

TÌNH HÌNH SINH MEN ESBL CỦA *KLEBSIELLA PNEUMONIA* VÀ GIÁ TRỊ CỦA CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN

Lê Công Trứ^{1*}, Trần Đỗ Hùng², Đỗ Hoàng Long²

1. Trường Đại học Nam Cần Thơ

2. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: congtru.forever@gmail.com

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Tình hình sinh men β lactamase phổ rộng (ESBL) của *Klebsiella pneumonia* là vấn đề đáng quan tâm hiện nay. Việc xác định giá trị các phương pháp phát hiện vi khuẩn sinh ESBL là rất cần thiết cho thực hành lâm sàng. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định tỷ lệ sinh ESBL của vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae* bằng phương pháp đĩa kết hợp và bằng máy tự động Vitek 2; Xác định giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu của phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Vitek 2 trong phát hiện sinh men ESBL của vi khuẩn. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang thực hiện trên 387 chủng vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae*, thu thập từ nuôi cấy mẫu bệnh phẩm của các bệnh nhân nhiễm trùng tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ từ tháng

01/2019 đến tháng 08/2019. Tiến hành thử nghiệm xác định sinh ESBL bằng 2 phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Vitek 2. Sử dụng phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) làm xét nghiệm xác định vi khuẩn sinh ESBL chuẩn để tham chiếu. **Kết quả:** Tỷ lệ sinh ESBL của *Klebsiella pneumoniae* là 31,5% (122/387) với phương pháp đĩa kết hợp và 31,3% (121/387) với máy tự động Vitek 2. Thử nghiệm sinh ESBL bằng phương pháp đĩa kết hợp có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 97,54% và 98,88%. Sử dụng máy Vitek 2, thử nghiệm có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 93,44% và 97,35%. Hệ số tương thích Kappa giữa 2 phương pháp là 0,946. **Kết luận:** Tỷ lệ sinh ESBL của *Klebsiella pneumoniae* tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ ở mức trung bình. Phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Vitek 2 có hệ số tương thích kappa cao trong đánh giá sinh ESBL của vi khuẩn ($\kappa=0,946$).

Từ khóa: *Klebsiella pneumoniae*, ESBL, đĩa kết hợp, máy Vitek 2.

ABSTRACT

THE ESBL-PRODUCING STATUS OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* AND VALUE OF DETECTION METHODS

Le Cong Tru^{1*}, Tran Do Hung², Do Hoang Long²

1. Nam Can Tho University

2. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: The ESBL-producing status of *Klebsiella pneumoniae* is a severe problem at present and understanding about detection of ESBL production is very necessary. **Objectives:** To determine the rate of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* by combined disk test and Vitek 2 compact system; To determine value of combined disk test and Vitek 2 compact system for detecting ESBL-producing.. **Materials and methods:** A cross-sectional descriptive study was conducted on 387 isolates of *Klebsiella pneumoniae* from clinical specimens of septic patients at Can Tho Central General Hospital from 01/2019 to 08/2019. ESBL was detected by the combined disk test method and using the Vitek 2 compact system. The method for determination of minimum inhibitory concentration (MIC) was used as the reference assay. **Results:** The rate of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* was 31.5% (122/387) detected by combined disk test and 31.3% (121/387) detected by Vitek 2 compact system. The sensitivity and specificity for detecting ESBL-producing were 93.44% and 97.35%. respectively with the combined disk test method and were 97.54% and 98.88% respectively with the Vitek 2 compact system; Two method have had a Kappa value 0,946. **Conclusion:** The rate of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* at Can Tho Central General Hospital was in medium level. Both of methods for detecting ESBL-producing (combined disk test and Vitek 2 compact system) were the same value and highly compatible with each other ($\kappa=0,946$).

