

Tình hình kháng kháng sinh của các chủng *E. Coli* và đặc điểm gen mã hóa carbapenemase của các chủng *E. Coli* kháng carbapenem phân lập được tại Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

Nguyễn Thị Tuyền, Lê Nữ Xuân Thanh, Ngô Viết Quỳnh Trâm
Bộ môn Vi sinh, Trường Đại học Y - Dược Huế, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Hiện nay, sự tồn tại của nhiều gen β -lactamase phổ rộng (ESBL) và carbapenemase cũng như sự đa dạng về di truyền đã dẫn đến sự lan truyền tính đề kháng nhanh chóng giữa các loài *Escherichia coli* (*E. coli*) và sự nổi lên các vi khuẩn toàn kháng. **Mục tiêu:** Xác định tỷ lệ kháng kháng sinh, tỷ lệ các chủng *E. coli* sinh ESBL, và các gen mã hóa carbapenemase ở các chủng *E. coli* được phân lập tại Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Xác định độ nhạy cảm của 246 chủng *E. coli* với 13 loại kháng sinh bằng phương pháp Kirby-Bauer. Các chủng *E. coli* có tiềm năng sinh ESBL được xác nhận kiểu hình bằng phương pháp đĩa đôi và phương pháp khoan giấy phôi hợp khuếch tán. Sử dụng kỹ thuật PCR đa mồi để phát hiện các gen mã hóa carbapenemases lớp B (Metallo β -lactamase), lớp D (oxacillinase), và gen *bla*_{KPC}. Giải trình tự các gen carbapenemase để xác định các biến thể carbapenemase. **Kết quả:** 91,46% các chủng *E. coli* là đa kháng thuốc; hầu hết đều đề kháng với penicillins, fluoroquinolone, sulfonamide; đề kháng cao với các cephalosporin thế hệ 3, chloramphenicol, gentamycin. *E. coli* sản xuất ESBL được phát hiện với tỷ lệ cao (50%). Các chủng *E. coli* đề kháng với carbapenem chủ yếu mang gen mã hóa carbapenemase như *bla*_{KPC-2}, *bla*_{NDM-4} và *bla*_{OXA-48}. Đây là nghiên cứu đầu tiên báo cáo về chủng *E. coli* mang gen *bla*_{NDM-4} tại Việt Nam. **Kết luận:** Tỷ lệ lưu hành cao của các chủng *E. coli* đa kháng thuốc, sinh ESBL, sinh carbapenemase sẽ đưa đến nhiều khó khăn trong lựa chọn kháng sinh trong điều trị trên lâm sàng.

Từ khóa: *Escherichia coli*, ESBL, Carbapenemase.

Abstract

Prevalence of antimicrobial resistance and molecular characterization of carbapenemase encoding gene in *Escherichia coli* isolates in Hospital of Hue University of Medicine and Pharmacy

Nguyen Thi Tuyen, Le Nu Xuan Thanh, Ngo Viet Quynh Tram
Department of Microbiology, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: Currently, the existence of Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) and carbapenemase genes as well as genetic diversity has led to the rapid spread of resistance between *E. coli* species and the emergence of bacteria with pan-resistance. **Objectives:** To investigate the prevalence of antimicrobial resistance, prevalence of ESBL-producing *E. coli*, and carbapenemase-coding gene in *E. coli* isolates at Hospital of Hue University of Medicine and Pharmacy. **Materials and method:** The susceptibility to 13 antimicrobials of 246 *E. coli* isolates was determined by the Kirby-Bauer method. ESBL-producing potential *E. coli* isolates were confirmed phenotypic by the Double Disc Synergy Test (DDST) and Combination Disc Test (CDT). Using multiplex PCR to detect genes encoding carbapenemase belonging to class B (Metallo β -lactamase), class D (oxacillinase), and *bla*_{KPC} gene. Sequencing of carbapenemase genes were used to identify carbapenemase variants. **Results:** 91.46% of *E. coli* strains were identified as multidrug-resistant; most of them resistant to penicillins, fluoroquinolone, sulfonamide; high frequency of resistance to 3rd generation cephalosporin, chloramphenicol, gentamycin. The high isolation rate of ESBL-producing *E. coli* (50%) was detected. The resistance to carbapenems was largely mediated by the expression of acquired carbapenemases: *bla*_{KPC-2}, *bla*_{NDM-4} and *bla*_{OXA-48}. This study first reported *bla*_{NDM-4}-harboring *E. coli* isolates in Vietnam. **Conclusion:** The high prevalence of multidrug-resistant and ESBL-producing *E. coli*, as well as the coexistence of ESBLs and carbapenemase genes, could seriously limit options for clinical treatment.

