

XÁC ĐỊNH GENE KHÁNG FOSFOMYCIN (*fosA3*) VÀ KIỂU HÌNH KHÁNG KHÁNG SINH CỦA *Escherichia coli* SINH β -LACTAMASE TRONG NƯỚC THẢI BỆNH VIỆN

Ngô Thanh Phong^{1,2}, Đặng Văn Chính², Huỳnh Thanh Hữu³, Trần Đỗ Hùng⁴,
Huỳnh Xuân Phong^{1*}

¹Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ

²Viện Y tế Công cộng Thành phố Hồ Chí Minh

³Bệnh viện Đa khoa tỉnh Vĩnh Long

⁴Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: hxphong@ctu.edu.vn

Ngày nhận bài: 03/11/2025; Ngày nhận bài sửa: 24/12/2025; Ngày chấp nhận đăng: 31/12/2025

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm xác định đặc điểm gene di động (*fosA3*) kháng fosfomycin từ 22 chủng vi khuẩn sinh enzyme β -lactamase phổ rộng (ESBL-*E. coli*) được phân lập từ nước thải sau xử lý tại bệnh viện Đa khoa Vĩnh Long. Kết quả cho thấy trong 22 chủng có kiểu hình kháng fosfomycin (FO 200) có 7 chủng mang gene *fosA3* (chiếm tỉ lệ 31,82%) và 15 chủng có kiểu hình kháng fosfomycin không phát hiện gene *fosA3* (68,18%). Đặc điểm 7 chủng ESBL-*E. coli* mang gene *fosA3* được xác định: 5 chủng có kiểu hình kháng 9/11 loại kháng sinh và mang 3 gene kháng (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M-1}, *fosA3*). Riêng 2 chủng ESBL-*E. coli* TVL8 và TVL21 kháng được 9/11 kháng sinh và mang đồng thời 4 gene kháng (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M-1}, *mcr-1*, *fosA3*). Sự hiện diện của gene *fosA3* trong môi trường nước thải cảnh báo nguy cơ lan truyền gene kháng thuốc trong cộng đồng. Nghiên cứu nhấn mạnh sự cần thiết trong kiểm soát sử dụng kháng sinh và giám sát các yếu tố di truyền kháng thuốc nhằm hạn chế sự phát triển và lan rộng của các chủng vi khuẩn kháng fosfomycin và các kháng sinh khác.

Từ khóa: Kháng fosfomycin, gene *fosA3*, ESBL-*E. coli*, nước thải bệnh viện.

1. MỞ ĐẦU

Kháng kháng sinh đã trở thành một vấn đề nóng của toàn cầu, gây ảnh hưởng đến môi trường và sức khỏe con người. Việc sử dụng kháng sinh không theo phác đồ điều trị thích hợp là nguyên nhân dẫn tới tình trạng đa kháng thuốc vi khuẩn [1]. Trong môi trường bệnh viện, tình trạng đa kháng thuốc của vi khuẩn cũng đang ở mức báo động do tần suất sử dụng kháng sinh trong điều trị các bệnh nhiễm trùng. Nước thải bệnh viện, chứa hàm lượng chất hữu cơ cao, hóa chất và vi khuẩn kháng kháng sinh trong quá trình chăm sóc và điều trị bệnh, được xem là nguồn phát tán vi khuẩn kháng thuốc ra môi trường [2].

Fosfomycin (FOS) là loại kháng sinh thường được sử dụng trong điều trị nhiễm trùng đường tiết niệu [3] trong bệnh viện thường được sử dụng phổ biến để ức chế các chủng vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae kháng nhiều loại thuốc (*Escherichia coli* (+/- sinh enzyme β -lactamase phổ rộng [ESBL]), *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Enterococcus* spp.) [4], [5]. Tuy nhiên, hiệu lực của fosfomycin đang suy giảm do sự xuất hiện và lan truyền của các gene kháng thuốc qua trung gian plasmid, transposon hoặc integron [6], [7]. Một trong những cơ chế phổ biến gây kháng fosfomycin là sự xuất hiện của enzyme glutathione S-transferase, có khả năng biến đổi và bất hoạt thuốc, thường được mã hóa bởi gene *fosA3* [7]. Gene *fosA3*, nằm trên plasmid liên kết với các yếu tố di truyền di động [8], đóng vai trò quan trọng trong việc lan truyền tính kháng thuốc ở vi khuẩn Gram âm thông qua việc chuyển gene ngang, đặc biệt khi đi kèm với các gene kháng khác như *bla*_{CTX-M}, là gene đặc trưng gây ra hiện tượng kháng ESBL [2], [9], [10].

