

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
KHOA KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ XÃ HỘI

HOÀNG THANH THỦY

NGHIÊN CỨU CĂN NGUYÊN
STAPHYLOCOCCUS AUREUS GÂY NHIỄM
TRÙNG TRÊN BỆNH NHÂN ĐIỀU TRỊ TẠI
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TRUNG ƯƠNG
THÁI NGUYÊN (2006 - 2007)

LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP ĐẠI HỌC
NGÀNH CÔNG NGHỆ SINH HỌC
Chuyên ngành: Vi sinh vật học

Giáo viên hướng dẫn: TS.BS. Lưu Thị Kim Thanh



LỜI CẢM ƠN

Trước hết, tôi xin trân trọng cảm ơn TS. Bác sỹ Lưu Thị Kim Thanh, Trưởng khoa Vi sinh Bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên đã định hướng nghiên cứu và tạo điều kiện đầy đủ về trang thiết bị và hóa chất để tôi thực hiện khóa luận tốt nghiệp.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến các thầy cô giáo thuộc Bộ môn Sinh học - Khoa khoa học tự nhiên và xã hội - Đại học Thái Nguyên đã dạy dỗ và trang bị cho tôi kiến thức bổ ích trong suốt 4 năm học qua. Qua đây tôi xin bày tỏ lòng cảm ơn tới tập thể cán bộ kỹ thuật viên Khoa vi sinh Bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên đã giúp đỡ tôi trong thời gian làm thực nghiệm tại phòng thí nghiệm.

Tôi xin chân thành cảm ơn sự động viên giúp đỡ của tập thể lớp Công nghệ sinh học K1.

Thái Nguyên, ngày 20 tháng 05 năm 2007

Sinh viên

Hoàng Thanh Thủy

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
1. Đặt vấn đề.....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu	2
3. Nội dung nghiên cứu	2
<u>Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU</u>	3
1.1. Lược sử nghiên cứu <i>S. aureus</i>	3
1.2. Sự phân bố của <i>S. aureus</i>	3
1.3. Hình thái - cấu tạo:.....	4
1.4. Cấu tạo chung của vi khuẩn.....	4
1.5. Đặc điểm sinh học của <i>S. aureus</i>	7
1.6. Khái quát về nhiễm trùng.....	10
1.7. Hội chứng bệnh do <i>S. aureus</i> gây ra.....	11
1.8. Quá trình sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn trong điều kiện nuôi cấy tĩnh....	14
1.9. Cơ chế tác dụng của kháng sinh lên tế bào vi sinh vật.....	15
1.10. Hiện tượng và bản chất kháng thuốc của vi sinh vật.....	16
1.11. Biện pháp hạn chế sự đề kháng của vi khuẩn	18
<u>Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</u>	20
2.1. Đối tượng.....	20
2.2. Hóa chất.....	20
2.3. Dụng cụ, thiết bị.....	20
2.4. Môi trường, kháng sinh	20
2.5. Phương pháp nghiên cứu.....	22
<u>Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN</u>	29
3.1. Kết quả nuôi cấy.....	29
3.2. Kết quả phân lập.....	30
3.3. Kết quả xác định độ nhạy cảm với kháng sinh của <i>S. aureus</i>	33
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	39

CÁC CHỮ VIẾT TẮT

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
AM	Ampicilline
AN	Amikacine
CTX	Cefotaxine
CF	Cephalothine
CN	Cefalecine
CIP	Ciprofloxacin
TS	Co-trimoxazol
DO	Doxycycline
E	Erythromycine
GM	Gentamycine
NET	Netilmycine
NOR	Nofloxacin
P	Penicilline
PIP	Piperacine
RA	Rifapycine
OX	Oxacilline
TE	Tetracycline
VA	Vancomycine
TSST	Toxic Sock Syndrome Toxin

TÓM TẮT NGHIÊN CỨU

1. Tên đề tài

“Nghiên cứu căn nguyên *Staphylococcus aureus* gây nhiễm trùng trên bệnh nhân điều trị tại bệnh viện đa khoa Trung ương Thái Nguyên (2006 - 2007)”.

