Vietnam Journal of Community Medicine, Vol. 67, Special Issue 14, 326-331

DISTRIBUTION OF BETA-LACTAM RESISTANCE GENES IN KLEBSIELLA PNEUMONIAE AT NGUYEN TRI PHUONG HOSPITAL

Nguyen Minh Ha[1,2], Tran Van Loi[2]

[1]*Center for Biomedical Research and Testing, Pham Ngoc Thach University of Medicine – 02 Duong Quang Trung, Hoa Hung Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam*

[2]*Department of Laboratory Medicine, Nguyen Tri Phuong Hospital – 468 Nguyen Trai, An Dong Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam*

Received: 12/05/2026
Reviced: 20/07/2026; Accepted: 08/09/2026

SUMMARY

Objectives: To determine the prevalence and distribution of beta-lactam resistance genes (AmpC, ESBL, carbapenemase) in 388 *K. pneumoniae* strains isolated from inpatients at Nguyen Tri Phuong Hospital, and to evaluate the genotype–phenotype association.

Methods: Cross-sectional descriptive study on 388 *K. pneumoniae* strains, March 2024–June 2025. Antimicrobial susceptibility testing followed CLSI M100-Ed35 (2025); genes were detected by multiplex real-time PCR.

Results: ESBL genes were detected in 52.1%, carbapenemase in 42.5%, and AmpC in 16.2%. ESBL + carbapenemase co-existence was found in 32.5%; bla_{NDM} + bla_{OXA-48} was the most common combination (19.6%). bla_{NDM}, bla_{OXA-48} , and bla_{KPC} were significantly associated with imipenem resistance ($p < 0.00001$). Genotypic ESBL (52.1%) and AmpC (16.2%) prevalence exceeded their phenotypic counterparts (28.9% and 5.9%).

Conclusions: *K. pneumoniae* at this hospital carries a high burden of beta-lactam resistance genes, notably bla_{NDM} + bla_{OXA-48} co-existence, with genotypic rates exceeding phenotypic detection, underscoring the complementary role of molecular testing in resistance surveillance.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*; beta-lactamase; ESBL; AmpC; carbapenemase; antimicrobial resistance.

*Corresponding author
Email: nguyenminhha@pnt.edu.vn **Phone**: (+84) 989212392 **DOI:** 10.52163/yhc.v67iCD14.6586

PHÂN BỐ CÁC GEN KHÁNG BETA-LACTAM TRÊN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* TẠI BỆNH VIỆN NGUYỄN TRI PHƯƠNG

Nguyễn Minh Hà[1,2], Trần Văn Lợi[2]

[1]*Trung tâm Xét nghiệm và Nghiên cứu Y sinh, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch – số 02 Dương Quang Trung, phường Hòa Hưng, Thành Phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*

[2]*Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Nguyễn Tri Phương – số 468 Nguyễn Trãi, phường An Đông, Thành Phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*

Ngày nhận bài: 12/05/2026
Ngày chỉnh sửa: 20/07/2026; Ngày duyệt đăng: 08/09/2026

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định tỷ lệ và phân bố các gen kháng kháng sinh nhóm beta-lactam (AmpC, ESBL, carbapenemase) trên 388 chủng *Klebsiella pneumoniae* phân lập từ người bệnh nội trú tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương; đánh giá mối liên quan giữa kiểu gen và kiểu hình kháng kháng sinh tương ứng.

Phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 388 chủng *K. pneumoniae*, tháng 03/2024–06/2025. Kháng sinh đồ theo CLSI M100-Ed35 (2025); gen AmpC, ESBL và carbapenemase phát hiện bằng multiplex real-time PCR.

Kết quả: Nhóm gen mã hoá ESBL chiếm 52,1%, carbapenemase 42,5%, AmpC 16,2%. Đồng tồn tại ESBL + carbapenemase chiếm 32,5%; tổ hợp bla_{NDM} + bla_{OXA-48} phổ biến nhất (19,6%). Gen bla_{NDM}, bla_{OXA-48} và bla_{KPC} đều liên quan có ý nghĩa thống kê với kháng imipenem ($p < 0,00001$). Tỷ lệ kiểu gen ESBL (52,1%) và AmpC (16,2%) cao hơn kiểu hình tương ứng (28,9% và 5,9%).

Kết luận: *K. pneumoniae* nội trú tại bệnh viện mang gánh nặng gen kháng beta-lactam đáng kể, đặc biệt tổ hợp bla_{NDM} + bla_{OXA-48} , với tỷ lệ kiểu gen vượt kiểu hình, nhấn mạnh vai trò hỗ trợ của xét nghiệm phân tử trong giám sát kháng thuốc.

