

**Tình hình đề kháng các kháng sinh hiện nay tại Việt Nam
và vai trò của xét nghiệm vi sinh lâm sàng chuẩn mực**

Tác giả: TS. Phạm Hùng Vân

Khoa Y – Đại học Tân Tạo

Tóm tắt

Hiện nay các bác sĩ điều trị có thể gặp phải thất bại điều trị các nhiễm khuẩn cộng đồng khi sử dụng các kháng sinh đầu tay được khuyến cáo trong các tài liệu kinh điển. Lý do của các thất bại điều trị này là vì các vi khuẩn gây nhiễm khuẩn cộng đồng hiện nay đã đề kháng với các kháng sinh đầu tay thông dụng. Minh họa cụ thể nhất là tình trạng đề kháng các kháng sinh như ampicillin, erythromycin, co-trimoxazol, và tetracycline của các tác nhân vi khuẩn chủ yếu nhất gây nhiễm khuẩn hô hấp cộng đồng. Đối với các nhiễm khuẩn phải nhập viện và nhiễm khuẩn bệnh viện thì các nhà điều trị cũng phải đối phó với tỷ lệ cao *S. aureus* kháng methicillin, trực khuẩn đường ruột tiết ESBL, *P. aeruginosa* đa kháng và *A. baumannii* kháng diện rộng. Chính vì các kiểu hình đề kháng này mà bác sĩ rất khó lựa chọn được một phát đồ kháng sinh điều trị hiệu quả cho các nhiễm khuẩn đang nằm viện hay mắc phải do nằm viện. Để giúp các bác sĩ điều trị có thể chọn lựa kháng sinh đầu tay hiệu quả hay điều chỉnh được kháng sinh đầu tay, các phòng thí nghiệm lâm sàng tại các bệnh viện phải có khả năng phát hiện được một cách chính xác các đề kháng cần được quan tâm trên tác nhân vi khuẩn gây bệnh phân lập được từ bệnh nhân. Mục tiêu này đòi hỏi không chỉ phòng thí nghiệm phải tuân thủ các quy trình xét nghiệm kháng sinh đồ chuẩn (SOP) mà còn thường xuyên thực hiện nội kiểm để có thể phát hiện được các sai sót trong quá trình xét nghiệm kháng sinh đồ. Ngoài ra, trước khi phúc trình kết quả đến lâm sàng, phòng xét nghiệm phải biết nhận dạng được các kết quả kháng sinh đồ bất thường để kiểm tra phát hiện được các sai sót hệ thống hay các bất thường thật sự mang ý nghĩa. Tham gia ngoại kiểm cũng rất cần thiết để phát hiện được các sai sót hệ thống.

The antibiotic resistance situation in Việt Nam and the role of the critical laboratory of clinical microbiology

Abstract

The clinicians today can face the treatment failure to the community acquired infection with the first line of antibiotics recommended from the classical guideline. The reason for this antibiotic treatment failure is due to the resistance to the first line antibiotic of the most common pathogens. One of the typical illustration is the resistance to ampicillin, erythromycin, cotrimoxazol and tetracycline of the most common respiratory bacterial pathogens causing community acquired respiratory infection. To the in-patients with infection and hospital infection, the clinicians have to face the high ratio of *S. aureus* resistance to methicillin, enterobacteriaceae with ESBL production, MDR *P. aeruginosa* and XDR *A. baumannii*. Because of these phenotypic resistances, the clinicians hardly select the best empirical treatment to the in-patient with bacterial infection. In order to help the clinicians to select the appropriate first line antibiotic treatment as well as to adjust the empirical antibiotic treatment, the clinical microbiology laboratories must have the potency to recognize correctly the considered resistances on the bacterial pathogens isolated from the patient. This target requires the laboratory not only follow-up tightly the SOP for the antibiotic susceptibility testing, but also regularly carry-out the internal quality control to detect the error in the lab processing. In addition, before reporting the result to the clinicians, the laboratory must recognize the uncommon results to recheck for the systemic error or for the abnormal resistance detection. Participate the external quality control is also required for the quality assurance of the clinical microbiology laboratory.

Đề kháng các kháng sinh của các tác nhân vi khuẩn cộng đồng

Hiện nay các bác sĩ điều trị có thể gặp phải thất bại điều trị các nhiễm khuẩn cộng đồng khi sử dụng các kháng sinh đầu tay được khuyến cáo trong các tài liệu kinh điển. Lý do của các thất bại điều trị

này là vì các vi khuẩn gây nhiễm khuẩn cộng đồng hiện nay đã đề kháng với các kháng sinh đầu tay thông dụng. Xin minh họa cụ thể nhất là tình hình đề kháng các kháng sinh của các tác nhân vi khuẩn gây nhiễm khuẩn hô hấp cộng đồng, một nhiễm khuẩn rất thường gặp không chỉ tại các quốc gia đang phát triển mà cả các quốc gia phát triển.

Tác nhân vi khuẩn thường gặp gây các bệnh lý nhiễm khuẩn hô hấp dưới cộng đồng là *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* và *Moraxella catarrhalis*^[1-4]. Ngoài các tác nhân vi khuẩn trên thì *Streptococci* tiêu huyết β và các tác nhân vi khuẩn không điển hình như *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *C. psittaci*, *Legionella pneumophila*, *Bordetella pertussis* và *Bordetella parapertussis* dù là các tác nhân ít gặp hơn nhưng cũng là những tác nhân cần phải được quan tâm.

Về tình hình đề kháng các kháng sinh của *S. pneumoniae* thì trong vài thập niên trở lại đây, nhiều nghiên cứu đặc biệt là ở Châu Á đã báo động tình hình vi khuẩn *S. pneumoniae* đa kháng các kháng sinh thường được sử dụng trong điều trị nhiễm khuẩn hô hấp cộng đồng bao gồm penicillin, macrolides, cotrimoxazol, tetracycline, và báo động nguy cơ đề kháng fluoroquinolon^[5-9]. Tổng kết nghiên cứu SOAR mà chúng tôi thực hiện trong năm 2010-2011^[10] cho thấy tỷ lệ vi khuẩn *S. pneumoniae* đề kháng penicillin theo tiêu chuẩn biện luận mới là 1%, nhưng MIC₉₀ của penicillin đối với vi khuẩn là 3 μ g/ml cao hơn so với ghi nhận trước đây là 2 μ g/ml trong nghiên cứu đa trung tâm vào năm 2007. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu SOAR cũng ghi nhận tỷ lệ đề kháng cao đối với các kháng sinh macrolide (96-97%), clindamycin (85%), cefuroxime (71%), cefaclor (88%), cotrimoxazol (91%), tetracycline (79%) và chloramphenicol (68%). Tỷ lệ vi khuẩn kháng amox/clav là rất thấp, chỉ 0.3%; tuy nhiên MIC₉₀ của Amox/Clav là 3 μ g/ml cao hơn so với kết quả nghiên cứu năm 2007 (2 μ g/ml). Nghiên cứu cũng ghi nhận đã có 5% vi khuẩn kháng được ofloxacin, so với nghiên cứu năm 2007 chưa có vi khuẩn kháng fluoroquinolones được ghi nhận.