2. Đối tượng nghiên cứu

+ 323 mẫu bệnh phẩm gồm các loại: mủ vết thương, dịch âm đạo, dịch mũi họng lấy từ các bệnh nhân điều trị nhiễm trùng tại Bệnh viện Đa khoa Trung Ương Thái Nguyên.

+ Các chủng *S. aureus* phân lập được từ các bệnh phẩm.

3. Kết quả nghiên cứu

+ Sử dụng kỹ thuật nuôi cấy, phân lập để phân lập *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) trên 323 mẫu bệnh phẩm mủ, dịch âm đạo, dịch mũi họng; kết quả thu được 188 mẫu nuôi cấy dương tính chiếm tỷ lệ 58,75% và 19,15% số mẫu đó có căn nguyên gây nhiễm trùng là *S. aureus* (36 chủng *S. aureus*).

+ Sử dụng kỹ thuật Kirby - Bauer khuếch tán trên thạch xác định tính nhạy cảm với kháng sinh của 36 chủng *S. aureus* đã phân lập được tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên. Kết quả cho thấy: 73,53% số chủng nhạy cảm với vancomycine; 71,43% số chủng nhạy cảm với oxacilline; 69,23% và 62,96% số chủng nhạy cảm với rifampicine, ciprofloxacin; 60,61% số chủng nhạy cảm với cephalothine và 60% số chủng nhạy cảm với netilmycine; một số chủng *S. aureus* có tỷ lệ nhạy cảm với cefotaxime và amikacine gần tương đương (52%; 52,94%). Một số chủng có tỷ lệ kháng kháng sinh cao: penicilline: 100%; 80% số chủng kháng với piperacine; doxycycline: 77,42% kháng, 19,44% nhạy cảm; erythromycine: 77, 14% kháng, 20% nhạy cảm; 69,7% số chủng kháng với co - trimoxazol, 30,30% số chủng nhạy cảm, các chủng còn lại kháng trung gian.

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Việt Nam là một nước có nền kinh tế nông nghiệp, đời sống nhân dân còn nghèo nàn, lạc hậu, trình độ dân trí còn thấp. Vì vậy vấn đề vệ sinh phòng bệnh còn rất kém, các bệnh về "nhiễm khuẩn" có xu hướng ngày càng gia tăng. "Nhiễm khuẩn" có thể gây nên các vụ dịch lớn nhỏ ảnh hưởng đến sức khỏe và đời sống con người. Trong số các vi khuẩn gây bệnh, *S. aureus* gây bệnh khá phổ biến. *S. aureus* là một loại cầu khuẩn Gram (+), phân bố rất rộng: trong đất, nước, không khí và cả trên cơ thể người. Trong giới hạn của một đề tài tốt nghiệp chúng tôi chỉ nghiên cứu *S. aureus* ở trên người và gây bệnh cho người.

Chúng gây ra các bệnh ngoài da (mụn nhọt, viêm da, đầu đinh...); nhiễm khuẩn huyết; nhiễm trùng nhiễm độc thức ăn, viêm ruột cấp tính...

Ngoài ra, *S. aureus* còn gây ra nhiễm khuẩn sau những can thiệp y tế, gây khó khăn cho điều trị, tăng chi phí cho điều trị và chăm sóc sức khỏe bệnh nhân. *S. aureus* tồn tại phổ biến trong các môi trường ngoại cảnh (cả ở điều kiện khô, ướt hoặc nước) nên có nhiều cơ hội để chúng xâm nhập và gây bệnh. Vi khuẩn này có thể lây truyền trực tiếp hoặc gián tiếp qua không khí, quần áo, nhân viên y tế... *S. aureus* có khả năng sản xuất ra penicillinase (β - lactamase). Enzyme này phá huỷ vòng β -lactam, cấu trúc cơ bản của kháng sinh như penicilline G, Ampicilline, Ureidopenicilline ...làm cho các kháng sinh này mất tác dụng.

Hiện nay chưa có vaccine đặc hiệu để phòng bệnh do *S. aureus*. Vaccine là giải độc tố hoặc vaccine là vi khuẩn ít khi có kết quả tốt; chỉ có kháng sinh mới có vai trò hữu hiệu trong các bệnh nhiễm khuẩn *S. aureus*.

