



SỰ ĐỀ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA STAPHYLOCOCCI VÀ PSEUDOMONAS AERUGINOSA Ở BỆNH NHÂN VIÊM LOÉT GIÁC MẠC TẠI BỆNH VIỆN MẮT THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH NĂM 2015

Phan Thị Phương Trang^{1*}, Nguyễn Thị Kim Khanh²,

Trương Thị Tinh Tuom¹, Huỳnh Thị Kim Phương¹, Nguyễn Đức Hoàng¹

¹Trung tâm Khoa học và Công nghệ Sinh học - Trường Đại học KHTN – ĐHQG TP HCM

²Phòng Vi sinh - Khoa Xét nghiệm – Bệnh viện Mắt TP HCM

Ngày nhận bài: 01-11-2017; ngày nhận bài sửa: 15-11-2017; ngày duyệt đăng: 20-12-2017

TÓM TẮT

Staphylococci và Pseudomonas aeruginosa là hai vi khuẩn thường gây viêm loét giác mạc và có tỉ lệ đề kháng kháng sinh cao. Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân lập và đánh giá tình hình đề kháng kháng sinh của hai chủng trên từ 2228 mẫu bệnh phẩm được chẩn đoán viêm loét giác mạc tại Bệnh viện Mắt TP Hồ Chí Minh từ 1/2015 đến 9/2015. Kết quả thu được 621 mẫu nhiễm Staphylococci và 119 mẫu nhiễm P. aeruginosa. Đa số các chủng này kháng với các kháng sinh thông dụng. Đặc biệt có 7% Staphylococci kháng 6 loại kháng sinh trên tổng số 7 kháng sinh được kiểm tra và có 6 mẫu bệnh phẩm nhiễm P. aeruginosa sinh beta-lactamase phổ rộng (ESBL).

Từ khóa: đề kháng kháng sinh, viêm loét giác mạc, Staphylococci, P. aeruginosa.

ABSTRACT

Antibiotic resistance of Staphylococci and Pseudomonas aeruginosa isolates from patients with a corneal ulcer at the Eye Hospital Ho Chi Minh City, 2015

Staphylococci and Pseudomonas aeruginosa are 2 bacteria that main cause corneal ulcers and have high rates of antibiotic resistance. In this study, we isolated and investigated the resistance of them on 2228 specimens from patients who diagnosed the corneal ulcer at the HCMC Eye Hospital from 1/2015 to 9/2015. The result showed that had 621 samples of Staphylococci and 119 samples of P. aeruginosa. Most of strains resisted to common antibiotics. Specially, 7% of Staphylococci were resisted to 6 antibiotics out of a total of 7 tested antibiotics and 6 samples secret ESBL (broad-spectrum beta-lactamase antibiotic).

Keywords: antibiotic resistance, corneal ulcers, Staphylococci, P. aeruginosa.

1. Đặt vấn đề

Ngày nay, kháng sinh được sử dụng rộng rãi và không kiểm soát trong đời sống sinh hoạt nhằm: Kích thích sự tăng trưởng, phòng bệnh, điều trị bệnh cho người, vật nuôi và cây trồng đã làm xuất hiện nhiều chủng vi sinh vật đề kháng với các kháng sinh thường sử dụng và đa kháng kháng sinh gây khó khăn trong quá trình điều trị. Đối với các bệnh nhiễm khuẩn ở vùng mắt thì viêm loét giác mạc nguy hiểm do diễn tiến bệnh nhanh, gây

* Email: ptpttrang@yahoo.com

khó khăn trong sinh hoạt, ảnh hưởng đến thị lực và thẩm mỹ [1], [2]. Nghiêm trọng hơn, bệnh này có thể dẫn đến mờ mắt hoặc mù lòa nếu điều trị không đúng cách và kịp thời [1]. Các nghiên cứu ở Việt Nam cho thấy khoảng 54,4% các bệnh về mắt do vi khuẩn gây ra, còn lại là nấm, virus và amip [3], [4]. Tác nhân chủ yếu gây viêm loét giác mạc là Staphylococci và *P. aeruginosa* [5]. Nghiên cứu này nhằm khảo sát khả năng đề kháng kháng sinh của Staphylococci và *P. aeruginosa* được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm viêm loét giác mạc tại Bệnh viện Mắt TPHCM để cung cấp các thông tin cần thiết góp phần hỗ trợ bác sĩ lựa chọn kháng sinh phù hợp để điều trị đạt hiệu quả tối ưu cho bệnh viêm loét giác mạc.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. *Chủng vi khuẩn*

Các chủng Staphylococci và *P. aeruginosa* được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm được chẩn đoán bị viêm loét giác mạc thu nhận tại Khoa Giác Mạc, Bệnh viện Mắt TPHCM từ 1/2015 đến 9/2015. Chủng chuẩn Staphylococci 25923 và *P. aeruginosa* 27853 được cung cấp từ ngân hàng chủng ATCC.

