

# CƠ CHẾ PHÂN TỬ CỦA TÍNH KHÁNG CEPHALOSPORIN CỦA *NEISSERIA GONORRHOEAE* THU THẬP TẠI VIỆT NAM NĂM 2019 – 2020

Trịnh Minh Trang<sup>1,2,✉</sup>, Nguyễn Thị Tâm<sup>3</sup>, Lê Viết Thanh<sup>4</sup>  
Phạm Thị Minh Phương<sup>1</sup>, Phạm Thị Lan<sup>1,2</sup>, H. Rogier van Doorn<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bệnh viện Da liễu Trung Ương

<sup>2</sup>Trường Đại Học Y Hà Nội

<sup>3</sup>Đơn Vị Nghiên cứu lâm sàng Đại học Oxford, Hà Nội, Việt Nam

<sup>4</sup>Viện Nghiên cứu sinh học Quadram, Trung tâm nghiên cứu Norwich, Norwich, Norfolk, Anh Quốc

Vi khuẩn lậu *Neisseria gonorrhoeae* (NG) kháng cephalosporin ngày càng gia tăng. 35 chủng NG kháng cephalosporin thu thập từ 3 Bệnh viện Da liễu tại Việt Nam được giải trình tự genome để xác định cơ chế phân tử của kháng thuốc. Kết quả ghi nhận 13/35 chủng thuộc ST1901, 11/35 chủng thuộc ST 13871. Có 16 loại gen kháng. 74% chủng mang gen khảm *penA* 60.001, 11% mang gen khảm *penA* 10.001. Các allele *penA* chứa 6 đột biến chính gây kháng cephalosporin phổ rộng (A311V, T483S, A501P, G545S, I312M và V316T) và nhiều đột biến mới. 74,2% chủng mang gen *mtrR*. 100% chủng mang đột biến mất Adenin trên *mtR* promoter. Mức độ kháng ceftriaxone tương đồng các chủng FC428 nhưng mức kháng cefixime thấp hơn. Các chủng NG (ST1901 và ST 13871) phân bố chủ yếu ở phía nam Việt Nam, liên quan đến chủng kháng cephalosporin phát hiện đầu tiên tại Nhật Bản và hiện đã lan rộng nhiều nơi. Phần lớn chủng mang allele khảm *penA* mới và gen *mtrR/mtrR* promoter với các đột biến kháng cephalosporin đặc trưng và có thêm nhiều đột biến mới.

**Từ khóa:** Cephalosporin, gen kháng, đột biến, MLST, vi khuẩn lậu.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh lậu là bệnh lây truyền qua đường tình dục phổ biến thứ 2 sau nhiễm *Chlamydia trachomatis*. Tổ chức Y tế thế giới (WHO) 2018 thống kê có hàng triệu ca lậu mới hàng năm.<sup>1</sup> Bệnh lậu gây nhiễm trùng cơ quan sinh sản và có thể dẫn đến vô sinh ở cả hai giới. Vi khuẩn lậu đã kháng với hầu hết kháng sinh cổ điển như sulfonamide, penicillin, tetracycline, macrolide và fluoroquinolone. Hiện nay, phác đồ ceftriaxone hoặc cefixime phối hợp với azithromycin được WHO khuyến cáo cho điều trị lậu. Tuy nhiên, các chủng NG kháng

cephalosporin phổ rộng (extended spectrum cephalosporin - ESC) và giảm nhạy cảm với azithromycin đang gia tăng.<sup>2</sup>

Chủng NG kháng cefixime được xác định đầu tiên ở Nhật Bản từ năm 1995. Chủng kháng ceftriaxone xuất hiện khoảng 10 năm trở lại đây.<sup>3</sup> Đáng chú ý, chủng NG kháng ceftriaxone gây ra bởi gen *penA* 60.001 thuộc dòng chủng FC428 lần đầu được phân lập tại Nhật Bản năm 2015 đã lan rộng ra nhiều khu vực trên thế giới như Châu Âu, châu Á, Úc và Canada.<sup>4</sup> Tại Việt Nam, khảo sát của LV Hưng và cộng sự ghi nhận các chủng NG giảm nhạy cảm và kháng ESC, nhất là ceftriaxone có xu hướng tăng.<sup>5</sup> Chúng tôi giải trình tự toàn bộ genome của 35 chủng NG kháng ESC (ceftriaxone và hoặc cefixime) để xác định cơ chế phân tử của tính kháng.

Tác giả liên hệ: Trịnh Minh Trang

Bệnh viện Da liễu Trung ương

Email: trangtm4@gmail.com

Ngày nhận: 02/12/2021

Ngày được chấp nhận: 20/12/2021

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Phương pháp

Nghiên cứu mô tả.

