Vietnam Journal of Community Medicine, Vol. 67, Special Issue 14, 265-269

THE PERFORMANCE OF THE REAL-TIME PCR ASSAY DETECTING *PENA 60.001* IN THE DIAGNOSIS OF CEFTRIAXONE-RESISTANT NEISSERIA GONORRHOEAE

Vu Ngoc Hieu[1,2], Nguyen Van Duc[3]

[1]*Hanoi Medical University - No. 1 Ton That Tung, Kim Lien Ward, Hanoi, Vietnam*
[2]*Hanoi Medical University Hospital - No. 1 Ton That Tung, Kim Lien Ward, Hanoi, Vietnam*
[3]*Vinmec Smart City International General Hospital - 2A Tay Mo Street, Tay Mo, Hanoi, Vietnam*

Received: 18/05/2026
Reviced: 19/07/2026; Accepted: 08/09/2026

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the performance of a real-time PCR assay in detecting ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*.

Methods: A cross-sectional descriptive study was conducted using real-time PCR to detect the *penA 60.001* allele on 131 clinical isolates of *N. gonorrhoeae* and 89 *N. gonorrhoeae*-positive urethral discharge specimens at the Microbiology Unit, Microbiology and Parasitology Department, Hanoi Medical University Hospital.

Results: Among the 131 isolates from genital discharge, 61 (46.56%) exhibited a ceftriaxone-resistant phenotype. For these isolates, the real-time PCR assay for *penA 60.001* showed a sensitivity and specificity of 60.66% and 94.29%, respectively. When applied directly to *N. gonorrhoeae*-positive clinical specimens, the assay demonstrated a sensitivity of 24.14% and a specificity of 100%.

Conclusions: This real-time PCR assay may provide supportive evidence for the detection of ceftriaxone-resistant *N. gonorrhoeae* strains. Further optimizations are required to enhance the assay's sensitivity. Additional research is also needed to evaluate the efficacy of this method when using DNA directly extracted from clinical specimens.

Keywords: *Neisseria gonorrhoeae*, *penA 60.001*, real-time PCR, ceftriaxone resistance.

*Corresponding author
Email: vungochieu@hmu.edu.vn **Phone**: (+84) 936079192 **DOI:** 10.52163/yhc.v67iCD14.6567

GIÁ TRỊ CỦA XÉT NGHIỆM REAL-TIME PCR PHÁT HIỆN *PENA 60.001* TRONG CHẨN ĐOÁN *NEISSERIA GONORRHOEAE* KHÁNG CEFTRIAXONE

Vũ Ngọc Hiếu[1,2], Nguyễn Văn Đức[3]

[1]*Trường Đại học Y Hà Nội - Số 1 Tôn Thất Tùng, phường Kim Liên, thành phố Hà Nội, Việt Nam*
[2]*Bệnh viện Đại học Y Hà Nội - Số 1 Tôn Thất Tùng, phường Kim Liên, thành phố Hà Nội, Việt Nam*
[3]*Bệnh viện Đa khoa Quốc tế Vinmec Smart City - 2A Đ. Tây Mỗ, Tây Mỗ, Hà Nội, Việt Nam*

Ngày nhận bài: 18/05/2026
Ngày chỉnh sửa: 19/07/2026; Ngày duyệt đăng: 08/09/2026

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá khả năng phát hiện *Neisseria gonorrhoeae* kháng ceftriaxone bằng phương pháp real-time PCR.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang, sử dụng kỹ thuật real-time PCR phát hiện *penA 60.001* trên 131 chủng *N. gonorrhoeae* phân lập và 89 mẫu dịch niệu đạo dương tính với *N. gonorrhoeae* tại Đơn vị Vi sinh, Khoa Vi sinh – Ký sinh trùng, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

Kết quả: 61/131 chủng (46,56%) *N. gonorrhoeae* phân lập từ dịch mủ sinh dục, có kiểu hình kháng ceftriaxone. Xét nghiệm real-time PCR phát hiện *penA 60.001* thực hiện trên 131 chủng vi khuẩn có độ nhạy, độ đặc hiệu trong phát hiện *Neisseria gonorrhoeae* kháng ceftriaxone lần lượt là 60,66% và 94,29%. Áp dụng trực tiếp xét nghiệm real-time PCR từ bệnh phẩm dương tính với *N. gonorrhoeae*, độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp này lần lượt là 24,14% và 100%.

Kết luận: Phương pháp real-time PCR này có thể góp phần hỗ trợ phát hiện các chủng *N. gonorrhoeae* kháng ceftriaxone. Cần bổ sung cải tiến để nâng cao độ nhạy của xét nghiệm, và cần thêm nghiên cứu đánh giá hiệu quả của xét nghiệm sử dụng DNA từ mẫu bệnh phẩm.

