

**NGHIÊN CỨU *IN VITRO* SỰ ĐỀ KHÁNG KHÁNG SINH  
CỦA VI KHUẨN *HELICOBACTER PYLORI* CÓ VÀ KHÔNG CÓ  
TẠO MÀNG SINH HỌC (BIOFILM)**

**Nguyễn Thị Linh Em<sup>1,2</sup>, Nguyễn Thắng<sup>2</sup>, Phạm Thị Ngọc Nga<sup>2</sup>, Trần Thị Như Lê<sup>2\*</sup>**

1. Trường Đại học Nam Cần Thơ

2. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

\* Email: ttnle@ctump.edu.vn

Ngày nhận bài: 30/5/2023

Ngày phản biện: 25/6/2023

Ngày duyệt đăng: 07/7/2023

**TÓM TẮT**

**Đặt vấn đề:** Hiện *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) đề kháng các loại kháng sinh sử dụng trong phác đồ điều trị đã đạt đến tỷ lệ báo động trên toàn thế giới. Nhiều yếu tố liên quan đến tính đề kháng kháng sinh và trong số đó có khả năng tạo màng sinh học của vi khuẩn. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định *in vitro* khả năng tạo màng sinh học của *H. pylori* và tỷ lệ đề kháng kháng sinh của *H. pylori* có và không có tạo màng sinh học. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Các mẫu vi khuẩn *H. pylori* được lấy từ một nghiên cứu trước đó ở tỉnh Tiền Giang để xác định khả năng tạo màng sinh học theo phương pháp đĩa nuôi cấy mô và xác định tính đề kháng với 3 loại kháng sinh amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin theo phương pháp khuếch tán đĩa thạch. **Kết quả:** Tỷ lệ *H. pylori* có và không có tạo màng sinh học lần lượt là 91,5%, 8,5%, trong số các mẫu có tạo màng sinh học thì mức độ tạo màng sinh học yếu, trung bình, mạnh lần lượt là 7,0%, 20,9%, 72,1%. Tỷ lệ *H. pylori* có tạo màng sinh học đề kháng với amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin lần lượt là 97,7%, 95,3%, 2,3%, tỷ lệ *H. pylori* không tạo màng sinh học đề kháng với amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin lần lượt là 75%, 100%, 0%. Sự khác biệt tỷ lệ đề kháng kháng sinh ở hai nhóm này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). **Kết luận:** Tỷ lệ *H. pylori* có tạo màng sinh học cao và mức độ tạo màng sinh học mạnh chiếm nhiều. Tỷ lệ *H. pylori* đề kháng kháng sinh cao. Tuy nhiên không có sự khác biệt tỷ lệ đề kháng kháng sinh giữa nhóm có và không có tạo màng sinh học.

**Từ khóa:** *Helicobacter pylori*, biofilm, đề kháng kháng sinh, hình thành màng sinh học.

## ABSTRACT

**IN VITRO RESEARCH OF ANTIBIOTIC RESISTANCE  
OF *HELICOBACTER PYLORI* WITH AND WITHOUT BIOFILM  
FORMATION (BIOFILM)**

*Nguyen Thi Linh Em*<sup>1,2</sup>, *Nguyen Thang*<sup>2</sup>, *Pham Thi Ngoc Nga*<sup>2</sup>, *Tran Thi Nhu Le*<sup>2\*</sup>

1. Southern Can Tho University

2. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

**Background:** Currently, the resistance of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) to antibiotics used in treatment regimens has reached alarming rates worldwide. Many factors are involved in drug resistance and among them is the ability of bacteria to form biofilm. **Objectives:** To determine in vitro of *H. pylori* biofilm formation ability and the antibiotic resistance rate of *H. pylori* with and without biofilm formation. **Materials and methods:** *H. pylori* samples were provided from the previous study in Tien Giang province to determine the ability of biofilm formation using the tissue culture plate method and to determine antibiotic resistance with amoxicillin, clarithromycin, and levofloxacin using disk-diffusion method. **Results:** The rate of *H. pylori* with and without biofilm formation was 91.5%, 8.5%. Among the samples with biofilm formation, the biofilm formation was weak, moderate, and strong are 7.0%, 20.9%, and 72.1%, respectively. The rate of *H. pylori* with biofilm formation resistance to amoxicillin, clarithromycin, and levofloxacin was 97.7%, 95.3%, and 2.3%, respectively. The rate of *H. pylori* without biofilm formation resistance to amoxicillin, clarithromycin, and levofloxacin was 75%, 100%, and 0%, respectively. The difference in antibiotic resistance rate in these two groups was not statistically significant ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** The rate of *H. pylori* with biofilm formation is high and the degree of strong biofilm formation is high. The rate of *H. pylori* antibiotic resistance is high. However, there was not difference in antibiotic resistance between groups with and without biofilm formation.

