

ĐẶC ĐIỂM KHÁNG KHÁNG SINH VÀ KHẢ NĂNG SINH BETA-LACTAMASE CỦA MỘT SỐ CHỦNG *E. COLI* VÀ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Nguyễn Đắc Trung*

Trường Đại học Y Dược- ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với 43 chủng *E. coli* và 24 chủng *Klebsiella pneumoniae* được phân lập tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên và Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên từ tháng 4/2012 đến tháng 4/2013. Phương pháp: Xác định mức độ nhạy cảm kháng sinh bằng phương pháp khoan giấy kháng sinh khuếch tán (Kỹ thuật Kirby-Bauer). Khả năng sinh beta-lactamase phổ rộng (ESBLs, extended-spectrum beta-lactamases) ở các chủng vi khuẩn được sàng lọc bằng phương pháp khoan giấy đôi (double-disk test). Kết quả: 17/43 chủng *E. coli* (39,53%) và 8/24 chủng *K. pneumoniae* (33,33%) sinh ESBL. Các chủng *E. coli* và *K. pneumoniae* sinh ESBL đều đề kháng các cephalosporin thế hệ 3 (ceftriaxone, cefuroxime, ceftazidime, cefotaxime) ở mức độ cao. Có sự gia tăng về mức độ kháng kháng sinh, đặc biệt là với các kháng sinh cephalosporin thế hệ 3 ở các chủng *E. coli* và *K. pneumoniae* ESBL(+) so với các chủng không sinh ESBL.

Từ khóa: *E. coli*; *Klebsiella pneumoniae*, beta-lactamase phổ rộng, cephalosporin, kháng kháng sinh.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nhiều thập kỷ qua, áp lực chọn lọc của kháng sinh luôn được duy trì lên các vi khuẩn gây bệnh do kháng sinh không được sử dụng hợp lý trong điều trị lâm sàng các bệnh nhiễm khuẩn. Áp lực chọn lọc này đã làm xuất hiện các beta-lactamase khác nhau ở một số vi khuẩn gây bệnh. Các beta-lactamase phổ rộng (ESBLs, extended-spectrum beta-lactamases) là những beta-lactamase được tạo bởi các vi khuẩn gram âm, có khả năng thủy phân các kháng sinh β -lactam có chứa một nhóm oxyimino (các cephalosporins thế hệ 3 và aztreonam) nhưng chúng lại bị ức chế bởi các chất ức chế beta-lactamase như axit clavulanic, sulbactam và tazobactam [1]. Nhiều phòng xét nghiệm không ý thức được vai trò của ESBLs và làm thế nào để phát hiện được chúng. Sự thiếu hiểu biết hoặc thiếu các nguồn lực để kiểm soát sự lan truyền của các cơ chế đề kháng này sẽ dẫn đến những thất bại liên tiếp trong việc tìm ra phương cách thích hợp giúp ngăn chặn sự xuất hiện rộng rãi những vi khuẩn gây bệnh sinh beta-lactamase [8]. Mục tiêu của nghiên cứu là xác định tỷ lệ kháng kháng sinh và khả năng sinh

beta-lactamase của các chủng *E. coli* và *Klebsiella pneumoniae* được phân lập từ những mẫu bệnh phẩm lâm sàng.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng vi khuẩn: Gồm 43 chủng *E. coli* và 24 chủng *Klebsiella pneumoniae* được phân lập từ các bệnh phẩm lâm sàng tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên và Bệnh viện Đại học Y Dược Thái Nguyên từ 4/2012 đến 4/2013. Chủng *E. coli* ATCC 25922 và *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 sử dụng cho kiểm tra hiệu lực của kháng sinh.

Phương pháp nghiên cứu: Các chủng vi khuẩn được phân lập và định danh trên hệ thống máy tự động Vitek 2 compact 60. Tính nhạy cảm của các chủng vi khuẩn với 10 loại kháng sinh: amoxicillin/acid clavuanate, cefuroxime, ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, meropenem, doxycycline, ciprofloxacin, ofloxacin, đã được khảo sát bằng phương pháp khoan giấy kháng sinh khuếch tán (kỹ thuật Kirby-Bauer). Khả năng sinh ESBLs ở các chủng vi khuẩn được sàng lọc bằng phương pháp khoan giấy đôi (double-disk test).

