

**TÌNH HÌNH SINH ENZYME β LACTAMASE PHỔ RỘNG
CỦA *ESCHERICHIA COLI* VÀ GIÁ TRỊ CỦA
CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN**

Võ Thái Dương^{1*}, Đỗ Hoàng Long², Nguyễn Thị Diệu Hiền³

1. Phòng khám Đa khoa Phương Đức, Cần Thơ

2. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

3. Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ

*Email: thaiduong0392@gmail.com

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Tình hình sinh enzyme β lactamase phổ rộng (ESBL) của *Escherichia coli* là vấn đề đáng quan tâm hiện nay đối với sự đề kháng kháng sinh của các bệnh nhiễm trùng do *Escherichia coli* tại Việt Nam cũng như trên thế giới. Việc xác định giá trị các phương pháp phát hiện *Escherichia coli* sinh enzyme β lactamase phổ rộng là rất cần thiết cho thực hành lâm sàng.

Mục tiêu nghiên cứu: Xác định tỷ lệ sinh enzyme β lactamase phổ rộng của vi khuẩn *Escherichia coli* bằng phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động phoenix M50; Xác định giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu của phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động phoenix M50 trong phát hiện sinh enzyme β lactamase phổ rộng của *Escherichia coli*. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang được thực hiện trên 155 chủng *Escherichia coli* 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 7/2021-5/2022. Tiến hành thử nghiệm xác định sinh enzyme β lactamase phổ rộng bằng 2 phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động phoenix M50. **Kết quả:** Tỷ lệ sinh enzyme β lactamase phổ rộng của *Escherichia coli* là 60,7% với phương pháp đĩa kết hợp và 58,9% với máy tự động Phoenix M50. Thử nghiệm sinh enzyme β lactamase phổ rộng bằng phương pháp đĩa kết hợp có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 99,1% và 98,6%. Sử dụng máy Phoenix M50 thử nghiệm có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 86,3% và 84,2%. Độ tương thích gần như hoàn toàn giữa hai phương pháp thử nghiệm sinh enzyme β lactamase phổ rộng của *Escherichia coli* với hệ số kappa là 0,989. **Kết luận:** Tỷ lệ sinh enzyme β lactamase phổ rộng của *Escherichia coli* bằng phương pháp đĩa kết hợp và máy Phoenix

M50 khá cao và có hệ số tương thích kappa giữa hai phương pháp gần như hoàn toàn trong đánh giá sinh enzyme β lactamase phổ rộng của vi khuẩn ($kappa=0,989$). Như vậy, phương pháp đĩa kết hợp nên được khuyến cáo sử dụng vì hiệu quả cao hơn.

Từ khóa: *Escherichia coli*, ESBL, đĩa kết hợp, máy Phoenix M50.

ABSTRACT

SITUATION OF *ESCHERICHIA COLI*'S β LACTAMASE PRODUCTION AND VALUE OF DETECTING METHODS

Vo Thai Duong^{1*}, Do Hoang Long², Nguyen Thi Dieu Hien³

1. Phuong Duc Can Tho General Clinic

2. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

3. Can Tho Central General Hospital

Background: Currently, *Escherichia coli*'s extended spectrum β -lactamase production is a major concern for infectious diseases in Vietnam as well as in the world. Understanding about detection of extended spectrum β -lactamase production is very necessary. **Objectives:** To determine the proportion of *Escherichia coli*'s extended spectrum β -lactamase production by the combined disk method and the phoenix M50 automatic machine; To determine the sensitivity and specificity values of the combined disk method and the phoenix M50 automatic machine for detecting extended spectrum β -lactamase-producing. **Materials and method:** A cross-sectional descriptive study on 155 *Escherichia coli* strains collected from clinical specimens of infected patients at Can Tho Central General Hospital from 7/2021-5/2022. Extended spectrum β -lactamase was detected by the combined disk test method and using the phoenix M50 automatic machine. **Results:** The proportion of *Escherichia coli*'s extended spectrum β -lactamase production is 60.7% with the combined plate method and 58.9% with the Phoenix M50 automatic machine. The extended spectrum β -lactamase production assay by the combined plate method has a sensitivity and specificity of 99.1% and 98.6%, respectively. Using Phoenix M50, the sensitivity and specificity are 86.3% and 84.2%, respectively. The almost complete compatibility between the two methods of *Escherichia coli*'s extended spectrum β -lactamase production with kappa coefficient is 0.989. **Conclusion:** The proportion of *Escherichia coli*'s extended spectrum β -lactamase production by the combined plate method and the Phoenix M50 machine is quite high and the compatibility between the two methods is almost complete ($kappa=0.989$). Thus, the combination plate method should be recommended because of its higher efficiency.