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, biofilm, antibiotic resistance, biofilm formation.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, việc sử dụng kháng sinh không hợp lý đã làm cho tỉ lệ vi khuẩn đề kháng kháng sinh đang ngày càng tăng và tỉ lệ đề kháng kháng sinh khác nhau giữa các quốc gia và khu vực [1]. Trong số đó, *H. pylori* có tỉ lệ đề kháng cao và được Tổ chức Y tế Thế giới xếp vào nhóm một trong các yếu tố hàng đầu gây viêm loét và ung thư dạ dày-tá tràng [2]. Có hơn một nửa dân số thế giới bị nhiễm *H. pylori* [3], Việt Nam nằm trong khu vực có tỷ lệ nhiễm cao vào khoảng trên 70% ở người lớn [4].

Có nhiều yếu tố liên quan đến tính đề kháng kháng sinh và trong số đó là khả năng tạo màng sinh học của vi khuẩn. Các vi khuẩn hình thành màng sinh học bằng cách tiết ra protein, polysaccharid, DNA ngoại bào và các phân tử khác để tạo thành các polymer ngoại bào giúp các vi khuẩn dính vào nhau. Các tế bào vi khuẩn trong màng sinh học thể hiện một số đặc tính khác biệt với các tế bào vi khuẩn phù du đó là sự gia tăng đề kháng đối với kháng sinh [5]. Có nhiều cơ chế đề kháng của vi khuẩn trong màng sinh học bao gồm sự không thể xâm nhập của các kháng sinh vào màng sinh học, tốc độ phát triển chậm của tế bào có màng sinh học do hạn chế chất dinh dưỡng, kích hoạt phản ứng chung chống lại chất kháng khuẩn và sự gia tăng của những bơm ngược để đẩy các phân tử có hại như các kháng sinh ra khỏi tế bào vi khuẩn [6]. Kết quả làm tăng giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của kháng sinh [7]. Ở Việt Nam chưa có một nghiên cứu nào về sự đề kháng kháng sinh của *H. pylori* liên quan đến tạo màng sinh học vì thế nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu nghiên cứu: Khảo sát *in vitro* khả năng tạo màng sinh học của *H. pylori* và tỷ lệ đề kháng kháng sinh của *H. pylori* có và không có tạo màng sinh học.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu vi khuẩn *H. pylori* được lấy từ một nghiên cứu trước đó ở tỉnh Tiền Giang, các mẫu vi khuẩn được duy trì ở  $-70^{\circ}\text{C}$  trong môi trường lỏng BHI bổ sung 30% glycerol.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp thử nghiệm *in vitro* trên 47 mẫu *H. pylori*. Các mẫu vi khuẩn *H. pylori* được cấy lại trong môi trường Pylori agar, ủ đĩa ở  $37^{\circ}\text{C}$  trong 72 giờ trong điều kiện vi hiếu khí (5%  $\text{O}_2$ , 5-10%  $\text{CO}_2$ ). Sau đó chọn khuẩn vi khuẩn tròn đều màu trong hoặc xám nhạt để nhuộm gram và làm thử nghiệm sinh vật hóa học. Nếu kết quả là trực khuẩn gram âm, vi khuẩn có dạng cánh chim hải âu bắt màu đỏ, kết quả thử nghiệm sinh vật hóa học: catalase (+), oxidase (+), urease (+) thì xác định đúng vi khuẩn *H. pylori*. Lấy khuẩn vi khuẩn *H. pylori* cấy vào môi trường lỏng BHI để tăng sinh để thực hiện các thử nghiệm

