

TÌNH HÌNH KHÁNG KHÁNG SINH CỦA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* PHÂN LẬP ĐƯỢC TRÊN BỆNH PHẨM TẠI VIỆN PASTEUR, TP HỒ CHÍ MINH

HOÀNG DOÃN CẢNH*, VŨ LÊ NGỌC LAN**,
UÔNG NGUYỄN ĐỨC NINH**, LÍ THÀNH HỮU**, CAO HỮU NGHĨA**

TÓM TẮT

Chúng tôi đã tiến hành khảo sát tỉ lệ kháng kháng sinh và xác định khả năng sản xuất Carbapenemase từ 28 chủng *P. aeruginosa* phân lập được từ các mẫu bệnh phẩm tại Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh. Kết quả: *P. aeruginosa* kháng lại tất cả các loại kháng sinh với tỉ lệ kháng khá cao (trên 40%), chỉ một tỉ lệ nhỏ kháng lại CS (10,7%), đặc biệt một tỉ lệ kháng khá cao với IPM (46,2%) và thử nghiệm Hodge test với 17,9% số chủng có khả năng sản xuất Carbapenemase.

Từ khóa: kháng kháng sinh, *Pseudomonas aeruginosa*, Carbapenemase.

ABSTRACT

The antibiotic resistance of Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical specimens in Pasteur Institute – Ho Chi Minh City

This study investigated the Carbapenemase production and the antibiotic resistance rate of 28 *P. aeruginosa* strains isolated in Pasteur Institute – Ho Chi Minh City. The results show that tested *P. aeruginosa* strains were resistant to most of available antimicrobial agents with high proportion, up to 40%, while small resistant rate on colistin was recorded, only 10.7%. Particularly, isolated *P. aeruginosa* strains were able to resist to imipenem with high proportion, up to 46.2%. There were 17.9% of tested *P. aeruginosa* strains had the ability to produce Carbapenemase.

Keywords: antibiotic resistance, *Pseudomonas aeruginosa*, Carbapenemase.

1. Đặt vấn đề

Pseudomonas aeruginosa là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây nhiễm khuẩn bệnh viện. Chúng gây nên những bệnh lí với nhiều mức độ khác nhau như viêm phổi, nhiễm khuẩn vết thương, nhiễm khuẩn huyết nặng với tỉ lệ tử vong khá cao. Ở Mỹ, theo báo cáo của hệ thống giám sát nhiễm khuẩn bệnh viện quốc gia, *P. aeruginosa* đứng thứ hai trong số tất cả các tác nhân gây nhiễm trùng bệnh viện liên quan đến bệnh viêm phổi.

Tỉ lệ *P. aeruginosa* gây nhiễm khuẩn bệnh viện đã tăng dần trong những năm gần

* HVCH, Trường Đại học Sư phạm TPHCM

** BS, Viện Pasteur TPHCM

đây trên thế giới và cả Việt Nam. Cùng với sự gia tăng về tỉ lệ nhiễm khuẩn là sự gia tăng về khả năng kháng kháng sinh, cụ thể kháng với carbapenem. Theo báo cáo mới nhất của CDC ước tính rằng ở Hoa Kỳ, hơn hai triệu người bị bệnh mỗi năm với bệnh nhiễm trùng kháng thuốc kháng sinh thì có ít nhất 23.000 người chết và có khoảng 51.000 ca nhiễm bệnh liên quan đến *P. aeruginosa*. Trong các ca nhiễm bệnh liên quan đến *P. aeruginosa* có hơn 6000 (13%) là đa kháng thuốc, với khoảng 400 ca tử vong do nhiễm trùng [7]. Ở Anh, theo một kết quả nghiên cứu của T L. Pitt (2003), 50% số chủng *P. aeruginosa* kháng Gentamicin, 39% kháng Ceftazidime, 32% kháng Piperacillin và 30% kháng Ciprofloxacin. [12]