2.2. *Môi trường và hóa chất sử dụng*

Các môi trường nuôi cấy và định danh vi sinh vật: BHI, BA, MA, MHA, MSA, KIA, IM, LDC, ODC được cung cấp bởi Công ty Oxoid (Anh).

Đĩa giấy kháng sinh được cung cấp bởi Công ty Nam Khoa: Amoxicillin/clavulanic acid (20/10 µg/ml), Cefotaxim (30 µg/ml), Cefoxitin (30 µg/ml), Vancomycin (30 µg/ml), Levofloxacin (5 µg/ml), Tobramycin (10 µg/ml), Azithromycin (15 µg/ml), Moxifloxacin (5 µg/ml), Ceftazidime (30 µg/ml), Imipenem (10 µg/ml).

2.3. *Phương pháp nghiên cứu*

Quy trình và phương pháp thu mẫu

Thu mẫu bệnh phẩm bằng tăm bông vô trùng hoặc bằng kim từ các bệnh nhân được chẩn đoán viêm loét giác mạc tại Khoa Giác Mạc. Sau đó cố định mẫu bằng nước muối sinh lý trên lam kính và chuyển ngay đến phòng Vi sinh - Khoa Xét Nghiệm của Bệnh viện Mắt TPHCM để đánh giá sự đề kháng kháng sinh.

Phương pháp phân lập

Mẫu được tiến hành soi tươi nhằm phân loại và xác định tỉ lệ của tác nhân gây bệnh (vi khuẩn hoặc tác nhân khác). Nuôi cấy tăng sinh trong môi trường BHI, trong 48 giờ ở 35-37°C, tiếp tục cấy trên môi trường BA và MC ở 35-37°C trong 48 giờ để xác định Gram.

Phương pháp định danh Staphylococci bằng thử nghiệm sinh hóa

Chọn những khuẩn lạc Gram dương: lên men đường manitol trên môi trường MSA, catalase và coagulase dương tính.

Phương pháp định danh P. aeruginosa bằng thử nghiệm sinh hóa

Chọn những vi khuẩn Gram âm tiến hành các thử nghiệm sinh hóa đặc trưng cho *P. aeruginosa* bao gồm: Khả năng sử dụng Citrate, khả năng phân hủy Ure, trên môi trường KIA và IM, các thử nghiệm: trên GEL (+), LDC (-), ADH (+), ODC (-) và Oxidase (+).

Kháng sinh đồ

Khảo sát kháng sinh đồ của Staphylococci và *P. aeruginosa* trong môi trường MHA sử dụng phương pháp đĩa giấy kháng sinh khuếch tán trên mặt thạch của Kirby-Bauer [6].

3. Kết quả**3.1. Thu nhận và phân tích mẫu**

Thu được 2228 mẫu từ các bệnh nhân chẩn đoán bị viêm loét giác mạc. Kết quả soi tươi của 2192 mẫu trên kính hiển vi cho thấy có đến 1094 (50%) mẫu bị nhiễm nấm và có 890 mẫu (40%) nhiễm khuẩn khi nuôi cấy sinh trong môi trường BHI. Ngoài ra còn có mẫu đồng nhiễm nấm và vi khuẩn với tỉ lệ thấp. Kết quả nhuộm Gram cho thấy phần lớn các chủng vi khuẩn nhiễm trong mẫu bệnh phẩm là vi khuẩn Gram dương, chiếm khoảng 78% tổng số mẫu phân lập được.