Từ khóa: *Klebsiella pneumoniae*; beta-lactamase; ESBL; AmpC; carbapenemase; kháng kháng sinh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Klebsiella pneumoniae thuộc họ *Enterobacterales*, là tác nhân gây nhiễm khuẩn bệnh viện quan trọng, đặc biệt viêm phổi, nhiễm khuẩn huyết và nhiễm khuẩn tiết niệu. Vi khuẩn này được Tổ chức Y tế Thế giới xếp vào nhóm ưu tiên cực kỳ nguy cấp do khả năng tích lũy đa cơ chế kháng beta-lactam, bao gồm beta-lactamase phổ rộng (ESBL), AmpC và carbapenemase [1]. Thêm vào đó, *K. pneumoniae* có khả năng tích lũy và đồng mang nhiều gen kháng beta-lactam, bao gồm ESBL, AmpC và carbapenemase, tạo ra các kiểu hình kháng thuốc phức tạp trong môi trường bệnh viện [2].

Trong thực hành lâm sàng, kháng sinh đồ thường quy phản ánh mức độ nhạy cảm với kháng sinh nhưng không trực tiếp phân biệt cơ chế enzyme cụ thể. Việc bổ sung xét nghiệm phân tử có thể hỗ trợ nhận diện các cơ chế kháng beta-lactam quan trọng, đặc biệt trong bối cảnh đồng tồn tại ESBL, AmpC và carbapenemase, từ đó cung cấp thêm dữ liệu cho giám sát kháng thuốc và kiểm soát lây lan trong bệnh viện. [3]. Các xét nghiệm phát hiện nhanh carbapenemase (như NG-Test CARBA-5, NG-Test OKO) được thiết kế chuyên biệt cho một nhóm cơ chế, không cung cấp thông tin về ESBL hay AmpC đồng thời. Kỹ thuật multiplex real-time PCR giải quyết giới hạn này bằng cách phát hiện đồng thời các gen từ cả ba nhóm: ESBL (bla_{CTX-M}), AmpC (bla_{DHA}, bla_{CIT}, bla_{CMY}) và carbapenemase (bla_{NDM}, bla_{OXA-23}, bla_{OXA-51}, bla_{OXA-48}, bla_{KPC}, bla_{VIM}) trong một lần chạy [4], đồng thời cung cấp dữ liệu về kiểu đồng tồn tại phức tạp phục vụ giám sát và kiểm soát lây lan tại bệnh viện.

Tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương, tỷ lệ kháng carbapenem ở *K. pneumoniae* ghi nhận xu hướng tăng qua các năm [5, 6], nhưng dữ liệu phân tử về gen kháng beta-lactam còn thiếu. Nghiên cứu này nhằm: (1) xác định tỷ lệ và phân bố các gen kháng beta-lactam (AmpC, ESBL, carbapenemase) trên 388 chủng *K. pneumoniae* phân lập từ người bệnh nội trú; (2) so sánh sự khác biệt về tỷ lệ mang gen và kiểu hình kháng kháng sinh tương ứng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế, địa điểm và thời gian: Nghiên cứu cắt ngang tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương, tháng 03/2024–06/2025. Số liệu trích từ đề tài cơ sở của bệnh viện (mã đề tài CS/NP/24/09).

Đối tượng nghiên cứu: Toàn bộ chủng *K. pneumoniae* phân lập lần đầu từ người bệnh nội trú, có đủ thông tin lâm sàng và kháng sinh đồ. Loại trừ chủng không phục hồi sau cấy tăng sinh hoặc tái định danh phân tử không phải *K. pneumoniae*. Tổng cộng 388 chủng được đưa vào phân tích, vượt cỡ mẫu tối thiểu 94 chủng tính theo công thức ước tính tỷ lệ ($p = 0,42$ ước tính từ dữ liệu giám sát nội bộ; $d = 0,1$, $\alpha = 0,05$). Các phân tích trên nhóm có $n < 10$ chủng được xem là thăm dò và không đủ lực thống kê để rút kết luận.

Kỹ thuật vi sinh và sinh học phân tử: Bệnh phẩm được nuôi cấy theo quy trình thường quy của phòng xét nghiệm. Vi khuẩn định danh sinh hóa (sinh phẩm IDS14

*Tác giả liên hệ
Email: nguyenminhha@pnt.edu.vn **Điện thoại**: (+84) 989212392 **DOI:** 10.52163/yhc.v67iCD14.6586

