

## APPLICATION OF BROTH MICRODILUTION METHOD FOR ANTIBIOTICS SUSCEPTIBILITY TESTING FOR *HELICOBACTER PYLORI*

Doan Nguyen An Khang<sup>1,2</sup>, Nguyen Tuan Anh<sup>1,2\*</sup>, Tran Thi Kim Phung<sup>3</sup>,  
Nguyen Thi Thao Vy<sup>1</sup>, Quach Huu Loc<sup>2</sup>, Tran Thien Khiem<sup>2</sup>, Ha Manh Tuan<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Center for Molecular Biomedical Training and Diagnosis - 217 Hong Bang, Cho Lon Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>University Medical Center Ho Chi Minh City - Campus 2 - 201 Nguyen Chi Thanh, Cho Lon Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>3</sup>Hong Bang International University - 215 Dien Bien Phu, Gia Dinh Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>4</sup>University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city - 217 Hong Bang, Cho Lon Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received: 12/03/2026

Revised: 24/03/2026; Accepted: 20/04/2026

### ABSTRACT

**Objective:** To apply the broth microdilution method to determine the antibiotic resistance rates of *Helicobacter pylori* at the University Medical Center Ho Chi Minh City - Campus 2.

**Subject and methods:** A cross-sectional descriptive study was conducted on 31 *H.pylori* strains stored at the University Medical Center Ho Chi Minh City - Campus 2. The strains were reactivated, identified, and their minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined for five antibiotics, Amoxicillin, Clarithromycin, Levofloxacin, Metronidazole, and Tetracycline, using the broth microdilution method on laboratory-prepared microplates. MIC results were interpreted as susceptible or resistant according to the EUCAST v15.0 breakpoint criteria.

**Results:** All 31 isolated strains grew in the broth microdilution medium, and bacterial growth could be visually assessed with a light box. The resistance rates of *H.pylori* to Clarithromycin, Metronidazole, Amoxicillin, Levofloxacin, and Tetracycline were 71%, 54.8%, 51.6%, 51.6%, and 0%, respectively. The proportion of strains susceptible to all tested antibiotics was 12.9%, while 22.6% were resistant to all antibiotics except Tetracycline. When classified by first-line treatment regimen, the resistance rate for the PALB regimen (Amoxicillin and Levofloxacin) was 35.5%, whereas no resistance was observed for the PTMB regimen (Metronidazole and Tetracycline) (0%).

**Conclusion:** This study initially demonstrated the feasibility of the broth microdilution method for determining the MICs of antibiotics against *H.pylori*. The resistance rate to Metronidazole differed from that reported in recent Vietnamese studies, which may be attributed to differences in incubation conditions. Further studies are needed to determine which method better reflects clinical resistance. The PTMB regimen showed a favorable susceptibility profile and remains a reliable first-line treatment option for *H.pylori* infection in Vietnam.

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, broth microdilution, antibiotic susceptibility testing.

---

\*Corresponding author

Email: nhntuan@pnt.edu.vn Phone: (+84) 932646234 DOI: 10.52163/yhc.v67iCD4.4874

# ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP VI PHA LOÃNG KHẢO SÁT ĐỘ NHẠY KHÁNG SINH Ở VI KHUẨN *HELICOBACTER PYLORI*

Đoàn Nguyễn An Khang<sup>1,2</sup>, Nguyễn Tuấn Anh<sup>1,2\*</sup>, Trần Thị Kim Phụng<sup>3</sup>,  
Nguyễn Thị Thảo Vy<sup>1</sup>, Quách Hữu Lộc<sup>2</sup>, Trần Thiện Khiêm<sup>2</sup>, Hà Mạnh Tuấn<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Đào tạo và Chẩn đoán Y Sinh học phân tử - 217 Hồng Bàng, P. Chợ Lớn, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Bệnh viện Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh - Cơ sở 2 - 201 Nguyễn Chí Thanh, P. Chợ Lớn, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>3</sup>Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng - 215 Điện Biên Phủ, P. Gia Định, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>4</sup>Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh - 217 Hồng Bàng, P. Chợ Lớn, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận: 12/03/2026

Ngày sửa: 24/03/2026; Ngày đăng: 20/04/2026

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Ứng dụng phương pháp vi pha loãng nhằm xác định tỷ lệ đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Helicobacter pylori* tại Bệnh viện Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh - Cơ sở 2.

**Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 31 chủng vi khuẩn *H.pylori* lưu trữ tại Bệnh viện Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh - Cơ sở 2. Các chủng vi khuẩn này được hoạt hóa, định danh và xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) đối với 5 loại kháng sinh: Amoxicillin, Clarithromycin, Levofloxacin, Metronidazole và Tetracycline bằng phương pháp vi pha loãng trên những đĩa sinh phẩm được điều chế bởi phòng thí nghiệm. Kết quả MIC được phiên giải nhạy/kháng dựa trên tiêu chuẩn EUCAST v15.0.

**Kết quả:** Toàn bộ 31 chủng vi khuẩn đã phân lập đều sinh trưởng được trong môi trường của kỹ thuật vi pha loãng và có thể nhận định bằng mắt thường dưới sự hỗ trợ của bàn hát sáng. Tỷ lệ đề kháng của *H.pylori* đối với các kháng sinh Clarithromycin, Metronidazole, Amoxicillin, Levofloxacin và Tetracycline lần lượt là 71%, 54,8%, 51,6%, 51,6% và 0%. Tỷ lệ vi khuẩn nhạy với tất cả kháng sinh khảo sát là 12,9%, trong đó tỷ lệ đề kháng với các kháng sinh trừ Tetracycline là 22,6%. Khi phân loại theo phác đồ điều trị đầu tay, tỷ lệ kháng của phác đồ PALB (Amoxicillin và Levofloxacin) là 35,5%, còn phác đồ PTMB (Metronidazole và Tetracycline) là 0%.

**Kết luận:** Nghiên cứu đã bước đầu cho thấy tính khả dụng của kỹ thuật vi pha loãng nhằm xác định khả dụng của kháng sinh đối với vi khuẩn *H.pylori*. Tỷ lệ đề kháng Metronidazole có sự khác biệt so với các nghiên cứu gần đây tại Việt Nam, có thể đến từ phương pháp ủ khác nhau và cần có những nghiên cứu tiếp theo để đánh giá phương pháp nào phù hợp với lâm sàng hơn. Phác đồ PTMB cho thấy tỷ lệ nhạy cảm tốt, vẫn là một phác đồ đáng tin cậy để điều trị đầu tay với *H.pylori* tại Việt Nam.

**Từ khóa:** *Helicobacter pylori*, vi pha loãng, thử nghiệm độ nhạy kháng sinh.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

*Helicobacter pylori* là một vi khuẩn Gram âm, được mô tả lần đầu bởi Robin Warren và Barry Marshall vào năm 1984. Ở người, *H.pylori* cư trú ở lớp niêm mạc trong dạ dày nhờ vào đặc tính sinh urease mạnh giúp trung hòa cục bộ axit xung quanh. Vi khuẩn gây bệnh viêm loét dạ dày-tá tràng và được phân loại là tác nhân loại I gây ung thư dạ dày [1]. Tỷ lệ nhiễm *H.pylori* trung bình trên thế giới là 50%, phân bố không đồng đều giữa các quốc gia và vùng lãnh thổ, trong đó điều kiện kinh tế - xã hội, mật độ dân cư, thói quen ăn uống, điều kiện vệ sinh đóng vai trò là những yếu tố nguy cơ làm ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm *H.pylori* ở vị trí địa lý đó [2]. Tại Việt Nam, tỷ lệ nhiễm *H.pylori* nằm ở mức cao và không đồng đều giữa các nhóm đối tượng nghiên cứu, với xu hướng tỷ lệ thuận với mật độ dân cư và có thể lên đến 87,7% [3]. Điều này tạo gánh nặng bệnh lý lên hệ thống y tế rất cao với hậu quả nghiêm trọng, lâu dài mà nó mang lại, nên việc điều trị bằng kháng sinh khi phát hiện nhiễm *H.pylori* là điều cực kỳ cần thiết.

Theo khuyến cáo của Hội Tiêu hóa Việt Nam (VNAGE), số lượng kháng sinh được khuyến nghị tiết trừ *H.pylori* tại Việt Nam chỉ có 4 loại: Amoxicillin, Levofloxacin, Metronidazole và Tetracycline [4]. Với số lượng kháng sinh hạn chế và tỷ lệ đề kháng kháng sinh tại Việt Nam nằm ở mức cao do thiếu sự kiểm soát sử dụng kháng sinh, việc triển khai xét nghiệm để đánh giá độ nhạy kháng sinh của *H.pylori* là điều cần thiết. Tại Việt Nam, đã có nhiều nghiên cứu đánh giá độ nhạy kháng sinh của *H.pylori*