### 2. Đối tượng

Chủng NG kháng ceftriaxone và hoặc cefixime trên kháng sinh đồ, thu thập từ bệnh nhân nam, nữ bị viêm niệu đạo hoặc viêm cổ tử cung do lậu tại Bệnh viện Da liễu Trung ương, Bệnh viện Da liễu thành phố HCM và Bệnh viện Da liễu Đà Nẵng từ năm 2019 - 2020.

#### Cỡ mẫu

35 chủng NG.

#### Các bước tiến hành

Bệnh phẩm viêm niệu đạo hoặc viêm cổ tử cung do lậu được thu thập tại Hà Nội (104 mẫu), thành phố Hồ Chí Minh (267 mẫu) và Đà Nẵng (56 mẫu). Tại 03 điểm nghiên cứu này, với mỗi mẫu, chúng tôi thực hiện:

- Thu thập thông tin về nhân khẩu học và yếu tố liên quan ca bệnh.

- Nuôi cấy vi khuẩn lậu trên môi trường Thayer Martin và định danh vi khuẩn lậu bằng test sinh vật hóa học (catalase dương tính, oxidase dương tính và chuyển hóa đường maltose âm tính).

- Kháng sinh đồ khoanh giấy khuếch tán (Oxoid, UK) đối với kháng sinh penicillin, tetracycline, nalidixic acid, ciprofloxacin, spectinomycin và Etest (Biomerieux) đối với kháng sinh azithromycin, cefixime và ceftriaxone. Kết quả phiên giải theo CLSI M100-S30 (Clinical Laboratory Standards Institute).<sup>6</sup> Do CLSI chỉ định nghĩa điểm nhạy cảm cefixime và ceftriaxone là MIC  $\leq$  0,25 mg/L nên kết quả MIC  $>$  0,25mg/L được xác định là kháng. Kết quả kháng sinh đồ thu được 35 chủng lậu kháng ceftriaxone và cefixime.

35 chủng lậu này được bảo quản trong skim milk và vận chuyển có bảo quản lạnh bằng

đá khô tới Đơn vị nghiên cứu lâm sàng Đại học Oxford Hà Nội (Oxford University Clinical Research Unit - OUCRU) để nuôi cấy lại trên môi trường GC của Oxoid bổ sung Vitox và hemoglobin đông khô đồng thời phân lập, định danh lại bằng hệ thống MalditoF. Sau khi được kháng định chẩn đoán, 35 chủng lậu được làm lại kháng sinh đồ với 07 loại kháng sinh do WHO khuyến cáo là penicillin, tetracyclin, ciprofloxacin, spectinomycin, azithromycin, ceftriaxone và cefixime. Trong đó, Etest (Biomerieux) đối với azithromycin, cefixime và ceftriaxone. Kết quả kháng sinh đồ phiên giải theo CLSI M100-S30. Chủng chuẩn ATCC 49226 được làm kháng sinh đồ đối chiếu để nội kiểm chất lượng khoanh giấy, thanh Etest và môi trường thạch. Sau khi được kháng định tính kháng với ceftriaxone và cefixime trên kháng sinh đồ, 35 chủng được giải trình tự toàn bộ gen bằng máy Miseq với kit 600 V3 (illumina, USA).

#### Các biến nghiên cứu

Đặc điểm nhân khẩu học (tuổi, giới) và yếu tố nguy cơ (hành vi tình dục, số lượng bạn tình, nguồn lây) và kết quả điều trị.

Phân loại trình tự (ST - sequence type) NG theo MLST, NG-MAST và NG STAR.

Gen kháng ESC: *mtrR*, *mtrR* promotor, *penA*, *porB1b*, *porB3*, *rpoB*, *ponA*, *porA* và *porB1a* (lần lượt khảo sát theo các gen chủng: *mtrR.WHO\_Y\_01506*, *mtrR\_promoter.WHO\_F\_penA47.001*, *porB1b.WHO\_P\_02204c*, *porB3.Neisseria\_meningitidis\_serogroup\_A\_Z2491\_v1\_00376*, *rpoB.WHO\_M\_02157*).

Đột biến mới và đã biết của các gen kháng.

### 3. Xử lý số liệu

Chúng tôi sử dụng fastp v.0.20.0 để lọc các bases chất lượng thấp và cắt bỏ các adapter. Phần mềm Shovill v.1.1.0 (<https://github.com/tseemann/shovill>) và SPades v.3.14 để cấu trúc genome thành các contig từ các đoạn trình tự

(reads) sinh ra từ máy giải trình tự Miseq. Sau đó, phần mềm MOB-suite v.3.0.0 xác định cấu trúc nhiễm sắc thể và plasmid NG từ các contig.

