
2. Kato S, Nishino Y, Ozawa K, et al. The prevalence of *Helicobacter pylori* in Japanese children with gastritis or peptic ulcer disease. *J Gastroenterol*. 2004;39(8):734-738. doi:10.1007/s00535-004-1381-2
3. Malfertheiner P, Megraud F, Rokkas T, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht VI/Florence consensus report. *Gut*. Published online August 8, 2022;gutjnl-2022-327745. doi:10.1136/gutjnl-2022-327745
4. Homan M, Jones NL, Bontems P, et al. Updated joint ESPGHAN/NASPGHAN guidelines for management of *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents (2023). *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2024 Sep;79(3):758-785.. doi:10.1002/jpn3.12314
5. Nguyễn Hữu Hiếu, Nguyễn Thị Việt Hà. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tình trạng kháng kháng sinh của trẻ em bị loét dạ dày tá tràng có nhiễm *Helicobacter pylori*. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 2021;143(7):134-141. doi:10.52852/tcncyh.v143i7.248
6. Le LTT, Nguyen TA, Nguyen NA, et al. Antibiotic Resistance of *Helicobacter pylori* in Children with Gastritis and Peptic Ulcers in Mekong Delta, Vietnam. *Healthcare (Basel)*. 2022;10(6):1121. doi:10.3390/healthcare10061121
7. Kim BJ, Kim JG. Substitutions in penicillin-binding protein 1 in amoxicillin-resistant *Helicobacter pylori* strains isolated from Korean patients. *Gut Liver*. 2013;7(6):655-660. doi:10.5009/gnl.2013.7.6.655
8. Kwon YH, Kim JY, Kim N, et al. Specific mutations of penicillin-binding protein 1A in 77 clinically acquired amoxicillin-resistant *Helicobacter pylori* strains in comparison with 77 amoxicillin-susceptible strains. *Helicobacter*. 2017;22(6). doi:10.1111/hel.12437
9. Okamoto T, Yoshiyama H, Nakazawa T, et al. A change in PBP1 is involved in amoxicillin resistance of clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *J Antimicrob Chemother*. 2002;50(6):849-856. doi:10.1093/jac/dkf140
10. Gerrits MM, Godoy APO, Kuipers EJ, et al. Multiple mutations in or adjacent to the conserved penicillin-binding protein motifs of the penicillin-binding protein 1A confer amoxicillin resistance to *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2006;11(3):181-187. doi:10.1111/j.1523-5378.2006.00398.x
11. Tran TT, Nguyen AT, Quach DT, et

- al. Emergence of amoxicillin resistance and identification of novel mutations of the *pbp1A* gene in *Helicobacter pylori* in Vietnam. *BMC Microbiol.* 2022;22:41. doi:10.1186/s12866-022-02463-8
12. Rimbara E, Noguchi N, Kawai T, et al. Correlation between Substitutions in Penicillin-Binding Protein 1 and Amoxicillin Resistance in *Helicobacter pylori*. *Microbiology and Immunology.* 2007;51(10):939-944. doi:10.1111/j.1348-0421.2007.tb03990.x
13. Eucast: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics. Accessed July 4, 2024. https://www.eucast.org/clinical_breakpoints
14. Nguyen TVH, Bengtsson C, Yin L, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* in children in Vietnam in Relation to Antibiotic Resistance. *Helicobacter.* 2012;17(4):319-325. doi:10.1111/j.1523-5378.2012.00950.x
15. Nguyễn Thị Út, Hoàng Thị Bích Ngọc, Nguyễn Hồng Phúc. Kháng kháng sinh tiên phát của *Helicobacter pylori* ở trẻ em loét dạ dày tá tràng tại Bệnh Viện Nhi Trung ương năm 2023. *Tạp chí Y học Việt Nam.* 2023;533(1B). doi:10.51298/vmj.v533i1B.7842
16. Cimuanga-Mukanya A, Tshibangu-Kabamba E, Kisoko P de JN, et al. Synergistic effects of novel penicillin-binding protein 1A amino acid substitutions contribute to high-level amoxicillin resistance of *Helicobacter pylori*. *mSphere.* 9(8):e00089-24. doi:10.1128/msphere.00089-24

Summary

AMOXICILLIN-RESISTANT MUTATIONS IN THE *PBP1* GENE OF *HELICOBACTER PYLORI* IN CHILDREN WITH PEPTIC ULCERS

Amoxicillin is the primary antibiotic used to eradicate *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) in children. The emergence of amoxicillin resistance in Vietnam is of significant concern. Mutations in the *pbp1* gene can lead to changes in the structure of PBP1 and the development of AMO resistance. Objective: This study aims to evaluate the frequency of mutations in the *pbp1* gene and their correlation with antibiotic resistance in *H. pylori* among children with peptic ulcers. Subjects and methods: A cross-sectional analysis was conducted to study 43 pediatric patients diagnosed with peptic ulcers and confirmed *H. pylori* infection. The E-test method was employed to determine the minimum inhibitory concentration, while Sanger sequencing was utilized to detect gene mutations. Results: All strains carried three or more mutations in the *pbp1* gene. The data indicate a significant prevalence of the mutations F366L (90.7%), S414R (81.4%), Ins 464-465 (88.4%), F473V (88.4%), and D534N (95.3%) among strains. Notably, the mutations F366L, S414R, and F473V were significantly associated with amoxicillin resistance ($p < 0.05$), and the combination of mutations F366L/S414R/F473V correlated with an increased minimum inhibitory concentration. In conclusion, the high frequency of *pbp1* gene mutations is a major contributing factor to the elevated rate of amoxicillin resistance in children with peptic ulcers.

Keywords: *Helicobacter pylori*, amoxicillin resistance, *pbp1* gene, children, peptic ulcers.