* Tel: 0978.626.649; Email: dactrung69@gmail.com

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phát hiện vi khuẩn *E. coli* và *K. pneumoniae* sinh ESBL

Sau khi có kết quả kháng sinh đồ với các chủng *E. coli* và *K. pneumoniae*, những chủng nghi ngờ sinh ESBL (có đường kính vòng vô khuẩn xung quanh các khoanh giấy kháng sinh: cefotaxime \leq 27mm, ceftriaxone \leq 25mm và ceftazidime \leq 22mm) đều được kiểm tra khả năng sinh ESBL (có kiểu hình ESBL (+)) bằng phương pháp khoanh giấy đôi. Kết quả cho thấy có 25/67 chủng vi khuẩn được nghiên cứu sinh ESBL (37,31%). Trong đó 17/43 chủng *E. coli* (39,53%) và 8/24 chủng *K. pneumoniae* (33,33%) sinh ESBL (có kiểu hình ESBL (+)).

Đa số các nghiên cứu tại Việt Nam đều cho thấy *E. coli* và *K. pneumoniae* đều chiếm tỷ lệ cao trong số các vi khuẩn sinh ESBL. Thực tế từ một số kết quả nghiên cứu được thực hiện tại Việt Nam cũng như trên thế giới gần đây cho thấy khả năng sinh ESBL ở hai loại vi khuẩn này luôn có sự khác nhau [2, 3, 7]. Tại Việt Nam, theo thông báo của Bộ Y tế năm 2003, vi khuẩn đường ruột sinh ESBL là nguyên nhân của 30-50% các trường hợp nhiễm khuẩn bệnh viện, các chủng vi khuẩn đường ruột có ESBL dao động lớn tùy theo từng khu vực, cao nhất là ở Bệnh viện Chợ rẫy với 61% các chủng *Klebsiella* và 52,6% các chủng *E.coli* có ESBL, tỷ lệ này ở Bệnh viện Việt Đức là 39,3% và 34,2% [9]. Theo nghiên cứu của Cao Bao Van (2002), tỷ lệ vi khuẩn sinh ESBL chung là 7,5% [4]. Khảo sát

từ nghiên cứu của chúng tôi cho thấy 37,31% số chủng sinh ESBL, kết quả này tương tự như kết quả nghiên cứu của các nghiên cứu khác trong khoảng từ năm 2006 đến nay như tác giả Mai Văn Tuấn (2006) là 30,6% [10], tác giả Nguyễn Tuấn Minh (2008) là 26% [11], trong nghiên cứu SMART của Bệnh Viện Chợ Rẫy (2007) là 30%, tác giả Hoàng Thị Phương Dung (2010) là 32,4% [6], tác giả Carmen và cộng sự (1998) là 40% [5]. Qua các nghiên cứu cho thấy rằng tỷ lệ sinh ESBL ở các vi khuẩn đã có sự gia tăng theo thời gian, nguyên nhân được giải thích là do việc sử dụng rộng rãi các kháng sinh cephalosporin trong thực hành điều trị và nhờ những tiến bộ trong phương pháp phát hiện ESBL.

Tỷ lệ kháng kháng sinh của *E. coli* và *K. pneumoniae*

Tỷ lệ các chủng *E. coli* không sinh ESBL đề kháng với amoxicillin/ acid clavuanate và các kháng sinh cephalosporin như cefuroxime, ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime, cefepime ở mức thấp (15,38% đến 38,46%). Tuy nhiên đã có sự gia tăng đáng kể mức độ đề kháng với những kháng sinh, đặc biệt các kháng sinh cephalosporin thế hệ 3 ở các chủng *E. coli* sinh ESBL ($p < 0,05$), tỷ lệ đề kháng đều trên 50%, thậm chí 88,23% số chủng đề kháng với ceftriaxone. Sự đề kháng với doxycycline, ciprofloxacin và ofloxacin không có sự khác biệt đáng kể giữa các chủng ESBL(+) và ESBL(-).

Bảng 1. Tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *E. coli* ESBL(-) và ESBL(+)

Kháng sinh	ESBL (-) (%)	ESBL (+) (%)	p
	n=26	n=17	
Amoxicillin/A.Clavulanic	23,07	52,94	<0,05
Cefuroxime	38,46	70,58	<0,05
Ceftriaxone	23,07	88,23	<0,05
Cefotaxime	15,38	76,47	<0,05
Ceftazidime	19,23	82,35	<0,05
Cefepime	30,76	23,52	>0,05
Meropenem	0,0	5,88	<0,05
Doxycycline	57,69	47,05	>0,05
Ciprofloxacin	50,0	52,94	>0,05
Ofloxacin	50,0	47,05	>0,05