Phần mềm ARIBA 2.14.6 ([https://github.com/martinhunt/ariba\\_publication/tree/master/N\\_gonorrhoeae](https://github.com/martinhunt/ariba_publication/tree/master/N_gonorrhoeae)) để sàng lọc các gen kháng kháng sinh và đột biến. Phân loại trình tự đa loci (multi locus sequence type - MLST) để phân loại chủng NG sử dụng PubMLST.<sup>7</sup> Chúng tôi phân loại trình tự đa kháng nguyên

vi khuẩn lậu (NG multi antigen sequence type - NG-MAST) bằng NGMaster v0.5.5 và phân loại chủng lậu theo 7 gen kháng (NG sequence typing for antimicrobial resistance - NG STAR) bằng pyngSTar.

#### 4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được Hội đồng Đạo đức Nghiên cứu Y sinh học, Trường Đại học Y Hà Nội chấp thuận theo QĐ số 518/GCN-HĐĐĐNCYSH-ĐHYHN ngày 17/5/2021.

### III. KẾT QUẢ

Trong 35 chủng kháng ESC có 5 chủng từ Hà Nội, 26 chủng từ Thành phố Hồ Chí Minh và 4 chủng từ Đà Nẵng. Mức độ kháng ceftriaxone của nhóm chủng này tương đương các chủng

FC428 được báo cáo toàn cầu (MIC: 0,5 - 1 mg/L) nhưng mức kháng thấp hơn với cefixime (MIC: 0,5 - 1,5 mg/L tại Việt Nam so với 1 - 4 mg/L trên thế giới).<sup>8</sup>

#### 1. Phân loại chủng NG theo MLST, NGSTAR và NG-MAST

**Bảng 1. Tần suất các chủng lậu phân loại theo MLST và NG - MAST trên 35 chủng kháng cephalosporin**

ST (MLST)	Tần suất n (%)	ST (NG-MAST)	Tần suất n (%)	ST (NG-STAR)	Tần suất n (%)
1901	13 (37,1)	Mới	13 (37,1)	Chưa xác định	28 (80)
13871	11 (31,4)	16337	11 (31,4)	233	5 (14)
7363	4 (11)	7237	4 (11)	1133	1 (2,8)
13732	2 (5)	20094	2 (5)	1232	1 (2,8)
8143	1(2,8)	1086	1 (2,8)		
13333	1(2,8)	5061	1 (2,8)		
1588	1(2,8)				
1587	1(2,8)				
Mới	1(2,8)				

Theo phân loại MLST, 35 mẫu phân thành 9 nhóm lậu (ST) khác nhau, trong đó phổ biến là ST1901 (37,1%) và ST13871 (31,4%). ST1901 có 13 chủng: 1 ở Hà Nội, 1 ở Đà Nẵng và 11 ở tp HCM. ST13871 có 11 chủng: 3 ở Đà Nẵng và 8 ở tp HCM. Có một ST mới chưa

được mô tả, trong khi các ST khác chiếm tỷ lệ thấp (ST7363: 4%, ST13732: 2%). (Bảng 1)

Theo phân loại NG-MAST, có 6 nhóm ST khác nhau, trong đó có một ST mới chưa được mô tả. Có 11 chủng thuộc ST16337 (31,4%), 4 chủng ST7237 (11,4%) và 2 chủng ST20092 (5,7%).

ST1086 và ST5061 có tỷ lệ thấp (Bảng 1).

Theo phân loại NGSTART, 28 chủng có ST chưa được mô tả, 5 chủng thuộc ST233, 1

chủng thuộc ST1133 và 1 chủng thuộc ST1232. (Bảng 1).

