

Xác định tần suất mang gen *erm*(B) và *mef*(A) ở các chủng *Streptococcus pneumoniae* kháng macrolide thu thập từ trẻ dưới 5 tuổi bị viêm phổi tại Nghệ An (2019-2021)

Bùi Anh Sơn¹, Dương Đình Chính², Lê Thị Hồng Hạnh³, Đỗ Ngọc Ánh^{4*}

¹Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An, 19 Tôn Thất Tùng, phường Hưng Dũng, TP Vinh, tỉnh Nghệ An, Việt Nam

²Sở Y tế Nghệ An, 18 Trường Thi, phường Trường Thi, TP Vinh, tỉnh Nghệ An, Việt Nam

³Bệnh viện Nhi Trung ương, 18/879 La Thành, phường Láng Thượng, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

⁴Học viện Quân y, 160 Phùng Hưng, phường Phúc La, quận Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 15/2/2022; ngày chuyển phản biện 17/2/2022; ngày nhận phản biện 10/3/2022; ngày chấp nhận đăng 15/3/2022

Tóm tắt:

Nghiên cứu nhằm xác định tần suất mang gen *erm*(B) và *mef*(A) ở các chủng phế cầu khuẩn kháng sinh macrolide thu thập từ trẻ dưới 5 tuổi bị viêm phổi tại Nghệ An (2019-2021). Nghiên cứu thực nghiệm trong phòng thí nghiệm trên 126 chủng phế cầu khuẩn kháng sinh macrolide trong thời gian từ tháng 11/2019 đến tháng 12/2021. Vi khuẩn phế cầu khuẩn phân lập từ trẻ dưới 5 tuổi bị viêm phổi được định danh bằng hình thái, hệ thống định danh VITEK® 2 Compact và cấp mỗi đặc hiệu. Mức độ nhạy cảm của phế cầu khuẩn với kháng sinh được xác định bằng hệ thống VITEK® 2 Compact và phân loại tình trạng kháng thuốc dựa vào nồng độ ức chế tối thiểu theo hướng dẫn của Viện Kiểm chuẩn Lâm sàng và Xét nghiệm Hoa Kỳ năm 2020. Sự có mặt của các gen *erm*(B) và *mef*(A) được xác định bằng các phản ứng PCR. Kết quả nghiên cứu trên 126 chủng phế cầu khuẩn kháng sinh macrolide cho thấy, tần suất mang gen *erm*(B) và *mef*(A) lần lượt là 92,1 và 57,9%. Tần suất mang ít nhất một trong hai gen này là 95,3% và tần suất mang đồng thời hai gen là 54,8%. Kết quả cho thấy, tần suất mang các gen *erm*(B) và *mef*(A) liên quan đến kháng thuốc nhóm macrolide ở phế cầu khuẩn rất phổ biến tại Nghệ An.

Từ khóa: *erm*(B), kháng thuốc, macrolide, *mef*(A), *Streptococcus pneumoniae*.

Chỉ số phân loại: 3.1

1. Đặt vấn đề

Phế cầu khuẩn (*Streptococcus pneumoniae*) là vi khuẩn gram dương, có dạng hình cầu, kỵ khí tùy nghi và gây tan máu alpha. Vi khuẩn này là mầm bệnh quan trọng gây ra viêm phổi cộng đồng, viêm xoang, viêm tai giữa, viêm màng não và nhiễm khuẩn huyết ở trẻ em dưới 5 tuổi với tỷ lệ tử vong cao [1]. Các bệnh do phế cầu khuẩn là vấn đề sức khỏe cộng đồng được quan tâm trên toàn thế giới [2]. Theo B. Wahl và cs (2018) [3], mỗi năm trên thế giới có khoảng 317.300 trẻ em dưới 5 tuổi tử vong do phế cầu khuẩn, tập trung chủ yếu ở các quốc gia có thu nhập thấp. Vi khuẩn này cũng có thể gây ra các nhiễm trùng xâm lấn ở người cao tuổi và người có hệ miễn dịch suy yếu [1].

