



NGHIÊN CỨU TỶ LỆ CÁC GENE NHÓM AAC, ANT VÀ APH TRÊN CÁC CHỦNG KLEBSIELLA PNEUMONIAE KHÁNG KHÁNG SINH NHÓM AMINOGLYCOSIDE TẠI BỆNH VIỆN NGUYỄN TRI PHƯƠNG

Nguyễn Minh Hà^{1,2}, Nguyễn Quang Huy²,
Hồ Thị Hồng Thắm², Nguyễn Đỗ Anh Thư¹, Nguyễn Hữu Ngọc Tuấn²,
¹Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Nguyễn Tri Phương,
²Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Việc sử dụng kháng sinh để điều trị nhiễm khuẩn do *K.pneumoniae* đang gặp nhiều khó khăn vì sự đề kháng kháng sinh ngày càng mạnh mẽ. Aminoglycoside là một trong nhóm kháng sinh được sử dụng nhiều trên lâm sàng, có giá thành hợp lý và có sẵn ở nhiều cơ sở y tế. Sự đề kháng Aminoglycoside ở *K.pneumoniae* hiện khoảng 40-50% với cơ chế đa dạng. Dữ liệu về tần suất của các gen kháng thuốc là một điểm then chốt để định hướng điều trị sớm bằng Aminoglycoside.

Mục tiêu: Xác định tỷ lệ (prevalence) các gen *aac*, *ant* và *aph* gây kháng kháng sinh nhóm Aminoglycoside trên các chủng *K.pneumoniae* tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương. So sánh sự khác biệt về tỷ lệ mang gen theo nguồn gốc nhiễm khuẩn và đặc điểm kháng sinh đồ.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang thực hiện trên các chủng *K.pneumoniae* kháng Aminoglycoside tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương từ 01/2023 đến hết 09/2023. Chủng vi khuẩn được nuôi cấy tăng sinh và ly trích DNA, tiến hành tái định danh bằng phản ứng realtime PCR (sinh phẩm SensiFAST LOW ROX SYBR GREEN (Bioline, Anh) với cặp mồi ZKIR đặc hiệu cho *K.pneumoniae*) và xác định các gen *aac(3')-II*, *aac(6')-Ib*, *ant(3'')-I*, *ant(2'')-Ia* và *aph(3')-Ia* với trình tự được công bố theo ARG 2.0. Sự khác biệt về tỷ lệ mang các gen kháng trên được kiểm tra bằng phép kiểm Chi bình phương và Fisher exact với $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

Kết quả: 188 mẫu *K.pneumoniae* thỏa tiêu chí nhận mẫu đều mang ít nhất một trong năm gen kháng kháng sinh nhóm Aminoglycoside được khảo sát, lần lượt là gen *ant(2'')-Ia* 97,3%, gen *aac(6')-Ib* 88,8%, gen *aac(3')-II* 55,3%, gen *ant(3'')-I* 48,4% và gen *aph(3')-Ia* 34,6%. Tổ hợp hai gen *aac(6')-Ib* và *ant(2'')-Ia* là tổ hợp chiếm tỷ lệ cao nhất (23,9%). Sự khác biệt về tỷ lệ vi khuẩn mang các gen kháng nhóm Aminoglycoside theo nguồn gốc nhiễm khuẩn không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, dù vậy, lại có sự khác biệt theo đặc điểm kháng sinh đồ. Cụ thể là, các chủng vi khuẩn chỉ đề kháng Gentamicin có tỷ lệ mang các gen *aac(3')-II*, *ant(3'')-I* và *aph(3')-Ia* cao hơn nhóm vi khuẩn chỉ kháng Tobramycin hoặc kháng cả hai loại kháng sinh đại diện ($p < 0,05$), ngược lại với gen *aac(6')-Ib* ($p = 0,001$). Bên cạnh đó, các chủng



K.pneumoniae đề kháng Imipenem có tỷ lệ mang gen *aac(6')-Ib* cao hơn các gen kháng thuốc khác ($p=0,009$). Cũng như theo tính sinh ESBL, các gen *aac(3')-II* và *aph(3')-Ia* trong nhóm sinh ESBL cao hơn nhóm không sinh ESBL ($p<0,05$).

Kết luận: Đã xác định được tỉ lệ vi khuẩn *K.pneumoniae* mang các gen kháng nhóm Aminoglycoside tại bệnh viện. Tỷ lệ vi khuẩn mang các gen hoặc các tổ hợp gen này có sự khác biệt theo đặc điểm kiểu hình trên kháng sinh đồ. Đây là các khám phá ban đầu, đóng góp cho bộ dữ liệu gen kháng kháng sinh trên vi khuẩn *K.pneumoniae* của bệnh viện.

Từ khóa: *Klebsiella pneumoniae*, Aminoglycoside, ant genes, aac genes, *aph(3')-Ia* gen.

THE PREVALENCE OF AAC, ANT, AND APH GENE GROUPS IN AMINOGLYCOSIDE-RESISTANT KLEBSIELLA PNEUMONIAE AT NGUYEN TRI PHUONG HOSPITAL

Nguyen Minh Ha^{1,2}, Nguyen Quang Huy²,
Ho Thi Hong Tham², Nguyen Do Anh Thu¹, Nguyen Huu Ngoc Tuan²,
¹Laboratory Department, Nguyen Tri Phuong Hospital;
²Pham Ngoc Thach University of Medicine

ABSTRACT

Introduction: The use of antibiotics to treat infections caused by *Klebsiella pneumoniae* is becoming increasingly difficult due to the growing antibiotic resistance. Aminoglycosides are one of the antibiotic groups frequently used in clinical settings; they are cost-effective and widely available at many healthcare facilities. The resistance of *K. pneumoniae* to Aminoglycosides is currently around 40-50%, with diverse mechanisms. Data on the frequency of resistance genes is a key point for guiding early treatment with Aminoglycosides.

Objective: Determining the prevalence of Aminoglycoside-modifying enzyme genes in *Klebsiella pneumoniae* strains at Nguyen Tri Phuong Hospital. Comparing the differences in the prevalence of these genes based on the source of infection and the characteristics of antibiotic resistance profiles.

Subjects and methods: A cross-sectional descriptive study was conducted on Aminoglycoside-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains at Nguyễn Tri Phương Hospital from January 2023 to the end of September 2023. The bacterial strains were cultured, DNA was extracted, and species re-identification was performed using realtime PCR (with the SensiFAST LOW ROX SYBR GREEN kit (Bioline, UK) and the ZKIR primer pair specific for *K. pneumoniae*). The study identified the resistance genes *aac(3')-II*, *aac(6')-Ib*, *ant(3'')-I*, *ant(2'')-Ia*, and *aph(3')-Ia* using sequences published in ARG 2.0. Differences in the prevalence of these resistance genes were analyzed using the Chi-square test and Fisher's exact test, with $p<0.05$ considered statistically significant.

Results: A total of 188 *Klebsiella pneumoniae* samples meeting the inclusion criteria were found to carry at least one of the five surveyed Aminoglycoside resistance genes: *ant(2'')-Ia* (97.3%), *aac(6')-Ib* (88.8%), *aac(3')-II* (55.3%), *ant(3'')-I* (48.4%), and *aph(3')-Ia* (34.6%). The most common gene combination was *aac(6')-Ib* and *ant(2'')-Ia*, present in 23.9% of the samples. There was no statistically significant difference in the prevalence of aminoglycoside resistance genes based on the source of infection. However, there were significant differences based on antibiotic resistance profiles. Specifically, bacterial strains resistant only to gentamicin had higher rates of *aac(3')-II*, *ant(3'')-I*, and *aph(3')-Ia* genes compared to those resistant only to tobramycin or both antibiotics ($p < 0.05$), while the *aac(6')-Ib* gene showed the opposite trend ($p = 0.001$). Additionally, imipenem-resistant *K. pneumoniae* strains had a higher prevalence of the *aac(6')-Ib* gene compared to other resistance genes ($p = 0.009$). ESBL-producing strains exhibited higher frequencies of *aac(3')-II* and *aph(3')-Ia* genes compared to non-ESBL-producing strains ($p < 0.05$).

Conclusions: The prevalence of *Klebsiella pneumoniae* carrying Aminoglycoside resistance genes has been determined at the hospital. The proportion of bacteria carrying these genes or gene combinations varies according to the phenotypic characteristics observed in the antibiotic susceptibility profiles. These initial findings contribute to the hospital's database of antibiotic resistance genes in *Klebsiella pneumoniae*.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, Aminoglycoside, *ant* genes, *aac* genes, *aph(3')-Ia* gene.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kháng kháng sinh (KKS) là một trong những vấn đề sức khỏe đang được quan tâm hàng đầu hiện nay. Một báo cáo tổng quan về tình hình đề kháng KS trên thế giới của Jim O'Neill ước tính rằng vào khoảng năm 2050 trên thế giới sẽ có hơn 10 triệu ca tử vong do vi khuẩn kháng thuốc và thiệt hại hơn 100 nghìn tỷ đô la cho chi phí điều trị. Trong đó Châu Á được xem là nơi có tỷ lệ vi khuẩn kháng thuốc cao nhất, đặc biệt là ở các quốc gia đang phát triển như Việt Nam [1]. Kể từ năm 2013 đến nay, Tổ chức Y tế (WHO) đã liệt kê Việt Nam vào một trong các quốc gia cần ưu tiên thực hiện các chiến lược phòng chống vi khuẩn kháng thuốc do tình trạng đề kháng KS cao. Các nghiên cứu khảo sát về tình hình đề kháng KS ở Việt Nam cũng cho thấy, tình hình đề kháng KS ở Việt Nam đang gia tăng đáng báo động. Trong đó các vi khuẩn như *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. pneumoniae* là các vi khuẩn gây bệnh thường gặp với tỷ lệ kháng thuốc cao ở hầu hết các bệnh viện trên toàn quốc [2]. Các vi khuẩn này và các nhân bản kháng thuốc của chúng đã và đang lây nhiễm trong các bệnh viện và cộng đồng, ngày càng trầm trọng hơn do điều kiện vệ sinh dưới mức tối ưu, phòng ngừa và kiểm soát nhiễm khuẩn kém, thiếu giám sát và thiếu các chương trình quản lý KS hiệu quả. Sự xuất hiện các chủng đa kháng và việc sử dụng kháng sinh không hợp lý làm vấn đề càng thêm nghiêm trọng, cần phải

sớm có biện pháp ngăn ngừa và bảo tồn nguồn KS hiện có [3].

Tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương, nghiên cứu “Khảo sát tình hình đề kháng KS của các chủng vi khuẩn gây bệnh thường gặp tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương giai đoạn 2019 – 2021” cho thấy tình hình đề kháng KS tại bệnh viện rất phức tạp với mô hình nhạy cảm KS thấp và có xu hướng giảm nhạy cảm qua các năm. Nổi bật trong đó là các trực khuẩn Gram âm với tỷ lệ nhiễm rất cao (72,6%) và tất cả vi khuẩn trong nhóm này đều có tỷ lệ nhạy cảm thấp với các KS đang sử dụng. Trong số các trực khuẩn Gram âm này thì *Klebsiella pneumoniae* là một trong sáu chủng vi khuẩn thường gặp nhất của bệnh viện với 13,4% trường hợp nhiễm khuẩn là do *K. pneumoniae* gây ra [4]. Trong khi đó, mô hình nhạy cảm của *K. pneumoniae* lại thấp với đa số KS và đang có xu hướng giảm nhạy cảm nhanh chóng từ 2019-2021. Kết quả nghiên cứu cho thấy *K. pneumoniae* chỉ còn nhạy cảm trên 50% với bốn loại KS thử nghiệm là Imipenem 73,4%, Gentamicin 59,3%, Tobramycin 60,4% và Tetracycline 53,5%. Do đó cần ưu tiên nghiên cứu về khả năng kháng thuốc của vi khuẩn này để có các biện pháp quản lý và sử dụng KS hợp lý trên *K. pneumoniae*. Đặc biệt trong đó, tỷ lệ nhạy cảm của KS nhóm Aminoglycoside (Tobramycin, Gentamicin) đang ở mức trung bình (khoảng 60% với cả hai KS đại diện), không quá thấp như các nhóm KS khác. Ngoài ra, nhóm Aminoglycoside là một trong những KS được lựa chọn để điều trị khi vi khuẩn đã đề kháng với các KS đầu tay như nhóm beta-lactam. Vì vậy, nếu xác định được bệnh nhân có nhiễm chủng *K. pneumoniae* kháng KS nhóm Aminoglycoside hay không thì có thể giúp các nhà lâm sàng có thêm thông tin để có biện pháp quản lý, lựa chọn KS phù hợp, cũng như bảo tồn nguồn KS này một cách hợp lý, giảm tác dụng phụ thuốc trong điều trị [5].

K. pneumoniae đề kháng với Aminoglycoside phần lớn bằng cơ chế tiết ra enzym đặc hiệu bất hoạt nhóm KS này, mỗi loại enzym sẽ do một gene đặc thù mã hóa riêng. Dựa theo vị trí tác động của enzym mà các gene kháng KS nhóm Aminoglycoside được chia thành ba nhóm chính là *aac* (mã hóa cho N-Acetyl-transferases gồm *aac(6')-Ib* và *aac(3')-II*), *ant* (mã hóa cho O-Nucleotidyl-transferases gồm *ant(3'')-I* và *ant(2'')-Ia*) và *aph* (mã hóa cho O-Phospho-transferases gồm *aph(3')-Ia*). Điểm chung của các gene này là đều tạo ra các enzym đặc hiệu với phân tử Aminoglycoside gây biến đổi cấu trúc hóa học của KS này dẫn đến mất hoạt tính dược học [6]. Tuy nhiên cho đến nay, các gene kháng nhóm Aminoglycoside trên *K. pneumoniae* chưa được nghiên cứu rộng rãi, do đó cần có những nghiên cứu chuyên sâu hơn về tình trạng mang gene kháng KS nhóm Aminoglycoside nhằm hỗ trợ định hướng điều trị sớm bằng Aminoglycoside [7].

Các nghiên cứu đã cho thấy các gene *aac*, *ant* và *aph* đều có liên quan chặt chẽ đến cơ chế đề kháng Aminoglycoside ở *K. pneumoniae*. Tại Việt Nam, chưa có số liệu báo cáo nào về tỷ lệ (prevalence) các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside trên ở *K. pneumoniae* cũng như liệu có sự khác biệt về các tỷ lệ này theo nguồn gốc nhiễm khuẩn hay các đặc điểm KS đồ. Vì vậy, kỹ thuật realtime PCR nhằm xác định sự hiện diện của các gene kháng KS nhóm Aminoglycoside được áp dụng nhằm thực hiện đề

tài “Nghiên cứu tỷ lệ (prevalence) các gene kháng KS nhóm Aminoglycoside trên các chủng *Klebsiella pneumoniae* tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương năm 2023” để trả lời câu hỏi trên. Nghiên cứu được tiến hành với hai mục tiêu:

(1) Xác định tỷ lệ (prevalence) các gen *aac*, *ant* và *aph* gây kháng KS nhóm Aminoglycoside trên các chủng *K.pneumoniae* tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương.

(2) So sánh sự khác biệt về tỷ lệ mang gen theo nguồn gốc nhiễm khuẩn và theo đặc điểm KS đồ.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu: Các mẫu bệnh phẩm cấy có kết quả là *Klebsiella pneumoniae* kháng Aminoglycoside tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương từ tháng 01/2023 đến hết 12/2023.

- **Tiêu chuẩn nhận vào:** Tất cả các mẫu bệnh phẩm cấy vi khuẩn có kết quả là *Klebsiella pneumoniae* và *Klebsiella planticola*, có kết quả KS đồ là kháng tobramycin và/hoặc kháng gentamicin, được thực hiện tại Đơn vị Vi sinh, Bệnh viện Nguyễn Tri Phương, từ tháng 01/2023 đến hết 12/2023. Các mẫu cấy có đầy đủ thông tin về mẫu, bao gồm: Khoa cho chỉ định, loại mẫu bệnh phẩm, kết quả cấy định danh, KS đồ và chẩn đoán nguồn gốc nhiễm khuẩn. Nếu bệnh nhân có từ 2 lần cấy vi khuẩn khác nhau trở lên đối với cùng loại mẫu bệnh phẩm thì sẽ lựa chọn mẫu phù hợp theo quyết định nguồn gốc nhiễm (theo quyết định của bác sĩ).

- **Tiêu chuẩn loại trừ:** Chủng vi khuẩn không thể tăng sinh trở lại sau khi lưu trữ âm 80 °C để tách chiết DNA vi khuẩn. DNA vi khuẩn không đủ độ tinh sạch gây ức chế phản ứng realtime PCR, với độ tinh khiết (tỷ số A260/A280) nhỏ hơn 1,7 hoặc lớn hơn 2,0. Chủng vi khuẩn là *Klebsiella planticola* với kết quả âm tính với đoạn gene ZKIR mã hóa cho trình tự đặc hiệu của *Klebsiella pneumoniae*.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang

Phương pháp chọn mẫu: Mỗi một gene kháng sẽ tính cỡ mẫu riêng biệt. Cỡ mẫu được ước tính theo công thức ước tính tỷ lệ (prevalence) trong một quần thể :

$$n \geq \frac{Z_{1-\alpha/2}^2(1-p)p}{d^2}$$

Trong đó:

- n là cỡ mẫu tối thiểu.
- Z_{α} : hằng số phân phối chuẩn, với $\alpha=0,05$ thì $Z_{1-\alpha/2}=1,96$.
- p: tỷ lệ (prevalence) của từng gene kháng KS nhóm Aminoglycoside.
- d là mức sai số chấp nhận ($d=0,08$).

Áp dụng công thức, có cỡ mẫu tối thiểu cụ thể như sau:

STT	Tên gene	Tỷ lệ p tham khảo	Cỡ mẫu tối thiểu	Cỡ mẫu đã thêm 10% hao hụt
1	<i>aac(3')-II</i>	60% ^[8]	145 mẫu	160 mẫu
2	<i>aac(6')-Ib</i>	45,5% ^[8]	149 mẫu	164 mẫu
3	<i>ant(3'')-I</i>	7,1% ^[9]	40 mẫu	44 mẫu
4	<i>ant(2'')-Ia</i>	3,6% ^[8]	21 mẫu	24 mẫu
5	<i>aph(3')-Ia</i>	4,32% ^[10]	25 mẫu	28 mẫu

Vậy cỡ mẫu cần thu thập tối thiểu là 164 mẫu *Klebsiella pneumonia* kháng Tobramycin và/hoặc Gentamycin.

Danh pháp của các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside theo cơ chế tiết enzym bất hoạt (Aminoglycoside-modifying enzyme) được cấu thành bởi hai thành phần sau [7, 20]:

1. Mã định danh gồm ba chữ cái viết tắt của kiểu phản ứng xúc tác như acetyltransferases (*aac*), nucleotidyltransferases (*ant*) và phosphotransferases (*aph*). Theo sau là vị trí tác động trên cấu trúc hóa học của phân tử Aminoglycoside (như 3' hay 6').
2. Mã số la mã dành riêng cho lớp (class) như I, II, III,... và có thể có thêm chữ cái viết thường cho subclass như a,b,c,...

Ví dụ: *aac(6')-Ib*: N-acetyltransferases 6' class 1 subclass b

Hiện nay đa số các công trình nghiên cứu trên thế giới về các gen này đều sử dụng tên quốc tế được quy ước như trên. Do đó nhóm nghiên cứu thống nhất sử dụng tên các gen được khảo sát theo quy ước chung như đã trình bày nhằm thuận tiện cho việc đánh giá kết quả.

Phương pháp thu thập mẫu: thu toàn bộ các mẫu thỏa tiêu chí chấp nhận trong thời gian từ 01/2023 đến tháng 09/2023.

Nội dung nghiên cứu:

– Mẫu *Klebsiella pneumoniae* có kết quả KS đồ là kháng KS Gentamicin và/hoặc Tobramycin được thu thập từ mẫu bệnh nhân đến khám và điều trị tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương sẽ được vận chuyển về Trung tâm Nghiên cứu Y sinh – Trường ĐHYK Phạm Ngọc Thạch để tiến hành xử lý.

– Tại Trung tâm Nghiên cứu Y sinh, mẫu vi khuẩn được nuôi cấy tăng sinh và ly trích DNA, tiến hành tái định danh bằng phản ứng realtime PCR (sinh phẩm *SensiFAST LOW ROX SYBR GREEN (Bioline, Anh)* với cặp mồi ZKIR đặc hiệu cho *K.pneumoniae* [11]). Các mẫu vi khuẩn được khẳng định là *K.pneumoniae* bằng cặp mồi định danh ZKIR sẽ tiếp tục thực hiện phản ứng realtime PCR xác định các gen *aac(3')-II*, *aac(6')-Ib*, *ant(3'')-I*, *ant(2'')-Ia* và *aph(3')-Ia* với trình tự và quy trình được công bố theo ARG 2.0 trong nghiên cứu của Robert D Stedtfeld [12].