Đối với tác nhân *H. influenzae* thì trước đây ampicillin vẫn được coi là kháng sinh đặc trị hữu hiệu nhất. Tuy nhiên chỉ một thời gian ngắn sau đó, vào năm 1974 đã có các báo cáo về các trường hợp vi khuẩn *H. influenzae* kháng ampicillin^[11-14]. Nghiên cứu SOAR đã được chúng tôi thực hiện đa trung

tâm năm 2010-2011 trên 200 chủng *H. influenzae* phân lập từ nhiễm khuẩn hô hấp cấp trong đó có 146 từ nhiễm khuẩn hô hấp dưới^[10], kết quả cho thấy có đến 49% vi khuẩn là kháng được ampicillin và cơ chế chủ yếu vẫn là tiết enzyme β -lactamase với tỷ lệ phát hiện được là 41%. Vi khuẩn cũng kháng cao với cotrimoxazol (83%), Tetracycline (93%). Dù enzyme β -lactamase của vi khuẩn *H. influenzae* là loại cổ điển không thể kháng được các cephalosporin thế hệ hai, nhưng chúng tôi vẫn ghi nhận 25% kháng cefuroxime và 27% kháng cefaclor. Có 31% *H. influenzae* là không nhạy cảm với azithromycin vì có MIC cao hơn tiêu chuẩn nhạy cảm và CLSI vẫn chưa đưa ra tiêu chuẩn MIC đề kháng. Tuy nhiên vi khuẩn vẫn còn nhạy cảm cao với amox/clav với tỷ lệ nhạy cảm lên đến 99.5%, và chúng tôi cũng ghi nhận MIC₉₀ của amox/clav là 3 μ g/ml. Cũng giống như *H. influenzae*, trước đây ampicillin vẫn được coi là kháng sinh đặc trị hữu hiệu cho các nhiễm khuẩn *Moraxella catarrhalis*. Tuy nhiên hiện nay kháng sinh điều trị kinh nghiệm này đã được ghi nhận là bị *M. catarrhalis* đề kháng với tỷ lệ cao, lên đến 100% như ở Thái Lan^[15], hay 79% như ở Malaysia^[16]. Tại Việt Nam cho đến hiện nay vẫn chưa có một công bố khoa học nào về tỷ lệ tiết β -lactamase trên *M. catarrhalis*, tuy nhiên tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương trong năm 2009 chúng tôi đã ghi nhận tỷ lệ 41% *M. catarrhalis* tiết được enzyme β -lactamase. Dù có tỷ lệ cao tiết được enzyme β -lactamase, nhưng cũng giống như *H. influenzae*, β -lactamase của *M. catarrhalis* vẫn còn là loại cổ điển, nghĩa là vi khuẩn vẫn còn nhạy cảm được với các β -lactamase inhibitor và các cephalosporin thế hệ 2.

Đối với tác nhân *Streptococcus pyogenes* thì cho đến hiện nay, chưa có ghi nhận vi khuẩn *S. pyogenes* (hay còn được gọi là vi khuẩn liên cầu tiêu huyết beta nhóm A) kháng được penicillin. Tuy vậy vẫn có khá nhiều trường hợp thất bại điều trị với penicillin trên lâm sàng là do vi khuẩn được các vi khuẩn *Staphylococci* cùng quần cư trên vùng hầu họng tiết được enzyme beta-lactamase bảo vệ. Ngoài ra, *S. pyogenes* cũng đã được ghi nhận có đề kháng với các macrolides^[17,18], chính vì vậy nên nhà lâm sàng một khi muốn sử dụng macrolides để điều trị các viêm amygdale cấp thì rất cần thiết phải điều chỉnh sau khi có kết quả kháng sinh đồ. Các tác nhân *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci*, và *L. pneumophila* được xếp vào nhóm các tác nhân vi khuẩn không điển hình do đặc điểm chung là có cấu trúc vách không hoàn chỉnh, khó nuôi cấy phân lập được

trong các phòng thí nghiệm lâm sàng của bệnh viện vì đòi hỏi điều kiện nuôi cấy cũng như môi trường nuôi cấy đặc biệt chỉ có tại các phòng thí nghiệm chuyên sâu nghiên cứu về các vi khuẩn này. Do vậy tại các phòng thí nghiệm lâm sàng, phương tiện để phát hiện các tác nhân này thường là phải dựa vào các thử nghiệm miễn dịch phát hiện trực tiếp tác nhân gây bệnh trong mẫu thử như nhuộm kháng thể huỳnh quang; hay thử nghiệm miễn dịch phát hiện kháng thể đặc hiệu tác nhân gây bệnh trong huyết thanh bệnh nhân. Đối với các tác nhân *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* và *L. pneumophila*, tuy thử nghiệm miễn dịch phát hiện kháng thể đặc hiệu bằng kỹ thuật ELISA là dễ dàng áp dụng nhất nhưng vẫn đề khó khăn nhất mà phòng thí nghiệm cũng như các nhà lâm sàng gặp phải chính là vấn đề biện luận được kết quả để có thể có được chẩn đoán xác định tác nhân gây bệnh. Nếu dựa vào động học xuất hiện kháng thể trên huyết thanh kép (lấy 2 lần cách nhau 2 tuần) thì kết quả ELISA sẽ không hữu dụng vì ít có bệnh nhân nào có thể lấy được máu 2 lần. Nếu dựa vào hiệu giá IgM đặc hiệu thì sẽ dễ cho kết quả không chính xác nếu chúng ta sử dụng bộ kit ELISA không chuẩn, không chất lượng. Ngày nay, giải pháp PCR để phát hiện các tác nhân vi khuẩn không điển hình trong các mẫu đàm cũng đã được nhiều nhà nghiên cứu phổ biến và hy vọng đây là một giải pháp hữu dụng nhất vì độ nhạy cao cũng như kết quả kịp thời đến tay lâm sàng. Về vấn đề đề kháng các kháng sinh, do cấu trúc vách không hoàn chỉnh nên các kháng sinh thuộc họ β -lactam có cơ chế tác động ức chế sự tổng hợp vách tế bào vi khuẩn sẽ không có tác dụng lên các tác nhân vi khuẩn không điển hình. Đây chính là sự đề kháng tự nhiên của các tác nhân vi khuẩn này. Tuy nhiên các kháng sinh macrolides và fluoroquinolones là các kháng sinh rất hiệu quả để điều trị các tác nhân vi khuẩn không điển hình và hiện nay cũng chưa có ghi nhận rõ ràng về sự đề kháng. Chính vì vậy đây là các nhóm kháng sinh đầu tay để các nhà lâm sàng sử dụng trong các trường hợp nhiễm khuẩn hô hấp dưới đã xác định hay chưa thể loại trừ tác nhân vi khuẩn không điển hình mà không cần thiết phải có xét nghiệm nhạy cảm kháng sinh.