#### Xác định *in vitro* tỷ lệ *H. pylori* có và không có tạo màng sinh học

Phương pháp xác định khả năng tạo màng sinh học của các mẫu vi khuẩn *H. pylori* được thực hiện trên đĩa nuôi cấy mô như mô tả của tác giả Fauzia K.A. và cộng sự [8]. Các mẫu vi khuẩn *H. pylori* được chuẩn bị thành huyền dịch trong môi trường lỏng BHI đạt độ đục 0,5 Mc Farland, chuẩn bị môi trường lỏng BHI bổ sung glucose 5%. Trên đĩa 96 giếng gồm có 12 cột (1 đến 12) và 8 hàng (A đến H). Mỗi mẫu vi khuẩn sẽ được pha loãng 1/2 lần liên tiếp từ dãy B đến H (cột 4 đến 12) trong môi trường lỏng BHI bổ sung glucose 5%. Sử dụng dãy giếng không có vi khuẩn để kiểm soát nhiễm khuẩn và làm chứng âm (cột 2), dãy giếng chứng dương có vi khuẩn *Staphylococcus aureus* có khả năng tạo màng sinh học (cột 3). Thêm 150  $\mu\text{L}$  môi trường lỏng BHI bổ sung glucose 5% vào các giếng, tổng thể tích cuối của mỗi giếng là 200  $\mu\text{L}$ . Các giếng được ủ trong điều kiện vi hiếu khí, lắc với tốc độ 100 vòng/phút trong 72 giờ. Sau thời gian ủ, loại bỏ môi trường nuôi cấy có vi khuẩn tự do, các giếng được rửa nhẹ nhàng ba lần bằng muối đệm phosphat và để khô trong không khí để gắn chặt màng sinh học vào giếng. Sau đó, màng sinh học được nhuộm với 200  $\mu\text{L}$  màu tím tinh thể trong 1 phút, rửa bằng nước cất nhiều lần cho đến khi nước rửa không còn màu tím và để khô trong không khí. Đo độ hấp thụ của 4 giếng liên tiếp trong cột 8 giếng (dãy B, C, D, E) bằng cách hòa mỗi giếng với 200  $\mu\text{L}$  dung môi ethanol 70° và đo ở bước sóng 560 nm. Đánh giá sự hình thành màng sinh học bằng cách lấy giá trị trung bình độ hấp thụ của các giếng mẫu thử so với giá trị trung bình độ hấp thụ của chứng âm. Mẫu *H. pylori* có tạo màng sinh học khi giá trị trung bình độ hấp thụ mẫu thử lớn hơn chứng âm và trong điều kiện thử chứng dương có tạo màng sinh học.

#### Xác định tính đề kháng với các kháng sinh amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch (Etest)

Các mẫu vi khuẩn *H. pylori* được chuẩn bị thành huyền dịch trong môi trường lỏng BHI đạt độ đục 3,0 Mc Farland. Thực hiện kháng sinh đồ trên môi trường BA, xác định MIC bằng thanh Etest của Biomérieux (Pháp), kết quả được đánh giá sau 24 giờ ủ trong điều kiện vi hiếu khí, sử dụng *H. pylori* ATCC 43504 làm chủng đối chứng. *H. pylori* đề kháng với kháng sinh khi nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) với các loại kháng sinh theo tiêu chuẩn EUCAST 2020 như sau: amoxicillin > 0,125 mg/L, clarithromycin > 0,5 mg/L, levofloxacin > 1 mg/L.

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### Xác định *in vitro* tỷ lệ *H. pylori* có và không có tạo màng sinh học

Dựa vào phương pháp của tác giả Fauzia K.A. và cộng sự. Trong tổng số 47 mẫu vi khuẩn *H. pylori* từ phòng thí nghiệm, kết quả thử nghiệm xác định *H. pylori* có và không có tạo màng sinh học được ghi nhận như sau:

Bảng 1. Tỷ lệ *Helicobacter pylori* có và không có tạo màng sinh học

Đặc điểm tạo màng sinh học	Tần số n	Tỷ lệ %
Có tạo màng sinh học	43	91,5
Không tạo màng sinh học	4	8,5
Tổng	47	100

Nhận xét: Tỷ lệ *H. pylori* có tạo màng sinh học là 91,5% cao hơn so với nhóm không tạo màng sinh học là 8,5%.

