

# Tình hình đề kháng kháng sinh và tỷ lệ mang gen $bla_{VIM}$ , $bla_{IMP}$ của các chủng *Klebsiella pneumoniae* được phân lập ở Bệnh viện Trung ương Huế và Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế năm 2021-2022

Lê Thị Quỳnh Trân<sup>1</sup>, Mai Văn Tuấn<sup>2</sup>, Lê Văn An<sup>3\*</sup>

(1) Khoa Vi sinh, Bệnh viện Nhân Dân Gia Định, thành phố Hồ Chí Minh

(2) Khoa Vi sinh Bệnh viện Trung ương Huế, thành phố Huế

(3) Bộ môn Vi sinh, Trường Đại học Y - Dược Huế, thành phố Huế

## Tóm tắt

**Mục tiêu:** Nghiên cứu này nhằm khảo sát tình hình đề kháng kháng sinh và xác định tỷ lệ mang các gen  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{IMP}$  ở các chủng *Klebsiella pneumoniae* phân lập được ở Bệnh viện Trung ương Huế và Bệnh viện Trường Đại học Y-Dược Huế. Đối tượng, phương pháp: Dùng phương pháp vi khuẩn học truyền thống để định danh và xác định đặc điểm kháng thuốc, sinh ESBL của *Klebsiella pneumoniae*. Dùng kỹ thuật Multiplex PCR để phát hiện các gen  $bla_{VIM}$  và  $bla_{IMP}$ . **Kết quả:** Các chủng *Klebsiella pneumoniae* phân lập có tỷ lệ đề kháng cao với các kháng sinh như cefuroxime (54,2%), ceftriaxone (74,5%), cefepime (66,5%), meropenem (53,7%), ertapenem (57,9%) và ciprofloxacin (78,8%). Tỷ lệ *Klebsiella pneumoniae* đa kháng (MDR-Multidrug Resistance) là 65,5% và đề kháng từ 5 loại kháng sinh trở lên chiếm 63,4%. Tỷ lệ *Klebsiella pneumoniae* sinh enzyme ESBL là 42,8%. Các chủng sinh ESBL có tỷ lệ đề kháng kháng sinh cao hơn các chủng không sinh ESBL. Tỷ lệ mang gen  $bla_{VIM}$  và  $bla_{IMP}$  của các chủng *Klebsiella pneumoniae* lần lượt là 22,1% và 11,7%, trong đó có 6 chủng (4,1%) mang cả hai gen. **Kết luận:** *Klebsiella pneumoniae* đề kháng cao với nhiều kháng sinh, tỷ lệ MDR là 65,5%, tỷ lệ sinh enzyme ESBL là 42,8%. Tỷ lệ mang gen  $bla_{VIM}$  và  $bla_{IMP}$  lần lượt là 22,1% và 11,7%.

**Từ khóa:** *Klebsiella pneumoniae*, kháng kháng sinh, đa kháng,  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{IMP}$ .

## Antibiotic resistance profile and prevalence of $bla_{VIM}$ and $bla_{IMP}$ genes of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from Hue Central Hospital and Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital between 2021 and 2022

Le Thi Quynh Tran<sup>1</sup>, Mai Van Tuan<sup>2</sup>, Le Van An<sup>3\*</sup>

(1) Department of Microbiology, Gia Dinh People's Hospital, Ho Chi Minh City.

(2) Department of Microbiology, Hue Central Hospital

(3) Department of Microbiology, Hue University of Medicine and Pharmacy

## Abstract

**Objectives:** the study aimed to investigate the antibiotic resistance profile and to determine the prevalence of carbapenem resistance genes in *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from the patients hospitalized in Hue Central Hospital and Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital. **Methods:** traditional microbiological methods were used for bacterial identification, antibiotic susceptible testing and phenotypic method for detection of extended spectrum beta-lactamases on 145 *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from the clinical samples. Multiplex PCR was used for detection of  $bla_{VIM}$  and  $bla_{IMP}$  genes. **Results:** *Klebsiella pneumoniae* strains showed high rates of resistance to several antibiotics such as cefuroxime (54.2%), ceftriaxone (74.5%), cefepime (66.5%), meropenem (53.7%), ertapenem (57.9%) and ciprofloxacin (78.8%). The rate of *Klebsiella pneumoniae* isolates with multidrug resistance (MDR) was 65.5% and resistant rate to 5 or more antibiotics was found at 63.4% of bacterial isolates. The rate of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* was 42.8%, ESBL-producing strains showed a higher rate of antibiotic resistance than non-ESBL-producing strains. The prevalence of  $bla_{VIM}$  and  $bla_{IMP}$  genes of *Klebsiella pneumoniae* isolates was 22.1% and 11.7%, respectively, of which 6 strains (4.1%) carried both genes. **Conclusions:** *Klebsiella pneumoniae* isolates were highly resistant to several antibiotics, the rate of MDR was 65.5%, the rate of ESBL enzyme production was 42.8%. The prevalence of  $bla_{VIM}$  and  $bla_{IMP}$  genes was 22.1% and 11.7% respectively.