GNR, Nam Khoa, Việt Nam), kết hợp hình thái khuẩn lạc và nhuộm Gram, và tái định danh bằng cặp mồi đặc hiệu [4] trên toàn bộ 388 chủng. Kháng sinh đồ bằng khuếch tán đĩa giấy trên thạch Mueller-Hinton, với các kháng sinh: ampicillin, amoxicillin/clavulanate, cefotaxime, ceftazidime, cefoxitin, cefepime, imipenem, gentamicin, ciprofloxacin, trimethoprim/ sulfamethoxazole, lựa chọn và phiên giải theo CLSI M100-Ed35 [7], kèm kiểm tra chất lượng nội bộ định kỳ. Kiểu hình ESBL được xác định bằng phương pháp đĩa kết hợp trên thạch Mueller–Hinton với các cặp đĩa ceftazidime 30 µg/ceftazidime–clavulanic acid 30/10 µg và cefotaxime 30 µg/cefotaxime–clavulanic acid 30/10 µg; dương tính khi đường kính vùng ức chế tăng ≥5 mm. Kiểu hình AmpC cảm ứng được sàng lọc bằng phương pháp đặt gần hai đĩa cefoxitin 30 µg và ceftazidime 30 µg (khoảng cách ~20 mm), đọc dương tính khi vùng ức chế quanh ceftazidime bị dẹt hoặc biến dạng hình chữ D hướng về phía cefoxitin [8]. Đối với AmpC, đây là phương pháp sàng lọc bổ sung, không thuộc CLSI M100 chuẩn. DNA tách chiết bằng Instagene (Bio-Rad). Gen kháng thuốc phát hiện bằng multiplex real-time PCR (CFX96, Bio-Rad), sử dụng bộ mồi của Viện Nghiên cứu và Phát triển Vi sinh Lâm sàng Việt Nam (độ nhạy và độ đặc hiệu >90% so với NG-Test CARBA-5 cho nhóm carbapenemase) [4], bao gồm: AmpC (bla_{CIT}, bla_{DHA}, bla_{CMY}, bla_{EBC}), ESBL ($bla_{CTX\text{-}M\text{-}1}$, $bla_{CTX\text{-}M\text{-}9}$, $bla_{CTX\text{-}A/B}$) và carbapenemase (bla_{NDM}, $bla_{OXA\text{-}23}$, $bla_{OXA\text{-}51}$, $bla_{OXA\text{-}48}$, bla_{KPC}, bla_{VIM}). Panel được thiết kế dựa trên các trình tự gen đã công bố. Chu trình nhiệt: 95°C trong 15 phút; sau đó 40 chu kỳ 94°C 15 giây và 60°C 60 giây. Chủng mang gen đại diện làm chứng dương, DNA âm và mẫu không khuôn làm chứng âm trong mỗi mẻ chạy. Ngưỡng Ct ≤ 30 (LOD 10^3–10^4 CFU/mL) được chọn dựa trên thẩm định nội bộ. Ngưỡng dương tính: Ct ≤ 30 (áp dụng cho DNA tách chiết từ khuẩn lạc thuần chủng, không phải mẫu bệnh phẩm thô; tín hiệu Ct ≥ 30 từ khuẩn lạc thuần chủng được xem là không đặc hiệu và loại khỏi phân tích), đường cong khuếch đại điển hình, không có tín hiệu ở chứng âm; mỗi mẫu chạy ít nhất hai lần độc lập.

Các trường hợp không tương đồng giữa kiểu gen và kiểu hình (ví dụ chủng mang gen carbapenemase nhưng nhạy với imipenem), được xác minh bằng cách lặp lại đồng thời kháng sinh đồ, real-time PCR và đo MIC trên hệ thống tự động (Sensitire, ThermoFisher), dưới kiểm soát chất lượng nội bộ.

Phân tích số liệu: Stata 14.2 và R 4.5.2. Biến định tính trình bày bằng tần số và tỷ lệ phần trăm. So sánh tỷ lệ bằng Chi-bình phương hoặc Fisher's exact (khi tần số mong đợi < 5), ngưỡng ý nghĩa $p < 0,05$. Tất cả phân tích liên quan kiểu gen–kiểu hình là đơn biến, chưa hiệu chỉnh biến lâm sàng. Các phân tích dưới nhóm theo đặc điểm bệnh nhân được xem là thăm dò. Trong số 388 chủng *K. pneumoniae* của nghiên cứu hiện tại, 162 chủng là tập con đã được sử dụng trong một nghiên cứu trước về gen *mcr* tại cùng bệnh viện; nghiên cứu hiện tại mở rộng cỡ mẫu và phân tích các biến số khác, tập trung vào gen kháng beta-lactam và so sánh sự khác biệt về tỷ lệ phân bố gen với kiểu hình đề kháng tương ứng.

Đạo đức nghiên cứu: Được chấp thuận bởi Hội đồng đạo đức Bệnh viện Nguyễn Tri Phương, số 1120/NTP-HĐĐĐ ngày 11/06/2024.

3. KẾT QUẢ

3.1. Đặc điểm chung của quần thể nghiên cứu

Tổng cộng 388 chủng *K. pneumoniae* được đưa vào phân tích. Đặc điểm phân bố trình bày tại Bảng 1. Tuổi trung vị 66 (IQR 54–75), nam chiếm 54,4%. Bệnh phẩm hô hấp chiếm ưu thế (48,5%), 24,2% chủng phân lập từ khoa Hồi sức tích cực. Tỷ lệ kháng sinh đồ và kiểu hình ESBL/ AmpC trình bày tại Bảng 2.