Ở Việt Nam, nghiên cứu ở 36 bệnh viện các tỉnh phía Bắc trong năm 2006 – 2007 bao gồm 2 bệnh viện Trung ương, 17 bệnh viện tuyến tỉnh, 17 bệnh viện tuyến huyện cho thấy 553/7571 (7,8%) bệnh nhân mắc nhiễm trùng bệnh viện (HAIs). Có 3 loại nhiễm khuẩn chính: viêm phổi (41,9%), nhiễm khuẩn vết mổ (27,5%), nhiễm khuẩn tiêu hóa (13,1%). Căn nguyên chính là *Acinetobacter baumannii* (23,3%) và *Pseudomonas aeruginosa* (31,5%) [3]. Theo kết quả nghiên cứu từ 4 bệnh viện tại Hà Nội: Việt Đức, Xanh Pôn, Bệnh viện 108 và Bệnh viện 103 từ năm 2005 – 2008 cho thấy *P. aeruginosa* phân lập từ các bệnh phẩm đề kháng rất cao với các loại kháng sinh như Tetracycline (92,1%), Ceftriaxone (58,5%) và Gentamicin (54%). [2]

Tình hình đề kháng đa kháng sinh của *P. aeruginosa* được ghi nhận trong một số nghiên cứu trên thế giới và tại Việt Nam cho thấy sự gia tăng về tình hình nhiễm khuẩn bệnh viện do *P. aeruginosa* cũng như khả năng kháng lại kháng sinh của vi khuẩn này gây nên, làm tăng tỉ lệ bệnh tật, tăng tỉ lệ tử vong và tăng chi phí điều trị. Do đó, chúng tôi thực hiện đề tài: “Tình hình kháng kháng sinh của *Pseudomonas aeruginosa* phân lập được trên bệnh phẩm tại Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh”, nhằm mục tiêu:

- Khảo sát tình hình kháng kháng sinh của *Pseudomonas aeruginosa*;
- Xác định các chủng có khả năng sản xuất Carbapenemase.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

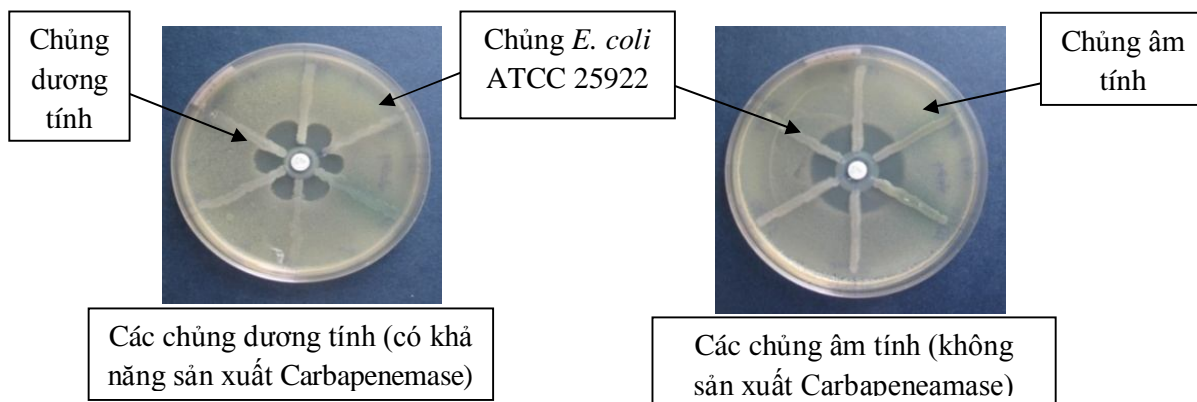
Các chủng *Pseudomonas aeruginosa* phân lập được từ các bệnh phẩm: Đàm, mũi, máu, nước tiểu, dịch não tủy tại Phòng Vi sinh bệnh phẩm, Khoa LAM, Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh từ 8/2013 – 4/2014, theo quy trình đạt chuẩn ISO 15189:2007.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- ❖ Phân lập vi khuẩn từ bệnh phẩm trên môi trường chuyên biệt
 - Trên môi trường Columbia agar + 5% máu cừu và chocolate agar: Đối với bệnh phẩm là: Đàm, mũi, máu, dịch não tủy.
 - Trên môi trường Promocresol purple: Đối với bệnh phẩm là nước tiểu.
- ❖ Định danh vi khuẩn bằng các phản ứng sinh hóa, API 20NE hoặc máy VITEK 2.
- ❖ Xác định khả năng kháng kháng sinh của các chủng *P. aeruginosa* phân lập được

bằng phương pháp Kirby-Bauer, sử dụng môi trường Mueller Hinton (MH) và khoan giấy kháng sinh của hãng Bio-Rad, đọc kết quả theo tiêu chuẩn CLSI (2013).