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae*, antibiotic resistance, multidrug resistance,  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{IMP}$ .

Tác giả liên hệ: Lê Văn An. Email: lvanvs@huemed-univ.edu.vn

Ngày nhận bài: 8/4/2024; Ngày đồng ý đăng: 5/9/2024; Ngày xuất bản: 25/12/2024

DOI: 10.34071/jmp.2024.7.21

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

*Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) là trực khuẩn Gram âm gây các nhiễm trùng bệnh viện thường gặp như viêm phổi, nhiễm trùng tiết niệu, nhiễm khuẩn huyết, nhiễm trùng vết thương, đặc biệt gây áp-xe gan ở các bệnh nhân suy giảm miễn dịch [1]. Trong các vi khuẩn họ *Enterobacteriaceae*, *K. pneumoniae* đề kháng với nhiều thuốc kháng sinh trong điều trị, chỉ đứng sau *E.coli* [2]. Sự đề kháng kháng sinh của *K. pneumoniae* do khả năng sản xuất nhiều enzyme ESBL phá hủy hầu hết các kháng sinh beta lactam phổ rộng, kể cả các carbapenem là nhóm kháng sinh được lựa chọn cuối cùng trong điều trị các nhiễm trùng do vi khuẩn Gram âm đa đề kháng. Các *K. pneumoniae* đề kháng carbapenem sản xuất các enzyme metallo-beta-lactamases (MBLs) này thường tìm thấy có các plasmid mang gen *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>NDM</sub>* và *bla<sub>IMP</sub>* [1], [2].

Ở Việt Nam, Trịnh Văn Sơn và các tác giả khảo sát tình hình mang gen *bla<sub>NDM-1</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>KPC</sub>* và *bla<sub>OXA-48</sub>* ở 50 chủng *K. pneumoniae* gây nhiễm khuẩn máu ở 50 bệnh nhân tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 từ 10/2014 đến 05/2016 cho thấy tỷ lệ mang gen này 24,0%, 12,0%, 2,0% và 2,0% [3]. Trần Thị Tuyết Ngọc và các tác giả trong hai năm 2018 - 2019 đã xác định các gen *bla<sub>NDM-1</sub>*, *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>* trên 100 chủng *K. pneumoniae* phân lập Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế và Bệnh viện và BV Khánh Hòa và nhận thấy tỷ lệ mang gen *bla<sub>NDM-1</sub>* là 11% và với mỗi gen *bla<sub>KPC</sub>* và *bla<sub>OXA-48</sub>* là 2%, nghiên cứu này chưa xác định tình hình mang các gen *bla<sub>IMP</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>* ở *K. pneumoniae* phân lập [4].

Hàng năm tỷ lệ bệnh nhân vào bệnh viện nhiễm *K. pneumoniae* tại Bệnh viện Trung ương Huế và Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế khá cao. Để khảo sát tình hình đề kháng kháng sinh và mang các gen *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>* của các chủng *K. pneumoniae* được phân lập ở hai bệnh viện tại thành phố Huế, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm các mục tiêu sau

1. Khảo sát tình hình kháng thuốc kháng sinh của *Klebsiella pneumoniae* được phân lập ở Bệnh viện Trung ương Huế và Bệnh viện Trường Đại học Y-Dược Huế năm 2021-2022.

2. Xác định tỷ lệ mang gen *bla<sub>VIM</sub>* và *bla<sub>IMP</sub>* ở các chủng *Klebsiella pneumoniae* được phân lập.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu trên 145 chủng vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae* phân lập được từ 145 bệnh nhân nhiễm khuẩn điều trị tại Bệnh viện Trung ương Huế và Bệnh viện Trường Đại học Y-Dược Huế. Trong đó 105 chủng ở Bệnh viện Trung ương Huế và 40 chủng ở Bệnh viện Trường Đại học Y-Dược Huế.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 05/2021 đến tháng 06/2022.