Các gene kháng fosfomycin có khả năng di động đã được phát hiện từ nhiều nguồn khác nhau như người, động vật, thực phẩm và môi trường làm gia tăng lo ngại về nguy cơ lan truyền các chủng vi khuẩn nguy hiểm này, đặc biệt là *Escherichia coli* và *Salmonella* [7]. Trong đó, nước thải bệnh viện được xem là một nguồn chứa nhiều vi khuẩn kháng thuốc, bao gồm ESBL-*E. coli*, loài có khả năng trao đổi gene với các vi khuẩn khác thông qua plasmid mang các gene như *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} và *bla*_{CTX-M} [11]. Khi các plasmid này đồng thời mang theo các yếu tố di truyền di động như *fosA3*, nguy cơ lan truyền kháng thuốc trong cộng đồng càng trở nên đáng lo ngại. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân tích kiểu gene kháng fosfomycin (*fosA3*) ở các chủng *E. coli* sinh ESBL, từ đó đánh giá nguy cơ phát tán các chủng vi khuẩn kháng thuốc ra môi trường xung quanh.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và hóa chất

Vật liệu: Trong số các chủng ESBL-*E. coli* đã được mô tả trước đó [11], 22 chủng (11 chủng *E. coli* mang gene *bla*_{CTX-M-1} và 11 chủng mang đồng thời 2 gene *bla*_{TEM} + *bla*_{CTX-M-1}) có kiểu hình kháng fosfomycin được chọn để khảo sát thêm về gene *fosA3*. Chủng *E. coli* ATCC 25922 (đối chứng âm) và chủng *E. coli* kháng fosfomycin mang gene *fosA3* (*fosA3-E. coli*) được cung cấp bởi Đại học Osaka (Nhật Bản) làm chủng chuẩn cho quá trình nghiên cứu.

Hóa chất: TE 1X (Promega, Mỹ), Gotaq Green Master Mix 2X (Promega, Mỹ), dung dịch nhuộm Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega, Mỹ), thang chuẩn DNA 100 bp (Promega, Mỹ). Bộ kit Hi-112 (ABT Biological Solutions, Việt Nam).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Để lựa chọn quy trình tách chiết DNA phù hợp cho các chủng ESBL-*E. coli* trong nghiên cứu, hai phương pháp tách chiết (đun nhiệt và kit thương mại trên nền cột silica) được tiến hành so sánh về độ tinh sạch DNA thu được. Quy trình tách chiết được thử nghiệm trên chủng đối chứng dương *fosA3-E. coli* và chủng đối chứng âm *E. coli* ATCC 25922.

2.2.1. Khảo sát quy trình tách chiết DNA vi khuẩn

Quy trình tách nhiệt: Hút 1 mL dịch tăng sinh vào ống eppendorf 1,5 mL vô trùng, ly tâm 10.000 vòng/phút trong 10 phút. Loại bỏ dịch huyền phù, sinh khối được rửa 3 lần với dung dịch NaCl 0,9%. Sau đó, hút 500 μ L dung dịch TE 1X (Promega, Mỹ) vào ống eppendorf, ủ 95 °C trong 10 phút. Tiếp tục, mẫu được ly tâm 10.000 vòng/phút trong 1 phút để thu dịch nổi vào ống eppendorf mới [11].

Quy trình tách chiết bộ kit: Hút 1 mL dịch tăng sinh vào ống eppendorf 1,5 mL vô trùng; ly tâm 10.000 vòng/phút trong 10 phút, loại bỏ dịch huyền phù. Sử dụng bộ kit tách chiết DNA vi khuẩn (Hi-112, ABT) bằng cột silica gel để tách chiết DNA vi khuẩn.

DNA thu nhận ở hai quy trình tách chiết được đo nồng độ DNA để đánh giá độ tinh sạch. Chủng *E. coli* ATCC 25922 được chọn làm chủng đối chứng âm trong quá trình thử nghiệm.

Xác định nồng độ DNA: Huyền dịch sau tách chiết được đo nồng độ và kiểm tra độ tinh sạch bằng phương pháp đo độ hấp thụ ánh sáng với máy đo OD Nanodrop (UV-Vis Q5000, Quawell, Hoa Kỳ). Đo OD tại các bước sóng 230, 260, 280, 320 nm, thu được các giá trị A_{230} , A_{260} , A_{280} và A_{320} . Độ sạch của DNA được xác định thông qua hệ số $A_{260}/A_{280} = (A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. Hệ số A_{260}/A_{280} phải trong khoảng 1,7-2,0 cũng như A_{260}/A_{230} lớn hơn 1,5 [12].

