

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

NGUYỄN VIỆT VƯƠNG

NGHIÊN CỨU CĂN NGUYÊN  
*ESCHERICHIA COLI* 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

TL-89  
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
KHOA KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ XÃ HỘI

THƯ VIỆN

THÁI NGUYÊN - 2007

## **Lời cảm ơn !**

*Bằng tấm lòng biết ơn sâu sắc, tôi xin trân trọng cảm ơn tiến sĩ - bác sĩ Lưu Thị Kim Thanh trưởng khoa vi sinh, bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện đề tài.*

*Xin trân trọng cảm ơn ban lãnh đạo khoa KHTN&XH, các giảng viên bộ môn sinh học đã cho tôi những kiến thức bổ ích về chuyên ngành, tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi học tập và hoàn thành đề tài.*

*Qua đây, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới các cán bộ, kỹ thuật viên phòng xét nghiệm vi sinh, bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên đã giúp đỡ tôi hoàn thành đề tài này.*

*Xin cảm ơn gia đình và bạn bè đã luôn động viên, khích lệ tôi, giúp tôi tự tin hơn khi thực hiện đề tài.*

*Thái Nguyên, ngày 20 - 05 - 2007*

*Sinh viên*

**Nguyễn Việt Vương**

## MỤC LỤC

MỞ ĐẦU .....	1
1. Đặt vấn đề.....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu.....	2
3. Nội dung nghiên cứu .....	2
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Lịch sử nghiên cứu .....	3
1.2. Hình thái, cấu tạo và sự sinh sản của vi khuẩn.....	3
1.3. Đặc điểm hoá sinh.....	9
1.4. Cấu trúc kháng nguyên.....	10
1.5. Khả năng tồn tại .....	10
1.6. Khả năng gây bệnh của vi sinh vật.....	10
1.7. Chất kháng sinh.....	17
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	20
2.1. Đối tượng nghiên cứu .....	20
2.2. Các thiết bị, hóa chất .....	20
2.3. Các môi trường nuôi cấy, phân lập, xác định tính chất hóa sinh và làm kháng sinh đồ.....	21
2.4. Phương pháp nghiên cứu .....	24
Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....	34
3.1. Kết quả nuôi cấy.....	34
3.2. Kết quả phân lập.....	35
3.3. Kết quả xác định độ nhạy cảm của <i>E. coli</i> với các chất kháng sinh .....	38
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....	44

## DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

*E. coli*: *Escherichia coli*

NTDT: Nhiễm trùng đường tiêu

AM: Ampicillin

CF: Cefalotin

CTX: Cefotaxime

CN: Cefalexin

CAZ: Ceftazidime

CRO: Ceftriaxon

PIP: Piperacillin

TE: Tetracycline

DO: Doxycycline

GM: Gentamixin

AN: Amikaxin

TM: Tobramyxin

NET: Netilmicin

NOR: Norfloxacin

CIP: Ciprofloxacin

SXT: Co - triazol

C: Chloramphenicol

## TÓM TẮT NGHIÊN CỨU

### 1. Tên đề tài

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

### 2. Đối tượng nghiên cứu

+ 340 bệnh phẩm, bao gồm: bệnh phẩm phân, nước tiểu, dịch âm đạo - cổ tử cung của bệnh nhân điều trị nhiễm trùng tại bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên.

+ Các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được trong các bệnh phẩm trên.

### 3. Mục tiêu nghiên cứu

3.1. Xác định tỉ lệ nhiễm khuẩn do vi khuẩn *E. coli* ở bệnh phẩm phân, tiết niệu, đường sinh dục nữ.

3.2. Phát hiện tính nhạy cảm với kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* qua kỹ thuật kháng sinh đồ.

### 4. Kết quả thu được

Trong số 340 bệnh phẩm nghiên cứu:

4.1. Căn nguyên gây bệnh do *E. coli* chiếm 23,67% các trường hợp nhiễm trùng do vi khuẩn mà chúng tôi phát hiện được.

4.2. Tính nhạy cảm với kháng sinh của *E. coli*:

+ Vi khuẩn *E. coli* nhạy cảm nhất với kháng sinh cefotaxime (79,41%).