Keywords: *Escherichia coli*, ESBLs, Carbapenemase.

Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Thị Tuyền; email: nttuyen.vs@huemed-univ.edu.vn
Ngô Viết Quỳnh Trâm; email: nvqtram@huemed-univ.edu.vn
Ngày nhận bài: 21/9/2020; Ngày đồng ý đăng: 13/4/2021

DOI: 10.34071/jmp.2021.2.6

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

E. coli thành viên quan trọng thuộc họ vi khuẩn đường ruột, là một trong những tác nhân hàng đầu gây nên nhiễm trùng trong cộng đồng và nhiễm trùng bệnh viện ở người. Các kháng sinh nhóm β -lactam phổ rộng được bác sĩ lâm sàng sử dụng rộng rãi như kháng sinh đầu tay để điều trị các bệnh nhiễm trùng do *E. coli* gây ra. Tuy nhiên, sự đề kháng với một số lượng đáng kể β -lactam là phổ biến và vẫn đang gia tăng, làm tăng tỷ lệ mắc bệnh cũng như tỷ lệ tử vong [1]. Hơn 50% chủng *E. coli* đề kháng với cephalosporins thế hệ 3 trên toàn thế giới theo WHO năm 2014 ước tính [2].

Một số nghiên cứu tập trung vào đặc tính di truyền và sinh hóa của *E. coli* kháng β -lactam đã được báo cáo gần đây, chủ yếu liên quan đến sản xuất β -lactamase. Trong đó enzyme β -lactamase phổ rộng (ESBL) là phổ biến nhất. Carbapenems được sử dụng như là phương sách cuối cùng để điều trị các bệnh nhiễm trùng gây ra bởi *E. coli* sinh ESBL. Tuy nhiên, *E. coli* sinh carbapenemase (CPEC) hiện đang nổi lên, có khả năng gia tăng bởi việc lạm dụng carbapenem. Bốn enzyme đóng vai trò chính trong cơ chế kháng carbapenem của *E. coli* là KPC (*Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase), NDM (New Delhi Metallo-lactamase), IMP (Imipenem hydrolyzing Metallo- β -lactamase), và OXA-48 (Oxacillinase) [3]. Điều đáng lo ngại là *E. coli* dễ dàng thu nhận và chuyển các gen kháng thuốc thông qua các plasmid và transposon đã dẫn đến sự lây lan các gen kháng thuốc và sự xuất hiện của các chủng vi khuẩn có khả năng toàn kháng [4]. Sự lan truyền các gen kháng thuốc không chỉ xảy ra giữa các chủng vi khuẩn *E. coli* mà còn từ loài vi khuẩn này sang loài vi khuẩn khác, dẫn đến nguy cơ nhiễm khuẩn bệnh viện bởi các chủng vi khuẩn kháng thuốc rất cao.

Hiện nay thông tin về cơ chế kháng β -lactam của vi khuẩn *E. coli* ở miền Trung vẫn còn rất ít. Để hiểu thêm về cơ chế kháng thuốc của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được ở Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu: 1) Xác định tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được; 2) Xác định tỷ lệ các chủng *E. coli* sinh ESBL và 3) Xác định các gen mã hóa carbapenemase của các chủng *E. coli* đề kháng carbapenem.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang và nghiên cứu phòng thí nghiệm

2.2 Địa điểm nghiên cứu và thời gian: Khoa Vi sinh, bệnh viện trường Đại học Y - Dược Huế và khoa Vi sinh Lâm sàng và thực nghiệm, trường Đại học Sassari, Ý từ tháng 5/2017 – 4/2019.

2.3 Đối tượng nghiên cứu: 246 chủng *E. coli* được phân lập từ các bệnh nhân bị nhiễm trùng từ 5/2017-7/2018 và thêm 4 chủng *E. coli* kháng carbapenem được phân lập và lưu trữ từ 2016-2017

để phát hiện gen mã hóa carbapenemase tại Khoa Vi sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế.