Từ khóa: *Neisseria gonorrhoeae*, *penA 60.001*, real-time PCR, kháng ceftriaxone.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm trùng do *Neisseria gonorrhoeae* là một gánh nặng toàn cầu, với khoảng 80 triệu ca mắc mới mỗi năm, trong đó, Việt Nam thuộc những nước chịu ảnh hưởng nặng (1). Ceftriaxone hiện nay là thuốc đầu tay trong điều trị theo kinh nghiệm. Tuy nhiên, thuốc này đang bị đe dọa do tỷ lệ *N. gonorrhoeae* kháng ceftriaxone đang tăng cao. Đột biến gen penA - mã hóa penicillin binding protein 2 (PBP-2), đích tác dụng của ceftriaxone – là nguyên nhân chính khiến *N. gonorrhoeae* kháng ceftriaxone. Trước đây, các trường hợp *N. gonorrhoeae* kháng ceftriaxone thường xuất hiện lẻ tẻ, các allele penA gây kháng thuốc không lưu hành kéo dài mà biến mất dần. Cho tới 2015, chủng *N. gonorrhoeae* thuộc dòng FC428, mang allele *penA 60.001*, chứa nhiều đột biến kháng thuốc quan trọng như A311V, T483S, lần đầu được phát hiện Nhật Bản, và sau đó, trong vòng 2 năm, đã lan sang nhiều quốc gia châu Á khác, và được ghi nhận ở cả các quốc gia châu Âu và châu Mỹ. Tỷ lệ *N. gonorrhoeae* kháng ceftriaxone không có dấu hiệu suy giảm, phần lớn các chủng kháng ceftriaxone mang allele *penA 60.001* hoặc allele khác có các đột biến kháng thuốc tương tự (2). Tổ chức y tế thế giới WHO đã xác định nhu cầu cấp thiết về các xét nghiệm chẩn đoán kháng thuốc nhanh. Các xét nghiệm này sẽ hỗ trợ cá thể hóa điều trị và tăng cường giám sát kháng kháng sinh, từ đó tạo cơ hội kiểm soát sự lan rộng của kháng thuốc. Trong đó, các xét nghiệm nhắm vào gen penA có nhiều hứa hẹn. Gần đây một nghiên cứu sử dụng kỹ thuật real-time PCR nhằm phát hiện *penA 60.001* đã được phát triển với độ chính xác cao và phương pháp thực hiện đơn giản (3). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá khả năng phát hiện vi khuẩn *N. gonorrhoeae* kháng thuốc bằng phương pháp real-time PCR với hai mục tiêu:

Mục tiêu 1: Giá trị chẩn đoán của kỹ thuật real-time PCR phát hiện *penA 60.001* trên các chủng *N. gonorrhoeae* đề kháng ceftriaxone.

Mục tiêu 2: Ứng dụng kỹ thuật real-time PCR nhằm phát hiện *penA 60.001* trong các mẫu dịch niệu đạo có kết quả PCR dương tính với *N. gonorrhoeae*.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mục tiêu 1: Chủng *N. gonorrhoeae* phân lập trên mẫu bệnh phẩm nuôi cấy dịch sinh dục được lưu giữ tại Đơn vị Vi sinh, Khoa Vi sinh – Ký sinh trùng, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

Tiêu chuẩn lựa chọn

Chủng *N. gonorrhoeae* được lưu giữ trong điều kiện -80°C.

Các chủng có đầy đủ thông tin về kháng sinh đồ.

Tiêu chuẩn loại trừ

Chủng *N. gonorrhoeae* chết trong quá trình lưu giữ chủng.

Chủng *N. gonorrhoeae* trùng lặp từ cùng một người bệnh.

Mục tiêu 2: DNA tách chiết từ các mẫu bệnh phẩm phân lập được các chủng.

N. gonorrhoeae từ mục tiêu 1.

Tiêu chuẩn lựa chọn:

Các mẫu bệnh phẩm vừa có kết quả nuôi cấy dương tính *N. gonorrhoeae* vừa có kết quả xét nghiệm Vi khuẩn định danh PCR đa tác nhân đường sinh dục dương tính với *N. gonorrhoeae*

DNA sau khi đã chạy PCR được lưu giữ trong tủ -80°C tại Đơn vị Vi sinh.

*Tác giả liên hệ
Email: vungochieu@hmu.edu.vn **Điện thoại:** (+84) 936079192 **DOI:** 10.52163/yhc.v67iCD14.6567

Tiêu chuẩn loại trừ:

DNA còn dư có thể tích không đủ để thực hiện tiếp xét nghiệm real-time PCR.