+ Nhạy cảm khá cao với các kháng sinh ceftriaxon, ceftazidim, norfloxacin, netilmicin (62,86% - 70,27%).

+ Nhạy cảm từ 47,37% - 58,33% đối với các kháng sinh tobramycin, amikacin, gentamycin, Ciprofloxacin.

+ Kháng cao nhất với kháng sinh tetracycline (100%), tiếp theo là các kháng sinh ampicillin, doxycycline, cefalotin, cefalexin, co - triazol, piperacillin, tỉ lệ kháng 75% - 84,62%.

## MỞ ĐẦU

### 1. Đặt vấn đề

Vi sinh vật y học là môn học về các vi sinh vật gây bệnh cho người. Chính vì vậy, bộ môn này được ứng dụng rất rộng rãi, mang lại nhiều hữu ích trong chẩn đoán, phòng chống bệnh tật do vi sinh vật gây ra.

Vi khuẩn là một loại vi sinh vật có khả năng gây ra nhiều bệnh tật cho con người, từ mức độ nhẹ cho đến trầm trọng, tùy thuộc vào loài vi khuẩn và tính chất bệnh lí. Hiện nay trên thế giới đã phân lập, phát hiện, thống kê được rất nhiều loại vi khuẩn gây bệnh khác nhau. Vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*) là một trong số những loài vi sinh vật gây bệnh điển hình nhất cho con người cũng như cho các loài động vật nói chung. Bình thường, chúng có những lợi ích không thể phủ nhận (tham gia trong hệ vi khuẩn chí ở ruột tạo nên hàng rào vi sinh vật, bảo vệ cơ thể tại đây, tổng hợp một số vitamin cho cơ thể, ứng dụng trong kĩ thuật di truyền...). Song, vi khuẩn *E. coli* cũng có thể là căn nguyên gây ra rất nhiều bệnh tật cho một số cơ quan trên cơ thể người (như gây bệnh tại ruột hoặc cho các cơ quan khác ngoài ruột: da, đường hô hấp, đường sinh dục, tiết niệu...) Một số *E. coli* có thể gây co thắt bụng, sốt và ỉa chảy, suy giảm chức năng thận, mù loà, liệt và thậm chí có thể dẫn đến tử vong.

Trong những năm gần đây, *E. coli* vẫn là một trong số những vi khuẩn hàng đầu gây nên bệnh tật cho con người. Hiện nay vẫn chưa có vaccin phòng bệnh đặc hiệu cho các trường hợp nhiễm khuẩn *E. coli*. Người ta thường sử dụng thuốc kháng sinh khi điều trị bệnh, tuy nhiên đã xuất hiện rất nhiều chủng *E. coli* kháng lại thuốc kháng sinh. Đây thực sự là một khó khăn, thách thức lớn đối với các bác sĩ khi lựa chọn thuốc kháng sinh phù hợp cho người bệnh. Tính chất gây bệnh phổ biến của *E. coli* cộng với những khó khăn mắc phải khi điều trị bệnh do vi khuẩn kháng thuốc đã kéo theo rất nhiều tác động xấu, ảnh hưởng đến đời sống xã hội của con người. Các bệnh nhân sẽ phải chịu áp lực tâm lí

nặng nề khi nhiễm bệnh, bên cạnh đó chúng ta sẽ phải tốn nhiều tiền của hơn để tìm ra và sản xuất các loại kháng sinh mới... Việc phát hiện sớm các trường hợp nhiễm khuẩn *E. coli* và xác định được độ nhạy cảm của chúng với các chất kháng sinh rất có ý nghĩa trong điều trị bệnh cho bệnh nhân.

Xuất phát từ những vấn đề rất thực tiễn đó, chúng tôi đã quyết định chọn đề tài “Nghiên cứu căn nguyên *Escherichia coli* 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 tỉ lệ nhiễm khuẩn do vi khuẩn *E. coli* ở bệnh phẩm phân, tiết niệu, đường sinh dục nữ.

