



HỘI NGHỊ KHOA HỌC 2025
KIỂM SOÁT NHIỄM KHUẨN
TRONG GIAI ĐOẠN CHUYỂN ĐỔI SỐ
 Thành phố Hồ Chí Minh, ngày 20-21/9/2025

PHÁT HIỆN VÀ GIÁM SÁT CÁC GEN CARBAPENEMASE Ở CRE BẰNG KỸ THUẬT MULTIPLEX PCR TẠI BỆNH VIỆN

TS.BS. NGUYỄN SĨ TUẤN; TS.BS. HUỖNH MINH TUẤN
 Khoa Vi sinh, Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM

1

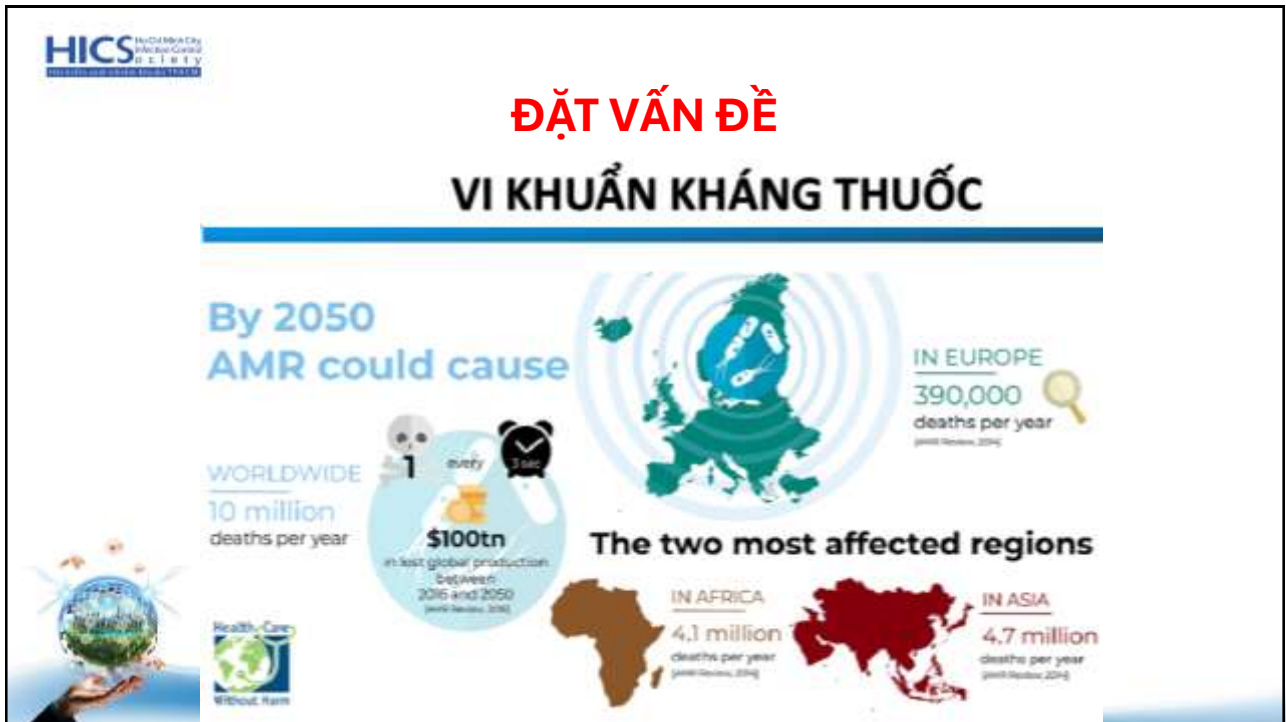




NỘI DUNG TRÌNH BÀY

- 1 Đặt vấn đề
- 2 Tổng quan tài liệu
- 3 Đối tượng
Phương pháp nghiên cứu
- 4 Kết quả và bàn luận
- 5 Kết luận và kiến nghị