DNA bị thất lạc trong quá trình lưu trữ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

Cỡ mẫu

Mục tiêu 1: Chọn mẫu thuận tiện, lấy toàn bộ các chủng thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn và tiêu chuẩn loại trừ từ tháng 1-12/2023. Thực tế, lấy được 131 chủng *N. gonorrhoeae* vào nghiên cứu.

Mục tiêu 2: 89 mẫu DNA tách chiết từ bệnh phẩm lâm sàng phù hợp với tiêu chuẩn lựa chọn và loại trừ trong thời gian từ 1-12/2023.

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Khoa Vi sinh – Ký sinh trùng, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

Thời gian nghiên cứu: tháng 1/2023-12/2023.

Quy trình tiến hành nghiên cứu

Các chủng *N. gonorrhoeae* phân lập từ bệnh phẩm lâm sàng được định danh bằng card NH trên hệ thống Vitek 2 Compact (Biomerieux, Pháp). Mức độ nhạy cảm của vi khuẩn với ceftriaxone được thu thập từ kết quả kháng sinh đồ, thực hiện bằng phương pháp dải giấy khuếch tán theo bậc nồng đồ (Etest) (Biomerieux, Pháp), trên môi trường thạch GC, theo quy trình thường quy của Khoa Vi sinh – Ký sinh trùng, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội. Giá trị MIC được xác định trực tiếp tại điểm cắt của hình elip vùng ức chế với thanh Etest. Nếu giao điểm nằm giữa hai vạch chia độ trên dải Etest, hoặc điểm cắt 2 bên lệch nhau trong 1 bậc nồng độ, làm tròn lên giá trị nồng độ cao hơn tiếp theo. Nếu điểm cắt 2 bên lệch nhau hơn 1 bậc nồng độ, kết quả không hợp lệ và phải làm lại. Trường hợp kết quả sát ngưỡng nhạy/kháng, phiên giải kết quả theo giá trị đã làm tròn như quy tắc ở trên. Kháng sinh đồ với các kháng sinh ceftriaxone, cefepime, azithromycin được phiên giải theo hướng dẫn của EUCAST (2022). Kháng sinh đồ được thực hiện kiểm soát chất lượng bằng chủng chuẩn *N. gonorrhoeae* ATCC 49226 với các kháng sinh azithromycin (MIC 0,25-1 µg/mL), ceftriaxone (MIC 0,004-0,016 µg/mL), cefepime (MIC 0,016-0,06 µg/mL).

Đối với phương pháp real-time PCR, chúng tôi sử dụng hai đoạn mồi và hai đầu dò, để phát hiện đặc hiệu gen penA của chủng FC428. Trong đó, đoạn mồi thứ nhất phát hiện đột biến A311V, đoạn mồi thứ hai phát hiện trình tự A311 của chủng hoang dại, ngăn cản đoạn mồi thứ nhất gắn vào DNA của chủng hoang dại, tương tự trong nghiên cứu của David M. Whiley và cộng sự (3). David và cộng sự đã thực hiện đánh giá giới hạn phát hiện của phản ứng real-time CPR là 3 copies/phản ứng, và đánh giá trên các mẫu bệnh phẩm bao gồm dịch niệu đạo, dịch hậu môn, dịch họng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chuẩn bị mẫu DNA được tách trực tiếp từ khuẩn lạc *N. gonorrhoeae* sau nuôi cấy 24 giờ, bằng bộ kit DNeasy Blood and tissue (QIAGEN, Đức). Đồng thời, DNA tách chiết từ bệnh phẩm dịch mủ niệu đạo còn dư sau khi thực hiện xét nghiệm real-time PCR chẩn đoán các tác nhân gây nhiễm trùng lây qua đường tình dục ở các chủng giảm nhạy cảm hoặc kháng ceftriaxone cũng được tách DNA để xác định sự có mặt của allele *penA 60.001*.

Chúng tôi chuẩn bị hỗn hợp phản ứng bằng QuantiTect Probe PCR Master Mix Kit (QIAGEN, Doncaster, Victoria, Úc). Mỗi phản ứng bao gồm 12,5 µL Master Mix, 10 pmol/L mồi xuôi và mồi ngược, 4 pmol/L đầu dò mỗi loại, 5 µL mẫu DNA, tổng thể tích phản ứng là 25 µL. Phản ứng được chạy trên máy Rotor-Gene 6000 (QIAGEN). Chu kỳ nhiệt cụ thể như sau: giai đoạn biến tính ban đầu ở 95°C dài 15 phút; bước biến tính ở 95°C kéo dài 15 giây, bước kéo dài ở 60°C trong 60 giây, lặp lại 45 chu kỳ; kết thúc phản ứng PCR, sản phẩm được đưa về 4°C. Quy trình real-time PCR được kiểm soát chất lượng bằng cách chạy kèm với chứng dương (DNA chủng đã được giải trình tự xác định có mang *penA 60.001*) và chứng âm (nước không có RNase). Kết quả được xét là dương tính khi có chứng dương và chứng âm đạt yêu cầu và đường cong tin hiệu của đầu dò 1 có Ct <=39.