## 2. Gen kháng và các đột biến

**Bảng 2. Các gen kháng thuốc phát hiện trên 35 chủng lậu kháng cephalosporin**

Gen kháng	Đặc điểm của gen đột biến	Số chủng phát hiện	Gen chứng
16S.rDNA	Kháng với Spectinomycin	35	16S.rDNA_WHO_F_01361c
23S.rDNA	Kháng với Macrolides (azithromycin, erythromycin)	35	23S.rDNA_WHO_F_01358c
blaTEM	Gen trên plasmid gây kháng penicillin	17	blaTEM.WHO_M_pConjugative_00003
gyrA	Kháng với Quinolon (ciprofloxacin, ofloxacin)	30	gyrA.WHO_M_01098
mtrR	Kháng Penicillin, Tetracyclines, Macrolides, Cephalosporins	26	mtrR.WHO_Y_01506
mtrR_promoter	Kháng Penicillin, Tetracyclines, Macrolides, Cephalosporins	35	mtrR_promoter.WHO_F
parC	Kháng với Quinolon (ciprofloxacin, ofloxacin)	26	parC.WHO_Y_00247c
penA	Kháng với các kháng sinh nhóm beta-lactam	35	penA.
ponA	Kháng với Penicillin	35	ponA.WHO_G_00106
porB1b	Kháng với Penicillin, Tetracyclines, Macrolides, Cephalosporins	14	porB1b.WHO_P_02204c
rpoB	Kháng với Cephalosporins	34	rpoB.WHO_M_02157
rpsJ	Kháng với Tetracycline	35	rpsJ.WHO_Y_02241
porB1a	Kháng với Cephalosporin	6	porB1a.WHO_N_02200c
porB3	Kháng với Cephalosporin	4	porB3.Neisseria_meningitidis_serogroup_A_Z2491_v1_00376
folP	Kháng với Sulfonamides	18	folP.WHO_Y_01480c
tetM	Gen trên plasmid gây kháng với Tetracycline	3	tetM.WHO_G_pTetM_00047

Chúng tôi xác định được 16 gen gây tính kháng kháng sinh. Trong đó, 6 gen chính liên quan đến kháng cephalosporin là gen *penA*,

*mtrR* và yếu tố xác định tính kháng *penB* (gen *PorB1b*), *porB*, *rpoB* và *ponA* (Bảng 2).

**Bảng 3. Các đột biến của gen kháng ESC trên 35 chủng lậu**

Gen kháng	Chức năng của gen	Đột biến đã biết	Số chủng phát hiện	Đột biến mới	Số chủng phát hiện		
mtrR	Điều hòa hoạt động bơm bơm thải MtrCDE. Đột biến gen này làm tăng hoạt động bơm gây thải kháng sinh ra khỏi tế bào vi khuẩn	G45D	26	A39T	3		
				Y105H A127fs	1		
mtrR promoter	Khởi động sao mã gen mtrR	-35A del	24				
penA 60.001	Mã hóa protein Penicillin Binding Protein 2 (PBP2). Protein này là đích tác động của beta-lactam	A311V	26	N512Y	26		
		G545S		P552V			
		I312M		K555Q			
		T316P		I556V			
		V316T		T573_			
		A501P		A574insN			
		A501V		A574V			
		P551S					
		T483S		11		A480P T534A	15
						A328P T483S T485I	11
		A957G T930G C900T, A T945C, G T918C, G	1				

Gen kháng	Chức năng của gen	Đột biến đã biết	Số chủng phát hiện	Đột biến mới	Số chủng phát hiện
penA 10.001		A311V	2	T1194C	1
				A1197G	
				T1191C	
				V279A	
				E285D	
				K288R	
				Q291R	
				A328P	
				H201Y	
				A202G	
				G203E	
				E204D	
				E214Q	
		V316T	1		
		T316P			
		T483S			
		A501V			
		A501P			
		G542S			
		G545S			
		P551S			
penA 124.001		A311V	1	S341P	1
		I312M		A480P	
		T316P		T534A	
		V316T		Q555K	
		A501V		N562K	
		A501P		L564V	
		G542S		G565S	
		G545S		V575A	
		P551S			
penA 166.001		A311V	1	P341S	1
		G545S		A480P	
		I312M		N512Y	
		T316P		T534A	
		V316T		T573_	
		A501V		A574insN	
		A501P		A574V	
		P551S			

Gen kháng	Chức năng của gen	Đột biến đã biết	Số chủng phát hiện	Đột biến mới	Số chủng phát hiện
penA 92.001		A311V	1	T549A V552P Q555K V556I	1
		I312M			
		T316P			
		V316T			
		T483S			
		A501P			
		A501V			
		G542S			
		G545S			
		P551S			
porB1b	Mã hóa kênh porin trên màng ngoài tế bào vi khuẩn. Đột biến gen làm giảm ái lực hấp thu kháng sinh vào tế bào.	G120K	14	A26T	7
		D121N	9	D41K, Q187R	6
		A121D	8	S189G	5
				T87A E212D R257T K208del	4
				A259V	3
				R258G K143Q D297N H213G H213N	2
				V215A I218M C53T Q95P G103D K117N G120N L149R G197R V215F	1