2



3

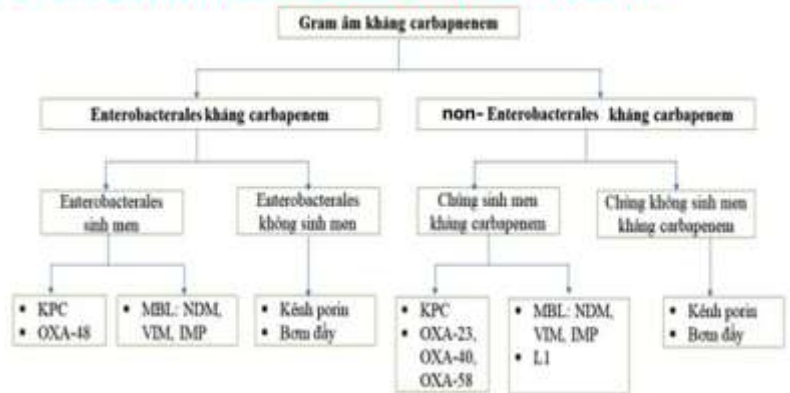


4

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cơ chế đề kháng carbapenem của các chủng vi khuẩn Gram âm

Suay-García, B., & Pérez-Gracia, M. T. (2021). Present and future of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Advances in clinical immunology, medical microbiology, COVID-19, and big data*, 435-456



IMP - imipenemase; KPC - *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; L1 - class B metallo β lactamase; MBL - metallo beta-lactamase; NDM - New Delhi metallo beta-lactamase; OXA - oxacillinase; VIM - Verona integron-encoded metallo beta-lactamase.

5

ĐẶT VẤN ĐỀ

Phổ tác dụng của kháng sinh mới trên Enterobacteriales đa kháng

Bassetti, M., Magnè, F., Giacobbe, D. R., Bini, L., & Vena, A. (2022). New antibiotics for Gram-negative pneumonia. *European Respiratory Review*, 31(166).

	Enterobacteriales		
	Class A Carbapenemase (e.g. KPC)	Class B Carbapenemase (e.g. NDM)	Class D Carbapenemase (e.g. OXA-48)
Ceftobiprole	Không tác dụng	Không tác dụng	Không tác dụng
Ceftolozane-tazobactam	Không tác dụng	Không tác dụng	Không tác dụng
Ceftazidime-avibactam	Có tác dụng	Không tác dụng	Có tác dụng
Cefiderocol	Có tác dụng	Không tác dụng	Có tác dụng
Meropenem-vaborbactam	Có tác dụng	Không tác dụng	Không tác dụng
Imipenem-relebactam	Có tác dụng	Không tác dụng	Không tác dụng
Aztreonam-avibactam	Có tác dụng	Không tác dụng	Có tác dụng
Plazomicin	Có tác dụng	Không tác dụng	Có tác dụng
Eravacycline	Có tác dụng	Không tác dụng	Có tác dụng

■ Có thể tác dụng ■ Không tác dụng ■ Có tác dụng

6

ĐẶT VẤN ĐỀ



Table 2
Potential in vivo activity of antibodies against target cytoplasmic proteins Chaperonin/Tubulin and apurinic/apyrimidinic

[illegible][illegible]

IGBA-GUIDELINE



Infectious Diseases Society of America 2023 Guidance on the Treatment of Antimicrobial Resistant Gram-Negative Infections

Francis B. Tansu,^{1,2} Daniel L. Rinken,² Robert A. Neumann,² Amy J. Mathison,^{2,3} David van Haele,⁴ and Cornelius J. Hawry

[illegible]

ĐỐI VỚI CÁC NHIỄM KHUẨN NGOÀI TIẾT NIỆU DO CRE, IDSA 2023 KHUYẾN CÁO NÊN THỰC HIỆN CÁC XÉT NGHIỆM XÁC ĐỊNH KIỂU GEN KHÁNG THUỐC LÀ CƠ SỞ CHO LỰA CHỌN KHÁNG SINH

7

ĐẶT VẤN ĐỀ

Xét nghiệm Enterobacterales sinh men carbapenemase hiện hành

Modified Hodge Test

A  A lawn of carbapenem-resistant *E. coli* ATCC 25822



Zone of inhibition of *E. coli* ATCC 25922 by antiplasmon:
inhibition of *E. coli* ATCC 25922 growth (thayer leaf appearance)
around the growth line of the antiplasmon-producing
C. pseudotuberculosis ATCC BAA-1305.

