

điều trị tăng huyết áp tại Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế. Tạp chí Y Dược học – Trường Đại học Y Dược Huế, (32): 76-84.

8. **World Health Organization.** (2021). WHO Model List of Essential Medicines – 22nd list, 2021.
9. **World Health Organization.** (2021). Hypertension fact sheet, 2021.

ĐẶC ĐIỂM KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN ESCHERICHIA COLI MANG GEN MCR-1 PHÂN LẬP TRÊN NGƯỜI KHỎE MẠNH TẠI THÁI BÌNH

Khổng Thị Diệp¹, Phan Ngọc Quang¹,
Nguyễn Thị Hoa¹, Nguyễn Nam Thắng¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phát hiện vi khuẩn *Escherichia coli* mang gen *mcr-1* trong mẫu phân của người khỏe mạnh tại Thái Bình và phân tích đặc điểm kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn đã phân lập được. Nghiên cứu đã thu thập 612 mẫu phân người khỏe mạnh tại xã Nguyên Xá, Vũ Thư, Thái Bình trong thời gian từ 2013 đến 2016. Các mẫu phân được nuôi cấy trên môi trường MacConkey có bổ sung cefotaxime 1 mg/L. Với mỗi mẫu nuôi cấy, tiến hành phân lập 1 khuẩn lạc có kiểu hình là *E. coli*, định danh vi khuẩn bằng phương pháp sinh vật hóa học, đánh giá độ nhạy cảm kháng sinh với 14 loại kháng sinh và xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) với colistin theo hướng dẫn của CLSI. Gen kháng colistin *mcr-1* của các chủng vi khuẩn được xác định bằng kỹ thuật Real-time PCR. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ vi khuẩn *E. coli* mang gen *mcr-1* là 5,1%. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy: 100% các chủng *E. coli* mang gen *mcr-1* là các chủng kháng đa thuốc, trong đó có 96,8% không nhạy cảm với từ 5 đến 8 nhóm kháng sinh. Các kháng sinh thông dụng bị kháng với tỷ lệ cao từ 51,6 đến 100%, chỉ có ceftazidime, fosfomicin, ceftazidime và meropenem là có tỷ lệ kháng dưới 10%. Tất cả (100%) các chủng này đều kháng với colistin (MIC \geq 4 mg/L). Nghiên cứu cho thấy có sự lan truyền của vi khuẩn *E. coli* mang gen *mcr-1* kháng đa thuốc trong quần thể người khỏe mạnh tại Thái Bình. Do đó cần thực hiện các biện pháp can thiệp phù hợp nhằm ngăn chặn sự lây lan của vi khuẩn kháng đa thuốc trong cộng đồng.

Từ khóa: *E. coli*, kháng đa thuốc, kháng colistin, *mcr-1*.

SUMMARY

ANTIBIOTIC RESISTANT CHARACTERISTICS OF ESCHERICHIA COLI HARBORING MCR-1 STRAINS ISOLATED FROM HEALTHY RESIDENTS IN THAI BINH

The study was conducted in order to detect *Escherichia coli* harboring *mcr-1* in stool samples of

healthy residents in Thai Binh and analyse antibiotic resistant characteristics of these strains. A total of 612 stool samples were collected from healthy residents in Nguyen Xa, Vu Thu, Thai Binh during the period from 2013 to 2016. These stool samples were cultured on MacConkey agar supplemented with cefotaxime 1 mg/L. For each sample, one representative *E. coli*-like colony was isolated, identified by biochemical tests and evaluated for susceptibility to 14 antibiotics, then the minimum inhibitory concentration (MIC) with colistin was determined according to the CLSI guideline. The presence of *mcr-1* gene in *E. coli* were determined by Real-time PCR method. The result indicated that the prevalence of *E. coli* harboring *mcr-1* in healthy residents in Thai Binh was 5.1%. Result of susceptibility tests revealed that 100% of *E. coli* harboring *mcr-1* strains were multidrug resistant bacteria and 96.8% of them were non-susceptible to five to eight antibiotic classes. These strains were resistant to many common antibiotics with rates as high as 51.6 to 100%, but the resistance rates to ceftazidime, fosfomicin, ceftazidime and meropenem were quite low (<10%). All of these strains (100%) were resistant to colistin (MIC \geq 4 mg/L). The study showed that multidrug resistant *E. coli* harboring *mcr-1* was widely spread among healthy residents in Thai Binh. Therefore, appropriate interventions should be implemented to prevent the spread of multidrug-resistant bacteria in the community.