Keywords: *Escherichia coli*, ESBL, combined disk, Phoenix M50.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tình hình kháng kháng sinh của vi khuẩn Gram âm gây bệnh thường gặp chiếm tỷ lệ cao (70%), một trong số các vi khuẩn chiếm ưu thế trong việc gây bệnh thường gặp là *Escherichia coli* (*E.coli*). *Escherichia coli* là một căn nguyên gây bệnh thường gặp và nguy hiểm bởi mức độ kháng kháng sinh ngày càng tăng vì bản thân loại vi khuẩn này có khả năng sinh được enzyme β lactamase phổ rộng (ESBL: Extended Spectrum Beta - lactamase) [8]. Enzyme 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 *Escherichia coli* sinh ESBL sẽ

giúp các bác sĩ lựa chọn kháng sinh phù hợp nhất để điều trị cho bệnh nhân. Có nhiều phương pháp để phát hiện ESBL, việc nắm rõ quy trình thực hiện và giá trị của chúng giúp phát hiện nhanh, chính xác *Escherichia coli* sinh enzyme ESBL có ý nghĩa quan trọng trên lâm sàng. Trên cơ sở đó chúng tôi thực hiện nghiên cứu với mục tiêu:

+ Xác định tỷ lệ sinh ESBL của vi khuẩn *Escherichia coli* bằng phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Phoenix M50.

+ Xác định giá trị của 2 phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Phoenix M50 trong việc phát hiện khả năng sinh ESBL của *Escherichia coli*.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- **Đối tượng nghiên cứu:** Các chủng *Escherichia coli* 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 vi khuẩn *Escherichia coli* được phân lập từ các bệnh phẩm (đờm, mủ, máu, nước tiểu, dịch vết mổ, dịch rửa phế quản và dịch khác) của bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm trùng tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ. Đặc biệt, đối với bệnh phẩm đờm phải đánh giá đạt tiêu chuẩn và đủ độ tin cậy thông qua thang điểm Barlett (mủ nhày, 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 được phân lập trên cùng bệnh nhân trong các lần phân lập sau trong cùng một đợt điều trị. Các chủng vi khuẩn phân lập được từ bệnh phẩm khảo sát môi trường, giám sát nhiễm khuẩn bệnh viện và cấy khuẩn định kỳ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

- **Thời gian nghiên cứu:** Từ tháng 7/2021-5/2022.

- **Cỡ mẫu:** Áp dụng công thức: $n = Z^2_{(1-\alpha/2)} p(1-p)/d^2$. Với $Z_{(1-\alpha/2)}=1,96$, độ tin cậy 95%, chọn $d=0,05$, $p=0,615$ (dựa vào tỷ lệ *Escherichia coli* sinh ESBL là 61,5% nghiên cứu của tác giả Lương Hồng Loan, tại Bệnh viện Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh năm 2020 [9]). Theo công thức cỡ mẫu tối thiểu của nghiên cứu này là 363 mẫu. Thực tế chúng tôi thu thập được 392 chủng *Escherichia coli* phù hợp với tiêu chuẩn chọn mẫu.

- **Phương pháp chọn mẫu:** Chọn mẫu thuận tiện.

- **Nội dung nghiên cứu:**

+ Xác định tỷ lệ sinh ESBL của vi khuẩn *Escherichia coli* bằng phương pháp đĩa kết hợp.

+ Xác định tỷ lệ sinh ESBL của vi khuẩn *Escherichia coli* bằng máy tự động Phoenix M50.

+ 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 Phoenix M50 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 Phoenix M50 trong phân lập vi khuẩn sinh ESBL, đối chiếu với kết quả xét nghiệm tham chiếu trong thử nghiệm ESBL.

- **Phương pháp xử lý số liệu:** Phân tích và xử lý bằng phần mềm SPSS 18.0 để tính các giá trị nhỏ nhất, lớn nhất trung bình, tần số và tỷ lệ %, kiểm định X^2 so sánh hai tỷ lệ, giá trị chỉ số tương thích kappa của 2 phương pháp phát hiện.

- **Đạo đức trong nghiên cứu:** Tất cả thông tin đã được mã hóa và bảo mật. Nghiên cứu không can thiệp vào quá trình điều trị và không có bất cứ tác động nào ảnh hưởng bệnh nhân. Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tỷ lệ sinh enzyme ESBL của *Escherichia coli*

Bảng 1. Tỷ lệ sinh enzyme ESBL của *Escherichia coli* bằng 2 phương pháp

Phương pháp	Tỷ lệ sinh ESBL (%)
Phương pháp đĩa kết hợp	60,7% (238/392)
Máy tự động Phoenix M50	58,9% (231/392)

Nhận xét: Tỷ lệ sinh enzyme ESBL của *Escherichia coli* bằng phương pháp đĩa kết hợp là 60,7% (238/392) và 58,9% (231/392) bằng máy tự động Phoenix M50.

