



XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA HỆ THỐNG ĐỊNH DANH VÀ KHÁNG SINH ĐỘ TỰ ĐỘNG TRONG XÉT NGHIỆM VI KHUẨN TẠI BỆNH VIỆN NGUYỄN TRI PHƯƠNG

Nguyễn Minh Hà^{1,2}, Đặng Thu Hương²,
Phạm Minh Hiếu¹, Nguyễn Đỗ Anh Thư¹, Trần Văn Lợi¹,
¹Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Nguyễn Tri Phương,
²Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hiện tại với phương pháp định danh và thực hiện kháng sinh đồ thủ công của đơn vị Vi sinh khoa xét nghiệm khó đáp ứng kịp thời nhu cầu chẩn đoán và điều trị bệnh nhân. Điều cần thiết hiện nay là đưa vào sử dụng các hệ thống tự động nhằm cải thiện hiệu suất và chất lượng xét nghiệm.

Mục tiêu: Xác định độ tương đồng, độ tái lập của hệ thống định danh vi khuẩn và kháng sinh đồ tự động Sentitre Aris HIQ (hãng Thermo Fisher Scientific, Mỹ) theo hướng dẫn của CLSI M52-ED1.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang thực hiện trên các chủng vi khuẩn lâm sàng và các chủng chuẩn (ATCC) lưu trữ ở nhiệt độ âm 80°C tại Đơn vị Vi Sinh Bệnh viện Nguyễn Tri Phương từ 15/07/2024 đến 25/08/2024. Đối với kỹ thuật định danh vi khuẩn, xác định độ tương đồng và độ tái lập giữa phương pháp định danh thủ công trên kit sinh hóa thủ công (Nam Khoa, Việt Nam) đang áp dụng tại bệnh viện và hệ thống tự động. Đối với kỹ thuật kháng sinh đồ, xác định độ tương đồng bởi các thông số đồng thuận loại (Category agreement - CA), lỗi nghiêm trọng (Very major error - VME), lỗi lớn (Major error - ME) và độ tái lập giữa phương pháp khuếch tán trên đĩa truyền thống đang áp dụng với hệ thống tự động.

Kết quả: Đối với phương pháp định danh, độ tương đồng và độ tái lập của hệ thống định danh tự động Sentitre Aris HIQ đạt đều đạt 100% với cả các vi khuẩn Gram âm và Gram dương. Trong đó, hệ thống Sentitre Aris HIQ cho phép định danh chính xác tên loài trong nhóm *Staphylococcus coagulase negative*. Đối với phương pháp kháng sinh đồ, kết quả độ tương đồng từng loại kháng sinh đều đạt trong các chỉ tiêu đánh giá. Trong đó, các thông số về độ tương đồng của vi khuẩn Gram âm cao hơn các vi khuẩn Gram dương. Với vi khuẩn Gram dương thì đồng thuận loại đạt 97.8% (404/413), không ghi nhận lỗi VME, 0.7% lỗi ME (3/413) và 1.5% lỗi mE (6/413). Với vi khuẩn Gram âm thì đồng thuận loại đạt 98.5% (605/614), không ghi nhận lỗi VME, có 0.5% lỗi ME (3/614), 1% lỗi mE (6/614). Độ lặp lại các kháng sinh cho các chủng thử nghiệm đều đạt 100%.

Kết luận: Hệ thống Sensititre hoạt động hiệu quả, đáp ứng các yêu cầu về định danh và kháng sinh đồ các chủng vi khuẩn thường gặp, cũng như đủ điều kiện để áp dụng vào thực hành xét nghiệm vi sinh lâm sàng ở bệnh viện.



Từ khóa: định danh tự động, kháng sinh đồ tự động, giá trị sử dụng.

VERIFICATION THE AUTOMATED IDENTIFICATION AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY TESTING SYSTEM IN BACTERIAL TESTING AT NGUYEN TRI PHUONG HOSPITAL

Nguyen Minh Ha^{1,2}, Dang Thu Huong², Pham Minh Hieu¹, Nguyen Do Anh Thu¹,
Tran Van Loi¹,¹Laboratory Department, Nguyen Tri Phuong Hospital;
²Pham Ngoc Thach University of Medicine

ABSTRACT

Introduction: The manual identification and antibiotic susceptibility testing methods used by the Microbiology Unit in the Laboratory Department are struggling to meet the timely demands of diagnosis and patient treatment. It is now essential to implement automated systems to improve the efficiency and quality of testing.

Objective: To determine the correlation and repeatability of the Sentitire Aris HIQ automated bacterial identification and antibiotic susceptibility testing system (Thermo Fisher Scientific, USA) according to the guidelines of CLSI M52-ED1.

Subjects and methods: This cross-sectional descriptive study was conducted on clinical bacterial strains and reference strains (ATCC) stored at -80°C in the Microbiology Unit of Nguyen Tri Phuong Hospital from July 15, 2024 to August 25, 2024. For bacterial identification techniques, the similarity and repeatability were determined between the manual identification method using a manual biochemical kit (Nam Khoa, Vietnam) currently applied at the hospital and the automated system. For antibiotic susceptibility testing, similarity was determined using parameters such as Category Agreement (CA), Very Major Error (VME), Major Error (ME), and repeatability between the Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility method currently in use and the automated system.

Results: For the identification method, the correlation and repeatability of the Sentitire Aris HIQ automated identification system both achieved 100% for both Gram-negative and Gram-positive bacteria. Notably, the Sentitire Aris HIQ system identified more accurately to species-level within the coagulase-negative Staphylococcus group. For the antibiotic susceptibility testing method, the similarity results for each antibiotic met all evaluation criteria. Among these, the similarity parameters for Gram-negative bacteria were higher than those for Gram-positive bacteria. Specifically, for Gram-positive bacteria, the category agreement was 97.8% (404/413), with 0.7% ME errors (3/413), 1.5% mE errors (6/413), and no VME errors recorded. For Gram-negative bacteria, the category agreement was 98.5% (605/614), with 0.5% ME errors (3/614), 1% mE errors (6/614), and no VME errors recorded. The repeatability for antibiotics across the test strains achieved 100%.

Conclusions: The Sensitire system operates effectively, meeting the requirements for identification and susceptibility pattern of aerobic bacteria in routine microbiology laboratories, and is suitable for implementation in clinical microbiology laboratory practices at the hospital.

Keywords: Automated identification, automated antibiotic susceptibility testing, verification.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cuộc chiến chống lại các bệnh nhiễm trùng ngày càng cam go, đặc biệt là các vi khuẩn đề kháng kháng sinh. Tổ chức y tế thế giới (WHO) ước tính rằng vi khuẩn đề kháng kháng sinh đã gây ra 4.95 triệu ca tử vong trên toàn thế giới vào năm 2019¹. Xác định tác nhân gây nhiễm và tính nhạy cảm kháng sinh là công cụ cơ bản nhằm phục vụ công tác chẩn đoán tác nhân vi khuẩn gây bệnh. Hệ thống định danh và kháng sinh đồ tự động rất phổ biến ở hầu hết các bệnh viện hiện nay. Từ trước đến nay đã có nhiều nghiên cứu xem xét về tác động của hệ thống định danh và kháng sinh đồ tự động đến lâm sàng và chi phí trong việc chăm sóc bệnh nhân²⁻⁴; kết quả cho thấy rằng việc điều chỉnh liệu pháp có thể giúp bệnh viện tiết kiệm chi phí trực tiếp^{3,4} và giảm tỷ lệ tử vong³, ngoài việc tiết kiệm nhân công, chuẩn hóa xét nghiệm, khả năng tái tạo và quản lý dữ liệu⁵.