Vào những năm 80-90 của thế kỷ trước, tình trạng kháng penicilin ở phế cầu khuẩn trở nên rất phổ biến nên các kháng sinh nhóm macrolide đã được lựa chọn sử dụng thay thế. Tuy nhiên, chính việc sử dụng các kháng sinh macrolide một cách rộng rãi dẫn tới tình trạng kháng kháng sinh macrolide lan rộng ở vi khuẩn này [4]. Tỷ lệ kháng kháng sinh macrolide của phế cầu khuẩn thay đổi theo khu vực địa lý, dao động từ 10 đến trên 90% [4]. Kháng thuốc nhóm macrolide ở cầu khuẩn nói chung và phế cầu khuẩn nói riêng thường do 2 cơ chế: (1) Thay đổi ở vị trí đích trên gen 23S ribosome làm kích hoạt sinh enzyme (được mã hóa bởi các gen thuộc họ *erm* như *erm*(A), *erm*(B), *erm*(C), *erm*(E) nằm trên plasmid của vi khuẩn) ngăn chặn quá

trình gắn thuốc vào vi khuẩn; (2) Tạo ra các kênh bơm thuốc ra khỏi vi khuẩn (được mã hóa bởi các gen như *mef* và *msr*) [4, 5]. Tình trạng kháng thuốc của phế cầu khuẩn ngày càng gia tăng, nhất là ở châu Á, khiến cho việc sử dụng kháng sinh theo kinh nghiệm trở nên ít hiệu quả [6]. Do vậy, những hiểu biết về tình trạng kháng thuốc và cơ chế kháng thuốc là rất cần thiết để đưa ra những hướng dẫn sử dụng kháng sinh phù hợp, hiệu quả trong điều trị các bệnh do phế cầu khuẩn [7].

Ở Việt Nam, tỷ lệ kháng kháng sinh nhóm macrolide ở phế cầu khuẩn khá cao (trên 75%) [8, 9] và một số gen như *erm*(A), *erm*(B), *mef*(A) và *msr*(D) đã được khảo sát, phân tích ở các chủng phế cầu khuẩn gây bệnh [10, 11]. Tuy nhiên, dữ liệu về các gen liên quan đến kháng thuốc của phế cầu khuẩn vẫn còn rất hạn chế, nhất là tại Nghệ An. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu xác định tần suất mang gen *erm*(B) và *mef*(A) ở các chủng phế cầu khuẩn kháng kháng sinh macrolide thu thập từ trẻ dưới 5 tuổi bị viêm phổi tại Nghệ An (2019-2021).

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Phân lập và định danh vi khuẩn *S. pneumoniae*

Trong nghiên cứu này, tổng số 126 chủng phế cầu khuẩn được phân lập từ dịch tị hầu/dờm của trẻ từ 2 đến 59 tháng tuổi bị viêm phổi cấp tại Bệnh viện Sản nhi Nghệ An trong

*Tác giả liên hệ: Email: dranhk61.vmmu@gmail.com

Prevalence of *mef(A)* and *erm(B)* in macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates in children with pneumonia in Nghe An (2019-2021)

Anh Son Bui¹, Dinh Chinh Duong²,
Thi Hong Hanh Le³, Ngoc Anh Do^{4*}

¹Nghe An Obstetrics and Pediatrics Hospital,
19 Ton That Tung Street, Hung Dung Ward, Vinh City, Nghe An Province, Vietnam

²Nghe An Department of Health,
18 Trung Thi Street, Trung Thi Ward, Vinh City, Nghe An Province, Vietnam

³National Pediatrics Hospital,
18/879 La Thanh Street, Lang Thuong Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

⁴Vietnam Military Medical University,
160 Phung Hung Street, Phuc La Ward, Ha Dong District, Hanoi, Vietnam

Received 15 February 2022; revised 10 March 2022; accepted 15 March 2022

Abstract:

The present study aimed to determine the incidence of *erm(B)* and *mef(A)* among macrolide-resistant *S. pneumoniae* isolated in children with pneumonia in Nghe An province (2019-2021). A total of 126 clinical pneumococcal strains isolated from unvaccinated children less than 5 years of age with pneumonia at the Nghe An Obstetrics and Pediatrics Hospital, Vietnam during the period from Nov 2019 and Dec 2021. All strains were identified using conventional microbiological method, VITEK® 2 Compact system and specific PCR. The antimicrobial resistance patterns of pneumococcal strains were determined using the VITEK® 2 Compact system. Polymerase chain reaction (PCR) assay were used to detect the macrolide resistance genes *erm(B)* and *mef(A)*. Of the 126 isolates, 92.1% (116 of 126) were PCR positive for *erm(B)* and 57.9% (73 of 126) were PCR positive for *mef(A)*. 120 (95.3%) had the *mef(A)* and/or the *erm(B)* gene and 54.8% of strains were both *erm(B)* and *mef(A)* positive. The findings of the current study showed high prevalence of the *mef(A)* and *erm(B)* genes among macrolide-resistant *S. pneumoniae* isolates in children with pneumonia in Nghe An province.

Keywords: antibiotic resistance, *erm(B)*, macrolide, *mef(A)*, *Streptococcus pneumoniae*.