2.2. Phát hiện tính nhạy cảm với kháng sinh của vi khuẩn *E. coli* qua kỹ thuật kháng sinh đồ.

## **3. Nội dung nghiên cứu**

3.1. Phân lập *E. coli* từ một số bệnh phẩm khác nhau: Bệnh phẩm phân, bệnh phẩm dịch âm đạo - cổ tử cung và bệnh phẩm nước tiểu.

3.2. Đánh giá độ nhạy cảm với kháng sinh của các chủng *E. coli* phân lập được.

## CHƯƠNG 1

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### 1.1. Lịch sử nghiên cứu

Năm 1885, tại Munich, Theodor Escherich - một bác sĩ nhi khoa trẻ rất quan tâm đến những phát hiện quan trọng của Louis Pasteur và Robert Kock về vi khuẩn. Cùng với việc nghiên cứu bệnh tiêu chảy, qua nhiều thí nghiệm, Escherich tỏ rõ sự lưu ý tới một vi sinh vật ở đường ruột của trẻ em. Vi khuẩn do Escherich phát hiện từ trong tã lót của trẻ em được công bố với tên gọi đầu tiên là *Bacterium coli commune*. Chỉ 4 năm sau, năm 1889, loại vi khuẩn này được giới chuyên môn đổi tên thành *Escherich* nhằm tri ân người có công khám phá. Năm 1895, người ta lại gọi bằng tên *Bacillus coli*. Năm 1896, gọi thành *Bacterium coli*. Sau nhiều kiểu gọi, đến năm 1991, vi khuẩn này định danh thống nhất toàn cầu là *Escherichia coli* [23].

#### 1.2. Hình thái, cấu tạo và sự sinh sản của vi khuẩn.

##### 1.2.1. Cấu trúc của tế bào vi khuẩn

Qua kính hiển vi điện tử thấy cấu trúc của vi khuẩn gồm các bộ phận sau:

- Nhân: Nhân là bộ máy di truyền của tế bào vi khuẩn, bản chất là DNA. Vì có những axit này nên giải thích được tính chất ưa kiềm đối với những loại thuốc nhuộm kiềm. Nhưng trong nguyên sinh chất của vi khuẩn cũng có nhiều ARN, nghĩa là cũng ưa kiềm. Vì vậy khi nhuộm vi khuẩn bằng các thuốc nhuộm thông thường thì không thể phân biệt được đâu là nhân, đâu là chất nguyên sinh mà phải dùng phương pháp nhuộm riêng biệt RNA mới phát hiện được nhân của vi khuẩn. Nhân là một chuỗi DNA, không có màng nhân song có cấu tạo rõ ràng và nó có thể là hình cầu, hình que hay hình quả tạ. Vi khuẩn chỉ có một nhân, trừ giai đoạn đang phát thấy 2 - 4 nhân. Nhân gồm 2 sợi DNA xoắn kép vào nhau tạo thành vòng tròn khép kín. Nếu kéo dài ra nhân có kích thước dài xấp xỉ 1mm [14].



- Nguyên sinh chất: Nguyên sinh chất của tế bào vi khuẩn thường đơn giản hơn so với các tế bào khác. Nguyên sinh chất đồng nhất hoặc có hạt, đôi khi có hạt vùi, không có dòng chuyển động. Về cấu tạo hóa học, người ta thấy những hạt là các ribosom cấu tạo bởi protein và RNA. Các ribosom xếp thành từng đám gọi là polyribosom, có chức năng tổng hợp protein. Còn những hạt vùi là kho dự trữ cacbon, photphat và năng lượng.

Mặc thể là chỗ phình ra của màng nguyên tương và nối liền với nhân của vi khuẩn. Ở vi khuẩn Gram (+) thì mặc thể rất phát triển. Ở vi khuẩn Gram (-) mặc thể chỉ là một nếp nhăn đơn giản. Mặc thể có hệ thống permease giúp cho việc điều hòa chất hữu cơ vào trong tế bào vi khuẩn.

