

NỒNG ĐỘ ỨC CHẾ TỐI THIỂU (MIC50 VÀ MIC90) CỦA VANCOMYCIN ĐỐI VỚI CÁC CHỦNG *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* KHÁNG METHICILLIN (MRSA) TẠI BV NINH THUẬN 2017

Lê Huy Thạch*, Lê Văn Thanh, Đỗ Thùy Dung

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Các nghiên cứu khác nhau trên khắp thế giới đã chứng minh sự xuất hiện của các chủng MRSA nhạy cảm trung gian hoặc kháng vancomycin.

Mục tiêu: Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC50 và MIC90) của vancomycin đối với các chủng *S. aureus* kháng Methicillin được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm khác nhau.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu cắt ngang mô tả. Thu thập các chủng MRSA từ các nhiễm trùng tại bệnh viện Ninh Thuận trong thời gian từ 01/2017 đến tháng 09/2017. Thực hiện định danh *S. aureus* bằng thử nghiệm sinh hoá. Xác định MRSA bằng phương pháp đĩa kháng sinh khuếch tán trong thạch. MIC của vancomycin được xác định bằng phương pháp pha loãng.

Kết quả nghiên cứu: Thu thập được 123 chủng vi khuẩn *S. aureus* từ các bệnh phẩm khác nhau với tỷ lệ MRSA là 65,9%. Nồng độ ức chế tối thiểu vancomycin đối với các chủng MRSA dao động từ 0.125µg/ml đến 1µg/ml. MIC50 và MIC90 của vancomycin trên MRSA là 0,5µg/ml.

Kết luận: MRSA từ các loại bệnh phẩm chiếm tỷ lệ rất cao. MRSA vẫn còn nhạy với vancomycin. Chỉ có 8,6% các chủng MRSA có MIC là 1µg/ml.

Từ khóa: *S. aureus*, MRSA, MSSA

ABSTRACT

MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION (MIC50 AND MIC90) OF VANCOMYCIN TO METHICILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED (MRSA) AT NINH THUAN HOSPITAL IN 2017

Introduction: Different studies around the world have documented the emergence of strains of MRSA those are intermediate sensitive or resistant to vancomycin.

Objective: The aim of this study was to investigate the vancomycin MIC values of MRSA strains isolated from different specimens.

Methods: Cross-sectional descriptive research. Collection of MRSA isolated infection at Ninh Thuan

Hospital from 01/2017 to 09/2017. Identification of *S. aureus* by biochemical tests. Determination of MRSA by using the Kirby-Bauer disk-diffusion technique. MIC of vancomycin to confirmed MRSA strains were determined by dilution method.

Results: A total of 123 *S. aureus* isolates from different specimens with MRSA rate is 65.9%. Minimum inhibitory concentrations of vancomycin to the strains of MRSA ranged from 0.125 µg/ml to 1 µg/ml. MIC50 and MIC90 of vancomycin on MRSA is 0.5 µg/ml.

Conclusion: MRSA from clinical samples was very high. MRSA are still sensitive to vancomycin. Only 8.6% of MRSA strains had MICs of 1µg/ml.

Keywords: *S. aureus*, MRSA, MSSA

ĐẶT VẤN ĐỀ

Staphylococcus aureus kháng methicillin (MRSA- Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) là một trong những tác nhân gây bệnh chính trên toàn thế giới. Hiện nay, rất hiếm trường hợp tụ cầu kháng vancomycin. Tuy nhiên, đã có chứng minh thất bại điều trị với vancomycin trên lâm sàng khi nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của vancomycin vượt quá 1 µg/ml.^{10,14,15}

MIC là nồng độ tối thiểu của kháng sinh ngăn chặn được vi khuẩn. MIC50 và MIC90 là một thông số cho biết 50% hoặc 90% các vi khuẩn được khảo sát là có MIC của kháng sinh ở giá trị này hoặc thấp hơn. Nếu như phòng vi sinh chưa tiến hành thử nghiệm MIC hoặc không có điều kiện thử nghiệm thì bác sĩ có thể dựa vào MIC50 hoặc MIC90 để đưa điểm gãy pK/pD của kháng sinh đạt trên hay bằng MIC50 hoặc MIC90 thì sẽ đảm bảo điều trị thành công trên lâm sàng là 50% hoặc 90%.⁶

Tại Bệnh viện Ninh Thuận chưa có nghiên cứu về nồng độ ức chế tối thiểu của vancomycin đối với các chủng MRSA. Chính vì thế chúng tôi thực hiện đề tài này với mục tiêu: Xác định tỷ lệ, sự phân bố của MRSA tại bệnh viện Ninh Thuận 2017 và nồng độ MIC, MIC50 và MIC90 của vancomycin trên các chủng MRSA phân lập được.

