

**“Các trực khuẩn đa kháng thuốc
chiếm cư đường tiêu hóa của người lành mạnh”**

Võ Thị Chi Mai, Lê Kim Ngọc Giao, Hoàng Thị Phương Dung, Trần Thị Ngọc Lâm, Trần Bích Ngọc, Nguyễn Thị Thanh Trúc, Võ Thị Xuân Hạnh, Hoàng Tiến Mỹ

Đặt vấn đề

- ▶ Mức độ kháng thuốc tăng cao, nhất là đối với trực khuẩn Gram âm
- ▶ Nhiễm khuẩn bệnh viện – nhiễm khuẩn cộng đồng
- ▶ Sự lây lan tình trạng đa kháng kháng sinh của trực khuẩn Gram âm
 - β -lactamase phổ rộng (ESBL)
 - AmpC β -lactamase
 - carbapenemase
- ▶ Thành phố đông dân cư.

Mục tiêu - Nội dung nghiên cứu

- ▶ Khảo sát tỉ lệ hiện diện 4 loại trực khuẩn Gram âm kháng thuốc trong phân người lành tại Tp.HCM
 - *E coli* tiết ESBL, AmpC, carbapenemase
 - *Klebsiella* tiết ESBL, AmpC, carbapenemase
 - *P aeruginosa* tiết carbapenemase
 - *A baumannii* tiết carbapenemase
- ▶ Đề xuất khuôn mẫu kháng sinh đồ phát hiện đồng thời 3 loại enzyme kháng β -lactam: ESBL, AmpC, kháng carbapenem.

Mở đầu: kháng β -lactams (1)

- ▶ Kháng sinh: điều trị nhiễm khuẩn
- ▶ Kháng sinh: tăng năng suất trồng trọt, chăn nuôi

—————▶ Chọn lọc kháng thuốc: lây lan theo chiều ngang

- ▶ Trực khuẩn Gram âm đường ruột: *E coli*, *Klebsiella*
- ▶ Trực khuẩn Gram âm không lên men đường:
P aeruginosa, *A baumannii*

Mở đầu: kháng β -lactams (2)

- ▶ ESBL: thủy giải
 - Penicillins
 - Cephalosporins: thế hệ 1, 2, 3, 4
 - Cephameycins: cefoxitin
 - Carbapenems
 - Monobactams: aztreonam

Mở đầu: kháng β -lactams (3)

- ▶ AmpC: thủy giải
 - Penicillins
 - Cephalosporins: thế hệ 1, 2, 3, 4
 - Cephameycins: cefoxitin
 - Carbapenems
 - Monobactams: aztreonam

Mở đầu: kháng β -lactams (4)

- ▶ Carbapenemase: thủy giải
 - Penicillins
 - Cephalosporins: thế hệ 1, 2, 3, 4
 - Cephamycins: cefoxitin
 - Carbapenems
 - ± Monobactams: aztreonam

Phương pháp – Chọn mẫu

- ▶ Chọn mẫu cụm nhiều bậc:
 - Bậc 1: chọn 2 quận nội thành, 2 quận vùng ven, và 1 huyện ngoại thành
 - Bậc 2: chọn 3 phường tại mỗi quận/huyện
 - Bậc 3: chọn 20 hộ thường trú tại mỗi phường
 - Bậc 4: thành viên trong hộ

Tiêu chí chọn mẫu – Cỡ mẫu

- ▶ Chọn vào:
 - Người dân thường trú Tp.HCM

- ▶ Loại ra:
 - Người bệnh tâm-thần kinh
 - Bị sốt, tiêu chảy, đang dùng kháng sinh
 - Không đồng ý tham gia nghiên cứu
 - Không lấy mẫu được.

- ▶ Cỡ mẫu: 1.200 mẫu.

Kỹ thuật thực hiện: phân lập vi khuẩn

- ▶ Lấy mẫu phân cho vào lọ Cary-Blair
- ▶ Phân lập vi khuẩn: ChromID®, McConkey
- ▶ Định danh: phản ứng sinh hóa thường quy
- ▶ Chọn vi khuẩn khảo sát:
 - *Escherichia coli*
 - *Klebsiella* spp.
 - *Pseudomonas aeruginosa*
 - *Acinetobacter baumannii*

Kỹ thuật thực hiện: tìm ESBL

- ▶ Xác định ESBL
 - Bằng đĩa đôi: CAZ, CTX, CRO, CPM đặt quanh AUG.
Dương tính: hình ảnh lỗ khóa.
- ▶ Chứng dương: *K pneumoniae* ATCC 700603
- ▶ Chứng âm: *E coli* ATCC 25922

Kỹ thuật thực hiện: tìm AmpC

▶ Sàng lọc AmpC:

- Tiết pAmpC: FOX, CPM.