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, ESBL, combined disk, Vitek 2.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Klebsiella pneumoniae được biết đến là một căn nguyên gây bệnh nhiễm trùng thường gặp, nhưng lại có thể diễn biến rất nặng và tỷ lệ đề kháng kháng sinh cao [6]. Sự kháng thuốc của *Klebsiella pneumoniae* cực kỳ nguy hiểm bởi vì bản thân loại vi khuẩn này có khả năng sinh được men β lactamase phổ rộng (ESBL: Extended Spectrum Beta-lactamase) [2], [4]. Men này làm biến đổi, phá hủy cấu trúc hóa học của kháng sinh, có khả năng phân giải hầu hết các loại kháng sinh thuộc nhóm β lactam, đặc biệt đối với penicillins và cephalosporins thế hệ thứ 3. Hiện nay, có nhiều phương pháp phát hiện vi

khuẩn sinh ESBL, việc nắm rõ quy trình thực hiện và giá trị của các phương pháp được dùng phổ biến hiện nay có ý nghĩa quan trọng. Để tránh tình trạng đa kháng trên lâm sàng, điều cấp thiết nhất đặt ra là làm thế nào để phát hiện nhanh, chính xác được *Klebsiella pneumoniae* sinh ESBL sẽ giúp các bác sĩ lựa chọn kháng sinh phù hợp nhất để điều trị cho bệnh nhân. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu nhằm mục tiêu:

(1). Xác định tỷ lệ sinh men ESBL của vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae* bằng phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Vitek 2 tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ.

(2). Xác định giá trị của 2 phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Vitek 2 trong phát hiện khả năng sinh men ESBL của vi khuẩn.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các chủng *Klebsiella pneumoniae* được phân lập từ các bệnh phẩm khác nhau tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ.

Tiêu chuẩn chọn mẫu:

Tất cả các chủng *Klebsiella pneumoniae* được phân lập và định danh bằng máy tự động Vitek 2 từ các bệnh phẩm (đám, mủ, máu, dịch não tủy, nước tiểu...) của bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm trùng tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ. Đặc biệt, đối với bệnh phẩm đàm phải đánh giá đạt tiêu chuẩn và đủ độ tin cậy thông qua thang điểm Barlett (mủ nhầy, đánh giá vi thể trên 25 bạch cầu) và đối với bệnh phẩm nước tiểu thì số vi khuẩn cấy định lượng $\geq 10^5$ CFU/ml nước tiểu. Các bệnh phẩm còn lại nuôi cấy và phân lập theo quy trình thường quy. Bệnh nhân có nhiều loại bệnh phẩm thì chỉ thu 1 loại bệnh phẩm duy nhất cho mỗi bệnh nhân

Tiêu chuẩn loại trừ:

Các chủng vi khuẩn từ bệnh phẩm của cùng bệnh nhân trong các đợt điều trị hoặc các chủng vi khuẩn phân lập được từ bệnh phẩm khảo sát môi trường, giám sát nhiễm khuẩn bệnh viện, cấy khuẩn định kỳ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang phân tích

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 01/2019 đến tháng 08/2019.

Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện, các bệnh phẩm và chủng vi khuẩn thỏa tiêu chuẩn sẽ được chọn cho đến khi đủ cỡ mẫu *Klebsiella pneumoniae* cần nghiên cứu.

Cỡ mẫu: Áp dụng công thức: $n = Z_{(1-\frac{\alpha}{2})}^2 \times \frac{p(1-p)}{d^2}$. Với $Z_{(1-\alpha/2)} = 1,96$, độ tin cậy 95%, chọn $d = 0,05$, $p = 0,6571$ (tỷ lệ *Klebsiella pneumoniae* sinh ESBL là 65,71% nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Hoài An, tại Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh năm 2014 [1]). Theo công thức cỡ mẫu tối thiểu của nghiên cứu này là 346 mẫu. Thực tế chúng tôi thu thập được 387 chủng *Klebsiella pneumoniae* phù hợp với tiêu chuẩn chọn mẫu.