Bảng 2. Mức độ tạo màng sinh học giữa các mẫu *H. pylori* có tạo màng sinh học

Mức độ tạo màng sinh học	Tần số n	Tỷ lệ %
Yếu	3	7,0
Trung bình	9	20,9
Mạnh	31	72,1
Tổng	43	100

Nhận xét: Tỷ lệ *H. pylori* có tạo màng sinh học mạnh chiếm 72,1% cao hơn so với nhóm tạo màng sinh học yếu 7,0% và trung bình 20,9%.

#### Xác định tính đề kháng với các kháng sinh amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch (Etest)

Tính đề kháng với các kháng sinh được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Theo tiêu chuẩn EUCAST về hướng dẫn đọc kết quả kháng sinh đồ, nghiên cứu ghi nhận kết quả như sau:

Bảng 3. Tỷ lệ đề kháng từng loại kháng sinh của các mẫu *Helicobacter pylori*

Loại kháng sinh	Tỷ lệ đề kháng n (%)	Tỷ lệ không đề kháng n (%)	Tổng n (%)
Amoxicillin	45 (95,7)	2 (4,3)	47 (100)
Clarithromycin	45 (95,7)	2 (4,3)	47 (100)
Levofloxacin	1 (2,1)	46 (97,9)	47 (100)

Nhận xét: Tỷ lệ *H. pylori* đề kháng với amoxicillin và clarithromycin bằng nhau 95,7%, tỷ lệ đề kháng với levofloxacin là thấp nhất 2,1%.

Bảng 4. Tỷ lệ đề kháng từng loại kháng sinh theo nhóm có và không có tạo màng sinh học của các mẫu *Helicobacter pylori*

Đặc điểm đề kháng kháng sinh		Có tạo màng sinh học n (%)	Không tạo màng sinh học n (%)	p*
Amoxicillin	Đề kháng	42 (97,7)	3 (75)	0,165
	Không đề kháng	1 (2,3)	1 (25)	
Clarithromycin	Đề kháng	41 (95,3)	4 (100)	1,000
	Không đề kháng	2 (4,7)	0 (0)	
Levofloxacin	Đề kháng	1 (2,3)	0 (0)	1,000
	Không đề kháng	42 (97,7)	4 (100)	

(\* Thực hiện kiểm định Fisher's Exact)

Nhận xét: Tỷ lệ đề kháng amoxicillin và levofloxacin của *H. pylori* có tạo màng sinh học là 97,7% và 2,3% cao hơn so với *H. pylori* không tạo màng sinh học là 75% và 0%, tỷ lệ đề kháng clarithromycin của *H. pylori* có tạo màng sinh học là 95,3% thấp hơn so với *H. pylori* không tạo màng sinh học là 100%. Tuy nhiên sự khác biệt tỷ lệ đề kháng giữa hai nhóm không có ý nghĩa thống kê với ( $p>0,05$ ).

Bảng 5. Tình trạng đa kháng kháng sinh của *Helicobacter pylori*

Đặc điểm đề kháng kháng sinh		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Không kháng loại nào		0/47	0
Kháng 1 loại		4/47	8,5
Kháng 2 loại	Amoxicillin Clarithromycin	43/47	91,5
	Clarithromycin Levofloxacin	1/47	2,1
	Amoxicillin Levofloxacin	1/47	2,1
Kháng 3 loại		1/47	2,1

Nhận xét: Không có mẫu *H. pylori* không đề kháng với kháng sinh, tỷ lệ đề kháng đồng thời 2 loại kháng sinh amoxicillin và clarithromycin cao nhất chiếm 91,5%.