Classification number: 3.1

thời gian từ tháng 11/2019 đến tháng 12/2021. Mẫu dịch tị hầu/đờm được lấy bởi bác sỹ chuyên khoa nhi và chuyển tới labo xét nghiệm vi sinh trong vòng 2 giờ để phân lập vi khuẩn. Tất cả các mẫu bệnh phẩm được ủ trên đĩa thạch máu chứa 5% máu cừu (Himedia, Ấn Độ) ở 37°C trong tủ nuôi cấy chứa 5% CO₂ trong thời gian 18-24 giờ. Những mẫu mọc vi khuẩn sẽ được cấy chuyển sang đĩa thạch máu khác rồi phân tích hình thái bằng nhuộm gram và định danh bằng hệ thống VITEK® 2 Compact (bioMérieux, North Carolina 27712, Hoa Kỳ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Những mẫu chưa mọc vi khuẩn được ủ thêm 24 giờ trước khi kết luận âm tính và loại bỏ. Mẫu dương tính với phẩy cầu khuẩn tiếp tục được khẳng định bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu *cpsA-F* (5'-GCA GTA CAG CAG TTT GTT GGA CTG ACC-3') và *cpsA-R* (5'-GAA TAT TTT CAT TAT CAG TCC CAG TC-3') thiết kế trên gen *cps(A)* cho phẩy cầu khuẩn được tham khảo trong một nghiên cứu trước [12]. Sau đó, 22 chủng phẩy cầu khuẩn đại diện được chạy PCR và gửi giải trình tự một phần gen 16S tại Hãng Apical Scientific Sdn. Bhd (Selangor, Malaysia) sử dụng cặp mồi 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') và 1492R (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3') [13].

2.2. Xác định tình trạng kháng thuốc

Các chủng vi khuẩn được xác định mức độ nhạy cảm với các kháng sinh, trong đó có các kháng sinh azithromycin, clarithromycin, erythromycin thuộc nhóm macrolide bằng hệ thống VITEK® 2 Compact theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Thông qua nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), các chủng phẩy cầu khuẩn được phân loại nhạy, trung gian, kháng với các kháng sinh dựa theo tài liệu M100 của Viện Kiểm chuẩn lâm sàng và Xét nghiệm Hoa Kỳ năm 2020 [14]. Chủng *S. pneumoniae* ATCC 49619 được sử dụng làm chủng chuẩn tham chiếu. Các chủng được khẳng định là phẩy cầu khuẩn và kháng với ít nhất một trong 3 kháng sinh azithromycin, clarithromycin, erythromycin sẽ được đưa vào xác định tần suất có mặt của các gen *erm(B)* và *mef(A)*.

2.3. Xác định tần suất mang gen *erm(B)* và *mef(A)* ở phẩy cầu khuẩn

Các phản ứng PCR được sử dụng để xác định tần suất mang gen *erm(B)* và *mef(A)* ở các chủng phẩy cầu khuẩn kháng kháng sinh macrolide. Cụ thể, sự có mặt của gen *erm(B)* ở các chủng phẩy cầu khuẩn được xác định bằng cặp mồi *ermB-F* (5'-TGG TAT TCC AAA TGC GTA ATG-3') và *ermB-R* (5'-CTG TGG TAT GGC GGG TAA GT-3') cho sản phẩm có kích thước 745 bp [15]. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR như sau: một chu kỳ 95°C trong 5 phút; tiếp theo là 35 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm 3 bước 94°C trong 45 giây, 61°C trong 45 giây và 72°C trong 90 giây; cuối cùng là 1 chu kỳ 72°C trong 10 phút. Sự có mặt của gen *mef(A)* được xác định bằng cặp mồi *mef(A)-F* (5'-AGT ATC ATT AAT CAC TAG TGC-3') và *mef(A)-R* (5'-TTC TTC TGG TAC TAA AAG TTG-3') cho sản phẩm kích thước 348 bp [16]. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR như sau: một chu kỳ 95°C trong 5 phút; tiếp theo là 35 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm 3

bước 94°C trong 30 giây, 50°C trong 30 giây và 72°C trong 30 giây; cuối cùng là 1 chu kỳ 72°C trong 10 phút.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu nghiên cứu được nhập liệu và phân tích bằng phần mềm thống kê IBM SPSS phiên bản 20.0 (Armonk, New York, Hoa Kỳ). Trình tự gen 16S của phế cầu khuẩn được chỉnh sửa, ghép cặp và xây dựng cây phả hệ bằng chương trình MEGA6.06, sử dụng phương pháp kết nối liền kề NJ (Neighborjoining) với hệ số tin cậy bootstrap là 1.000 lần lặp lại. Các trình tự thu được được so sánh với trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen (NCBI) sử dụng công cụ BLAST tại trang web <http://ncbi.nlm.nih.gov> của Trung tâm Thông tin Công nghệ Sinh học Quốc gia Hoa Kỳ.