Bảng 1. Trình tự mồi và đầu dò để phát hiện allele penA 60.001 (chiều 5'-3')

Mồi xuôi	CGCAACCGTGCCGTT
Mồi ngược	GGGTATTGAATGTGTCTGTTGGA
Đầu dò 1	Fam-TTCATGACAGAAC-Iowa Black FQ
Đầu dò 2	Hex-TCATGGCAGA-Iowa Black FQ

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được lưu trữ, xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

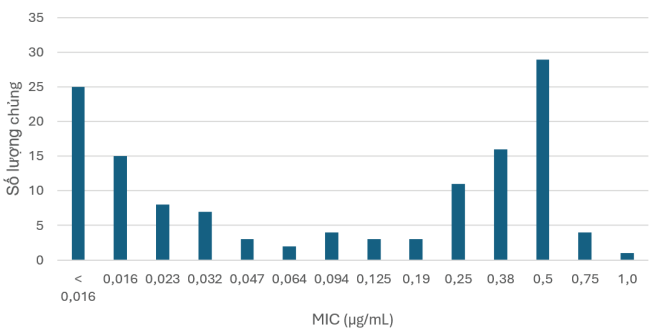
Nghiên cứu tuân thủ đầy đủ các nguyên tắc của nghiên cứu y học và đã được thông qua Hội đồng đạo đức, Trường Đại học Y Hà Nội theo giấy chứng nhận số 1155/GCN-HMUIRB ngày 14 tháng 3 năm 2024, cho phép thu thập sử dụng các chủng và mẫu bệnh phẩm hồi cứu từ 1/1/2023-31/12/2023 lưu trữ tại Đơn vị Vi sinh, bệnh viện Đại học Y Hà Nội. Nghiên cứu không can thiệp đến kết quả xét nghiệm, quá trình điều trị của người bệnh nên được miễn trừ đồng thuận. Nghiên cứu tuân thủ việc bảo mật tất cả các thông tin liên quan đến người bệnh.

3. KẾT QUẢ

3.1. Giá trị chẩn đoán của kỹ thuật real-time PCR phát hiện *penA 60.001* trên các chủng *N. gonorrhoeae* đề kháng ceftriaxone.

Trong thời gian nghiên cứu thu được 131 chủng *Neisseria gonorrhoeae*. Toàn bộ các chủng được phân lập từ bệnh phẩm dịch mủ niệu đạo nam giới.

Trong đó, 61/131 chủng (46,56%) có kiểu hình kháng ceftriaxone theo tiêu chuẩn của EUCAST (MIC của ceftriaxone ≥ 0,25 µg/mL). Giá trị MIC_{50} = 0,125 µg/mL và MIC_{90} = 0,5 µg/mL.

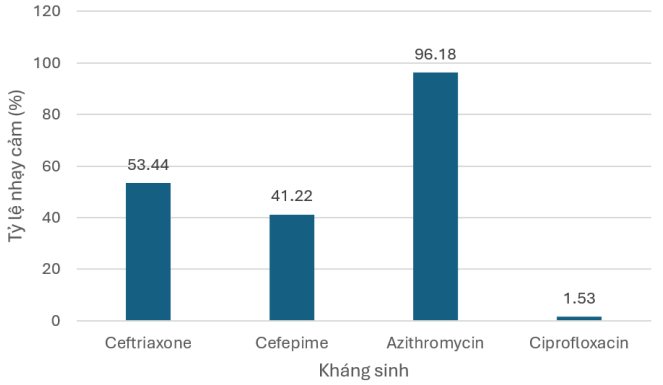


Biểu đồ 1. Phân bố các chủng Neisseria gonorrhoeae theo giá trị MIC của ceftriaxone (N = 131)

Bảng 2. So sánh mức độ nhạy cảm của các chủng *Neisseria gonorrhoeae* với ceftriaxone và cefepime

		Mức độ nhạy cảm với ceftriaxone	
		Nhạy cảm	Đề kháng
Mức độ nhạy cảm với cefepime	Nhạy cảm	54	0
	Đề kháng	16	61

Có 77/131 (58,78%) chủng đề kháng cefepime. Các chủng có kiểu hình đề kháng ceftriaxone cũng đồng thời kháng cefepime. Trong số 70 chủng nhạy cảm ceftriaxone, có 16 chủng kháng cefepime (bảng 3). Có 5/131 (3,81%) chủng đề kháng azithromycin, cả 5 chủng này còn nhạy cảm ceftriaxone. Chỉ có 2/131 (1,53%) chủng còn nhạy cảm với ciprofloxacin (biểu đồ 2).