Gen kháng	Chức năng của gen	Đột biến đã biết	Số chủng phát hiện	Đột biến mới	Số chủng phát hiện
porB3	Mã hóa kênh porin trên màng ngoài tế bào vi khuẩn. Đột biến gen làm giảm ái lực hấp thu kháng sinh vào tế bào.			M18T T29A E32Q S34Y L253A S273T R279H E313A N314D F316I	2
				S217G D222N A226V V230A V238Y E239G K278N D276S K278D	1
rpoB	Mã hóa RNA polymerase	H553N	10	E7V K9I S14R F15C K17T V24G P25S D1366Y G1368V P1033fs	1
		L421P	30	A375T	2
ponA	Mã hóa protein PBP1			Q422E S427P K431N A437fs K447Q F463C L6V G64V	1

Liên quan gen *penA*, allen khảm *penA 60.001* xuất hiện ở 26/35 chủng (74,2%) có 9 đột biến thay đổi acid amin đã biết trong đó 6 đột biến chính gây kháng ESC: A311V, T483S, A501P, G545S, I312M và V316T. 18 đột biến mới bao gồm: N512Y, G545S, P552V, K555Q, I556V, T573\_A574insN, A574V: 26 chủng (100%), A480P và T534A: 15/26 chủng (57,6%). A328P, T483S, T485I: 11/26 chủng (42,3%). Các đột biến khác chiếm tỷ lệ thấp.

Allen khảm *penA 10.001* xuất hiện ở 4/35 chủng (11,4%), có 9 đột biến đã biết bao gồm các đột biến chính gây kháng ESC và 13 đột biến mới với tần suất thấp. Allen *penA 124.001* xuất hiện ở 3/35 chủng (8,6%) với 9 đột biến đã biết và 8 đột biến mới. Allen khảm *penA 166.001* xuất hiện ở 1 chủng với 8 đột biến đã biết và 7 đột biến mới. Allen khảm *penA 92.001* có 10 đột biến đã biết và 4 đột biến mới (Bảng 3).



Đột biến gen *mtrR* xuất hiện ở 26/35 chủng (74,2%). Trong đó, 1 đột biến đã biết G45D (26/35 chủng) và 3 đột biến mới A39T, Y105H và đột biến dịch khung A127fs (frame shift) có tần suất thấp (Bảng 3).

Đột biến mất 1 nucleotide Adenin ở vùng -35 promoter của gen *mtR* (-35Adel) dẫn đến tăng quá mức bơm thải MtrCDE xuất hiện ở 24/35 chủng (Bảng 3).

Gen *porB1b* (yếu tố xác định tính kháng *penB*) xuất hiện ở 14/35 chủng có 3 đột biến đã biết là G120K, A121D, D121N và 35 đột biến

mới có tần suất thấp (Bảng 3).

Gen *porB3* có ở 4/35 chủng có 19 đột biến mới với tần suất thấp (Bảng 3).

Gen *rpoB* xuất hiện ở cả 35 chủng có 10 đột biến mới (Bảng 3).

Yếu tố kháng 23SrDNA (kháng macrolid), 16SrDNA (kháng spectinomycin), gen *rpsJ* (kháng tetracyclin) và gen *parE* (kháng quinolon) xuất hiện ở cả 35 chủng, gen *gyrA* (kháng quinolon): 30 chủng, gen *folP* (kháng sulfamid): 18 chủng, gen *blaTEM* (kháng penicillin): 17 chủng (Bảng 3).

### 3. Đặc điểm nhân khẩu học, điều trị và yếu tố liên quan ca bệnh

**Bảng 4. Đặc điểm nhân khẩu học và điều trị của 35 bệnh nhân nhiễm chủng lậu kháng Cephalosporin**

Đặc điểm nhân khẩu học	n (%)	Đặc điểm dịch tễ	n (%)
Giới tính		Số bạn tình trong vòng 3 tháng	
Nam	32 (91,4)	1	12 (34,3)
Nữ	3 (8,6)	≥ 2	23 (65,7)
Tuổi (Trung bình)	20-56 (32,63)	Tiền sử mắc STD	0
Tình trạng hôn nhân		Quan hệ tình dục với người bán dâm	7 (33)
Độc thân	16 (45,7)	Quan hệ tình dục không dùng bao cao su	28 (80)
Có vợ/chồng	19 (54,3)	Quan hệ tình dục đồng giới	0
Đặc điểm điều trị		Nguồn lây:	
Hết triệu chứng trong vòng 2 tuần sau điều trị	35 (100)	Vợ/chồng:	3 (8,6)
phác đồ WHO		Bạn tình:	21 (60)
		Người bán dâm	11 (31,4)

STD: Sexually Transmitted Diseases (Bệnh truyền qua đường tình dục); QHTD; Quan hệ tình dục

Nam giới chiếm đa số mẫu bệnh phẩm trong

nghiên cứu (91,4%) Tuổi trung bình là 32,63 tuổi (20 - 56) (Bảng 4).