Bảng 6. Tình trạng đa kháng kháng sinh của *Helicobacter pylori* theo nhóm có và không tạo màng sinh học

Đặc điểm đề kháng kháng sinh		Có tạo màng sinh học n (%)	Không tạo màng sinh học n (%)	p*
Không kháng loại nào		0 (0)	0 (0)	
Kháng 1 loại		Kháng	1 (25)	0,308
		Không kháng	3 (75)	
Kháng 2 loại	Amoxicillin Clarithromycin	Kháng	3 (75)	0,308
		Không kháng	1 (25)	
	Clarithromycin Levofloxacin	Kháng	0 (0)	1,000
		Không kháng	4 (100)	
Amoxicillin Levofloxacin	Kháng	0 (0)	1,000	
	Không kháng	5 (100)		
Kháng 3 loại		Kháng	0 (0)	1,000
		Không kháng	4 (100)	

(\* Thực hiện kiểm định Fisher's Exact)

Nhận xét: Tỷ lệ đề kháng đồng thời hai và ba loại kháng sinh của *H. pylori* có tạo màng sinh học cao hơn so với *H. pylori* không tạo màng sinh học, tỷ lệ đề kháng một loại kháng sinh của *H. pylori* có tạo màng sinh học thấp hơn so với *H. pylori* không tạo màng sinh học. Tuy nhiên sự khác biệt tỷ lệ đề kháng giữa hai nhóm không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ).

#### IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu này thực hiện trên các mẫu *H. pylori* lấy từ phòng thí nghiệm, kết quả xác định lại vi khuẩn là trực khuẩn gram âm, vi khuẩn hơi cong bất màu hồng, catalase (+), oxidase (+), urease (+). Như vậy mẫu *H. pylori* từ phòng thí nghiệm mà đề tài nghiên cứu

có đặc điểm hình thái và kết quả thử nghiệm sinh vật hóa học tương tự các mẫu *H. pylori* nguồn gốc phân lập lâm sàng [9].

Nghiên cứu này xác định khả năng tạo màng sinh học của 47 mẫu *H. pylori*, kết quả cho thấy tỷ lệ *H. pylori* tạo màng sinh học khá cao chiếm 43/47 (91,5%). So với tác giả Fauzia K.A. và cộng sự (2020) [8] xác định khả năng tạo màng sinh học của 101 mẫu *H. pylori* phân lập trên bệnh nhân ở Indonesia bằng phương pháp đĩa nuôi cấy 24 giếng, kết quả có 93,1% (94/101) mẫu có tạo màng sinh học có tỷ lệ cao hơn không nhiều so với nghiên cứu của chúng tôi, giả sử số mẫu nghiên cứu của chúng tôi tăng lên bằng 101 mẫu, theo tỷ lệ 91,5% sẽ có 92/101 mẫu có tạo màng sinh học, chỉ khác biệt 2 mẫu có tạo màng sinh học so với tác giả. Vì vậy chúng tôi nghĩ rằng mẫu *H. pylori* nguồn gốc phòng thí nghiệm và phân lập lâm sàng thì khả năng tạo màng sinh học chưa có sự khác biệt nhiều.