Bảng 2. Tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng *K. pneumoniae* ESBL(-) và ESBL(+)

Kháng sinh	ESBL (-) (%)	ESBL (+) (%)	p
	n=16	n=8	
Amoxicillin/A.Clavulanic	18,75	50,0	>0,05
Cefuroxime	43,75	62,5	>0,05
Ceftriaxone	31,25	75	<0,05
Cefotaxime	25	75	<0,05
Ceftazidime	12,5	85,7	<0,05
Cefepime	25	12,5	>0,05
Meropenem	0,0	0,0	
Doxycycline	62,5	37,5	>0,05
Ciprofloxacin	31,25	50,0	>0,05
Ofloxacin	46,7	52,8	>0,05

Với *K. pneumoniae*, tỷ lệ đề kháng với amoxicillin/acid clavuanate và các kháng sinh cephalosporin như cefuroxime, ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime, cefepime ở nhóm không sinh ESBL dao động từ 12,5% đến 43,75%. Trong khi đó ở nhóm vi khuẩn sinh ESBL, cũng có sự gia tăng đáng kể mức độ đề kháng với các kháng sinh cephalosporin thế hệ 3 từ 50% đến 85,7% với những kháng sinh này ($p < 0,05$).

Tỷ lệ đề kháng cephalosporin ở nhóm vi khuẩn ESBL(+) cũng được tìm thấy có sự tăng vượt trội trong các nghiên cứu của các tác giả như Hoàng Thị Phương Dung [6], Võ Thị Chi Mai [9], Mai Văn Tuấn [10]. Nhiều nghiên cứu được tiến hành gần đây tại Việt Nam cũng như trên thế giới đã cho thấy ở các vi khuẩn Gram âm, tỷ lệ và mức độ kháng thuốc, đặc biệt là sự đề kháng với các kháng sinh cephalosporin thế hệ 2 và 3 (những kháng sinh lựa chọn đầu tay với các bác sĩ lâm sàng trong điều trị nhiễm khuẩn) đều có sự gia tăng đáng kể với nhóm vi khuẩn cùng loại không sinh ESBL. Trước mức độ đề kháng cao của các vi khuẩn Gram âm hiện nay, một khuyến cáo đối với các thầy thuốc lâm sàng là cần sử dụng kết quả kháng sinh đồ như một công cụ hữu hiệu để lựa chọn được những kháng sinh điều trị còn hiệu lực, góp phần rút ngắn thời gian nằm viện, giảm chi phí điều trị và nâng cao hiệu quả kiểm soát các chủng vi khuẩn đa kháng thuốc. Ngoài ra, với kỹ thuật khoan giấy đôi (double-disk test) một kỹ thuật đơn giản, dễ thực hiện, có thể được sử dụng lồng ghép với kỹ thuật kháng sinh đồ như một xét

nghiệm thường quy tại các phòng vi sinh lâm sàng để sàng lọc các chủng vi khuẩn Gram âm sinh ESBL, đặc biệt là đối với các chủng vi khuẩn đa đề kháng.