Keywords: *E. coli*, multidrug resistance, colistin-resistance, *mcr-1*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tình trạng vi khuẩn kháng kháng sinh đang ngày càng gia tăng và sự lan truyền các vi khuẩn kháng kháng sinh đang trở thành mối đe dọa lớn cho sức khỏe cộng đồng trên toàn thế giới. Colistin là một kháng sinh quan trọng trong điều trị các trực khuẩn Gram âm, đặc biệt là các vi khuẩn Gram âm kháng đa thuốc. Tuy nhiên hiện tượng vi khuẩn kháng colistin đang trở nên ngày càng phổ biến. Nguyên nhân gây ra hiện tượng vi khuẩn kháng colistin được cho là do tình trạng sử dụng colistin quá rộng rãi trong chăn nuôi gia súc, gia cầm [5]. Một số nghiên cứu gần đây đã phát hiện vi khuẩn *E. coli* mang gen kháng colistin *mcr-1* lưu hành khá phổ biến trên người

¹Trường Đại học Y Dược Thái Bình

Chịu trách nhiệm chính: Khổng Thị Diệp

Email: diepkhongtbmu@gmail.com

Ngày nhận bài: 6.10.2022

Ngày phản biện khoa học: 2.12.2022

Ngày duyệt bài: 12.12.2022

khỏe mạnh và vật nuôi [1],[3]. Điều này đang trở thành một vấn đề đáng lo ngại đối với cộng đồng vì nếu bị nhiễm các trực khuẩn đường ruột vừa mang gen kháng colistin vừa mang các gen kháng thuốc khác thì có thể không có kháng sinh hiệu quả để điều trị đối với người bệnh. Điều này hoàn toàn có thể xảy ra vì các gen kháng kháng sinh thường nằm trên plasmid và có thể lan truyền từ vi khuẩn này sang vi khuẩn khác thông qua một số yếu tố di truyền động như plasmid, transposon [2],[6],[7]. Tại Thái Bình đã có một số nghiên cứu về vi khuẩn kháng colistin ở vật nuôi và trong thực phẩm, tuy nhiên chưa có các nghiên cứu về vi khuẩn kháng colistin ở người khỏe mạnh trong cộng đồng. Do đó chúng tôi tiến hành thực hiện nghiên cứu này nhằm xác định tỷ lệ nhiễm *Escherichia coli* mang gen *mcr-1* ở các mẫu phân của người khỏe mạnh tại Thái Bình và phân tích đặc điểm kháng kháng sinh của các chủng *Escherichia coli* mang gen *mcr-1* phân lập được.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu. Là những người khỏe mạnh sinh sống tại xã Nguyên Xá, huyện Vũ Thư, tỉnh Thái Bình trong thời gian từ tháng 9 năm 2013 đến tháng 2 năm 2016. Các đối tượng nghiên cứu được thu thập mẫu phân và thực hiện các xét nghiệm vi sinh và sinh học phân tử tại Trung tâm Dịch vụ Khoa học kỹ thuật Y Dược, Trường Đại học Y Dược Thái Bình.

2.2. Thiết kế nghiên cứu. Được thiết kế theo phương pháp dịch tễ học mô tả dựa trên cuộc điều tra cắt ngang qua thu thập và phân tích mẫu phân người khỏe mạnh ở 1 xã nông thôn thuộc tỉnh Thái Bình.

2.3. Phương pháp tính cỡ mẫu và chọn mẫu
Tính cỡ mẫu. Cỡ mẫu được tính theo công thức:

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

Trong đó: n: cỡ mẫu nghiên cứu; $\alpha/2$: độ tin cậy lấy ở ngưỡng $\alpha = 0,05$ ($Z_{1-\alpha/2} = 1,96$); p: ước tính tỷ lệ người khỏe mạnh nhiễm *E. coli* mang gen *mcr-1* qua một nghiên cứu trước (p được chọn là 6%); d: Độ sai lệch mong muốn theo p, trong nghiên cứu này chúng tôi chọn $d = 0,02$. Với các dữ liệu trên, cỡ mẫu được tính toán là 542 mẫu. Thực tế chúng tôi đã thu thập mẫu phân của 612 người khỏe mạnh để thực hiện nghiên cứu.

Phương pháp chọn mẫu: Chọn ngẫu nhiên các hộ gia đình ở xã Nguyên Xá, huyện Vũ Thư, tỉnh Thái Bình và tiến hành lấy mẫu toàn bộ các thành viên sống trong các hộ gia đình đó.

2.4. Các kỹ thuật thực hiện trong nghiên cứu

Phân lập vi khuẩn *E. coli* từ mẫu phân.