2.2.2. Nhận diện gene kháng fosfomycin *fosA3* của các chủng ESBL-*E. coli*

Tổng cộng 22 chủng ESBL-*E. coli* có kiểu hình kháng fosfomycin được phân tích kiểu gene *fosA3* bằng kỹ thuật PCR với trình tự mồi, chu trình nhiệt và thành phần phản ứng được trình bày chi tiết ở Bảng 1 và Bảng 2. Chủng *E. coli* ATCC 25922 được sử dụng là đối chứng âm và chủng *E. coli* kháng fosfomycin mang gene *fosA3* (*fosA3-E. coli*) được dùng làm đối chứng dương trong quá trình nhận diện gene *fosA3*.

Bảng 1. Trình tự môi và chu trình nhiệt phát hiện gene *fosA3*

Tên môi	Trình tự môi	Chu trình nhiệt	Kích thước (bp)
<i>fosA3</i> -F <i>fosA3</i> -R	GCGTCAAGCCTGGCATTT GCCGTCAGGGTCGAGAAA	94°C/2 phút; 30 chu kỳ x (94°C/2 phút, 57°C/30 giây, 72°C/30 giây); 72°C/5 phút	282 [13]

Bảng 2. Thành phần phản ứng PCR

STT	Thành phần	Nồng độ cuối cùng	Thể tích hút (μL)
1	Gotaq Green Master Mix 2X	1X	10
2	<i>fosA3</i> -F	10 μM	1,0
3	<i>fosA3</i> -R	10 μM	1,0
4	DNA khuôn	10-50 ng	1,0
5	Nước không nuclease		7
Tổng cộng			20

Sử dụng 3 μL sản phẩm sau khuếch đại PCR và 100 ng của thang đo DNA 100 bp (Promega, Mỹ) nạp vào giếng điện di gel agarose 2%. Điện di được thực hiện ở điện thế 100 V trong 30 phút. Ngâm bản gel đã điện di vào dung dịch nhuộm Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega, Mỹ) trong 15-30 phút để chụp ảnh gel dưới đèn UV bằng máy soi gel bằng tia cực tím Accuris™ UV E3000-E (Benchmark Scientific, Hoa Kỳ).

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý và phân tích bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ).

3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát quy trình tách chiết DNA

Mẫu DNA thu được được đánh giá độ tinh sạch bằng máy UV-Vis (A_{230} , A_{260} , A_{280}) trước khi tiến hành PCR. Kết quả thử nghiệm trên hai mẫu đối chứng (*fosA3-E. coli* và *E. coli* ATCC 25922) cho thấy phương pháp tách chiết sử dụng bộ kit dựa trên công nghệ silica gel đạt tỷ lệ $A_{260/280}$ và $A_{260/230}$ cao hơn so với phương pháp tách nhiệt, cụ thể lần lượt là 1,88-1,91 và 1,55-1,63 ở mẫu xử lý bằng kit, so với 1,43-1,58 và 0,58-0,78 ở phương pháp tách nhiệt (Bảng 3). Giá trị $A_{260/280} < 1,7$ ở phương pháp tách nhiệt gợi ý khả năng còn lẫn tạp protein trong mẫu, trong khi các chỉ số thu được bằng bộ kit phù hợp hơn với tiêu chuẩn cho DNA thuần khiết.

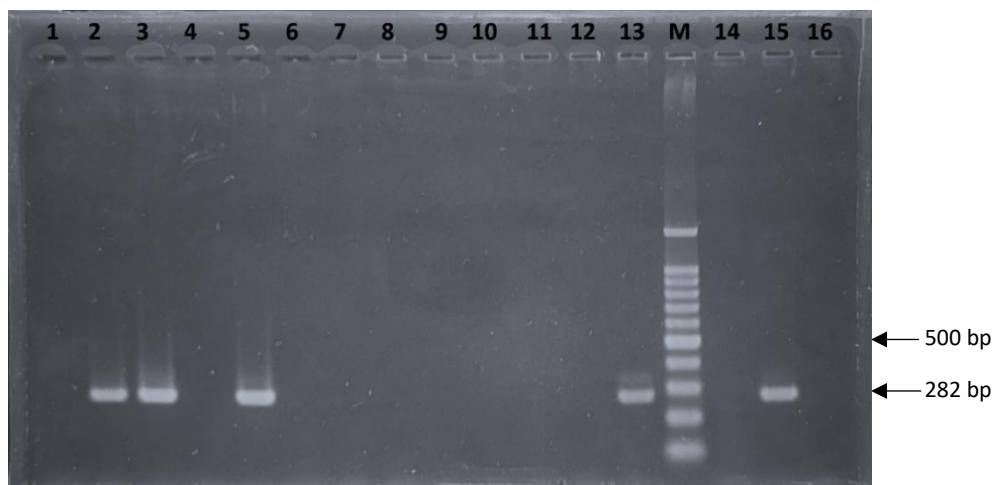
Bảng 3. So sánh độ tinh sạch quy trình tách chiết DNA

Mẫu sản phẩm DNA	Phương pháp tách nhiệt		Bộ kit thương mại	
	260/280	260/230	260/280	260/230
<i>fosA3-E. coli</i>	1,58	0,58	1,88	1,63
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1,43	0,78	1,91	1,55

Vì vậy, trên cơ sở thử nghiệm ban đầu với các mẫu đối chứng nêu trên, nghiên cứu đã chọn phương pháp tách chiết bằng bộ kit để thu nhận DNA cho các bước phân tích tiếp theo đối với các chủng ESBL-*E. coli*.