Biểu đồ 2. Tỷ lệ chủng Neisseria gonorrhoeae còn nhạy cảm với các kháng sinh tương ứng (N=131)

Chúng tôi tách DNA từ khuẩn lạc sau 24 giờ nuôi cấy của toàn bộ 131 chủng cho xét nghiệm real-time PCR. Trong đó, 89/131 chủng có DNA tách từ bệnh phẩm dư sau khi thực hiện xét nghiệm real-time PCR để chẩn đoán các căn nguyên gây nhiễm trùng qua đường tình dục (STI). Kết quả real-time PCR được trình bày trong bảng 4.

Trong 61 chủng đề kháng ceftriaxone, có 37/61 chủng (60,66%) có kết quả real-time PCR dương tính với *penA 60.001*. Trong 70 chủng nhạy cảm ceftriaxone, có 4/70 chủng (5,71%) dương tính với *penA 60.001*. Bốn chủng trên đều có hiện tượng giảm nhạy cảm với ceftriaxone theo WHO (MIC ≥ 0,125 µg/mL). Độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm real-time PCR trong việc phát hiện các chủng *N. gonorrhoeae* kháng ceftriaxone lần lượt là 60,66% và 94,29%. Giá trị dự đoán dương tính và giá trị dự đoán âm tính của xét nghiệm này lần lượt là 90,24% và 73,33%.

Bảng 3. So sánh kết quả real-time PCR phát hiện penA 60.001 từ khuẩn lạc và kết quả kháng sinh đồ

		Kiểu hình	
		Nhạy cảm	Đề kháng
Kết quả real-time PCR	Dương tính	4	37
	Âm tính	66	24

3.2. Khả năng phát hiện *penA 60.001* trong các mẫu dịch niệu đạo có kết quả PCR dương tính với *Neisseria gonorrhoeae* bằng kỹ thuật real-time PCR

Để đánh giá khả năng phát hiện *penA 60.001* trực tiếp từ mẫu bệnh phẩm dương tính với N. gonorrhoeae bằng kỹ thuật real-time PCR, chúng tôi tiến hành thu thập các mẫu dịch niệu đạo của người bệnh vừa có chỉ định nuôi cấy tìm vi khuẩn, vừa có chỉ định real-time PCR tìm *N. gonorrhoeae*. Trong 131 chủng vi khuẩn phân lập được từ 131 bệnh phẩm dịch niệu đạo ở trên, chỉ có 89 mẫu có chỉ định PCR tương ứng. 89 mẫu bệnh phẩm đó đều phân lập được *N. gonorrhoeae* thì có 29/89 chủng (32,58%) đề kháng và 60/89 chủng (67,42%) nhạy cảm với ceftriaxone.

Trong 29 chủng có kiểu hình đề kháng, có 7/29 (24,14%) mẫu DNA từ bệnh phẩm tương ứng dương tính với *penA 60.001*. Toàn bộ 60 chủng nhạy cảm ceftriaxone đều có kết quả PCR âm tính. Nếu sử dụng kết quả kháng sinh đồ của chủng vi khuẩn phân lập từ bệnh phẩm làm tiêu chuẩn thì độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm real-time PCR trong việc phát hiện chủng *N. gonorrhoeae* mang *penA 60.001* trực tiếp từ mẫu lâm sàng lần lượt là 24,14% và 100%. Giá trị dự đoán dương tính và giá trị dự đoán âm tính của xét nghiệm này lần lượt là 100% và 73,17%.

Bảng 4. So sánh kết quả real-time PCR phát hiện penA 60.001 từ bệnh phẩm và kết quả kháng sinh đồ

		Kiểu hình	
		Nhạy cảm	Đề kháng
Kết quả real-time PCR	Dương tính	0	7
	Âm tính	60	22

So với xét nghiệm real-time PCR sử dụng DNA từ khuẩn lạc, xét nghiệm sử dụng DNA từ bệnh phẩm có độ nhạy tương đối là 43,75% (7/16). Mức độ tương đồng của 2 xét nghiệm này là 80/89 (89,9%).