Đề kháng các kháng sinh của các tác nhân vi khuẩn bệnh viện

Tác nhân vi khuẩn thường gặp trong các nhiễm khuẩn bệnh viện và cả trên các bệnh nhân nhiễm khuẩn nằm tại bệnh viện là các vi khuẩn thuộc nhóm ESKAPE có tình trạng và khuynh hướng đa kháng (MDR = Multi Drug Resistance) tức là kháng với ít nhất 2 kháng sinh, kháng diện

rộng (XDR = Extended Drug Resistance) tức là chỉ còn nhạy với 1 kháng sinh và kháng toàn bộ (PDR = Pan Drug Resistance) tức là không còn kháng sinh nào nhạy cảm, đó là: *Enterococcus faecium* kháng vancomycin, *S. aureus* kháng methicillin, *K. pneumoniae* và *Enterobacter spp* tiết ESBL/KPC/AmpC, *Acinetobacter baumannii* và *Pseudomonas aeruginosa* đa kháng. Tại Việt Nam, các nghiên cứu gần đây đã cho thấy có các tình trạng đề kháng các kháng sinh trên các vi khuẩn này mà chúng ta phải quan tâm đối phó, đó là:

1. Đối phó với các vi khuẩn *Enterobacteriaceae* tiết ESBL: Hiện nay các nhà y học trên thế giới phải đối phó các vi khuẩn *Enterobacteriaceae* như *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* và *Proteus* tiết enzyme β -lactamase phổ rộng (ESBL) là một thể hệ enzyme β -lactamase mạnh nhất đề kháng được tất cả các thể hệ cephalosporin kể cả thể hệ 3 và 4^[19-21]. Tại Việt Nam, đã có nhiều công trình nghiên cứu cho thấy tỷ lệ khá cao các vi khuẩn *E. coli*, *K. pneumoniae* và *Enterobacter* trang bị được ESBL^[22-25]. Nghiên cứu SMART tại Việt Nam thực hiện trên các vi khuẩn *E. coli* và *K. pneumoniae* phân lập từ nhiễm khuẩn ổ bụng và nhiễm khuẩn đường tiết niệu năm 2011^[26] cho thấy tỷ lệ tiết ESBL theo thứ tự là 54% và 37%. Công trình nghiên cứu tổng kết tình hình đề kháng các kháng sinh ghi nhận từ 15 bệnh viện tại Việt Nam^[27] (GARP-VN) cho thấy tỷ lệ vi khuẩn *E. coli* và *K. pneumoniae* tiết ESBL là rất đáng báo động tại nhiều bệnh viện như Chợ Rẫy (49% và 58%), Việt Đức (57% và 49%), Nhiệt Đới Quốc Gia (55% và 73%), Bình Định (36% và 54%). Một nghiên cứu đa trung tâm tìm hiểu tình hình đề kháng các kháng sinh trên các trực khuẩn Gram [-] gây nhiễm khuẩn bệnh viện được công bố năm 2009^[28] đã cho thấy một tỷ lệ rất đáng báo động vi khuẩn *E. coli* (64%), *K. pneumoniae* (66%) và *Enterobacter* (46%). Nghiên cứu đa trung tâm này cũng thống nhất với các nghiên cứu của SMART^[19-21,26] cho thấy các vi khuẩn *E. coli*, *K. pneumoniae* và *Enterobacter* một khi đã tiết được ESBL thì sẽ không chỉ đề kháng được với các kháng sinh thông thường hay các kháng sinh cephalosporin tất cả các thể hệ mà còn có tỷ lệ cao kháng được các aminoglycosides và các fluoroquinolones nữa. Kháng sinh hữu hiệu dành cho điều trị vi khuẩn ESBL là carbapenem, tuy nhiên cứu cánh này hiện nay đang bị đe dọa do vi khuẩn *E. coli* và *K. pneumoniae* có khả năng tiết được các enzyme carbapenemase phá

huỷ carbapenem và nguồn gốc là trên plasmid hay trên các transposon (gene nhảy được), đó là *blaKPC* và NDM1 hiện đang rất phổ biến tại Nam Á (Ấn Độ và Pakistan), châu Âu, và châu Mỹ. Nguy cơ này cũng đã xuất hiện tại Việt Nam qua phát hiện của chúng tôi trên 8/10 chủng *K. pneumoniae* kháng imipenem phân lập được từ một bệnh viện ở miền Bắc Việt Nam, hay gần đây nhất tại bv. Nguyễn Tri Phương.

2. Đối phó với *P. aeruginosa* và *A. baumannii* kháng diện rộng (XDR): Ngoài vấn đề phải đối phó với các trực khuẩn đường ruột sinh ESBL để trở nên bất trị với các cephalosporin thế hệ 3 và 4, các nhà y học trên thế giới hiện nay còn phải đối phó với một tình trạng đề kháng diện rộng (XDR) kể cả imipenem, trên các trực khuẩn Gram [-] không lên men như *P. aeruginosa* và *Acinetobacter* vì các trực khuẩn này có khả năng trang bị rất nhiều cơ chế đề kháng, và kiểu hình đề kháng đa kháng sinh có thể được chọn lọc và tích hợp với nhau rất dễ dàng trong quá trình điều trị kháng sinh, kể cả dùng các carbapenems mạnh như imipenem và meropenem^[29-33]. Tình hình đề kháng diện rộng các kháng sinh của *P. aeruginosa* và *A. baumannii* cũng được ghi nhận trong một số nghiên cứu tại Việt Nam^[34,35]. Tổng kết của GARP-VN^[27] cho thấy tỷ lệ *P. aeruginosa* và *A. baumannii* phân lập được từ 15 bệnh viện tại Việt Nam đề kháng được imipenem là trong khoảng 20-30%. Một nghiên cứu đa trung tâm thực hiện vào năm 2009-2010 trên 493 chủng *P. aeruginosa* và 184 chủng *A. baumannii* phân lập từ 16 bệnh viện tại Việt Nam^[28] cho thấy tỷ lệ kháng imipenem là 21% và 51%.

3. Đối phó với *S. aureus* kháng methicillin và có MIC của vancomycin vượt quá 1.5µg/ml gây thất bại điều trị vancomycin: Đứng trước tình hình *S. aureus* kháng với penicillin do gần 100% có khả năng tiết được enzyme penicillinase phá huỷ được penicillin, các nhà lâm sàng phải chỉ định penicillin M để điều trị các nhiễm khuẩn do *S. aureus*. Tuy nhiên hiện nay các bác sĩ điều trị phải đối phó với thách thức là tác nhân *S. aureus* kháng được penicillin M (MRSA) với tỷ lệ ngày càng gia tăng. Tại Việt Nam, một nghiên cứu đa trung tâm thực hiện năm 2005^[36] trên 235 chủng *S. aureus* phân lập được từ các trường hợp lâm sàng nhiễm khuẩn do *S. aureus* cho thấy tỷ lệ MRSA là 47%. Tổng kết tại Bệnh Viện Chợ Rẫy và Bạch mai^[37] cũng cho thấy tỷ lệ MRSA là 57%