3.2. Phân lập và định danh Staphylococci và P. aeruginosa bằng thử nghiệm sinh hóa

Kết quả sau khi phân tích các thử nghiệm sinh hóa trong Bảng 1 cho thấy: Có 621 mẫu bệnh phẩm nhiễm Staphylococci, 119 mẫu bệnh nhiễm *P. aeruginosa* và một số ít vi khuẩn khác. Trong đó Staphylococci chiếm nhiều nhất (90%) trong nhóm vi khuẩn Gram dương và *P. aeruginosa* chiếm tỉ lệ cao nhất (64%) trong nhóm vi khuẩn Gram âm.

Bảng 1. Các chủng vi khuẩn phân lập được từ mẫu viêm loét giác mạc

Vi khuẩn gây bệnh	Số chủng	Tỉ lệ %
Vi khuẩn Gram âm		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	119	13%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	1%
<i>Proteus mirabilis</i>	16	2%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	17	2%
<i>Enterobacter spp.</i>	22	2%
<i>Serratia</i>	6	1%
Vi khuẩn Gram dương		
<i>Staphylococci coagulase (+)</i>	19	2%
<i>Staphylococci coagulase (-)</i>	602	68%
<i>Streptococci</i>	38	4%
<i>Bacilli</i>	35	4%
<i>Staphylococcus spp.</i> và <i>Pseudomonas spp</i>	6	1%
Vi khuẩn khác	10	4%
Số chủng	890	

3.3. Tình hình đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Staphylococci*

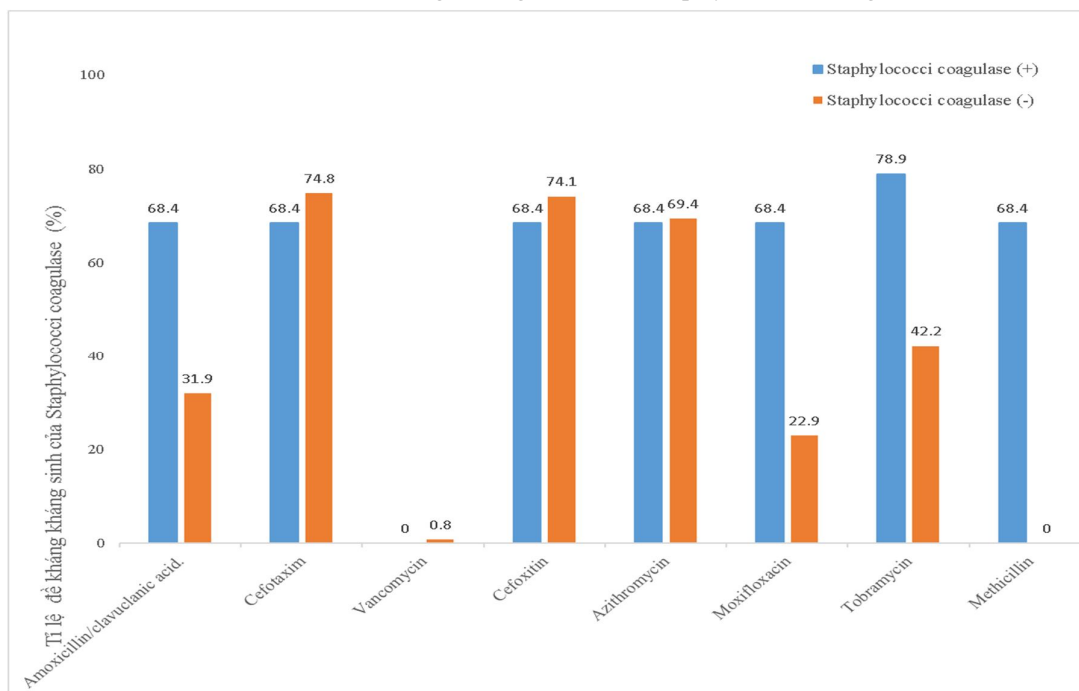
Staphylococci coagulase (+)

Nghiên cứu này phân lập được 19 chủng (2%) *Staphylococci coagulase (+)* từ 19 mẫu trên tổng số 621 mẫu *Staphylococci*. Tuy với lượng chủng ít nhưng kết quả kháng sinh đồ cho thấy số lượng mẫu có hiện tượng kháng kháng sinh khá cao. Hầu hết các chủng này là chủng đa kháng (Biểu đồ 1) và chỉ nhạy cảm duy nhất với Vancomycin. Trong đó, chủng kháng Tobramycin cao nhất lên đến 78,9%, sau đó là các kháng sinh Amoxicillin, Cefotaxim, Cefoxitin, Azithromycin, Moxifloxacin đều kháng với tỉ lệ 68,4%. Kết quả này cho thấy mức độ kháng kháng sinh của các chủng *Staphylococci coagulase (+)* phân lập từ các bệnh nhân được chẩn đoán viêm loét giác mạc là rất cao và kháng hầu hết các kháng sinh thông dụng.