Bảng 5. So sánh kết quả real-time PCR khi sử dụng mẫu DNA từ khuẩn lạc và từ bệnh phẩm

		DNA tách từ bệnh phẩm	
		Dương tính	Âm tính
DNA tách từ khuẩn lạc	Dương tính	7	9
	Âm tính	0	73

4. BÀN LUẬN

Nhiễm trùng *N. gonorrhoeae* là đang trở thành mối đe dọa sức khỏe toàn cầu. Vi khuẩn này có khả năng phát sinh hoặc thu nhận các cơ chế đề kháng lại nhiều loại kháng sinh. Trong lịch sử, các kháng sinh như penicillin, tetracyclin, thuốc thuộc nhóm quinolone, vốn có hiệu quả cao trong thời gian đầu, tuy nhiên, hiện tượng đề kháng sau đó dần xuất hiện và lan rộng, và cho tới nay, các thuốc này gần như không còn tác dụng trong điều trị *N. gonorrhoeae*. Trong nghiên cứu này, chỉ có 2/131 chủng còn nhạy cảm với ciprofloxacin. Ceftriaxone được coi là lựa chọn hiệu quả cuối cùng để điều trị *N. gonorrhoeae* theo kinh nghiệm. Thuốc có nhiều ưu điểm như tác dụng nhanh, chỉ cần một liều duy nhất, có tác dụng tốt với cả các trường hợp nhiễm *N. gonorrhoeae* ở họng và ít tác dụng phụ hơn so với azithromycin (4). Tuy nhiên, trong những năm gần đây, chủng vi khuẩn đề kháng hoặc giảm nhạy cảm với ceftriaxone đã xuất hiện và lan rộng, đặc biệt là ở các nước châu Á như Nhật Bản, Trung Quốc, Campuchia và Việt Nam. Hậu quả cuối cùng có thể giống như những gì xảy ra với penicillin, tetracycline và thuốc nhóm quinolone, nếu không có các biện pháp ngăn ngừa kịp thời. Trên thực tế, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy một tỷ lệ đáng báo động *N. gonorrhoeae* giảm nhạy cảm với ceftriaxone tại Việt Nam (46,56%). Tỷ lệ này cao hơn nhiều ngưỡng cảnh báo của Tổ chức Y tế Thế giới, rằng cần cân nhắc thay đổi phác đồ điều trị khi tỷ lệ kháng vượt 5%. Xu hướng này cũng xuất hiện ở các quốc gia lân cận như Campuchia và Trung Quốc; các quốc gia này đều ghi nhận sự lây lan nhanh chóng của các chủng *N. gonorrhoeae* kháng thuốc, với tỷ lệ *N. gonorrhoeae* kháng ceftriaxone trong giai đoạn 2022-2023 lần lượt là 15,4% và 8,1% (5,6). Toàn bộ các chủng kháng ceftriaxone cũng đề kháng cefepime, do đó không thể sử dụng cefepime như là lựa chọn thay thế. *N. gonorrhoeae* kháng azithromycin đã được ghi tại nhiều quốc gia, trong nghiên cứu này, chúng tôi phát hiện 3,81% chủng kháng azithromycin. Mặc dù phần lớn các chủng *N. gonorrhoeae* phân lập được còn nhạy cảm với azithromycin, việc đơn trị liệu bằng kháng sinh này cần được cân nhắc thận trọng, do nguy cơ tạo ra áp lực chọn lọc và tăng tỷ lệ *N. gonorrhoeae* kháng azithromycin, giống như nhiều thuốc thuộc nhóm macrolide khác, bên cạnh cả các tác dụng không mong muốn của loại thuốc này trên bệnh nhân (7).

Biểu đồ phân bố các chủng *N. gonorrhoeae* theo giá trị MIC của ceftriaxone có dạng chữ U với hai đỉnh rõ ràng; một đỉnh có MIC ≤ 0,016 µg/mL, tương ứng với kiểu hình của các