và 43%. Tổng kết của GARP-VN^[27] cho thấy tỷ lệ MRSA ghi nhận từ 15 bệnh viện tại VN vào năm 2008 là từ 30% đến 64%. Bệnh viện Thống Nhất TP. HCM từ năm 2005 đến 2007 đã ghi nhận có đến 79% *S. saprophyticus* và 40% *S. aureus* phân lập từ nhiễm khuẩn đường tiết niệu kháng methicillin. Chỉ định kháng sinh dành cho MRSA là vancomycin, tuy nhiên hiện nay chỉ định này đang phải đổi diện với một thách thức mới, không phải là do xuất hiện đề kháng vancomycin mà là do MIC của vancomycin đối với *S. aureus* bị tăng vượt quá 1.5 μ g/ml gây thất bại điều trị vancomycin trên lâm sàng. Thách thức này hiện nay đã được ghi nhận tại bệnh viện Bạch Mai và bệnh viện Chợ Rẫy với ghi nhận 46% các chủng MRSA là có MIC của vancomycin $\geq 2\mu$ g/ml và 93% có MIC $\geq 1.5\mu$ g/ml^[37].

4. Đối phó với enterococci kháng vancomycin (VRE): Enterococci kháng vancomycin được ghi nhận lần đầu tiên tại Âu Châu vào năm 1988 và sau đó lan tràn khắp nơi trên thế giới. Không chỉ tại các nhiễm khuẩn bệnh viện, VRE còn là thách thức trong các nhiễm trùng tại các trung tâm chăm sóc y tế như ghi nhận của CDC là có đến 4% gây ra do VRE^[38]. Nguồn gốc lây nhiễm VRE là tình trạng người lành mang VRE (từ tiếp xúc với người bệnh, và trong cộng đồng là từ các trại chăn nuôi gia súc/gia cầm). Việt Nam chưa có các báo cáo quốc gia về tình trạng VRE, nhưng chúng ta phải cảnh giác về nguy cơ này vì nhiễm trùng gây ra do VRE thường đi đôi với gia tăng chi phí điều trị cũng như tử vong cao. Nguồn gốc gene của VRE là do vi khuẩn có các gene *VanA-B-C-D-E* và *F* trong đó gene *VanA-B* và *C* là có tầm quan trọng nhất về lâm sàng. Gene kháng vancomycin của enterococci là trên plasmid và transposon do vậy lây lan cao^[39]. Vi khuẩn mang *VanA* thì kháng cả vancomycin lẫn teicoplanin, trong khi mang *VanB* hay *VanC* thì không kháng teicoplanin, nhưng may mắn là *VanA* ít gặp nhất do vậy kháng sinh dùng cho điều trị VRE là teicoplanin hay linezolid. Cơ chế đề kháng là vi khuẩn thay đổi nối D Alanine-D Alanine thành D Alanine-D lactate không cho vancomycin bám vào để ngăn cản sự thành lập lưới peptidoglycan.

Vai trò của xét nghiệm kháng sinh đồ chuẩn mực

Xét nghiệm kháng sinh đồ có rất nhiều ý nghĩa, từ khía cạnh điều trị trên bệnh nhân cho đến các khía cạnh lớn hơn. **Đối với bác sĩ:** kháng sinh đồ là xét nghiệm phát hiện sự đề kháng kháng

sinh của vi khuẩn thử nghiệm nhờ đó mà giúp bác sĩ sử dụng các kháng sinh bị vi khuẩn đề kháng.

Đối với bệnh viện: Các tổng kết kháng sinh đồ từng quý hay từng năm tại bệnh viện sẽ giúp các nhà chuyên môn xây dựng phát đồ điều trị kháng sinh bước đầu theo kinh nghiệm. **Đối với các nhà quản lý:** các tổng kết kháng sinh đồ theo thời gian sẽ giúp theo dõi được tình hình và khuynh hướng đề kháng các kháng sinh để có chiến lược phòng chống qua quản lý sử dụng kháng sinh hợp lý. **Đối với các công ty dược:** các kết quả kháng sinh đồ sẽ giúp các nhà dược học tìm kháng sinh mới hay đưa ra được công thức/cách sử dụng mới của các kháng sinh hiện có để giúp cho dược lực của kháng sinh vượt qua được đề kháng. Chính do mang nhiều ý nghĩa như vậy nên xét nghiệm kháng sinh đồ đòi hỏi phải được thực hiện với các qui trình chuẩn mực và sử dụng các nguyên vật liệu đạt chất lượng để kết quả từng kháng sinh đồ được đảm bảo chính xác, nhờ vậy các tổng kết kháng sinh đồ mới có sự tin cậy để mang đến các ý nghĩa lớn hơn.

Có hai phương pháp làm xét nghiệm kháng sinh đồ thường được thực hiện tại các phòng thí nghiệm vi sinh lâm sàng, đó là phương pháp kháng sinh đồ bằng kỹ thuật khuếch tán kháng sinh trong thạch và phương pháp tìm MIC. Nguyên tắc là kháng sinh được tẩm lên đĩa giấy với một hàm lượng theo quy định được đặt trên bề mặt môi trường thạch dinh dưỡng đã được trải vi khuẩn. Trong quá trình ủ, kháng sinh từ đĩa giấy khuếch tán ra môi trường thạch và ức chế sự phát triển của vi khuẩn, nhờ vậy tạo thành một vòng không có vi khuẩn mọc (gọi là vòng vô khuẩn) xung quanh đĩa kháng sinh. Đo đường kính vòng vô khuẩn này và so với tiêu chuẩn đánh giá vòng vô khuẩn để biện luận là vi khuẩn kháng, nhạy hay trung gian đối với kháng sinh được thử nghiệm. **Phương pháp tìm MIC:** Là kháng sinh đồ xác định được nồng độ tối thiểu của kháng sinh, tính bằng $\mu\text{g/ml}$, có thể ức chế được vi khuẩn thử nghiệm. Có nhiều phương pháp hiện nay có thể sử dụng tại phòng thí nghiệm lâm sàng để làm kháng sinh đồ tìm MIC, đó là các phương pháp pha loãng kháng sinh trong môi trường lỏng tube hay trong các giếng pha loãng, pha loãng kháng sinh trong thạch, phương pháp E-test, và phương pháp tự động. Kết quả kháng sinh đồ là MIC ($\mu\text{g/ml}$) và so với bảng tiêu chuẩn chính là điểm gãy pK/pD của kháng sinh để cho được kết quả kháng hay nhạy với kháng sinh. Kỹ thuật kháng sinh đồ tìm MIC có giá thành đắt hơn kháng sinh đồ phương pháp khuếch tán,