Bệnh viện Nguyễn Tri Phương là bệnh viện đa khoa công lập hạng I với quy mô trên 1.000 giường bệnh. Mỗi năm bệnh viện tiếp nhận khám và điều trị trung bình gần 600.000 lượt bệnh nhân ngoại trú và 50.000 lượt bệnh nhân nội trú. Hiện tại với phương pháp định danh và thực hiện kháng sinh đồ thủ công của đơn vị Vi sinh khoa xét nghiệm khó đáp ứng kịp thời nhu cầu chẩn đoán và điều trị bệnh nhân. Điều cần thiết hiện nay là đưa vào sử dụng các hệ thống tự động nhằm cải thiện hiệu suất và chất lượng xét nghiệm.

Hệ thống Sensititre ARIS HiQ là thiết bị ủ và đọc kết quả định danh, kháng sinh đồ đã được FDA công nhận, với khả năng xử lý đồng thời 100 khay định danh/kháng sinh đồ Sensititre. Các thử nghiệm mô phỏng các thử nghiệm sinh hoá được biến đổi để có thể đọc được bằng tín hiệu huỳnh quang. Các khay được ủ ở 34-36°C, 5-18 giờ, được xác định sự hiện diện các tín hiệu huỳnh quang bằng các hệ thống Sensititre ARIS HiQ. Trong kỷ nguyên của các loại thuốc kháng sinh mới và tình trạng kháng thuốc ngày càng tăng, hệ thống ARIS HiQ cho kết quả MIC của nhiều loại kháng sinh (bao gồm các thuốc mới), điều mà không có nhiều hệ thống thương mại hiện nay trên thị trường làm được.

Bài báo tương tự của tác giả Kimberle và cs.⁶ thực hiện so sánh độ tương đồng của hệ thống Sensititre ARIS HiQ với phương pháp tham chiếu của Viện Tiêu chuẩn chất lượng xét nghiệm và lâm sàng (Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI) (n=212), kết quả cho thấy hệ thống Sensititre đạt 99.4% độ đồng thuận. Hệ thống tự động Sensititre ARIS HiQ chứng tỏ khả năng hoạt động tốt và là một giải pháp thay thế khả thi trong xét nghiệm kháng sinh đồ tự động. Nghiên cứu của tác giả Ronald và cs.⁷ thực hiện xác nhận giá trị sử dụng khay kháng sinh đồ ceftazidim-avibactam của hãng Sensititre với phương pháp MIC tham chiếu, sử dụng 525 chủng phân lập từ lâm sàng, kết quả cho thấy độ tương đồng đạt 98.9% và độ tái lập đạt 100%.

Căn cứ các yêu cầu của tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học, ban hành kèm theo Quyết định số 2429/QĐ-BYT ngày 12 tháng 06 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế⁸; cũng như yêu cầu tự hoạt động thực tế của Khoa Xét nghiệm, cần xác nhận lại hiệu năng của tất cả xét nghiệm trên các hệ thống máy so với công bố của nhà sản xuất, trước khi sử dụng máy để làm các xét nghiệm. Theo hướng dẫn của CLSI⁹, việc xác nhận giá trị sử dụng của kỹ thuật định danh vi khuẩn và kháng sinh đồ trên một hệ thống xét nghiệm đã được FDA phê duyệt, sẽ bao gồm việc đánh giá độ đúng và độ tái lập, có được từ việc thử nghiệm các chủng vi khuẩn lâm sàng và các chủng chuẩn, với các thiết kế thử nghiệm được qui định chặt chẽ (số chủng, loại chủng, số mẻ chạy và số lần chạy lặp theo thời gian). Việc xác nhận kết quả được so sánh với phương pháp tham chiếu (phương pháp MALDI-TOF MS cho xét nghiệm định danh vi khuẩn và phương pháp pha loãng MIC cho xét nghiệm kháng sinh đồ) hoặc so với phương pháp đang sử dụng (đã được phê duyệt và có kiểm soát chất lượng theo qui định).

Nghiên cứu cung cấp các dữ liệu về giá trị lâm sàng của hệ thống vi sinh tự động sắp đưa vào sử dụng tại bệnh viện sẽ giúp đảm bảo hệ thống hoạt động đáp ứng được các yêu cầu về chất lượng như nhà sản xuất đã công bố (trong các thông số kỹ thuật của nhà sản xuất), hệ thống được cài đặt đúng cách và hoạt động như dự kiến; đảm bảo nhân viên phòng xét nghiệm có được những báo cáo kết quả xét nghiệm chính xác; hoàn thiện hồ sơ xác định giá trị sử dụng của hệ thống cho Khoa Xét nghiệm bệnh viện để làm minh chứng đáp ứng các yêu cầu theo quy định.

Vì vậy, nghiên cứu “**Xác nhận giá trị sử dụng của hệ thống định danh và kháng sinh đồ tự động trong xét nghiệm vi khuẩn tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương**” được thực hiện nhằm 2 mục tiêu sau:

- Mục tiêu 1: Xác định độ tương đồng, độ tái lập của hệ thống định danh vi khuẩn tự động Sentitire Aris HIQ (hãng Thermo Fisher Scientific, Mỹ) theo hướng dẫn của CLSI M52-ED1.

- Mục tiêu 2: Xác định độ tương đồng, độ tái lập của hệ thống thực hiện kháng sinh đồ tự động Sentitire Aris HIQ (hãng Thermo Fisher Scientific, Mỹ) theo hướng dẫn của CLSI M52-ED1.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu: Các chủng vi khuẩn lâm sàng và các chủng chuẩn (ATCC) lưu trữ ở nhiệt độ âm 80°C tại Đơn vị Vi Sinh Bệnh viện Nguyễn Tri Phương từ tháng 15/07/2024 đến 25/08/2024.

(ATCC: ATCC là viết tắt của American Type Culture Collection, là một tổ chức phi lợi nhuận có trụ sở tại Hoa Kỳ, chuyên thu thập, lưu trữ và phân phối các vi sinh vật tham chiếu tiêu chuẩn, các dòng tế bào và các vật liệu sinh học khác phục vụ cho nghiên cứu và phát triển.

Chủng chuẩn ATCC là những chủng vi sinh vật, tế bào hoặc vật liệu sinh học khác được ATCC lưu giữ và bảo quản trong điều kiện tối ưu để đảm bảo tính xác định, độ



tinh khiết và ổn định di truyền. Các chủng chuẩn này được sử dụng như điểm tham chiếu cho các nghiên cứu khoa học trong nhiều lĩnh vực khác nhau)

Tiêu chuẩn nhận vào:

- Dành cho phương pháp định danh:

+ Chọn các chủng vi khuẩn lâm sàng chiếm 80-90% tần suất xuất hiện trong Đơn vị Vi Sinh và các chủng ATCC (theo danh sách các chủng kiểm soát chất lượng thường quy của nhà sản xuất và ưu tiên các loài khác với chủng lâm sàng đã được chọn), bao gồm:

- Vi khuẩn Gram âm: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Morganella morganii* ATCC 25830, *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145.
- Vi khuẩn Gram dương: *Staphylococcus aureus*, *Coagulase negative staphylococcus* sp., *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* ATCC, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 700296.

+ Các chủng vi khuẩn lâm sàng đã được xác định bằng phương pháp định danh bằng bộ phản ứng sinh hoá theo qui trình đang áp dụng tại bệnh viện.