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 Phoenix M50 trong đánh giá sinh ESBL của *Escherichia coli*

Bảng 2. Đối chiếu kết quả thử nghiệm ESBL giữa phương pháp đĩa kết hợp và phương pháp xác định MIC

Phương pháp đĩa kết hợp	Xét nghiệm tham chiếu (MIC)		Tổng
	Dương tính	Âm tính	
Dương tính	237	2	239
Âm tính	2	151	153
Tổng	239	153	392

Nhận xét: Tham chiếu trên kết quả thử nghiệm ESBL bằng phương pháp xác định MIC, phương pháp đĩa kết hợp thực hiện trên 392 mẫu thu được kết quả như sau: 237 mẫu dương tính thật, 2 mẫu dương tính giả, 151 mẫu âm tính thật và 2 mẫu âm tính giả.

Bảng 3. Đối chiếu kết quả thử nghiệm ESBL giữa máy tự động Phoenix M50 và phương pháp xác định MIC

Máy tự động Phoenix M50	Xét nghiệm tham chiếu (MIC)		Tổng
	Dương tính	Âm tính	
Dương tính	207	24	231
Âm tính	33	128	161
Tổng	240	152	392

Nhận xét: Tham chiếu trên kết quả thử nghiệm ESBL bằng phương pháp xác định MIC, phương pháp sử dụng máy tự động Phoenix M50 thực hiện trên 392 mẫu thu được kết quả như sau: 207 mẫu dương tính thật, 24 mẫu dương tính giả, 128 mẫu âm tính thật và 33 mẫu âm tính giả.

Bảng 4. Độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Phoenix M50

Thử nghiệm ESBL	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
Phương pháp đĩa kết hợp	99,1%	98,6%
Máy tự động Phoenix M50	86,3%	84,2%

Nhận xét: Tham chiếu trên kết quả thử nghiệm ESBL bằng phương pháp xác định MIC, thử nghiệm ESBL bằng phương pháp đĩa kết hợp có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 99,1% và 98,6% và với sử dụng máy tự động Phoenix M50 lần lượt là 86,3% và 84,2%.

Bảng 5. Giá trị tiên đoán dương và tiên đoán âm của phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Phoenix M50

Thử nghiệm ESBL	Giá trị tiên đoán dương (%)	Giá trị tiên đoán âm (%)
Phương pháp đĩa kết hợp	99,1%	98,6%
Máy tự động Phoenix M50	87,2%	83,6%

Nhận xét: Tham chiếu trên kết quả thử nghiệm ESBL bằng phương pháp xác định MIC, giá trị tiên đoán dương và tiên đoán âm của phương pháp đĩa kết hợp lần lượt là 99,1% và 98,6%; giá trị tiên đoán dương và tiên đoán âm của phương pháp sử dụng máy tự động Phoenix M50 lần lượt là 87,2% và 83,6%.

Bảng 6. Mức độ tương thích giữa phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Phoenix M50 trong thử nghiệm ESBL

Chỉ số Kappa	p
0,989	<0,001

Nhận xét: Chỉ số Kappa giữa hai phương pháp là 0,989 cho thấy độ tương thích giữa hai phương pháp rất cao và gần như hoàn toàn.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Tỷ lệ sinh ESBL của *Escherichia coli*

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ *Escherichia coli* sinh ESBL bằng phương pháp đĩa kết hợp là 60,7% (238/392), cao hơn so với tỷ lệ không sinh enzyme ESBL là 39,3% (154/392) 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 Lương Hồng Loan (2020) thực hiện tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh cho tỷ lệ *Escherichia coli* sinh ESBL là 61,5% [3]. Và nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thành Tín (2018) thực hiện tại Bệnh viện Đa khoa Bạc Liêu với tỷ lệ 62,9% [4]. Trên thế giới, nghiên cứu của tác giả Chang Y. T và cộng sự (2017) tại trung Quốc với tỷ lệ 66,6% [6].

Tuy nhiên, kết quả của chúng tôi không tương đồng với các nghiên cứu của tác giả Mai Thị Thu Huyền (2017) thực hiện tại Bệnh viện Phạm Ngọc Thạch với tỷ lệ 47,3% [2]. Chu Thị Hải Yến (2014) thực hiện tại Bệnh viện Trung Vương với tỷ lệ 33% [1]. Cũng như một số nghiên cứu trên thế giới như nghiên cứu của tác giả Chakraborty A và cộng sự (2015) tại Mỹ với 33% [5]. Lý giải về sự khác nhau về tỷ lệ *Escherichia coli* sinh ESBL giữa các nghiên cứu ở mỗi khu vực trong nước và các nước với nhau là do sự khác biệt về tiêu chuẩn chọn mẫu trong nghiên cứu. Mặc 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.