do vậy trong điều kiện hiện nay thì chỉ nên áp dụng kỹ thuật kháng sinh tít MIC trong một số trường hợp: (1) Một số vi khuẩn mà tiêu chuẩn biện luận kháng hay nhạy đối với một số kháng sinh phải dựa trên MIC của các kháng sinh đó vì không có tiêu chuẩn biện luận dựa trên đường kính vòng vô khuẩn, ví dụ kháng sinh đồ của *S. pneumoniae* đối với kháng sinh penicillin, amoxicillin/clavulanic, và rất nhiều kháng sinh beta-lactam khác; hay *Acinetobacter* đối với colistin, hay nhiều trực khuẩn không lên men chỉ có tiêu chuẩn biện luận kháng hay nhạy đối với kháng sinh dựa trên MIC chứ không có tiêu chuẩn dựa trên đường kính vòng vô khuẩn^[8]. (2) Một số các trường hợp nhiễm trùng nặng mà mà bác sĩ điều trị chỉ có trong tay các kháng sinh đặc trị đã bị ghi nhận đề kháng vừa hay tác nhân vi khuẩn gây bệnh là đa kháng, lúc này bác sĩ điều trị rất cần phải có MIC của các kháng sinh đặc trị này để xem xét có thể nâng liều lượng của kháng sinh khi sử dụng trên bệnh nhân đến mức nào để có hiệu quả. (3) Một số trường hợp nhiễm trùng dai dẳng, nhiễm trùng ở các vị trí thuốc khó tác động vào thì việc chỉ định kháng sinh đồ theo MIC cũng cần thiết để bác sĩ điều trị có thể duy trì thuốc ở nồng độ hữu dụng cao hơn MIC của vi khuẩn gây bệnh. (4) Trên một số trường hợp cần phải chủ động liều lượng của kháng sinh tránh độc tính cho bệnh nhân thì thông số MIC cũng cần thiết để nhà điều trị chủ động được liều lượng kháng sinh cho bệnh nhân chỉ ở mức cần thiết.

Đảm bảo chất lượng của xét nghiệm kháng sinh đồ chuẩn mực

Có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến xét nghiệm kháng sinh đồ như chất lượng nguyên liệu, kỹ năng thực hành, phương pháp thử nghiệm. Đảm bảo chất lượng thử nghiệm kháng sinh đồ là tổng thể của nhiều quá trình như nội kiểm (*Internal Quality control, IQC*), đánh giá chất lượng nội bộ (*Internal quality assessment, IQA*), đánh giá chất lượng bên ngoài (*External quality assessment, EQA*). Trong đó, quá trình nội kiểm đóng vai trò chủ yếu và cần phải được thực hiện thường quy để kiểm soát độ chính xác của thử nghiệm, chất lượng nguyên vật liệu và những sai số ngẫu nhiên. Tuy nhiên, các quá trình khác của đảm bảo chất lượng như đánh giá nội bộ và bên ngoài, thẩm định quy trình... giúp phát hiện những sai số không điển hình và sai số hệ thống trong thử nghiệm kháng sinh đồ.

1. Kiểm soát chất lượng môi trường kháng sinh đồ: Môi trường cơ bản thực hiện thử nghiệm kháng sinh đồ là Mueller Hinton Agar (MHA) và cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB). Đây cũng là môi trường thực hiện kháng sinh đồ thường quy trên các vi khuẩn dễ mọc. Trên vi khuẩn khó mọc có thể dựa trên môi trường cơ bản này và bổ sung thêm yếu tố tăng trưởng hoặc sử dụng môi trường khác tùy thuộc vào từng loại vi khuẩn.

Mỗi lô môi trường mới cần phải được kiểm tra chất lượng và so sánh với lô môi trường trước đó. Có thể thực hiện thử nghiệm song song trên lô môi trường mới và cũ, bao gồm thử nghiệm trên môi trường kháng sinh đồ cho vi khuẩn khó mọc. Bên cạnh những vi khuẩn thử nghiệm thường quy thường là dòng vi khuẩn nhạy, cũng cần thử nghiệm trên cả những dòng vi khuẩn kháng. Mỗi lô môi trường mới cần phải kiểm tra độ vô trùng, khả năng mọc của vi khuẩn trên môi trường, nhất là đối với vi khuẩn khó mọc và vòng vô khuẩn xung quanh đĩa kháng sinh trên vi khuẩn chuẩn. Nếu vòng vô khuẩn lớn hơn hoặc nhỏ hơn so với giới hạn cho phép thì có thể do môi trường quá mỏng hoặc dày. Hoặc có thể do các yếu tố khác của môi trường như pH, nồng độ cation lưỡng cực, hàm lượng thymidine.... Môi trường cần phải có pH trung tính (từ 7,2 đến 7,4). Một số kháng sinh (aminoglycoside, macrolide...) bị giảm hiệu lực trong môi trường pH thấp, trong khi đó một số kháng sinh khác (penicillin...) lại tăng hiệu lực. Sự thay đổi của các cation lưỡng trị (Mg^{2+} , Ca^{2+}) là có ảnh hưởng đến kháng sinh đồ trên một số kháng sinh như aminoglycoside, tetracycline và daptomycin. Thừa cation này sẽ làm giảm đường kính vòng vô khuẩn hoặc tăng giá trị MIC. Ngược lại, nếu thiếu cation sẽ làm gia tăng đường kính vòng vô khuẩn hoặc giảm giá trị MIC. Nồng độ thích hợp của Ca^{2+} là 20-25mg/L và của Mg^{2+} là 10-12,5mg/L. Riêng với kháng sinh đồ bằng phương pháp khuếch tán từ đĩa kháng sinh, nếu môi trường có chứa nhiều thymidine và thymine thì có thể sẽ ức chế tác động của sulfonamide và trimethoprim, làm cho vòng vô khuẩn của những kháng sinh này nhỏ lại hoặc thậm chí không có vòng vô khuẩn.

2. Kiểm soát chất lượng đĩa kháng sinh: Đĩa kháng sinh cần phải kiểm soát chất lượng dựa vào giới hạn đường kính vòng vô khuẩn trên các vi khuẩn chuẩn và phải được bảo quản đúng yêu cầu trong phòng xét nghiệm. Đĩa kháng sinh được bảo quản dưới 8°C và có thể -20°C. Việc bảo quản đĩa kháng sinh ở nhiệt độ lạnh cần phải có chất chỉ thị hút ẩm và tránh ánh sáng. Để tránh bị hút ẩm do hơi

nước ngưng tụ và làm giảm hoạt lực, đĩa kháng sinh cần phải để cân bằng với nhiệt độ phòng trước khi sử dụng. Không được sử dụng đĩa kháng sinh đã hết hạn dùng hoặc đóng gói không đạt. Đĩa kháng sinh có chứa beta-lactamase inhibitor (clavulanic acid, sulbactam, tazobactam...) và imipenem là rất nhạy cảm với độ ẩm, ánh sáng và rất dễ bị giảm hoạt lực. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng thường quy vòng vô khuẩn nhỏ hơn giới hạn dưới cho phép hoặc vòng vô khuẩn có xu hướng nhỏ dần, có thể đĩa kháng sinh đã bị giảm chất lượng. Với những loại đĩa kháng sinh phối hợp β -lactam với β -lactamase inhibitor, cần phải kiểm tra chất lượng trên vi khuẩn *E. coli* ATCC 35218 để đánh giá chất lượng của β -lactamase inhibitor.