2.5. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

Cha mẹ của trẻ tham gia được thông tin về mục đích của nghiên cứu và ký vào bản chấp thuận tham gia nghiên cứu trước khi việc lấy mẫu bệnh phẩm được tiến hành. Quy trình và các khía cạnh đạo đức trong nghiên cứu được thông qua Hội đồng đạo đức của Viện Sốt rét, Ký sinh trùng và Côn trùng Trung ương tại Quyết định số 225/QĐ-VSR vào tháng 3/2018. Thông tin của trẻ tham gia được bảo mật và chỉ sử dụng vào mục đích nghiên cứu.

3. Kết quả

3.1. Một số đặc điểm của đối tượng nghiên cứu (bảng 1)

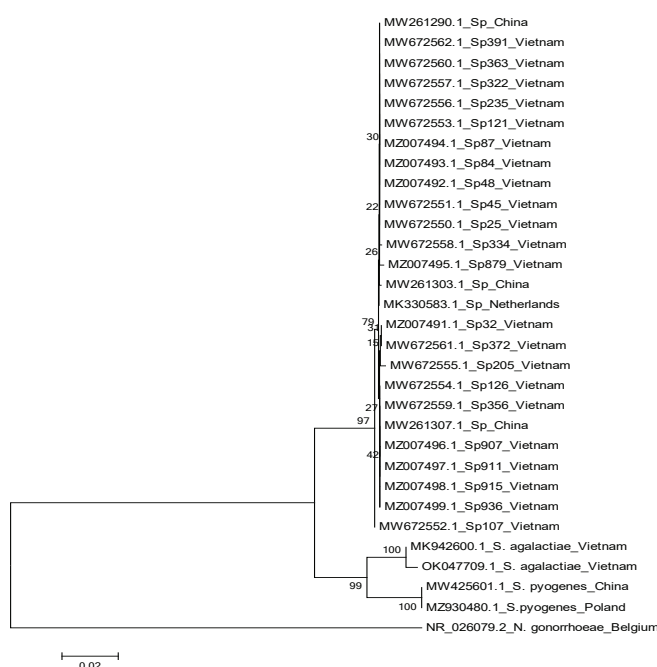
Bảng 1. Một số đặc điểm của đối tượng nghiên cứu (n=126).

Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Giới tính		
Nam	82	65,1
Nữ	44	34,9
Nhóm tuổi		
≤24 tháng	96	76,2
>24 tháng	30	23,8

Trong nghiên cứu này, trẻ em nam chiếm 65,1% cao hơn so với trẻ em nữ 34,9%. Đa số trẻ bị viêm phổi cấp có độ tuổi dưới 24 tháng (76,2%).

3.2. Kết quả định danh các chủng phế cầu khuẩn

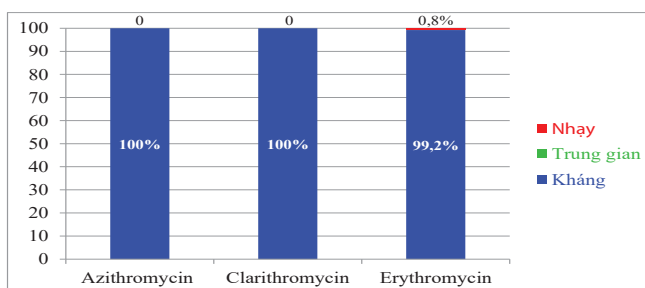
Toàn bộ 126 chủng nuôi cấy dương tính với phế cầu khuẩn đều có kết quả PCR dương tính với gen *cpsA*. Trình tự một phần gen 16S của 22 chủng đại diện được so sánh với ngân hàng gen đều cho kết quả phù hợp với phế cầu khuẩn (tỷ lệ tương đồng >98%). Các trình tự này đã được đăng ký và cấp mã số trên ngân hàng gen với mã số từ MW672550 đến MW672562 và từ MZ007491 đến MZ007499. Phân tích quan hệ phả hệ cho thấy, các chủng phế cầu khuẩn trong nghiên cứu này có quan hệ gần gũi với các chủng phế cầu khuẩn ở Trung Quốc, Hà Lan (hình 1) và quan hệ xa với liên cầu khuẩn nhóm B (*S. agalactiae*), *S. pyogenes* và quan hệ xa hơn nữa cầu khuẩn (*Neisseria gonorrhoeae*).



Hình 1. Cây phát sinh loài xác định mối quan hệ về loài giữa các chủng phế cầu khuẩn tại Nghệ An dựa trên trình tự đoạn gen 16S xây dựng bằng chương trình MEGA6.06, sử dụng phương pháp kết nối liền kề NJ với hệ số tin cậy bootstrap là 1.000 lần lặp lại.