Dương tính: nhạy CPM, kháng FOX (< 18 mm) .

- Tiết iAmpC: FOX, IMI / MEM đặt giữa CAZ, CTX.

Dương tính: vòng vô khuẩn IMI / MEM bị tà cạnh.

vòng FOX bị tà cạnh hay méo lệch.

▶ Xác định AmpC: bộ đĩa AmpC detection (Mast)

A = CPD+chất cảm ứng AmpC

B = CPD+chất cảm ứng AmpC+ức chế ESBL

C = CPD+chất cảm ứng AmpC+ức chế ESBL+ức chế AmpC

Dương tính: vòng đĩa C \geq 5 mm so với A và B.

Kỹ thuật thực hiện: tìm carbapenemase

- ▶ Sàng lọc Carbapenemase: IMI, MEM
 - *E coli, Klebsiella*: Dương tính: IMI < 23 mm, MEM < 23 mm.
 - *P aeruginosa*: Dương tính: IMI < 19 mm, MEM < 19 mm.
 - *A baumannii*: Dương tính: IMI < 19 mm, MEM < 18 mm.
- ▶ Xác định Carbapenemase: bộ đĩa Carbapenemase detection (Mast)
 - A = MEM
 - B = MEM + chất ức chế MBL. Dương tính: B ≥ 5 mm so với A.
 - C = MEM + chất ức chế KPC. Dương tính: C ≥ 5 mm so với A.
 - D = MEM + chất ức chế AmpC.
 - Nếu D ≥ 4 mm so với A, kháng carbapenem do mất porin.
- ▶ Chứng dương: *K pneumoniae* BAA-1705
Chứng âm: *K pneumoniae* BAA-1706.

Kỹ thuật thực hiện: tìm gen NDM-1

- ▶ Tìm gen NDM-1 bằng PCR với chủng tiết carbapenemase
 - Tách chiết DNA vi khuẩn
 - Phản ứng PCR

Mồi: F 5'–ttcgacccagccattggcggcga–3'
R 5'–atgcacccggtcgcgaagctgag–3'

Điện di sản phẩm PCR.

Kết quả - Bàn luận (1)

- ▶ Số lượng mẫu: 1.204
- ▶ Đặc điểm:
 - Tuổi: 1-95. Giới: nữ 66,6% gấp đôi nam.
 - Học vấn: cấp 1 (19,2%), còn lại: cấp 2-đại học.
 - Có bệnh mạn tính 13,3%. Có tiền căn phẫu thuật 6,6%.
 - Có dùng kháng sinh trước đó \approx 1 tháng: 17,9%.

Kết quả - Bàn luận (2)

- ▶ Tỷ lệ người không có vi khuẩn kháng thuốc: 23,4%
- ▶ Số người lành mang vi khuẩn kháng thuốc: 76,6%
 - Mang 1 loại vi khuẩn: $715/1.204 = 59,4\%$.
 - Mang 2 loại vi khuẩn: $196/1.204 = 16,3\%$.
 - Mang 3 loại vi khuẩn: $11/1.204 = 0,9\%$.

Kết quả - Bàn luận (3)

- ▶ Số vi khuẩn kháng thuốc phân lập: 1.161
- ▶ Loại vi khuẩn kháng thuốc:
 - *E coli*: $869/1.161 = 74,8\%$.
 - *Klebsiella*: $267/1.161 = 23\%$.
 - *P aeruginosa*: $7/1.161 = 0,6\%$.
 - *A baumannii*: $18/1.161 = 1,6\%$.

Kết quả - Bàn luận (4)

Tỉ lệ *E coli* tiết enzyme kháng β -lactam

- ESBL: $807/869 = 92,9\%$. Tính theo số mẫu: $67,0\%$
- AmpC: $99/869 = 11,4\%$. Tính theo số mẫu: $8,2\%$
- Carbapenemase: $5/869 = 0,6\%$. Tính theo số mẫu: $0,4\%$.
- Tiết 1 loại enzyme: $94,1\%$
- Tiết 2 loại enzyme: $5,6\%$
- Tiết 3 loại enzyme: $0,2\%$ (2 chủng).

Kết quả - Bàn luận (5)

Tỉ lệ *Klebsiella* tiết enzyme kháng β -lactam

- ESBL: $209/267 = 78,3\%$. Tính theo số mẫu: 17,4%
 - AmpC: $72/267 = 27,0\%$. Tính theo số mẫu: 6,0%
 - Carbapenemase: $3/267 = 1,1\%$. Tính theo số mẫu: 0,2%.
-
- Tiết 1 loại enzyme: 91,7%
 - Tiết 2 loại enzyme: 8,2%.