2.4 Phương pháp nghiên cứu

Nuôi cấy phân lập và lưu giữ chủng

Các bệnh phẩm (nước tiểu, mủ vết thương, máu, dịch âm đạo, phân, dịch nội chất, ...) của bệnh nhân nhiễm trùng được nuôi cấy, phân lập và định danh vi khuẩn theo quy trình chuẩn của Khoa Vi sinh - Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế. Các chủng vi khuẩn *E. coli* được lưu trữ trong môi trường BHI thêm 15% Glycerol ở -80°C cho đến khi tiến hành các thử nghiệm về gen kháng thuốc.

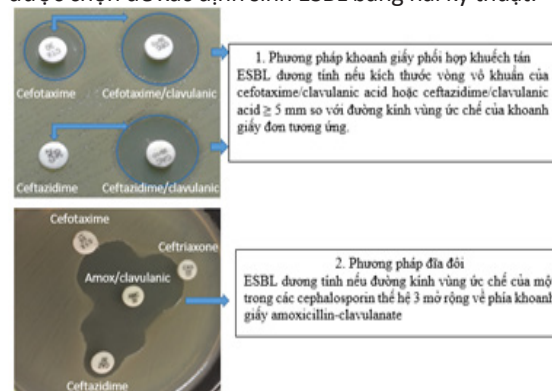
Kỹ thuật kháng sinh đồ

Các chủng *E. coli* phân lập được kiểm tra tính nhạy cảm với 13 loại kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán giấy Kirby-Bauer. Các kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu gồm ampicillin (10 μ g), cefotaxime (30 μ g), ceftiraxone (30 μ g), ceftazidime (30 μ g), amikacin (30 μ g), amoxicillin + acid clavulanic (20/10 μ g), chloramphenicol (30 μ g), ciprofloxacin (5 μ g), piperacillin (100 μ g), trimethoprim-sulfamethoxazole (1,25 / 23,75 μ g), imipenem (10 μ g). Kết quả xác định mức độ nhạy cảm và kháng của vi khuẩn *E. coli* đối với kháng sinh dựa theo tiêu chuẩn của viện tiêu chuẩn lâm sàng và xét nghiệm Hoa Kỳ CLSI – M100 2017 [4]. *E. coli* ATCC 25922 được sử dụng làm chủng chuẩn.

Xác định kiểu hình *E. coli* sinh ESBL

Phát hiện ESBL gồm hai bước theo hướng dẫn của © Liofilchem® [6]. *E. coli* ATCC 25922 được sử dụng làm chứng âm ESBL và *K. pneumoniae* ATCC 700603 được sử dụng làm chứng dương ESBL.

Các chủng *E. coli* có vòng ức chế với ceftazidime < 22 mm và cefotaxime < 27 mm có tiềm năng sinh ESBL được chọn để xác định sinh ESBL bằng hai kỹ thuật:



Hình 1. Thử nghiệm phát hiện ESBL

Kỹ thuật PCR đa mồi xác định gen mã hóa ESBL và carbapenemase

Tách chiết DNA từ các chủng *E. coli* bằng phương pháp sốc nhiệt (boiling). Thực hiện 3 phản ứng PCR đa mồi cho các chủng *E. coli* đề kháng imipenem và/hoặc meropenem để phát hiện các gen mã hóa

carbapenemase lớp A, B và D. Phản ứng 1 phát hiện $bla_{IMP-like}$, $bla_{VIM-like}$, phản ứng 2 phát hiện bla_{NDM} , bla_{KPC} và phản ứng 3 phát hiện bla_{OXA-48} , bla_{GES} (Bảng 1) Sản phẩm PCR sau đó được kiểm tra bằng điện di trên thạch agarose 1-2% tùy phản ứng trong dung dịch đệm TAE 1% được nhuộm màu với GelRed™ có kèm thang chuẩn 100bp.

Bảng 1. Trình tự nucleotide của các mồi và chu kỳ nhiệt được sử dụng trong kỹ thuật PCR phát hiện các gen đề kháng kháng sinh