– Thống kê số lượng và tỷ lệ (prevalence) cho từng gene kháng KS nhóm Aminoglycoside trên *Klebsiella pneumoniae*. So sánh tỷ lệ các gene kháng Aminoglycoside theo nguồn gốc nhiễm khuẩn (nhiễm khuẩn cộng đồng và nhiễm khuẩn bệnh viện) và các đặc điểm KS đồ (kiểu hình kháng nhóm Aminoglycoside, kiểu hình kháng Imipenem và tính sinh ESBL). Sự khác biệt về tỷ lệ mang gen được kiểm tra bằng phép kiểm Chi bình phương hoặc Fisher exact với giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

Các biến số trong nghiên cứu (Bảng 1):

Bảng 1. Các biến số thu thập

STT	Tên biến số	Phân loại	Cách xác định	Giá trị
1	Khoa lâm sàng cho chỉ định	Định tính	Xem trên phiếu chỉ định xét nghiệm của mẫu.	- Khoa Hồi sức chống độc (ICU) - Khoa Hô hấp - Các Khoa còn lại.
2	Nguồn nhiễm khuẩn	Định tính	Xác định dựa vào chẩn đoán của bác sĩ. (*)	- Nhiễm khuẩn bệnh viện - Nhiễm khuẩn cộng đồng
3	Loại bệnh phẩm	Định tính	Xem trên phiếu chỉ định xét nghiệm của mẫu.	Đường hô hấp; xương khớp / dịch khớp; dịch nội tiết / dịch mật; đường sinh dục; máu; mủ / dịch tiết / catheter; nước tiểu; phân; tai – mũi – họng; da
4	Tình trạng mang các gene kháng nhóm Aminoglycoside	Định tính	Ghi nhận kết quả từ thử nghiệm realtime PCR cho từng gene riêng biệt.	- Dương tính: có mang gene - Âm tính: không có mang gene
5	Tình trạng đề kháng thuốc của <i>K.pneumoniae</i>	Định tính	Xác định số nhóm KS bị đề kháng trên kết quả KS đồ	- Đơn kháng Aminoglycoside - Đa kháng có bao gồm Aminoglycoside (**).
6	Kiểu hình đề kháng nhóm Aminoglycoside	Định tính	Xem kết quả KS đồ của mẫu	- Chỉ kháng Gentamicin - Chỉ kháng Tobramycin - Kháng cả hai KS
7	Kiểu hình kháng Imipenem	Định tính	Xem kết quả KS đồ của mẫu	- Kháng Imipenem - Không kháng Imipenem
8	Tính sinh ESBL	Định tính	Xem kết quả KS đồ của mẫu	- Có sinh ESBL - Không sinh ESBL

(*) Ở những ca hồi cứu, xác định nhiễm khuẩn bệnh viện dựa vào thông tin thời gian chỉ định cấy từ phía bác sĩ lâm sàng và kết quả cấy dương tính.

(**) Đa kháng thuốc được định nghĩa là tình trạng vi khuẩn kháng ít nhất một đại diện trong ba nhóm KS trở lên

Các kỹ thuật và sinh phẩm sử dụng trong nghiên cứu

1. Kỹ thuật nuôi cấy tăng sinh vi khuẩn

+ Sử dụng môi trường có các chất dinh dưỡng và các chất bổ trợ thích hợp để vi khuẩn phát triển. Các vi khuẩn sẽ được phân tách dựa trên nguyên tắc pha loãng mẩn cấy trên môi trường thạch. Bằng cách chia môi trường đĩa thạch thành 03 vùng, mẩn cấy sẽ được pha loãng tuần tự bắt đầu từ vùng thứ nhất và kết thúc ở vùng thứ tư.

2. Kỹ thuật ly trích DNA vi khuẩn

+ Lớp phospholipid cấu tạo màng tế bào, màng các bào quan; các thành phần protein trong tế bào được phân huỷ cấu trúc nhờ hoạt tính hoá học của chất hoạt động bề mặt. Protein liên kết với phân tử DNA được phân huỷ nhờ hoạt tính thuỷ phân của enzyme Proteinase K, ở nhiệt độ thích hợp. Phân tử DNA sau đó được giải phóng tự do và được kết tủa bằng ethanol tuyệt đối. Phân tử DNA sau đó được thu giữ trên màng lọc của cột ly trích nhờ dựa vào nguyên lý phương pháp trao đổi ion. DNA thu được sẽ được đo quang để đánh giá độ tinh khiết và tính toán nồng độ. Kỹ thuật được thực hiện bằng bộ sinh phẩm tách chiết TopPure Geneomic DNA Extraction Kit (ABT, Việt Nam) theo quy trình đã công bố của nhà sản xuất.

3. Kỹ thuật realtime PCR phát hiện các gene kháng KS nhóm Aminoglycoside

+ Nguyên lý: Phương pháp dựa trên nguyên tắc cơ bản của PCR cổ điển, nghĩa là các chu kỳ tăng giảm nhiệt độ trong phản ứng biến tính và tái bản DNA. Khi quá trình PCR diễn ra, DNA mới được tạo ra từ DNA khuôn ban đầu sẽ tiếp tục được sử dụng làm khuôn để tổng hợp phân tử DNA tiếp theo, tạo thành chuỗi phản ứng dây chuyền khuếch đại theo cấp số nhân. Kết quả là tạo ra hàng ngàn đến hàng triệu bản sao của một trình tự DNA nào đó từ một mẫu nhỏ ban đầu hoặc là một bản sao duy nhất. Quá trình này sẽ được phát hiện và quan sát theo thời gian thực nhờ vào chất nhuộm huỳnh quang SYBR green.

+ Phản ứng realtime PCR được thực hiện bằng bộ sinh phẩm SensiFAST LOW ROX SYBR GREEN (Bioline, Anh) với cặp mồi ZKIR giúp tái định danh *K.pneumoniae* và các đoạn mồi cho các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside gồm *aac(6')-Ib*, *aac(3')-II*, *ant(3'')-I*, *ant(2'')-Ia* và *aph(3')-Ia* với trình tự và quy trình được công bố từ ARG array 2.0 trong nghiên cứu của Robert D Stedtfeld [11, 12].

Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được nhập bằng phần mềm Microsoft Excel 2019 và xử lý bằng phần mềm STATA 14.2. Số liệu được trình bày dưới dạng bảng, biểu đồ cho tỷ lệ mang các gene

kháng Aminoglycoside trên *K.pneumoniae* cho từng biến số. Phương pháp thống kê mô tả được sử dụng để tính tỷ lệ mang các gene kháng Aminoglycoside trên *K.pneumoniae*. Sử dụng phép kiểm Chi-square để so sánh sự khác biệt giữa chủng *K.pneumoniae* mang các gene kháng KS nhóm Aminoglycoside theo nguồn gốc nhiễm khuẩn và đặc điểm KS đồ. Mỗi một gene sẽ được so sánh riêng với nhau, giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

Đạo đức nghiên cứu: nghiên cứu được chấp thuận bởi Hội đồng đạo đức Bệnh viện Nguyễn Tri Phương, số 748/NTP-HĐĐĐ ngày 25/04/2023.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung của mẫu nghiên cứu

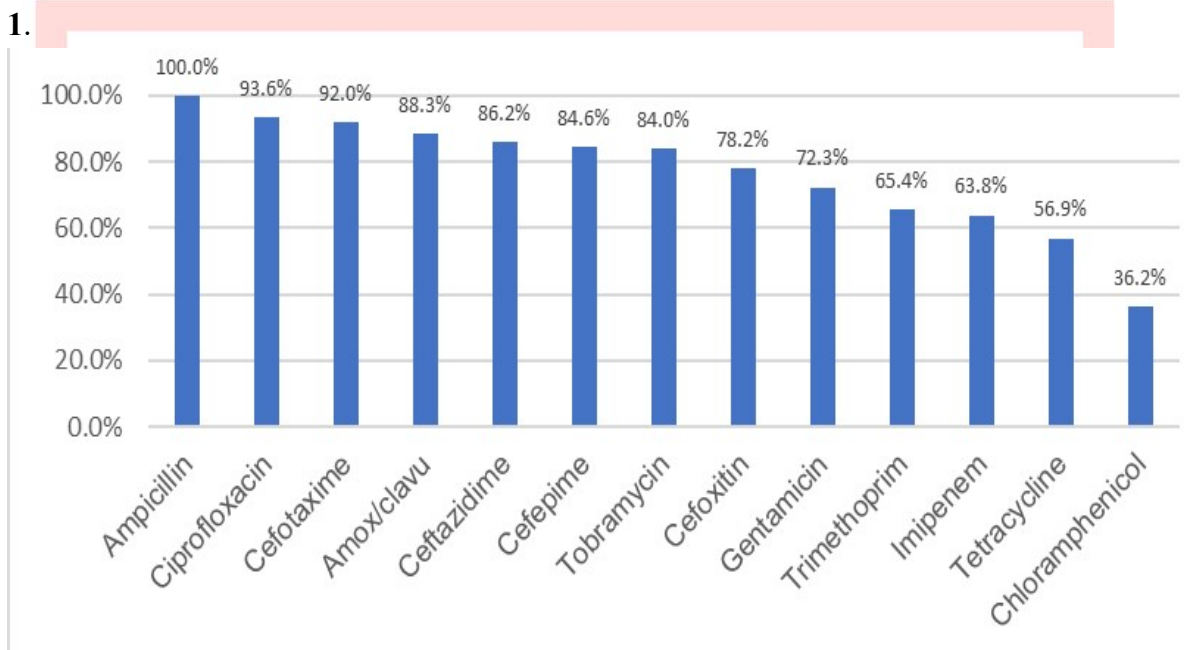
Trong thời gian từ tháng 01/2023 đến hết 12/2023, tổng cộng có 188 mẫu vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae* thỏa tiêu chí nhận mẫu được đưa vào nghiên cứu. Các đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân và kết quả KS đồ của mẫu được mô tả trong **Bảng 1**.