nhưng đặc điểm chung của các nghiên cứu này là đều sử dụng phương pháp que E-test thương mại [5-7]. Đối với phương pháp vi pha loãng, đây là phương pháp chuẩn để thử nghiệm độ nhạy kháng sinh theo khuyến nghị của Ủy ban châu Âu về thử nghiệm độ nhạy kháng khuẩn (EUCAST). Kỹ thuật này có sự tương quan rất cao với phương pháp pha loãng thạch, được khuyến nghị dùng cho *H.pylori* bởi Viện Tiêu chuẩn Lâm sàng và Xét nghiệm (CLSI), nhưng lại rất ít khi được sử dụng trong các nghiên cứu trên *H.pylori* [8]. Tại Việt Nam, cho đến thời điểm hiện tại, chưa có bất cứ nghiên cứu nào sử dụng phương pháp này để thử nghiệm độ nhạy kháng sinh đối với *H.pylori*.

Vi vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá tính khả dụng của phương pháp vi pha loãng trên vi khuẩn *H.pylori*, từ đó cung cấp thêm một giải pháp thử nghiệm độ nhạy kháng sinh cho vi khuẩn này và góp phần cung cấp dữ liệu nhằm chuẩn hóa hiệu quả của phương pháp này trên *H.pylori*.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các chủng vi khuẩn *H.pylori* thuần chủng được phân lập trước đó từ mẫu mô sinh thiết dạ dày-tá tràng của người bệnh, được lưu trong môi trường BHI 20% glycerol ở -75°C.

\*Tác giả liên hệ

Email: nhntuan@pnt.edu.vn Điện thoại: (+84) 932646234 DOI: 10.52163/jhc.v67iCD4.4874

**2.2. Phương pháp nghiên cứu**

Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 31 chủng vi khuẩn *H. pylori* đang lưu trữ tại Trung tâm Đào tạo và Chẩn đoán Y Sinh học phân tử, Bệnh viện Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh - Cơ sở 2.

**2.3. Quy trình tiến hành nghiên cứu**

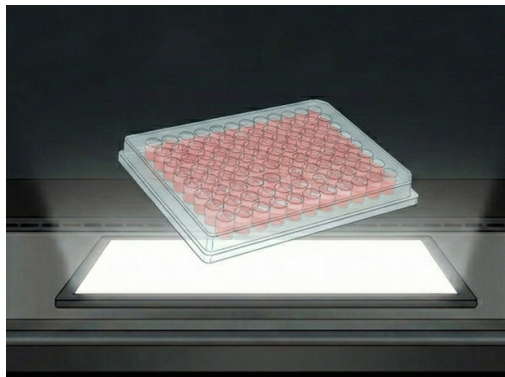
Chuẩn bị dung dịch kháng sinh chuẩn: bột của 5 loại kháng sinh Amoxicillin, Clarithromycin, Levofloxacin, Metronidazole và Tetracycline được pha với dung môi DMSO để tạo thành dung dịch stock có nồng độ cao (≥ 100X). Các dung dịch stock sau đó được pha loãng với máu ngựa ly giải 50% (LHB) theo tỷ lệ thích hợp để tạo thành dung dịch có nồng độ gấp 10 lần nồng độ MIC cao nhất cần khảo sát (10X).

Chuẩn bị đĩa sinh phẩm: các kháng sinh được phân phối lên đĩa sinh phẩm theo sơ đồ tại hình 1. Dùng 10 µL LHB phân phối vào tất cả các giếng ở cột 1-5 và các giếng chứng âm, chứng dương. Ở mỗi kháng sinh, 20 µL dung dịch 10X được phân phối vào giếng có nồng độ cao nhất. Sau đó hút dung dịch ra, nhỏ vào giếng có nồng độ thấp hơn liền kề và tiến hành pha loãng liên tiếp cho đến nồng độ thấp nhất. Các đĩa sinh phẩm sau khi chuẩn bị xong được lưu trữ ở nhiệt độ -20 °C cho đến khi sử dụng.