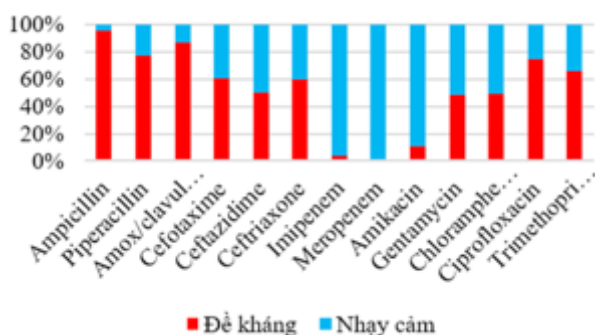
Tên mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Gene đích	Kích thước PCR (bp)	Chu trình nhiệt	TL TK
IMP-F IMP-R	GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC CCAAACYACTASGTTATCT	bla_{IMP}	188	$\left. \begin{array}{l} (94^{\circ}\text{C}: 10') \times 1 \\ 94^{\circ}\text{C}: 30'' \\ 52^{\circ}\text{C}: 40'' \times 36 \\ 72^{\circ}\text{C}: 50'' \\ (72^{\circ}\text{C}: 5') \times 1 \end{array} \right\}$	[7]
VIM-F VIM-R	GATGGTGTGGTTCGCATA CGAATGCGCAGCACCAG	bla_{VIM}	390		[7]
NDM-F NDM-R	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC CGGAATGGCTCATCACGATC	bla_{NDM}	621		[7]
KPC-F KPC-R	CGTCTAGTCTGCTGTCTTG CTTGTCATCCTTGTTAGCG	bla_{KPC}	798		[7]
OXA-48-F OXA-48-R	GCTTGATCGCCCTCGATT GATTTGCTCCGTGGCCGAAA	$bla_{OXA-48-like}$	281	$\left. \begin{array}{l} (94^{\circ}\text{C}: 10') \times 1 \\ 94^{\circ}\text{C}: 40'' \\ 57^{\circ}\text{C}: 40'' \times 30 \\ 72^{\circ}\text{C}: 60'' \\ (72^{\circ}\text{C}: 5') \times 1 \end{array} \right\}$	[8]
GES-F GES-R	AGTCGGCTAGACCGAAAG TTTGTCCGTGCTCAGGAT	bla_{GES}	399		[8]

Giải trình tự gen phát hiện các biến thể carbapenemase

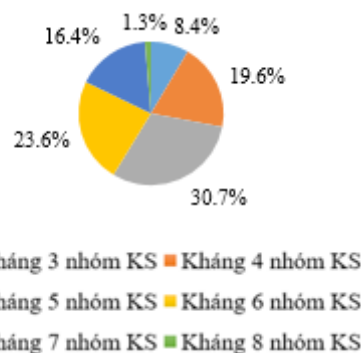
Các sản phẩm PCR phát hiện carbapenemase được tinh sạch từ thạch agarose bằng kit Zymoclean DNA Clean & Concentrator (ZYMORESEARCH, USA), được định lượng và giải trình tự tại Viện di truyền học, đơn vị dịch vụ giải trình tự gen đại học LMU Munich (Sequencing Service LMU Munich), Đức. Phân tích kết quả giải trình tự bằng blast với dữ liệu của GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) để khẳng định gen cần tìm với độ phù hợp >99%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tình hình kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập



Biểu đồ 1. Tỷ lệ kháng sinh (tính theo % của các chủng vi khuẩn *E. coli*)



Biểu đồ 2. Tỷ lệ đa kháng sinh của *E. coli*

Hầu hết các chủng *E. coli* đều kháng với ampicillin (95,5%), sau đó là amoxicillin-clavulanic acid (86,6%), ciprofloxacin (74,8%), piperacillin (77,4%), trimethoprim-sulfamethoxazole (65,9).

Tỷ lệ kháng thuốc cao đã được quan sát đối với các cephalosporin thế hệ 3: cefotaxime (60,6%), ceftriaxone (60,2%), và ceftazidime (50,4%); chloramphenicol (49,4%); gentamycin (48,8%). Amikacin, carbapenem với tỷ lệ kháng các thuốc thấp 11,3% đối với amikacin, 3,7% đối với imipenem và 0,8% đối với meropenem. Đa