3. Kiểm soát chất lượng thử nghiệm MIC: Thử nghiệm MIC cần được kiểm tra chất lượng thường quy trên chủng vi khuẩn chuẩn mỗi khi có lô mới hoặc một thành phần mới như môi trường, kháng sinh...

4. Kiểm soát chất lượng kỹ thuật làm thử nghiệm kháng sinh đồ: Một số yếu tố kỹ thuật có ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm kháng sinh đồ cần phải được kiểm soát thường xuyên: (1) Huyền dịch vi khuẩn: huyền dịch vi khuẩn có ảnh hưởng rất lớn đến thử nghiệm kháng sinh đồ. Nếu huyền dịch vi khuẩn quá đậm sẽ làm cho vòng vô khuẩn nhỏ lại hoặc MIC tăng. Nếu huyền dịch quá nhạt, sẽ làm cho vòng vô khuẩn có xu hướng lớn hoặc làm giảm MIC. Huyền dịch vi khuẩn phải tương đương độ đục chuẩn 0,5 Mc Fardland. Việc sử dụng quang phổ kế có thể đánh giá độ đục huyền dịch chính xác hơn, nhưng rất khó thực hiện thường quy. Trên thực tế, có thể đánh giá độ đục bằng mắt thường theo hướng dẫn đã trình bày. (2) Thao tác thực hiện: đối với kháng sinh đồ bằng đĩa kháng sinh thì cần phải làm khô mặt thạch trước khi trải vi khuẩn. Dùng tăm bông lấy vừa đủ huyền dịch và trải thật đều trên mặt thạch. Sau khi trải huyền dịch vi khuẩn, phải để mặt thạch khô trước khi đặt đĩa kháng sinh. Đối với phương pháp MIC vi pha loãng trong môi trường lỏng thì cần lưu ý thao tác pha loãng kháng sinh (nếu có) và thao tác cho huyền dịch vi khuẩn vào các giếng thử nghiệm. Lưu ý cho huyền dịch vi khuẩn từ giếng có nồng độ kháng sinh thấp đến giếng có nồng độ kháng sinh cao. (3) Cách đọc kết quả: cần phải đo đường kính vòng vô khuẩn chính xác và đúng phương pháp (qua ánh sáng phản xạ hoặc ánh sáng truyền thẳng), nhất là trong những trường hợp đường kính vòng vô khuẩn nằm ở giao điểm giữa nhạy và trung gian

hoặc giữa trung gian và kháng. Đối với phương pháp MIC bằng vi pha loãng cần đọc kết quả qua ánh sáng truyền thẳng và đánh giá mức độ mọc của vi khuẩn so với giếng đối chứng (không có chứa kháng sinh). Khi đọc kết quả kháng sinh đồ bằng phương pháp pha loãng kháng sinh trong thạch thì cần phải phân biệt khúm khuẩn với vết chấm của huyền dịch vi khuẩn. (4) Phương pháp thực hiện: tuân thủ đúng yêu cầu kỹ thuật của phương pháp thực hiện. Kháng sinh đồ bằng phương pháp khuếch tán từ đĩa kháng sinh nếu theo phương pháp Kirby-Bauer thì phải sử dụng tấm bông trải đều huyền dịch trên đĩa thạch, nhưng nếu theo phương pháp CDS thì là tráng đều huyền dịch vi khuẩn lên đĩa thạch và hút bỏ phần huyền dịch dư thừa. Cần lưu ý là độ đục huyền dịch vi khuẩn thử nghiệm của hai phương pháp này là không giống nhau. Kháng sinh đồ bằng MIC thì hàm lượng vi khuẩn tùy thuộc vào thể tích huyền dịch cho vào môi trường kháng sinh đồ. (5) Biên luận kết quả kháng sinh đồ: dựa theo tiêu chuẩn biện luận (CLSI, EUCAST...) và phải đáp ứng các chuẩn mực mà tiêu chuẩn yêu cầu như độ đục huyền dịch vi khuẩn, phương pháp thực hiện, hàm lượng đĩa kháng sinh, điểm gãy vòng vô khuẩn hoặc MIC... Chẳng hạn như thực hiện kháng sinh đồ với piperacillin bằng đĩa kháng sinh trên *Enterobacteriaceae*. Nếu theo CLSI thì phải sử dụng đĩa kháng sinh có hàm lượng 100 μ g và tiêu chuẩn biện luận là kháng (≤ 17 mm), nhạy (≥ 21 mm). Nhưng theo EUCAST sử dụng đĩa kháng sinh 30 μ g và tiêu chuẩn biện luận kháng sinh đồ là kháng (≤ 15 mm), nhạy (≥ 18 mm).

5. Chương trình kiểm soát chất lượng: Chất lượng thử nghiệm kháng sinh đồ cần phải được theo dõi liên tục bằng kiểm tra chất lượng, đặc biệt là nội kiểm định kỳ và khi có bất kỳ thay đổi về nguyên vật liệu, thiết bị, phương pháp, cũng như nhân sự...v.v.... Bảng 1 trình bày tần số kiểm tra chất lượng nên làm.

Bảng 1: Tần số kiểm tra chất lượng thử nghiệm kháng sinh đồ nên thực hiện tại phòng thí nghiệm vi sinh lâm sàng

Thông số thử nghiệm	Số ngày kiểm tra chất lượng liên tiếp
----------------------------	--

	1	5	30
<i>Đĩa kháng sinh</i>			
Khi sử dụng lô mới hoặc số lô mới	×		
Khi thay đổi nhà sản xuất	×		
Định kỳ hàng tuần	×		
<i>Môi trường thạch thực hiện kháng sinh đồ</i>			
Khi sử dụng lô mới hoặc số lô mới	×		
Khi thay đổi nhà sản xuất		×	
Định kỳ hàng tuần	×		
<i>Thử nghiệm MIC</i>			
Khi sử dụng lô mới hoặc số lô mới	×		
Tăng độ pha loãng	×		
Giảm độ pha loãng	×		
Thay đổi phương pháp (cùng nhà sản xuất)			×
Khi thay đổi nhà sản xuất			×
Khi thay đổi nhà sản xuất môi trường		×	
Định kỳ hàng tuần	×		
<i>Kỹ thuật kháng sinh đồ</i>			
Thay đổi phương pháp chuẩn bị huyền dịch (<i>thí dụ từ cách so độ đục bằng mắt sang sử dụng quang phổ kế</i>)		×	
Thay đổi phương pháp thực hiện kháng sinh đồ (<i>thí dụ từ phương pháp Kirby Bauer sang CDS</i>)			×
Thay đổi phương pháp đọc kết quả kháng sinh đồ (<i>thí dụ đọc kết quả vòng vô khuẩn từ đo bằng thước sang</i>			×

máy tự động)