Bảng 1. Đặc điểm chung của quần thể nghiên cứu (N = 388)

Đặc điểm	Phân nhóm	n	Tỷ lệ (%)
Tuổi (trung vị, [KTPV])	66 [54–75]	-	-
Nhóm tuổi	< 18 tuổi	2	0,5
	18–40 tuổi	26	6,7
	41–65 tuổi	150	38,7
	> 65 tuổi	210	54,1
Giới tính	Nam	211	54,4
	Nữ	177	45,6
Khoa lâm sàng	Các khoa nội	222	57,2
	HSTC	94	24,2
	Các khoa ngoại	72	18,6
Loại bệnh phẩm	Dịch đường hô hấp	188	48,5
	Mủ/dịch tiết	129	33,2
	Nước tiểu	44	11,3
	Máu	12	3,1
	Khác	15	3,9

KTPV: khoảng tứ phân vị; HSTC: Hồi sức tích cực; "-": không có dữ liệu.

Bảng 2. Tỷ lệ nhạy cảm kháng sinh và kiểu hình ESBL/ AmpC (N = 388)

Kháng sinh / Kiểu hình	Nhạy, n (%)	Kháng, n (%)
Ampicillin	0 (0)	388 (100)
Amoxicillin/clavulanate	198 (51,0)	190 (49,0)
Cefotaxime	178 (45,9)	210 (54,1)
Ceftazidime	206 (53,1)	182 (46,9)
Cefoxitin	295 (76,0)	93 (24,0)
Cefepime	209 (53,9)	179 (46,1)
Imipenem	267 (68,8)	121 (31,2)
Gentamicin	223 (57,5)	165 (42,5)
Ciprofloxacin	193 (49,7)	195 (50,3)
Trimethoprim/sulfamethoxazole	153 (39,4)	235 (60,6)
Kiểu hình ESBL(+) / AmpC(–)	112 (28,9%)	—
Kiểu hình ESBL(–) / AmpC(+)	23 (5,9%)	—
Kiểu hình ESBL(–) / AmpC(–)	253 (65,2%)	—

Không có chủng nào đồng thời ESBL(+)/AmpC(+) trên kháng sinh đồ thường quy, phù hợp với quy trình sàng lọc: test ESBL yêu cầu nhạy cefoxitin, trong khi test AmpC dựa trên kháng cefoxitin. Không ghi nhận mức trung gian (I) trên kháng sinh đồ. ESBL: extended-spectrum beta-lactamase; (+): dương tính; phiên giải theo CLSI M100-Ed35 [7]; "—": không có dữ liệu / dữ liệu không khảo sát.

3.2. Tỷ lệ và phân bố các gen kháng beta-lactam

Nhóm gen ESBL chiếm 52,1% (202/388), carbapenemase 42,5% (165/388), AmpC 16,2% (63/388). Chi tiết phân bố trình bày tại Bảng 3.

Tổ hợp ưu thế của từng nhóm lần lượt là: $bla_{CTX-A/B}$ + $bla_{CTX-M-1}$ (ESBL, 30,2%), bla_{DHA} đơn độc (AmpC, 12,6%) và bla_{OXA-48} + bla_{NDM} (carbapenemase, 19,6%).

Về đồng tồn tại: ESBL + carbapenemase chiếm tỷ lệ cao nhất (32,5%). Có 36,9% chủng không mang gen nào trong panel với tỷ lệ kháng rất thấp (cefotaxime 5,6%, imipenem 1,4%), gợi ý các cơ chế khác như giảm tính thấm màng hoặc bơm tống xuất đóng vai trò thứ yếu.

Bảng 3. Các kiểu tổ hợp gen sinh ESBL, AmpC và carbapenemase ở *K. pneumoniae* (N = 388)