- Dành cho phương pháp kháng sinh đồ:

+ Chọn các chủng vi khuẩn có kết quả kháng sinh đồ thực hiện bằng phương pháp khuếch tán đĩa hoặc MIC (môi trường lỏng hoặc thạch) theo hướng dẫn của CLSI M100⁹ tại Đơn vị Vi sinh và các chủng ATCC (theo danh sách các chủng kiểm soát chất lượng thường quy của nhà sản xuất và ưu tiên các loài khác với chủng lâm sàng đã được chọn), bao gồm:

- Vi khuẩn Gram âm: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145.
- Vi khuẩn Gram dương: *Staphylococcus aureus*, *Coagulase negative staphylococcus* sp., *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* ATCC, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

+ Các chủng vi khuẩn lâm sàng đã được xác định kháng sinh đồ bằng phương pháp khuếch tán trên thạch theo qui trình đang áp dụng tại bệnh viện.

Tiêu chuẩn loại trừ:

- + Chủng không thuần trên đĩa cấy phân lập.
- + Chủng mọc yếu trên đĩa cấy phân lập.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang

Cỡ mẫu: cỡ mẫu tối thiểu theo hướng dẫn của CLSI⁹

- + PP định danh: 33 chủng (3 chủng ATCC và 30 chủng bệnh nhân)
- + PP Kháng sinh đồ: 33 chủng (2 chủng ATCC và 31 chủng bệnh nhân)

Phương pháp chọn mẫu: chọn mẫu thuận tiện cho đến khi đủ cỡ mẫu tối thiểu.

- + Mỗi khay định danh: chọn 30 chủng vi khuẩn lâm sàng được phân lập từ nhiều loại mẫu và 3 chủng ATCC đáp ứng tiêu chuẩn chọn vào và loại ra
- + Mỗi khay kháng sinh đồ: chọn 31 chủng vi khuẩn lâm sàng được phân lập từ nhiều loại mẫu và 2 chủng ATCC đáp ứng tiêu chuẩn chọn vào và loại ra.

Thời gian thu chủng trong vòng 1 tháng theo kế hoạch nghiên cứu là khả thi với lượng mẫu tại bệnh viện, đảm bảo chủng sử dụng là chủng mới. Chủng được lưu tại -80°C theo quy trình lưu chủng tại Khoa Xét nghiệm, thời gian lưu trữ ngắn (<1 tháng) nhằm đảm bảo các chủng sử dụng là chủng mới, vẫn giữ các đặc tính sinh học ban đầu.

Bảng 1. Các biến số trong nghiên cứu

STT	Tên biến số	Phân loại	Cách xác định	Giá trị
1	Kết quả xét nghiệm định danh vi khuẩn bằng hệ thống Sentitire Aris HiQ	Định tính	Ghi nhận kết quả xét nghiệm được.	-Xác định (ghi rõ tên) - Không xác định
2	Kết quả xét nghiệm định danh vi khuẩn bằng bộ sinh phẩm đang sử dụng	Định tính	Ghi nhận kết quả xét nghiệm được.	-Xác định (ghi rõ tên) -Không xác định
3	Kết quả xét nghiệm kháng sinh đồ vi khuẩn bằng hệ thống Sentitire Aris HiQ	Định tính	Ghi nhận kết quả xét nghiệm được.	-Nhạy (S) -Trung gian (I) -Kháng (R) -Không xác định
4	Kết quả xét nghiệm kháng sinh đồ vi khuẩn bằng phương pháp khuếch tán đĩa và hoặc MIC (lỏng/thạch)	Định tính	Ghi nhận kết quả xét nghiệm được.	-Nhạy (S) -Trung gian (I) -Kháng (R) -Không xác định

Các kỹ thuật và sinh phẩm sử dụng trong nghiên cứu

1. Kỹ thuật định danh

Xét nghiệm định danh vi khuẩn bằng hệ thống Sentitire Aris HIQ (hãng Thermo Fisher Scientific, Mỹ): các thử nghiệm mô phỏng các thử nghiệm sinh hóa cổ điển được biến đổi để có thể đọc được bằng tín hiệu huỳnh quang. Quy trình tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Xét nghiệm định danh vi khuẩn bằng bộ sinh phẩm định danh (phương pháp hiện hành tại bệnh viện): sử dụng bộ kit IDS 14 GNR và các phản ứng sinh hoá thường quy

(hãng Nam Khoa Biotek, Việt Nam). Quy trình tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2. Kỹ thuật kháng sinh đồ

Xét nghiệm kháng sinh đồ vi khuẩn bằng hệ thống Sentitire Aris HIQ (hãng Thermo Fisher Scientific, Mỹ): các thử nghiệm mô phỏng các thử nghiệm sinh hóa cổ điển được biến đổi để có thể đọc được bằng tín hiệu huỳnh quang. Quy trình tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Xét nghiệm kháng sinh đồ vi khuẩn bằng phương pháp tham chiếu của CLSI: sử dụng phương pháp khuếch tán đĩa hoặc MIC trong môi trường lỏng hoặc thạch với các hoá chất sinh phẩm từ hãng Nam Khoa Biotek, Việt Nam (phương pháp hiện hành tại bệnh viện). Quy trình tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được nhập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019. Số liệu Phương pháp thống kê mô tả được sử dụng để tính toán cho từng biến số. Kết quả được trình bày dưới dạng tần số và tỉ lệ phần trăm.

Đối với nội dung nghiên cứu (1):

- Độ tương đồng (%) là khả năng định danh giống nhau về chủng vi sinh vật cần thử nghiệm của một hệ thống định danh mới so với phương pháp hiện hành. Kết quả được xác nhận khi độ tương đồng là $\geq 90\%$.

Công thức tính:

$$\frac{\text{Số lượng chủng có kết quả định danh giống nhau giữa 2 phương pháp}}{\text{Tổng số chủng thử nghiệm độ tương đồng}} \times 100$$

- Độ tái lập (%) là mức độ thống nhất giữa các kết quả của thử nghiệm định danh liên tiếp của cùng mẫu thử trên hệ thống tự động đang khảo sát. Kết quả được xác nhận khi hệ thống tự động đang khảo sát đạt độ lặp $\geq 95\%$, chứng tỏ hệ thống có tính chính xác cao.

Công thức tính:

$$\frac{\text{Số lượng chủng có kết quả định danh giống nhau giữa các lần lặp lại}}{\text{Tổng số chủng thử nghiệm độ lặp}} \times 100$$

Đối với nội dung nghiên cứu (2):

- Độ chính xác (%) là mức độ đồng thuận về kết quả kháng sinh đồ giữa hệ thống đánh giá (Sensititre ARIS HiQ) với phương pháp tham chiếu, được đánh giá bởi các thông số:
 - Đồng thuận loại (Category agreement - CA): mức độ đồng thuận về kết quả phiên giải nhạy (S) – trung gian (I) – kháng (R) giữa hệ thống đánh giá (Sensititre ARIS HiQ) và phương pháp tham chiếu. Kết quả được xác nhận khi: $CA \geq 90\%$

- Lỗi nghiêm trọng (Very major error - VME): khi kết quả phương pháp tham chiếu là nhạy cảm, kết quả của hệ thống đánh giá (Sensititre ARIS HiQ) là đề kháng. Kết quả được xác nhận khi: ≤ 1 lỗi VME / kháng sinh thử nghiệm.
- Lỗi lớn (Major error - ME): khi kết quả phương pháp tham chiếu là đề kháng, kết quả của hệ thống đánh giá (Sensititre ARIS HiQ) là nhạy cảm. Kết quả được xác nhận khi: ≤ 1 lỗi ME / kháng sinh thử nghiệm.
- Lỗi nhỏ (minor error – mE): khi kết quả phương pháp tham chiếu và hệ thống đánh giá (Sensititre ARIS HiQ) khác biệt nhau giữa nhạy cảm (S) và trung gian (I); trung gian (I) và đề kháng (R) hoặc ngược lại. Kết quả được ghi nhận lại.
Công thức tính:

Đồng thuận loại (CA) =

$$\frac{\text{Số lượng chủng có kết quả kháng sinh đồ (S,I,R) giống nhau giữa 2 phương pháp}}{\text{Tổng số chủng thử nghiệm độ tương đồng}} \times 100$$

- Độ tái lập (%) là mức độ thống nhất giữa các kết quả của các thử nghiệm kháng sinh đồ liên tiếp của cùng mẫu thử trên hệ thống tự động đang khảo sát. Các kết quả MIC chênh lệch 1 nồng độ pha loãng (đối với vi khuẩn) được xem là kết quả tương đồng.