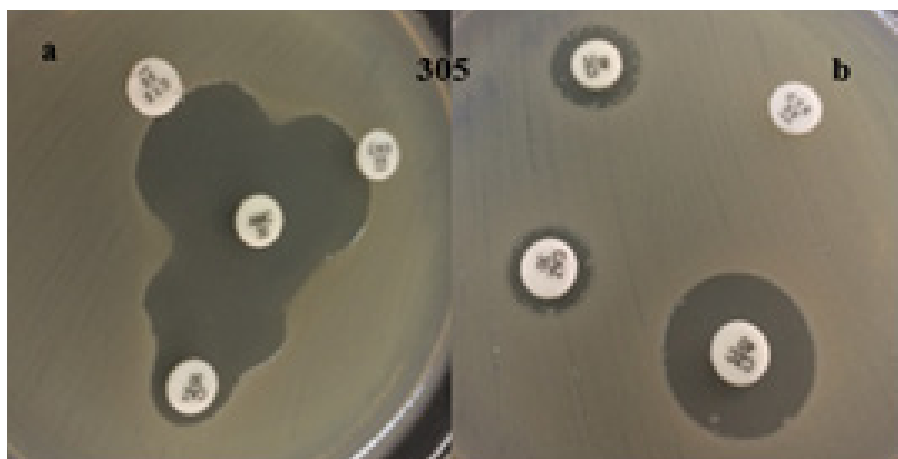
kháng thuốc (MDR) được định nghĩa là không nhạy cảm với ít nhất một kháng sinh trong ít nhất ba nhóm kháng sinh [9]. *E. coli* đa kháng thuốc đã được phát hiện với tỷ lệ 91,5%. Tần số đa kháng thuốc với 3, 4, 5, 6, 7, 8 nhóm kháng sinh lần lượt là 19 (8,4%), 44 (19,6%), 69 (30,7%), 53 (23,6%), 37 (16,4%), 3 (1,3%). Trong số các chủng đa kháng thuốc, nhóm đề kháng với 5 kháng sinh khá phổ biến (69; 30,7%), tiếp theo là kháng 6 nhóm kháng sinh (53; 23,6%).

3.2. Tỷ lệ các chủng *E. coli* sinh ESBL

Bảng 2. Thử nghiệm phát hiện ESBL

Số chủng <i>E. coli</i>	Phương pháp phát hiện					
	Xét nghiệm sàng lọc		Phương pháp đĩa đôi		Phương pháp khoan giấy phối hợp khuếch tán	
	Số lượng (SL)	Phần trăm (%)	Số lượng (SL)	Phần trăm (%)	Số lượng (SL)	Phần trăm (%)
n= 246	177	72,0	123	50,0	123	50,0

Trong số 246 chủng *E.coli*, 177 (72.0%) chủng có tiềm năng sinh ESBL bằng cách sàng lọc sơ bộ và được thử nghiệm xác nhận. Trong số đó, 50.0% (123/246) là các chủng sinh ESBL được xác nhận kiểu hình bởi cả thử nghiệm khoan giấy phối hợp khuếch tán và thử nghiệm đĩa đôi trong khi 54 chủng không sinh ESBL được xác nhận về kiểu hình.



Hình 2. Thử nghiệm phát hiện ESBL dương tính ở cả 2 phương pháp của chủng *E. coli* 305
a. Phương pháp đĩa đôi, b. Phương pháp khoan giấy phối hợp khuếch tán

Kết quả phát hiện kiểu hình cho thấy *E. coli* sinh ESBL cho thấy tỷ lệ kháng với kháng sinh nhóm cephalosporin thế hệ 3 cao hơn đáng kể so với các chủng *E. coli* không sinh ESBL ($p < 0,05$) (bảng 3). Các kháng sinh nhóm carbapenem không cho thấy sự khác biệt giữa 2 nhóm.

Bảng 3. Tỷ lệ *E. coli* sinh ESBL và không sinh ESBL kháng kháng sinh

Kháng sinh	%		p-value
	<i>E. coli</i> sinh ESBL	<i>E. coli</i> không sinh ESBL	
Cefotaxime	98,37	22,76	0,0000
Ceftazidime	80,48	20,33	0,0000
Ceftriaxone	97,56	22,76	0,0000
Imipenem	0,00	7,32	0,0022
Meropenem	0,00	1,63	0,1556
Chúng tôi sử dụng Chi-Square test để so sánh các tỷ lệ			

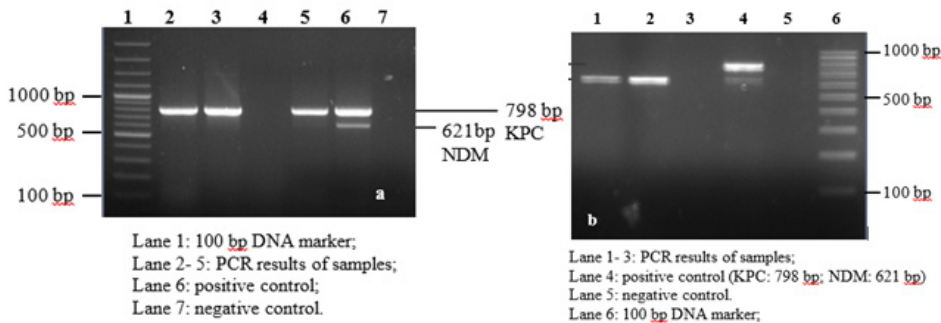
3.3. Đặc điểm gen mã hóa carbapenemase của các chủng *E. coli*