Song, do thói quen sử dụng thuốc kháng sinh một cách tùy tiện của con người làm tăng tính kháng kháng sinh của các vi khuẩn nói chung, *S. aureus*

nói riêng. Ngay cả một số kháng sinh vốn có tác dụng mạnh trước kia thì nay cũng không còn hiệu quả trong điều trị, việc điều trị phải trông chờ vào những loại kháng sinh mới.

Vì vậy việc tìm hiểu về *S. aureus*, đặc biệt là sự nhạy cảm kháng sinh của chúng trong giai đoạn hiện nay, là cần thiết giúp cho cộng đồng nhân dân nói chung, các thầy thuốc nói riêng, có thái độ đúng đắn trong việc phòng và điều trị bệnh do vi khuẩn rất đáng quan tâm này.

Xuất phát từ yêu cầu của thực tế trên, chúng tôi chọn đề tài tốt nghiệp là: “Nghiên cứu căn nguyên *Staphylococcus aureus* gây nhiễm trùng trên bệnh nhân điều trị tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên (2006- 2007)”.

2. Mục tiêu nghiên cứu

- 2.1. Xác định tỷ lệ do căn nguyên *S. aureus* ở một số bệnh nhân nhiễm trùng điều trị tại Bệnh viện đa khoa Trung ương Thái Nguyên.
- 2.2. Xác định mức độ nhạy cảm của *S. aureus* với một số kháng sinh.

3. Nội dung nghiên cứu

- 3.1. Phân lập *S. aureus* từ một số bệnh phẩm.
- 3.2. Đánh giá độ nhạy cảm với kháng sinh của các chủng *S. aureus* phân lập được.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Lược sử nghiên cứu *S. aureus*

+ Tụ cầu khuẩn là một trong số những vi khuẩn được biết đến từ lâu. Ngay từ buổi đầu của lịch sử phát triển ngành vi sinh vật học Robert Koch (1878) và Louis Pasteur (1880) rất quan tâm nghiên cứu loại vi khuẩn này

+ 1878 *S. aureus* được Robert Koch phát hiện từ mụn mủ ung nhọt.

+ 9 / 4 / 1880 Alexander Ogston đã trình bày tương đối đầy đủ vai trò của vi khuẩn này trong bệnh lý sinh mụn trong lâm sàng.

+ 1884 *S. aureus* được Rosenbach nghiên cứu tởm mỷ. *S. aureus* thuộc họ Micrococaceae [1].

Cho đến nay, loại tụ cầu gây bệnh này vẫn thu hút sự quan tâm nghiên cứu của các nhà khoa học.

Vũ Bảo Châu- Nguyễn Văn Dịp nghiên cứu tình trạng mang *S. aureus* ở bệnh nhân ngoại khoa và mối liên quan giữa nhiễm khuẩn vết mổ với việc cư trú của vi khuẩn này ở mũi [18].

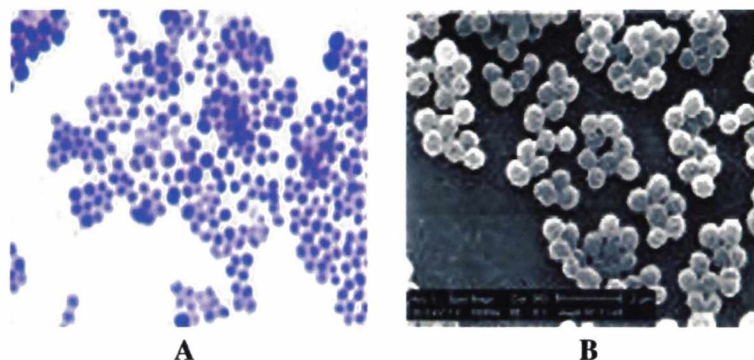
Tạ Khánh Vân (Khoa hô hấp- viện nhi Hà Nội) [18] đã chứng minh được *S. aureus* là loại vi khuẩn gây bệnh chủ yếu đối với những bệnh nhân bị mắc chứng bệnh viêm mụn màng phổi (235 bệnh nhân từ 1 tháng đến 15 tuổi được chuẩn đoán là viêm mụn màng phổi vào điều trị tại bệnh viện nhi từ 1/96 đến tháng 12/99). Ngoài ra còn rất nhiều nghiên cứu khác ở trong nước và trên thế giới. Anh, Mỹ cũng có những nghiên cứu đánh giá tình trạng nhiễm *S. aureus* ở các cộng đồng dân cư, các bệnh nhân nằm viện...