Kết quả được xác nhận khi:

Độ lặp $\geq 95\%$ trong khoảng ± 1 lần pha loãng.

Đối với chủng ATCC QC, thực hiện với mỗi lần xác nhận phương pháp (95%, VD: 19/20) phải trong khoảng ± 1 lần pha loãng và trong vùng chấp nhận QC (CLSI M100⁹).

Công thức tính:

$$\frac{\text{Số lượng chủng có kết quả kháng sinh đồ giống nhau giữa các lần lặp lại}}{\text{Tổng số chủng được thử nghiệm độ lặp}} \times 100$$

Lưu ý: hai nhóm thử nghiệm đánh giá độ tương đồng và độ tái lập cho xét nghiệm kháng sinh đồ được thực hiện cho từng loại kháng sinh.

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

Trong thời gian nghiên cứu, chúng tôi đã tiến hành thu thập 33 chủng vi khuẩn Gram âm và Gram dương đạt tiêu chuẩn chọn vào và thực hiện định danh trên hệ thống Sensititre ARIS HiQ và phương pháp hiện tại.

**1. Xác định độ tương đồng, độ tái lập của hệ thống định danh vi khuẩn tự động Sensititre Aris HiQ
 Gram dương (GPID):**

33 chủng vi khuẩn Gram dương được thu thập để thử nghiệm độ tương đồng định danh, cụ thể như sau: 16 chủng *Staphylococcus aureus*, 7 chủng *Coagulase negative staphylococcus sp.* (CoNS), 3 chủng *Enterococcus faecium*, 1 chủng *Streptococcus pneumoniae*, 3 chủng *Enterococcus faecalis*, 1 chủng *Staphylococcus epidermidis*, 1 chủng *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, 1 chủng *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, 1 chủng *Staphylococcus epidermidis* ATCC 700296. Về thử nghiệm độ tái lập, 6 chủng được chọn bao gồm: 1 chủng *Enterococcus faecium*, 1 chủng *Staphylococcus epidermidis*, 1 chủng *Staphylococcus aureus*, 1 chủng *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, 1 chủng *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 và 1 chủng *Streptococcus epidermidis* ATCC 700296.

Kết quả đánh giá về độ tương đồng và độ tái lập và các thông số liên quan đều đạt tiêu chí (bảng 2, 3), không ghi nhận trường hợp nào có sự khác biệt về định danh. Hệ thống Sensititre ARIS HiQ sử dụng nhiều phản ứng sinh hoá hơn, định danh chính xác hơn phương pháp so sánh, vì vậy 7 chủng CoNS lựa chọn cho kết quả định danh đến loài vi khuẩn, cụ thể là: *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, và các loài kể trên cùng thuộc nhóm *Coagulase negative staphylococcus sp.* Do đó, kết quả định danh 7 trường hợp kể trên vẫn đáp ứng được độ tương đồng giữa 2 phương pháp.

Bảng 2: Kết quả về độ tương đồng của 2 phương pháp cho thử nghiệm định danh vi khuẩn Gram dương (GPID)

STT chủng thử nghiệm	Ngày thực hiện	Kết quả định danh theo phương pháp hiện tại	Kết quả định danh theo hệ thống Sensititre
1	29/07	<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	<i>S. hominis</i>
2		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
3		<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
4	31/07	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>
5		<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
6		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
7	02/08	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
8		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
9		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
10	05/08	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
11		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
12		<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	<i>S. hominis</i>

13	06/08	<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	<i>S. haemolyticus</i>
14		<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	<i>S. haemolyticus</i>
15		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
16	08/08	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
17		<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	<i>S. haemolyticus</i>
18		<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	<i>S. haemolyticus</i>
19	12/08	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
20		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
21		<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	<i>S. epidermidis</i>
22	14/08	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
23		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
24		<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
25	16/08	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
26		<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>
27		<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
28	20/08	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
29		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
30		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
31	22/08	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
32		<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
33		<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>

Bảng 3: Kết quả về độ tái lập của hệ thống ARIS HiQ cho thử nghiệm định danh vi khuẩn Gram dương (GPID)

STT chủng thử nghiệm	Ngày thực hiện	Lần thực hiện	Kết quả theo hệ thống Sensititre	Kết quả theo phương pháp hiện tại
1	16/08	Lần 1	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
2			<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>
3			<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
4			<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. faecalis</i>
5			<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>S. aureus</i>
6			<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>S. epidermidis</i>
1	20/08	Lần 2	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
2			<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>
3			<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>

4			<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. faecalis</i>
5			<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>S. aureus</i>
6			<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>S. epidermidis</i>
1	22/08	Lần 3	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
2			<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>
3			<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
4			<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. faecalis</i>
5			<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>S. aureus</i>
6			<i>S. epidermidis</i> ATCC 700296	<i>S. epidermidis</i>

Gram âm (GNID)

33 chủng vi khuẩn Gram âm được thu thập để thử nghiệm độ tương đồng định danh, cụ thể như sau: 10 chủng *Klebsiella pneumoniae*, 8 chủng *Escherichia coli*, 6 chủng *Acinetobacter baumannii*, 5 chủng *Pseudomonas aeruginosa*, 2 chủng *Proteus mirabilis*, , 1 chủng *Morganella morganii* ATCC 25830, 1 chủng *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724, 1 chủng *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145. Về thử nghiệm độ tái lập, 6 chủng được chọn bao gồm: 1 chủng *Klebsiella pneumoniae*, 1 chủng *Escherichia coli*, 1 chủng *Pseudomonas aeruginosa*, 1 chủng *Morganella morganii* ATCC 25830, 1 chủng *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724 và 1 chủng *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145.

Kết quả định danh cho thấy độ tương đồng và độ tái lập đều đạt 100%; các thông số liên quan đều đạt tiêu chí (bảng 4, 5).