Kết quả - Bàn luận (6)

Tỉ lệ *P aeruginosa* và *A baumannii* tiết carbapenemase

- *P aeruginosa*: $7/1.161 = 0,6\%$. Tính theo số mẫu: 0,58%.
- *A baumannii*: $18/1.161 = 1,55\%$. Tính theo số mẫu: 1,5%.

Kết quả - Bàn luận (7)

Carbapenemase NDM-1

Trong 44 chủng kháng carbapenem, phát hiện được 33 chủng tiết carbapenemase gồm 11 MBL và 22 KPC.

- ▶ Trong 33 trực khuẩn tiết carbapenemase
 - *E coli*: 2/5 mang NDM-1
 - *A baumannii*: 1/18 mang NDM-1

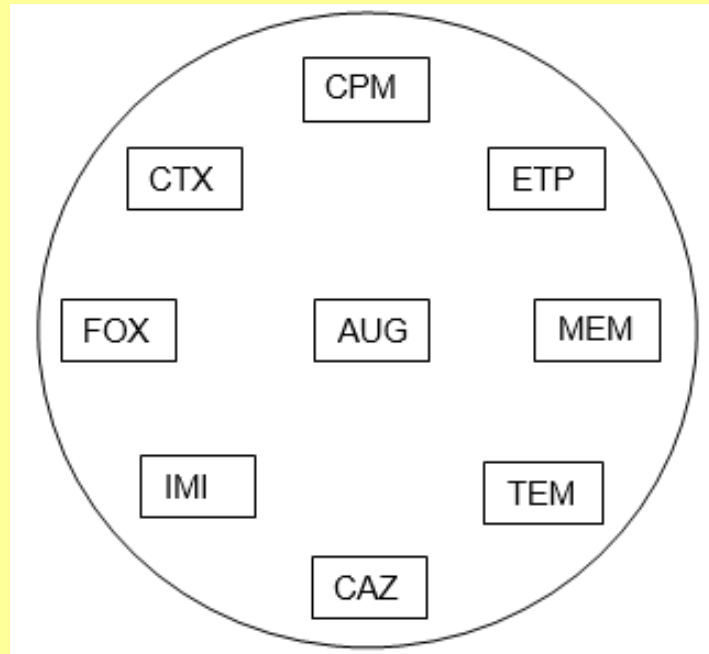
3 NDM-1 này thuộc trong nhóm MBL.

Tỉ lệ NDM-1 là 9% trong số tiết carbapenemase.

Tính trên số mẫu, tỉ lệ NDM-1 là 0,25%.

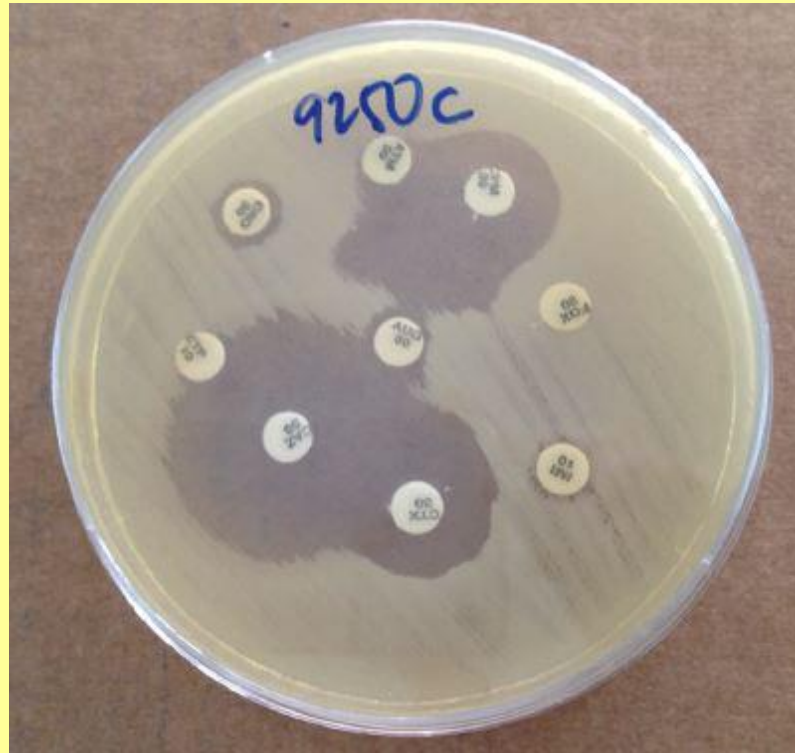
Kết quả - Bàn luận (8)