Liên quan hành vi nguy cơ, 65,7% số bệnh nhân có từ 2 bạn tình trở lên trong vòng 3 tháng.

33% số bệnh nhân có quan hệ tình dục với người bán dâm, 80% không sử dụng bao cao su trong lần quan hệ tình dục lây bệnh, 91,4% lây bệnh từ quan hệ tình dục ngoài hôn nhân. Các bệnh nhân không có tiền sử mắc bệnh lây qua đường tình dục tại thời điểm chẩn đoán bệnh lậu (Bảng 4).

Tất cả 35 bệnh nhân hết triệu chứng trong vòng 2 tuần sau điều trị theo phác đồ của WHO (Bảng 4).

#### IV. BÀN LUẬN

Năm 2015, Shimuta và cộng sự khảo sát các chủng NG thu thập từ 1995 - 2005 ở Nhật Bản đã phát hiện một chủng kháng cefixime đầu tiên.<sup>9</sup> Từ năm 1996 trở đi, các chủng giảm nhạy cảm hoặc kháng cefixime tăng nhanh và đạt đỉnh năm 2002. Giai đoạn 1997 - 2002, chủng kháng cefixime MLST7363 mang allen khảm *penA 10.001* chiếm ưu thế. Sau đó, chủng mới thuộc MLST1901 mang allen khảm *penA 34* gây kháng cefixime và được xác định lần đầu tại Nhật Bản.<sup>9</sup> Chủng MLST1901 kháng cefixime lây lan nhanh: năm 2010 tại Pháp (chủng F89) gây kháng trị với cefixime, năm 2011 tại Tây Ban Nha, năm 2013 tại Úc (A8806) và năm 2014 tại Nhật Bản (GU140106).<sup>10,11</sup> Nhóm 35 chủng kháng ESC trong nghiên cứu này có 13 chủng (37,1%) thuộc ST1901 mang allen khảm *penA 60.001*.

Từ 2015 - 2017, Nhật Bản xác định 6 chủng kháng ceftriaxone bao gồm FC428, FC460, FC498, KU16054, KM383 và KU17039.<sup>12</sup> Năm 2017, chủng FC428 lan sang Úc (A7536, A7846), Canada (47707), Đan Mạch (GK124) và Pháp (F90) và năm 2018 lan sang Ireland (IR72).<sup>4</sup> Chủng FC428 thuộc MLST1903 phát triển các nhánh (clade) trong đó có chủng NG kháng ESC MLST13871. Chủng ST13871 đầu tiên trên thế giới được xác định tại Singapore và Pháp lần lượt vào các năm 2018, 2019.<sup>13,14</sup>

Tại Việt Nam, trong số 229 chủng thu thập năm 2011 và 2015 - 2016 và hơn 300 chủng thu thập năm 2017 - 2018 không có chủng nào thuộc ST13871.<sup>15,16</sup> Trong nghiên cứu này, chúng tôi có 11/35 chủng kháng ESC thuộc ST13871 (34%). Các chủng này phân bố chủ yếu ở phía nam Việt Nam. Nhiều ca bệnh lậu nhiễm chủng gần với chủng FC428 có mạng lưới tình dục tại Châu Á, nhất là khu vực Đông Nam Á. Vì vậy, Đông Nam Á là khu vực nguy cơ cao lan truyền các chủng lậu kháng ESC.

Khảo sát 108 chủng NG của Việt Nam năm 2011 ghi nhận 75 loại ST khác nhau theo phân loại trình tự NG - MAST, trong đó 59 trình tự chưa được mô tả.<sup>15</sup> Nghiên cứu của chúng tôi tập trung vào nhóm chủng NG kháng ESC nên có cỡ mẫu nhỏ và chỉ ghi nhận 6 trình tự NG - MAST trong đó có một trình tự mới.

Theo hệ thống NG STAR dựa vào 7 gen kháng đặc trưng của vi khuẩn lậu, đa số chủng trong nghiên cứu này chưa xác định được ST, có 5/35 chủng thuộc ST233.