Bảng 4: Kết quả về độ tương đồng của 2 phương pháp cho thử nghiệm định danh vi khuẩn Gram âm (GNID)

STT chủng thử nghiệm	Ngày thực hiện	Kết quả định danh theo phương pháp hiện tại	Kết quả định danh theo hệ thống Sensititre
1	30/07	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>
2		<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>
3		<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
4	01/08	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
5		<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
6		<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
7	05/08	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
8		<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
9		<i>M. morganii</i>	<i>M. morganii</i>
10	06/08	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
11		<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
12		<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
13	07/08	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>

14		<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
15		<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
16	09/08	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. mirabilis</i>
17		<i>P. mirabilis</i>	<i>P. mirabilis</i>
18		<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
19	13/08	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
20		<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
21		<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
22	15/08	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
23		<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
24		<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
25	19/08	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
26		<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
27		<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
28	21/08	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
29		<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
30		<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
31	23/08	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
32		<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
33		<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>

A. baumannii: *Acinetobacter baumannii*; *E. coli*: *Escherichia coli*; *K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*; *M. morganii*: *Morganella morganii*; *P. mirabilis*: *Proteus mirabilis*

Bảng 5: Kết quả về độ tái lập của hệ thống ARIS HiQ cho thử nghiệm định danh vi khuẩn Gram âm (GNID)

STT chủng thử nghiệm	Ngày thực hiện	Lần thực hiện	Kết quả theo hệ thống Sensititre	Kết quả theo phương pháp hiện tại
1	19/08	Lần 1	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
2			<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
3			<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
4			<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	<i>P. aeruginosa</i>
5			<i>K. oxytoca</i> ATCC 8724	<i>K. oxytoca</i>
6			<i>M. morganii</i> ATCC 25830	<i>M. morganii</i>
1	21/08	Lần 2	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
2			<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
3			<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
4			<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	<i>P. aeruginosa</i>

5			<i>K. oxytoca</i> ATCC 8724	<i>K. oxytoca</i>
6			<i>M. morgani</i> ATCC 25830	<i>M. morgani</i>
1	23/08	Lần 3	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
2			<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
3			<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
4			<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	<i>P. aeruginosa</i>
5			<i>K. oxytoca</i> ATCC 8724	<i>K. oxytoca</i>
6			<i>M. morgani</i> ATCC 25830	<i>M. morgani</i>

2. Xác định độ tương đồng, độ tái lập của hệ thống thực hiện kháng sinh đồ tự động Sentitre Aris HiQ

Gram dương (GPALLIF)

33 chủng vi khuẩn Gram dương được thu thập thử nghiệm kháng sinh đồ cụ thể: 16 chủng *Staphylococcus aureus*, 8 chủng *Coagulase negative staphylococcus* sp. (CoNS), 1 chủng *Staphylococcus epidermidis*, 3 chủng *Enterococcus faecium*, 3 chủng *Enterococcus faecalis*, 1 chủng *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, 1 chủng *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Về thử nghiệm độ tái lập, 5 chủng được chọn bao gồm: 1 chủng *Staphylococcus aureus*, 1 chủng *Staphylococcus epidermidis*, 1 chủng *Enterococcus faecium*, 1 chủng *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, 1 chủng *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Trong 15 kháng sinh được thử nghiệm với 33 chủng vi khuẩn Gram dương, có một vài kháng sinh không có ngưỡng phân giải theo CLSI cho chủng vi khuẩn thử nghiệm nên tổng số chủng được thực hiện sẽ dao động từ 30 - 33 chủng (bảng 6).

Kết quả về độ tương đồng từng loại kháng sinh đều đạt trong các chỉ tiêu đánh giá, cụ thể đồng thuận loại đạt 97.8% (404/413) (94-100% với mỗi kháng sinh thử nghiệm); có 0.7% lỗi ME (3/413) (≤ 1 lỗi ME với mỗi kháng sinh thử nghiệm); 1.5% lỗi mE (6/413) (0-6% với mỗi kháng sinh thử nghiệm), không ghi nhận lỗi VME (bảng 6). Các trường hợp lỗi ME là khi kết quả máy Sensititre là đề kháng so với kết quả phương pháp so sánh (đã kiểm tra lặp lại) là nhạy cảm, bao gồm 1 trường hợp kháng sinh Rifampin của chủng *E. faecalis* phân lập từ nước tiểu của bệnh nhân, 1 trường hợp khác kháng sinh Penicillin của chủng *E. faecalis* từ nước tiểu, 1 trường hợp kháng sinh Trimethoprim/Sulfamethoxazol của chủng *S. aureus* từ đàm. Các trường hợp lỗi mE là khi kết quả máy Sensititre là nhạy cảm so với kết quả phương pháp so sánh (đã kiểm tra lặp lại) là trung gian, hoặc ngược lại. Các trường hợp lỗi mE bao gồm 2 trường hợp kháng sinh Chloramphenicol cho chủng *S. aureus* phân lập từ catheter và máu của bệnh nhân, 1 trường hợp kháng sinh Ciprofloxacin cho chủng *E. faecalis* từ nước tiểu, 1 trường hợp kháng sinh Erythromycin cho chủng *S. epidermidis* từ catheter, 1 trường hợp kháng sinh Trimethoprim/Sulfamethoxazol của chủng *S. aureus* từ đàm bệnh nhân (bảng 6). Độ lặp lại các kháng sinh cho 5 chủng thử nghiệm đều đạt 100% (bảng 7).

Bảng 6: Kết quả về độ tương đồng của thử nghiệm kháng sinh đồ Gram dương GPALL1F trên từng loại kháng sinh

STT	Kháng sinh	Số lượng chủng phân tích	Số lượng chủng tương đồng	Số lượng ME	Số lượng mE	Chủng khác biệt
1	Chloramphenicol	33	31	0	2	<i>S.aureus</i>
2	Ciprofloxacin	33	32	0	1	<i>E.faecalis</i>
3	Clindamycin	33	33	0	0	-
4	Erythromycin	33	32	0	1	SCN
5	Gentamicin	33	33	0	0	-
6	Levofloxacin	31	31	0	0	-
7	Linezolid	32	32	0	0	-
8	Oxacillin	30	30	0	0	-
9	Penicillin	31	30	1	0	<i>E.faecalis</i>
10	Rifampin	31	29	1	1	<i>E.faecalis</i>
11	Tetracycline	31	31	0	0	-
12	TMP/SMZ	31	29	1	1	<i>S.aureus</i>
13	Vancomycin	31	31	0	0	-
Tổng		413	404	3	6	-

Bảng 7: Kết quả tổng kết xác nhận giá trị sử dụng hệ thống Sensitire ARIS HiQ kháng sinh đồ Gram dương

Chỉ tiêu	Kết quả chấp nhận (lý thuyết)	Kết quả thực tế
Lỗi hệ thống	Không có	Không có
Kết quả QC	Đạt	Đạt
Các Sinh phẩm, hóa chất, vật tư được sử dụng chính	Đạt	Đạt
	CA	≥90%
		97.8%



Độ tương đồng	ME/VME	≤ 1 lỗi / kháng sinh thử nghiệm	≤ 1 lỗi / kháng sinh thử nghiệm
	mE	Ghi nhận	1.5%
Độ tái lập		≥ 95%	100%

Gram âm (THAN1F)

33 chủng vi khuẩn Gram âm được thu thập thử nghiệm kháng sinh đồ cụ thể: 9 chủng *Klebsiella pneumoniae*, 8 chủng *Escherichia coli*, 6 chủng *Pseudomonas aeruginosa*, 5 chủng *Acinetobacter baumannii*, 3 chủng *Proteus mirabilis*, 1 chủng *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, 1 chủng *Escherichia coli* ATCC 25922. Về thử nghiệm độ tái lập, 5 chủng được chọn bao gồm: 1 chủng *Escherichia coli*, 1 chủng *Klebsiella pneumoniae*, 1 chủng *Pseudomonas aeruginosa*, 1 chủng *Escherichia coli* ATCC 25922, 1 chủng *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Trong 19 kháng sinh được thử nghiệm với 33 chủng vi khuẩn Gram âm, có một vài kháng sinh không có ngưỡng phiên giải theo CLSI cho chủng vi khuẩn thử nghiệm nên tổng số chủng được thực hiện sẽ dao động từ 30 - 33 chủng (bảng 8).