❖ Phương pháp Hodge test: Đây là phương pháp kiểm tra khả năng sản xuất enzym Carbapenemase của các chủng *P. aeruginosa*. Chúng tôi tiến hành đồng thời và so sánh kết quả của hai phương pháp: Phương pháp Hodge test truyền thống và phương pháp Hodge test có bổ sung 10 μ l ZnSO₄ (0,5M) vào đĩa kháng sinh Ertapenem 10 μ g. [9][10]



Hình 1. Thử nghiệm Hodge test

❖ Ghi nhận kết quả và xử lý bằng phần mềm Microsoft excel 2007.

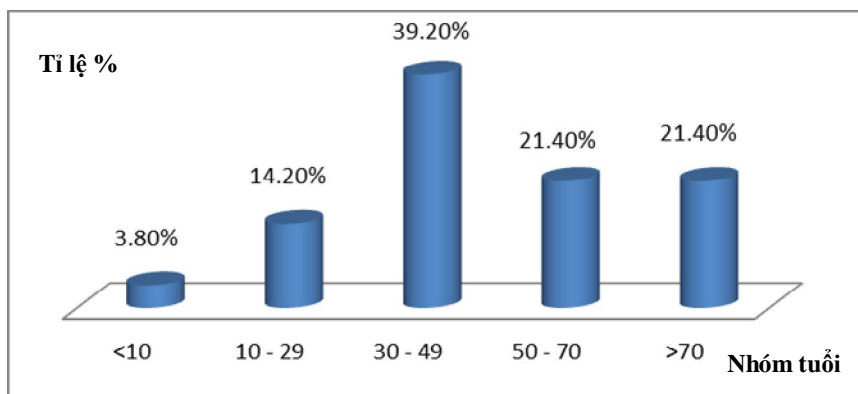
3. Kết quả nghiên cứu

Trong thời gian từ 8/2013 - 4/2014, chúng tôi đã phân lập được 28 chủng *P.aeruginosa* từ các mẫu bệnh phẩm, sau khi tiến hành định danh, làm kháng sinh đồ và tiến hành thử nghiệm Hodge test chúng tôi đã thu được kết quả sau:

3.1. Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm *Pseudomonas aeruginosa* theo nhóm tuổi

Các chủng *P. aeruginosa* được phân lập từ các bệnh phẩm của các bệnh nhân thuộc các nhóm tuổi khác nhau, kết quả trình bày ở biểu đồ 1.

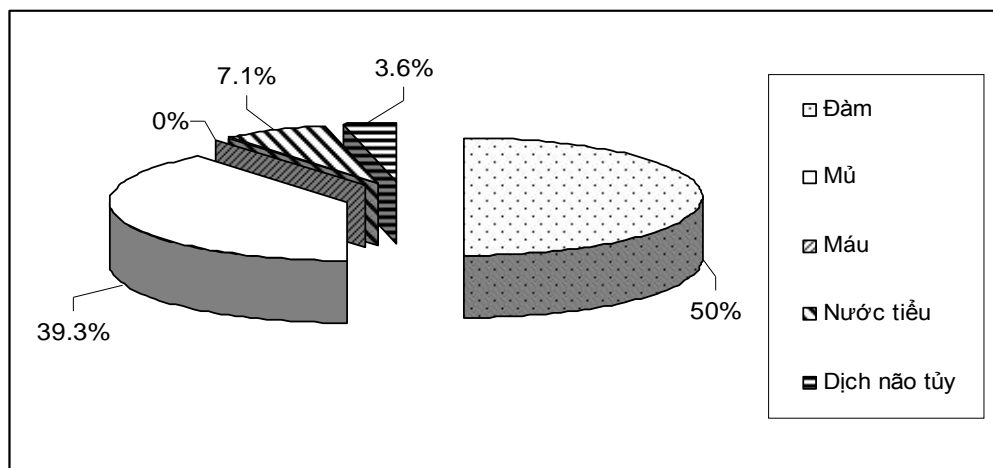
Biểu đồ 1. Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm *P. aeruginosa* theo nhóm tuổi



3.2. Tỷ lệ Pseudomonas aeruginosa phân lập được trong các loại bệnh phẩm

Các chủng *P. aeruginosa* phân lập được từ các bệnh phẩm: Đàm, mủ, máu, dịch não tủy và nước tiểu, kết quả trình bày ở biểu đồ 2.