3.2. Kết quả nhận diện gene *fosA3* của chủng ESBL-*E. coli*

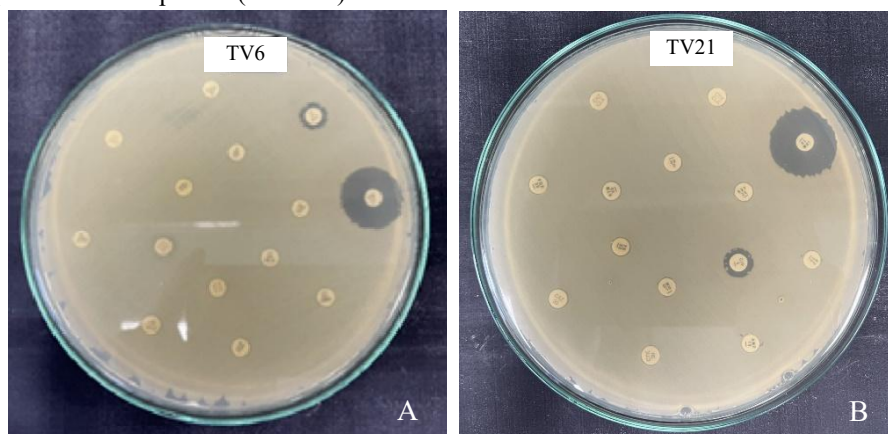
Kết quả phân tích cho thấy từ 22 chủng ESBL-*E. coli* có kiểu hình kháng fosfomycin đã xác định được 7 chủng mang gene *fosA3* (TVL6, TVL8, TVL9, TVL18, TVL21, TVL22, TVL24; chiếm tỉ lệ 31,82%) và 15 chủng không phát hiện gene *fosA3* (chiếm tỉ lệ 68,18%) thông qua kết quả sản phẩm khuếch đại đặc hiệu từ phản ứng PCR. Kết quả điện di trên gel bằng cặp môi đặc hiệu *fosA3* được thể hiện ở Hình 1 với kích thước sản phẩm PCR là 282 bp với các chủng ESBL-*E. coli* đại diện (TVL6, TVL9 và TVL18).



Hình 1. Kết quả điện di kiểu gene *fosA3* (giếng 1: TV2 (-); giếng 2: TV6 (+), giếng 3: TV9 (+), giếng 4: TV10 (-), giếng 5: TV18 (+), giếng 6-12: TVL11-TVL17, M: thang chuẩn 100 bp, giếng 14: chứng âm *E. coli* ATCC 25922, giếng 15: *E. coli* dương tính gene *fosA3*; giếng 16: nước cất)

3.3. Mối liên quan kiểu hình và kiểu gene kháng kháng sinh của các chủng ESBL-*E. coli* có chứa gene *fosA3*

Kết quả ở Hình 2 thể hiện kiểu hình kháng kháng sinh của các chủng ESBL-*E. coli* mang gene *fosA3* với 11 loại kháng sinh thử nghiệm. Trong đó, kết quả cho thấy khả năng kháng đến 9 trong 11 loại kháng sinh thử nghiệm của chủng ESBL-*E. coli* TVL6 nhạy cảm với polymyxin B (colistin) và imipenem (Hình 2A). Tương tự, chủng ESBL-*E. coli* TVL21 cũng cho thấy chỉ nhạy cảm chỉ với chloramphenicol và imipenem (Hình 2B).



Hình 2. Kết quả kiểu hình của chủng ESBL-*E. coli* kháng fosfomicin mang gene *fosA3*. Kiểu hình kháng kháng sinh *E. coli* TVL6 (A); Kiểu hình kháng kháng sinh *E. coli* TVL21 (B)