Staphylococci coagulase (-)

Khảo sát này phân lập được 602 chủng *Staphylococci coagulase (-)* từ các mẫu bệnh phẩm, chiếm tỉ lệ 68%. Kết quả kháng sinh đồ trong Biểu đồ 1 cho thấy đa số chủng *Staphylococci coagulase (-)* phân lập được đều kháng với Cefotaxim (74,8%), Cefoxitin (74,1%), Azithromycin (69,4%) và nhạy cảm nhất với Vancomycin (0,8%). Như vậy, nếu sử dụng các kháng sinh trên ngoài trừ Vancomycin để điều trị viêm loét giác mạc cho các bệnh nhân nhiễm *Staphylococci coagulase (-)* sẽ không có hiệu quả. Mặc dù *Staphylococci coagulase (-)* đã kháng với 3 loại kháng sinh phổ biến thường sử dụng trong điều trị viêm loét giác mạc nhưng vẫn còn nhạy với kháng sinh Moxifloxacin và Vancomycin.

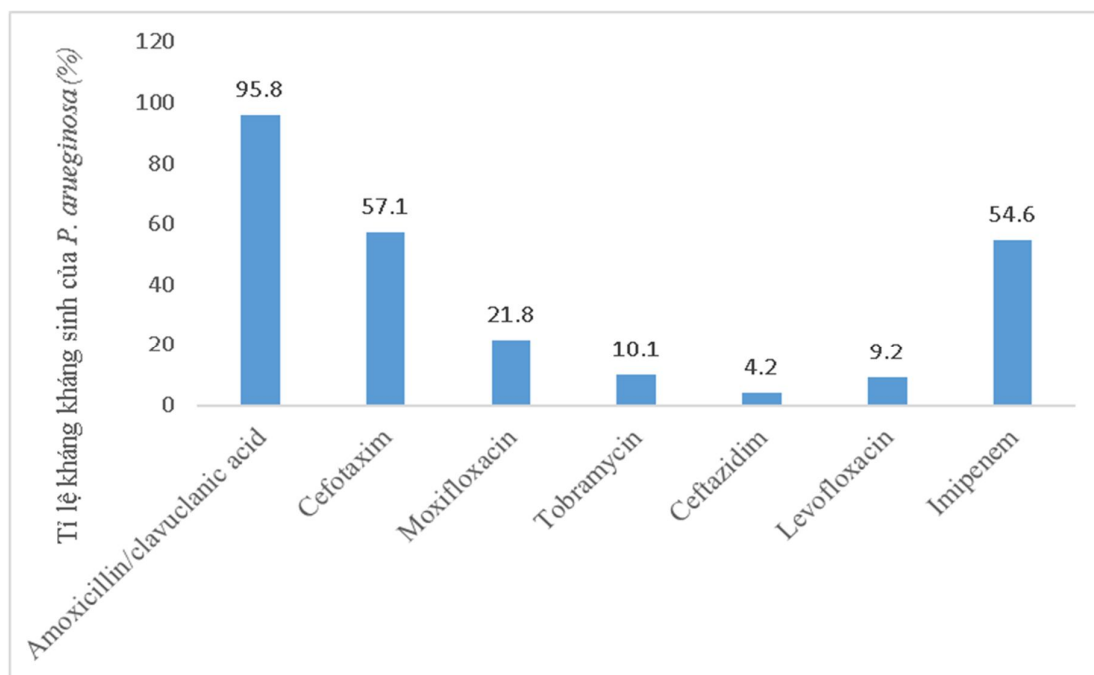
Biểu đồ 1. Tỉ lệ đề kháng kháng sinh của *Staphylococci coagulase*



