

KHẢO SÁT VI KHUẨN GRAM ÂM SINH MEN BETA LACTAMASE PHỔ RỘNG PHÂN LẬP TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA TRUNG TÂM AN GIANG

*Phạm Ngọc Kiều, Nguyễn Thị Hân và Phạm Ngọc Dũng
Khoa HSCC và Khoa Xét nghiệm, BV An giang*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hiện nay, một vấn đề đang được quan tâm là nhiễm khuẩn do trực khuẩn Gram âm sinh men β -lactamase phổ rộng. ESBL có khả năng ly giải các cephalosporins, gây nhiều khó khăn cho việc chọn lựa kháng sinh.

Mục tiêu: Nghiên cứu này được thực hiện nhằm: (1) xác định tỷ lệ trực khuẩn Gram âm sinh ESBL và tỷ lệ các chủng vi khuẩn trong nhóm trực khuẩn Gram âm sinh ESBL, (2) khảo sát tính kháng thuốc của các chủng này.

Phương pháp: Tiền cứu. Chọn các trực khuẩn Gram âm phân lập thường quy tại Bệnh viện Bệnh Viện Đa Khoa Trung Tâm An Giang từ tháng 01/2012 đến tháng 07/2012 làm kháng sinh đồ. Xác định vi khuẩn tiết ESBL bằng phương pháp thử phản ứng dương tính với giấy thử Nitrocefin và phương pháp hệ thống đĩa kết hợp Augmentin- Ticarcillin, Augmentin - Ceftriaxone.

Kết quả: Nuôi cấy 148 mẫu, có 49 chủng vi khuẩn sinh ESBL, chiếm tỷ lệ 33,1%. Trong đó E. coli và Enterobacter chiếm tỷ lệ cao (55,4% và 33,1%). Các vi khuẩn sinh men ESBL ngoài việc đề kháng với nhóm cephalosporin cũng đề kháng với các nhóm kháng sinh khác như aminoglycosides, Cycline và fluoroquinolones đặc biệt là levofloxacin, chưa có đề kháng với imipenem.

Kết luận: Vi khuẩn tiết ESBL thực sự là gánh nặng trong điều trị nhiễm khuẩn. Cần phải cấy máu và làm kháng sinh đồ sớm phát hiện chủng vi khuẩn tiết ESBL để có hướng điều trị thích hợp giảm được chi phí điều trị.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF EXTENDED-SPECTRUM β -LACTAMASE- PRODUCING GRAM-NEGATIVE BACILLI ISOLATED FROM AN GIANG HOSPITAL

Background: A most important issue of bacterial infections is the actual resistance due to ESBL-producing Gram-negative bacilli. ESBLs are able to hydrolyse all cephalosporins, therefore choosing antibiotics for therapy is difficult.

Objectives: (1) to determine the rates of Gram-negative bacilli and their species produce ESBL (2) to determine the resistance of Gram-negative bacilli to different antibiotics.

Methods: This was a prospective study, the antibiotic susceptibility testing were performed for all gram-negative bacilli isolated in An Giang Hospital from 01/2012 to 07/2012. ESBL-producing strains were confirmed by positive reaction with Nitrocefin test, and with combination disks containing Augmentin- Ticarcillin, and Augmentin - Ceftriaxone.

Results: We found 49 of 148 Gram-negative bacilli isolates (33.1%) producing ESBL. Among them the most ESBL-producing strains were *E coli*, then *Enterobacter* (55,4% and 33,1%, respectively). They were also resistant to aminoglycosides, Cycline, and fluoroquinolones, but not imipenem.

Conclusion: ESBL-producing Gram-negative bacilli are actually burdensome for chemotherapy for bacterial infections. Prompt hemoculture and antibiogram are needed to find out the ESBL-producing bacteria and using appropriate antibiotics.