Từ kết quả nhận diện gene *fosA3* ở trên và đặc điểm kiểu hình kháng kháng sinh được tổng hợp ở Bảng 4 cho thấy 5 chủng ESBL-*E. coli* (TVL6, TVL9, TVL18, TVL22, TVL24) có kiểu hình kháng 9/11 loại kháng sinh được thử nghiệm có sự hiện diện của gene kháng *fosA3* cùng với 2 gene kháng (*bla*_{TEM} + *bla*_{CTX-M-1}) đã được công bố trước đây [12]. Hai chủng ESBL-*E. coli* TVL8 và TVL21 cũng biểu hiện kiểu hình kháng với 9/11 loại kháng sinh (nhạy cảm với chloramphenicol và imipenem) đồng thời mang 4 gene kháng thuốc, bên cạnh *fosA3* là 3 gene đã được xác định (*bla*_{TEM} + *bla*_{CTX-M-1} + *mcr-1*). Trong nghiên cứu này, có 15/22 chủng ESBL-*E. coli* (68,18%) biểu hiện kiểu hình kháng fosfomicin nhưng không phát hiện gene *fosA3*. Kết quả này cho thấy các chủng vi khuẩn có kiểu hình kháng fosfomicin không chỉ giới hạn ở cơ chế do *fosA3* trung gian, mà còn có thể liên quan đến nhiều cơ chế kháng khác chưa được khảo sát trong nghiên cứu. Tuy vậy, mặc dù các chủng không mang gene *fosA3*

lại mang các gene kháng thuốc khác như (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M-1}, *mcr-1*, *mcr-8*) điều này làm gia tăng mối lo ngại về khả năng tồn tại và lan truyền các yếu tố di truyền kháng thuốc trong môi trường nước thải bệnh viện khi thải ra môi trường xung quanh.

Bảng 4. Đặc điểm chủng ESBL-*E. coli* mang gene *fosA3*

Mã chủng ESBL- <i>E. coli</i>	Đặc điểm kiểu hình kháng kháng sinh(*)			Đặc điểm kiểu gene kháng(*)
	Nhạy cảm	Trung gian	Kháng	
TVL2	GEN, TE, SXT, C, COL	IPM	AMP, AMC, KZ, CIP, FO	<i>bla</i> _{CTX-M-1}
TVL4		IPM	AMP, AMC, KZ, GEN, TE, CIP, SXT, C, FO, COL	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1} , <i>mcr-8</i>
TVL6	COL	IPM	AMP, AMC, KZ, GEN, TE, CIP, SXT, C, FO	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1} , <i>fosA3</i>
TVL7	TE, C		AMP, AMC, KZ, IPM, GEN, CIP, SXT, FO, COL	<i>bla</i> _{CTX-M-1}
TVL8	IPM		AMP, AMC, KZ, GEN, TE, CIP, SXT, C, FO, COL	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1} , <i>mcr-1</i> , <i>fosA3</i>
TVL9	COL	IPM	AMP, AMC, KZ, GEN, TE, CIP, SXT, C, FO	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1} , <i>fosA3</i>
TVL10	IPM, GEN, SXT, COL		AMP, AMC, KZ, TE, CIP, C, FO	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1}
TVL11, TVL12, TVL13, TVL14, TVL15	TE, C, COL		AMP, AMC, KZ, IPM, GEN, CIP, SXT, FO	<i>bla</i> _{CTX-M-1}
TVL16	IPM, GEN, TE, SXT, C, COL		AMP, AMC, KZ, CIP, FO	<i>bla</i> _{CTX-M-1}
TVL17	GEN, TE, SXT, C, COL		AMP, AMC, KZ, IPM, CIP, FO	<i>bla</i> _{CTX-M-1}
TVL18	COL	IPM	AMP, AMC, KZ, GEN, TE, CIP, SXT, C, FO	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1} , <i>fosA3</i>
TVL19	TE, COL	C	AMP, AMC, KZ, IPM, GEN, CIP, SXT, FO	<i>bla</i> _{CTX-M-1}
TVL20	TE, C		AMP, AMC, KZ, IPM, GEN, CIP, SXT, FO, COL	<i>bla</i> _{CTX-M-1} , <i>mcr-1</i>
TVL21	IPM		AMP, AMC, KZ, GEN, TE, CIP, SXT, C, FO, COL	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1} , <i>mcr-1</i> , <i>fosA3</i>
TVL22	IPM, COL		AMP, AMC, KZ, GEN, TE, CIP, SXT, C, FO	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1} , <i>fosA3</i>
TVL23	TE, C, COL		AMP, AMC, KZ, IPM, GEN, CIP, SXT, FO	<i>bla</i> _{CTX-M-1}
TVL24	IPM, COL		AMP, AMC, KZ, GEN, TE, CIP, SXT, C, FO	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1} , <i>fosA3</i>
TVL25	IPM, GEN, COL		AMP, AMC, KZ, TE, CIP, SXT, C, FO	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1}

(*)Ghi chú: Các gene kháng *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M-1}, *mcr-1* từ 7 chủng này đã được nhận diện trong công bố trước đây của nhóm nghiên cứu (Phong et al., 2024) [12]. Kháng sinh: Ampicillin (AMP), amoxicillin/acid clavulanic (AMC), cefazolin (KZ), gentamicin (GEN), tetracycline (TE), ciprofloxacin (CIP), sulfamethoxazole-trimethoprim (SXT), chloramphenicol (C), fosfomycin (FO), imipenem (IPM), colistin (COL).

Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng sự lan truyền của gene *fosA3* có mối liên hệ chặt chẽ với các chủng vi khuẩn kháng ESBL, đặc biệt là những chủng mang gene *bla*_{CTX-M} [7]. Tại một số quốc gia thuộc châu Âu và châu Á, nhiều nghiên cứu đã phân tích đặc điểm di truyền của gene *fosA3*, cho thấy cơ chế vận chuyển gene kháng chủ yếu thông qua plasmid thuộc nhóm IncFII. Plasmid này thường được phát hiện ở các loài vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae kháng ESBL, mang theo các biến thể phổ biến của gene *bla*_{CTX-M} (*bla*_{CTX-M-2}, *bla*_{CTX-M-3}, *bla*_{CTX-M-9}, *bla*_{CTX-M-14}, *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{CTX-M-24}, *bla*_{CTX-M-27}, *bla*_{CTX-M-38}, *bla*_{CTX-M-55}, *bla*_{CTX-M-65}, *bla*_{CTX-M-125}) [7], [14]. Kết quả của nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của Lee và cộng sự (2012), khi nhóm tác giả tiến hành khảo sát tỷ lệ kháng của các chủng ESBL-*E. coli* và ESBL-*Klebsiella pneumoniae* được phân lập tại một bệnh viện ở Hàn Quốc. Kết quả

cho thấy mức độ nhạy cảm với fosfomycin lần lượt là 92,9% ở *E. coli* và 95,2% ở *K. pneumoniae*. Trong số 21 chủng vi khuẩn không nhạy cảm với fosfomycin (gồm 8 chủng *E. coli* và 13 chủng *K. pneumoniae*), có 7 chủng (5 *E. coli* và 2 *K. pneumoniae*) mang gene *fosA3* và tất cả các chủng này đều đồng thời mang một trong hai nhóm gene *bla*_{CTX-M-1} hoặc *bla*_{CTX-M-9}. Mặc dù tỷ lệ kháng fosfomycin ở *E. coli* và *K. pneumoniae* sinh ESBL được đánh giá là thấp (tương ứng là 4,2% và 5,5%), tuy nhiên trong nhóm vi khuẩn kháng fosfomycin, có tới 62,5% chủng *E. coli* và 15,4% chủng *K. pneumoniae* mang gene *fosA3* qua plasmid [15].

Phân tích kiểu trình tự cho thấy các chủng mang gene *fosA3* có tính đa dạng di truyền cao, với hai kiểu vận chuyển gene chính trên plasmid: nhóm *bla*_{CTX-M-1} liên quan đến plasmid IncF và nhóm *bla*_{CTX-M-9} liên quan đến plasmid IncN. Đáng chú ý, gene *fosA3* thường được kết nối với *bla*_{CTX-M} thông qua các trình tự chèn, nằm giữa hai yếu tố IS26 định hướng ngược chiều nhau, hình thành nên một transposon tổng hợp kiểu IS26 [15]. Ngoài việc liên kết với các trình tự gene *bla*_{CTX-M}, gene *fosA3* còn có thể gắn kết với gene *bla*_{TEM} thông qua yếu tố chèn IS26 [8][15]. Nghiên cứu của Biggle và cộng sự (2021) về tình trạng kháng fosfomycin ở các chủng *E. coli* và *Klebsiella* spp. được phân lập từ các nguồn môi trường như nước thải, nước mặt và thực phẩm tại Thụy Sĩ trong giai đoạn 2012-2019 cho thấy trong số 11 chủng có mức độ kháng fosfomycin cao, được trung gian bởi các plasmid mang gene *fosA3* hoặc *fosA8*, có 4 chủng chứa plasmid thuộc nhóm IncN (~45 kb) gần như giống hệt nhau và mang gene *fosA3*. Sự di động và khả năng chuyển vị của gene *fosA*, cùng với vị trí đồng tồn tại trên plasmid với các gene kháng thuốc khác, được cho là yếu tố thúc đẩy mạnh mẽ quá trình lan truyền gene này [8].