Bảng 1. Các đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân và kết quả KS đồ (n=188)

Đặc điểm		n	(%)
Đặc điểm lâm sàng			
Tuổi	<20	1	0,5%
	20-40	13	6,9%
	41-64	47	25,0%
	>65	127	67,6%
Giới	Nam	69	36,7%
	Nữ	119	63,3%
Khoa lâm sàng	Khoa Hồi sức chống độc	34	18,1%
	Khoa Nội hô hấp	40	21,3%
	Các khoa lâm sàng khác	114	60,6%
Nguồn gốc nhiễm khuẩn	Nhiễm khuẩn cộng đồng	72	38,3%
	Nhiễm khuẩn bệnh viện	116	61,7%
Mẫu bệnh phẩm	Đường hô hấp	117	62,2%
	Mủ và dịch tiết	45	23,9%
	Nước tiểu	19	10,1%
	Máu	7	3,7%
Đặc điểm KS đồ			
Tình trạng kháng Aminoglycoside	Đơn kháng Aminoglycoside	0	0 0%
	Kháng Aminoglycoside và một nhóm KS khác	3	1,6%
	Đa kháng thuốc có bao gồm Aminoglycoside	185	98,4%

Kiểu hình kháng Aminoglycoside	Chỉ kháng Gentamicin	30	16,0%
	Chỉ kháng Tobramycin	52	27,7%
	Kháng đồng thời cả hai	106	56,4%
Tính sinh ESBL (Extended-spectrum beta-lactamase)	Có sinh ESBL	55	29,3%
	Không sinh ESBL	133	70,7%

Nhìn chung, các đặc điểm của mẫu nghiên cứu phân bố không đều. Về các đặc điểm lâm sàng, chủ yếu các mẫu vi khuẩn được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm đường hô hấp (62,2%) ở các bệnh nhân >65 tuổi (67,6%) và được xác định là nhiễm khuẩn bệnh viện (61,7%). Về các đặc điểm KS đồ, hầu hết các chủng vi khuẩn nghiên cứu đều là vi khuẩn đa kháng thuốc (98,4%) và phần lớn kháng cả hai KS đại diện trong nhóm Aminoglycoside là Gentamicin và Tobramycin (56,4%). Chi tiết về tỷ lệ đề kháng với từng loại KS trong 188 mẫu vi khuẩn được nghiên cứu trình bày ở **Biểu đồ 1**.



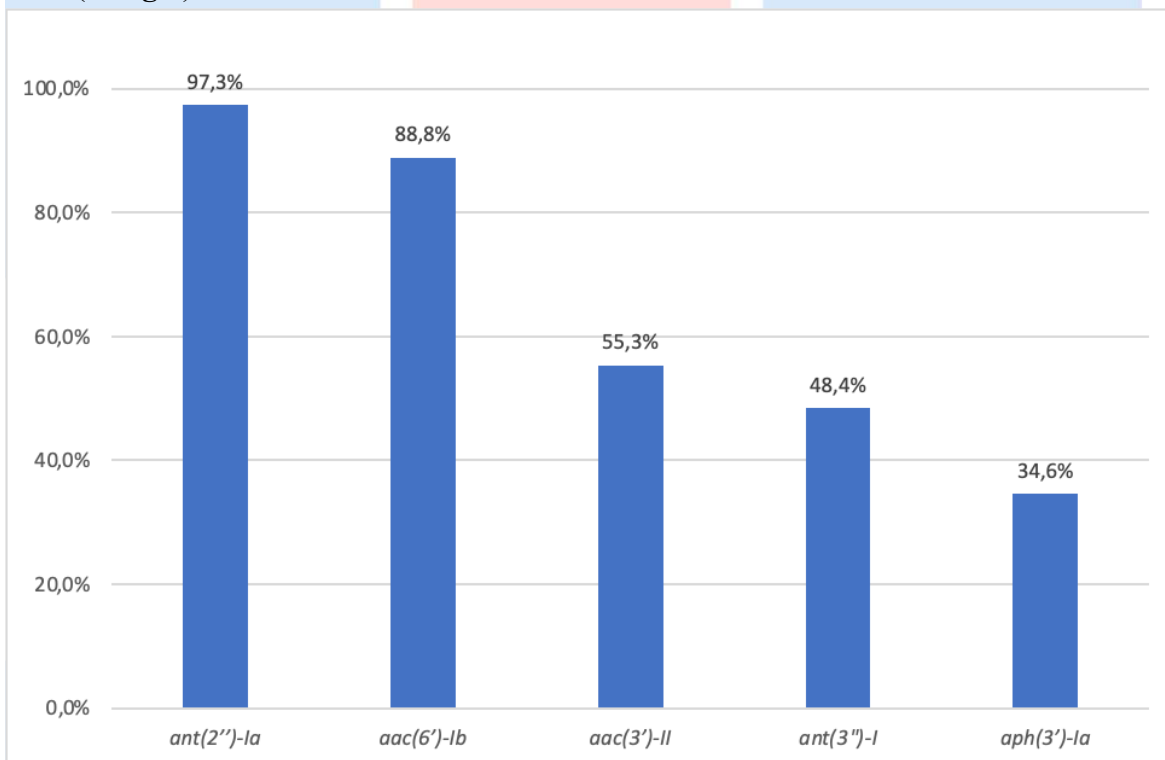
Biểu đồ 1. Tỷ lệ đề kháng KS chung của *K.pneumoniae* có kháng Aminoglycoside trong nghiên cứu (n=188)

Nhìn chung, các chủng *K.pneumoniae* có kháng Aminoglycoside có tỷ lệ đề kháng trên 50% với hầu hết các loại KS khác được thử nghiệm, ngoại trừ Chloramphenicol (36,2%). Ghi nhận tỷ lệ đề kháng cao với các KS nhóm Beta-lactam, đặc biệt tỷ lệ kháng Carbapenem (Imipenem) khá cao 63,8%. Trong hai đại diện KS nhóm Aminoglycoside thì Tobramycin có tỷ lệ kháng cao hơn Gentamicin lần lượt là 84,0% và 72,3%.

2. Đặc điểm kiểu gen kháng KS nhóm Aminoglycoside

Toàn bộ 188 mẫu *K.pneumoniae* đều mang ít nhất một trong năm loại gen kháng KS nhóm Aminoglycoside được khảo sát. Trong đó, gen *ant(2'')-Ia* có tỷ lệ cao nhất

(97,3%), theo sau là *aac(6')-Ib* (88,8%), các gen *aac(3')-II*, *ant(3'')-I* và *aph(3')-Ia* có tỷ lệ thấp hơn (**Biểu đồ 2**). Trong các tổ hợp gen phát hiện được, tổ hợp hai gen *aac(6')-Ib* và *ant(2'')-Ia* chiếm tỷ lệ cao nhất (23,9%), theo sau là tổ hợp năm gen 15,4%, tổ hợp bốn gen *aac(3')-II*, *aac(6')-Ib*, *ant(3'')-I*, *ant(2'')-Ia* (13,8%) và tổ hợp ba gen *aac(3')-II*, *aac(6')-Ib*, *ant(2'')-Ia* (13,3%). Ghi nhận kiểu gen đơn lẻ *ant(2'')-Ia* (2,1%) và không có kiểu gen đơn lẻ của các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside khác (**Bảng 2**).



Biểu đồ 2. Tỷ lệ các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside ở K.pneumoniae (n=188)

Bảng 2. Đặc điểm kiểu gen kháng KS nhóm Aminoglycoside được khảo sát

Đặc điểm kiểu gen kháng KS nhóm Aminoglycoside		n	%
Số lượng gen mang trong cùng một vi khuẩn	Không mang gen được khảo sát	0	0%
	Mang 1 gen	4	2,1%
	Mang 2 gen	53	28,2%
	Mang 3 gen	53	28,2%
	Mang 4 gen	49	26,1%
	Mang 5 gen	29	15,4%
Kiểu tổ hợp gen được phát hiện	<i>aac(6')-Ib</i> , <i>ant(2'')-Ia</i>	45	23,9%
	<i>aac(3')-II</i> , <i>aac(6')-Ib</i> , <i>ant(3'')-I</i> , <i>ant(2'')-Ia</i> , <i>aph(3')-Ia</i>	29	15,4%
	<i>aac(3')-II</i> , <i>aac(6')-Ib</i> , <i>ant(3'')-I</i> , <i>ant(2'')-Ia</i>	26	13,8%

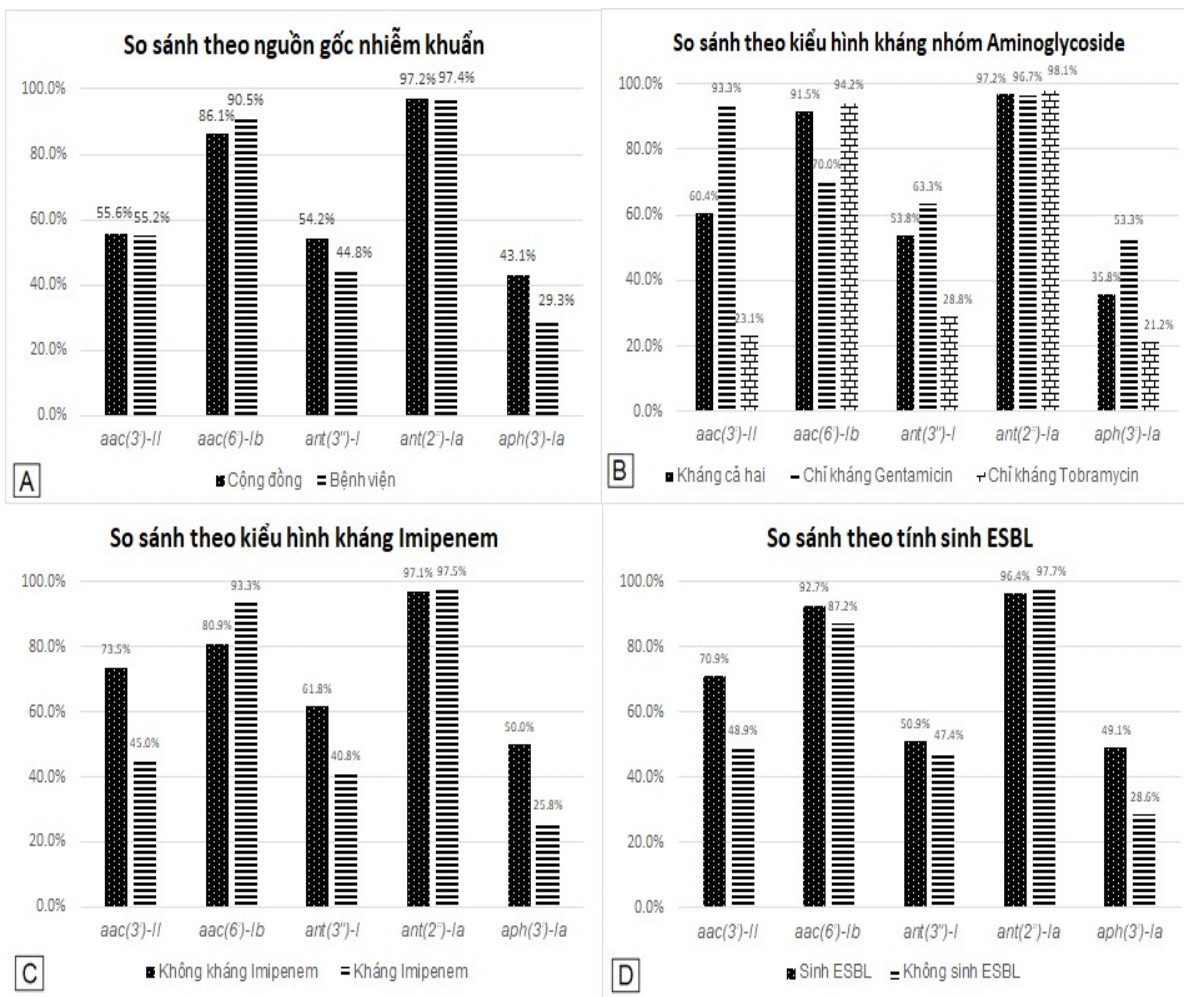
<i>aac(3')-II, aac(6')-Ib, ant(2'')-Ia</i>	25	13,3%
<i>aac(6')-Ib, ant(3'')-I, ant(2'')-Ia</i>	12	6,4%
<i>aac(3')-II, aac(6')-Ib, ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia</i>	11	5,9%
<i>aac(6')-Ib, ant(3'')-I, ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia</i>	7	3,7%
<i>aac(6')-Ib, ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia</i>	7	3,7%
<i>aac(3')-II, ant(3'')-I, ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia</i>	5	2,7%
<i>ant(3'')-I, ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia</i>	4	2,1%
<i>ant(2'')-Ia</i>	4	2,1%
<i>aac(6')-Ib, ant(3'')-I</i>	3	1,6%
<i>aac(3')-II, ant(3'')-I, ant(2'')-Ia</i>	3	1,6%
<i>aac(3')-II, ant(2'')-Ia</i>	2	1,1%
<i>aac(3')-II, aac(6')-Ib</i>	1	0,5%
<i>aac(3')-II, aac(6')-Ib, ant(3'')-I</i>	1	0,5%
<i>aac(3')-II, ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia</i>	1	0,5%
<i>ant(3'')-I, ant(2'')-Ia</i>	1	0,5%
<i>ant(2'')-Ia, aph(3')-Ia</i>	1	0,5%