Các bệnh phẩm được nuôi cấy phân lập theo quy trình hướng dẫn của Bộ Y tế [5]. Định danh *K. pneumoniae* khi có đủ tiêu chuẩn sau đây: trực khuẩn Gram âm, tính chất phát triển đặc thù khuẩn lạc tròn, lồi, nhầy trên môi trường nuôi cấy, các tính chất hóa sinh trên thang định danh API 20E (BioMérieux, France).

Xác định mức độ kháng kháng sinh của *K. pneumoniae* phân lập được bằng phương pháp Kirby - Bauer và phương pháp đo nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các kháng sinh bằng hệ thống máy kháng sinh đồ tự động Vitek 2 compact (Hãng BioMérieux, France). Phân loại mức độ đề kháng kháng sinh: nhạy cảm, trung gian, đề kháng dựa trên tiêu chuẩn theo CLSI 2020 [6]. Đề kháng với carbapenem khi chủng *K. pneumoniae* đề kháng với ít nhất 1 trong 3 kháng sinh được thử (imipenem, meropenem, ertapenem), đề kháng với nhóm kháng sinh khi vi khuẩn đề kháng với ít nhất 1 kháng sinh trong nhóm và đa đề kháng (MDR) khi vi khuẩn này đề kháng với ít nhất 1 kháng sinh trong 3 loại (nhóm) kháng sinh khác nhau theo các định nghĩa của nhóm chuyên gia quốc tế năm 2011 [7].

Dùng phương pháp đĩa kết hợp để xác định các chủng *K. pneumoniae* sinh ESBL: sử dụng đĩa kháng sinh ceftazidime (30µg) và ceftazidime (30µg) phối hợp với clavulanic acid (10µg). Vi khuẩn tiết ESBL khi hiệu số đường kính vòng vô khuẩn của đĩa ceftazidime phối hợp với clavulanic acid so với đĩa ceftazidime 30µg đơn thuần  $\geq 5$ mm [6].

Xác định các gen *bla<sub>VIM</sub>* và *bla<sub>IMP</sub>* bằng phương pháp Multiplex PCR sử dụng các mồi đặc hiệu (Bảng 1). Các bước tiến hành:

+ Tách chiết DNA từ các chủng vi khuẩn *K. pneumoniae* bằng phương pháp nhiệt, ly tâm và thu dịch nổi để thực hiện kỹ thuật multiplex PCR [8].

+ Thực hiện Multiplex PCR với sinh phẩm 2X Master Mix-Tracking Dye, thành phần của phản ứng gồm Master Mix 2X (12,5µl), nồng độ mỗi mồi (0,4 pmol/µl) và dịch chiết DNA (2µl) của vi khuẩn và nước cất tinh khiết, tổng thể tích phản ứng là 25µl. Chu trình luân nhiệt trên máy Applied Biosystems với điều kiện nhiệt được thay đổi so với điều kiện nhiệt của Dallenne.C và Ellington MJ [8], [9], cụ thể tách DNA đầu tiên ở 95°C/5 phút, tiếp theo là lặp lại 36 chu kỳ (với tách DNA ở 95°C/30 giây, cặp đôi mồi ở 52°C/40 giây, kéo dài chuỗi ở 72°C/1 phút), kéo dài chuỗi DNA cuối cùng ở 72°C/5 phút. Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1,5% và đọc kết quả với buồng đọc UVP. Các gen *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>* dương tính khi có băng sản phẩm PCR với chiều dài tương ứng.

**Bảng 1.** Trình tự primer của các vùng gen được chọn trong nghiên cứu

| Gen                      | Tên mồi                     | Trình tự                     | Kích thước sản phẩm (bp) | TLTK |
|--------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------|------|
| <i>bla<sub>VIM</sub></i> | <i>bla<sub>VIM</sub></i> -F | 5' GATGGTGTGTTGGTCGCATA 3'   | 390bp                    | [8]  |
|                          | <i>bla<sub>VIM</sub></i> -R | 5' CGAATGCGCAGCACCAG 3'      |                          |      |
| <i>bla<sub>IMP</sub></i> | <i>bla<sub>IMP</sub></i> -F | 5' GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC 3' | 188bp                    | [9]  |
|                          | <i>bla<sub>IMP</sub></i> -R | 5' CCAAACYACTASGTTATCT 3'    |                          |      |

### 2.3. Xử lý số liệu

Xử lý bằng phần mềm thống kê y học SPSS 20.0. Số liệu được biểu hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm, giá trị trung bình, kiểm định Chi bình phương để xác định mức độ khác nhau có ý nghĩa khi so sánh các số liệu thu được  $p < 0,05$  được kết luận là có ý nghĩa thống kê.