Key words: ESBL (extended-spectrum beta-lactamase)

ĐẶT VẤN ĐỀ

Men beta-lactamase phổ rộng (ESBL) được tìm thấy lần đầu tiên năm 1983 tại Đức, thường gặp trong các chủng vi khuẩn đường ruột đặc biệt là *Klebsiella sp*, *E.coli*... khi các chủng vi khuẩn sinh ESBL thì đồng nghĩa với việc chúng kháng lại rất nhiều các kháng sinh, đặc biệt là nhóm cephaslosporin. Đây là gánh nặng thực sự trong điều trị nhiễm trùng trực khuẩn gram (-). Những vi khuẩn sinh ESBL có thể mắc do lây truyền từ người này sang người khác, hoặc do được chọn lọc qua việc dùng kháng sinh. Vì vậy việc phòng chống, giảm thiểu những vấn đề do những vi khuẩn đó gây nên chính là việc chống nhiễm khuẩn tốt tại các trung tâm chăm sóc đặc biệt và sử dụng kháng sinh hợp lý cho những bệnh nhân phải điều trị dài ngày. Nhờ mang những men này mà vi khuẩn có khả năng kháng lại các kháng sinh trước đây đã từng tiêu diệt nó.

Tại Việt nam, Theo thông báo của Bộ Y tế năm 2003, vi khuẩn đường ruột sinh ESBL là nguyên nhân của 30-50% các trường hợp nhiễm khuẩn Bệnh viện, các chủng VK đường ruột có ESBL dao động lớn tùy theo từng khu vực, cao nhất là ở BV Chợ rẫy với 61% các chủng *Klebsiella* và 52,6% các chủng *E.coli* có ESBL [2]. Tỷ lệ đó ở BV Việt Đức là 39,3% và 34,2%. Tại An

Giang chưa có nghiên cứu về VK sinh ESBL, vì vậy chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm: (1) xác định tỷ lệ trực khuẩn Gram âm sinh ESBL và tỷ lệ các chủng vi khuẩn trong nhóm trực khuẩn Gram âm sinh ESBL, (2) khảo sát tính kháng thuốc của các chủng này.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu mô tả, tiền cứu, cắt ngang.

1-Thu thập bệnh phẩm

Các mẫu lấy vào nghiên cứu là trực khuẩn Gram âm được phân lập tại Bệnh Viện Đa Khoa Trung Tâm An Giang từ tháng 01/2012 đến tháng 07/2012.

2-Phương pháp xác định VK sinh ESBL

Vi khuẩn được nuôi cấy, phân lập và định danh theo thường quy. Trực khuẩn Gram âm phân lập được làm thử nghiệm kháng sinh đồ. Xác định ESBL bằng ba phương pháp (1) phản ứng với giấy thử Nitrocefin nếu chuyển từ màu trắng sang màu hồng là dương tính, (2) với hệ thống đĩa kết hợp Augmentin và Ticarcillin nếu đường kính diệt khuẩn của hai đĩa kháng sinh trên trừ nhau lớn hơn 5mm là dương tính, (3) sử dụng đĩa Augmentin và Ceftriaxon nếu vòng diệt khuẩn của hai kháng sinh này giáp nhau có dạng hình cổ chai là dương tính [9].

3- Phương pháp xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm SPSS 19.0

KẾT QUẢ

Trong 148 mẫu trực khuẩn Gram âm phân lập được, có 49 trực khuẩn Gram âm sinh ESBL, chiếm tỷ lệ 33,1% và 99 trực khuẩn không sinh ESBL chiếm tỉ lệ 66,9%

Bảng 1. Đặc điểm của mẫu Nghiên cứu

Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ
Tuổi	58,37± 20	
Nữ /Nam	89/59	1,5
Nhiễm khuẩn huyết	80	54,1%
Nhóm khác	68	45,9%

Bảng 2. Tỷ lệ các loại bệnh phẩm

Bệnh phẩm	Số mẫu	Tỷ lệ %
Mủ	62	41,9%
Nước tiểu	39	26,4%
Máu	19	12,8%
Phân	13	8,8%
Đám	13	8,8%
Dịch khác	2	1,4%
Tổng	148	100%

Nhận xét: Bệnh nhiễm khuẩn huyết chiếm hơn phân nửa. Bệnh phẩm là mủ, nước tiểu và máu chiếm tỷ lệ cao nhất.