- Màng nguyên tương: Bằng những phương pháp đặc biệt, người ta thấy màng nguyên tương gồm 3 lớp; 1 lớp sáng ở giữa 2 lớp đục. Lớp sáng cấu tạo bởi lipit, lớp đục là protein. Màng nguyên tương chiếm 20% trọng lượng của tế bào vi khuẩn. Màng có nhiệm vụ thẩm thấu chọn lọc vì là nơi chứa men, đặc biệt là men chuyển hóa, hô hấp. Màng là nòng cốt của kháng nguyên thân. Màng giữ cho vi khuẩn có hình thể nhất định và giúp cho vi khuẩn không bị ly giải do áp lực thẩm thấu. Màng còn tham gia chỉ đạo sự phân chia của tế bào vi khuẩn.

Màng nguyên tương có những chức năng chủ yếu sau đây:

- + Khống chế sự qua lại của các chất dinh dưỡng, các sản phẩm trao đổi chất.
- + Duy trì áp suất thẩm thấu bình thường trong tế bào.
- + Là nơi sinh tổng hợp các thành phần của thành tế bào và các polyme của bao nhày (capsule).
- + Là nơi tiến hành quá trình photphoryl oxy hóa và photphoryl quang hợp (ở vi khuẩn quang tự dưỡng).
- + Là nơi tổng hợp nhiều enzym, các protein của chuỗi hô hấp.
- + Cung cấp năng lượng cho sự hoạt động của tiên mao.
- Bao nhày

Bao nhầy hay giáp mạc (capsule) gặp ở một số loài vi khuẩn với các mức độ khác nhau:

+ Bao nhầy mỏng (vi giáp mạc, microcapsule)

+ Bao nhầy (giáp mạc, capsule)

+ Khối nhầy: (zooglea) muốn quan sát bao nhầy thường lên tiêu bản với mực tàu, bao nhầy có màu trắng hiện lên trên nền tối.

Thành phần chủ yếu của bao nhầy là polysaccharid, ngoài ra cũng có polypeptid và protein. Trong thành phần polysaccharid ngoài glucose còn có glucozamin, ramnoza, acid 2-keto-3-deoxygalacturonic, acid uronic, acid pyruvic, acid axetic...

Ý nghĩa sinh học của bao nhầy là:

+ Bảo vệ vi khuẩn trong điều kiện khô hạn, bảo vệ vi khuẩn tránh bị thực bào (trường hợp Phế cầu khuẩn - *Diplococcus pneumoniae*)

+ Cung cấp chất dinh dưỡng cho vi khuẩn khi thiếu thức ăn

+ Là nơi tích lũy một số sản phẩm trao đổi chất (dextran, xantan...)

+ Giúp vi khuẩn bám vào giá thể ( trường hợp các vi khuẩn gây sâu răng như *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*...)

- Vách: vách là màng cứng bao bọc xung quanh vi khuẩn ở ngoài màng nguyên tương. Ở vi khuẩn Gram (+), vách có cấu tạo đơn giản nhưng dày; ở vi khuẩn Gram (-), vách mỏng hơn nhiều nhưng có cấu tạo phức tạp.

Nhiệm vụ của vách: vách đóng vai trò cơ học bảo vệ vi khuẩn giữ cho hình thể không thay đổi, chống lại sự ly giải và thẩm thấu. Vách có vai trò trong nhuộm gram, tất cả vi khuẩn Gram (+) nếu làm mất vách sẽ thành vi khuẩn Gram (-). Vách có thể tự tái sản sinh, hình thành vách ngang khi phân chia. Vận chuyển chọn lọc các chất cho màng nguyên tương. Ngoài ra, vách có vai trò trong miễn dịch vì phần lớn các kháng nguyên đều ở vách. Vách tham gia gây bệnh do nó chứa nội độc tố, ví dụ như vi khuẩn Gram (-) chẳng hạn.