Kết quả về độ tương đồng từng loại kháng sinh đều đạt trong các chỉ tiêu đánh giá, cụ thể đồng thuận loại đạt 98.5% (605/614) (94-100% với mỗi kháng sinh thử nghiệm); có 0.5% lỗi ME (3/614) (≤ 1 lỗi ME với mỗi kháng sinh thử nghiệm); 1% lỗi mE (6/614) (0-6% với mỗi kháng sinh thử nghiệm), không ghi nhận lỗi VME (bảng 8). Các trường hợp lỗi ME bao gồm 1 trường hợp kháng sinh Cefepime của chủng *E. coli* từ mẫu máu, 2 trường hợp kháng sinh Gentamicin và Netilmicin của cùng 1 chủng *K. pneumoniae* phân lập từ dịch não tủy. Các trường hợp lỗi mE bao gồm 1 trường hợp kháng sinh Amoxicillin/Clavulanic acid cho chủng *E. coli* từ mẫu mũi, 3 trường hợp kháng sinh Ciprofloxacin, Ceftazidime và Levofloxacin cho cùng 1 chủng *P. mirabilis* từ mẫu mũi, 1 trường hợp kháng sinh Imipenem cho chủng *P. aeruginosa* từ mẫu đàm, 1 trường hợp kháng sinh Neltimicin của chủng *A. baumannii* từ đàm bệnh nhân (bảng 8). Độ lặp lại các kháng sinh cho 5 chủng thử nghiệm đều đạt 100% (bảng 9).

Bảng 8: Kết quả về độ tương đồng về kháng sinh đồ Gram âm THAN1F trên từng loại kháng sinh

STT	Kháng sinh	Số lượng chủng phân tích	Số lượng chủng tương đồng	Số lượng ME	Số lượng mE	Chủng khác biệt
1	Amikacin	33	33	0	0	-
2	Amoxicillin/ Clavulanic acid	32	31	0	1	<i>E. coli</i>
3	Ampicillin	33	33	0	0	-
4	Cefepime	30	29	1	0	<i>E. coli</i>

5	Cefotaxime	33	33	0	0	-
6	Cefoxitin	32	32	0	0	-
7	Ceftazidime	33	32	0	1	<i>P. mirabilis</i>
8	Ceftriaxone	33	33	0	0	-
9	Cefuroxime	33	33	0	0	-
10	Ciprofloxacin	32	31	0	1	<i>P. mirabilis</i>
11	Doripenem	32	32	0	0	-
12	Ertapenem	32	32	0	0	-
13	Gentamicin	33	32	1	0	<i>K. pneumoniae</i>
14	Imipenem	32	31	0	1	<i>P. aeruginosa</i>
15	Levofloxacin	32	31	0	1	<i>P. mirabilis</i>
16	Meropenem	33	33	0	0	-
17	Netilmicin	33	31	1	1	<i>K. pneumoniae</i> <i>A. baumannii</i>
18	Piperacillin/ Tazobactam	30	30	0	0	-
19	Trimethoprim/ Sulfamethoxazon	33	33	0	0	-
Tổng		614	605	3	6	-

**Bảng 9: Kết quả tổng kết xác nhận giá trị sử dụng hệ thống Sensitire ARIS
 HiQ kháng sinh đồ Gram âm**

Chỉ tiêu	Kết quả chấp nhận (lý thuyết)	Kết quả thực tế
Lỗi hệ thống	Không có	Không có
Kết quả QC	Đạt	Đạt
Các Sinh phẩm, hóa chất, vật tư được sử dụng chính	Đạt	Đạt
Độ tương đồng	CA	≥90%
	ME/VME	≤ 1 lỗi / kháng sinh thử nghiệm
	mE	Ghi nhận
Độ lặp lại	≥ 95%	100%

IV. BÀN LUẬN

1. Xác định độ tương đồng, độ tái lập của hệ thống định danh vi khuẩn tự động Sentitre Aris HiQ

Kết quả nghiên cứu cho thấy độ tương đồng và độ tái lập giữa phương pháp định danh bằng bộ kit sinh hóa thủ công (Nam Khoa Biotek, Việt Nam) đang áp dụng tại Đơn vị Vi sinh và hệ thống tự động đều đạt 100%. Điều này cho thấy hệ thống máy Sentitre đạt tiêu chuẩn định danh các vi khuẩn Gram dương và Gram âm thường gặp và có thể thay thế phương pháp định danh đang được áp dụng tại bệnh viện. Bên cạnh đó, hệ thống Sentitre Aris HiQ sử dụng nhiều phản ứng sinh hóa hơn bộ thủ công nên có khả năng phân biệt các loài vi khuẩn chính xác hơn, các chủng trong nhóm *Staphylococcus Coagulase Negative (SCN)* được xác định bằng phản ứng sinh hóa thủ công nay có thể định danh được tên loài bằng hệ thống tự động.

Việc xác định chính xác tên khoa học của vi khuẩn sẽ hỗ trợ tốt cho công tác điều trị bệnh nhân, giám sát tình hình dịch tễ và đề kháng được hiệu quả hơn, ngoài ra có thể nhận diện các tác nhân gây bệnh mới nổi nhằm có biện pháp ngăn chặn kịp thời, tránh bùng phát dịch. Thêm vào đó áp dụng hệ thống tự động vào quy trình định danh vi khuẩn thường quy sẽ tiết kiệm thời gian và nhân lực, khi thời gian trả kết quả định danh sớm nhất là 5 giờ, trung bình là 18 giờ, so với phương pháp thủ công thông thường có thời gian phân tích kết quả cố định sau 24 giờ. Điều này hữu ích trong tình hình mẫu nhiều, lâm sàng cần kết quả sớm để điều trị cho bệnh nhân, đặc biệt là những bệnh nhân nặng, mắc vi khuẩn đa kháng. Mặc dù trong nghiên cứu của chúng tôi các chủng thử nghiệm không đa dạng vì bị giới hạn bởi kết quả định danh của phương pháp thủ công hiện tại đang áp dụng tại bệnh viện, tuy nhiên vẫn đáp ứng được mục tiêu đánh giá khả năng áp dụng của một hệ thống định danh vi sinh theo khuyến cáo của CLSI M52.

2. Xác định độ tương đồng, độ tái lập của hệ thống kháng sinh độ tự động Sentitre Aris HiQ

Kết quả nghiên cứu cho thấy độ tương đồng và độ tái lập của hệ thống KSD tự động đều đạt theo hướng dẫn của CLSI M52-ED⁹. Điều này cho thấy hệ thống KSD tự động có thể được áp dụng thay thế cho phương pháp KSD khuếch tán trên đĩa truyền thống đang thực hiện tại Đơn vị Vi sinh. Kết quả này tương đồng với một số nghiên cứu trên các hệ thống KSD tự động khác (bảng 10).

Bảng 10. So sánh kết quả độ tương đồng với một số nghiên cứu khác

Nghiên cứu	Cỡ mẫu	Đối tượng so sánh	Kết quả cho vi khuẩn Gram âm	Kết quả cho vi khuẩn Gram dương
Chapin KC và	231 vi khuẩn Gram âm và	Hệ thống máy Sentitre và	Đồng thuận đạt 95.8%, 1.3% mE,	Đồng thuận đạt 93.5% , 0.9% mE,

cộng sự (2003) ¹³	95 vi khuẩn Gram dương	hệ thống Walkaway-96	0.4% VME, không ghi nhận ME.	0.6% ME, 0.4% VME.
Chapin KC và cộng sự (2004) ⁶	122 vi khuẩn Gram âm và 90 vi khuẩn Gram dương	Hệ thống máy Sensititre và phương pháp thủ công	Đồng thuận đạt 99.5% , 0.1% mE, 1% VME, không ghi nhận ME.	Đồng thuận đạt 99.4%, 0.2% mE, 1.1% VME, không ghi nhận ME.
Nghiên cứu này (2024)	33 vi khuẩn Gram âm và 33 vi khuẩn Gram dương	Hệ thống máy Sensititre và phương pháp thủ công	Đồng thuận đạt 98.5% , 1% mE, 0.5% ME, không ghi nhận VME.	Đồng thuận đạt 97.8% , 1.6% mE, 0.7% ME, không ghi nhận VME.