Kết quả đã tìm thấy 7 chủng trong số 13 chủng *E. coli* kháng carbapenem mang gen mã hóa carbapenemase. Trong số đó, 3 chủng mang gen bla_{KPC-2} , 2 chủng mang bla_{NDM-4} và 2 chủng mang bla_{OXA-48} . Các gen bla_{VIM} and bla_{IMP} không được phát hiện trong bất kỳ chủng *E. coli* phân lập nào. Tất cả 7 chủng này đều mang một hoặc nhiều gen mã hóa ESBL

Bảng 4. Phân bố *E. coli* mang gen mã hóa carbapenemase

Mã chủng	Bệnh phẩm	Tuổi/giới tính	Ngày phân lập	Gen carbapenemase (<i>bla</i>)	Gen ESBL (<i>bla</i>)	Số kháng sinh đề kháng	Khoa
180	Mủ	50/F	16/11/2016	KPC-2	TEM	13	GM-HS-CC
181	Nước tiểu	78/M	05/01/2017	KPC-2	TEM	12	Ngoại TN-TK
208	Nước tiểu	54/F	24/02/2017	KPC-2	TEM	12	Ngoại TN-TK
255	Mủ	60/M	04/11/2017	NDM-4	TEM, CTM-M	13	Ngoại CT-LN
437	Nước tiểu	51/F	10/04/2017	NDM-4	TEM	12	Ngoại TN-TK
135	Máu	41/M	29/05/2017	OXA-48	TEM	6	Nội TH-NT
422	Mủ	59/F	04/07/2018	OXA-48	CTX-M	12	Ngoại CT-LN

Từ viết tắt: F: Nữ, M: Nam, ESBL: Extended spectrum β -lactamase; OXA: oxacillinases; NDM: New Delhi Metallo- β -lactamases; KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; CTX-M: Cefotaxime hydrolyzing capabilities; TEM: Temoniera; Sulfhydryl-variable; TN-TK: Tiết niệu Thần kinh; TH-NT: Tổng hợp Nội Tiết, GM-HS-CC: Gây mê Hồi sức Cấp cứu, CT-LN: Chấn thương Lồng ngực



Hình 3. Kết quả Multiplex PCR phát hiện các *gene* carbapenemases

4. BÀN LUẬN

Tình hình kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ *E. coli* kháng các penicillin như ampicillin, piperacillin, amoxicillin + axit clavulanic từ 77,41% đến 95,47%, fluoroquinolone (ciprofloxacin: 74,80%), trimethoprim-sulfa (65,85%), cephalosporins thế hệ 3 (50,41% - 60,57%), chloramphenicol (49,38%), và gentamycin (48,78%) theo tiêu chuẩn lâm sàng đều ở mức cao. Amikacin, các carbapenem được tìm thấy là những kháng sinh có hiệu quả nhất trong điều trị nhiễm trùng do *E. coli*, với tỷ lệ đề kháng thấp: amikacin (11,26%), imipenem (3,66%), và meropenem (0,81%). Đây là những kháng sinh được sử dụng phổ biến trên lâm

sàng tại Bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế, do đó phát hiện này nên cảnh báo cho các bác sĩ lâm sàng nhằm sử dụng kháng sinh một cách hợp lý. Kết quả nghiên cứu cho thấy *E. coli* đa kháng thuốc chiếm tỷ lệ 91,46%, trong đó kháng với 5 nhóm kháng sinh chiếm tỷ lệ cao nhất 30,67%, theo sau là 6 nhóm kháng sinh 23,56%. Tỷ lệ này cao hơn so với các nghiên cứu trước đây được thực hiện ở Việt Nam [10], [11]. 40 chủng (17,78%) không nhạy cảm với 7-8 nhóm kháng sinh trong số 8 nhóm kháng sinh thử nghiệm đã được phát hiện. Các chủng này có khả năng là các chủng kháng mở rộng hoặc toàn kháng, tuy nhiên để khẳng định cần tiếp tục thử nghiệm với 9 nhóm kháng sinh khác theo hướng dẫn của Magiorakos (2012).