Nhóm gen	Gen / Tổ hợp gen	n	% (*)
AmpC	bla_{DHA} đơn độc	49	12,6
	bla_{DHA} + bla_{EBC}	5	1,3
	bla_{EBC} đơn độc	4	1,0
	bla_{CIT} + bla_{CMY}	2	0,5
	bla_{CIT} đơn độc	1	0,3
	bla_{CMY} đơn độc	1	0,3
	bla_{CIT} + bla_{DHA}	1	0,3
ESBL	$bla_{CTX-A/B}$ + $bla_{CTX-M-1}$	117	30,2
	$bla_{CTX-M-1}$ đơn độc	46	11,9
	$bla_{CTX-M-9}$ đơn độc	19	4,9
	$bla_{CTX-A/B}$ + $bla_{CTX-M-9}$	11	2,8
	$bla_{CTX-A/B}$ đơn độc	5	1,3
	$bla_{CTX-M-1}$ + $bla_{CTX-M-2}$	1	0,3
	$bla_{CTX-M-1}$ + $bla_{CTX-M-9}$	1	0,3
	$bla_{CTX-A/B}$ + $bla_{CTX-M-1}$ + $bla_{CTX-M-9}$	2	0,5
Carbapenemase	bla_{OXA-48} + bla_{NDM}	76	19,6
	bla_{OXA-48} đơn độc	51	13,1
	bla_{NDM} đơn độc	15	3,9
	bla_{KPC} đơn độc	13	3,4
	bla_{OXA-48} + bla_{KPC} + bla_{NDM}	2	0,5
	bla_{OXA-48} + bla_{OXA-51} + bla_{OXA-23} + bla_{NDM}	3	0,8
	bla_{OXA-48} + bla_{KPC}	1	0,3
	bla_{VIM} đơn độc	1	0,3
	bla_{VIM} + bla_{NDM}	1	0,3
	bla_{OXA-51} + bla_{OXA-23}	1	0,3
	bla_{OXA-51} + bla_{OXA-23} + bla_{KPC}	1	0,3

(*) Tỷ lệ tính trên tổng 388 chủng.

Tỷ lệ kháng theo nhóm gen: Nhóm mang gen carbapenemase kháng imipenem 40 – 82%, nhóm ESBL đơn độc 7,7%, nhóm không mang gen ≤ 6,3% (Bảng 4).

Carbapenemase và kháng imipenem: Trong 165 chủng mang gen carbapenemase, 114 (69,1%) kháng imipenem, so với chỉ 7/223 (3,1%) ở nhóm không mang gen (p < 0,00001). Các gen bla_{NDM}, bla_{OXA-48} và bla_{KPC} đều có tỷ lệ kháng imipenem cao hơn các chủng không mang gen với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Đáng chú ý, 51 chủng (30,9%) mang gen carbapenemase nhưng nhạy imipenem trên kháng sinh đồ thường quy, chủ yếu là bla_{OXA-48} đơn độc (28 chủng, phù hợp với hoạt tính thủy phân carbapenem thấp khi thiếu cơ chế phối hợp), 16 chủng bla_{NDM} + bla_{OXA-48}, và 7 chủng kiểu gen khác.

So sánh kiểu gen – kiểu hình: Tỷ lệ kiểu gen ESBL (52,1%) cao hơn kiểu hình (28,9%), với 99 chủng mang gen nhưng không biểu hiện trên kháng sinh đồ. Kiểu gen AmpC (16,2%) cao gấp gần 3 lần kiểu hình (5,9%). Ở nhóm kháng imipenem, , bla_{NDM} và bla_{OXA-48} hiện diện lần lượt ở 63,6% và 72,7%, so với 7,5% và 16,9% ở nhóm nhạy (p < 0,00001); $bla_{CTX-M-1}$ hiện diện ở 75,0% nhóm ESBL(+) so với 29,4% nhóm ESBL(–) (p < 0,00001). Kết quả ghi nhận các trường hợp bất tương đồng giữa kiểu hình và kiểu gen được trình bày ở Phụ luc.

Bảng 4. So sánh kiểu gen – kiểu hình kháng β-lactam ở K. pneumoniae (N = 388)

Nhóm gen (+)	n (%)	Kháng Cefotaxime, n (%)	Kháng Imipenem, n (%)	Kiểu hình AmpC(+), n (%)	Kiểu hình ESBL(+), n (%)
AmpC + ESBL + Carbapenemase	17 (4,4%)	10 (58,8%)	7 (41,2%)	2 (11,8%)	6 (35,3%)
ESBL + Carbapenemase	126 (32,5%)	118 (93,7%)	91 (72,2%)	0	48 (38,1%)
AmpC + Carbapenemase	5 (1,3%)	3 (60,0%)	2 (40,0%)	4 (80,0%)	1 (20,0%)
AmpC + ESBL	16 (4,1%)	13 (81,3%)	0	2 (12,5%)	11 (68,8%)
Carbapenemase đơn độc	17 (4,4%)	13 (76,5%)	14 (82,4%)	1 (5,9%)	3 (17,6%) #
ESBL đơn độc	39 (10,1%)	36 (92,3%)	2 (7,7%)	0	34 (87,2%)
AmpC đơn độc	25 (6,4%)	9 (36,0%)	2 (8,0%)	12 (48,0%)	4 (16,0%)
Không mang gen	143 (36,9%)	8 (5,6%)	2 (1,4%)	3 (2,1%)	5 (3,5%)
p-value*	—	< 0,00001	< 0,00001	< 0,00001	< 0,00001

*(+): dương tính. # Ba chủng mang carbapenemase đơn độc có kiểu hình ESBL(+) gồm 2 chủng KPC và 1 chủng OXA-48; xem bàn luận. *Kiểm định Fisher's exact*