Nội dung nghiên cứu:

- Tiến hành thử nghiệm ESBL bằng 2 phương pháp:
- + Đĩa kết hợp: sử dụng hai loại đĩa kháng sinh là cephalosporins thế hệ 3 và cephalosporins thế hệ 3 tương ứng phối hợp với clavulanic acid. Vi khuẩn tiết ESBL khi hiệu số đường kính vòng vô khuẩn của đĩa cephalosporins có phối hợp với clavulanic acid

so đĩa cephalosporins ≥ 5 mm.

+ Máy nuôi cấy tự động Vitek 2 (hãng BioMerieux – Mỹ): tạo huyền dịch vi khuẩn với độ đục 0.5 – 0.63 McFarland cho tube kháng sinh đồ, đặt cassette có tube kháng sinh đồ vào buồng hút của máy, nhập dữ liệu và thông tin bệnh nhân vào máy, hệ thống máy tự động sẽ trả kết quả bao gồm định danh vi khuẩn gây bệnh, kết quả kháng sinh đồ và sự sinh ESBL của vi khuẩn.

+ Xét nghiệm tham chiếu để xác định vi khuẩn sinh ESBL là phương pháp xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) bằng que Etest, khi đầu chứa clavulanic acid cho MIC giảm ≥ 8 lần so với đầu còn lại thì suy ra được rằng vi khuẩn có sinh ESBL.

- Xác định tỷ lệ chủng vi khuẩn sinh enzyme ESBL bằng phương pháp đĩa kết hợp và bằng máy tự động Vitek 2 trên tổng số chủng vi khuẩn phân lập được.

- Xác định giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu của phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Vitek 2 trong phân lập vi khuẩn sinh ESBL, đối chiếu với kết quả xét nghiệm tham chiếu trong thử nghiệm ESBL. Sử dụng các công thức: $Se = a/(a+c)$, $Sp = d/(b+d)$, GTTĐ (+) = $a/(a+b)$, GTTĐ (-) = $d/(d+c)$. Với a là dương thật, b là dương giả, c là âm giả, d là âm thật.

Xử lý số liệu: Phân tích, xử lý bằng phần mềm SPSS 18.0 để tính tỷ lệ phần trăm, giá trị chỉ số tương thích kappa của 2 phương pháp phát hiện.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN SỨU

3.1. Tỷ lệ sinh men ESBL của *Klebsiella pneumoniae*

Bảng 1. Tỷ lệ sinh men ESBL của *Klebsiella pneumoniae* bằng 2 phương pháp

Phương pháp	Tỷ lệ sinh ESBL (%)
Phương pháp đĩa kết hợp	31,5
Máy tự động Vitek 2	31,3

Nhận xét: Tỷ lệ sinh ESBL của *Klebsiella pneumoniae* bằng phương pháp đĩa kết hợp là 31,5% (122/387) và 31,3% (121/387) bằng máy tự động Vitek 2.

3.2. Giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương, tiên đoán âm của 2 phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động trong đánh giá sinh ESBL của vi khuẩn

Bảng 2. Độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Vitek 2 (đơn vị: %)

Thử nghiệm ESBL	Độ nhạy	Độ đặc hiệu
Phương pháp đĩa kết hợp	97,54	98,88
Sử dụng máy Vitek 2	93,44	97,35

Nhận xét: Đối chiếu với kết quả thử nghiệm ESBL bằng phương pháp xác định MIC, độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp đĩa kết hợp lần lượt là 97,54% và 98,88%; độ nhạy, độ đặc hiệu của phương pháp sử dụng máy tự động Vitek 2 lần lượt là 93,44% và 97,35%.

Bảng 3. Giá trị tiên đoán dương và tiên đoán âm của phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Vitek 2 (đơn vị: %)

Thử nghiệm ESBL	GTTĐ (+)	GTTĐ (-)
Phương pháp đĩa kết hợp	97,54	98,88
Sử dụng máy Vitek 2	94,21	96,99

Nhận xét: Đối chiếu với kết quả thử nghiệm ESBL bằng phương pháp xác định MIC, giá trị tiên đoán dương và giá trị tiên đoán âm của phương pháp đĩa kết hợp lần lượt

là 97,54% và 98,88% và sử dụng máy tự động Vitek 2 lần lượt là 94,21% và 96,99%.