3. Sự khác biệt về tỷ lệ chủng mang các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside theo nguồn gốc nhiễm khuẩn và đặc điểm KS đồ của mẫu nghiên cứu

Tỷ lệ mang các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside theo nguồn gốc nhiễm khuẩn không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, mặc dù tỷ lệ dương tính của gen *ant(3'')-I* và *aph(3')-Ia* trong nhóm nhiễm khuẩn cộng đồng cao hơn nhiễm khuẩn bệnh viện (**Biểu đồ 3A**).

Dù vậy, lại có sự khác biệt theo đặc điểm KS đồ. Cụ thể là, các chủng vi khuẩn chỉ kháng Gentamicin có tỷ lệ mang các gen *aac(3')-II*, *ant(3'')-I* và *aph(3')-Ia* cao hơn nhóm vi khuẩn chỉ kháng Tobramycin hoặc kháng cả hai loại KS ($p < 0,05$) và ngược lại với gen *aac(6')-Ib* ($p = 0,001$) (**Biểu đồ 3B**). Bên cạnh đó, các chủng *K.pneumoniae* kháng Imipenem có tỷ lệ mang gen *aac(6')-Ib* cao hơn nhóm không kháng Imipenem ($p = 0,009$) và ngược lại với các gen kháng thuốc khác ($p < 0,05$) (**Biểu đồ 3C**). Thêm vào đó, về tính sinh ESBL, các gen *aac(3')-II* và *aph(3')-Ia* có tỷ lệ dương tính trong nhóm sinh ESBL cao hơn nhóm không sinh ESBL ($p < 0,05$) và không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với tỷ lệ các gen khác (**Biểu đồ 3D**).

Số liệu chi tiết về tỷ lệ mang các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside theo nguồn gốc nhiễm khuẩn và đặc điểm KS đồ được trình bày trong **Phụ lục 01**.



Biểu đồ 3. So sánh sự khác biệt về tỷ lệ mang các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside theo nguồn gốc nhiễm khuẩn (A) và theo các đặc điểm KS đồ như kiểu hình kháng nhóm Aminoglycoside (B), kiểu hình kháng Imipenem (C) và tính sinh ESBL (D).

IV. BÀN LUẬN

1. Tỷ lệ các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside

Cơ chế đề kháng KS nhóm Aminoglycoside được chia làm ba cơ chế chính (1) tiết ra enzym bất hoạt (2) thay đổi cấu trúc ribosome và (3) thay đổi tính thấm màng tế bào. Báo cáo tổng quan của Sylvie Garneau-Tsodikova (2016) cho thấy đề kháng nhóm Aminoglycoside theo cơ chế tiết enzym bất hoạt (Aminoglycoside-modifying enzymes) là cơ chế đề kháng phổ biến nhất trong tất cả các cơ chế đề kháng nhóm Aminoglycoside ở vi khuẩn (bao gồm cả *K.pneumoniae*) vì đề kháng theo cơ chế này ít gây ảnh hưởng đến hoạt động sống của tế bào vi khuẩn, trong khi các chủng vi khuẩn có cấu trúc ribosome biến đổi hoặc thay đổi cấu trúc màng tế bào thì hoạt động chuyển hóa các chất của tế bào vi khuẩn sẽ khó khăn hơn vi khuẩn không có biến đổi [6, 7]. Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu cho thấy tất cả 188 mẫu vi khuẩn

K.pneumoniae thỏa tiêu chuẩn chọn mẫu đều mang ít nhất một trong năm gen kháng Aminoglycoside theo cơ chế tiết enzym bất hoạt được khảo sát.

Về tỷ lệ các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside, tại Việt Nam chưa có nghiên cứu nào mô tả, do đó chỉ có thể so sánh với kết quả của các quốc gia khác. Trong nghiên cứu này, gen *ant(2'')-Ia* là gen chiếm tỷ lệ cao nhất 97,3% chủng vi khuẩn dương tính và cao thứ hai là gen *aac(6')-Ib* với 88,8%. Kết quả này có sự khác biệt lớn với các báo cáo trên thế giới. Tỷ lệ báo cáo về các gen đề kháng nhóm Aminoglycoside trên thế giới được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ các gen đề kháng nhóm Aminoglycoside theo một số báo cáo trên thế giới

Nhóm nghiên cứu	Quốc gia (N)	Tỷ lệ các gen đề kháng nhóm Aminoglycoside phát hiện được				
		<i>aac(6')-Ib</i>	<i>aac(3')-II</i>	<i>ant(2'')-Ia</i>	<i>aph(3')-Ia</i>	Các gen khác
Gelareh Nasiri và cộng sự (2018)	Iran (130)	91,5%	78,5%	-	-	<i>aph(3')-IIIa</i> (14,6%), <i>ant(4')-Ia</i> (3,1%), <i>armA</i> (7,7%).
Omar B. Ahmed và cộng sự (2023)	Ai Cập (42)	45,1%	7,8%	-	45,1%	<i>rmtD</i> (66,7%).
Saeed Khoshnood và cộng sự (2023)	Iran (81)	18%	27%	33%	15%	<i>armA</i> (27%).
Nghiên cứu này (2024)	Việt Nam (188)	88,8%	55,3%	97,3%	34,6%	<i>ant(3'')-I</i> (48,4%).

Nghiên cứu của Gelareh Nasiri (2018) tại Iran cho thấy gen *aac(6')-Ib* chiếm tỷ lệ cao nhất với 91,5% và cao thứ hai là *aac(3')-II* với tỷ lệ 78,5% và không phát hiện được các gen đồng khảo sát như trong nghiên cứu của chúng tôi [13]. Ngược lại, nghiên cứu của Omar B. Ahmed (2023) tại Ả rập lại ghi nhận tỷ lệ của các gen *aac(6')-Ib* và *aph(3')-Ia* đồng tỷ lệ là 45,1% và chỉ có 7,8% chủng mang gen *aac(3')-II* [14]. Ngoài ra, nghiên cứu của Saeed Khoshnood (2023) tại Iran lại cho thấy *ant(2'')-Ia* là gen có tỷ lệ dương cao nhất chiếm 33% chủng vi khuẩn khảo sát và tỷ lệ của *aac(3')-II*, *aac(6')-Ib*, *aph(3')-Ia* lần lượt là 27%, 18% và 15%, thấp hơn so với kết quả thu được trong nghiên cứu của chúng tôi [15]. Mặc dù có sự chênh lệch lớn về

tỷ lệ ở các quốc gia nhưng nhìn chung thì các gen *aac(6')-Ib*, *aac(3')-II* và *aph(3')-Ia* là các gen thường được phát hiện trong đa số các nghiên cứu [5, 13-16]. Cũng chính vì có sự khác biệt lớn giữa các khu vực mà mỗi đơn vị nên xây dựng riêng cho mình một cơ sở dữ liệu về tỷ lệ các gen kháng thuốc đang quan tâm để hỗ trợ cho việc sử dụng KS tại chỗ, cũng như giúp giám sát sự đề kháng KS ở vi khuẩn.