Tại Nhật Bản, một nghiên cứu phân tích mẫu phân của người khỏe mạnh cho thấy 129/138 chủng *E. coli* (93,5%) dương tính với gene *bla*_{CTX-M} vẫn nhạy cảm với fosfomycin; trong số 8 chủng *E. coli* kháng fosfomycin, có 5 chủng đồng thời mang hai gene *fosA3* và *bla*_{CTX-M} trên các plasmid khác nhau, với cơ chế truyền gene liên quan đến yếu tố di động IS26 [16]. Tương tự, tại Đài Loan, Tseng và cộng sự báo cáo rằng 93,5% các chủng ESBL-*E. coli* ở người vẫn còn nhạy cảm với fosfomycin; tuy nhiên, gene *fosA3* được phát hiện có khả năng chèn vào các plasmid thuộc nhóm IncN và IncB/O thông qua yếu tố IS26 ở các chủng *E. coli* mang gene CTX-M [17]. Biến thể *fosA* phổ biến nhất là enzyme FosA3, đã được báo cáo trên toàn cầu và thường được tìm thấy được mã hóa trong các plasmid liên hợp và thường là những plasmid mang các yếu tố quyết định kháng thuốc khác, mang lại khả năng kháng các nhóm kháng sinh bổ sung [17][18].

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy gene *fosA3* hiện diện ở 7/22 chủng ESBL-*E. coli* kháng fosfomycin phân lập từ nước thải Bệnh viện Đa khoa tỉnh Vĩnh Long (chiếm 31,8%), gợi ý một nguồn tiềm ẩn gene kháng thuốc trong môi trường bệnh viện. Ở nhóm chủng mang gene *fosA3*, việc đồng thời phát hiện các gene *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M-1} và *mcr-1* cùng kiểu hình đa kháng với nhiều loại kháng sinh cho thấy các chủng này có tiềm năng đóng góp đáng kể vào gánh nặng vi khuẩn đa kháng, đồng thời đặt ra lo ngại về khả năng lan truyền gene kháng qua plasmid và các yếu tố di truyền di động được ghi nhận trong các nghiên cứu trước đây. Do vậy, cần tăng cường kiểm soát sử dụng kháng sinh, bao gồm fosfomycin, kết hợp giám sát thường quy các gene kháng thuốc trong nước thải bệnh viện, đồng thời thực hiện thêm các nghiên cứu về các biến thể *fos*, cấu trúc plasmid và các yếu tố di truyền liên quan, nhằm hiểu rõ hơn nguy cơ phát tán và có chiến lược can thiệp phù hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. C. La Rosa *et al.*, "The impact of wastewater on antimicrobial resistance: A scoping review of transmission pathways and contributing factors", *Antibiotics*, vol. 14, no. 2, Art. no. 131, 2025, doi: <https://doi.org/10.3390/antibiotics14020131>.
- [2] S. R. Partridge, S. M. Kwong, N. Firth, and S. O. Jensen, "Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance", *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 31, no. 4, Art. no. e00088-17, 2018, doi: <https://doi.org/10.1128/CMR.00088-17>.
- [3] N. D. Tâm *et al.*, "Phân tích mức độ tiêu thụ kháng sinh fosfomycin tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 từ năm 2020 đến năm 2022", *Tạp chí Y Dược lâm sàng 108*, vol. 18, pp. 132–138, 2023, doi: <https://doi.org/10.52389/ydls.v18idbv.1965>.