Carba NP and variants



Modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM) & EDTA- mCIM (eCIM)



Lateral Flow Immunoassay



Tamma, P. D., & Simner, P. J. (2018). Phenotypic detection of carbapenemase-producing organisms from clinical isolates. *Journal of clinical microbiology*, 56(11), 10-1128.

8

ĐẶT VẤN ĐỀ

❑ MỤC TIÊU:

1. Tối ưu hoá quy trình multiplex PCR phát hiện các gen mã hoá carbapenemase ở CRE.
2. Xác định tỷ lệ phân bố các gen carbapenemase thường gặp ở CRE.
3. Xác định mối liên quan giữa tỷ lệ phân bố các gen carbapenemase thường gặp ở CRE với một số yếu tố.



9

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

- ❑ Mẫu khuẩn lạc vi khuẩn Gram âm đường ruột có kết quả kháng sinh đồ KHÁNG kháng sinh nhóm carbapenem, được phân lập từ bệnh phẩm tại Khoa Vi sinh – Bệnh viện đa khoa Thống Nhất Đồng Nai từ tháng 9/2024 đến tháng 09/2025.
- ❑ Mẫu chuẩn các trình tự mục tiêu được cung cấp bởi công ty Nam Khoa – Việt Nam.

2. Địa điểm nghiên cứu

- ❖ Khoa Vi sinh – Bệnh viện đa khoa Thống Nhất Đồng Nai.



10

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu thực nghiệm mô tả cắt ngang

- **Cỡ mẫu:**

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

Trong đó:

+ Sai lầm loại 1 (α): 0,05

+ Sai số ước tính (d): 0,05

+ Tỷ lệ ước tính p theo Tỉnh và cs tại bệnh viện Chợ Rẫy năm 2023 là 0,948.

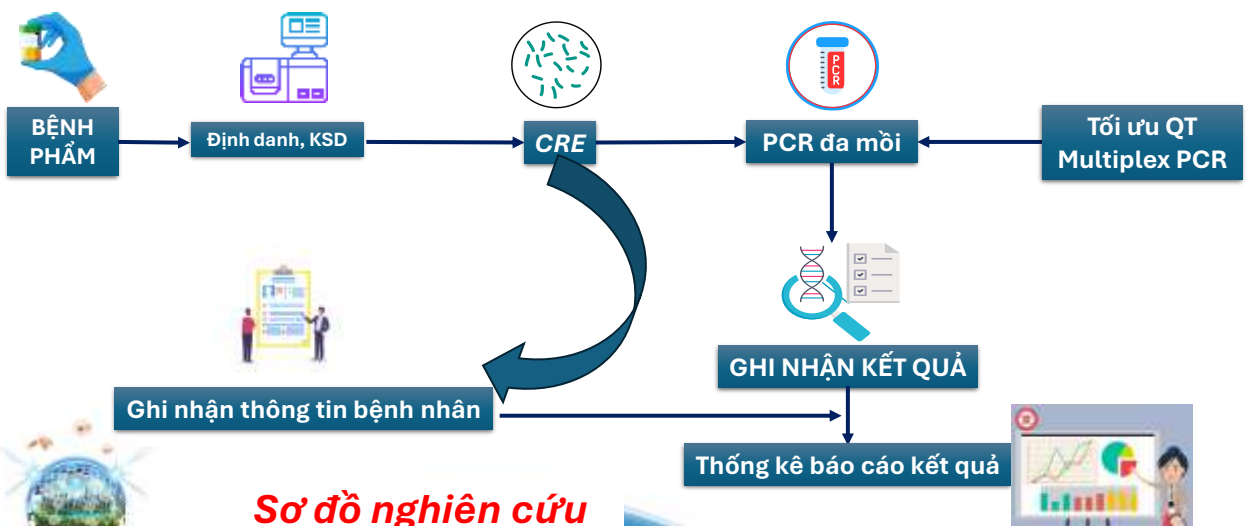
Như vậy, cỡ mẫu trong nghiên cứu này là:

$$n \geq \frac{1.96^2 0.948(1-0.948)}{0.05^2} = 76$$

→ **Thực tế thu được 136 chủng CRE.**

11

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU



12

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Trình tự Primer sử dụng của nghiên cứu

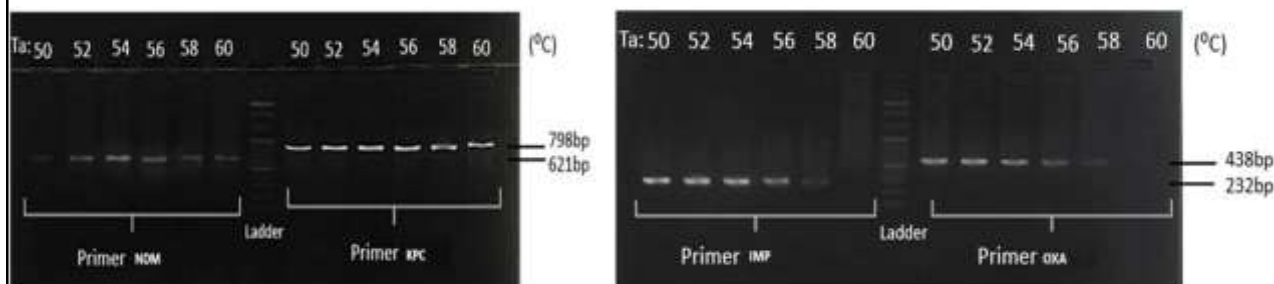
Stt	Tên gen	Trình tự	Kích thước sản phẩm	TLTK
1	IMP	F: GGAATAGAGTGGCTTAANTCTC R: GGTTTAANAAAACAACCACC	232bp	Laurent Poirrel 2011
4	VIM	F: GATGGTGTGGTTCGCATA R: CGAATGCGCAGCACCAG	390bp	
5	OXA	F: CGTGGTTAAGGATGAACAC R: ATCAAGTTCAACCCAACCG	438bp	
9	NDM	F: GGTGGGCGATCTGGTTTTTC R: CGGAATGGCTCATCACGATC	621bp	
11	KPC	F: CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG R: CTTGTCATCCTTGTTAGGCG	798bp	

13

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

KẾT QUẢ MỤC TIÊU 1:

Tối ưu hóa nhiệt độ lai của 4 cặp mồi của phản ứng PCR

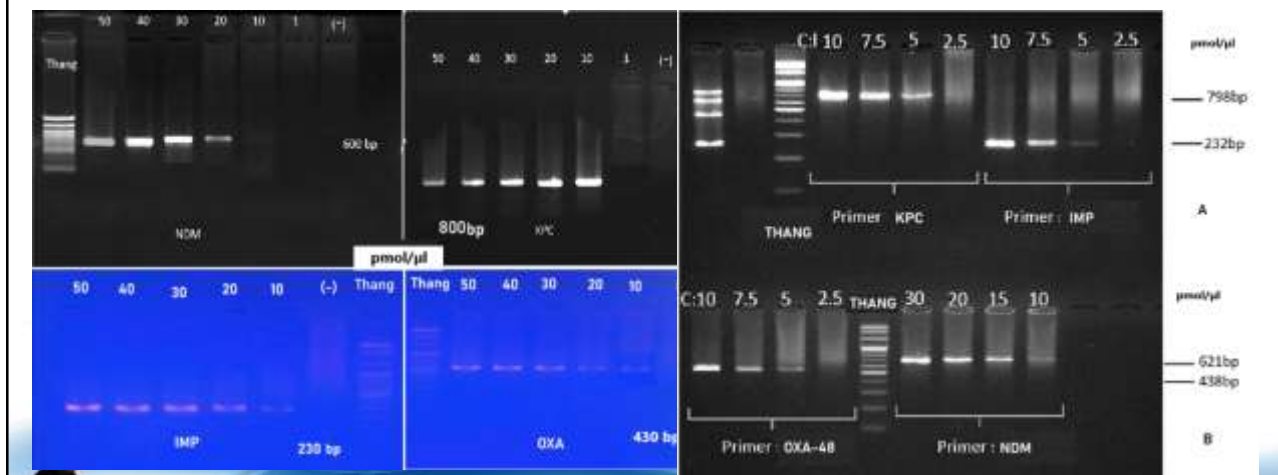


14

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

KẾT QUẢ MỤC TIÊU 1:

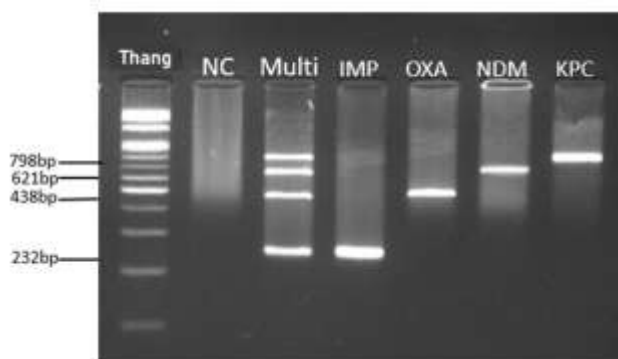
Tối ưu hóa nồng độ của 4 cặp mồi của phản ứng PCR



15

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

KẾT QUẢ MỤC TIÊU 1:



Thành phần phản ứng

Taq polymerase 1.25 u/phản ứng
Buffer 1X/phản ứng
Primer 0.5 pmol mỗi mồi/phản ứng với các mồi IMP, OXA, KPC và 1 pmol mỗi mồi với mồi NDM
dNTP 0.25mM/ phản ứng
Band Doctor 1x/ phản ứng
DNA mẫu 5 μl.
DEPC vừa đủ 25 μl phản ứng.

Chu kỳ nhiệt

B1: 95°C trong 10 phút

B2: 95°C trong 15 giây

B3: 54°C trong 10 giây

B4: 72°C trong 10 giây

B5: 72°C trong 5 phút

Kết quả multiplex PCR

16

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

KẾT QUẢ MỤC TIÊU 2:

Đặc điểm của dân số nghiên cứu:

	Tần số/ Trung bình (SD)	Tỷ lệ (%)
Giới tính		
Nam	83	61.03
Nữ	53	38.97
Tuổi	65,86 (15,82)	
Nhóm tuổi		
< 60 tuổi	48	35,29
> 60 tuổi	88	64,71
Khối lâm sàng		
ICU	31	22.79
Khối ngoại	31	22.79
Khối nội	74	54.42

17

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

KẾT QUẢ MỤC TIÊU 2:

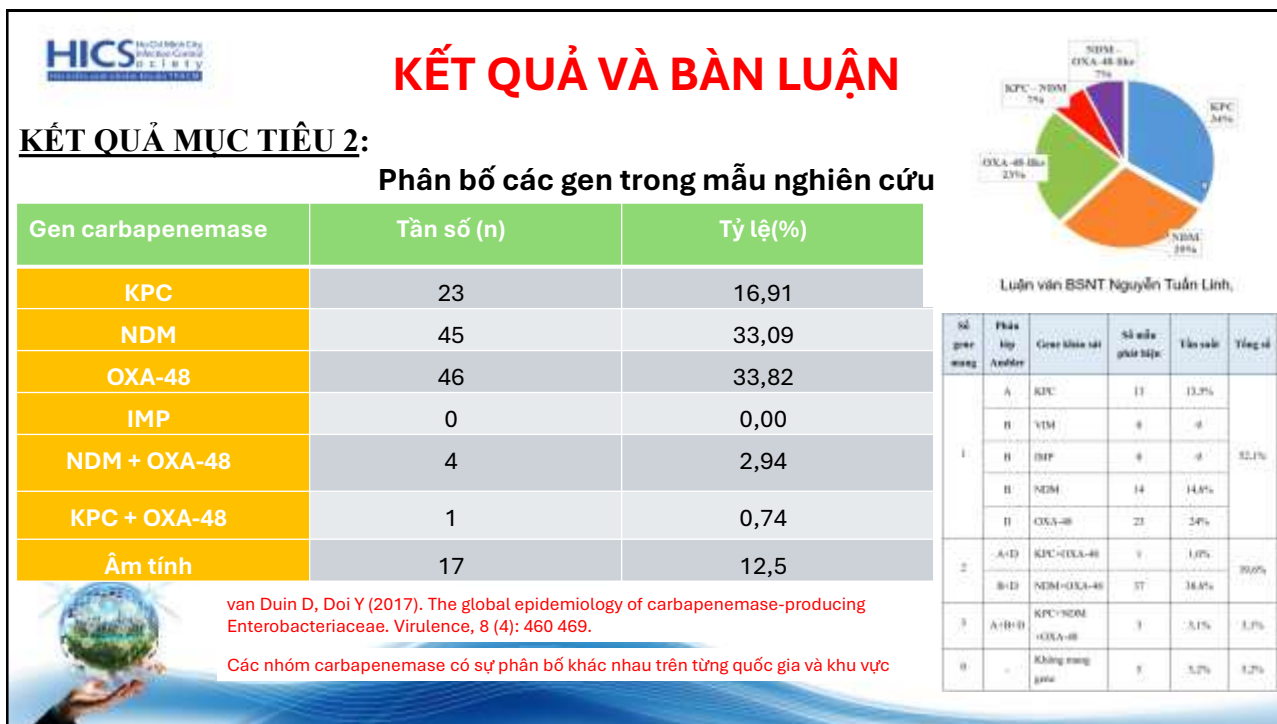
	Tần số	Tỷ lệ (%)
Bệnh phẩm	(n = 136)	
Đàm/dịch hút phế quản	79	58.09
Máu	14	10.29
Nước tiểu	22	16.18
Dịch/ mủ	21	15.44
Phân bố theo vi khuẩn phân lập	(n = 136)	
<i>K. pneumoniae</i>	103	75.74
<i>E. coli</i>	16	11.76
<i>E. aerogenes</i>	8	5.88
khác	9	6.62

ĐẶC ĐIỂM MẪU PHÂN LẬP PHÂN BỐ
THEO BỆNH PHẨM VÀ VI KHUẨN



PHÂN TÍCH WHONET ĐỂ XÂY DỰNG KHÁNG SINH
ĐỒ KINH NGHIỆM VÀ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI
KHUẨN TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA THỐNG NHẤT
ĐỒNG NAI TỪ NĂM 2020-2023

18



19



KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

KẾT QUẢ MỤC TIÊU 3:

Các yếu tố liên quan đến tỷ lệ phân bố gen carbapenemase

	Có gen MBL	Không có gen MBL	P	Có gen Serin	Không có gen Serin	P
Giới tính						
Nam	30(61.22)	53(60.92)	0.0012	42(56.76)	41(66.13)	0.264
Nữ	19(38.78)	34(39.08)		32(43.24)	21(33.87)	
Nhóm tuổi						
< 60 tuổi	11(22.45)	33(37.93)	0.064	28(37.84)	16(25.81)	0.135
>60 tuổi	38(77.55)	54(62.07)		46(62.16)	46(62.16)	
Khối lâm sàng						
ICU	7(14.29)	24(27.59)	0.106	21(28.38)	10(16.13)	0.032
Khối ngoại	15 (30.61)	16(18.39)		11(14.86)	20(32.26)	
Khối nội	27(55.10)	47(54.02)		44(56.76)	32(51.61)	