Đặc điểm kiểu hình của các chủng *E. coli* sinh ESBL

Tỷ lệ phân lập *E. coli* sinh ESBL trong nghiên cứu này là 50% (123/246), thấp hơn so với các nghiên cứu trước đây ở Trung Quốc (67%), tại Việt Nam (60%), nhưng cao hơn so với những báo cáo ở Thái Lan (37%), Singapore (26%) và Malaysia (24%) và các quốc gia khác trong khu vực châu Á - Thái Bình Dương [12]. Hầu hết các chủng *E. coli* sinh ESBL là đa kháng thuốc (99,19%). Chúng cho thấy sự đề kháng cao với kháng sinh đầu tay, bao gồm cephalosporin thế hệ 3, ciprofloxacin, gentamycin, trimethoprim-sulphamethoxazole, và do đó làm giảm các lựa chọn điều trị của các loại thuốc thích hợp có sẵn. Bên cạnh đó, *E. coli* sinh ESBL cũng cho thấy tỷ lệ kháng với kháng sinh cephalosporin thế hệ 3 cao hơn đáng kể so với *E. coli* không sinh ESBL ($p < 0,05$).

Từ kết quả của nghiên cứu này cho thấy cả 2 phương pháp phát hiện sinh ESBL đều có độ nhạy như nhau, thao tác thực hiện đơn giản và giá thành hợp lý nên việc đưa vào áp dụng tại các bệnh viện Việt Nam để sàng lọc và phát hiện nhanh các chủng sinh ESBL là hoàn toàn khả thi và cần thiết, đặc biệt là đối với các nỗ lực tăng cường hiệu quả cho công tác điều trị và kiểm soát nhiễm khuẩn bệnh viện. Để có kết quả tốt nhất, các phương pháp phát hiện kiểu hình ESBL cần được cải thiện.

Đặc điểm gen mã hóa carbapenemase của các chủng *E. coli*

Nghiên cứu này đã tìm thấy 7 chủng *E. coli* kháng carbapenem mang gen mã hóa carbapenemase: 3 chủng mang gen *bla*_{KPC-2}, 2 chủng mang *bla*_{NDM-4}, và 2 chủng mang *bla*_{OXA-48}. Đây đều là các gen carbapenemase phổ biến trên thế giới đã cho thấy tình trạng *E. coli* kháng kháng sinh ở Việt Nam thực sự là vấn đề rất cấp thiết, cần được kiểm soát chặt chẽ.

Nghiên cứu này lần đầu tiên báo cáo phát hiện vi khuẩn *E. coli* gen *bla*_{NDM-4} ở *E. coli*, cho đến nay chúng tôi chưa tìm thấy nghiên cứu nào tìm ra gen *bla*_{NDM-4} được báo cáo ở Việt Nam. Enzyme NDM-4 khác với enzyme NDM-1 bởi sự thay thế một amino và sự gia tăng hoạt tính của carbapenemase. Sự xuất hiện của biến thể này cho thấy các gen mã hóa carbapenemase đã và đang biến đổi cùng với sự phát triển, tính đề kháng của các chủng vi khuẩn. Gần đây, một chủng *E. coli* mang *bla*_{NDM-4} trên một

plasmid IncFIA tự truyền đã được báo cáo ở Trung Quốc [13]. Hơn nữa, các chủng *K. pneumoniae* kháng carbapenem được phân lập từ mẫu nghiệm lâm sàng ngày càng phổ biến với các tổ hợp khác nhau của các enzyme carbapenemase (KPC-2, NDM-1, NDM-4 và OXA-48) gần đây đã được báo cáo tại Việt Nam [14]. Những kết quả này khiến chúng tôi đưa ra giả thuyết phải chăng có lan truyền chéo đã xảy ra giữa các chủng *E. coli* trong nghiên cứu này và dòng *K. pneumoniae* có nguy cơ đa kháng thuốc cao đang nổi lên ở Việt Nam. Các chủng *E. coli* mang gen mã hóa carbapenemase thông qua các plasmid có thể lan truyền gen kháng thuốc cho các chủng *E. coli* khác hoặc thậm chí các loài vi khuẩn khác thuộc họ *Enterobacteriaceae*.

Sáu chủng vi khuẩn *E. coli* kháng carbapenem vẫn chưa được biết đến. Có thể liên quan đến các cơ chế kháng carbapenem khác, chẳng hạn như thay đổi PBP, giảm biểu hiện *OmpF* và *OmpC* kết hợp với sản xuất ESBL hoặc AmpC. Làm rõ các cơ chế trên cần phải dùng kỹ thuật giải trình tự toàn bộ gen của các chủng nghi vấn.

