

Nghiên cứu đặc điểm kháng kháng sinh của các vi khuẩn sinh ESBL phân lập được tại Bệnh viện 103 giai đoạn 2007 - 2009

Nguyễn Thái Sơn; Nguyễn Văn Việt*; Lê Thu Hồng*; Hà Thị Thu Vân**

TÓM TẮT

Gần đây xuất hiện các vi khuẩn (VK) Gram (-) sinh enzyme β -lactamase phổ rộng (ESBL: extended-spectrum beta lactamase) có khả năng phá hủy nhiều kháng sinh đồng thời, kể cả các kháng sinh thế hệ mới nhất. Các VK này đang là mối quan tâm của nhiều quốc gia trên thế giới. Từ 2007 - 2009, Khoa Vi sinh, Bệnh viện 103 đã phân lập được 401 chủng VK Gram (-) từ các loại bệnh phẩm khác nhau. Trong các VK Gram (-) sinh ESBL, chiếm tỷ lệ cao nhất là *E. coli* (32,43%), tiếp đến là *P. aeruginosa* (26,35%), *Enterobacter*, *Acinobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*. Kiểu kháng đồng thời từ 6 - 8 kháng sinh là đặc trưng của các VK sinh ESBL. Các chủng sinh ESBL kháng đồng thời nhiều kháng sinh đang gia tăng qua các năm (8,33 - 15,38% năm 2008, 18,75 - 25,0% năm 2009).

* Từ khóa: ESBL; Kháng kháng sinh; Kháng thuốc phổ rộng; Vi khuẩn Gram (-).

Study of multiple ESBL antibiotic resistance strains isolated in 103 Hospital from 2007 to 2009

Summary

*The presence of Gram-negative bacteria that generate extended spectrum beta-lactamase enzymes (ESBL) can destroy multiple antibiotics simultaneously, including the latest generation of antibiotics are emerging recently. These bacteria are of concern of many countries around the world. In the period 2007 - 2009, Department of Microbiology of 103 Hospital has isolated a total of 401 strains of gram-negative bacteria from different types of swabs. In Gram-negative bacteria, the proportion of ESBL bacteria was highest *E. coli* (32.43%), followed by *P. aeruginosa* (26.35%), then by *Enterobacter*, *Acinobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*. Resistance simultaneously from 6 - 8 antibiotics is characterized by ESBL bacteria 2007 - 2009. The multiple ESBL antibiotic resistance strains are increasing over the years (8.33 to 15.38% in 2008, from 18.75 to 25.0% in 2009).*

* Key words: ESBL; Antibiotic resistance; Broad-spectrum resistance; Gram-negative bacteria.

* Bệnh viện 103

Phản biện khoa học: GS. TS. Lê Bách Quang

ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc phát minh ra kháng sinh là cuộc cách mạng trong điều trị các bệnh lý nhiễm trùng. Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh

tràn lan trong những thập kỷ vừa qua đã dẫn đến xuất hiện nhiều chủng VK kháng kháng sinh. Hiện nay, tình hình kháng kháng sinh của VK gây bệnh đã trở thành

vấn đề nghiêm trọng của Ngành Y tế và của toàn xã hội, nhiều bệnh dịch nhiễm trùng kháng thuốc và kháng sinh dần mất hiệu lực điều trị. Với sự tiến bộ của y học, nhiều kháng sinh mới được đưa vào sử dụng trên lâm sàng, tuy nhiên, các VK lại sinh enzyme β -lactamase phổ rộng dẫn đến đề kháng với kháng sinh mới.

Ở Việt Nam, trong những năm gần đây đã có một số nghiên cứu về các chủng sinh ESBL, tuy nhiên tỷ lệ sinh ESBL của VK gây bệnh khác nhau giữa các địa điểm nghiên cứu, khu vực và chủng loài. Bệnh viện 103 là bệnh viện tuyến cuối của toàn quân với lưu lượng bệnh nhân rất lớn. Nghiên cứu về VK sinh ESBL tại Bệnh viện 103 không chỉ giúp ích cho công tác điều trị nhiễm trùng tại khu vực mà còn có giá trị cho nhiều cơ sở y tế khác trong và ngoài quân đội. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm mục tiêu:

48 *Các định tỷ lệ, đặc trưng về tính kháng kháng sinh của các chủng VK sinh ESBL phân lập được tại Bệnh viện 103 từ 2007 - 2009.*

ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

Tất cả các chủng VK gây bệnh phân lập được từ bệnh nhân đến khám và điều trị tại Bệnh viện 103 từ 2007 - 2009, có chỉ định xét nghiệm cấy khuẩn và làm kháng sinh đồ.