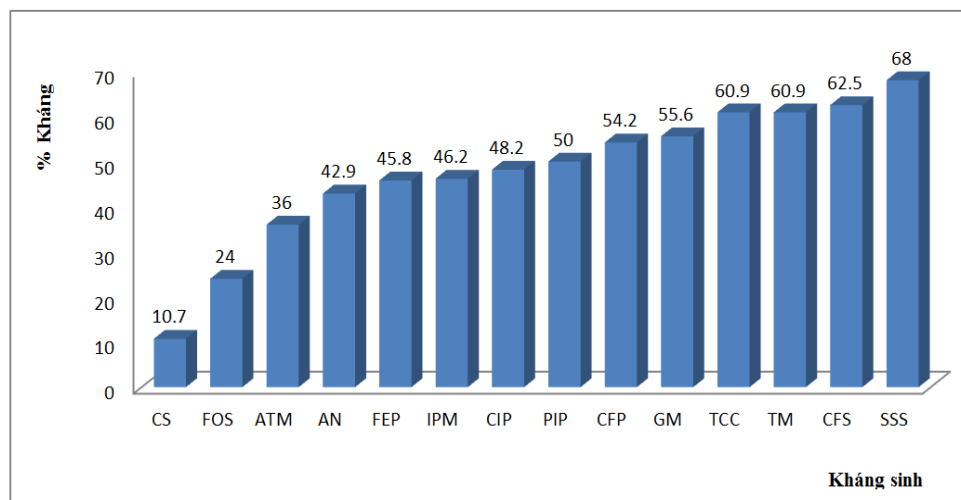
Biểu đồ 2. Tỷ lệ *P. aeruginosa* phân lập được từ các loại bệnh phẩm



3.3. Khảo sát mức độ kháng kháng sinh của Pseudomonas aeruginosa

Mức độ kháng kháng sinh của *P. aeruginosa* (biểu đồ 3)

Biểu đồ 3. Mức độ kháng kháng sinh của *P. aeruginosa*



CS: Colistin 10µg, **FOS:** Fosfomycin 50µg, **ATM:** Aztreonam 30µg, **AN:** Amikacin 30µg, **CIP:** Ciprofloxacin 5µg, **FEP:** Cefepime 30µg, **IPM:** Imipenem 10µg, **GM:** Gentamicin 10µg, **CFP:** Cefoperazone 30µg, **TCC:** Ticarcillin/a.clavulanic 75µg, **TM:** Tobramycin 10µg, **PIP:** Piperacillin 75µg, **CFS:** Cefsulodin 30µg, **SSS:** Sulfamides 200µg

3.4. Tỷ lệ *Pseudomonas aeruginosa* sản xuất Carbapenemase

Từ các mẫu bệnh phẩm, chúng tôi phân lập được 28 chủng *P. aeruginosa*, trong đó có 3 chủng (10,7%) dương tính với thí nghiệm Hodge tets truyền thống. Tuy nhiên, khi có bổ sung $10\mu\text{ ZnSO}_4$ (0,5M) vào đĩa kháng sinh Ertapenem $10\mu\text{g}$ thì số chủng dương tăng lên 5 chủng (17,9%).

4. Bàn luận

4.1. Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm *Pseudomonas aeruginosa* theo nhóm tuổi

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân lập được 28 chủng *P. aeruginosa* từ các mẫu bệnh phẩm: Đàm, mũi, máu, nước tiểu và dịch não tủy. Các chủng *P. aeruginosa* phân lập được từ các bệnh phẩm chủ yếu trên những bệnh nhân lớn tuổi, đa phần từ 50 tuổi trở lên (chiếm 42,8%). Kết quả này cũng phù hợp với một số nghiên cứu trên thế giới: T L Pitt. (2003) [12] và Chander Anil. (2013) [9], điều này có thể giải thích là do sự suy giảm hệ miễn dịch ở người lớn tuổi.

4.2. Tỷ lệ *Pseudomonas aeruginosa* phân lập được trong các loại các bệnh phẩm

Trong số 28 chủng *P. aeruginosa* có 14 chủng (50%) phân lập được từ đàm, kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Phạm Hùng Vân và nhóm MIDAS (2009) là 55,2% [6]. Điều này có thể nói đường hô hấp là con đường xâm nhiễm quan trọng của vi khuẩn này và *P. aeruginosa* là một trong những tác nhân hàng đầu gây bệnh viêm phổi.