Sự khác biệt về tỷ lệ các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside trên *K.pneumoniae* có thể do những nguyên nhân sau: **(1) Khác biệt về đặc điểm người bệnh.** 188 mẫu *K.pneumoniae* trong nghiên cứu chủ yếu được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm đường hô hấp và đa số là từ các người bệnh trên 65 tuổi. Khi so sánh với các đặc điểm bệnh nhân ở các quốc gia khác, thì *K.pneumoniae* chủ yếu được phân lập ở các bệnh lý nhiễm trùng tiểu, nhiễm trùng vết thương và đối tượng người bệnh có phần trẻ hơn (trung bình khoảng 50 tuổi) [16, 17]. Điều này có thể do sự khác biệt về điều kiện kinh tế cũng như điều kiện chăm sóc sức khỏe ở các quốc gia khác nhau, góp phần vào sự khác biệt về khả năng đề kháng thuốc ở vi khuẩn tại các quốc gia khác nhau. **(2) Khác biệt đối tượng nghiên cứu.** Ở các nghiên cứu khác, tỷ lệ các gen kháng Aminoglycoside được xác định trên toàn bộ các chủng *K.pneumoniae* [14, 16]. Nghiên cứu của chúng tôi chỉ tập trung vào xác định tỷ lệ các gen này trên các chủng *K.pneumoniae* có kháng Aminoglycoside mà không so sánh với các chủng không kháng Aminoglycoside vì các gen được chọn để khảo sát là các gen đã được công bố là gen gây đề kháng KS nhóm Aminoglycoside. Do đó, tỷ lệ mang gen này dĩ nhiên sẽ rất khác nhau giữa 2 nhóm có kiểu hình kháng và không kháng Aminoglycoside. Nhóm nghiên cứu nhìn nhận sự so sánh này là không có ý nghĩa. Bên cạnh đó, việc xác định các gen kháng thuốc trong các chủng *K.pneumoniae* có kiểu hình kháng Aminoglycoside sẽ giúp đi sâu vào làm rõ cơ chế đề kháng ở cấp độ phân tử. Ngoài ra, còn giúp cung cấp thông tin cụ thể về dữ liệu của các gen kháng thuốc tương ứng với từng kiểu hình đề kháng, giúp hỗ trợ xây dựng bộ dữ liệu gen kháng thuốc tại bệnh viện và giải pháp để đối phó với tình trạng lan rộng của các gen đề kháng này. **(3) Khác biệt về kỹ thuật sinh học phân tử được sử dụng.** Mỗi nghiên cứu sẽ có các kỹ thuật phát hiện gen kháng Aminoglycoside khác nhau và mỗi kỹ thuật sẽ có độ nhạy và độ đặc hiệu riêng tùy thuộc vào quy trình và trình tự cặp mồi sử dụng. Hiện nay chưa có công trình nghiên cứu nào thẩm định và xác thực giá trị sử dụng của các cặp mồi phát hiện các gen kháng Aminoglycoside. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng quy trình và cặp mồi đã được công bố trong đề tài của Robert D Stedtfeld (2018), do đó tỷ lệ các gen kháng thuốc phát hiện được sẽ có sự khác biệt với các nghiên cứu khác do sự khác nhau về trình tự cặp mồi sử dụng trong cùng phản ứng real-time PCR [19]. **(4) Khác biệt về kiểu hình đề kháng.** Tỷ lệ đề kháng KS nhóm Aminoglycoside ở *K.pneumoniae* trong mỗi khu vực là không giống nhau điều này cũng trực tiếp ảnh hưởng đến tỷ lệ lưu hành của các gen đề kháng tương ứng. Tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương, Amikacin và Gentamicin là hai loại KS thường được sử dụng để điều trị nhiễm khuẩn do *K.pneumoniae* trên lâm sàng (Tobramycin chỉ dùng ở dạng thuốc nhỏ mắt). Điều này có thể làm tăng tỷ lệ các gen mã hóa cho enzym có hoạt tính đề kháng

với hai loại KS này như *aac(6')-Ib*, *ant(2'')-Ia*, và *aac(3')-II* do chọn lọc kiểu hình từ việc sử dụng KS [20]. Điều này phù hợp với kết quả cho thấy ba gen *ant(2'')-Ia*, *aac(6')-Ib* và *aac(3')-II* có tỷ lệ dương tính cao hơn so với các gen *ant(3'')-I* và *aph(3')-Ia* được khảo sát. **(5) Ảnh hưởng của việc lặp mẫu do không xác định được genotype.** Trong trường hợp cùng một bệnh nhân nhưng cùng ra kết quả cấy là *K.pneumoniae* trên nhiều lần cấy khác nhau thì các mẫu *K.pneumoniae* được nhận vào nghiên cứu chủ yếu phân biệt qua khác biệt về kiểu hình (KS đồ) mà chưa được xem xét đến tí trình tự gen (ST : sequence type) để xác định các mẫu lặp lại này là cùng một tí hay là các tí khác nhau. Điều này có thể làm cho tỷ lệ gen kháng thuốc khảo sát được trong nghiên cứu của chúng tôi tăng cao hơn so với thực tế do việc lặp lại cùng một tí không được loại trừ [8]. Chính vì vậy, trong những nghiên cứu kế tiếp nên xem xét thêm đến type trình tự để xác định tí trình tự (sequence type : ST) của *K.pneumoniae* nhằm giúp tìm hiểu sự gia tăng tỷ lệ của các gen đề kháng này là do sự lan truyền gen kháng thuốc giữa các tí với nhau hay do liên quan đến sự bùng phát của cùng một tí ban đầu. Tất cả các lý do trên cho thấy tỷ lệ của các gen kháng nhóm Aminoglycoside có thể bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố khác nhau, tùy theo đặc điểm riêng biệt của cơ sở khám chữa bệnh được khảo sát. Điều này đặt ra nhu cầu cần thiết cho việc xây dựng một bộ cơ sở dữ liệu về tính đề kháng KS của vi khuẩn đặc thù cho cơ sở khám chữa bệnh giúp cho việc quản lý và sử dụng KS được sát sao với thực tế và có thể theo dõi nắm bắt kịp thời sự gia tăng đề kháng để có những chiến lược đồng hành sớm nhằm ngăn chặn.

Bên cạnh đó, tất cả *K.pneumoniae* mang gen kháng nhóm Aminoglycoside được nghiên cứu đều ở dạng tổ hợp gen và đặc biệt là các chủng *K.pneumoniae* kháng Aminoglycoside sẽ đi kèm với khả năng đa kháng với nhiều loại KS khác. Điều này do các gen kháng nhóm Aminoglycoside có các yếu tố di động như Integron class 1 và Transposon để tạo thành các gen cassette trên plasmid. Các cấu trúc gen cassette này chứa rất nhiều loại gen đề kháng với nhiều nhóm KS khác nhau và nhờ sự di truyền plasmid giữa các vi khuẩn với nhau theo hàng ngang đã làm cho việc lan truyền các gen kháng thuốc rộng rãi [7]. Do vậy, các nghiên cứu chuyên sâu hơn về di truyền plasmid kháng thuốc trên vi khuẩn nên được thực hiện trong tương lai nhằm tìm hiểu rõ hơn về cơ chế lan truyền kháng thuốc ở vi khuẩn.

2. Sự khác biệt về tỷ lệ các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside theo nguồn gốc nhiễm khuẩn và đặc điểm KS đồ

Sự khác biệt về tỷ lệ gen theo nguồn gốc nhiễm khuẩn được nghiên cứu nhằm tìm hiểu về nguồn gốc lan truyền các gen đề kháng nhóm Aminoglycoside. Tuy nhiên, kết quả không ghi nhận được sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Mặc dù vậy, cần lưu ý về tỷ lệ gen *ant(3'')-I* trong nhóm nhiễm khuẩn cộng đồng cao hơn nhiễm khuẩn bệnh viện. Do gen này mã hóa cho enzym *ant(3'')-I* chỉ đề kháng với Streptomycin và Spectinomycin mà không đề kháng với các loại KS nhóm Aminoglycoside khác đang dùng phổ biến tại bệnh viện như Amikacin, Gentamicin [21]. Streptomycin và Spectinomycin là hai loại KS ít được dùng trong thực hành lâm sàng ở bệnh viện

Nguyễn Tri Phương, tuy nhiên lại phổ biến trong chăn nuôi. Điều này có thể đang phản ánh vấn đề sử dụng KS rộng rãi trong chăn nuôi đã làm cho tình trạng lây lan gen kháng thuốc cho các vi khuẩn gây bệnh trên người. Trong nghiên cứu này, việc phân định nhiễm khuẩn cộng đồng và nhiễm khuẩn bệnh viện có thể có sai lệch do phụ thuộc vào các dữ liệu ghi nhận từ hồ sơ bệnh án mà không có tiếp xúc trực tiếp với bệnh nhân trên lâm sàng. Do đó, cần có phương pháp phân biệt nguồn gốc nhiễm khuẩn chính xác hơn ở các nghiên cứu chuyên sâu trong tương lai. Ngoài ra, do mục tiêu đặt ra chủ yếu thiên về khả năng đề kháng của vi khuẩn nên nghiên cứu chỉ giới hạn các biến số ở qui mô phòng xét nghiệm, chưa khảo sát được các biến số liên quan đến lâm sàng như phân nhóm theo chẩn đoán nhiễm khuẩn, tính đáp ứng với KS theo KS đồ Bên cạnh đó, phân bố mẫu ở từng Khoa lâm sàng không đều và số mẫu ít nên việc việc mô tả tỷ lệ gen kháng thuốc theo từng khoa có ý nghĩa thực tiễn cho lâm sàng nhưng chưa khả thi trong khuôn khổ đề tài này. Đây là những hạn chế cần được xem xét trong các nghiên cứu sau, cần có kết hợp với các khoa lâm sàng và khoa Dược nhằm nghiên cứu được toàn diện các yếu tố vi sinh vật, KS và đáp ứng của người bệnh giúp nâng cao hiệu quả điều trị.

Các enzym kháng nhóm Aminoglycoside theo cơ chế tiết enzym bất hoạt gồm ba nhóm lớn *aac* (mã hóa cho N-Acetyl-transferases), *ant* (mã hóa cho O-Nucleotidyl-transferases) và *aph* (mã hóa cho O-Phospho-transferases) [20]. Mỗi nhóm enzym sẽ có các hoạt tính sinh học khác nhau và có tác dụng với một số KS nhất định trong nhóm Aminoglycoside. Các hoạt tính sinh học của các enzym bất hoạt được mã hóa bởi các gen kháng thuốc khảo sát được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4. Hoạt tính của các enzym bất hoạt KS nhóm Aminoglycoside mã hóa bởi các gen kháng thuốc tương ứng [20, 22].

Tên gen kháng thuốc	Tên enzym tương ứng	Các KS nhóm Aminoglycoside bị bất hoạt
<i>aac(6')-Ib</i>	<i>aac(6')-Ib</i>	Amikacin, Tobramycin, Gentamicin (hoạt tính yếu với Gentamicin C1), Netilmicin, Dibekacin, Sisomicin, Kanamycin, Isepamicin.
<i>aac(3')-II</i>	<i>aac(3')-II</i>	Gentamicin, Tobramycin, Netilmicin, Dibekacin, Sisomicin.
<i>ant(2'')-Ia</i>	<i>ant(2'')-Ia</i>	Gentamicin, Tobramycin, Sisomicin, Dibekacin, Kanamycin.
<i>ant(3'')-I</i>	<i>ant(3'')-I</i>	Streptomycin, Spectinomycin.
<i>aph(3')-Ia</i>	<i>aph(3')-Ia</i>	Kanamycin, Neomycin, Paromomycin, Ribostamycin, Lividomycin.