2. Vật liệu nghiên cứu.

- Môi trường nuôi cấy, phân lập VK và làm kháng sinh đồ (hãng Bio-Rad).
- Thanh định danh VK API (hãng Bio-Merieux).

3. Phương pháp, kỹ thuật nghiên cứu.

- Lấy bệnh phẩm, nhuộm soi, nuôi cấy, phân lập, xác định loài VK và kháng sinh đồ theo hướng dẫn thường quy của WHO [8].
- Xác định VK sinh ESBL theo hướng dẫn của CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) [6].

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Tỷ lệ các VK Gram (-) gây bệnh tại Bệnh viện 103 giai đoạn 2007- 2009.

Bảng 1: Tỷ lệ các loài VK Gram (-) phân lập được.

LOÀI VK	2007		2008		2009		TỔNG 3 NĂM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>E. coli</i>	27	7,58	23	5,52	35	8,91	85	7,29
<i>P. aeruginosa</i>	21	5,80	22	5,28	25	6,36	68	5,83
<i>Enterobacter</i>	22	6,18	14	3,36	9	2,29	45	3,86
<i>Acinobacter</i>	2	0,56	5	1,20	9	2,29	16	1,37
<i>Citrobacter</i>	6	1,69	9	2,16	5	1,27	20	1,72
<i>Klebsiella</i>	12	3,37	2	0,48	5	1,27	19	1,63
VK khác	41	11,52	77	18,47	30	7,63	148	12,69
Cộng	131	36,80	152	36,45	118	30,03	401	34,39

Do chủng VK Gram (-) có khả năng truyền cho nhau các gen mang tính kháng thuốc với tần suất cao, đặc biệt là gen mã hóa cho enzyme ESBL [7], vì vậy nghiên cứu này tập trung phát hiện những chủng VK Gram (-) sinh ESBL. Từ 2007 - 2009, đã phân lập được 401 chủng VK Gram (-). Bảng 1 cho thấy: VK gây bệnh hay gặp nhất là *E. coli*, tiếp theo là *P. aeruginosa*, *Enterobacter*, *Acinobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*.

Giai đoạn 2005 - 2006, đứng đầu là *P. aeruginosa* rồi đến *E. coli*, các VK khác như *Acinobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* rất hiếm gặp [3], tuy nhiên do chúng có khả năng tiếp nhận gen mã hóa cho enzyme ESBL nên tỷ lệ dần tăng lên do khả năng kháng thuốc trong điều trị. Xu hướng này cũng cảnh báo VK Gram (-) sinh ESBL sẽ là thách thức lớn trong điều trị nhiễm trùng vào những năm tới.

2. Đặc điểm kháng kháng sinh các chủng VK sinh ESBL.

* Tỷ lệ sinh ESBL trong các loài VK Gram (-):

Bảng 2:

	2007	2008	2009	TỔNG 3 NĂM
--	------	------	------	------------

AMC	16,67	20,00	20,00	38,46	26,67	40,00	21,62	33,33	> 0,05
CXM	8,33	40,00	30,00	69,23	20,00	70,00	18,92	60,42	< 0,01
CRO	8,33	60,00	10,00	76,92	13,33	75,00	10,81	70,83	< 0,01
CTX	8,33	60,00	20,00	69,23	13,33	70,00	13,51	66,67	< 0,01
CAZ	8,33	40,00	10,00	61,54	25,00	70,00	16,22	58,33	< 0,01
FEP	0,00	33,33	10,00	38,46	13,33	40,00	10,81	37,50	< 0,01
IPM	0,00	0,00	20,00	23,08	20,00	25,00	16,22	16,67	> 0,05
AN	8,33	20,00	30,00	30,77	26,67	30,00	21,62	27,08	> 0,05
CIP	16,67	46,67	30,00	53,85	20,00	50,00	21,62	50,00	< 0,01
OFX	16,67	46,67	60,00	61,54	66,67	65,00	48,65	60,42	> 0,05
DO	33,33	93,33	70,00	100	60,00	95,00	54,05	95,83	< 0,01

(AMC: amoxicillin/clavulanic, CXM: cefuroxim, CRO: ceftriaxon, CTX: cefotaxim, CAZ: ceftazidim, FEP: cefepim, IMP: imipenem, AN: amikacin, CIP: ciprofloxacin, DO: doxycyclin, OFX: ofloxacin).

Tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng sinh ESBL cao hơn rõ rệt so với các chủng không có ESBL. Kết quả này phù hợp với những nghiên cứu đã công bố về tính kháng thuốc của các chủng VK sinh ESBL cả trong và ngoài nước [1, 4].

Bảng 4: Kiểu đa kháng thuốc của *E. coli*.

KIỂU KHÁNG KHÁNG SINH	2007		2008		2009	
	ESBL (-) %	ESBL (+) %	ESBL (-) %	ESBL (+) %	ESBL (-) %	ESBL (+) %
Kháng 1 kháng sinh	75,00	6,67	20,00	7,69	26,67	5,00
Kháng 2 - 3 kháng sinh	16,67	13,33	50,00	7,69	46,66	5,00
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Kháng 4 - 5 kháng sinh	8,33	46,67	33,33	15,38	26,67	20,00
Kháng 6 - 7 kháng sinh	0,00	33,33	0,00	53,86	0	45,00
Kháng 8 kháng sinh	0,00	0,00	0,00	15,38	0	25,00

Kiểu kháng đồng thời nhiều kháng sinh ($\geq 6 - 7$ kháng sinh) là đặc trưng của các VK sinh ESBL. *E. coli* sinh ESBL kháng 4 - 5 kháng sinh chiếm 15,38 - 46,67%, kháng 6 - 7 kháng sinh là 33,33 - 53,86%, kháng 8 kháng sinh đồng thời mới chỉ xuất hiện từ năm 2008 (15,38%) và tăng gần gấp đôi vào năm 2009 (25%).

Bảng 5: Mức độ kháng thuốc của các chủng *P. aeruginosa* sinh ESBL.

KHÁNG SINH	2007 (n = 21)		2008 (n = 22)		2009 (n = 35)		Tổng (n = 68)		p
	% kháng		% kháng		% kháng		% kháng		
	ESBL (-)	ESBL (+)	ESBL (-)	ESBL (+)	ESBL (-)	ESBL (+)	ESBL (-)	ESBL (+)	
AMC	60,00	81,82	80,00	83,33	77,78	81,25	72,41	82,05	> 0,05
CRO	50,00	81,82	70,00	75,00	55,56	75,00	58,62	76,92	> 0,05
CTX	60,00	63,64	60,00	66,67	44,44	68,75	55,17	66,67	> 0,05
CAZ	40,00	54,55	40,00	50,00	44,44	56,25	41,38	53,85	> 0,05
ATM	70,00	54,55	70,00	41,67	77,78	43,75	72,41	46,15	< 0,05
FEP	50,00	72,73	60,00	83,33	44,44	81,25	51,72	79,49	< 0,05
IPM	20,00	9,09	20,00	16,67	22,22	18,75	20,69	15,38	> 0,05
AN	40,00	90,91	30,00	91,67	22,22	93,75	31,03	92,51	< 0,01
CIP	30,00	45,45	50,00	58,33	44,44	56,25	41,38	53,58	> 0,05

Do tất cả các chủng *P. aeruginosa* đều kháng kháng sinh ở mức cao nên không thấy rõ sự khác biệt giữa chủng ESBL (+) và ESBL (-). Với amikacine và cefepim, các chủng *P. aeruginosa* ESBL (+) có tỷ lệ kháng cao hơn có ý nghĩa so với các chủng ESBL (-) ($p < 0,05$).

52 **Bảng 6:** Kiểu đa kháng thuốc của *P. aeruginosa*.