Với các vi khuẩn Gram dương, lỗi ME ghi nhận được ở chủng *Enterococcus faecalis* với kháng sinh penicillin, rifampin và điều này cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Chapin KC¹³. Trong đó penicillin là kháng sinh thử nghiệm đại diện cho giống *Enterococcus* sp¹² và thuộc nhóm kháng sinh ưu tiên trả kết quả thường quy (Tier 1) theo khuyến cáo của CLSI, theo đó các chủng không tiết men β -lactamase và nhạy với penicillin có thể phiên giải kết quả nhạy cảm với các kháng sinh: ampicillin, amoxicillin, ampicillin-sulbactam, amoxicillin-clavulanate và piperacillin-tazobactam mà không cần thử nghiệm các kháng sinh kể trên¹². Các lỗi trên đã được báo cáo ở nghiên cứu tương tự¹⁵, kết quả nghiên cứu trên cho thấy hệ thống máy tự động Vitek trả kết quả MIC penicillin cao hơn 2 bậc so với phương pháp vi pha loãng với chủng *Enterococcus* sp. Với phương pháp khuếch tán trên đĩa các kháng sinh họ β -lactam thử nghiệm cho *Enterococcus* sp. đường kính vòng vô khuẩn thường không có bờ rõ ràng, có vùng mờ (fuzzy zone edge) hoặc xuất hiện các khúm khuẩn nhỏ li ti điều này có thể ảnh hưởng đến cách đọc và phiên giải kết quả kháng sinh đồ^{12,16}. Do đó chưa thể kết luận được phương pháp thử nghiệm nào chính xác hơn trong cho trường hợp này, cần thử nghiệm trên nhiều chủng hơn và so sánh với phương pháp tiêu chuẩn vàng là vi pha loãng.

Ngoài ra còn ghi nhận các trường hợp lỗi ME giữa *S.aureus* với kháng sinh TMP-SMZ. Nghiên cứu của tác giả Ghada N. Al-Rawahi (2019) đã ghi nhận lỗi VME và ME > 3% ở hệ thống kháng sinh đồ tự động BD Phoenix và phương pháp tham chiếu (khuếch tán đĩa) ở chủng *S.aureus* với kháng sinh TMP-SMZ, sau đó họ đã tiếp tục giám sát thử nghiệm song song cả 2 phương pháp cho kháng sinh TMP-SMZ cho 642 chủng *S.aureus* trong 3 tháng tiếp theo, kết quả cho thấy đồng thuận loại đạt 91.9% với 50 (7.9%) lỗi ME và 2 (0.3%) lỗi mE; đặc biệt cao ở các chủng MRSA hơn chủng MSSA¹⁷, kết quả lỗi tương tự cũng ghi nhận ở các nghiên cứu khác¹⁸⁻²¹. Các bằng chứng trên đã cho thấy rằng cần thiết giám sát thêm kết quả thử nghiệm kháng sinh TMP-SMZ ở các chủng *S.aureus* phân lập lâm sàng trên hệ thống máy tự động

Sensititre và phương pháp khuếch tán đĩa, từ đó có biện pháp bổ sung kết quả thử nghiệm khuếch tán đĩa nếu cần thiết.

Đối với trực khuẩn Gram âm, ghi nhận các trường hợp lỗi mE và ME không tập trung ở loài vi khuẩn, loại mẫu nào và xảy ra ở rải rác các ngày. Nguyên nhân của sự khác biệt này có thể do sự khác biệt giữa nồng độ kháng sinh được sử dụng giữa hai phương pháp, phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch với nồng độ kháng sinh cố định và xác định tính nhạy kháng thuốc qua đường kính vòng vô khuẩn, trong khi đó với hệ thống tự động Sensititre ARIS HiQ các kháng sinh được pha loãng theo dải nồng độ và xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), do đó có thể dẫn đến một số chênh lệch khi phân giải kết quả. Nghiên cứu của tác giả Giorgia Palladini và cộng sự đã tiến hành kiểm tra độ tương đồng giữa hai phương pháp KSD trên một số loại kháng sinh thường dùng, và cho thấy độ tương đồng giữa hai phương pháp là 80,7%¹⁴.

Với việc sử dụng hệ thống định danh và thực hiện kháng sinh đồ tự động vào quy trình trả kết quả vi sinh thường quy, sẽ tăng độ chính xác, độ tái tạo của kết quả, quy trình thực hiện trơn tru, giảm thiểu sự không chắc chắn trong việc giải thích kết quả từ các phương pháp thủ công và những sai sót cá nhân, thời gian xử lý mẫu cũng được rút ngắn đáng kể²². Khi đánh giá chi phí nguyên vật liệu cơ bản, sử dụng hệ thống tự động sẽ tiêu tốn chi phí nhiều hơn phương pháp thủ công; tuy nhiên khi tính toán chi phí tác động, các báo cáo đã cho thấy rằng việc áp dụng hệ thống tự động vào thực hành tại bệnh viện đã cho thấy giảm chi phí điều trị, giảm thời gian nằm viện và giảm tỉ lệ tử vong do các bệnh nhiễm trùng đáng kể^{23,24}. Cụ thể với nghiên cứu của tác giả Doern và cộng sự, ước tính tổng chi phí tiết kiệm lên đến \$2 triệu mỗi năm cho bệnh viện ở nhóm được trả kết quả trên hệ thống tự động²⁴. Thêm vào đó, áp dụng hệ thống tự động sẽ tạo thuận lợi cho việc thống kê báo cáo kết quả định danh và kháng sinh đồ tích lũy chính xác và kịp thời, sẽ tiếp tục cải thiện kết quả điều trị cho bệnh nhân²³.

Hạn chế trong nghiên cứu của chúng tôi là cỡ mẫu nhỏ, thời gian thực hiện ngắn, chỉ tập trung thử nghiệm các chủng vi khuẩn thường gặp tại bệnh viện do giới hạn về nhân lực, thời gian và chi phí thực hiện. Tuy nhiên với mục đích là bước đầu đánh giá khả năng định danh và thực hiện kháng sinh đồ cho vi khuẩn của hệ thống Sensititre ARIS HiQ, kết quả của nghiên cứu sẽ làm tiền đề hướng dẫn nhân viên trong khoa xét nghiệm tiếp tục theo dõi kiểm soát và đánh giá chất lượng, hiệu quả của hệ thống máy định kỳ về lâu dài. Thêm vào đó khi công bố, kết quả trong nghiên cứu sẽ là tư liệu tham khảo cho các phòng xét nghiệm tại Việt Nam đang sử dụng hệ thống xét nghiệm tương tự.

Tóm lại, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy Hệ thống Sensititre ARIS HiQ đạt các chỉ tiêu về độ đồng thuận và độ lặp về định danh và kháng sinh đồ cho các chủng Gram dương và Gram âm thường gặp, các lỗi ghi nhận trong giới hạn chấp nhận được theo tiêu chuẩn của CLSI M52 khi so sánh với phương pháp thủ công hiện hành đang áp dụng tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương. Hệ thống Sensititre ARIS HiQ được đánh giá là hoạt động tốt, là giải pháp hữu hiệu trong kỹ nguyên vi khuẩn đề kháng kháng sinh.