Nhân sự

Đánh giá nhân viên mới

×

Đánh giá nhân viên định kỳ hàng năm

×

Một số kết quả kháng sinh đồ bất thường cần phải kiểm tra lại

Có một số kết quả kháng sinh đồ mà người làm xét nghiệm phải phải kiểm tra lại định danh và kháng sinh đồ trước khi trả lời kết quả cho lâm sàng, đó là: (1) Vi khuẩn *Enterobacteriaceae* đề kháng hoặc trung gian với carbapenem. (2) vi khuẩn *C. freundii*, *Enterobacter*, *S. marcescens* nhạy với ampicillin, cephalothin, cefazolin. (3) *P. vulgaris*, *Providencia*, *Klebsiella* nhạy với ampicillin. *S. maltophilia* nhạy với carbapenem. (4) *H. influenzae* không nhạy với aztreonam, carbapenem, 3rd cephalosporin, fluoroquinolone. (5) *N. gonorrhoeae* không nhạy với 3rd cephalosporin. (6) *E. faecalis* kháng với ampicillin, penicillin, linezolid. *E. faecium* kháng với linezolid. (7) *Staphylococcus* trung gian hoặc kháng với vancomycin, linezolid. (8) *S. pneumoniae* kháng với fluoroquinolone, không nhạy với linezolid và vancomycin. (9) *Streptococcus* tiêu huyết β không nhạy với ampicillin, penicillin, 3rd cephalosporin, linezolid, và vancomycin. (10) *Viridans streptococci* không nhạy với vancomycin, và linezolid. (11) *Acinetobacter baumannii* kháng với colistin.

Một số sai sót thường gặp trong xét nghiệm kháng sinh đồ

Xét nghiệm kháng sinh đồ tại các phòng thí nghiệm lâm sàng có thể cho kết quả sai lệch. Chúng tôi liệt kê ra đây một số sai lệch thường gặp và phân tích các nguyên do của các sai lệch này: (1) Tu cầu kháng methicillin (MRS): Sai lệch thường gặp là tỷ lệ phát hiện thấp hơn thực tế. Lý do là thử nghiệm kháng sinh đồ phát hiện MRS đòi hỏi nhiệt độ ủ không quá 35°C và phải ủ đủ 24h để có thể phát hiện được kiểu hình dị kháng. Một lý do nữa là đĩa kháng sinh oxacillin rất dễ bị hỏng và không thể sử dụng để thử nghiệm trên SCN (ngoại trừ *S. lugdunensis*). Chính vì vậy hiện nay CLSI khuyến cáo nên dùng đĩa cefoxitin vì gây cảm ứng MRS tốt hơn. (2) Tu cầu kháng vancomycin: Sai lệch thường gặp là ghi nhận tụ cầu kháng vancomycin trong khi thực tế thì rất

hiếm gặp được tụ cầu kháng methicillin. Lý do chủ yếu của sai lệch này là nhằm Acinetobacter với tụ cầu do nhuộm Gram sai. Ngoài ra còn có một lý do nữa là đĩa kháng sinh vancomycin bị hỏng. Hiện nay CLSI khuyến cáo bỏ kháng sinh đồ vancomycin trên tụ cầu bằng phương pháp khuếch tán kháng sinh trong thạch mà thay vào đó là phải làm kháng sinh đồ bằng MIC để cho được kết quả hữu dụng lâm sàng hơn. (3) Enterobacteriaceae kháng carbapenem: Hiện nay chỉ có một tỷ lệ thấp enterobacteriaceae là kháng được carbapenem (imipenem, meropenem..). Do vậy một phòng thí nghiệm nào đó ghi nhận một tỷ lệ cao enterobacteriaceae kháng được carbapenem thì có thể đây là ghi nhận sai mà nguyên do thường là vì đĩa kháng sinh imipenem, meropenem hay ertapenem bị giảm chất lượng. (4) Acinetobacter kháng colistin: Sai lệch có thể gặp là ghi nhận acinetobacter kháng colistin vì tỷ lệ này hiện nay còn rất thấp. Lý do của sai lệch là do chất lượng đĩa kháng sinh colistin bị giảm hay thậm chí đĩa colistin bị hỏng. Hiện nay CLSI khuyến cáo không làm kháng sinh đồ colistin đối với acinetobacter bằng phương pháp khuếch tán mà phải bằng phương pháp tìm MIC do vậy các kết quả kháng sinh đồ theo phương pháp khuếch tán là không còn đúng nữa. (5) Phát hiện ESBL: Sai lệch thường nhất là không phát hiện được hết mà bỏ sót các vi khuẩn sinh ESBL. Lý do chủ yếu là không làm được hay không đủ kỹ thuật chuẩn để phát hiện đủ vi khuẩn sinh ESBL. Hậu quả của sai lệch này là cung cấp cho lâm sàng kết quả sai lệch về kháng sinh đồ các kháng sinh cephalosporin thế hệ 3 hay 4. Chính vì vậy nên hiện nay CLSI đã khuyến cáo không cần phải làm kháng đồ phát hiện ESBL mà chỉ cần thay đổi điểm gãy đường kính vòng vô khuẩn hay điểm gãy MIC khi đọc kết quả kháng sinh đồ các kháng sinh cephalosporin thế hệ 3 và 4. Thử nghiệm phát hiện ESBL chỉ cần làm và phức tạp cho khoa chống nhiễm khuẩn của bệnh viện mà thôi. (6) Phát hiện AmpC cảm ứng: Sai lệch thường gặp là không phát hiện AmpC mà nguyên do chủ yếu là không thấy được tầm quan trọng của phát hiện AmpC nên không để ý phát hiện. (7) KSD non-enterobacteriaceae: Sai lệch thường gặp nhất là làm sai phương pháp kháng sinh đồ vì CLSI hiện nay khuyến cáo phải làm kháng sinh đồ đa số các kháng sinh bằng phương pháp tìm MIC chứ không phải bằng phương pháp khuếch tán.

Tài liệu tham khảo

- Austrian R. (1981). *Pneumococcus: the first one hundred years*. Rev Infect Dis 1981; 3:183–9.
- Fang G, Fine M, Orloff J, et al. (1990). *New and emerging etiologies for community-acquired pneumonia with implications for therapy*. Medicine 1990;69:307-316.
- Musher DM (1992). *Infections caused by Streptococcus pneumoniae: clinical spectrum, pathogenesis, immunity, and treatment*. Clin Infect Dis 1992; 14:801–9.
- Zeckel ML, Jacobson JD, Guerra FJ, Therasse DG, Farlow D (1992). *Loracarbef (LY163892) versus amoxicillin/clavulanate in the treatment of acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis*. Clin Ther 14, 214-229.
- Jae-Hoon Song and ANSORP members (1999). *Spread of Drug-Resistant Streptococcus pneumoniae in Asian Countries: Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP) Study*. Clinical Infectious Diseases 1999; 28:1206–11
- Jae-Hoon Song and ANSORP members (2004). *High Prevalence of Antimicrobial Resistance among Clinical Streptococcus pneumoniae Isolates in Asia (an ANSORP Study)*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2004; 48(6): 2101–2107
- Jae-Hoon Song and ANSORP members (2004). *Macrolide resistance and genotypic characterization of Streptococcus pneumoniae in Asian countries: a study of the Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP)*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2004; 53: 457–463
- Jae-Hoon Song and ANSORP members (2001). *Carriage of Antibiotic-Resistant Pneumococci among Asian Children: A Multinational Surveillance by the Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP)*. Clinical Infectious Diseases 2001; 32:1463–9
- Van P.H. et al (2007). *The multicenter study in Vietnam on the antibiotic resistance S. pneumoniae – The results from 204 clinical isolates*. Hochiminh City Medicine. 11: Supplement 3, 67-77