4. BÀN LUẬN

Tỷ lệ và phân bố gen kháng beta-lactam

Nghiên cứu ghi nhận gánh nặng gen kháng beta-lactam đáng kể trên *K. pneumoniae* nội trú: ESBL 52,1%, carbapenemase 42,5%, AmpC 16,2%. $bla_{CTX-M-1}$ và $bla_{CTX-A/B}$ là gen ESBL ưu thế, phù hợp với sự chiếm ưu thế toàn cầu của nhóm bla_{CTX-M} trong *Enterobacterales* kháng thuốc [10]. Gen AmpC chủ yếu là bla_{DHA} (54/63 chiếm 85,7%, bao gồm cả đơn độc và phối hợp). Gánh nặng carbapenemase đặc biệt đáng lo ngại: bla_{OXA-48} (34,3%) và bla_{NDM} (25,0%) chiếm ưu thế, với tổ hợp bla_{NDM} + bla_{OXA-48} chiếm 19,6% - cao hơn hầu hết báo cáo trong khu vực và tương đồng với các khoa HSTC tuyến cuối ghi nhận tại miền Bắc Việt Nam [6]. *So với E. coli* tại cùng bệnh viện, tỷ lệ carbapenemase ở *K. pneumoniae* cao hơn rõ rệt (42,5% so với 5,7%), phản ánh vai trò đặc thù của *K. pneumoniae* như 'vật mang' gen kháng thuốc trong môi trường bệnh viện [2]. Tổ hợp này tạo thách thức điều trị lớn vì ceftazidime-avibactam, lựa chọn ưu tiên cho bla_{OXA-48} theo IDSA 2024 [3], không đủ hiệu quả khi đồng mang bla_{NDM} [9]. Tỷ lệ kháng imipenem (31,2%) cao hơn so với dữ liệu giám sát toàn quốc [5] nhưng phản ánh đặc thù bệnh viện tuyến cuối với tỷ lệ bệnh nhân HSTC và tiền sử dùng kháng sinh phổ rộng cao. Kết quả cần thận trọng khi khái quát hóa ra cộng đồng.

Đáng chú ý, 143 chủng (36,9%) không mang gen nào trong panel, với tỷ lệ kháng rất thấp (cefotaxime 5,6%, imipenem 1,4%), có thể do cơ chế mất porin, bơm tống xuất. Ngoài ra, panel PCR không bao phủ toàn bộ các gen beta-lactamase quan trọng như bla_{TEM}, bla_{SHV}, bla_{OXA-1} và nhiều biến thể khác; do đó, các kết quả âm tính hoặc không tương hợp giữa kiểu gen và kiểu hình không loại trừ hoàn toàn sự hiện diện của cơ chế beta-lactamase ngoài panel.

So sánh tỷ lệ mang gen và kiểu hình đề kháng

Sự phân tầng rõ ràng theo nhóm gen xác nhận panel PCR bao phủ tốt các cơ chế kháng beta-lactam chủ yếu. Tuy nhiên, bất tương đồng kiểu gen - kiểu hình quan sát được ở cả ba nhóm, với mức độ và cơ chế khác nhau. Nghiên cứu không ghi nhận chủng nào ở mức trung gian (I) trên kháng sinh đồ. Điều này phản ánh đặc điểm phân bố phân cực điển hình của *K. pneumoniae* đa kháng tại bệnh viện tuyến cuối. Tuy nhiên, không loại trừ một tỷ lệ nhỏ chủng có mức kháng tại sát cut-off, đặc biệt ở nhóm mang gen hoạt tính thủy phân thấp như bla_{OXA-48}, bị phân loại nhầm vào nhóm nhạy do độ phân giải của khuếch tán đĩa giấy thấp hơn MIC.

Tỷ lệ phát hiện gen ESBL trong panel (52,1%) cao hơn tỷ lệ kiểu hình ESBL dương tính (28,9%). Sự khác biệt này không nên được diễn giải đơn thuần là các gen ESBL không biểu hiện, vì xét nghiệm PCR chỉ xác định sự hiện diện của đích gen được khảo sát, trong khi kiểu hình ESBL phụ thuộc vào mức độ biểu hiện, hoạt tính enzyme, bối cảnh đồng tồn tại các cơ chế kháng khác và giới hạn của phương pháp thử nghiệm. Ở các chủng đồng mang ESBL với carbapenemase hoặc AmpC, kết quả thử nghiệm ESBL bằng chất ức chế có thể khó diễn giải hơn, làm tăng khả năng bất tương đồng giữa kiểu gen và kiểu hình. Tương tự, tỷ lệ AmpC kiểu hình thấp hơn tỷ lệ gen AmpC cần được hiểu trong bối cảnh Cefoxitin–Ceftazidime D-test chỉ là phương pháp sàng lọc và chưa được chuẩn hóa như tiêu chuẩn xác nhận AmpC theo CLSI.