Nghiên cứu này xác định tính đề kháng của *H. pylori* có và không có tạo màng sinh học với các kháng sinh amoxicillin, clarithromycin và levofloxacin bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch, đọc kết quả theo tiêu chuẩn EUCAST (2020), kết quả ghi nhận tỷ lệ đề kháng với amoxicillin của nhóm có tạo màng sinh học cao hơn nhóm không tạo màng sinh học, với clarithromycin thì tỷ lệ đề kháng của nhóm có tạo màng sinh học thấp hơn nhóm không tạo màng sinh học, nhưng xét chung thì tỷ lệ đề kháng với amoxicillin và clarithromycin giữa hai nhóm này vẫn cao, còn với levofloxacin thì chỉ có một mẫu đề kháng và thuộc nhóm có tạo màng sinh học. So với tác giả Fauzia K.A. và cộng sự (2020) [8] đã xác định MIC bằng Etest của 101 chủng lâm sàng *H. pylori* phân lập trên bệnh nhân ở Indonesia với các loại kháng sinh amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin, đọc kết quả theo tiêu chuẩn EUCAST, kết quả tỷ lệ đề kháng với amoxicillin, clarithromycin và levofloxacin lần lượt là 3,9%, 7,9% và 35,6% có sự khác biệt nhiều so với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Kết quả tỷ lệ kháng amoxicillin và clarithromycin thấp hơn nhiều, với levofloxacin thì tỷ lệ cao hơn so với tỷ lệ của nhóm chúng tôi nghiên cứu. So với tác giả khác Trần Nguyễn Anh Huy (2021) [9] nghiên cứu tỷ lệ đề kháng với kháng sinh amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin trên 116 chủng *H. pylori* phân lập từ bệnh nhân được chẩn đoán viêm loét dạ dày-tá tràng tại Tiền Giang bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch (Etest), đọc kết quả theo tiêu chuẩn EUCAST (2019), tỷ lệ đề kháng với amoxicillin, clarithromycin và levofloxacin lần lượt là 53,4%, 94,8% và 61,2% có sự khác biệt nhiều so với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Kết quả tỷ lệ kháng amoxicillin thấp hơn, với clarithromycin thì cao hơn nhưng không nhiều, với levofloxacin thì tỷ lệ cao hơn nhiều so với tỷ lệ của nhóm chúng tôi nghiên cứu. Chúng tôi nghĩ rằng kết quả nghiên cứu có sự khác biệt giữa các tác giả có thể do mẫu vi khuẩn nghiên cứu phân lập trên các đối tượng khác nhau, nghiên cứu của chúng tôi lấy vi khuẩn từ phòng thí nghiệm không xác định thuộc nhóm bệnh nhân chưa điều trị hay đã điều trị thất bại, và điều quan trọng tạo nên sự khác biệt là đặc điểm sử dụng kháng sinh ở các quốc gia và khu vực khác nhau dẫn đến tỷ lệ vi khuẩn đề kháng kháng sinh giữa các quốc gia và khu vực cũng khác nhau [1].

Chúng tôi thực hiện phép kiểm Fisher's Exact để tìm mối liên quan giữa khả năng tạo màng sinh học với tính đề kháng kháng sinh (xác định MIC) của *H. pylori*, kết quả cho thấy chưa tìm thấy mối liên quan giữa khả năng tạo màng sinh học với tính đề kháng ( $p > 0,05$ ). Tác giả Fauzia K.A. và cộng sự (2020) [8] thực hiện phép kiểm Mann-Whitney để so sánh mức độ hình thành màng sinh học giữa các chủng nhạy cảm và đề kháng (xác định MIC), kết quả cũng không có sự khác biệt giữa hai nhóm ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, tác giả Fauzia K.A. và cộng sự cho rằng phép đo MIC chỉ xác định chính xác tính nhạy cảm hay đề kháng của vi khuẩn trong giai đoạn chưa tạo màng sinh học (vi khuẩn phù du). Do đó, phép

đo MIC có thể không phát hiện được tình trạng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn đã tạo màng sinh học và điều này có thể ảnh hưởng đến kết quả điều trị. Tác giả đã sử dụng một chỉ số khác để đánh giá tính đề kháng của vi khuẩn trong màng sinh học là xác định nồng độ diệt trừ màng sinh học tối thiểu (MBEC), giúp làm sáng tỏ vai trò của màng sinh học đối với sự sống sót của vi khuẩn sau khi điều trị bằng kháng sinh. Do đó, tác giả đã thực hiện phân tích MBEC trên 21 chủng phân lập bằng cách lấy mẫu phân tầng các chủng hình thành màng sinh học mạnh, yếu và âm tính. Kết quả giá trị MBEC đo được thường cao hơn giá trị MIC. Thực hiện phép kiểm Mann-Whitney có sự khác biệt đáng kể giữa MIC và MBEC đối với tất cả các kháng sinh ( $p < 0,001$ ), ngoại trừ levofloxacin.

Tuy nhiên nghiên cứu của chúng tôi có một số hạn chế. Một là số mẫu nghiên cứu nhỏ nên sẽ ảnh hưởng đến phân tích thống kê. Thứ 2 khi tìm mối liên quan giữa khả năng tạo màng sinh học và đề kháng kháng sinh chúng tôi chỉ dựa vào MIC, chưa xác định nồng độ diệt trừ màng sinh học tối thiểu (MBEC) như tác giả Fauzia K.A. và cộng sự đã làm. Vì vậy chưa so sánh được MIC và MBEC có khác biệt hay không.