4.3. Khảo sát mức độ kháng kháng sinh của *Pseudomonas aeruginosa*

Theo biểu đồ 3, ta thấy *P. aeruginosa* kháng với tất cả các loại kháng sinh. Mức độ kháng với các kháng sinh: CS (10,7%), FOS (24%), ATM (36%), AN (42,9%), CIP (48,2%), FEP (45,8%), IPM (46,2%), GM (55,6%), CFP (54,2%), TCC (54,2%), TM (54,2%), PIP (60,7%), CFS (62,5%), SSS (64%). Tỷ lệ này thể hiện sự đa kháng thuốc của *P. aeruginosa* và mức độ kháng kháng sinh của *P. aeruginosa* là khá cao (trên 40%), chỉ một tỷ lệ nhỏ kháng lại CS (10,7%), điều này chứng tỏ CS vẫn là kháng sinh đặc trị cho vi khuẩn này và đặc biệt một tỷ lệ kháng lại IPM là (46,2%), một kháng sinh thuộc nhóm Carbapenem được xem là vũ khí hữu hiệu nhất để điều trị bệnh nhiễm trùng do *P. aeruginosa* gây nên.

So sánh với kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác thì chúng tôi nhận thấy:

- Có sự tương đồng tỷ lệ kháng kháng sinh của *P. aeruginosa*, theo Bùi Khắc Hậu (2008) [2] tỷ lệ kháng GM, CIP, AN lần lượt là 54%, 30,9%, 29,1%, của chúng tôi (2014) là 50%, 44,4%, 39,3%. Theo Trương Anh Thư (2009) [5] tỷ lệ kháng PIP, TM, TCC, PEP lần lượt là 84,2%, 65%, 68,4%, 57,9%, của chúng tôi là 60,7%, 54,2%, 54,2%, 45,8%.

- Có sự gia tăng về tỷ lệ kháng CS, theo kết quả nghiên cứu của Trần Thanh Nga [4], tỷ lệ kháng CS có sự gia tăng qua các năm 2010, 2011, 2012, tỷ lệ kháng CS trong năm 2012 là 5%, của chúng tôi (2014) là 10,7%. CS là kháng sinh được chỉ định để điều trị nhiễm khuẩn nặng do vi khuẩn Gram âm đã kháng lại với các kháng sinh khác

đặc biệt là *P. aeruginosa*. Sự gia tăng đề kháng của *P. aeruginosa* với CS là khuyến cáo đối với các bác sĩ cần thận trọng trong việc sử dụng CS để điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *P. aeruginosa* gây nên.

- Có sự gia tăng về tỉ lệ kháng kháng sinh IPM (kháng sinh thuộc nhóm carbapenem), theo Bùi Khắc Hậu (2008) [2] tỉ lệ kháng IPM là 15,8%, Phạm Hùng Vân và nhóm MIDAS (2009) [6] là 20,7%, của chúng tôi là 46,2%. Kết quả này cũng gần với kết quả của Trương Anh Thư (2009) [5] là 57,9% và Trần Thanh Nga (2012) [4] là 38%. Sự gia tăng đề kháng với IPM là điều đáng chú ý, vì IPM và các kháng sinh thuộc nhóm carbapenem là vũ khí hữu hiệu nhất để điều trị bệnh nhiễm trùng do *P. aeruginosa* gây nên.

Khi so sánh khả năng kháng kháng sinh của *P. aeruginosa* với một số nghiên cứu trên thế giới, chúng tôi cũng nhận thấy có sự tương đồng về tỉ lệ kháng kháng sinh của *P. aeruginosa*. Theo Zeynab Golshani, Ali Mohammad Ahadi, Ali Sharifzadeh (2012), tỉ lệ kháng CIP, GM, TM, IPM lần lượt là 58%, 60%, 62%, 58%, của chúng tôi (2014): 44,4%, 50%, 54,2%, 46,2%. Cũng theo Anab Fatima, Syed Baqir Naqvi và Sabahat Jabeen (2012) [7] tỉ lệ kháng AN và CFP lần lượt là 35% và 40%, của chúng tôi (2014): 39,2% và 54,2%.