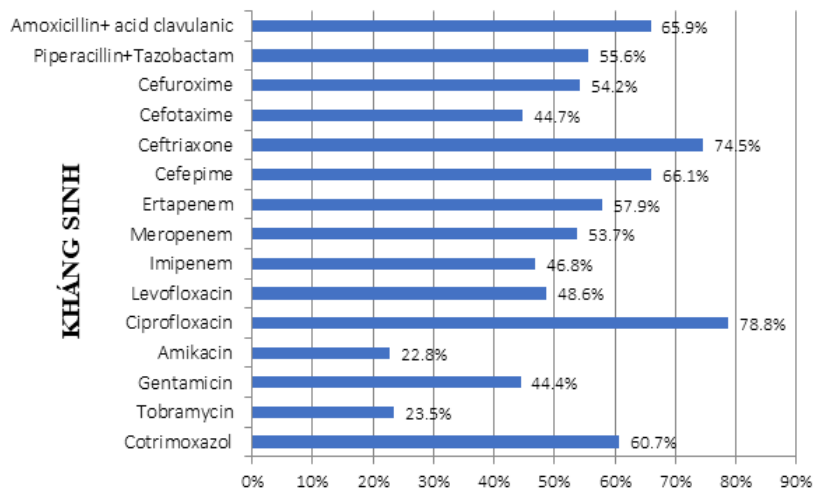
### 2.4. Vấn đề y đức

Đề tài nghiên cứu đã được thông qua Hội Đồng Y Đức của Trường Đại học Y-Dược, Đại học Huế số: H2021/226 ngày 28 tháng 05 năm 2021.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Từ tháng 5 năm 2021 đến tháng 6 năm 2022 đã có 145 chủng *Klebsiella pneumoniae* được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm của 145 bệnh nhân nhiễm khuẩn điều trị tại Bệnh viện Trung ương Huế và Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế.

### 3.1. Tỷ lệ đề kháng thuốc kháng sinh của các chủng *K. pneumoniae* được phân lập



**Biểu đồ 1.** Tỷ lệ đề kháng với các kháng sinh của *K. pneumoniae* được phân lập

Các chủng *Klebsiella pneumoniae* phân lập có tỷ lệ đề kháng cao với các kháng sinh như cefuroxime (54,2%), ceftriaxone (74,5%), cefepime (66,5%), meropenem (53,7%), ertapenem (57,9%) và ciprofloxacin (78,8%).

Theo định nghĩa đề kháng carbapenem và đa đề kháng [7], trong 145 chủng khảo sát chúng tôi tìm thấy có 73 chủng (50,3%) đề kháng với carbapenem,

và có 95 chủng đề kháng với ít nhất 1 kháng sinh trong 3 nhóm kháng sinh trở lên (đa đề kháng), tỷ lệ đa đề kháng của các *K. pneumoniae* được phân lập là 65,5% (95/145). Trong đó đề kháng với từ 5 kháng sinh trở lên là 63,4% (92/145). Có 62 (42,8%) chủng *K. pneumoniae* sinh enzyme ESBL và 83 (57,2%) chủng *K. pneumoniae* không sinh ESBL.

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

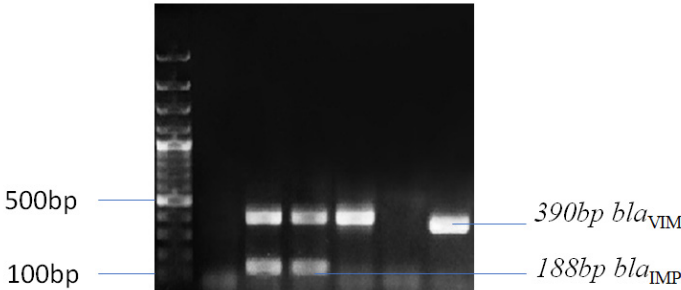
| Nhóm kháng sinh     | <i>K. pneumoniae</i> ESBL (-)<br>(n =83) |       |       | <i>K. pneumoniae</i> ESBL (+)<br>(n =62) |       |       | p      |
|---------------------|------------------------------------------|-------|-------|------------------------------------------|-------|-------|--------|
|                     | S (%)                                    | I (%) | R (%) | S (%)                                    | I (%) | R (%) |        |
| Penicillin phổ rộng | 50,6                                     | 3,6   | 45,8  | 22,6                                     | 9,7   | 67,7  | <0,05  |
| Cephalosporin II    | 66,7                                     | 6,7   | 26,6  | 0                                        | 0     | 100   | <0,001 |
| Cephalosporin III   | 56,6                                     | 0     | 43,4  | 1,6                                      | 0     | 98,2  | <0,001 |
| Cephalosporin IV    | 14,7                                     | 1,5   | 83,8  | 1,8                                      | 3,6   | 94,6  | <0,05  |
| Carbapenem          | 53,0                                     | 6,0   | 41,0  | 32,3                                     | 4,8   | 62,9  | <0,05  |
| Chloramphenicol     | 66,7                                     | 8,3   | 25    | 60,0                                     | 23,3  | 16,7  | >0,05  |
| Quinolone           | 50,0                                     | 6,1   | 43,9  | 8,1                                      | 1,6   | 90,3  | 0,001  |
| Aminoglycoside      | 64,6                                     | 4,6   | 30,8  | 37,5                                     | 0     | 62,5  | <0,001 |
| Cotrimoxazol        | 49,4                                     | 3,6   | 47,0  | 21,0                                     | 0     | 79,0  | <0,001 |