	1	2	3	4	5	6
<b>A</b>	8	16	64	128	64	(+)
<b>B</b>	4	8	32	64	32	(-)
<b>C</b>	2	4	16	32	16	
<b>D</b>	1	2	8	16	8	A 16
<b>E</b>	0.5	1	4	8	4	C 32
<b>F</b>	0.25	0.5	2	4	2	L 128
<b>G</b>	0.125	0.25	1	2	1	M 256
<b>H</b>	0.063	0.125	0.5	1	0.5	T 128
	AMX	CLR	LEV	MTZ	TET	
<b>Sample No. 1</b>						

**A**

Sơ đồ phân phối của các kháng sinh trên đĩa sinh phẩm vi pha loãng và dải nồng độ tương ứng. AMX (Amoxicillin): 0,063-16 mg/L, CLR (Clarithromycin): 0,125-32 mg/L, LEV (Levofloxacin): 0,5-128 mg/L, MTZ (Metronidazole): 1-256 mg/L, T/TET (Tetracycline): 0,5-128 mg/L. Các nồng độ in đậm gạch chân là ngưỡng cut-off xác định nhạy/kháng theo EUCAST v15.0



**B**

Cách đọc kết quả vi pha loãng: đặt một bàn hắt sáng trên bề mặt nằm ngang, ánh sáng chiếu lên trên, kỹ thuật viên cầm nghiêng đĩa sinh phẩm một góc 45 độ so với mặt bàn sao cho ánh sáng chiếu xiên vào đáy của các giếng

**Hình 1.**

Chuẩn bị mẫu vi khuẩn: các chủng vi khuẩn đang lưu ở -75°C được hoạt hóa lên môi trường đĩa thạch Columbia Agar bổ sung 7% máu ngựa ly giải (CA7), ủ ở 37°C trong

điều kiện vi hiếu khí trong 7 ngày. Sau 7 ngày, những đĩa thạch ghi nhận khuẩn điển hình của *H. pylori* sẽ được cấy tăng sinh lên một đĩa thạch CA7 khác, ủ tiếp trong điều kiện tương tự trong 72 giờ. Sau 72 giờ, vi khuẩn được định danh bằng 3 thử nghiệm Catalase, Urease và Oxidase để xác nhận là *H. pylori*.

Thực hiện kỹ thuật vi pha loãng: sinh khối vi khuẩn trên môi trường tăng sinh được thu hoạch và pha với dung dịch PBS để tạo thành huyền dịch có độ đục 2.0 McF, sau đó pha loãng 1:100 với Mueller-Hinton Broth. Tiếp theo, 90 µL huyền dịch vi khuẩn trong Mueller-Hinton Broth được nhỏ vào các giếng trên đĩa sinh phẩm và ủ ở điều kiện 37°C, vi hiếu khí, lắc 100 rpm trong 72 giờ.

Đọc và phiên giải kết quả: đối với kỹ thuật vi pha loãng, giếng có nồng độ thấp nhất trong các giếng có khả năng ức chế vi khuẩn đến mức không thể nhận định bằng mắt thường sẽ được xác định là MIC. Từ giá trị MIC thu được, kết quả nhạy/kháng sẽ được phiên giải dựa trên EUCAST Breakpoint Table v15.0.

Kiểm tra chất lượng: kỹ thuật được tiến hành nội kiểm bằng chủng chuẩn *H. pylori* ATCC 43504, sử dụng khoảng tham chiếu theo tài liệu của CSLI M45 3rd Edition.

**2.4. Xử lý số liệu**

Số liệu được nhập liệu bằng phần mềm Microsoft Excel, xử lý dữ liệu bằng phần mềm RStudio 4.4.2.

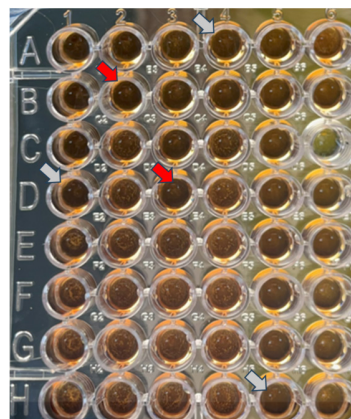
**2.5. Đạo đức nghiên cứu**

Những mẫu sử dụng trong nghiên cứu là các chủng vi khuẩn đã được phân lập trước đó từ mẫu mô sinh thiết còn lại sau khi đã thực hiện thủ thuật nội soi dạ dày-tá tràng. Nghiên cứu được thông qua bởi Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh theo Quyết định số 3096/ĐHYD-HĐĐĐ. Người bệnh đã được giải thích và đồng ý cho nhóm nghiên cứu sử dụng vi khuẩn phân lập được lưu trữ cho mục đích nghiên cứu.