Qua kết quả khảo sát khả năng kháng kháng sinh của *P. aeruginosa* và đối chiếu với các kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước, chúng tôi kết luận: có sự gia tăng về tỉ lệ kháng kháng sinh của *P. aeruginosa* và kết quả nghiên cứu của chúng tôi là xác thực, đặc biệt là có sự gia tăng đề kháng với IPM, điều này cần phải được nghiên cứu sâu hơn vì nếu cơ chế của đề kháng là do vi khuẩn tiết được enzym Carbapenemase thì nguy cơ lan truyền tính kháng thuốc sẽ rất cao vì gen đề kháng có thể nằm trên plasmid và có thể lan truyền được.

4.4. Tỉ lệ *Pseudomonas aeruginosa* sản xuất Carbapenemase

Trong các loại kháng sinh được sử dụng hiện nay thì nhóm carbapenem được xem là một vũ khí hữu hiệu để đối phó với bệnh nhiễm trùng do *P. aeruginosa* gây nên. Tuy nhiên, hiện nay có sự gia tăng đáng kể một tỉ lệ *P. aeruginosa* có khả năng sản xuất Carbapenemase để kháng lại kháng sinh thuộc nhóm carbapenem. Carbapenemase là enzym thủy phân các kháng sinh thuộc nhóm carbapenem được mã hóa bởi các gen: NDM, IPM, VIM, SPM, GIM. Thử nghiệm Hodge test là một trong những phương pháp sàng lọc nhanh về kiểu hình để xác định các chủng có khả năng sản xuất Carbapenemase [10].

Trong số 28 chủng phân lập được có 3 chủng dương tính (sản xuất Carbapenemase) chiếm 10,7% đối với thử nghiệm Hodge test truyền thống. Tuy nhiên, một tỉ lệ nhỏ *P. aeruginosa* cho kết quả âm tính giả với thử nghiệm Hodge test truyền thống dẫn đến kết quả không chính xác, đặc biệt các chủng mang gen NDM-1 [10]. Chúng tôi tiến hành bổ sung thêm $10\mu\text{ZnSO}_4$ (0,5M) vào đĩa kháng sinh Ertapenem $10\mu\text{g}$ thì số chủng dương tính tăng lên 5 (chiếm 17,9%). Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Delphine Girlich, Laurent Poirel và Patrice Nordmann (2012) [10]. Điều này được giải thích là do

Zn có tác dụng tăng sự ổn định của enzym và/ hoặc thay đổi biểu hiện của porin. [10] [11]

Việc bổ sung ZnSO₄ giúp cho kết quả thử nghiệm dễ quan sát hơn, với đĩa kháng sinh có bổ sung ZnSO₄ vòng vô khuẩn to, rõ ràng hơn so với các đĩa không bổ sung ZnSO₄. Điều này chứng tỏ, việc bổ sung 10μ ZnSO₄ (0,5M) góp phần cải thiện thử nghiệm Hodge test truyền thống.

Phương pháp Hodge test giúp các cơ sở y tế có thể sàng lọc nhanh các chủng *P. aeruginosa* có khả năng sản xuất enzym Carbapenemase. Nếu các chủng *P. aeruginosa* sản xuất được Carbapenemase thì khi đó việc điều trị bằng các kháng sinh thuộc nhóm carbapenem sẽ không còn tác dụng. Vì vậy, cần có biện pháp điều trị và sử dụng các kháng sinh thuộc nhóm carbapenem hợp lí, hạn chế nguy cơ lan truyền tính kháng thuốc trong cộng đồng.

5. Kết luận và kiến nghị

5.1. Kết luận

Qua việc khảo sát 28 chủng *Pseudomonas aeruginosa*, chúng tôi rút ra kết luận:

- 50% số chủng *P. aeruginosa* được phân lập từ bệnh phẩm Đàm. 48,2% bệnh nhân nhiễm nhiễm *P. aeruginosa* là những bệnh nhân lớn tuổi, chủ yếu từ 50 tuổi trở lên.
- *P. aeruginosa* kháng lại tất cả các loại kháng sinh với tỉ lệ khá cao (trên 40%), đặc biệt một tỉ lệ kháng khá cao với IPM (46,2%). Chỉ một tỉ lệ nhỏ kháng lại CS (10,7%).
- 17,9% số chủng *P. aeruginosa* có khả năng sản xuất Cabapenemase kháng lại các kháng sinh thuộc nhóm Carbapenems.