Khuôn mẫu đề nghị phát hiện 3 loại enzyme



CAZ=ceftazidime, IMI=imipenem, FOX=cefoxitin, CTX=cefotaxime, CPM=cefepime, ETP=ertapenem, MEM=meropenem, TEM=temocillin

Hình ảnh



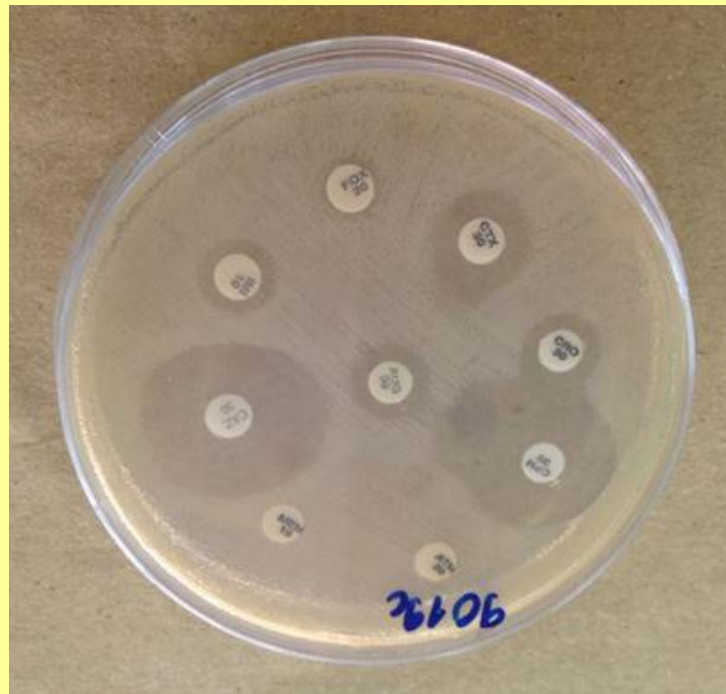
ESBL và kháng carbapenem

Hình ảnh



pAmpC: nhạy cefepime, kháng cefoxitin

Hình ảnh



iAmpC và kháng carbapenem

Kết luận (1)

Khảo sát 1.204 mẫu phân của người lành ngụ tại 5 quận-huyện Tp.HCM

- ▶ Tỷ lệ người lành mang vi khuẩn tiết 1-3 loại enzyme kháng β -lactam là 76,6%.
 - ▶ Người lành mang vi khuẩn tiết ESBL là 71%.
 - ▶ Người lành mang vi khuẩn tiết AmpC là 13,4%.
 - ▶ Người lành mang vi khuẩn tiết carbapenemase là 2,5%.
-
- Một khuôn mẫu được đề xuất để tìm cùng lúc ESBL, AmpC, carbapenemase trên 1 hộp kháng sinh đồ cho trực khuẩn Gram âm.

Kết luận (2)

Khảo sát 1.204 mẫu phân của người lành ngụy tại 5 quận-huyện Tp.HCM

- ▶ Tỷ lệ *E coli* tiết ESBL ở người lành là 67% .
- ▶ Tỷ lệ *E coli* tiết AmpC ở người lành là 8,2%.
- ▶ Tỷ lệ *E coli* tiết carbapenemase ở người lành là 0,4% (5 chủng). Trong đó có 2 *E coli* tiết NDM-1.

Kết luận (3)

Khảo sát 1.204 mẫu phân của người lành ngụ tại 5 quận-huyện Tp.HCM

- ▶ Tỷ lệ *Klebsiella* tiết ESBL ở người lành là 17,4% .
- ▶ Tỷ lệ *Klebsiella* tiết AmpC ở người lành là 6%.
- ▶ Tỷ lệ *Klebsiella* tiết carbapenemase ở người lành là 0,2% (3 chủng). Không tìm thấy NDM-1 trong số này.

Kết luận (4)

Khảo sát 1.204 mẫu phân của người lành ngụ tại 5 quận-huyện Tp.HCM

- ▶ Tỷ lệ *P aeruginosa* tiết carbapenemase ở người lành là 0,58%. Không tìm thấy NDM-1 trong 7 chủng này.
- ▶ Tỷ lệ *A baumannii* tiết carbapenemase ở người lành là 1,5%. Phát hiện được 1 chủng tiết NDM-1 trong 18 chủng này.

Hội nghị khoa học Kiểm Soát Nhiễm Khuẩn Tp.HCM 2017

**Đề tài “Các trục khuẩn đa kháng thuốc
chiếm cư đường tiêu hóa của người lành mạnh”**

Kinh phí nghiên cứu: Sở Khoa học-Công nghệ Tp.HCM

Chân thành cảm ơn.