3.3. Kết quả xác định tình trạng kháng thuốc nhóm macrolide

100% các chủng phế cầu khuẩn trong nghiên cứu này kháng đồng thời 2 loại kháng sinh azithromycin và clarithromycin. Đối với kháng sinh erythromycin, 99,2% các chủng (125 chủng) xuất hiện kháng, chỉ 0,8% (1 chủng) nhạy cảm (hình 2).



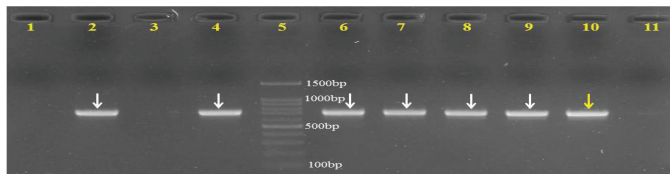
Hình 2. Kết quả xác định tình trạng kháng thuốc nhóm macrolide của 126 chủng phế cầu khuẩn.

3.4. Tần suất mang gen *erm(B)* và *mef(A)* (bảng 2)

Bảng 2. Tần suất mang gen *erm(B)* và *mef(A)* của các chủng phế cầu khuẩn kháng kháng sinh nhóm macrolide (n=126).

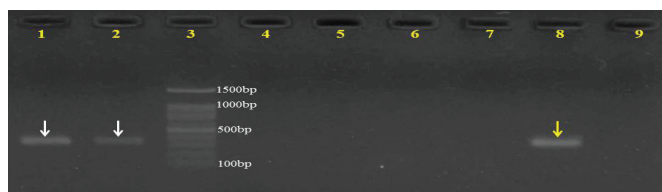
Kiểu mang gen	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Mang <i>erm(B)</i>	116	92,1
Mang <i>mef(A)</i>	73	57,9
Mang đồng thời 2 gen <i>erm(B)</i> và <i>mef(A)</i>	69	54,8
Mang gen <i>erm(B)</i> , không mang gen <i>mef(A)</i>	47	37,3
Mang gen <i>mef(A)</i> , không mang gen <i>erm(B)</i>	4	3,2
Không mang cả 2 gen <i>erm(B)</i> và <i>mef(A)</i>	6	4,8

Tần suất mang gen *erm(B)* và *mef(A)* của các chủng phế cầu khuẩn kháng kháng sinh macrolide lần lượt là 92,1 và 57,9%. Tần suất mang đồng thời 2 gen này là 54,8% và không mang gen nào trong 2 gen này là 4,8%.



Hình 3. Minh họa kết quả chạy PCR phát hiện gen *erm(B)* ở phế cầu khuẩn.

Trong hình 3, giếng 1 và 3: chủng phế cầu khuẩn không mang gen *erm(B)*; giếng 2, 4, 6-9: chủng phế cầu khuẩn mang gen *erm(B)*; giếng 5: thang ADN chuẩn 100-1500 bp; giếng 10: chứng dương; giếng 11: chứng âm.



Hình 4. Minh họa kết quả chạy PCR phát hiện gen *mef(A)* ở phế cầu khuẩn.

Trong hình 4, giếng 1 và 2: chủng phế cầu khuẩn mang gen *mef(A)*; giếng 3: thang ADN chuẩn 100-1500 bp; giếng 4-7: chủng phế cầu khuẩn không mang gen *mef(A)*; giếng 8: chứng dương; giếng 9: chứng âm.

4. Bàn luận

Macrolide là nhóm kháng sinh được sử dụng khá phổ biến để điều trị bệnh viêm phổi cộng đồng và các bệnh nhiễm trùng đường hô hấp khác do khả năng dung nạp dễ dàng và phổ tác dụng rộng đối với các vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp [5, 17]. Một số thuốc mới như clarithromycin và azithromycin được khuyến cáo là thuốc đầu tay để điều trị theo kinh nghiệm viêm phổi cộng đồng. Các thuốc này có thể được sử dụng một mình cho bệnh nhân ngoại trú, đặc biệt những người không có bệnh lý kết hợp, hoặc được sử dụng phối hợp cùng với các kháng sinh nhóm β -lactam cho các bệnh nhân điều trị nội trú [17]. Tuy nhiên, tình trạng kháng kháng sinh macrolide ngày càng phổ biến ở phế cầu khuẩn gây ra những lo ngại về việc sử dụng nhóm kháng sinh này trong thực hành điều trị [5]. Do đó, dữ liệu về tình trạng kháng thuốc và cơ chế kháng thuốc có vai trò quan trọng để hướng dẫn sử dụng kháng sinh phù hợp, hiệu quả trong thực hành điều trị các bệnh do phế cầu khuẩn [7].