1.2. Sự phân bố của *S. aureus*

S. aureus phân bố rộng rãi trong tự nhiên (như trong đất, nước, không khí), đặc biệt là bình thường chúng cũng có thể có trên cơ thể người và động vật (thường là vùng mũi, họng (30%)) [6].

1.3. Hình thái - cấu tạo:

S. aureus có dạng hình cầu, đường kính 0,8-1 μ m, đứng tụ lại với nhau thành từng đám như chùm nho. Cũng có thể chúng đứng lẻ hay thành từng đôi hoặc thành từng chuỗi ngắn. *S. aureus* thường không có vỏ, không có lông, không di động, không sinh nha bào [13][12].



Hình 1.1: *S. aureus* soi trên kính hiển vi quang học (A) và kính hiển vi điện tử (B)

1.4. Cấu tạo chung của vi khuẩn

Vi khuẩn là những vi sinh vật đơn bào, không có màng nhân. Chúng có cấu trúc và hoạt động đơn giản hơn so với các tế bào có màng nhân. Vi khuẩn có thể có rất nhiều hình dạng nhưng chúng có cấu tạo chung như sau:

+ Thành tế bào:

Thành tế bào là lớp cấu trúc ngoài cùng, có độ rắn chắc nhất định để duy trì hình dạng của tế bào, có khả năng bảo vệ tế bào trước một số điều kiện bất lợi. Ở vi khuẩn Gram (+), sau khi dùng lizozim để phá vỡ thành tế bào hoặc dùng penicilline để ức chế việc tổng hợp thành tế bào có thể tạo ra những tế bào chỉ được bao bọc bằng màng tế bào chất, không quan sát được thành tế bào.

Thành phần cấu tạo của thành tế bào tính theo tỷ lệ phần trăm đối với khối lượng khô của tế bào vi khuẩn.

Thành phần	Gram (+)	Gram (-)
Peptidoglycan	30 - 95	5 - 20
Axit teicoic	Cao	0
Lipoit	Hầu như không có	20
Protein	Không có hoặc ít	Cao

Chức năng của thành tế bào:

- Duy trì hình dạng của tế bào.
- Hỗ trợ sự chuyển động của tiên mao.
- Giúp tế bào đề kháng với các lực tác động từ bên ngoài, ví dụ: Vi khuẩn Gram (+) chịu được áp suất thẩm thấu tới 15 - 20atm.
- Cần thiết cho quá trình phân cắt bình thường của tế bào.
- Ngăn một số chất có hại xâm nhập vào tế bào.
- Có liên quan mật thiết đến tính kháng nguyên, tính gây bệnh.

+ **Màng tế bào chất:** Màng tế bào được gọi là màng tế bào hay màng sinh chất; dày khoảng 4 - 5nm.

Cấu tạo: Màng tế bào cấu tạo bởi hai lớp photpholipit. Hầu hết màng tế bào chất của vi khuẩn không chứa các sterol, như cholesterol, do đó không cứng như màng tế bào của các tế bào nhân thật. Ở nhiều tế bào, nhất là vi khuẩn Gram (+), màng tế bào xâm nhập vào tế bào chất và tạo thành các hệ thống ống gọi là Mezoxom. Mezoxom nằm gần màng tế bào hay đâm sâu vào trong tế bào chất. Loại thứ 2 có lẽ gắn với nhiễm sắc thể và có chức năng nhất định trong quá trình sao chép ADN và quá trình phân bào. Mezoxom này có vai trò nhất định trong việc sinh penicilinase và một số enzyme khác.