Từ kết quả nghiên cứu này có thể gợi ý cho những nghiên cứu tiếp theo về khả năng tạo màng sinh học và tính đề kháng kháng sinh trên *H. pylori* cũng như định hướng tìm kiếm các chất chống lại màng sinh học để làm giảm tính đề kháng kháng sinh của *H. pylori*.

## V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 47 mẫu *H. pylori* từ phòng thí nghiệm, chúng tôi rút ra được kết luận như sau: tỷ lệ *H. pylori* có tạo màng sinh học là 91,5%, trong đó mức độ tạo màng sinh học yếu chiếm 7,0%, trung bình chiếm 20,9%, mạnh chiếm 72,1%, tỷ lệ *H. pylori* không tạo màng sinh học là 8,5%. Tỷ lệ *H. pylori* đề kháng amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin lần lượt là 95,7%, 95,7%, 2,1%. Tỷ lệ *H. pylori* có tạo màng sinh học đề kháng với amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin lần lượt là 97,7%, 95,3%, 2,3%, tỷ lệ *H. pylori* không tạo màng sinh học đề kháng với amoxicillin, clarithromycin, levofloxacin lần lượt là 75%, 100%, 0%. Tuy nhiên không có sự khác biệt đề kháng kháng sinh giữa nhóm có và không có tạo màng sinh ( $p > 0,05$ ).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vilaichone R. K., Quach Trong Duc, Yamaoka Y., Sugano K., and Mahachai V. Prevalence and Pattern of Antibiotic Resistant Strains of Helicobacter Pylori Infection in ASEAN. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2018. 19(5), 1411-1413, doi: 10.22034/APJCP.2018.19.5.1411.
2. Savoldi A., Carrara E., Graham D. Y., Conti M., and Tacconelli E. Prevalence of Antibiotic Resistance in Helicobacter pylori: A Systematic Review and Meta analysis in World Health Organization Regions. *Gastroenterology*. 2018. 155(5), 1372-1382, doi: 10.1053/j.gastro.2018.07.007.
3. Zamani M., Ebrahimtabar F., Zamani V., Miller W. H., Alizadeh-Navaei R., et al. Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of Helicobacter pylori infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2018. 47(7), 868-876, doi: 10.1111/apt.14561.
4. Vu Van Khien, Duong Minh Thang, Tran Minh Hai, Nguyen Quang Duat, Pham Hong Khanh, et al. Management of Antibiotic-Resistant *Helicobacter pylori* Infection: Perspectives from Vietnam. *Gut and Liver*. 2019. 13(5), 483-497, doi: 10.5009/gnl18137.
5. Gebreyohannes G., Nyerere A., Bii C., and Sbhatu D. B. Challenges of intervention, treatment, and antibiotic resistance of biofilm-forming microorganisms. *Heliyon*. 2019. 5(8), 1-7, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02192.
6. Hou C., Yin F., Wang S., Zhao A., Li Y., et al. Helicobacter pylori Biofilm-Related Drug Resistance and New Developments in Its Anti-Biofilm Agents. *Infection and Drug Resistance*. 2022. 15, 1561-1571, doi: 10.2147/IDR.S357473.

7. Yonezawa H., Osaki T., Hojo F., and Kamiya S. Effect of *Helicobacter pylori* biofilm formation on susceptibility to amoxicillin, metronidazole and clarithromycin. *Microbial Pathogenesis*. 2019. 132 (2019), 100-108, doi: 10.1016/j.micpath.2019.04.030.
  8. Fauzia K. A., Miftahussurur M., Syam A. F., Waskito L. A., Doohan D., et al. Biofilm Formation and Antibiotic Resistance Phenotype of *Helicobacter pylori* Clinical Isolates. *Toxins*. 2020. 12(473), 1-14, doi: 10.3390/toxins12080473.
  9. Trần Nguyễn Anh Huy. Nghiên cứu tình trạng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân viêm, loét dạ dày-tá tràng đến khám và điều trị tại bệnh viện đa khoa trung tâm Tiền Giang. Luận văn cao học, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ. 2021. 64.
-