chủng *N. gonorrhoeae* hoang dại và một đỉnh tương ứng MIC nằm trong khoảng 0,25-0,38 µg/mL, tương ứng với kiểu hình kháng ceftriaxone theo tiêu chuẩn của EUCAST 2022. Có thể thấy một quần thể chủng *N. gonorrhoeae* sở hữu các cơ chế đề kháng, làm tăng rõ rệt MIC của ceftriaxone so với quần thể nhạy cảm. Kết quả real-time PCR cho thấy 60,66% chủng *N. gonorrhoeae* kháng ceftriaxone có mang allele *penA 60.001* – đã được công nhận làm tăng MIC của ceftriaxone. Xét nghiệm real-time PCR, với DNA tách từ khuẩn lạc, có độ nhạy 60,66% và độ đặc hiệu 94,29% trong phát hiện chủng *N. gonorrhoeae* kháng ceftriaxone. Giá trị dự đoán dương tính và giá trị dự đoán âm tính của xét nghiệm này trong việc phát hiện chủng *N. gonorrhoeae* kháng thuốc lần lượt là 90,24% và 73,33%. Có bốn chủng dương tính với *penA 60.001* nhưng còn nhạy cảm với ceftriaxone. Bốn chủng này đã được làm kháng sinh đồ lặp lại với ceftriaxone thì kết quả MIC không thay đổi. Một điểm đáng chú ý là MIC với ceftriaxone của cả 4 chủng này tuy vẫn phiên giải là nhạy nhưng đều ở ngưỡng cao (0,125 µg/mL), sát với ngưỡng kháng. Nghiên cứu của David Whiley và cộng sự chỉ đánh giá trên 2 chủng FC248 được khẳng định có mang penA. Có 1 chủng khác là *N. gonorrhoeae* A8806, dù không phải *penA 60.001* nhưng có trình tự tương đồng với *penA 60.001*, đặc biệt là cũng mang đột biến A311V mà đầu dò 1 khảo sát (3). Vì vậy, cũng có thể các chủng này không mang *penA 60.001* nhưng có thể mang đột biến A311V dẫn tới dương tính giả. Để khẳng định chắc chắn thì cả 4 chủng đều đã được giải trình tự thì có 3 chủng mang *penA 237.001* và 1 chủng là *penA 265.001*. Các chủng này đều mang đột biến A311V. Bên cạnh đó, ngoài kiểu gen *penA 60.001*, còn có các allele khác, xuất hiện với tần suất thấp hơn, cũng có liên quan đến tình trạng kháng ceftriaxone, như *penA 10.001*, *penA 124.001*, *penA 166.001*, *penA 92.001* (8)11/35: ST 13871. There were 16 different AMR genes. 74% of the isolates possessed mosaic penA 60.001 and 11% mosaic penA 10.001. These penA allens contained 6 key mutations responsible for ESC resistance (A311V, T483S, A501P, G545S, I312M v‡ V316T. Điều này có thể giải thích cho việc 39,34% chủng kháng ceftriaxone âm tính với *penA 60.001*.

Độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm real-time PCR này khi ứng dụng trực tiếp từ DNA tách chiết từ bệnh phẩm có kết quả PCR dương tính với *N. gonorrhoeae* nhằm phát hiện *N. gonorrhoeae* đề kháng ceftriaxone lần lượt là 24,14% và 100%. Giá trị dự đoán dương tính và giá trị dự đoán âm tính của xét nghiệm này lần lượt là 100% và 73,17%. Độ nhạy của phương pháp khi sử dụng DNA từ bệnh phẩm thấp hơn đáng kể so với khi sử dụng DNA từ khuẩn lạc. Nồng độ DNA *N. gonorrhoeae* của mẫu tách trực tiếp từ bệnh phẩm thấp hơn nhiều so với nồng độ DNA *N. gonorrhoeae* tách từ khuẩn lạc vi khuẩn, có thể lý giải cho độ nhạy thấp hơn của xét nghiệm khi áp dụng quy trình giống nhau. Nghiên cứu của David Whiley và cộng sự cũng cho thấy ngưỡng phát hiện của phản ứng PCR phát hiện *penA 60.001* cao hơn 10 lần so với ngưỡng phát hiện của phản ứng PCR phát hiện *N. gonorrhoeae*. Điều này càng cho thấy độ nhạy của phương pháp khi áp dụng trên mẫu bệnh phẩm thấp hơn đáng kể. Tuy nhiên nghiên cứu của David Whiley trên 358 mẫu lâm sàng dương *N. gonorrhoeae* tại nơi không lưu hành chủng FC248 đều có kết quả xét nghiệm PCR là âm tính. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự khi 73 mẫu lâm sàng có kết quả PCR từ khuẩn lạc vi khuẩn âm tính thì cũng đều âm tính, cho thấy độ đặc hiệu cao của phương pháp. Một điểm hạn chế trong nghiên cứu của chúng tôi là chỉ thực hiện trên mẫu dịch niệu đạo, chưa thể ngoại suy được tính chính xác cho các bệnh phẩm khác như dịch hậu môn/trực tràng, dịch họng hay các bệnh phẩm ngoài sinh dục. Do đó, cần thêm các nghiên cứu sử dụng nhiều loại bệnh phẩm để đánh giá chính xác giá trị của phương pháp này.