Trong nghiên cứu này, phế cầu khuẩn được phân lập từ trẻ dưới 5 tuổi bị viêm phổi cấp. Đa phần trẻ bị viêm phổi phế cầu khuẩn có độ tuổi dưới 24 tháng và là nam giới. Đây là nhóm tuổi chưa được tiêm chủng vắc xin phòng chống bệnh do phế cầu khuẩn gây ra. Kết quả kháng sinh đồ đối với 3

kháng sinh nhóm macrolide là azithromycin, clarithromycin và erythromycin cho thấy, 99,2% các chủng (125 chủng) kháng đồng thời cả 3 loại kháng sinh này. Điều đó cho thấy, tỷ lệ kháng cùng lúc nhiều kháng sinh nhóm macrolide của phế cầu khuẩn ở Nghệ An là rất phổ biến. Kết quả này chỉ ra rằng, azithromycin, clarithromycin và erythromycin hầu như không có tác dụng trong điều trị bệnh do phế cầu khuẩn. Tình trạng kháng thuốc nhóm macrolide là vấn đề rất đáng lo ngại như các nghiên cứu trước đã đề cập [5], nhưng đây lại là thông tin chỉ dẫn quan trọng giúp các bác sỹ lâm sàng lựa chọn kháng sinh phù hợp cho những bệnh nhân nghi ngờ nhiễm phế cầu khuẩn ngay cả khi chưa có kết quả kháng sinh đồ.

Các gen *erm(B)* và *mef(A)* tham gia vào 2 cơ chế kháng thuốc macrolide khác nhau của phế cầu khuẩn đã được xác định tần suất có mặt. Kết quả phân tích cho thấy, tần suất mang gen *erm(B)* và *mef(A)* của các chủng phế cầu khuẩn kháng kháng sinh macrolide tương ứng là 92,1 và 57,9%. Tất cả các chủng mang gen *erm(B)* và/hoặc *mef(A)* đều kháng ít nhất một trong số các kháng sinh azithromycin, clarithromycin và erythromycin. Tần suất phế cầu khuẩn kháng kháng sinh macrolide mang gen *erm(B)* ở nghiên cứu này cao hơn hầu hết các nghiên cứu trước đây trên thế giới. Các nghiên cứu khác nhau trên thế giới cho thấy, tần suất mang gen *erm(B)* ở phế cầu khuẩn kháng kháng sinh macrolide dao động từ 5 đến 90,2% [4]. Theo đó, tần suất phế cầu khuẩn mang gen *erm(B)* khá cao ở một số nước như Ma Rốc (90,2%), Bỉ (90,2%), Pháp (90%), Phần Lan (80,8%), Tây Ban Nha (74,3%) và Venezuela (83,3%). Trong khi, tần suất thấp hơn gặp ở Anh (20,8%), các nước Bắc Mỹ (5-27%) và Argentina (19,2%) [4]. Đối với gen *mef(A)*, tần suất mang gen này ở các nghiên cứu trên thế giới thường dao động từ 0 đến 57,5%, trung bình khoảng 30%, thấp hơn nhiều so với ở nghiên cứu này [4, 18, 19].

Tần suất mang ít nhất một gen và mang đồng thời 2 gen *erm(B)* và *mef(A)* ở các chủng phế cầu khuẩn kháng kháng sinh macrolide trong nghiên cứu này khá cao (95,2 và 54,8%). So với các nghiên cứu tại Đức và Nhật Bản, tần suất mang ít nhất một trong 2 gen *erm(B)* và *mef(A)* ở nghiên cứu này cao hơn (95,3 so với 88 và 91,9%) [19]. Tuy nhiên, so với một nghiên cứu tại Canada, tần suất mang ít nhất một trong 2 gen *erm(B)* và *mef(A)* ở nghiên cứu này lại thấp hơn (95,3 so với 98,1%) [18]. Chúng tôi cũng nhận thấy rằng, tần suất mang đồng thời 2 gen *erm(B)* và *mef(A)* trong nghiên cứu này cao hơn nhiều so với các nghiên cứu khác trên thế giới. Ví dụ, ở Li Băng và Canada, tần suất mang đồng thời 2 gen *erm(B)* và *mef(A)* của phế cầu khuẩn kháng erythromycin lần lượt là 32 và 2,8% [18]. Còn ở một nghiên cứu tại Đức cho thấy, không thấy chủng phế cầu khuẩn kháng erythromycin nào mang đồng thời 2 gen này [20].