Năm 2011, PT Lan và cộng sự khảo sát các yếu tố kháng ESC (gen *penA*, *mtrR* và *penB*) của 108 chủng lậu tại Việt Nam. Kết quả không có chủng nào mang allen khảm *penA*. Tuy nhiên, 78% chủng chứa đột biến A501 là A501V (44%) và A501T (34%) trên PBP2. 91% chủng mang đột biến mất Adenin trên *mtrR* promoter và 94% chủng mang đột biến trên gen *mtrR*.<sup>15</sup> Năm 2015 - 2016, PT Lan khảo sát 121 chủng tại Việt Nam thấy 27% chủng chứa một allen khảm *penA*. Phân tích hệ gen thấy xuất hiện mới 2 nhóm chủng (clone) chứa gen khảm *penA* từ sau năm 2011 (*penA 10.001* và *penA 34.001*).<sup>16</sup> Trong số 35 chủng kháng ESC, chúng tôi thấy 74% chủng mang allen khảm *penA 60.001*, 11% mang allen khảm *penA 10.001* với 9 đột biến đã biết, trong đó đột biến A311V, T483S, A501P, G545S, I312M và V316T là những đột biến chính gây kháng ESC thông qua biến đổi

cấu trúc phân tử PBB2. Ngoài ra, gen *penA* có nhiều đột biến mới. Yếu tố kháng này liên quan đến chủng kháng cefixime *lây lan ở Nhật Bản và nhiều khu vực trên thế giới*. Các chủng gần với chủng FC428 được báo báo rộng rãi đặc biệt là clone kháng ESCs do các đột biến trên một allen khảm *penA 60.001*. Chúng gây lo ngại về nguy cơ kháng trị với ESC trong thời gian tới.

Chúng tôi thấy gen *mtrR* xuất hiện ở 74,2% chủng và đột biến *mtR* promoter ở 100% chủng. Đây là những yếu tố gây đa kháng (ESC, marcolid, penicillin và tetracyclin) ở vi khuẩn lậu. Trong đó, đột biến -35Adel trên *mtrR* promoter dẫn đến bộc lộ quá mức bơm thải MtrCDE khiến tăng đào thải kháng sinh ra khỏi vi khuẩn. Đặc điểm về gen kháng ECS ở 35 chủng trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả khảo sát 65 chủng NG (2011 - 2014) tại Ý khi thấy allen khảm *penA 34* và *penA 35* có mặt ở hầu hết các chủng kháng hoặc giảm nhạy cảm cefixime. Cùng với đột biến -35 Adel trên *mtrR* promoter, đột biến thay đổi acid amin H105Y hoặc G45D trên gen *mtrR* và L421P trên gen *ponA* phối hợp linh hoạt làm thay đổi MIC cefixime trên thực nghiệm.<sup>17</sup>

35 ca bệnh đều đáp ứng với điều trị với phác đồ phối hợp ceftriaxone/cefixime + azithromycin, đánh giá dựa vào cải thiện triệu chứng trên lâm sàng. Tuy nhiên, việc xuất hiện mới các chủng liên quan tới chủng kháng ESC quốc tế tại Việt Nam cho thấy vi khuẩn lậu kháng ESC đang gia tăng tại Việt Nam. Hơn nữa, để đánh giá hiệu quả tiêu diệt vi khuẩn, chúng tôi cần nhắc đề xuất xét nghiệm vi khuẩn sau 3 tuần điều trị. Việc thu thập thông tin về dịch tễ học cũng quan trọng giúp xác định mạng lưới lây truyền các chủng lậu. Điều này cần thiết để kiểm soát các chủng lậu kháng thuốc tại Việt Nam.

## V. KẾT LUẬN

Các nhóm NG phổ biến trong nghiên cứu

này (ST1901 và ST 13871) chủ yếu phân bố ở phía nam Việt Nam, liên quan đến chủng kháng ESC phát hiện đầu tiên tại Nhật Bản và hiện đã lan rộng nhiều nơi trên thế giới. Phần lớn các chủng mang yếu tố kháng allen khảm *penA 60.001*, *penA 10.001* và *mtrR/mtrR* promoter với các đột biến kháng ESC đặc trưng đồng thời có thêm nhiều đột biến mới.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Oucru Hà Nội và WHO. Các đơn vị hợp tác gồm có Ourcu, Bệnh viện Da liễu Trung ương, Bệnh viện Da liễu Tp Hồ Chí Minh và Bệnh viện Da liễu Đà Nẵng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Unemo M, Shafer WM. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st century: past, evolution, and future. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):587-613. doi:10.1128/CMR.00010-14
2. George CRR, Enriquez RP, Gatus BJ, et al. Systematic review and survey of *Neisseria gonorrhoeae* ceftriaxone and azithromycin susceptibility data in the Asia Pacific, 2011 to 2016. *PloS One.* 2019;14(4):e0213312. doi:10.1371/journal.pone.0213312
3. Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(7):3538-3545. doi:10.1128/AAC.00325-11
4. Lee K ichi, Nakayama SI, Osawa K, et al. Clonal expansion and spread of the ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain FC428, identified in Japan in 2015, and closely related isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74:1812-1819. doi:10.1093/jac/dkz129