Điển hình như gen mã hóa cho enzym *aac(6')-Ib* có phổ tác động rộng có thể bất hoạt hầu hết các KS trong nhóm Aminoglycoside ngoại trừ Streptomycin và

Spectinomycin. Ngược lại, gen *aac(3')-II* mã hóa cho enzym *aac(3')-II* có phổ tác dụng hẹp hơn và không bất hoạt được Amikacin [20, 22]. Kết quả nghiên cứu cho thấy gen *aac(3')-II* chiếm tỷ lệ cao trong nhóm *K.pneumoniae* chỉ kháng Gentamicin gợi ý rằng có thể enzym *aac(3')-II* ái lực với Gentamicin cao hơn các KS Aminoglycoside khác do đó nếu xác định được *K.pneumoniae* có mang gen *aac(3')-II* thì việc sử dụng Gentamicin không được khuyến cáo mà nên sử dụng các KS Aminoglycoside khác không nằm trong phổ tác động của enzym bất hoạt như Amikacin. Và tương tự, gen *aac(6')-Ib* chiếm tỷ lệ cao trong nhóm kháng cả hai loại KS do enzym *aac(6')-Ib* có phổ tác động rộng hơn dẫn đến việc sử dụng các KS nhóm Aminoglycoside sẽ gặp nhiều khó khăn. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này việc xác định tính nhạy cảm hay đề kháng với KS nhóm Aminoglycoside chỉ dựa vào kết quả KS đồ có sẵn trong quá trình điều trị tại bệnh viện theo phương pháp đo đường kính vòng khuếch tán trên đĩa thạch. Chưa thực hiện được bằng phương pháp chuẩn khuyến cáo là vi pha loãng và chưa xác định được giá trị MIC và quy trình thực hiện KS đồ của Đơn vị vi sinh – bệnh viện Nguyễn Tri Phương chỉ khảo sát tính nhạy cảm với Gentamicin và Tobramycin mà không khảo sát Amikacin – một loại Aminoglycoside thường được sử dụng tại bệnh viện. Vì vậy, nhóm nghiên cứu đề xuất khảo sát thêm Amikacin vào quy trình thực hiện KS đồ đang áp dụng tại bệnh viện. Chính vì vậy, nghiên cứu này chỉ tập trung mô tả đặc điểm kiểu gen, không thể xác định được việc mang các gen đề kháng trên có ảnh hưởng thế nào đến giá trị MIC của các KS nhóm Aminoglycoside cũng như việc tăng liều lượng KS sẽ có tác dụng với các chủng mang gen đề kháng hay không. Do đó, cần có những nghiên cứu chuyên sâu hơn để tìm hiểu về mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình đề kháng KS.

Các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside thường được tìm thấy cùng với các gen kháng thuốc khác như gen kháng Carbapenem như *blaKPC* hoặc gen sinh ESBL (*blaTEM* hoặc *blaSHV*) [23]. Kết quả nghiên cứu cho thấy gen *aac(6')-Ib* chiếm tỷ lệ cao trong nhóm *K.pneumoniae* có kháng Carbapenem hơn nhóm không kháng Carbapenem. Điều này tương đồng với báo cáo của Derek N. Bremmer (2014) ghi nhận tỷ lệ cao của gen *aac(6')-Ib* trên các chủng *K.pneumoniae* mang gen *blaKPC* kháng Carbapenem, điều này đã gây khó khăn cho việc điều trị *K.pneumoniae* kháng Carbapenem khi mà Amikacin, một loại KS được sử dụng để hỗ trợ điều trị, bị giảm tác dụng do sự xuất hiện của gen *aac(6')-Ib* [24]. Để đối phó với tình trạng trên, cần mở rộng các nghiên cứu về tác dụng phối hợp của các loại KS thông qua phương pháp xác định nồng độ ức chế phân đoạn (FIC - fractional inhibitory concentration) nhằm đánh giá hiệu quả phối hợp KS trên các chủng *K.pneumoniae* đa kháng thuốc này. Ngoài ra, để xác định được chặt chẽ hơn mối liên hệ giữa các gen kháng Aminoglycoside với kiểu hình kháng Carbapenem, cần mở rộng thêm các KS khác trong nhóm Carbapenem. Trong nghiên cứu này, kiểu hình kháng Carbapenem chỉ giới hạn ở Imipenem là đại diện khi làm KS đồ ở bệnh viện Nguyễn Tri Phương.

Các gen kháng KS nhóm Aminoglycoside có các yếu tố di động nên có khả năng di truyền liên kết với các gen sinh ESBL thông qua trung gian Plasmid. Nghiên cứu

của Hisham N. Altayb (2022) đã phát hiện các gen kháng Aminoglycoside liên kết với gen sinh ESBL (*blaTEM-15*) trên *K.pneumoniae* [25]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, ghi nhận tỷ lệ cao các gen *aac(3')-II* và *aph(3')-Ia* trong nhóm *K.pneumoniae* có sinh ESBL gợi ý rằng có thể các gen này cũng có khả năng di truyền liên kết với gen sinh ESBL. Tuy nhiên, việc xác định tính sinh ESBL tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương chỉ được xác định gián tiếp thông qua việc xem xét tính kháng với một số KS thử nghiệm chứ không thông qua việc xác định trực tiếp gen sinh ESBL. Do đó, nếu muốn khẳng định đặc điểm này cần có nghiên cứu chuyên biệt về hai nhóm gen này hoặc sử dụng kỹ thuật giải trình tự gen plasmid kết hợp với phát hiện các yếu tố di động. Việc sử dụng rộng rãi các KS nhóm Cephalosporin đã làm tăng tỷ lệ các chủng *K.pneumoniae* sinh ESBL và nếu có mang thêm gen kháng Aminoglycoside sẽ tạo ra áp lực chọn lọc kép kéo theo sự gia tăng đồng thời tỷ lệ kháng Aminoglycoside. Đây là một trong những nguyên nhân dẫn đến sự xuất hiện của các chủng đa kháng. Do đó, nếu tìm hiểu được đặc điểm di truyền liên kết của các gen kháng thuốc có thể giúp đặt ra biện pháp sử dụng KS hợp lý tránh sự xuất hiện và gia tăng của *K.pneumoniae* đa kháng thuốc trong tương lai.

Sau những phân tích và nhìn nhận nghiêm túc về kết quả đạt được, cũng như các điểm còn tồn tại của nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy nghiên cứu này đã đóng góp một số thông tin ban đầu về tỷ lệ các gen kháng nhóm Aminoglycoside và các sự khác biệt theo đặc điểm KS đồ cho bộ dữ liệu gen kháng KS chung trên vi khuẩn *K.pneumoniae* tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương. Trong tình huống nghiên cứu về tình trạng gen kháng KS ở vi khuẩn gây bệnh, tính ngoại suy của kết quả nghiên cứu giữa các cơ sở khám chữa bệnh và giữa các vùng địa lý có thể là không cao, khi xem xét đến tốc độ lan truyền gen hàng ngang qua plasmid và tốc độ biến đổi gen dưới áp lực chọn lọc KS. Dù vậy, trong tình hình chung là dữ liệu về gen kháng KS tại các cơ sở khám chữa bệnh tại nước ta còn rất ít và rời rạc, thì các kết quả này vẫn có giá trị tham khảo. Việc mỗi bệnh viện xây dựng được bộ dữ liệu vi sinh lâm sàng tại chỗ từ những thông tin này là vô cùng cấp thiết và hữu ích, giúp xác định và lựa chọn các cách sử dụng mới, hợp lý của các KS sẵn có, theo đặc thù tại chính cơ sở đó.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được tỷ lệ các gen trong nhóm gen *aac*, *ant* và *aph* trong các chủng *K.pneumoniae* kháng KS nhóm Aminoglycoside tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương. Khi mô tả một số đặc điểm vi sinh lâm sàng của các chủng được khảo sát trong mối liên hệ với sự hiện diện của các gen này, kết quả cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa sự hiện diện của các gen với các đặc điểm kháng sinh trên kháng sinh đồ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. O'Neill, J., *Tackling drug-resistant infections globally: final report and*

- recommendations. 2016: p120.
2. Thị Soa, Đ., et al., *Tổng quan về tình hình kháng kháng sinh của một số vi khuẩn thường gây bệnh trên lâm sàng tại Việt Nam từ 2017- 2022*. Tạp chí Y học Việt Nam, 2022. **519**(1):p 56-62.
 3. Davies, O. and S. Bennett, *WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed*. WHO Newsletters, 2017.
 4. Nguyễn, Quang Huy, Lê Thị Thu Ngân, Võ Thị Hà, Nguyễn Minh Hà, *Tình hình đề kháng kháng sinh của Klebsiella pneumoniae tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương giai đoạn 2019 - 2022*. Tạp chí Y học Việt Nam, 2023. **527**(2):p 111-119.
 5. Zhang, Y., et al., *The prevalence and distribution of aminoglycoside resistance genes*. Biosafety and Health, 2023. **5**(1): p. 14-20.
 6. Doi, Y., J.-i. Wachino, and Y. Arakawa, *Aminoglycoside Resistance*. Infectious Disease Clinics of North America, 2016. **30**(2): p. 523-537.
 7. Garneau-Tsodikova, S. and K.J. Labby, *Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives*. MedChemComm, 2016. **7**(1): p. 11-27.
 8. Li, B., et al., *Analysis of drug resistance determinants in Klebsiella pneumoniae isolates from a tertiary-care hospital in Beijing, China*. 2012: p20.
 9. Mbelle, N.M., et al., *Pathogenomics and Evolutionary Epidemiology of Multi-Drug Resistant Clinical Klebsiella pneumoniae Isolated from Pretoria, South Africa*. Scientific Reports, 2020. **10**(1): p. 1232-1232.
 10. Fernández-Martínez, M., et al., *Prevalence of Aminoglycoside-Modifying Enzymes in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Producing Extended Spectrum β -Lactamases Collected in Two Multicenter Studies in Spain*. (1931-8448 (Electronic)).
 11. Barbier, E., et al., *The ZKIR Assay, a Real-Time PCR Method for the Detection of Klebsiella pneumoniae and Closely Related Species in Environmental Samples*. Applied and Environmental Microbiology, 2020. **86**(7): p1223-1232.
 12. Stedtfeld, R.D., et al., *Primer set 2.0 for highly parallel qPCR array targeting antibiotic resistance genes and mobile genetic elements*. FEMS Microbiology Ecology, 2018. **94**(9): p 356-366.
 13. Nasiri, G., A. Peymani, T.N. Farivar, and P. Hosseini, *Molecular epidemiology of aminoglycoside resistance in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae collected from Qazvin and Tehran provinces, Iran*. Infect Genet Evol, 2018. **64**: p. 219-224.
 14. Ahmed, O.B., et al., *Characterization of aminoglycoside resistance genes in multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae collected from tertiary hospitals during the COVID-19 pandemic*. PLoS One, 2023. **18**(7): p. e0289359.
 15. Khoshnood, S., et al., *Molecular evaluation of aminoglycosides resistance and biofilm formation in Klebsiella pneumoniae clinical isolates: A cross-sectional*