Hiện nay, hầu hết bệnh nhân nhiễm *N. gonorrhoeae* sinh dục và hầu họng được điều trị ngoại trú. Do xét nghiệm nuôi cấy và kháng sinh đồ cần nhiều thời gian, kèm theo những khó khăn trong việc thực hiện kháng sinh đồ đối với vi khuẩn *N. gonorrhoeae*, phần lớn các bệnh nhân được điều trị theo kinh nghiệm bằng ceftriaxone đơn độc hoặc ceftriaxone kết hợp azithromycin. Việc phát hiện nhanh các trường hợp kháng ceftriaxone bằng xét nghiệm sinh học phân tử giúp cá thể hóa điều trị, tăng tỷ lệ thành công, giảm sự lây nhiễm vi khuẩn trong cộng đồng. Các xét nghiệm phát hiện kháng thuốc còn giúp theo dõi, giám sát sự lưu hành của các kiểu gen đề kháng lưu hành, từ đó kiểm soát sự lan rộng của kháng thuốc. Mặc dù, xét nghiệm real-time PCR trong nghiên cứu này đã đạt được những kết quả nhất định trong việc phát hiện kháng thuốc, với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt đạt 60,66% và 94,29%, vẫn cần có thêm các cải tiến bổ sung, phát hiện được các kiểu gen kháng thuốc mới xuất hiện, giúp tăng độ nhạy của xét nghiệm.

5. KẾT LUẬN

Tại Việt Nam, tỷ lệ *N. gonorrhoeae* kháng ceftriaxone, lựa chọn cuối cùng trong điều trị lậu cầu theo kinh nghiệm, đang ở mức đáng báo động. Đột biến trên gen penA có vai trò then chốt cơ chế kháng thuốc của *Neisseria gonorrhoeae*. Việc xác định các chủng *Neisseria gonorrhoeae* kháng thuốc trên lâm sàng, đặc biệt chẩn đoán nhanh bằng các phương pháp sinh học phân tử, dần trở thành thiết yếu, giúp tăng tỷ lệ điều trị thành công, đồng thời kiểm soát và giám sát sự lan truyền của các kiểu gen gây kháng thuốc. Bộ kit real-time PCR được sử dụng trong nghiên cứu này đã đạt được những kết quả nhất định, tuy nhiên cần tiếp tục cải thiện để nâng cao hiệu suất phát hiện các chủng vi khuẩn kháng thuốc.

6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] WHO Gonococcal AMR Surveillance Programme (WHO-GASP) [Internet]. [cited 2026 Apr 13]. Available from: https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/who-gonococcal-amr-surveillance-programme-who-gasp

[2] Hal SJ van, Lahra MM, Whiley DM. Determining targets for ceftriaxone resistance detection in Neisseria gonorrhoeae based on genotype–phenotype data: an observational study. Lancet Microbe. 2025 Nov 1;6(11). DOI:10.1016/j.lanmic.2025.101199 PubMed PMID: 41075810.

[3] Dm W, L M, Av J, G N, Mm L. Direct Detection of penA Gene Associated with Ceftriaxone-Resistant Neisseria gonorrhoeae FC428 Strain by Using PCR. Emerg Infect Dis. 2018 Aug;24(8). DOI:10.3201/eid2408.180295 PubMed PMID: 30016236.

[4] Hh H, Za D, Dh M, Jm D, Jm M, D S. Multicenter trial of single-dose azithromycin vs. ceftriaxone in the treatment of uncomplicated gonorrhea. Azithromycin Gonorrhea Study Group. Sex Transm Dis. 1994 Apr;21(2). DOI:10.1097/00007435-199403000-00010 PubMed PMID: 9071422.

[5] X Z, Y X, X G, S C. Ceftriaxone-Resistant Gonorrhea - China, 2022. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2024 Mar 28;73(12). DOI:10.15585/mmwr.mm7312a2 PubMed PMID: 38547027.

[6] V O, Ls H, M V, S D, Mm L, R F, et al. High prevalence of ceftriaxone-resistant and XDR Neisseria gonorrhoeae in several cities of Cambodia, 2022-23: WHO Enhanced Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme (EGASP). JAC-Antimicrob Resist. 2024 Apr 4;6(2). DOI:10.1093/jacamr/dlae053 PubMed PMID: 38577702.

[7] Unemo M, Workowski K. Dual antimicrobial therapy for gonorrhoea: what is the role of azithromycin? Lancet Infect Dis. 2018 May;18(5):486–8. DOI:10.1016/S1473-3099(18)30162-2 PubMed PMID: 29523498; PubMed Central PMCID: PMC6748319.

[8] Trang TM, Tâm NT, Thanh LV, Phương PTM, Lan PT, Doorn HR. Cơ chế phân tử của tính kháng Cephalosporin của Neisseria gonorrhoeae thu thập tại Việt Nam năm 2019 - 2020. Tạp Chí Nghiên Cứu Học. 2022 Feb 22;150(2):189–201. DOI:10.52852/tcncyh.v150i2.722