*K. pneumoniae* sinh ESBL có tỷ lệ đề kháng các nhóm kháng sinh cao hơn có ý nghĩa so với *K. pneumoniae* không sinh ESBL ở hầu hết các nhóm kháng sinh thử nghiệm, trừ nhóm phenicol (p >0,05).

**3.2. Tỷ lệ mang gen  $bla_{VIM}$  và  $bla_{IMP}$  của các chủng *K. pneumoniae* được phân lập**

**Bảng 3.** Tỷ lệ mang gen  $bla_{VIM}$  và  $bla_{IMP}$  của 145 chủng *K. pneumoniae* được phân lập

| <i>K. pneumoniae</i> có mang gen | Số lượng | Tỷ lệ % |
|----------------------------------|----------|---------|
| $bla_{VIM}$                      | 32       | 22,1    |
| Chỉ có $bla_{VIM}$               | 26       | 17,9    |
| $bla_{IMP}$                      | 17       | 11,7    |
| Chỉ có $bla_{IMP}$               | 11       | 7,6     |
| Có cả $bla_{VIM}$ và $bla_{IMP}$ | 6        | 4,1     |



**Hình 1.** Kết quả điện di sản phẩm PCR xác định 2 gen  $bla_{VIM}$  và  $bla_{IMP}$

**Bảng 4.** Tỷ lệ *K. pneumoniae* mang gen  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{IMP}$  và đề kháng carbapenem

| Kiểu hình                  | <i>Gen bla<sub>VIM</sub></i> |         | <i>Gen bla<sub>IMP</sub></i> |         |
|----------------------------|------------------------------|---------|------------------------------|---------|
|                            | Số lượng                     | Tỷ lệ % | Số lượng                     | Tỷ lệ % |
| Kháng carbapenem (n=73)    | 32                           | 43,8    | 16                           | 21,9    |
| Nhạy cảm carbapenem (n=72) | 0                            | -       | 1                            | 1,4     |
| Có ESBL (n= 62)            | 32                           | 46,4    | 17                           | 27,4    |
| Không có ESBL (n= 83)      | 0                            | 0       | 0                            | 0       |

Trong nhóm 73 chủng kháng carbapenem có 43,8% (32/73) mang gen  $bla_{VIM'}$ , mang gen  $bla_{VIM}$  chiếm 21,9% (16/73), đặc biệt có 1 chủng mang gen  $bla_{IMP}$  có kháng sinh đồ nhạy cảm với carbapenem. Các chủng mang gen đều nằm trong nhóm có ESBL dương tính.

**Bảng 5.** Tỷ lệ chủng *K. pneumoniae* mang gen  $bla_{VIM'}$ ,  $bla_{IMP}$  và đề kháng kháng sinh

| Nhóm kháng sinh đề kháng | mang gen $bla_{VIM}$ (n=32) | mang gen $bla_{IMP}$ (n=17) |
|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Nhóm $\beta$ lactam      | 100% (32)                   | 94,1 (16)                   |
| Quinolone                | 96,9 (31)                   | 94,1 (16)                   |
| Aminoglycoside           | 71,8 (23)                   | 70,6 (12)                   |
| Cotrimoxazol             | 84,4 (27)                   | 88,2 (15)                   |

*K. pneumoniae* mang gen  $bla_{VIM}$  hay  $bla_{IMP}$  có tỷ lệ đề kháng cao với nhiều nhóm kháng sinh.