KIỂU KHÁNG KHÁNG SINH	2007		2008		2009	
	ESBL (-)	ESBL (+)	ESBL (-)	ESBL (+)	ESBL (-)	ESBL (+)
	%	%	%	%	%	%
Kháng 1 kháng sinh	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Kháng 2 - 3 kháng sinh	20,00	9,09	20,00	8,33	33,33	18,75
Kháng 4 - 5 kháng sinh	70,00	54,55	80,00	50,00	66,67	31,25
Kháng 6 - 7 kháng sinh	0,00	36,36	0,00	33,34	0,00	31,25
Kháng 8 kháng sinh	0,00	0,00	0,00	8,33	0,00	18,75

Khảo sát tính kháng của VK *P. aeruginosa* với từng kháng sinh đơn lẻ, không thấy rõ vai trò của chủng sinh ESBL, do chúng đều kháng kháng sinh ở mức cao, nhưng khi nghiên cứu về khả năng kháng đồng thời nhiều kháng sinh (đa kháng), thì thấy các chủng *P. aeruginosa* sinh ESBL kháng đồng thời nhiều kháng sinh, cao hơn rõ rệt so với các chủng không sinh ESBL, đây chính là đặc điểm của VK kháng thuốc có ESBL. Tương tự như *E. coli*, kiểu kháng đồng thời nhiều kháng sinh (≥ 8 kháng sinh) mới xuất hiện từ năm 2008 với tỷ lệ 8,33%, nhưng đã tăng hơn gấp đôi vào năm 2009 (18,75%).

Kết quả trên cho thấy cần thường xuyên theo dõi tỷ lệ, mức độ kháng kháng sinh của các VK, đặc biệt các VK sinh ESBL để có hướng điều trị kháng sinh cho phù hợp, góp phần hạn chế sự lan truyền VK đa đề kháng. Theo khuyến cáo của WHO, với những bệnh nhân nhiễm khuẩn sinh ESBL cần cách ly điều trị với dụng cụ can thiệp riêng để hạn chế lây lan [8].

KẾT LUẬN

Trong các VK Gram (-) sinh ESBL, chiếm tỷ lệ cao nhất là *E. coli* (32,43%), tiếp đến là *P. aeruginosa* (26,35%), *Enterobacter*, *Acinobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*.

Các VK Gram (-) sinh ESBL có tỷ lệ kháng kháng sinh cao hơn rõ rệt so với VK không sinh ESBL và có đặc điểm kháng đồng thời nhiều kháng sinh, kể cả các cephalosporin thế hệ 3, 4.

Kiểu kháng đồng thời 6 - 8 kháng sinh là đặc trưng của các VK sinh ESBL giai đoạn 2007 - 2009. Những chủng sinh ESBL kháng đồng thời nhiều kháng sinh đang gia tăng qua các năm (0% năm 2007; 8,33 - 15,38% năm 2008, 18,75 - 25,0% năm 2009).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đoàn Mai Phương và CS. Kết quả phát hiện men beta-lactamase phổ rộng tại Bệnh viện Bạch Mai từ 1 - 07 - 2005 đến 1 - 12 - 2005. Thông báo nội bộ. 2005.
2. Phan Quốc Hoàn và CS. Tỷ lệ các chủng *K. pneumoniae* có beta-lactamase phổ rộng và mối liên quan với tình trạng kháng kháng sinh. Chuyên đề các công trình nghiên cứu về bệnh nhiệt đới. Tạp chí Y học quân sự, Cục Quân y. Hà Nội. 2006, tr.8-9.
3. Nguyễn Văn Việt, Nguyễn Thái Sơn, Lê Thu Hồng, Kiều Chí Thành. Nghiên cứu giám sát tính kháng thuốc của VK gây bệnh tại Bệnh viện 103 giai đoạn 2006 - 2007. Tạp chí Y Dược học quân sự. 2008, Vol 33 (4), pp.43-48.
4. Bell J.M., Turnidge J.D., Gales A.C., Pfaller M.A., Jones R.N. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998 - 1999). Diagn Microbiol Infect Dis. 2002, 42, pp.193-198.

5. Kumar M.S, Lakshmi V, Rajagopalan R. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae spp. Isolated at a tertiary care institute. Indian Journal of Medical Microbiol. 2006, 24 (3), pp.208-211.

6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Fourteenth informational supplement. M100-S14. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, PA. 2004.

7. Paterson D.L, Bonomo R.A. Extended-spectrum beta-lactamase: a Clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005, 18, pp.657-686.

8. Valdepitte J. et al. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. WHO. 2003, Second edition.