Tất cả các chủng mang gen mã hóa carbapenemase đều mang một hoặc hai gen mã hóa ESBL (*bla*_{TEM} và *bla*_{CTX}). Điều này đáng quan tâm vì sự lây lan của các chủng này sẽ đưa đến nhiều khó khăn trong lựa chọn kháng sinh trong điều trị trên lâm sàng. Để hiểu rõ hơn về sự liên kết của các gen đề kháng ở vi khuẩn *E. coli* cần có nhiều nghiên cứu hơn nữa trong tương lai.

5. KẾT LUẬN

Các chủng *E. coli* phân lập được tại Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế có tỷ lệ kháng cao với nhiều loại kháng sinh thông dụng như các penicillin, fluoroquinolone, cephalosporin thế hệ 3, chloramphenicol, gentamycin. Có tới 91,46% số chủng *E. coli* được xác định là đa kháng thuốc. *E. coli* sinh ESBL ở mức cao 50%, trong đó gen *bla*_{TEM} chiếm ưu thế nhất, tiếp theo là gen *bla*_{CTX-M} và 13 chủng (5,28%) mang cả hai gen là *bla*_{TEM} và *bla*_{CTX-M}. Các chủng đề kháng với carbapenem chủ yếu là mang gen mã hóa carbapenemase như *bla*_{KPC-2}, *bla*_{NDM-4} và *bla*_{OXA-48}. Chủng *E. coli* kháng carbapenem mang gen *bla*_{NDM-4} trong nghiên cứu lần đầu tiên được phát hiện ở Việt Nam, cảnh báo đã xuất hiện chủng vi khuẩn mang gen kháng thuốc carbapenem có khả năng lan truyền cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sidjabat H.E. và Paterson D.L. (2015). Multidrug-resistant *Escherichia coli* in Asia: Epidemiology and management. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 13(5), 575–591.
2. World Health Organization (2014). ANTIMICROBIAL RESISTANCE - Global Report on Surveillance. .
3. Nordmann P. và Poirel L. (2014). The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae* worldwide. *Clin Microbiol Infect*, 20(9), 821–830.
4. Bush K. (2010). Alarming β -lactamase-mediated

resistance in multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Curr Opin Microbiol*, 13(5), 558–564.

5. Institute C. and L.S. (2017). CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, .

6. Principle M., Samples K., và Procedure T. (2014). ESBL Disc Tests. 18–20.

7. Poirel L., Walsh T.R., Cuvillier V. và cộng sự. (2011). Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 70(1), 119–123.

8. Decré D., Favier C., Arlet G. và cộng sự. (2010). Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65, 490–495.

9. Magiorakos A.-P., Srinivasan A., Carey R.B. và cộng sự. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*, 18(3), 268–281.

10. Hoang P.H., Awasthi S.P., DO Nguyen P. và cộng sự. (2017). Antimicrobial resistance profiles and molecular characterization of *Escherichia coli* strains isolated from healthy adults in Ho Chi Minh City, Vietnam. *J Vet Med Sci*,

79(3), 479–485.

11. Trung V.N., Phung V. Le, Chinh H. Le và cộng sự. (2005). Antibiotic resistance in diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* strains isolated from children in Hanoi, Vietnam. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49, 816–819.

12. Po-Liang Lua, Yung-Ching Liub, Han-Siong Tohc, Yu-Lin Leed, Yuag-Meng Liue, Cheng-Mao Hof, Chi-Chang Huangg, Chun-Eng Liuh, Wen-Chien Kog, i, Jen-Hsien Wangj, Hung-Jen Tangk, Kwok-Woon Yul, Yao-Shen Chenm, Yin-Ching Chuangn, Yingchun Xuo, Yuxing Nip, Yen- P.-R.H. (2012). Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of Gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009–2010 results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). S37–S43.

13. Zhang X., Feng Y., Zhou W. và cộng sự. (2018). Cryptic transmission of ST405 *Escherichia coli* carrying blaNDM-4 in hospital. *Sci Rep*, 8(1), 390.

14. Tada T., Tsuchiya M., Shimada K. và cộng sự. (2017). Dissemination of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates with various combinations of Carbapenemases (KPC-2, NDM-1, NDM-4, and OXA-48) and 16S rRNA Methylases (RmtB and RmtC) in Vietnam. *BMC Infect Dis*, 17(1), 467.