Bảng 4. Mức độ tương thích giữa phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Vitek 2 trong thử nghiệm ESBL

Chỉ số Kappa	P
0,946	<0,001

Nhận xét: Chỉ số kappa giữa hai phương pháp là 0,946 cho thấy độ tương thích giữa hai phương pháp là rất cao.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Tỷ lệ sinh ESBL của *Klebsiella pneumoniae*

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ *Klebsiella pneumoniae* sinh ESBL là 31,5% (122/387), thấp hơn so với tỷ lệ vi khuẩn không sinh enzyme ESBL là 68,5% (265/387). Kết quả này tương đồng với một số nghiên cứu trong nước, cũng như nghiên cứu trên thế giới. Cụ thể, nghiên cứu của tác giả Chu Thị Hải Yến (2014) [6] thực hiện tại Bệnh viện Cấp cứu Trưng Vương cho tỷ lệ *Klebsiella pneumoniae* sinh ESBL là 30% và nghiên cứu của tác giả Ngô Xuân Thái (2019) [3] thực hiện tại bệnh viện Chợ Rẫy với tỷ lệ là 31,8%. Trên thế giới, các nghiên cứu của các tác giả Lin J. và cs (2019) [9] tại Thượng Hải, Trung Quốc và Jamali S. và cs (2020) [8] tại Bắc Iran có các tỷ lệ *Klebsiella pneumoniae* sinh enzyme ESBL lần lượt là 34,6% và 32,4%.

Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi lại không tương đồng với các nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thành Tín (2018) [4] thực hiện tại Bệnh Viện Tỉnh Bạc Liêu với tỷ lệ 24,5%, Bùi Thế Trung (2018) [5] tại Bệnh Viện Nhi Đồng 2 với 76,4%, cũng như một số nghiên cứu trên thế giới, như nghiên cứu của tác giả Al-Tawfiq J.A. và cs (2020) [7] tại Ả Rập Xê-út với 26% và tác giả Müller-Schultea E. (2020) [10] tại Bồ Đào Nha với 84%. Lý giải về sự khác nhau về tỷ lệ *Klebsiella pneumoniae* sinh ESBL giữa các nghiên cứu, có thể do sự khác biệt về cỡ mẫu, về tiêu chuẩn chọn mẫu trong nghiên cứu. Mặt khác, các quy định về chống nhiễm khuẩn, kiểm soát về sử dụng kháng sinh ở mỗi nước, mỗi địa phương cũng ít nhiều khác nhau, việc lạm dụng nhiều cephalosporin thế hệ thứ 3 có liên quan đến sự xuất hiện của các vi khuẩn có khả năng sinh ESBL đề kháng kháng sinh rất cao.

4.2. Giá trị của phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động trong thử nghiệm ESBL

Trong nghiên cứu của chúng tôi, độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp đĩa kết hợp lần lượt là 97,54% và 98,88%, tương tự, độ nhạy độ đặc hiệu của phương pháp sử dụng máy tự động Vitek 2 lần lượt là 93,44% và 97,35%. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của tác giả Singh R. M. và cs (2014) [11] với độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp đĩa kết hợp lần lượt là 93,44% và 99,3%; sử dụng máy tự động Vitek 2 là 91,8% và 97,24%. Đồng thời, thử nghiệm ESBL bằng phương pháp đĩa kết hợp có giá trị tiên đoán dương và giá trị tiên đoán âm lần lượt là 97,54% và 98,88%; với máy tự động Vitek 2 là 94,21% và 96,99%.