3.4. Tình hình đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *P. aeruginosa*

Kết quả khảo sát khả năng đề kháng kháng sinh của 119 chủng *P. aeruginosa* phân lập từ 119 mẫu bệnh phẩm với 7 kháng sinh thông dụng trong điều trị viêm loét giác mạc do vi khuẩn này gây ra cho thấy có 3 kháng sinh đã bị đề kháng hơn 50%, trong đó kháng sinh dạng uống Amoxicillin/clavulanic acid có tỉ lệ đề kháng khá cao 96% chứng tỏ kháng sinh này đã không còn tác dụng trong việc điều trị viêm loét giác mạc gây ra bởi *P. aeruginosa* (Biểu đồ 2). Hai kháng sinh Cefotaxim và Imipenem với tỉ lệ mẫn kháng hơn 50%, cho thấy hiệu quả thấp nếu được sử dụng trong điều trị. Tuy nhiên, các chủng *P. aeruginosa* vẫn còn nhạy cảm với các kháng sinh như: Moxifloxacin (21,8%), Tobramycin (10,1%), Ceftazidim (4,2%), Levofloxacin (9,2%) nên có thể sử dụng trong điều trị và cần được cân nhắc để sử dụng thay thế. Đặc biệt chú ý đến sự gia tăng đề kháng với Imipenem khá cao chiếm tỉ lệ 54,6% - đây là kháng sinh thuộc nhóm Carbapenem. Kháng sinh này là vũ khí hữu hiệu nhất để điều trị bệnh nhiễm trùng do *P. aeruginosa*. Kết quả này cũng phù hợp với các công bố trước đó về tính đề kháng Imipenem của *P. aeruginosa*. Như vậy, cần phải có các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế kháng Imipenem để ngăn chặn vi khuẩn tiết enzyme Carbapenem (điển hình như ESBL) vì nguy cơ lan truyền tính kháng thuốc sẽ rất cao bởi đa số gen đề kháng nằm trên plasmid.

Biểu đồ 2. Tỉ lệ đề kháng kháng sinh của *P. aeruginosa*



4. Kết luận

Các mẫu bệnh phẩm được chẩn đoán viêm loét giác mạc thu nhận tại Bệnh viện Mắt TPHCM có tỉ lệ nhiễm khuẩn rất cao chiếm 40%. Trong đó 621 mẫu nhiễm Staphylococci và 119 mẫu nhiễm *P. aeruginosa*. Cả hai chủng vi khuẩn này có khả năng kháng cao với hầu hết các kháng sinh thông thường và kháng đa kháng sinh tới 32-47% và chỉ còn nhạy cảm duy nhất với Vancomycin.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

❖ **Lời cảm ơn:**

Chúng tôi chân thành cảm ơn Khoa Giác Mạc – Bệnh viện Mắt TPHCM đã cung cấp mẫu bệnh phẩm viêm loét giác mạc. Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia TPHCM trong khuôn khổ Nhiệm vụ thường xuyên theo chức năng mã số TX2017-18-04/HD-KHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Vũ Thị Tuệ Khanh, Lê Thị Ngọc Lan, Hoàng Thị Minh Châu, “Đặc điểm lâm sàng của bệnh viêm loét giác mạc do nấm tại Khoa Kết Giác mạc Bệnh viện Mắt Trung ương,” *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, 41(2): tr. 54-57, 2010.
- [2] Vũ Thị Tuệ Khanh, “Viêm loét giác mạc do nấm,” *Nhãn khoa Việt Nam*, 18: tr. 31- 36, 2010.
- [3] Hoàng Năng Trọng, Lê Quang Hoàn, “Chấn thương mắt nông nghiệp điều trị tại các cơ sở nhãn khoa Thái Bình năm 1996,” *Kỷ yếu hội nghị khoa học của nghiên cứu sinh lần thứ III*, Trường Đại học Y Hà Nội, 1997.
- [4] Trần Tất Thắng, “Đánh giá hiệu quả điều trị loét giác mạc do vi khuẩn của nhóm kháng sinh FluorQuynolone,” *Luận văn Thạc sĩ Y học*, Trường Đại học Y Hà Nội, 2009.
- [5] Vũ Hoàng Lệ Chi, Phạm Thị Khánh Vân, “Viêm loét giác mạc nhiễm trùng tại Bệnh viện Mắt Trung ương: Đặc điểm lâm sàng và vi sinh,” *Nhãn khoa Việt Nam*, 29: tr. 28-34, 2012.
- [6] Phạm Hùng Vân, Phạm Thái Bình, *Kháng sinh, đề kháng kháng sinh, kỹ thuật kháng sinh đồ - các vấn đề cơ bản thường gặp*. NXB Y học, 2013.