Có 6 chủng kháng kháng sinh macrolide ở nghiên cứu này không mang gen nào trong số 2 gen *erm(B)* và *mef(A)*, chiếm 4,8%. Như đã đề cập ở trên, có nhiều gen khác nhau tham gia vào cơ chế kháng kháng sinh nhóm macrolide của phế cầu khuẩn như các gen thuộc họ *erm* là *erm(A)*, *erm(B)*, *erm(C)*,

erm(E) nằm trên plasmid của vi khuẩn và các gen thuộc họ *mef* và *msr* tạo ra các kênh bơm thuốc ra khỏi vi khuẩn [4, 5]. Do vậy, 6 chủng không mang cả 2 gen *erm(B)* và *mef(A)* rất có thể sẽ mang một hoặc nhiều gen khác trong số các gen *erm(A)*, *erm(C)*, *erm(E)* hoặc *mef* và *msr*. Theo các nghiên cứu trước, tại nhiều nơi, tỷ lệ mang gen *mef(E)* có thể cao hơn nhiều so với gen *mef(A)*. Ví dụ: ở Canada, tỷ lệ mang *mef(E)* là 95%, trong khi tỷ lệ mang *mef(A)* chỉ 5%, hay ở Colombia tỷ lệ mang các gen *mef(E)* và *mef(A)* lần lượt là 30,7 và 0,9% [4]. Do đó, mở rộng nghiên cứu xác định sự có mặt của các gen khác là rất cần thiết để làm sáng tỏ cơ chế kháng kháng sinh macrolide ở phế cầu khuẩn.

Ở Việt Nam, theo nghiên cứu của T.T. Ha (2017) [10] thực hiện tại 3 tỉnh/thành gồm Hà Nội, Hải Dương và Khánh Hòa, tần suất mang gen *erm(B)* và *mef(A)* tương ứng là 86,4 và 39,3%. Trong khi đó, nghiên cứu của Lê Văn Duyệt và cs (2017) [11] trên 26 chủng phế cầu khuẩn không ghi nhận chủng nào mang gen *erm(B)* và chỉ 1 chủng mang gen *mef(A)*. So với nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ mang gen *erm(B)* và *mef(A)* ở 2 nghiên cứu này thấp hơn. Theo D.J. Hoban và cs (2001) [18], dữ liệu về các gen liên quan đến kháng thuốc macrolide cùng với dữ liệu kháng thuốc là căn cứ quan trọng để lựa chọn kháng sinh phù hợp sử dụng trong thực hành lâm sàng điều trị bệnh do phế cầu khuẩn. Tuy nhiên tại Việt Nam, vấn đề này chưa thực sự được quan tâm nên dữ liệu còn rất khiêm tốn. Vì vậy, cần có thêm những nghiên cứu khác trên quy mô rộng hơn về tình trạng kháng thuốc, tần suất mang các gen liên quan đến kháng thuốc của phế cầu khuẩn để có thêm cơ sở đưa ra các khuyến cáo sử dụng kháng sinh macrolide trên lâm sàng một cách phù hợp, hiệu quả.

5. Kết luận

Nghiên cứu trên 126 chủng phế cầu khuẩn kháng kháng sinh macrolide cho thấy, tần suất mang các gen *erm(B)* và *mef(A)* lần lượt là 92,1 và 57,9%, tần suất mang ít nhất 1 trong 2 gen là 95,3% và mang đồng thời 2 gen là 54,8%.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Nghệ An đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu này; Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An, Học viện Quân y đã hỗ trợ thu thập bệnh phẩm, phân lập vi khuẩn, làm kháng sinh đồ và xác định gen liên quan đến kháng thuốc của phế cầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] https://www.jhsph.edu/ivac/wp-content/uploads/2019/05/VIEW-hub_Report_Mar2019.pdf, accessed 2 February 2022.
- [2] W. Shi, K. Zhou, L. Yuan, et al. (2018), "Serotype distribution, antibiotic resistance patterns and molecular characteristics of serogroup 6 *Streptococcus pneumoniae* isolates collected from Chinese children before the introduction of PCV13", *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, **14**, pp.23-28, DOI: 10.1016/j.jgar.2017.12.007.
- [3] B. Wahl, K.L. O'Brien, A. Greenbaum, et al. (2018), "Burden of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b disease in children in the era of conjugate vaccines: Global, regional, and national estimates for 2000-15", *The Lancet Global Health*, **6(7)**, pp.e744-e757, DOI: 10.1016/S2214-109X(18)30247-X.