- [4] A. Babiker, L. Clarke, Y. Doi, and R. K. Shields, "Fosfomycin for treatment of multidrug-resistant pathogens causing urinary tract infection: A real-world perspective and review of the literature", *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 95, no. 3, Art. no. 114856, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2019.06.008>.
- [5] M. E. Falagas, F. Athanasaki, G. L. Voulgaris, N. A. Triarides, and K. Z. Vardakas, "Resistance to fosfomycin: Mechanisms, frequency and clinical consequences", *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 53, no. 1, pp. 22–28, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.09.013>.
- [6] S. Zhang *et al.*, "Updates on the global dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli*: An emerging threat to public health", *Sci. Total Environ.*, vol. 799, Art. no. 149280, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149280>.
- [7] K. Zurfluh, A. Treier, K. Schmitt, and R. Stephan, "Mobile fosfomycin resistance genes in Enterobacteriaceae - An increasing threat", *MicrobiologyOpen*, vol. 9, no. 12, Art. no. e1135, 2020, doi: <https://doi.org/10.1002/mbo3.1135>.
- [8] M. Biggel, K. Zurfluh, A. Treier, M. Nüesch-Inderbinnen, and R. Stephan, "Characteristics of fosA-carrying plasmids in *E. coli* and *Klebsiella* spp. isolates originating from food and environmental samples", *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 76, no. 8, pp. 2004–2011, 2021, doi: <https://doi.org/10.1093/jac/dkab119>.
- [9] C. Ö. Güneri, K. Stingl, M. Grobber, J. A. Hammerl, and C. Kürekci, "Different fosA genes were found on mobile genetic elements in *Escherichia coli* from wastewaters of hospitals and municipals in Turkey", *Sci. Total Environ.*, vol. 824, Art. no. 153928, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153928>.
- [10] R. Ito, M. P. Pacey, R. T. Mettus, N. Sluis-Cremer, and Y. Doi, "Origin of the plasmid-mediated fosfomycin resistance gene fosA3", *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 73, no. 2, pp. 373–376, 2018, doi: <https://doi.org/10.1093/jac/dkx389>.
- [11] N. T. Phong *et al.*, "Antibiotic resistance genes, colistin-resistant *Escherichia coli*, and physicochemicals in health care wastewater in Vinh Long General Hospital, Vietnam", *Environ. Monit. Assess.* vol. 196, Art. no. 1187, 2024, doi: <https://doi.org/10.1007/s10661-024-13345-z>.
- [12] W. W. Wilfinger, K. Mackey, and P. Chomczynski, "Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity". *Biotechniques*, vol. 22, no. 3, pp. 474–481, 1997, doi: <https://doi.org/10.2144/97223st01>.
- [13] J. Hou *et al.*, "Dissemination of the fosfomycin resistance gene fosA3 with CTX-M β -lactamase genes and rmtB carried on *incFII* plasmids among *Escherichia coli* isolates from pets in China", *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 56, no. 4, pp. 2135–2138, 2012, doi: <https://doi.org/10.1128/AAC.05104-11>.
- [14] L. Lv *et al.*, "Multiple plasmid vectors mediate the spread of fosA3 in extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriales* isolates from retail vegetables in China", *mSphere*, vol. 5, no. 4, Art. no. e00507-20, 2020, doi: <https://doi.org/10.1128/msphere.00507-20>.
- [15] S. Y. Lee *et al.*, "Prevalence of acquired fosfomycin resistance among extended-spectrum-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Korea and IS26-composite transposon surrounding fosA3", *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 67, no. 12, pp. 2843–2847, 2012, doi: <https://doi.org/10.1093/jac/dks319>.
- [16] N. Sato, K. Kawamura, K. Nakane, J. I. Wachino, and Y. Arakawa, "First detection of fosfomycin resistance gene fosA3 in CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates from healthy individuals in Japan", *Microb. Drug Resist.*, vol. 19, no. 6, pp. 477–482, 2013, doi: <https://doi.org/10.1089/mdr.2013.0061>.
- [17] T. Y. Yang, P. L. Lu, and S. P. Tseng, "Update on fosfomycin-modified genes in Enterobacteriaceae", *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, vol. 52, no. 1, pp. 9–21, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2017.10.006>.
- [18] J. Findlay *et al.*, "Plasmid-mediated fosfomycin resistance in *Escherichia coli* isolates of worldwide origin", *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, vol. 35, pp. 137–142, 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.09.003>.

ABSTRACT

DETERMINATION OF FOSFOMYCIN RESISTANT GENE (*fosA3*) IN β -LACTAMASE PRODUCING *Escherichia coli* FROM HOSPITAL WASTEWATER

Ngo Thanh Phong^{1,2}, Dang Van Chinh², Huynh Thanh Huu³, Tran Do Hung⁴,
Huynh Xuan Phong^{1*}

¹*Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University*

²*HCMC Public Health Institute*

³*Vinh Long General Hospital*

⁴*Can Tho University of Medicine and Pharmacy*

*Email: hxphong@ctu.edu.vn

This study aims to determine the fosfomycin resistant gene (*fosA3*) from 22 ESBL-*E. coli* strains (11 *E. coli* strains carrying the *bla*_{CTX-M-1} gene and 11 strains carrying both genes (*bla*_{TEM} + *bla*_{CTX-M-1})), which were isolated from treated wastewater at Vinh Long General Hospital (2023). In total, 22 strains had a fosfomycin (FO 200) resistance phenotype and 7 strains carried the *fosA3* gene (accounting for 31.82%) and 15 strains did not contain *fosA3* (68.18%). The characteristics of the seven ESBL-producing *E. coli* strains carrying the *fosA3* gene were identified. Among them, five strains exhibited resistance to 9 of the 11 antibiotics tested and harbored three resistance genes (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M-1}, *fosA3*). In addition, two strains (TVL8 and TVL21) displayed resistance to 9 of the 11 antibiotics and simultaneously carried four resistance genes (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M-1}, *mcr-1*, *fosA3*). The presence of the *fosA3* gene in wastewater environments highlights the risk of antibiotic resistance gene transmission within the community. This study emphasizes the necessity of controlling antibiotic use and monitoring resistance genetic elements to limit the development and spread of fosfomycin-resistant and other antibiotic-resistant bacterial strains.

Keywords: Fosfomycin resistant, *fosA3* gene, ESBL-*E. coli*, hospital wastewater.