**3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

Chúng tôi đã thực hiện thành công kỹ thuật trên toàn bộ các chủng đã hoạt hóa (31/31 chủng). Để đảm bảo chất lượng xét nghiệm, mỗi mẫu được tiến hành nội kiểm với 1 chứng dương (có vi khuẩn, không có kháng sinh) và chứng âm (không có vi khuẩn). Các giếng chứng dương đều ghi nhận sự tăng sinh của vi khuẩn tạo thành các chấm li ti hoặc một lớp màng ở đáy giếng, chứng âm không ghi nhận vi khuẩn mọc như kết quả tại hình 2.

Ngoài ra, việc pha dung dịch stock kháng sinh 100X trong DMSO khiến nồng độ DMSO thực tế tối đa trong các giếng khảo sát MIC sẽ là 1% và giảm tỷ lệ thuận với nồng độ kháng sinh. Ngưỡng DMSO ≤ 1% được cho là an toàn, hầu như không gây ảnh hưởng lên khả năng sinh trưởng của tế bào nên chúng tôi quyết định sử dụng dung môi với nồng độ này để chuẩn bị sinh phẩm [9].



**Hình 2. Kết quả vi pha loãng của *H. pylori***

Dựa theo sơ đồ phân bố tại hình 1.A, kết quả MIC của các kháng sinh được phiên giải: AMX: 1 mg/L, CLR: 8 mg/L, LEV: 8 mg/L, MTZ: 128 mg/L, TET: ≤ 0.5 mg/L. Chứng

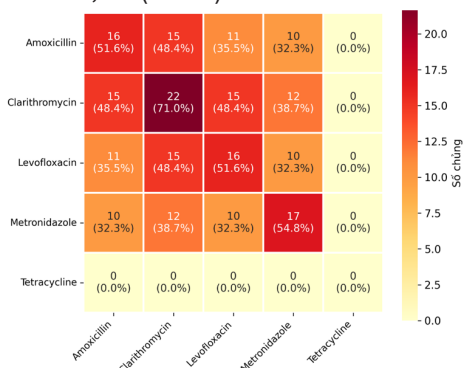
dương: dương tính, chứng âm: âm tính.

Khi thực hiện chạy thử nghiệm kỹ thuật với chủng chuẩn *H. pylori* ATCC 43504, chúng tôi thu được dữ liệu như trình bày tại bảng 1. Các kết quả MIC của AMX, CLR, LEV và TET đều thấp hơn so với khoảng khảo sát của sinh phẩm, nên kết quả được ghi nhận là nồng độ thấp nhất có thể khảo sát được.

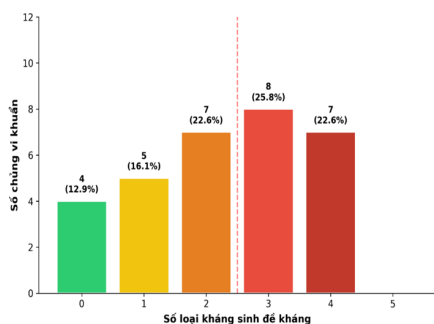
**Bảng 1. Kết quả kiểm tra chất lượng kỹ thuật vi pha loãng**

Kháng sinh	Kết quả MIC (mg/L)	Khoảng tham chiếu (mg/L)
AMX	≤ 0,063	0,015-0,12
CLR	≤ 0,125	0,015-0,12
LEV	≤ 0,25	Không có
MTZ	4	64-256
TET	≤ 0,5	0,12-1

Dựa trên 31 kết quả MIC thu được, chúng tôi ghi nhận tỷ lệ đề kháng với các kháng sinh đang được sử dụng trong các phác đồ điều trị *H. pylori*. Tỷ lệ đề kháng đối với từng kháng sinh AMX, CLR, LEV và MTZ lần lượt là 51,6% (16/31), 71,0% (22/31), 51,6% (16/31) và 54,8% (17/31). Không ghi nhận chủng nào kháng TET. Trong các mẫu đồng kháng 2 loại kháng sinh, tỷ lệ đồng kháng AMX + CLR và CLR + LEV là cao nhất, chiếm 48,4% (15/31). Tỷ lệ đồng kháng của AMX + LEV là 35,5% (11/31).