5. Adamson PC, Van Le H, Le HHL, Le GM, Nguyen TV, Klausner JD. Trends in antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in Hanoi, Vietnam, 2017–2019. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):809. doi:10.1186/s12879-020-05532-3
6. m100ed30\_sample.pdf. Accessed September 10, 2021. [https://clsi.org/media/3481/m100ed30\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/3481/m100ed30_sample.pdf)
7. *Neisseria* spp. PubMLST. Accessed August 8, 2021. <https://pubmlst.org/organisms/neisseria-spp>.
8. Yan J, Chen Y, Yang F, et al. High percentage of the ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* FC428 clone among isolates from a single hospital in Hangzhou, China. *J Antimicrob Chemother.* 2021;76(4):936-939. doi:10.1093/jac/dkaa526.
9. Shimuta K, Watanabe Y, Nakayama S ichi, et al. Emergence and evolution of internationally disseminated cephalosporin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* clones from 1995 to 2005 in Japan. *BMC Infect Dis.* 2015;15:378. doi:10.1186/s12879-015-1110-x.
10. Unemo M, Nicholas RA. Emergence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant and untreatable gonorrhea. *Future Microbiol.* 2012;7(12):1401-1422. doi:10.2217/fmb.12.117.
11. Lahra MM, Martin I, Demczuk W, et al. Cooperative Recognition of Internationally Disseminated Ceftriaxone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Strain. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(4). doi:10.3201/eid2404.171873.
12. Nakayama SI, Shimuta K, Furubayashi KI, Kawahata T, Unemo M, Ohnishi M. New Ceftriaxone- and Multidrug-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Strain with a Novel Mosaic penA Gene Isolated in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(7):4339-4341. doi:10.1128/AAC.00504-16.
13. Ko KKK, Chio MTW, Goh SS, Tan AL, Koh TH, Abdul Rahman NB. First Case of Ceftriaxone-Resistant Multidrug-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Singapore. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(5):e02624-18. doi:10.1128/AAC.02624-18.
14. Poncin T, Merimeche M, Braille A, et al. Two cases of multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* related to travel in south-eastern Asia, France, June 2019. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull.* 2019;24(36). doi:10.2807/1560-7917.ES.2019.24.36.1900528.
15. Olsen B, Pham TL, Golparian D, Johansson E, Tran HK, Unemo M. Antimicrobial susceptibility and genetic characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Vietnam, 2011. *BMC Infect Dis.* 2013;13:40. doi:10.1186/1471-2334-13-40.
16. Lan PT, Golparian D, Ringlander J, Van Hung L, Van Thuong N, Unemo M. Genomic analysis and antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Vietnam in 2011 and 2015-16. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(6):1432-1438. doi:10.1093/jac/dkaa040.
17. Carannante A, Vacca P, Ghisetti V, et al. Genetic Resistance Determinants for Cefixime and Molecular Analysis of Gonococci Isolated in Italy. *Microb Drug Resist Larchmt N.* 2017;23(2):247-252. doi:10.1089/mdr.2016.0086.

## Summary

### MOLECULAR MECHANISM OF CEPHALOSPORIN RESISTANCE OF *NEISSERIA GONORRHOEAE* IN VIETNAM 2019 – 2020

Cephalosporin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* (NG) strains have been increasing. 35 NG isolates that resisted to cephalosporin on biogram collected from 3 hospitals of dermatology and venereology in Vietnam were whole genome sequenced to determine antimicrobial resistant (AMR) genes. There were 13/35 isolates belonged to ST1901, 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 và V316T) and some novel mutations. *mtrR* mutants was seen in 74.2% of the isolates. All of them had Adenine deletion mutation on *mtR* promoter. The level of ceftriaxone resistance was relevant to FC428 strains but lower in cefixim resistance. The NG isolates (ST1901 and ST 13871) are related to cephalosporin-resistant strains detected in Japan that are currently spreading worldwide. Most of them possessed mosaic *penA* 60.001 and *penA*10.001, *mtrR/mtrR* promoter. These AMR genes contained typical mutations responsible for cephalosporin resistance and different novel mutations.

**Keywords:** Cephalosporin, antimicrobial resistance, ARM genes, mutations, MLST...