Bảng 3. Tỷ lệ các chủng vi khuẩn phân lập được

Loại vi khuẩn	ESBL(+)	ESBL(-)	Tổng
<i>E. coli</i>	26 (53,1%)	56 (56,6%)	82 (55,4%)
<i>Enterobacter</i>	18 (36,7%)	28 (28,3%)	46 (31,1%)
<i>Pseudomonas</i>	2 (4,1%)	8 (8,1)	10 (6,8%)
<i>Proteus</i>	2 (4,1%)	6 (6,1%)	8 (5,4%)
<i>Klebsiella</i>	0	1 (1%)	1 (0,7%)
<i>Providencia</i>	1 (2%)	0	1 (0,7%)
Tổng	49	99	148

Nhận xét: *E. coli* và *Enterobacter* chiếm tỷ lệ cao nhất lần lượt là 55,4% và 33,1%.

Bảng 4. So sánh tỷ lệ đề kháng với kháng sinh giữa hai nhóm ESBL(+) và ESBL (-)

Kháng sinh	ESBL dương(%) n=49	ESBL âm(%) n=96	p
Augmentin	57,1	34,3	<0,05
Amikacin	6,1	5,1	>0,05
Bactrim	36,7	53,5	<0,05
Ciprofloxacin	63,3	61,6	>0,05
Cefoperozone	49	60,6	>0,05
Cefepim	26,5	25,3	>0,05
Ceftriaxone	44,9	62,6	<0,05
Ceftazidim	28,6	21,2	>0,05

Doxycycline	81,6	55,6	<0,05
Nitrofurantoin	12,2	15,2	>0,05
Gentamycine	55,1	65,7	>0,05
Kanamycine	49	50,5	>0,05
Levofloxacin	61,2	59,6	>0,05
Nalidixic acid	77,6	66,7	>0,05
Netilmicin	16,3	15,2	>0,05
Tobramycin	34,7	27,3	<0,05
Ticarcillin	10,2	3	<0,05
Imipenem	0	0	0

Nhận xét: nhìn chung VK sinh ESBL có tỷ lệ kháng với kháng sinh cao hơn nhóm không sinh ESBL. tỷ lệ đề kháng cao đối với nhóm cephalosporin (ceftriaxone 44,9% và 62,6%, cefoperazone 49% và 60,6%, Quinolone (levofloxacin 61,2% và 59,6%), Doxycycline 81,6% và 55,6%, Gentamycin 55,1% và 65,7% và Kanamycin 49% và 50,5%).

Bảng 5. Kết quả điều trị giữa hai nhóm ESBL dương và âm

Kết quả	ESBL dương	ESBL âm	p
Tử vong	4/49 (8,2%)	4/99 (4%)	<0,05
Số ngày nằm viện	12,47± 6,2	10,8± 6,8	>0,05
Sử dụng KS đúng KSD	60,9%	46,2%	

Nhận xét: Tỷ lệ tử vong ở nhóm VK sinh ESBL cao gấp đôi so với nhóm VK không sinh ESBL. Tỷ lệ sử dụng kháng sinh đúng so với KSD nhìn chung là 50,7%.

BÀN LUẬN

Trong 148 chủng vi khuẩn phân lập được, có 49 trực khuẩn Gram âm sinh ESBL và 99 trực khuẩn không sinh ESBL. Trong đó, *E. coli* chiếm tỷ lệ cao nhất (53,1%). Trong khảo sát này, bệnh phẩm cấy dương tính chiếm tỷ lệ cao nhất là mủ (41,9%) kế đến nước tiểu (26,4%) và máu (12,8%). Tỷ lệ vi khuẩn phân lập được chiếm tỷ lệ cao nhất trong vi khuẩn gram âm nói chung và gram âm sinh ESBL nói riêng là *E. coli* kế đến là *Enterobacter*.