**Biểu đồ 1. Tỷ lệ đồng kháng của các cặp kháng sinh**



**Biểu đồ 2. Tỷ lệ đa kháng của *H. pylori* đối với các loại kháng sinh được khảo sát trong nghiên cứu**

Khi đánh giá thêm về tính đa kháng của *H. pylori* mô tả tại biểu đồ 2, chúng tôi ghi nhận chỉ có 12,9% (4/31) nhạy cảm với toàn bộ các kháng sinh khảo sát. Tỷ lệ vi khuẩn đa kháng (kháng ≥ 3 họ kháng sinh trở lên) được ghi nhận là 48,4% (15/31), trong đó có 22,6% (7/31) chủng kháng với 4/5 loại kháng sinh. Điều này cho thấy mức độ phức tạp của tính kháng kháng sinh của *H. pylori* tại Việt Nam.

**4. BÀN LUẬN**

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã ứng dụng phương pháp vi pha loãng với một số điều chỉnh so với hướng dẫn trong CLSI để thực hiện kỹ thuật kháng sinh đồ đối với vi

khẩn *H. pylori*. Cụ thể, chúng tôi đã tiến hành điều chỉnh dung môi (DMSO), nồng độ dung dịch kháng sinh stock (100X), thể tích huyền dịch vi khuẩn (90 µL). Những điều chỉnh này giúp chúng tôi có thể thao tác hàng loạt, từ đó giúp việc chuẩn bị đĩa sinh phẩm có thể được thực hiện theo lô mỗi tháng (nếu lưu ở -20°C) hoặc mỗi 6 tháng (nếu lưu ở -70°C). Kỹ thuật này có một số ưu điểm so với E-test có thể kể đến như tiết kiệm không gian (chỉ cần 1 plate so với 4-5 đĩa thạch của E-test), kiểm soát chất lượng dễ dàng hơn (có chứng âm và chứng dương đi kèm cho mỗi mẫu), giảm thiểu sự biến thiên kết quả do tay nghề (do sử dụng micropipette thay vì que tẩm bông), sinh phẩm có thể tự chuẩn bị thành từng đợt lớn và lưu trữ dài ngày trước khi sử dụng, khả dụng để thử nghiệm trên những kháng sinh/hợp chất mới chưa có sinh phẩm thương mại. Tuy nhiên, thủ thuật này vẫn có một số nhược điểm cần kể đến như: chưa có sinh phẩm thương mại dành cho *H. pylori*; thành phần dinh dưỡng 5% máu ngựa ly giải khiến môi trường có màu đỏ, cần kinh nghiệm để có thể đọc đúng nồng độ MIC; kỹ thuật cần được thực hiện với độ chuẩn xác cao hơn.

Về đánh giá độ tin cậy của kết quả, từ kết quả MIC chúng tôi thu được trên chủng chuẩn ATCC 43504 không ghi nhận bất cứ kết quả nào cao hơn khoảng tham chiếu, là cơ sở để nhận định kỹ thuật của chúng tôi chuẩn bị theo phương pháp nêu trên không gây ra kết quả đề kháng giả. Tuy nhiên, do khoảng nồng độ kháng sinh của chúng tôi chưa bao phủ hết toàn bộ dải nồng độ của chủng chuẩn, do đó vẫn chưa thể đảm bảo kỹ thuật này có gây ra kiểu hình nhạy giả tạo hay không. Hiện tại, chúng tôi đang tiến hành cải tiến kỹ thuật nhằm khắc phục nhược điểm nói trên.

Hiện nay, các phòng thí nghiệm lâm sàng chỉ sử dụng phương pháp E-test để xác định MIC đối với *H. pylori*, có thể do chưa có sinh phẩm đĩa vi pha loãng thương mại dành riêng cho loại vi khuẩn này. Dầu vậy, các sinh phẩm vi pha loãng của các kháng sinh nói trên của một số hệ thống như Micronaut (Merlin Diagnostika, Đức), Microtitre (ThermoFisher, Mỹ) vẫn có sẵn và nằm rải rác trong các bộ dành cho những nhóm vi khuẩn khác, đặt ra triển vọng về việc thiết kế một bộ sinh phẩm thương mại cho *H. pylori* bằng phương pháp vi pha loãng.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ đề kháng của CLR được ghi nhận là 71,6%, thấp hơn so với tỷ lệ > 90% từ các công bố gần đây của Nguyễn Hồng Thanh và cộng sự ở miền Nam Việt Nam [5], Trần Thị Tuyết và cộng sự ở miền Bắc Việt Nam [10]. Tỷ lệ này vẫn cao hơn nhiều so với ngưỡng 20%, tiếp tục củng cố cho khuyến nghị không nên sử dụng kháng sinh này để điều trị nhiễm *H. pylori* tại Việt Nam khi chưa có bằng chứng nhạy cảm [4]. Tỷ lệ kháng AMX và LEV khá tương đồng với các công bố trước đó tại miền Bắc Việt Nam của Trần Thị Tuyết và cộng sự, Bùi Thanh Thủy và cộng sự [10-11].