- Van P.H. và cộng sự (2012). *Tình hình đề kháng các kháng sinh của S. pneumoniae và H. influenzae phân lập từ nhiễm khuẩn hô hấp cấp - Kết quả nghiên cứu đa trung tâm thực hiện tại Việt Nam (SOAR) 2010 – 2011*. Tạp Chí Y Học Thực Hành 12(855)
- Gunn BA, Woodall JB, Jones JF, Thornsberry C (1974) *Ampicillin-resistant Haemophilus influenzae*. Lancet 11:845.
- Khan W, Ross S, Rodriguez W, Controni G, Saz AR (1974) *Haemophilus influenzae type b resistant to ampicillin*. JAMA 229:298.
- Thomas WJ, McReynolds JW, Mock CR, Bailey DW (1974) *Ampicillin-resistant Haemophilus influenzae*. Lancet 1:313.
- Tomeh M, Starr SE, McGowan JE, Terry PM, Nahmias AJ (1974) *Ampicillin-resistant Haemophilus influenzae type b infection*. JAMA 229:295-297.
- Critchley et al. (2002). *Antimicrobial Resistance among Respiratory Pathogens Collected in Thailand during 1999-2000*. J Chemother 2002; 14:147-154
- Rohani et al. (1999). *Antimicrobial Resistance among Respiratory Pathogens Collected in Malaysia*. Int Med Res J 1999; 3:57
- CLSI 2009. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement*
- CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty Second Information Supplement (2012)*. M100-S22, Vol32 N3
- Hsueh Po-Ren, Peter Michael Hawkey. (2007). *Consensus statement on antimicrobial therapy of intra-abdominal infections in Asia*. International Journal of Antimicrobial Agents. 30: 129–133.
- Hsueh Po-Ren, Theresa A. Snyder, et al. (2006). *In vitro susceptibilities of aerobic and facultative Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections in the Asia-Pacific region: 2004 results from SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends)*. International Journal of Antimicrobial Agents. 28: 238–243.

- Pfaller MA, Jones RN. (1997). *A review of the in vitro activity of meropenem and comparative antimicrobial agents tested against 30,254 aerobic and anaerobic pathogens isolated world wide*. Diagn Microbiol Infect Dis. 28(4):157-63.
- Bình PT., Vân PH. (2007). *Nghiên cứu phát triển hệ thống phát hiện ESBL bằng cách kết hợp phương pháp đĩa đôi và phương pháp đĩa kết hợp*. Y Học TP. Hồ Chí Minh. 11(suppl.3): 146-150
- Bộ Y Tế - Vụ Điều Trị. (2005). *Hội Nghị tổng kết hoạt động Hội Đồng Thuốc và Điều Trị năm 2005*. Hà Nội 4-2004
- Nga C.T, Mịch H.D. (2007). *Tỷ lệ sinh Beta Lactamase phổ rộng ESBL ở các chủng Klebsiella, E. Coli và Enterobacter phân lập tại Bệnh viện Việt Tiệp Hải Phòng từ 1-7-2005 đến 31-6-2006*. Tạp Chí Y Học Việt Nam. Số 11 kỳ 1.
- Xuân N.T.Y., Châu N.V.V., Hùng N.T. (2005). *Tình hình kháng kháng sinh của vi khuẩn gram âm sinh enzyme β -lactamases phổ mở rộng gây nhiễm khuẩn bệnh viện tại bệnh viện bệnh nhiệt đới từ tháng 5/2002-2/2004*. Y Hoc TP. Ho Chi Minh . Vol. 9. Supplement of No 1: 172 – 177
- SMART-VN 2011
- Bộ Y Tế và GARP –VN (2009). *Báo cáo sử dụng kháng sinh và kháng kháng sinh tại 15 bệnh viện Việt Nam năm 2008-2009*
- Van P. H và CS. (2010). *Nghiên cứu đa trung tâm về tình hình đề kháng imipenem và meropenem của trực khuẩn gram [-] dễ mọc – kết quả trên 16 bệnh viện tại Việt Nam*. Y Học TP. Hồ Chí Minh; Phụ bản của số 2; tập 14; Trang 280-6; 2010
- Corbella X, Montero A, Pujol M, et al. (2000). *Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol; 38: 4086–95.
- Defez C, Fabbro-Peray P, Bouziges N, et al. (2004). *Risk factors for multidrugresistant Pseudomonas aeruginosa nosocomial infection*. J Hosp Infect; 57:209–16.
- Lee SO, Kim NJ, Choi SH, et al. (2004). *Risk factors for acquisition of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii: a case-control study*. Antimicrob Agents Chemother; 48:224–8.

- Mar Tomas M, Cartelle M, Pertega S, et al. (2005). *Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of Acinetobacter baumannii: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection*. Clin Microbiol Infect; 11:540–6.
- National Nosocomial Infections Surveillance (2004). *System report, data summary from January 1992 through June*. Am J Infect Control. 32: 470–85
- Tuyền H.K., Cương V.K., Hương Đ.M. (2005). *Tình hình kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh phân lập tại bệnh viện Thống Nhất*. Hội Nghị Khoa Học BV. Thống Nhất 2005
- Van P. H., Binh P. T., Anh L. T. K., Hai V. T. C.. (2009). *Nghiên Cứu Đa Trung Tâm Khảo Sát Tình Hình Đề Kháng Các Kháng Sinh Của Các Trục Khuẩn Gram (-) Dẽ Mọc Gây Nhiễm Khuẩn Bệnh Viện Phân Lập Từ 1/2007 đến 5/2008*. Y Học TP. Hồ Chí Minh. Tập 13: Phụ bản Số 2
- Vân P. H. và CS (2005). *Surveillance on the in-vitro antibiotic resistance of Staphylococcus aureus and the effectivity of Linezolid – Results from the multicenter study on 235 isolates*. Y Học Thực Hành. 513: 244-248 Y Học Thực Hành, ISSN 0866-7241 (2005), 513, 244
- Nga Tran Thi Thanh và CS (2009) *Kết quả khảo sát nồng độ tối thiểu của vancomycin trên 100 chủng S. aureus phân lập tại BV. Chợ Rẫy*. Tạp Chí Y Học TP. HCM, tập 13 (phụ bản 1): 295-299
- Hidron AI, Edwards JR, Patel J, et al. (November 2008). *"NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007"*. Infect Control Hosp Epidemiol 29 (11): 996–1011
- Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P (1988, July). *"Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in Enterococcus faecium"*. N. Engl. J. Med. 319 (3): 157–61