- study. Health Sci Rep, 2023. **6**(5): p. e1266.
16. El-Badawy, M.F., et al., *Molecular Identification of Aminoglycoside-Modifying Enzymes and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes among Klebsiella pneumoniae Clinical Isolates Recovered from Egyptian Patients*. Int J Microbiol, 2017. **2017**: p. 8050432.
 17. Fernández-Martínez, M., et al., *Prevalence of Aminoglycoside-Modifying Enzymes in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Producing Extended Spectrum β -Lactamases Collected in Two Multicenter Studies in Spain*. Microbial Drug Resistance, 2018. **24**(4): p. 367-376.
 18. Satter, S., H. Mahbub, and S.M. Shamsuzzaman, *Antibiotic Resistance Pattern and Prevalence of Aminoglycoside-Modifying Enzymes in Escherichia Coli and Klebsiella species Isolated from a Tertiary Care Hospital in Bangladesh*. Mymensingh Med J, 2018. **27**(3): p. 561-566.
 19. Stedtfeld, R.D., et al., *Primer set 2.0 for highly parallel qPCR array targeting antibiotic resistance genes and mobile genetic elements*. FEMS Microbiol Ecol, 2018. **94**(9): p. 151-171.
 20. Ramirez, M.S. and M.E. Tolmasky, *Aminoglycoside modifying enzymes*. Drug Resistance Updates, 2010. **13**(6): p. 151-171.
 21. Shaw, K.J., P.N. Rather, R.S. Hare, and G.H. Miller, *Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes*. Microbiol Rev, 1993. **57**(1): p. 138-63.
 22. Vakulenko, S.B. and S. Mobashery, *Versatility of aminoglycosides and prospects for their future*. Clin Microbiol Rev, 2003. **16**(3): p. 430-50.
 23. Almaghrabi, R., et al., *Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae strains exhibit diversity in aminoglycoside-modifying enzymes, which exert differing effects on plazomicin and other agents*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2014. **58**(8): p. 4443-4451.
 24. Bremmer, D.N., et al., *KPC-producing Klebsiella pneumoniae strains that harbor AAC(6)-Ib exhibit intermediate resistance to amikacin*. Antimicrob Agents Chemother, 2014. **58**(12): p. 7597-600.
 25. Altayb, H.N., et al., *Co-Occurrence of β -Lactam and Aminoglycoside Resistance Determinants among Clinical and Environmental Isolates of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli: A Genomic Approach*. Pharmaceuticals (Basel), 2022. **15**(8): p 889-903.

PHỤ LỤC 01

1. So sánh sự khác biệt về tỷ lệ mang các gen kháng kháng sinh nhóm Aminoglycoside theo nguồn gốc nhiễm khuẩn

	Có gen <i>aac(3')-II</i> n (%)	Không có gen <i>aac(3')-II</i> n (%)	Tổng cộng	P value
Nhiễm khuẩn cộng đồng	40 (55,6%)	32 (44,4%)	72 (100%)	0,959
Nhiễm khuẩn bệnh viện	64 (55,2%)	52 (44,8%)	116 (100%)	
	Có gen <i>aac(6')-Ib</i> n (%)	Không có gen <i>aac(6')-Ib</i> n (%)	Tổng cộng	P value
Nhiễm khuẩn cộng đồng	62 (86,1%)	10 (13,9%)	72 (100%)	0,353
Nhiễm khuẩn bệnh viện	105 (90,5%)	11 (9,5%)	116 (100%)	
	Có gen <i>ant(3'')-I</i> n (%)	Không có gen <i>ant(3'')-I</i> n (%)	Tổng cộng	P value
Nhiễm khuẩn cộng đồng	39 (54,2%)	33 (45,8%)	72 (100%)	0,213
Nhiễm khuẩn bệnh viện	52 (44,8%)	64 (55,2%)	116 (100%)	
	Có gen <i>ant(2'')-Ia</i> n (%)	Không có gen <i>ant(2'')-Ia</i> n (%)	Tổng cộng	P value
Nhiễm khuẩn cộng đồng	70 (97,2%)	2 (2,8%)	72 (100%)	1 (*)
Nhiễm khuẩn bệnh viện	113 (97,4%)	3 (2,6%)	116 (100%)	
	Có gen <i>aph(3')-Ia</i> n (%)	Không có gen <i>aph(3')-Ia</i> n (%)	Tổng cộng	P value
Nhiễm khuẩn cộng đồng	31 (43,1%)	41 (56,9%)	72 (100%)	0,054
Nhiễm khuẩn bệnh viện	34 (29,3%)	82 (70,7%)	116 (100%)	

(*) Phép kiểm Fisher exact

2. So sánh sự khác biệt về tỷ lệ mang các gen kháng kháng sinh nhóm Aminoglycoside theo kiểu hình kháng nhóm Aminoglycoside

	Có gen <i>aac(3')-II</i> <i>n (%)</i>	Không có gen <i>aac(3')-II</i> <i>n (%)</i>	Tổng cộng	P value
Kháng cả hai KS	64 (60,4%)	42 (39,6%)	106 (100%)	<0,0001
Chỉ kháng Gentamicin	28 (93,3%)	2 (6,7%)	30 (100%)	
Chỉ kháng Tobramycin	12 (23,1%)	40 (76,9%)	52 (100%)	
	Có gen <i>aac(6')-Ib</i> <i>n (%)</i>	Không có gen <i>aac(6')-Ib</i> <i>n (%)</i>	Tổng cộng	P value
Kháng cả hai KS	97 (91,5%)	9 (8,5%)	106 (100%)	0,001
Chỉ kháng Gentamicin	21 (70,0%)	9 (30,0%)	30 (100%)	
Chỉ kháng Tobramycin	49 (94,2%)	3 (5,8%)	52 (100%)	
	Có gen <i>ant(3'')-I</i> <i>n (%)</i>	Không có gen <i>ant(3'')-I</i> <i>n (%)</i>	Tổng cộng	P value
Kháng cả hai KS	57 (53,8%)	49 (46,2%)	106 (100%)	0,003
Chỉ kháng Gentamicin	19 (63,3%)	11 (36,7%)	30 (100%)	
Chỉ kháng Tobramycin	15 (28,8%)	37 (71,2%)	52 (100%)	
	Có gen <i>ant(2'')-Ia</i> <i>n (%)</i>	Không có gen <i>ant(2'')-Ia</i> <i>n (%)</i>	Tổng cộng	P value
Kháng cả hai KS	103 (97,2%)	3 (2,8%)	106 (100%)	1 (*)
Chỉ kháng Gentamicin	29 (96,7%)	1 (3,3%)	30 (100%)	
Chỉ kháng Tobramycin	51 (98,1%)	1 (1,9%)	52 (100%)	
	Có gen <i>aph(3')-Ia</i> <i>n (%)</i>	Không có gen <i>aph(3')-Ia</i> <i>n (%)</i>	Tổng cộng	P value

Kháng cả hai KS	38 (35,8%)	68 (64,2%)	106 (100%)	0,012
Chỉ kháng Gentamicin	16 (53,3%)	14 (46,7%)	30 (100%)	
Chỉ kháng Tobramycin	11 (21,2%)	41 (78,8%)	52 (100%)	

(*) Phép kiểm Fisher exact

3. So sánh sự khác biệt về tỷ lệ mang các gen kháng kháng sinh nhóm Aminoglycoside theo kiểu hình kháng Imipenem

	Có gen <i>aac(3')-II</i> n (%)	Không có gen <i>aac(3')-II</i> n (%)	Tổng cộng	P value
Không kháng Imipenem	50 (73,5%)	18 (26,5%)	68 (100%)	<0,0001
Có kháng Imipenem	54 (45,0%)	66 (55,0%)	120 (100%)	
	Có gen <i>aac(6')-Ib</i> n (%)	Không có gen <i>aac(6')-Ib</i> n (%)	Tổng cộng	P value
Không kháng Imipenem	55 (80,9%)	13 (19,1%)	68 (100%)	0,009
Có kháng Imipenem	112 (93,3%)	8 (6,7%)	120 (100%)	
	Có gen <i>ant(3'')-I</i> n (%)	Không có gen <i>ant(3'')-I</i> n (%)	Tổng cộng	P value
Không kháng Imipenem	42 (61,8%)	26 (38,2%)	68 (100%)	0,006
Có kháng Imipenem	49 (40,8%)	71 (59,2%)	120 (100%)	
	Có gen <i>ant(2'')-Ia</i> n (%)	Không có gen <i>ant(2'')-Ia</i> n (%)	Tổng cộng	P value
Không kháng Imipenem	66 (97,1%)	2 (2,9%)	68 (100%)	0,857 (*)
Có kháng Imipenem	117 (97,5%)	3 (2,5%)	120 (100%)	
	Có gen <i>aph(3')-Ia</i>	Không có gen <i>aph(3')-Ia</i>	Tổng cộng	P value

	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>		
Không kháng Imipenem	34 (50,0%)	34 (50,0%)	68 (100%)	0,001
Có kháng Imipenem	31 (25,8%)	89 (74,2%)	120 (100%)	

(*) Phép kiểm Fisher exact

4. So sánh sự khác biệt về tỷ lệ mang các gen kháng kháng sinh nhóm Aminoglycoside theo tính sinh ESBL

	Có gen <i>aac(3')-II</i> <i>n (%)</i>	Không có gen <i>aac(3')-II</i> <i>n (%)</i>	Tổng cộng	P value
Sinh ESBL	39 (70,9%)	16 (29,1%)	55 (100%)	0,006
Không sinh ESBL	65 (48,9%)	68 (51,1%)	133 (100%)	
	Có gen <i>aac(6')-Ib</i> <i>n (%)</i>	Không có gen <i>aac(6')-Ib</i> <i>n (%)</i>	Tổng cộng	P value
Sinh ESBL	51 (92,7%)	4 (7,3%)	55 (100%)	0,275
Không sinh ESBL	116 (87,2%)	17 (12,8%)	133 (100%)	
	Có gen <i>ant(3'')-I</i> <i>n (%)</i>	Không có gen <i>ant(3'')-I</i> <i>n (%)</i>	Tổng cộng	P value
Sinh ESBL	28 (50,9%)	27 (49,1%)	55 (100%)	0,659
Không sinh ESBL	63 (47,4%)	70 (52,6%)	133 (100%)	
	Có gen <i>ant(2'')-Ia</i> <i>n (%)</i>	Không có gen <i>ant(2'')-Ia</i> <i>n (%)</i>	Tổng cộng	P value
Sinh ESBL	53 (96,4%)	2 (3,6%)	55 (100%)	0,631 (*)
Không sinh ESBL	130 (97,7%)	3 (2,3%)	133 (100%)	
	Có gen <i>aph(3')-Ia</i> <i>n (%)</i>	Không có gen <i>aph(3')-Ia</i> <i>n (%)</i>	Tổng cộng	P value
Sinh ESBL	27 (49,1%)	28 (50,9%)	55 (100%)	0,007
Không sinh ESBL	38 (28,6%)	95 (71,4%)	133 (100%)	

(*) Phép kiểm Fisher exact