#### 4. BÀN LUẬN

##### 4.1. Đặc điểm đề kháng thuốc kháng sinh của các chủng *K. pneumoniae* được phân lập

Kết quả cho thấy *K. pneumoniae* có tỷ lệ đề kháng với ciprofloxacin cao nhất 78,8%. Các thuốc nhóm cephalosporin có tỷ lệ đề kháng từ 44,7% - 74,5%, đề kháng với các kháng sinh nhóm carbapenem ở mức trung bình từ 46,8% - 57,9%. Kháng sinh phối hợp như amoxicillin + acid clavulanic và piperacillin + tazobactam có tỷ lệ kháng lần lượt là 65,6% và 55,6%. Tỷ lệ *K. pneumoniae* đề kháng với cotrimoxazol 60,7%, với các aminoglycoside từ 22,8% - 44,4%, trong đó amikacin là 22,8%.

Kết quả này tương tự như kết quả nghiên cứu của một số tác giả trong và ngoài nước. Tác giả Nguyễn Chí Nguyễn (2021-2022), *K. pneumoniae* đề kháng cephalosporins với tỷ lệ từ 61,2% - 76,5%, với carbapenem từ 43,2% - 49%, tỷ lệ đề kháng cao với ciprofloxacin 69,9% và đề kháng thấp nhất với amikacin 17,4% [10]. Al-Zalabani A ở Medina, Saudi Arabia (2014-2018) nghiên cứu trên 15708 chủng *K. pneumoniae*, tỷ lệ đề kháng với amoxicillin/clavulanic acid là 72%, piperacillin/tazobactam 58,7%, cefuroxim 73,8%, với cephalosporin III dao động từ 57,5% đến 77,8% (ceftazidime là 66,9%, cefotaxime 77% và ceftriaxone 77,8%), cefepime 68,4%, tỷ lệ kháng với levofloxacin là 57,7% và ciprofloxacin 61,1%, tỷ lệ kháng thấp với aminoglycoside như amikacin chỉ 36,3% [11].

Kết quả của chúng tôi *K. pneumoniae* có tỷ lệ đa kháng là 65,5%, trong đó *K. pneumoniae* kháng từ 5 loại kháng sinh trở lên là 63,4%. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Shadkam Shadi và cộng sự trong 100 chủng phân lập, 67 chủng đa kháng thuốc (MDR), và 11 chủng kháng thuốc mở rộng (XDR) [12]. Một nghiên cứu của Awoke Tewachew năm 2019 ở Ethiopia trên 132 chủng *K.pneumoniae* phân lập tỷ lệ đa kháng chiếm 98,5%, trong đó đề kháng 5 kháng sinh chiếm 6,1%, đề kháng 6 loại chiếm 7,6%, 7 loại

9,1%, 8 loại 16,6%, 9 loại 16,6%, 10 loại 14,4%, 11 loại 12,1% và đề kháng 12 loại chiếm 15,2% [13].

Tỷ lệ *K. pneumoniae* sinh enzyme ESBL là 42,8%, *K. pneumoniae* sinh ESBL có tỷ lệ đề kháng các nhóm kháng sinh cao hơn so với *K. pneumoniae* không sinh ESBL ở hầu hết các nhóm kháng sinh thử, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê (Bảng 2). Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Trần Thị Tuyết Ngọc *K. pneumoniae* sinh enzyme ESBL là 43% [4] và của Tola MA và cộng sự [14] các chủng *K. pneumoniae* phân lập có ESBL (+) có tỷ lệ đề kháng kháng sinh cao hơn các *K. pneumoniae* không có ESBL.

##### 4.2. Gen $bla_{VIM}$ và gen $bla_{IMP}$ của các chủng *K. pneumoniae* phân lập

Với 145 chủng *K. pneumoniae* phân lập, chúng tôi phát hiện 32 chủng mang gen  $bla_{VIM}$  và 17 chủng mang  $bla_{IMP}$  với tỷ lệ lần lượt là 22,1% và 11,7%, trong đó có 6 chủng (4,1%) mang cả hai gen. Kết quả trên tương tự với nghiên cứu của Bahmani Nasrin ở Sanandaj, Kurdistan, Tây Iran, tỷ lệ *K. pneumoniae* mang gen  $bla_{VIM-1}$  và  $bla_{IMP-1}$  là 26,7% và 6,7% [15]. Nghiên cứu của Shadkam Shadi và cộng sự [12] tỷ lệ *K. pneumoniae* mang các gen  $bla_{VIM'}$ ,  $bla_{IMP}$ , lần lượt là 7%, 11%.