Kết quả khảo sát sự kháng kháng sinh ở cả *E. coli* và *K. pneumoniae* sinh ESBL trong nghiên cứu của chúng tôi đều cho thấy có mối liên quan rõ rệt giữa mức độ đề kháng với các kháng sinh cephalosporin và khả năng sinh ESBL-enzyme có khả năng phân hủy cấu trúc vòng beta-lactam kháng sinh ở những chủng vi khuẩn này. Tuy số lượng chủng vi khuẩn *E. coli* và *K. pneumoniae* được xác định mức độ kháng kháng sinh trong nghiên cứu này chưa thực sự nhiều, nhưng từ thực tế kết quả thu được đã phần nào cho thấy mức độ đề kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn được khảo sát có sự tương đương với các vi khuẩn cùng loại đã được tiến hành và công bố từ một số nghiên cứu khác ở Việt Nam trong thời gian gần đây.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu tiến hành với 43 chủng *E. coli* và 24 chủng *Klebsiella pneumoniae* sinh ESBL. Kết quả cho thấy có 17/43 chủng *E. coli* (39,53%) và 8/24 chủng *K. pneumoniae* (33,33%) sinh ESBL. Các chủng *E. coli* và *K. pneumoniae* sinh ESBL đều đề kháng các cephalosporin thế hệ 3 (ceftriaxone, cefuroxime, ceftazidime, cefotaxime) ở mức độ cao. Có sự gia tăng về mức độ kháng kháng sinh ở các chủng *E. coli* và *K. pneumoniae* ESBL(+) so với các chủng không sinh ESBL, đặc biệt là các kháng sinh cephalosporin thế hệ 3.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bradford PA.,(2001), "Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat". *Clin Microbiol Rev*, Vol. 14, pp. 933-951.
2. Canton R., Novais A., Valverde A., Machado E., Peixe L., Baquero F., et al.,(2008), "Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe", *Clin Microbiol Infect*, Vol. 14, No. 1, p. 144-153.
3. Cao V., Lambert T., Nhu DQ., et al.,(2002), "Distribution of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Vietnam", *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol. 46, No. 12, pp. 3739-3743.
4. Cao Bao Van., (2002), "Distribution of Extended-Spectrum β -Lactamases in Clinical Isolates of *Enterobacteriaceae* in Vietnam", *Antimicrobial agents and chemotherapy*, pp. 3739-3743.
5. Carmen Pen., Miquel Pujol.,(1998), "Epidemiology and successful control of a large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases", *Antimicrobial agents and chemotherapy*, pp. 53-58.
6. Hoàng Thị Phương Dung., Nguyễn Thanh Bảo., (2010), "Khảo sát trực khuẩn gram âm sinh men beta lactamase phổ rộng phân lập tại Bệnh Viện Đại Học Y Dược TP Hồ Chí Minh", *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, tập 14, số 1, pp. 486-480.
7. Jacob S., Shiri NV., Inna C., Orly HM., Azita L., Howard SG., et al.,(2005), "Extended-spectrum beta-lactamases among *Enterobacter* isolates obtained in Tel Aviv, Israel", *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol. 49, No. 3, pp. 1150-1156.
8. Paterson DL., Yu VL.,(1999), "Extended spectrum beta-lactamases: a call for improved detection and control", *Clin Infect Dis*, Vol. 29, pp. 1419-1422.
9. Võ Thị Chi Mai., Ngô Thị Quỳnh Hoa., (2010), "Trực khuẩn đường ruột tiết beta lactamase phổ rộng (ESBL) gây nhiễm và chiếm cư đường ruột phân lập tại Bệnh viện Chợ Rẫy", *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, tập 14, số 2.
10. Mai Văn Tuấn., Nguyễn Thanh Bảo., (2006), "Khảo sát trực khuẩn gram âm sinh men beta lactamase phổ rộng phân lập tại Bệnh viện Trung ương Huế", *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, tập 12, số 1, pp. 150 - 156.
11. Nguyễn Tuấn Minh., (2008), "Nghiên cứu vi khuẩn sinh men beta-lactamase phổ rộng gây nhiễm khuẩn hô hấp ở bệnh nhân thở máy", *Luận văn Thạc sĩ y khoa Học viện Quân Y, Hà Nội*.

SUMMARY

ABILITY RESISTANCE CHARACTERISTICS AND ABILITY OF BETA-LACTAMASE PRODUCTION IN *E. COLI* AND *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Nguyễn Dac Trung*

College of Medicine and Pharmacy – TNU

The study was carried out with 43 strains of *E. coli* and 24 *Klebsiella pneumoniae* strains isolated at Thai Nguyen Central General Hospital and Thai Nguyen Hospital of University of Medicine and Pharmacy from 4/2012 to 4/2013. Methods: antibiotic susceptibility was determined by the disk diffusion test (Kirby - Bauer technique). Ability of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production in bacteria was screened by the double-disk test. Results: 17/43 strains of *E. coli* (39.53 %) and 8/24 strains of *K. pneumoniae* (33.33 %) produced ESBL. The strains of *E. coli* and *K. pneumoniae* were resistant the third-generation cephalosporins (ceftriaxone, cefuroxime, ceftazidime, cefotaxime) at a high level. There is an increase in the level of antibiotic resistance, especially with the third-generation cephalosporins in strains of *E. coli* and *K. pneumoniae* ESBL(+) compared to non-ESBL strains.

Key words: *E. coli*; *Klebsiella pneumoniae*, extended-spectrum beta lactamases, cephalosporin, antibiotic resistance.

Ngày nhận bài: 13/3/2014; Ngày phân biện: 16/3/2014; Ngày duyệt đăng: 25/3/2014

Phân biện khoa học: PGS.TS Trịnh Xuân Đán – Trường Đại học Y Dược – ĐH Thái Nguyên

* Tel: 0978.626.649; Email: dactrung69@gmail.com