Đối với nhóm carbapenemase, 51 chủng nhạy imipenem dù mang gen, trong đó chủ yếu là bla_{OXA-48} đơn độc, phù hợp với hoạt tính thủy phân carbapenem thấp của enzyme này khi thiếu cơ chế phối hợp như mất porin [9]. Đây là nhóm có nguy cơ lây lan gen carbapenemase mà kháng sinh đồ đơn thuần không phát hiện được. Ngoài ra, 3 chủng mang carbapenemase đơn độc cho kiểu hình ESBL(+): 2 chủng *blaKPC* có thể do KPC bị ức chế một phần bởi clavulanate (dương tính giả combination disk test); 1 chủng bla_{OXA-48} có cơ chế chưa xác định, không loại trừ gen ESBL nằm ngoài panel PCR. Đáng chú ý, nhóm carbapenemase đơn độc có tỷ lệ kháng imipenem cao nhất (82,4%), phản ánh thành phần chủ yếu là *blaNDM* và *blaKPC* đơn độc (15/17 chủng) vốn có hoạt tính thủy phân carbapenem mạnh hơn bla_{OXA-48}; trong khi tỷ lệ kháng imipenem thấp hơn ở nhóm đồng mang ESBL + carbapenemase (72,2%) có thể do tỷ lệ lớn chủng mang bla_{OXA-48} **đơn độc trong nhóm này.**

16 chủng đồng mang bla_{NDM} + bla_{OXA-48} nhưng còn nhạy imipenem trên kháng sinh đồ là nhóm bất tương đồng cần được diễn giải thận trọng. Do NDM thường liên quan đến giảm nhạy cảm carbapenem, kết quả này cần được kiểm tra nhằm loại trừ các khả năng như sai lệch kỹ thuật kháng sinh đồ, lỗi nhập liệu, tín hiệu PCR không đặc hiệu, gen không chức năng hoặc biểu hiện gen thấp. Vì vậy, các chủng này nên được trình bày trong bảng phụ về bất tương đồng kiểu gen–kiểu hình và ưu tiên xác nhận bằng MIC carbapenem, lặp lại PCR độc lập hoặc giải trình tự trước khi kết luận trên kháng sinh đồ thường quy. Ngoài ra, một số chủng cho tín hiệu bla_{OXA-51} và/hoặc bla_{OXA-23} bằng MPL-rPCR. Đây vốn là các gen carbapenemase đặc trưng của *A. baumannii*, các báo cáo trên *K. pneumoniae* còn hạn chế. Do đó, trước khi kết luận cần loại trừ các tín hiệu không điển hình đối với *K. pneumoniae*. Do nghiên cứu hiện tại chưa có xác nhận độc lập bằng giải trình tự hoặc WGS, các tín hiệu này được trình bày với tính chất thận trọng và không được diễn giải như phát hiện đã được xác nhận. Các chủng liên quan nên được xem là nhóm cần xác minh thêm, thay vì dùng làm cơ sở cho các diễn giải chính về phân bố carbapenemase trong nghiên cứu.

Hạn chế của nghiên cứu

Nghiên cứu có một số hạn chế cần được cân nhắc khi diễn giải kết quả. Trước hết, đây là nghiên cứu đơn trung tâm trên các chủng phân lập từ người bệnh nội trú, với tỷ lệ cao bệnh phẩm hô hấp và mẫu từ khoa hồi sức tích cực. Do đó, tỷ lệ gen kháng beta-lactam ghi nhận có thể phản ánh gánh nặng kháng thuốc của một quần thể nguy cơ cao trong bệnh viện, hơn là tỷ lệ lưu hành chung của *K. pneumoniae* trong cộng đồng hoặc tại các cơ sở y tế khác. Thứ hai, kiểu hình kháng carbapenem chủ yếu được đánh giá bằng imipenem trên kháng sinh đồ khuếch tán đĩa giấy, phương pháp có độ phân giải thấp hơn MIC và có thể phân loại chưa chính xác các chủng có MIC gần điểm gãy, đặc biệt ở nhóm mang *OXA-48* hoặc có mức biểu hiện carbapenemase thấp. Vì vậy, các trường hợp carbapenemase(+)/imipenem(S) cần được xem là bất tương đồng kiểu gen–kiểu hình và cần xác nhận thêm, bằng các kỹ thuật chuyên sâu hơn như giải trình tự gen. Thứ ba, kiểu hình AmpC được đánh giá bằng Cefoxitin–Ceftazidime D-test, là phương pháp sàng lọc chưa được chuẩn hóa như tiêu chuẩn xác nhận AmpC theo CLSI. Do đó, tỷ lệ AmpC kiểu hình chỉ phản ánh sàng lọc dương tính, và sự khác biệt giữa kiểu gen và kiểu hình có thể do giới hạn phương pháp hoặc sự đồng tồn tại với các cơ chế kháng khác. Cuối cùng, panel PCR không bao phủ toàn bộ các gen beta-lactamase quan trọng, nên các chủng âm tính với panel không đồng nghĩa với không có cơ chế kháng. Đồng thời, phát hiện gen bằng PCR chỉ cho thấy sự hiện diện của đích gen, không khẳng định chắc chắn khả năng biểu hiện hoặc hoạt tính enzyme. Nhìn chung, các hạn chế này không phủ nhận giá trị giám sát của dữ liệu PCR, nhưng giới hạn mức độ diễn giải cơ chế và chủ yếu tập trung vào mô tả tỷ lệ. Ngoài ra, nghiên cứu này chủ yếu tập trung và mô tả và so sánh tỷ lệ kiểu gen so với kiểu hình nhằm tạo tiền đề và dữ liệu dịch tễ ban đầu cho các nghiên cứu chuyên sâu đánh giá mối liên quan kiểu gen–kiểu hình.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu ghi nhận sự hiện diện của các gen kháng beta-lactam thuộc nhóm ESBL, AmpC và carbapenemase ở các chủng *K. pneumoniae* phân lập từ người bệnh nội trú tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương. Một số chủng có đồng thời nhiều nhóm gen, trong đó có tổ hợp bla_{NDM} + bla_{OXA-48}.