5.2. Kiến nghị

- Cần tiến hành thường xuyên các nghiên cứu giám sát vi khuẩn kháng lại kháng sinh tại các bệnh viện và các cơ sở y tế để có các giải pháp cụ thể.
- Cần có các công trình nghiên cứu sâu hơn ở cấp độ phân tử về tính kháng thuốc của *P. aeruginosa*, đặc biệt là các gen mã hóa cho Carbapenemase.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Văn Dũng, Nguyễn Sỹ Tuấn, Hứa Sỹ Ngọc (2012), *Khảo sát kháng kháng sinh của các dòng vi khuẩn gây bệnh tại Bệnh viện Đa khoa Thống Nhất Đồng Nai từ 06/2011 đến 4/2012*, Bệnh viện Đa khoa Thống Nhất, Sở Y tế Đồng Nai.
2. Bùi Khắc Hậu và nhóm tác giả (2008), *Dịch tễ học phân tử các chủng Pseudomonas aeruginosa đa kháng thuốc nhiễm trùng bệnh viện tại Hà Nội*, Báo cáo kết quả nghiên cứu Đề tài cấp Bộ, Đại học Y Hà Nội.
3. Nguyễn Văn Hùng, Nguyễn Thị Tuyết Nga, Vũ Văn Giang, Nguyễn Văn Hà, Trần Quý (2008), *Tỉ lệ và các yếu tố liên quan đến nhiễm trùng bệnh viện trong một số bệnh viện ở phía bắc của Việt Nam, 2006-2007*, Tạp chí Y học lâm sàng 6.

4. Trần Thanh Nga (2013), *Tác nhân gây viêm phổi và khuynh hướng đề kháng kháng sinh 2010 – 2012 tại Bệnh viện Chợ Rẫy*, Tài liệu: Hội nghị đề kháng kháng sinh trong viêm phổi cộng đồng và viêm phổi bệnh viện.
5. Trương Anh Thư (2009), *Đặc điểm dịch tễ học nhiễm khuẩn phổi bệnh viện tại khoa hồi sức tích cực, Bệnh viện Bạch Mai 2008-2009*, Nxb Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.
6. Phạm Hùng Vân và nhóm nghiên cứu MIDAS (2010), *Nghiên cứu đa trung tâm về tình hình đề kháng imipenem và meropenem của trực khuẩn Gram (-) dễ mọc-kết quả trên 16 bệnh viện tại Việt Nam*, Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh, tập 14 (8), tr.279-287.
7. Anab Fatima, Syed Baqir Naqvi, [...], and Sabahat Jabeen(2012), *Antimicrobial susceptibility pattern of clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients of lower respiratory tract infections*, Springerplus. 2012; 1(1): 70.
8. Centers for Disease Control and Prevention Antibiotic (CDC) (2013), *resistance threats in the Unuited States*.
9. Chander Anil, Raza Mohammad Shahid (2013), *Antimicrobial Susceptibility Patterns of Psedomonas aeruginosa clinical isolates at a tertiary care hospital in Kathmandu, Nepal*, Asian Journal of Pharmaceutical and clinical Research, Vol 6, Suppl 3.
10. Delphine Girlich, Laurent Poirel, and Patrice Nordmann(2012), *Value of the Modified Hodge Test for Detection of Emerging Carbapenemases in Enterobacteriaceae*, J Clin Microbiol. Feb 2012; 50(2): 477–479.
11. K. Lee, Y. S. Lim, D. Yong, J. H. Yum, and Y. Chong (2003), *Evaluation of the Hodge Test and the Imipenem-EDTA Double-Disk Synergy Test for Differentiating Metallo-β--Lactamase-Producing Isolates of Pseudomonas spp. And Acinetobacter spp*, Journal Ofclinical Microbiology, Oct. 2003, pp. 4623–4629
12. T L Pitt, M Sparrow, M Warner, M Stefanidou (2003), *Survey of resistance of Pseudomonas aeruginosa from UK patients with cystic fibrosis to six commonly prescribed antimicrobial agents*, Thorax2003;58:794–796.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 09-6-2014; ngày phản biện đánh giá: 30-7-2014;
ngày chấp nhận đăng: 20-8-2014)