20

 KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN						
KẾT QUẢ MỤC TIÊU 3:						
Các yếu tố liên quan đến tỷ lệ phân bố gen carbapenemase						
	Có gen MBL	Không có gen MBL	P	Có gen Serin	Không có gen Serin	P
Bệnh phẩm						
Đờm/dịch hút phế quản	22(44.90)	57(65.52)	0.010	51(68.92)	28(45.16)	0.001
Máu	6(12.24)	8(9.20)		4(5.41)	10(16.13)	
Nước tiểu	7(14.29)	15(17.24)		14(18.92)	8(12.90)	
Dịch/ mủ	14(28.57)	7(8.05)		5(6.76)	16(25.81)	

21

 KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN						
KẾT QUẢ MỤC TIÊU 3:						
Các yếu tố liên quan đến tỷ lệ phân bố gen carbapenemase						
	Có gen MBL	Không có gen MBL	p	Có gen Serin	Không có gen Serin	p
<i>Citrobacter koseri</i>	0 (0.00)	1(1.15)	0.003	1(1.35)	0(0.00)	0.002
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1(2.04)	7(8.05)		7(9.46)	1(1.61)	
<i>Enterobacter cloacae</i>	1(2.04)	2(2.30)		1(1.35)	2(3.23)	
<i>Escherichia coli</i>	12(24.49)	4(4.60)		2(2.70)	14(22.58)	
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0(0.00)	4(4.60)		4(5.41)	0(0.00)	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34(69.39)	69(79.31)		59(79.73)	44(70.97)	
<i>Proteus mirabilis</i>	1(2.04)	0(0.00)		0(0.00)	1(1.61)	

22

KẾT LUẬN

MỤC TIÊU 1: Quy trình multiplex PCR phát hiện các gen carbapenemase ở CRE

Thành phần phản ứng multiplex PCR phát hiện các gen sản xuất Carbapenemase:

- ❖ Taq polymerase 1,25 u/phản ứng
- ❖ Buffer 1X/phản ứng
- ❖ Primer 0,5 pmol mỗi/phản ứng (IMP, OXA, KPC) và 1 pmol mỗi NDM
- ❖ dNTP 0.25mM/ phản ứng
- ❖ Band Doctor 1x/ phản ứng
- ❖ DNA mẫu 5 µl.
- ❖ DEPC vừa đủ 25 µl phản ứng.

Chu kỳ nhiệt

B1: 95°C trong 10 phút
B2: 95°C trong 15 giây
B3: 54°C trong 30 giây
B4: 72°C trong 40 giây
B5: 72°C trong 5 phút

lặp lại 35 chu kỳ

23

KẾT LUẬN

MỤC TIÊU 2: Phân bố các gen carbapenemase thường gặp ở CRE

- ❖ Có 119 chủng CRE (87,5%) có mang các gen carbapenemase.
- ❖ Phân bố các gen carbapenemase thường gặp ở CRE :
 - ❖ Có 46 chủng CRE (37.5%) mang gen mã hoá OXA-48.
 - ❖ Có 45 chủng (36.77%) mang gen mã hoá NDM.
 - ❖ Có 23 chủng (17.65%) mang gen mã hoá KPC.
 - ❖ Có 5 chủng (3,68%) mang đồng thời 02 gen [NDM và OXA-48/ KPC và OXA-48].
 - ❖ Không ghi nhận chủng CRE nào mang gen IMP.
 - ❖ Có 17 chủng (12,5%) CRE nhưng không mang 4 gen khảo sát.