4.2. Giá trị của phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Phoenix M50 trong thử nghiệm ESBL

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả thử nghiệm ESBL tiến hành trên 392 mẫu bệnh phẩm trong nghiên cứu của chúng tôi bằng phương pháp đĩa kết hợp thu được 237 mẫu dương tính thật, 2 mẫu dương tính giả, 151 mẫu âm tính thật và 2 mẫu âm tính giả. Từ đó, chúng tôi xác định được độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp lần lượt là 99,1% và 98,6%, tương tự, kết quả của thử nghiệm ESBL tiến hành trên 392 mẫu bệnh phẩm trong nghiên cứu của chúng tôi bằng máy tự động Phoenix M50 thu được 207 mẫu dương tính thật, 24 mẫu dương tính giả, 128 mẫu âm tính thật và 33 mẫu âm tính giả. Từ đó, chúng tôi xác định được độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp lần lượt là 86,3% và 84,2%. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của tác giả L. Drieux (2010) về độ nhạy là 100% và giá trị độ đặc hiệu cao hơn 51,5% [7]. 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 99,1% và 98,6%; với máy tự động Phoenix M50 là 87,2% và 83,6%.

Từ kết quả này cho thấy, cả hai phương pháp đĩa kết hợp và máy tự động Phoenix M50 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 khuyết điểm riêng: Ưu điểm của thử nghiệm ESBL bằng máy Phoenix M50 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 thời gian nhanh từ 6 đến 8 giờ nhưng phòng xét nghiệm phải đầu tư máy và giá thành của máy khá cao. Đối với phương pháp đĩa kết hợp, thử nghiệm cũng tương đối đơn giản và ít tốn chi phí, chỉ cần những nguyên vật liệu cơ bản trong phòng thí nghiệm đã có thể thực hiện được và cho kết quả rất chính xác. Vì vậy, phương pháp đĩa kết hợp nên được khuyến cáo sử dụng vì hiệu quả cao hơn và giá thành thấp hơn.

V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ sinh enzyme ESBL của *Escherichia coli* bằng phương pháp đĩa kết hợp và máy Phoenix M50 khá cao, trong đó tỷ lệ sinh ESBL của *Escherichia coli* đối với phương pháp đĩa kết hợp là 60,7% cao hơn phương pháp sử dụng máy tự động Phoenix M50 (58,9%). Phương pháp đĩa kết hợp và phương pháp sử dụng máy tự động Phoenix M50 có độ nhạy, độ đặc hiệu lần lượt theo thứ tự là 99,1%, 98,6% và 86,3%, 84,2%. Hệ số tương thích kappa giữa hai phương pháp gần như hoàn toàn trong đánh giá sinh ESBL của vi khuẩn *Escherichia coli*, kappa=0,989 (p<0,001).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chu Thị Hải Yến (2014), “Khảo sát tỷ lệ đề kháng kháng sinh của vi khuẩn phân lập tại Bệnh viện cấp cứu Trưng Vương”, *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, số 5, tr.75-82.
2. Mai Thị Thu Huyền, Nguyễn Đình Duy, Nguyễn Hữu Lân (2018), “Các vi khuẩn thường gặp và tính đề kháng kháng sinh của chúng tại Bệnh viện Phạm Ngọc Thạch từ 11/2016 – 11/2017”, *Tạp chí Y học Thành Phố Hồ Chí Minh*, 22(5), tr. 196-200.
3. Lương Hồng Loan, Huỳnh Minh Tuấn (2020), “Trực khuẩn gram âm tiết ESBL và phổ đề kháng kháng sinh tại Bệnh viện Y học TP. Hồ Chí Minh”, 24(2), tr. 223-229.

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 Đa khoa Bạc Liêu”, *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, số 5, tr. 246-251.
5. Chakraborty A., Adhikari P., Shenoy S. & Saralaya V. (2015), “Clinical significance and phylogenetic background of extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* isolates from extra-intestinal infections”, *J Infect Public Health*, 8(3), pp. 248-253.
6. Chang Y.T., Coombs G., Ling T., *et al.* (2017), “Epidemiology and trends in the antibiotic susceptibilities of Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections in the Asia-Pacific region, 2010-2013”, *Int J Antimicrob Agents*, 49(6), pp. 734-739.
7. Drieux L, Brossier F, Sougakoff W. and Jarlier V. (2010), “Phenotypic detection of extended – spectrum beta-lactamase producing in *Enterobacteriaceae*”. *CMI*, 14(Suppl.1), pp. 90-103.
8. WHO (2019), “New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis”, *Joint News Release*, pp.1-4.

(Ngày nhận bài: 23/6/2022 – Ngày duyệt đăng: 05/9/2022)