Các chủng *K. pneumoniae* mang gen  $bla_{VIM}$  đều có đề kháng kiểu hình với carbapenem, với 16 chủng mang gen  $bla_{IMP}$  có kiểu hình kháng carbapenem và 1 chủng có nhạy cảm kiểu hình với carbapenem, tất cả chủng mang gen đều có ESBL dương tính. Ssekatawa Kenneth và cộng sự ở Uganda phân tích 22 chủng mang gen  $bla_{VIM}$  đều có kháng carbapenem kiểu hình (100%), trong 25 chủng mang gen  $bla_{IMP}$  chỉ có 15 chủng (60%) có kháng carbapenem kiểu hình và 10 chủng mang gen có nhạy cảm kiểu hình với carbapenem [16].

Ở vi khuẩn *K.pneumoniae*, đề kháng kiểu hình với carbapenem có thể không tương ứng với tình trạng mang các gen  $bla_{VIM}$  và  $bla_{IMP}$ . Urmi UL và các tác giả ở Bangladesh trên 58 chủng *K. pneumoniae* phân



lập từ nhiễm khuẩn tiết niệu cho thấy tỷ lệ đề kháng kiểu hình với carbapenem là 74,1%, trong lúc đó tỷ lệ chủng mang các gen đề kháng metallo-beta-lactamases (MBLs) là 53,4% (31/58), trong đó mang gen  $bla_{VIM}$  là 19% (11/58) và  $bla_{IMP}$  là 10,3% (6/58) [17]. Nghiên cứu này cũng tìm thấy một số chủng nhạy cảm kiểu hình với imipenem nhưng có mang một hay kết hợp của các gen  $bla_{KPC}$ ,  $bla_{IMP}$ ,  $bla_{VIM}$ , and  $bla_{NDM-1}$ . Giải thích sự có mặt của gen đề kháng ở các chủng nhạy cảm kiểu hình do sự điều hoà gen và các chủng *K. pneumoniae* này không có biểu hiện gen (gene expression) sản xuất enzyme đề kháng [17].

Kết quả cho thấy tất cả các chủng *K. pneumoniae* mang gen  $bla_{VIM}$  đều kháng nhóm  $\beta$  lactam (100%), tỷ lệ kháng với nhóm quinolone lên đến 96,9%, nhóm cotrimoxazol 84,4% và nhóm aminoglycosid là 70,8% (Bảng 5). Sự đa kháng này tạo nên thách thức lớn cho các bác sĩ lâm sàng khi lựa chọn kháng sinh cho người bệnh và nó ảnh hưởng đến thời gian nằm viện cũng như hiệu quả, thành công trong điều trị.

Trong một khảo sát trước đây về tình hình mang các gen  $bla_{NDM-1}$ ,  $bla_{KPC}$ ,  $bla_{OXA-48}$  đề kháng với carbapenem trên 70 chủng *K. pneumoniae* được phân lập ở Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế trong năm 2018-2019, tỷ lệ mang gen  $bla_{NDM-1}$  là 11,4 % (8/70), gen  $bla_{KPC}$  là 1,4% (1/70) và  $bla_{OXA-48}$  2,8% (2/70) [4]. Gộp kết quả của nghiên cứu trên với tỷ lệ chủng *K. pneumoniae* mang gen  $bla_{VIM}$  (22,1%) và  $bla_{IMP}$  (11,7%) trong nghiên cứu này của chúng tôi cho thấy rằng *K. pneumoniae* mang nhóm gen đề kháng car-

bapenem đã và đang lưu hành ở hai bệnh viện lớn ở Thừa Thiên Huế. *K. pneumoniae* mang các gen này trên các plasmid ( $bla_{NDM-1}$ ,  $bla_{KPC}$ ) hay các intergron ( $bla_{VIM}$ ,  $bla_{IMP}$ ), các chủng vi khuẩn mang gen có khả năng lây truyền gen kháng thuốc cho các vi khuẩn cùng loài hay khác loài trong các vi khuẩn gram âm [2]. Do vậy ở các bệnh viện lớn có điều kiện ngoài thực hiện xét nghiệm nhạy cảm của vi khuẩn với thuốc kháng sinh, nên thực hiện thêm các kỹ thuật phân tử để theo dõi tình hình mang gen đề kháng kháng sinh ở một số vi khuẩn gram âm gây nhiễm khuẩn bệnh viện. Các dữ liệu này hữu ích trong việc chọn lựa kháng sinh thích hợp cho điều trị, chúng còn giúp đề ra các biện pháp ngăn ngừa lây lan nguồn vi khuẩn mang gen đề kháng trong nhiễm trùng bệnh viện.