Các mẫu phân được cấy trên môi trường thạch MacConkey có bổ sung cefotaxime (CTX) với nồng độ 1 mg/L và nuôi ở $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C} / 24 \pm 3\text{h}$. Mỗi mẫu phân tiến hành phân lập 1 khuẩn lạc điển hình của *E. coli* và định danh xác định *E. coli* dựa trên các tính chất sinh vật hóa học của vi khuẩn khi nuôi cấy trên 3 loại môi trường là TSI (Triple sugar/ iron agar), LIM (Lysine-Indole-Motility) và CLIG (Cellobiose - Lactose- Indole - β - d-Glucuronidase).

Xác định gen *mcr-1* kháng colistin. Sử dụng kỹ thuật Real-time PCR để phát hiện sự xuất hiện gen *mcr-1* kháng colistin của các chủng *E. coli*. Trình tự môi, thành phần phản ứng PCR, điều kiện phản ứng PCR tương tự như mô tả trong một nghiên cứu trước đây [1].

Đánh giá độ nhạy cảm kháng sinh và mức độ kháng đa thuốc. Độ nhạy cảm kháng sinh của các chủng *E. coli* mang *mcr-1* được đánh giá bằng phương pháp khoan giấy khuếch tán trên thạch. Canh khuẩn có độ đục tương đương với độ đục của dung dịch McFarland 0,5 được dàn đều trên đĩa thạch Mueller-Hinton và tiến hành thử nghiệm với 14 loại kháng sinh theo hướng dẫn của CLSI, bao gồm: ampicillin (AMP), cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), cefoxitin (FOX), meropenem (MEM), gentamycin (GEN), kanamycin (KAN), streptomycin (STR), ciprofloxacin (CIP), nalidixic acid (NAL), tetracycline (TET), chloramphenicol (CHL), trimethoprim/sulphamethoxazole (SXT) và fosfomycin (FOF). Mức độ kháng đa thuốc của các chủng vi khuẩn được đánh giá theo tiêu chuẩn của Magiorakos là các chủng không nhạy cảm với 3 nhóm kháng sinh trở lên [4].

Xác định nồng độ ức chế tối thiểu. Nồng độ ức chế tối thiểu của các chủng vi khuẩn mang gen *mcr-1* với colistin được xác định bằng kỹ thuật pha loãng colistin trên thạch (Colistin Agar Test - CAT) theo hướng dẫn của CLSI.

2.5. Xử lý kết quả nghiên cứu. Các kết quả nghiên cứu được xử lý và phân tích bằng phần mềm SPSS 22.0

2.6. Đạo đức trong nghiên cứu. Đề cương nghiên cứu của đề tài đã được chấp thuận bởi được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Trường Đại học Y Dược Thái Bình (chứng nhận số 773.1/HĐĐĐ ngày 19/9/2017).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

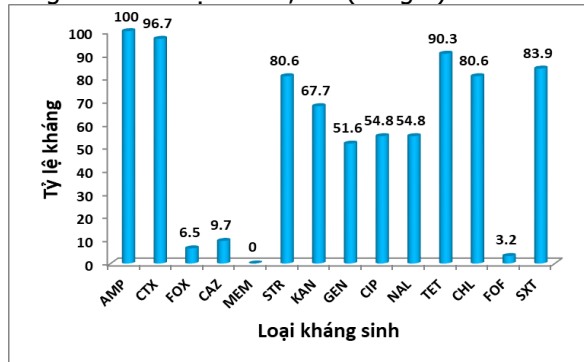
3.1. Phân lập *E. coli* kháng đa thuốc

mang gen mcr-1

Bảng 1. Tỷ lệ E. coli mang gen mcr-1 phân lập từ người khỏe mạnh

	Số lượng (n=612)	Tỷ lệ (%)
E. coli phân lập trên môi trường MacConkey	451	73,7
E. coli mang gen mcr-1	31	5,1

Khi phân tích mẫu phân của 612 người khỏe mạnh ở xã Nguyên Xá, huyện Vũ Thư, tỉnh Thái Bình chúng tôi nhận thấy: Có 451 mẫu (73,7%) có vi khuẩn E. coli mọc trên môi trường MacConkey có bổ sung cefotaxime. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn E. coli mang gen mcr-1 trong mẫu phân ở người khỏe mạnh là 5,1% (bảng 1).