- [4] M.R. Schroeder, D.S. Stephens (2016), "Macrolide resistance in *Streptococcus pneumoniae*", *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **6**, DOI: 10.3389/fcimb.2016.00098.
- [5] A.C. Cheng, A.W.J. Jenney (2016), "Macrolide resistance in pneumococci - is it relevant?", *Pneumonia*, **8(1)**, pp.1-3, DOI: 10.1186/s41479-016-0010-1.
- [6] C. Zhao, Z. Li, F. Zhang, et al. (2017), "Serotype distribution and antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates from 17 Chinese cities from 2011 to 2016", *BMC Infectious Diseases*, **17(1)**, DOI: 10.1186/s12879-017-2880-0.
- [7] C. Liu, X. Xiong, W. Xu, et al. (2013), "Serotypes and patterns of antibiotic resistance in strains causing invasive pneumococcal disease in children less than 5 years of age", *PLOS ONE*, **8(1)**, DOI: 10.1371/journal.pone.0054254.
- [8] N.D. Quyet, D.M. Tuan, B.Q. Phuc, et al. (2021), "The situation of antibiotic resistance of pneumococci and results of treatment of pneumococcal pneumonia in children at the National Children's Hospital", *Journal of Pediatric Research and Practice*, **5(4)**, pp.27-34 (in Vietnamese).
- [9] T.T. Ha, N.T.H. Anh, V.T.T. Huong, et al. (2017), "Determining antibiotic resistance status of *S. pneumoniae* bacteria isolated on clinical specimens at Khanh Hoa General Hospital in 2008-2013", *Vietnam Journal of Preventive Medicine*, **27(8)**, pp.514-525 (in Vietnamese).
- [10] T.T. Ha (2017), *Research on The Circulation of Serotypes and Antibiotic Resistance Genotypes of Pathogenic Streptococcus Pneumoniae Using Multiplex PCR Technique in Some Localities in Vietnam*, Doctoral thesis, VNU University of Sciences, Vietnam National University, Hanoi (in Vietnamese).
- [11] L.V. Duyệt, T.T.G. Huong, N.V. Trung (2017), "Detecting erythromycin resistance genes and mutations in *Streptococcus pneumoniae* strains", *Vietnam Journal of Science and Technology*, **19(8)**, p.11-18 (in Vietnamese).
- [12] J.G. Ahn, S.Y. Choi, D.S. Kim, et al. (2012), "Enhanced detection and serotyping of *Streptococcus pneumoniae* using multiplex polymerase chain reaction", *Korean J. Pediatr.*, **55(11)**, pp.424-429, DOI: 10.3345/kjp.2012.55.11.424.
- [13] C.S. Miller, K.M. Handley, K.C. Wrighton, et al. (2013), "Short-read assembly of full-length 16S amplicons reveals bacterial diversity in subsurface sediments", *PLOS ONE*, **8(2)**, DOI: 10.1371/journal.pone.0056018.
- [14] Clinical and Laboratory Standards Institute (2020), *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, CLSI Supplement M100*, <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100>, accessed 2 February 2022.
- [15] S.M. Kumar, C. Lammens, J. Piessens, et al. (2005), "Multiplex PCR for simultaneous detection of macrolide and tetracycline resistance determinants in streptococci", *Antimicrob. Agents Chemother.*, **49(11)**, pp.4798-4800, DOI: 10.1128/aac.49.11.4798-4800.2005.
- [16] S.E. Ashkar, M. Osman, R. Rafei, et al. (2017), "Molecular detection of genes responsible for macrolide resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolated in North Lebanon", *Journal of Infection and Public Health*, **10(6)**, pp.745-748, DOI: 10.1016/j.jiph.2016.11.014.
- [17] E. Nuermberger, W.R. Bishai (2004), "The clinical significance of macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae*: It's all relative", *Clinical Infectious Diseases*, **38(1)**, pp.99-103, DOI: 10.1086/380126.
- [18] D.J. Hoban, A.K. Wierzbowski, K. Nichol, et al. (2001), "Macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Canada during 1998-1999: Prevalence of *mef(A)* and *erm(B)* and susceptibilities to ketolides", *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45(7)**, pp.2147-2150, DOI: 10.1128/aac.45.7.2147-2150.2001.
- [19] A. Harimaya, N. Yamazaki, T. Himi, et al. (2007), "High prevalence of erythromycin resistance and macrolide-resistance genes, *mef(A)* and *erm(B)*, in *Streptococcus pneumoniae* isolates from the upper respiratory tracts of children in the Sapporo district, Japan", *Journal of Infection and Chemotherapy*, **13(4)**, pp.219-223, DOI: 10.1007/s10156-007-0528-5.
- [20] M. Kresken, B. Henrichfreise, S. Bagel, et al. (2004), "High prevalence of the *ermB* gene among erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates in Germany during the winter of 2000-2001 and in vitro activity of telithromycin", *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48(8)**, pp.3193-3195, DOI: 10.1128/aac.48.8.3193-3195.2004.