Kháng sinh Tetracycline có tỷ lệ đề kháng 0%, tương tự với các nghiên cứu từ trước đến nay trên thế giới, cho thấy độ tin cậy của các phác đồ điều trị có chứa loại kháng sinh này. Theo đồng thuận VNAGE (2022), hai phác đồ khuyến nghị điều trị đầu tay dành cho *H. pylori* tại Việt Nam là PTMB (Amoxicillin và Levofloxacin) và PALB (Metronidazole và Tetracycline) [4]. Dựa theo kết quả của chúng tôi, tỷ lệ đề kháng của phác đồ PTMB và PALB lần lượt là 0% và 35,5%. Từ đó cho thấy PTMB vẫn là phác đồ hiệu quả và đáng tin cậy để điều trị đầu tay, giúp tiết trừ hiệu quả.

Tỷ lệ đề kháng với Metronidazole của *H. pylori* được ghi nhận là 54,8%. Tỷ lệ này khác biệt hẳn so với kết quả công bố < 10% của một số công bố trong 5 năm gần đây tại Việt Nam, nhưng lại phù hợp với tỷ lệ kháng tại khu vực châu Á - Thái Bình Dương giai đoạn 1990-2022 là 52% và xu hướng tăng sự đề kháng đối với Metronidazole [5], [12]. Tại Việt Nam, kháng sinh họ Nitroimidazole vẫn đang được sử dụng tại các cơ sở y tế để điều trị các nhiễm khuẩn kỵ khí và kỵ sinh trùng với 2,41 DDD/100 giường-ngày [13]. Vì vậy, chúng tôi thiên về giá thuyết sự khác biệt về tỷ lệ đề kháng đến từ kỹ thuật hơn là xu hướng sử dụng kháng sinh tại Việt Nam. Khi so sánh sự khác biệt về kỹ thuật giữa nghiên cứu của chúng tôi và những nghiên cứu trước tại

Việt Nam, chúng tôi ghi nhận sự khác biệt ở 2 điểm: loại kỹ thuật và điều kiện ủ của kỹ thuật. Về kỹ thuật, các nghiên cứu tại Việt Nam sử dụng kỹ thuật E-test, trong khi chúng tôi ứng dụng kỹ thuật vi pha loãng. Để kiểm chứng, chúng tôi đã thực hiện kỹ thuật E-test đối với Metronidazole trên 31 chủng, kết quả cho thấy tỷ lệ kháng tương đương với kỹ thuật vi pha loãng (kết quả chưa công bố). Do đó, chúng tôi cho rằng nguyên nhân của sự khác biệt không nằm ở kỹ thuật sử dụng. Về điều kiện ủ, các nghiên cứu khác tại Việt Nam thực hiện ủ 2 giai đoạn (24 giờ đầu kỵ khí, 48 giờ tiếp theo vi hiếu khí) trong khi chúng tôi thực hiện ủ 1 giai đoạn (vi hiếu khí trong 72 giờ) tương tự như kỹ thuật vi pha loãng đã được sử dụng trong các nghiên cứu khác trên thế giới [8]. Nghiên cứu của Larsen A.L và cộng sự (2013) cho thấy phương pháp ủ hai giai đoạn cung cấp 24 giờ kỵ khí để Metronidazole có thể hoạt hóa, làm tăng hoạt tính, dẫn đến kết quả MIC của Metronidazole trên *H. pylori* thấp hơn, làm giảm tỷ lệ kháng in vitro so với phương pháp 1 giai đoạn [14]. Dẫu vậy, do thiếu hụt dữ liệu, phương pháp nào có thể cho ra kết quả phản ánh đúng tình trạng đề kháng trên lâm sàng vẫn là một câu hỏi chưa có lời giải đáp.

## 5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thiết lập và áp dụng thành công phương pháp vi pha loãng để đánh giá độ nhạy kháng sinh của *H. pylori*, cho thấy tính khả thi để ứng dụng phương pháp này lên *H. pylori*. Từ những vấn đề còn tồn đọng, nghiên cứu cho thấy tiềm năng mở rộng, cải tiến để góp phần tối ưu hóa kỹ thuật. Tỷ lệ đề kháng đơn lẻ với từng kháng sinh Clarithromycin, Amoxicillin, Metronidazole và Levofloxacin hoặc đa kháng đều cao, nhưng không ghi nhận đề kháng với Tetracycline cho thấy phác đồ PTMB vẫn là một phác đồ đáng tin cậy.

## LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn Bệnh viện Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh - Cơ sở 2 đã tạo điều kiện thuận lợi về cơ sở vật chất, trang thiết bị, nguồn chủng vi khuẩn, môi trường nghiên cứu và các thủ tục đạo đức nghiên cứu liên quan, để chúng tôi có thể triển khai và hoàn thành công trình nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Fock K.M et al. Epidemiology of Helicobacter pylori infection and gastric cancer in Asia. Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia), 2010, 25 (3): 479-486. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.06188.x.

[2] Tran Thi Huyen Trang et al. The prevalence of Helicobacter pylori virulence factors in Bhutan, Vietnam, and Myanmar is related to gastric cancer incidence. Biomed Res Int, 2015: 830813. doi: 10.1155/2015/830813.

[3] Che T.H et al. High prevalence of Helicobacter pylori infection among school-aged children in Ho Chi Minh city, VietNam. Int J Public Health, 2022, 67: 1605354. doi: 10.3389/ijph.2022.1605354.

[4] Quach D.T et al. Vietnam Association of Gastroenterology (VNAGE) consensus on the management of He-

licobacter pylori infection. Frontiers Media (Lausanne), 2023, 9: 1065045. doi: 10.3389/fmed.2022.1065045.

[5] Nguyễn Hồng Thanh và cộng sự. Đề kháng kháng sinh nguyên phát của vi khuẩn Helicobacter pylori ở bệnh nhân viêm loét dạ dày tá tràng. Tạp chí Y Dược Phạm Ngọc Thạch, 2022, 1 (4): 142-152. doi: 10.59715/pnt-jmp.1.4.16.

[6] Đào Ngọc Linh và cộng sự. Tình trạng kháng kháng sinh và hiệu quả điều trị Helicobacter pylori theo kháng sinh đồ tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội. Tạp chí Y học Việt Nam, 2023, 530 (2): 280-284. doi: 10.51298/vmj.v530i2.6848

[7] Phan Trung Nam và cộng sự. Tình hình đề kháng kháng sinh của Helicobacter pylori tại khu vực miền Trung hai năm 2012-2013 bằng kỹ thuật E-Test. Tạp chí Khoa học tiêu hóa Việt Nam, 2013, 8 (33): 2122-2131.

[8] Tang X et al. Reassessment of the broth microdilution method for susceptibility testing of Helicobacter pylori. J Infect Dis, 2022, 226, (Supplement 5): S486-S492. doi: 10.1093/infdis/jiac389.

[9] Çağlayan S.T et al. Gurbanov. Modulation of bacterial membranes and cellular macromolecules by dimethyl sulfoxide: a dose-dependent study providing novel insights. Int J Biol Macromol, 2024, 267 (pt 2): 131581. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.131581.

[10] Trần Thị Tuyết và cộng sự. Mức độ nhạy cảm kháng sinh và mối liên quan với một số yếu tố độc lực của các chủng Helicobacter pylori phân lập tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ 2019-2023. Tạp chí Nghiên cứu Y học, 2023, 170 (9): 228-238.

[11] Bùi Thanh Thuyết và cộng sự. Đặc điểm kháng kháng sinh của Helicobacter pylori tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 giai đoạn từ 2019 đến 2022. Tạp chí Y Dược lâm sàng 108, 2024, 19 (số đặc biệt Hội nghị Khoa học nghiên cứu sinh): 106-113. doi: 10.52389/ydls.v19inc.2369.

[12] Hong T.C et al. Primary antibiotic resistance of Helicobacter pylori in the Asia-Pacific region between 1990 and 2022: an updated systematic review and meta-analysis. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2024, 9 (1): 56-67. doi: 10.1016/S2468-1253(23)00281-9.

[13] Lê Thị Triều và cộng sự. Thực trạng cơ cấu thuốc kháng sinh sử dụng trong điều trị bệnh nhân nội trú tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Cao Bằng năm 2021. Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên, 2013, 228 (5): 207-212. doi: 10.34238/tnu-jst.6805.

[14] Larsen A.L et al. Resistance rates of metronidazole and other antibacterials in Helicobacter pylori from previously untreated patients in Norway. APMIS, 2013, 121 (4): 353-358. doi: 10.1111/apm.12009.