Biểu đồ 1. Tỷ lệ kháng kháng sinh của các chủng E. coli mang gen mcr-1

Các vi khuẩn E. coli mang gen mcr-1 đã kháng lại các kháng sinh thông thường với tỷ lệ khá cao, từ 51,6 - 100% (biểu đồ 1), tuy nhiên các chủng này còn khá nhạy cảm với 1 số kháng sinh như FOX, FOF, CAZ và MEM (tỷ lệ kháng dưới <10%).

Bảng 2. Mức độ kháng đa thuốc của các chủng vi khuẩn E. coli mang gen mcr-1

Số nhóm KS không nhạy cảm	Số chủng	Tỉ lệ (%)	Phân loại (%)
0	0	0,0	Không phải MDR (0,0%)
1	0	0,0	
2	0	0,0	
3	0	0,0	
4	1	3,2	MDR (100,0%)
5	7	22,6	
6	11	35,5	
7	9	29,0	
8	3	9,7	
9	0	0,0	
10	0	0,0	

Kết quả phân tích mức độ kháng đa thuốc (bảng 2) cho thấy: 100% các chủng E. coli mang gen mcr-1 là các chủng kháng đa thuốc (không nhạy cảm với 3 nhóm kháng sinh trở

lên), trong đó có 96,8% không nhạy cảm với từ 5 nhóm kháng sinh trở lên. Đặc biệt, có 9,7% số chủng được xác định không nhạy cảm với 8/10 nhóm kháng sinh thử nghiệm, được coi là các chủng kháng mở rộng (extensively drug-resistant - XDR).

Kết quả xác định nồng độ ức chế tối thiểu với colistin của các chủng E. coli mang gen mcr-1 cho thấy: 100% các chủng đều có MIC ≥ 4 mg/L.

IV. BÀN LUẬN

Sự xuất hiện các vi khuẩn kháng kháng sinh thường liên quan đến việc sử dụng kháng sinh không hợp lý. Colistin là kháng sinh hầu như không được sử dụng trên người, nhưng trong nghiên cứu này chúng tôi phát hiện tỷ lệ E. coli mang mcr-1 kháng colistin trên người khỏe mạnh ở một xã nông thôn tỉnh Thái Bình là 5,1% (bảng 1). Một nghiên cứu trước đây cho thấy việc sử dụng các kháng sinh có chứa colistin trong trong chăn nuôi ở Nguyên Xá, Vũ Thư, Thái Bình khá phổ biến (>50% hộ gia đình có chăn nuôi) [5] và đây có lẽ là nguyên nhân làm xuất hiện vi khuẩn kháng colistin ở vật nuôi. Một nghiên cứu gần đây [1] của chúng tôi tại khu vực này cũng cho thấy tỷ lệ phát hiện vi khuẩn E. coli mang gen mcr-1 ở mẫu phân gà và mẫu phân lợn đều rất cao (gà 97,2%; lợn: 91,7%). Như vậy, gà và lợn có thể là ổ chứa và là nguồn lan truyền các vi khuẩn kháng colistin cho con người trong cộng đồng. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã cho thấy có sự lưu hành của vi khuẩn E. coli kháng colistin trên người khỏe mạnh tại Thái Bình, do đó, cần thực hiện những biện pháp nhằm hạn chế việc sử dụng colistin trong chăn nuôi và ngăn chặn sự lây lan của vi khuẩn kháng colistin từ vật nuôi sang người ở khu vực này, góp phần làm giảm tỷ lệ vi khuẩn kháng colistin trong cộng đồng.

Phân tích tính nhạy cảm với kháng sinh của các chủng E. coli mang gen mcr-1, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các chủng này đã kháng các kháng sinh thông dụng với tỷ lệ khá cao: AMP (100%), CTX (96,7%), TET (90,3), SXT (83,9%), CHL (80,6%), KAN (67,7%), CIP (54,8%), NAL (54,8%) và GEN (51,6%) (biểu đồ 1). Mặc dù các chủng này còn nhạy cảm với một số kháng sinh như FOX, FOF, CAZ và MEM nhưng kết quả phân tích cho thấy tất cả 31 chủng (100%) đều là các chủng kháng đa thuốc, trong đó 96,8% kháng từ 5 đến 8 nhóm kháng sinh (bảng 2). Kết quả xác định MIC với colistin cũng cho thấy 100% các chủng E. coli mang gen mcr-1 đều kháng với colistin - một

kháng sinh được coi là lựa chọn cuối cùng cho điều trị trực khuẩn Gram âm kháng đa thuốc. Đây là một vấn đề rất đáng lo ngại bởi lẽ việc lựa chọn kháng sinh để điều trị đối với các chủng này sẽ rất khó khăn. Việc lưu hành của vi khuẩn E. coli mang gen mcr-1 kháng đa thuốc trong mẫu phân người khỏe mạnh với tỷ lệ cao tại cộng đồng sẽ tiềm tàng nguy cơ lan truyền các chủng vi khuẩn kháng đa thuốc và là mối hiểm họa lớn cho sức khỏe cộng đồng.

V. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự lây lan các E. coli mang gen mcr-1 trong quần thể người khỏe mạnh tại Thái Bình. Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn E. coli mang gen mcr-1 trong mẫu phân người khỏe mạnh là 5,1% và tất cả các chủng E. coli mang gen mcr-1 đều là các chủng kháng đa thuốc rất nguy hiểm. Do đó cần có các biện pháp can thiệp hiệu quả nhằm ngăn chặn sự lan truyền của các chủng vi khuẩn kháng đa thuốc trong cộng đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kawahara, R., Fujiya, Y., Yamaguchi, T., et al. (2019). Most Domestic Livestock Possess Colistin-Resistant Commensal Escherichia coli Harboring mcr in a Rural Community in Vietnam. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(6), e00594-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00594-19>
2. Liu, X., Li, R., Zheng, Z., et al. (2017). Molecular Characterization of Escherichia coli

Isolates Carrying mcr-1, fosA3, and Extended-Spectrum-β-Lactamase Genes from Food Samples in China. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(6), e00064-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.00064-17>.

3. Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., et al. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet. Infectious diseases*, 16(2), 161–168.
4. Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., et al. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18(3), 268–281.
5. Nakayama, T., Jinnai, M., Kawahara, R., et al. (2017). Frequent use of colistin-based drug treatment to eliminate extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in backyard chicken farms in Thai Binh Province, Vietnam. *Tropical animal health and production*, 49(1), 31–37.
6. Tijet, N., Faccione, D., Rapoport, M., et al. (2017). Molecular characteristics of mcr-1-carrying plasmids and new mcr-1 variant recovered from polyclonal clinical Escherichia coli from Argentina and Canada. *PloS one*, 12(7), e0180347. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180347>.
7. Snesrud, E., He, S., Chandler, M., et al. (2016). A Model for Transposition of the Colistin Resistance Gene mcr-1 by ISAp1. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(11), 6973–6976.

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM TỔN THƯƠNG MẮT Ở BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYP 2

TÓM TẮT

Mục tiêu: nghiên cứu đặc điểm, tỷ lệ các tổn thương mắt ở bệnh nhân đái tháo đường typ 2. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang ở 57 bệnh nhân đái tháo đường có tổn thương mắt điều trị từ tháng 3 năm 2017 đến tháng 7 năm 2017 tại Khoa nội tiết Bệnh viện Quân y 103. **Kết quả:** Tổn thương mắt ở người bệnh ĐTD chiếm 88,6%, đục thủy tinh thể chiếm 75,44%, cao hơn các tổn thương khác (24,56%). Bệnh nhân ĐTD tổn thương võng mạc ở giai đoạn chưa tăng sinh chiếm đa số 88,12%, giai đoạn chưa tăng sinh mức độ nhẹ

Nguyễn Thanh Xuân¹, Nguyễn Đình Ngân¹

chiếm đa số 54,46 %; trong đó đa số tổn thương dạng phù nhẹ (67%), và khu trú (62,07%). Tổn thương đục thủy tinh thể ở người bệnh ĐTD chủ yếu mức độ 3 (46,51%). **Kết luận:** tổn thương mắt ở người bệnh ĐTD chủ yếu là tổn thương võng mạc, và đục thủy tinh thể. Người bệnh ĐTD nên khám định kỳ mắt để phát hiện sớm tổn thương võng mạc ở giai đoạn chưa tăng sinh.

Từ khóa: Đái tháo đường, Tổn thương mắt, tổn thương võng mạc

SUMMARY

RESEARCH CHARACTERISTICS OF EYE DAMAGE IN TYPE 2 DIABETES PATIENTS

Objectives: to study the characteristics and rates of eye lesions in patients with type 2 diabetes. **Subjects and methods:** A cross-sectional descriptive study in 57 diabetic patients with eye damage treated from March 2017 to July 2017 at the Endocrinology Department of Military Hospital 103. **Results:** Eye

¹Bệnh viện Quân y 103

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thanh Xuân

Email: bsxuanhatay@gmail.com

Ngày nhận bài: 6.10.2022

Ngày phản biện khoa học: 2.12.2022

Ngày duyệt bài: 12.12.2022