Theo nghiên cứu của tác giả Cao Bảo Vân (2002) [5], tỷ lệ vi khuẩn sinh ESBL chung là 7,5%. Và tỷ lệ này không ngừng tăng lên theo thời gian nguyên nhân được giải thích là do việc sử

dụng kháng sinh thuộc nhóm Cephalosporins, Fluoroquinolones không được kiểm soát chặt chẽ cùng với kỹ thuật phát hiện ESBL đã được quan tâm nhiều hơn.

Kết quả nghiên cứu vi khuẩn gram âm sinh ESBL của chúng tôi là 33,1%, kết quả này cũng tương tự như kết quả của các nghiên cứu khác trong khoảng từ năm 2006 đến nay như tác giả Mai Văn Tuấn năm 2006 là 30,6% [4], tác giả Nguyễn Tuấn Minh năm 2008 là 26% [3], trong Nghiên cứu SMART của Bệnh Viện Chợ Rẫy năm 2007 là 30%, tác giả Hoàng Thị Phương Dung 2010 là 32,4% [1], Tác giả Carmen và cộng sự 1998 là 40% [7].

Trong nghiên cứu của chúng tôi về các chủng vi khuẩn Gram âm sinh ESBL, vi khuẩn *E. coli* có số lượng cao nhất, chiếm tỷ lệ 55,4%. Tiếp đến là *Enterobacter*. Theo nghiên cứu của tác giả Cao Bảo Vân, trong 55 chủng vi khuẩn sinh ESBL phân lập được, *E. coli* và *K. pneumoniae* chiếm tỷ lệ lần lượt là 58,2% và 23,6% [5]. Tương tự các nghiên cứu của tác giả Võ Thị Chi Mai tại Bệnh Viện Chợ Rẫy [2], tác giả Nguyễn Thị Yến Xuân [6] và của tác giả Mai Văn Tuấn [4], trong nhóm vi khuẩn sinh men ESBL, *E. coli* chiếm đa số, kế đến là *K. pneumoniae*. Đa số các nghiên cứu trong nước đều nhận thấy hai vi khuẩn này thường chiếm tỷ lệ cao trong các vi khuẩn sinh ESBL. Bên cạnh đó, các tác giả cũng ghi nhận *Enterobacter* sinh ESBL.

Tỷ lệ đề kháng Cephalosporins ở nhóm ESBL (+) cao vượt trội trong các nghiên cứu của các tác giả như Hoàng Thị Phương Dung, Võ Thị Chi Mai, Mai Văn Tuấn... Tuy nhiên, trong NC của chúng tôi tỷ lệ đề kháng với Cephalosporin thế hệ III của vi khuẩn trong nhóm ESBL (+) và nhóm ESBL (-) khác nhau không có ý nghĩa thống kê, điều này có thể giải thích do việc sử dụng quá rộng rãi nhóm cefoperazone và ceftriaxone trong Bệnh viện nên sự đề kháng của VK có ESBL hay không đối hai KS trên là tương đương nhau.

Các vi khuẩn sinh men ESBL cũng đề kháng với các nhóm kháng sinh khác như aminoglycoside và fluoroquinolone điều này thấy rõ trong nghiên cứu của chúng tôi. Theo các tác giả Lautenbach và cộng sự [8], Livermore và Paterson [9], tỷ lệ vi khuẩn ESBL(+) kháng với

kháng sinh thuộc nhóm fluoroquinolones là rất cao. Và tác giả cũng ghi nhận sử dụng quinolones là một yếu tố nguy cơ quan trọng đối với nhiễm *E. coli* và *K. pneumoniae* sinh ESBL.