## 5. KẾT LUẬN

*Klebsiella pneumoniae* đề kháng cao với nhiều kháng sinh thử nghiệm, tỷ lệ đề kháng với các kháng sinh nhóm carbapenem từ 46,8% - 57,9%, tỷ lệ đa kháng là 65,5%, trong đó đề kháng từ 5 kháng sinh trở lên chiếm 63,4%. Tỷ lệ *K. pneumoniae* sinh enzyme ESBL là 42,8%, *K. pneumoniae* sinh ESBL có tỷ lệ đề kháng kháng sinh cao.

Tỷ lệ *K. pneumoniae* mang gen  $bla_{VIM}$  và  $bla_{IMP}$  lần lượt là 22,1% và 11,7%, có 6 chủng (4,1%) mang cả hai gen. Các chủng *Klebsiella pneumoniae* mang gen  $bla_{VIM}$  hoặc gen  $bla_{IMP}$  đều có tỷ lệ kháng cao với các nhóm kháng sinh.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Paczosa MK, Meccas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2016;80(3):629-661.
2. Tzouveleakis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae*: an evolving crisis of global dimensions. Clin Microbiol Rev. 2012;25(4):682-707.
3. Trịnh Văn Sơn, Nguyễn Đăng Mạnh, Đào Thanh Quyền, Nguyễn Thị Kim Phương, Lê Hữu Song. Giá trị của kiểu gen trong xác định *Klebsiella pneumoniae* kháng carbapenem gây nhiễm khuẩn huyết. Tạp chí Y Dược Lâm sàng 108. 2020;5(4):130-136.
4. Trần Thị Tuyết Ngọc, Lê Thị Lan Hương, Nguyễn Hoàng Bách, Lê Văn An. Khảo sát đặc điểm kiểu hình kháng thuốc kháng sinh và một số đặc trưng về gen của các chủng *Klebsiella pneumoniae* gây nhiễm khuẩn tại Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Khánh Hòa. Tạp chí Y Dược Học - Trường Đại học Y Dược Huế. 2021; 11(5):55-63.
5. Bộ Y Tế (2017), Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng, NXB Y Học Hà Nội, tr. 33.
6. Wayne PA. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 29th informational supplement. CLSI document M100-S29. 2020.
7. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012;18(3):268-281.
8. Dallenne C, Costa Da A, Decré D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important  $\beta$ -lactamases in *Enterobacteriaceae*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2010;65(3):490-495.
9. Ellington M J, Kistler J, Livermore DM, Woodford

N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired Metallo- $\beta$ -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007;59(2):321-322.

10. Nguyễn Chí Nguyễn, Trần Đỗ Hùng, Phạm Thị Ngọc Nga, Nguyễn Như Nguyễn, Phan Hoàng Đạt, Nguyễn Dương Hiến, và cộng sự. Tình hình đề kháng kháng sinh của *Klebsiella pneumoniae* được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm tại Bệnh viện Đa khoa thành phố Cần Thơ và Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ năm 2021-2022. *Tạp chí Y Học Việt Nam*. 2022;517(2):326-330.

11. Al-Zalabani A, AlThobyane O A, Alshehri A H, et al. Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* antibiotic resistance in Medina, Saudi Arabia, 2014-2018. *Cureus*. 2020;12(8):e9714.

12. Shadkam S, Goli HR, Mirzaei B, Gholami M, Ahanjan M. Correlation between antimicrobial resistance and biofilm formation capability among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from hospitalized patients in Iran. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2021; 20: 13.

13. Awoke T, Tekla B, Seman A, et al. High prevalence of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary

care hospital in Ethiopia. *Antibiotics*. 2021;10(8): 1007.

14. Tola MA, Abera NA, Gebeyehu YM, et al. High Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia Coli* and *Klebsiella pneumoniae* Fecal Carriage among Children under Five Years in Addis Ababa, Ethiopia. *PLoS ONE*. 2021;16(10): e025817.

15. Bahmani Nasrin. Detection of VIM-1, VIM-2 and IMP-1 metallo-  $\beta$ -lactamase genes in *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in Sanandaj, Kurdistan, west of Iran. *Iranian Journal of Microbiology*. 2019;11(3):225-231.

16. Ssekatawa K, Byarugaba DK, Nakavuma JL, et al. Prevalence of pathogenic *Klebsiella pneumoniae* based on PCR capsular typing harboring carbapenemases encoding genes in Uganda tertiary hospitals. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2021;10: 57.

17. Urmi UL, Nahar S, Rana M, Jahan N, Hossain B, Alam MS, et al. Genotypic to Phenotypic Resistance Discrepancies Identified Involving  $\beta$ -Lactamase Genes, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>NDM-1</sub>, and *bla*<sub>VIM</sub> in Uropathogenic *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Drug Resist*. 2020;13: 2863-2875.