Các kết quả này bổ sung dữ liệu phân tử cho hoạt động giám sát cơ chế kháng beta-lactam tại bệnh viện. Tuy nhiên, việc diễn giải cần được đặt trong bối cảnh giới hạn của phương pháp PCR, kháng sinh đồ khuếch tán đĩa giấy và phạm vi panel gen được khảo sát. Nghiên cứu không nhằm đưa ra khuyến nghị điều trị, không thay thế kháng sinh đồ thường quy hoặc các phương pháp xác nhận chức năng khi đánh giá tình trạng kháng thuốc.

6. LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí từ Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Bệnh viện Nguyễn Tri Phương (mã số CS/NP/24/09) và kỹ thuật phân tử từ Viện Nghiên cứu và Phát triển Vi sinh Lâm sàng Việt Nam.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] World Health Organization. WHO bacterial priority pathogens list, 2024. Geneva: World Health Organization; 2024.

[2] Wyres KL, Holt KE. Klebsiella pneumoniae as a key trafficker of drug resistance genes. Curr Opin Microbiol. 2018; 45: 131-139. doi: 10.1016/j.mib.2018.04.004

[3] Tamma PD, Heil EL, Justo JA, Mathers AJ, Satlin MJ, Bonomo RA. Infectious Diseases Society of America 2024 Guidance on the Treatment of Antimicrobial-Resistant Gram-Negative Infections. Clin Infect Dis. 2024; ciae403. doi: 10.1093/cid/ciae403.

[4] Phạm Hùng Vân, Lê Thị Kiều Thảo, Nguyễn Việt Quốc, Phạm Thiên Hương. Phát hiện gen kháng các kháng sinh hiện diện trong các trực khuẩn Gram âm thường gặp bằng kỹ thuật Multiplex real-time PCR. 2024; 544(chuyên đề: Kiểm soát nhiễm khuẩn – Vi sinh): 68-75. Truy vấn từ https://tapchiyhocvietnam.vn/index.php/vmj/article/view/11649.

[5] Nguyễn, Q. H., Lê, T. T. N., Võ, T. H., & Nguyễn, M. H. Tình hình đề kháng kháng sinh của Klebsiella pneumoniae tại bệnh viện Nguyễn Tri Phương giai đoạn 2019–2022. Tạp chí Y học Việt Nam. 2023;527(2):163-167. doi: https://doi.org/10.51298/vmj.v527i2.5871.

[6] Pham MH, Hoi LT, Beale MA, et al. Evidence of widespread endemic populations of highly multidrug resistant Klebsiella pneumoniae in hospital settings in Hanoi, Vietnam. Lancet Microbe. 2023; 4(4): e255-e263. doi: 10.1016/S2666-5247(22)00338-X.

[7] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 35th Edition. M100-Ed35. Malvern, PA: CLSI; 2025.

[8] Qin X, Weissman SJ, Chesnut MF, Zhang B, Shen L. Kirby-Bauer disc approximation to detect inducible third-generation cephalosporin resistance in Enterobacteriaceae. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2004; 3:13. doi: 10.1186/1476-0711-3-13.

[9] Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. J Antimicrob Chemother. 2012; 67(7): 1597-1606. doi: 10.1093/jac/dks121.

[10] Castanheira M, Simner PJ, Bradford PA. Extended-spectrum β-lactamases: an update. JAC Antimicrob Resist. 2021; 3(3): dlab092. doi: 10.1093/jacamr/dlab092.