Trong NC của chúng tôi các vi khuẩn còn nhạy cảm 100% với kháng sinh thuộc họ imipenem tương tự như tác giả Hoàng Thị Phương Dung [1], Võ Thị Mai Chi [2]. Một số KS còn nhạy cảm như Amikacine, Cefepim, Ceftazidim, Netimycine và Ticarcilline. Bên cạnh một số KS đã bị kháng trên 50% như Ciprofloxacin, Cefoperazone, Ceftriaxone, Doxycycline, Gentamycin, Kanamycin, Levofloxacin, Nalidixicid.

KẾT LUẬN

Tỷ lệ vi khuẩn Gram âm sinh ESBL là 33,1%. Chúng vi khuẩn chiếm tỷ lệ cao nhất là *E. coli* và *Enterobacter*. Có sự khác nhau về kết quả giữa hai nhóm vi khuẩn sinh ESBL và nhóm không sinh ESBL về sự đề kháng với kháng sinh cũng như tỷ lệ tử vong. Tỷ lệ vi khuẩn Gram âm sinh ESBL đề kháng hơn 50% với các kháng sinh thường dùng như Ciprofloxacin, Cefoperazone, Ceftriaxone, Doxycycline, Gentamycin, Kanamycin, Levofloxacin. Việc sử dụng KS đúng theo kháng sinh đồ trong bệnh viện còn thấp (51%).

Đề nghị: Nên cấy máu và làm kháng sinh đồ trước khi cho kháng sinh. Phòng xét nghiệm cần có các biện pháp cải tiến sao cho có kết quả nhanh nhất để BS lâm sàng điều trị đúng, rút ngắn thời gian nằm viện, giảm chi phí điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoàng Thị Phương Dung, Nguyễn Thanh Bảo (2010), "Khảo sát trực khuẩn gram âm sinh men beta lactamase phổ rộng phân lập tại Bệnh Viện Đại Học Y Dược TP Hồ Chí Minh", *Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh*, 14(phụ lục số 1): pp. 486-480.
2. Võ Thị Mai Chi, Ngô Thị Quỳnh Hoa (2010), "Trực khuẩn đường ruột tiết beta lactamase phổ rộng (ESBL) gây nhiễm và chiếm cư đường ruột phân lập tại Bệnh viện Chợ Rẫy", *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, 14(Phụ bản của Số 2).

3. Nguyễn Tuấn Minh (2008), "Nghiên cứu vi khuẩn sinh men beta-lactamase phổ rộng gây nhiễm khuẩn hô hấp ở bệnh nhân thở máy", *Luận văn Thạc sĩ y khoa Học Viện Quân Y Hà Nội*.
4. Mai Văn Tuấn, Nguyễn Thanh Bảo (2006), "Khảo sát trực khuẩn gram âm sinh men beta lactamase phổ rộng phân lập tại Bệnh viện Trung ương Huế", *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, Vol. 12(Supplement of No 1): pp. 150 - 156.
5. Cao Bảo Vân (2002), "Distribution of Extended-Spectrum β -Lactamases in Clinical Isolates of Enterobacteriaceae in Vietnam", *Antimicrobial agents and chemotherapy*: pp. 3739-3743.
6. Nguyễn Thị Yên Xuân (2004), "Khảo sát yếu tố nguy cơ nhiễm trùng bệnh viện do vi khuẩn sinh men β -lactamases phổ mở rộng tại bệnh viện Bệnh nhiệt đới từ tháng 5 năm 2002 đến tháng 2 năm 2004", *Luận văn tốt nghiệp Bác sĩ nội trú*, (Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh).
7. Carmen Pen, Miquel Pujol (1998), "Epidemiology and Successful Control of a Large Outbreak Due to Klebsiella pneumoniae Producing Extended- Spectrum β -Lactamases", *Antimicrobial agents and chemotherapy*: pp. 53-58.
8. E Lautenbach (2001), "Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae", *Clin Infect Dis*, 33: pp. 1288-1294.
9. Livermore D. M., Paterson D.L (2005), "Pocket Guide to Extended-Spectrum β -Lactamases in Resistance", *Current Medicine Group*.