Từ kết quả này cho thấy, cả hai phương pháp đĩa kết hợp và sử dụng máy tự động Vitek 2 đều có sử dụng trong đánh giá sinh ESBL của vi khuẩn tùy theo điều kiện cơ sở vật chất cũng như kinh phí thực hiện của từng địa phương. Tuy nhiên, vì mỗi phương pháp có những ưu điểm và nhược điểm khác nhau: Ưu điểm của thử nghiệm ESBL bằng máy Vitek 2 là được tích hợp vào quy trình làm kháng sinh đồ trên máy tự động, dễ dàng thực hiện, ít

phụ thuộc vào năng lực của người thực hiện và cải thiện thời gian thực hiện trung bình từ 6 đến 8 giờ. Đối với phương pháp đĩa kết hợp, thử nghiệm cũng tương đối đơn giản, chỉ cần những nguyên vật liệu cơ bản trong phòng xét nghiệm đã có thể thực hành được.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu ghi nhận tỷ lệ sinh ESBL của *Klebsiella pneumoniae* bằng phương pháp đĩa kết hợp tại Cần Thơ là 31,5% và tỷ lệ sinh ESBL của *Klebsiella pneumoniae* bằng máy tự động Vitek 2 là 31,3%. Thử nghiệm ESBL bằng phương pháp đĩa kết hợp có độ nhạy, độ đặc hiệu lần lượt là 97,54%, 98,88%; Thử nghiệm ESBL bằng máy Vitek 2: độ nhạy, độ đặc hiệu lần lượt là 93,44%, 97,35%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Thị Hoài An (2014), *Khảo sát sự kháng kháng sinh của Klebsiella pneumoniae tại viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh*. Trường đại học sư phạm TP. Hồ Chí Minh, tr. 63-64.
2. Nguyễn Đỗ Phúc, Nguyễn Lý Hoàng Ngân (2014), Tần suất phổ biến của vi khuẩn *Enterobacteria* sinh men β -lactamase trong cộng đồng tại Thành phố Hồ Chí Minh năm 2013. *Tạp chí Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh*, số 6, tr. 397-401.
3. Ngô Xuân Thái (2019), Đánh giá tình hình nhiễm khuẩn đường tiết niệu tại phòng khám ngoại tiết niệu Bệnh Viện Chợ Rẫy. *Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh*, số 2, tr. 6-10.
4. Nguyễn Thành Tín (2018), Xác định kiểu hình và kiểu gen của vi khuẩn *Escherichia coli* và *Klebsiella pneumoniae* tiết ESBL phân lập tại Bệnh Viện Tỉnh Bạc Liêu. *Tạp chí Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh*, số 5, tr. 246-251.
5. Bùi Thế Trung (2018), Tình hình *Klebsiella pneumoniae* mang gen kháng carbapenem trên bệnh nhân nhi. *Tạp chí Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh*, số 5, tr. 281-289.
6. Chu Thị Hải Yến (2014), Khảo sát tỉ lệ đề kháng kháng sinh của vi khuẩn phân lập tại Bệnh viện cấp cứu Trung Vương. *Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh*, số 5, tr. 75-82.
7. Al-Tawfiq J.A. (2020), Antimicrobial resistance of gram - bacteria: A 6 year longitudinal study in a hospital Saudi Arabia. *Jour of Infection&Public Health*, 1, pp. 1-9.
8. Jamali S., et al (2020), The Phylogenetic Relatedness of blaNDM-1 Harboring Extended-Spectrum β -Lactamase Producing Uropathogenic *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the North of Iran. *Infection and Drug Resistance*, 1, pp. 651–657.
9. Lin J., et al (2019), Increased multidrug resistant isolates: new clinical burdens for 66 hospitals in Shanghai, 2015 to 2017. *Annals of Translational Medicine*, 4, pp. 112-118.
10. Müller-Schultea E., et al (2020), High prevalence of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* in clinical samples from central Côte d'Ivoire. *International Journal of Infectious Diseases*, 1, pp. 207–209.
11. Singh R. M., Singh H. L. (2014), Comparative evaluation of six phenotypic methods for detecting extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J Infect Dev Ctries*, 4, pp. 408-415.

(Ngày nhận bài: 15/7/2020 - Ngày duyệt đăng: 26/09/2020)