IV. KẾT LUẬN

Đây là nghiên cứu đầu tiên xác định được giá trị sử dụng của hệ thống định danh – KSD tự động Sensititre ARIS HiQ khi so sánh với phương pháp thủ công truyền thống đang áp dụng tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương. Kết quả cho thấy hệ thống Sensititre ARIS HiQ hoạt động hiệu quả, đáp ứng các yêu cầu về định danh và kháng sinh đồ các chủng vi khuẩn thường gặp, cũng như đủ điều kiện để áp dụng vào thực hành xét nghiệm vi sinh lâm sàng ở bệnh viện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

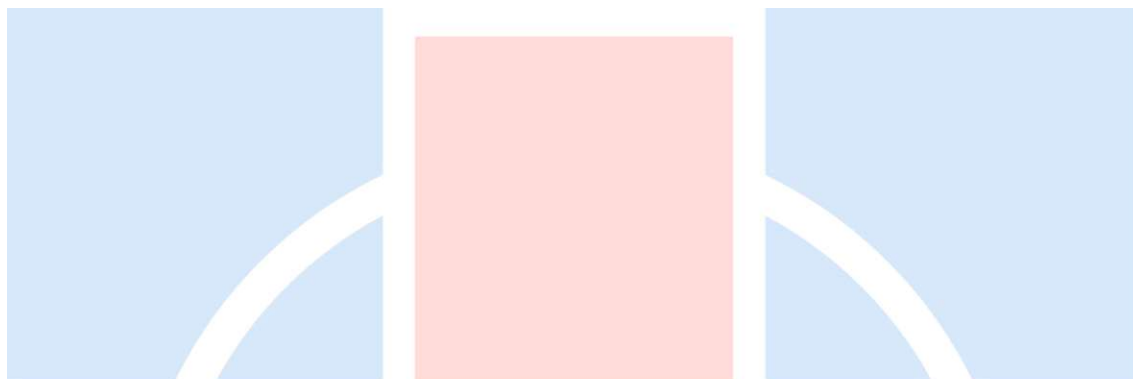
1. *World Health Organization*, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> *Antimicrobial resistance*, accessed 19/08/2024.
2. *Barenfanger, J., C. Drake, and G. Kacich*, *Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing*. *Journal of clinical microbiology*, 1999. 37(5): p. 1415-1418.
3. *Doern, G.V., R. Vautour, M. Gaudet, and B. Levy*, *Clinical impact of rapid in vitro susceptibility testing and bacterial identification*. *Journal of clinical microbiology*, 1994. 32(7): p. 1757-1762.
4. *Evangelista, A.T.*, *The clinical impact of automated susceptibility reporting using a computer interface*, in *Rapid Methods in Clinical Microbiology: Present Status and Future Trends*. 1989, Springer. p. 131-142.
5. *Evangelista, A.T. and J.A. Karlowsky*, *Automated and manual systems for antimicrobial susceptibility testing of bacteria*. *Manual of Commercial Methods in Clinical Microbiology: International Edition*, 2016: p. 414-432.
6. *Bộ Y Tế.*, *Quyết định số 2429/QĐ-BYT ngày 12 tháng 06 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học*.
7. *M52-ED1, C.*, *Verification of Commercial Microbial Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing Systems*, 1st Edition. 2015.
8. *El-Sayed Ahmed, M.A.E., et al.*, *Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000-2019)*. *Emerg Microbes Infect*, 2020. 9(1): p. 868-885.
9. *Heath, V., et al.*, *Staphylococcus capitis: Review of Its Role in Infections and Outbreaks*. *Antibiotics (Basel)*, 2023. 12(4).
10. *(CLSI), C.a.l.s.i.*, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 34th*, in *CLSI guideline M100*. 2024.
11. *Chapin, K.C. and M.C. Musgnug*, *Validation of the automated reading and incubation system with Sensititre plates for antimicrobial susceptibility testing*. *Journal of clinical microbiology*, 2003. 41(5): p. 1951-1956.

12. Palladini, G., et al., Comparison between broth microdilution and agar disk diffusion methods for antimicrobial susceptibility testing of bovine mastitis pathogens. *Journal of Microbiological Methods*, 2023. 212: p. 106796.
13. Tan YE, Ng LS, Tan TY. Evaluation of *Enterococcus faecalis* clinical isolates with 'penicillin-resistant, ampicillin-susceptible' phenotype as reported by Vitek-2 Compact system. *Pathology*. 2014 Oct;46(6):544-50. doi: 10.1097/PAT.000000000000146. PMID: 25158809.
14. Conceição N, Rodrigues WF, de Oliveira KLP, da Silva LEP, de Souza LRC, da de Cunha Hueb Barata Oliveira C, de Oliveira AG. Beta-lactams susceptibility testing of penicillin-resistant, ampicillin-susceptible *Enterococcus faecalis* isolates: a comparative assessment of Etest and disk diffusion methods against broth dilution. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2020 Sep 17;19(1):43. doi: 10.1186/s12941-020-00386-8. PMID: 32943051; PMCID: PMC7495893.
15. Al-Rawahi, G.N., et al., Performance of the BD Phoenix Automated Microbiology System for Trimethoprim-Sulfamethoxazole Susceptibility Testing of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2019. 58(1): p. 10.1128/jcm.00994-19.
16. Donay J-L, Mathieu D, Fernandes P, Prégermain C, Bruel P, Wargnier A, Casin I, Weill FX, Lagrange PH, Herrmann JL. 2004. Evaluation of the automated Phoenix system for potential routine use in the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 42:1542–1546.
17. Stefaniuk E, Baraniak A, Gniadkowski M, Hryniewicz W. 2003. Evaluation of the BD Phoenix automated identification and susceptibility testing system in clinical microbiology laboratory practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 22:479–485.
18. Carroll KC, Borek AP, Burger C, Glanz B, Bhally H, Henciak S, Flayhart DC. 2006. Evaluation of the BD Phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing of staphylococci and enterococci. *J Clin Microbiol* 44:2072–2077.
19. Fahr A-M, Eigner U, Armbrust M, Caganic A, Dettori G, Chezzi C, Bertoncini L, Benecchi M, Menozzi MG. 2003. Two-center collaborative evaluation of the performance of the BD Phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing of *Enterococcus* spp. and *Staphylococcus* spp. *J Clin Microbiol* 41:1135–1142.
20. Khan ZA, Siddiqui MF, Park S. Current and Emerging Methods of Antibiotic Susceptibility Testing. *Diagnostics (Basel)*. 2019 May 3;9(2):49. doi: 10.3390/diagnostics9020049. PMID: 31058811; PMCID: PMC6627445.
21. Barenfanger J, Drake C, Kacich G. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *J Clin Microbiol*. 1999 May;37(5):1415-8. doi: 10.1128/JCM.37.5.1415-1418.1999. PMID: 10203497; PMCID: PMC84789.



Bệnh viện Nguyễn Tri Phương
Năng động – Thân thiện – Phát triển

22. Doern GV, Vautour R, Gaudet M, Levy B. Clinical impact of rapid in vitro susceptibility testing and bacterial identification. *J Clin Microbiol.* 1994 Jul;32(7):1757-62. doi: 10.1128/jcm.32.7.1757-1762.1994. PMID: 7929770; PMCID: PMC263786.



NTTP



1 9 0 3