24

KẾT LUẬN

MUC TIÊU 3: Một số yếu tố liên quan đến phân bố gen carbapenemase ở CRE

- ❖ Tỷ lệ vi khuẩn mang gen NDM ở nam giới là **61,22%**, cao hơn so với nữ giới (**38,78%**), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.
- ❖ Tỷ lệ vi khuẩn mang gen OXA-48, KPC cao nhất tại **khối Nội (56,76%)**, tiếp là **ICU (28,38%)** và thấp nhất ở **khối Ngoại (14,86%)**; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.
- ❖ Đàm/dịch hút phế quản có tỷ lệ gen NDM và OXA-48, KPC cao nhất, sự khác biệt giữa các bệnh phẩm đều có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).
- ❖ ***Klebsiella pneumoniae*** có tỷ lệ mang gen NDM và OXA-48, KPC cao nhất, lần lượt là **69,39%** và **79,73%**, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.

25

KIẾN NGHỊ

- ❖ Thực hiện giám sát phân tử định kỳ để phát hiện sớm gen carbapenemase, tập trung vào bệnh phẩm hô hấp và *Klebsiella pneumoniae*.
- ❖ Tăng cường giám sát trọng điểm tại các khoa Nội và ICU, kết nối nhanh kết quả giữa Vi sinh và Lâm sàng.
- ❖ Kết hợp giám sát gen carbapenemase ở CRE với chương trình quản lý kháng sinh và kiểm soát nhiễm khuẩn bệnh viện.

26

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] C.J.M.v.c.c, "Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis," (in eng), *Lancet*, vol. 399, no. 10325, pp. 629-655, Feb 12 2022.
- [2] O. Lomovskaya *et al.*, "Vaborbactam: spectrum of beta-lactamase inhibition and impact of resistance mechanisms on activity in Enterobacteriaceae," (in eng), vol. 61, no. 11, pp. 10.1128/aac. 01443-17, 2017.
- [3] M. D. Malchione, L. M. Torres, D. M. Hartley, M. Koch, and J. L. J. I. j. o. a. a. Goodman, "Carbapenem and colistin resistance in Enterobacteriaceae in Southeast Asia: review and mapping of emerging and overlapping challenges," (in eng), vol. 54, no. 4, pp. 381-399, 2019.
- [4] P. H. C. Nhung, Trần Minh Hiếu, Vũ Ngọc Trường, Lại Đức %J Tạp chí Nghiên cứu Y học, "Xác định kiểu gen mã hóa carbapenemase của các chủng *Klebsiella pneumoniae* sinh carbapenemase chưa phân nhóm được bằng hệ thống Phoenix M50," (in Vietnam), vol. 160, no. 1, pp. 1-7, 2022.
- [5] P. Nordmann, T. Naas, and L. J. E. i. d. Poirel, "Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae," (in eng), vol. 17, no. 10, p. 1791, 2011.
- [6] J. O'Neill, "Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations," (in eng), 2016.
- [7] S. Shakil *et al.*, "New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1): An updates," (in eng), vol. 23, no. 5, pp. 263-265, 2011.
- [8] A. Stewart, P. Harris, A. Henderson, D. J. A. a. Paterson, and chemotherapy, "Treatment of infections by OXA-48-producing Enterobacteriaceae," (in eng), vol. 62, no. 11, pp. 10.1128/aac. 01195-18, 2018.
- [9] B. Suay-García and M. T. Pérez-Gracia, "Present and Future of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Infections," (in eng), *Antibiotics (Basel)*, vol. 8, no. 3, Aug 19 2019.
- [10] N. S. Tuấn, "Phân tích whonet để xây dựng kháng sinh đồ kinh nghiệm và kháng kháng sinh của vi khuẩn tại bệnh viện đa khoa tổng nhất đồng nai từ năm 2020-2023," (in Vietnam), no. 2, 2023.
- [11] P. h. van, "Đề kháng kháng sinh và cơ chế đề kháng kháng sinh hiện nay " (in viet nam), *Thời sự y học*, 2017.
- [12] N. T. Xuyên, "Hướng dẫn sử dụng kháng sinh," (in viet nam), *Ban xuất bản bộ y tế*, p. 93, 2015.
- [13] Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann PJDm, disease i. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. 2011;70(1):119-23.

27



Trân trọng cảm ơn sự quan tâm theo dõi!

28