*ThS BS Lê Huy Thạch, BV Đa khoa tỉnh Ninh Thuận, ĐT: 0913885666 Email: lh.thach67@gmail.com

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu: Theo phương pháp cắt ngang, mô tả.

Đối tượng nghiên cứu: Là các chủng *S. aureus* được phân lập các loại bệnh phẩm: máu, mủ, đờm và chân ống hút đờm ở bệnh nhân thở máy, nước tiểu và các loại dịch tiết của bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết, nhiễm khuẩn da, mô mềm, viêm phổi và nhiễm trùng tiểu nằm điều trị tại BV Ninh Thuận, được chỉ định xét nghiệm vi sinh từ 01/01/2017 đến 30/09/2017.

Cỡ mẫu: Lấy trọn.

Tiêu chuẩn chọn mẫu: Là tất cả các chủng *S. aureus* được phân lập từ các loại bệnh phẩm: máu, mủ, đờm và chân ống hút đờm ở bệnh nhân thở máy, nước tiểu và các loại dịch tiết của bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết, nhiễm khuẩn da, mô mềm, viêm phổi và nhiễm trùng tiểu nằm điều trị tại BV Ninh Thuận, được chỉ định xét nghiệm vi sinh từ 01/01/2017 đến 30/09/2017.

Tiêu chuẩn loại trừ: Định danh không phải là *S. aureus*; phân lập từ bệnh nhân ngoại trú; từ người lành mang trùng; các chủng *S. aureus* phân lập lần sau trên cùng một bệnh nhân.

Cách thức tiến hành: Định danh *S. aureus* bằng Staphylatex. Xác định MRSA bằng phương pháp Kirby-Bauer, theo tiêu chuẩn CLSI 2016.⁷ Đo MIC bằng phương pháp pha loãng kháng sinh bằng hệ thống^{NK}MIC-MDA do Nam Khoa cung cấp.

Phân tích số liệu: Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 20.0. Kiểm định sự khác biệt bằng Fisher's Exact Test. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Vấn đề y đức: Nghiên cứu được thông qua hội đồng và không thực hiện các thủ thuật có hại cho bệnh nhân. Mọi thông tin khác liên quan đến đối tượng đều được giữ bí mật.

KẾT QUẢ

Trong thời gian từ 01/01/2017 đến 30/09/2017 tổng số chủng *S. aureus* thu nhận được là 144 chủng. Trong đó, số chủng *S. aureus* đủ tiêu chuẩn đưa vào nghiên cứu là 123 chủng. Bằng cách sử dụng đĩa giấy tẩm kháng sinh cefoxitin 30 µg theo phương pháp khuếch tán kháng sinh trong thạch, theo tiêu chuẩn của CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) để phát hiện MRSA,⁷ chúng tôi sàng lọc được 81 chủng *S. aureus* kháng methicillin chiếm tỷ lệ 65,9%.

Phân bố của MRSA theo loại bệnh phẩm

Bảng 1. Sự phân bố của MRSA theo loại bệnh phẩm

Bệnh phẩm	Tổng mẫu	MRSA n (%)	MSSA n (%)	p
Mủ	89	58 (65,2)	31 (34,8)	0,015
Máu	12	05 (41,7)	07 (58,3)	
Đờm và chân ống hút đờm	19	17 (89,5)	02 (10,5)	
Nước tiểu	03	01 (33,3)	02 (66,7)	
Các loại dịch tiết	00	00 (0,0)	00 (0,0)	
Tổng cộng	123	81 (65,9)	42 (34,1)	

Tỷ lệ MRSA phân lập được ở bệnh phẩm đờm và chân ống hút đờm ở bệnh nhân thở máy (89,5%), cao hơn so với các loại bệnh phẩm khác ($p=0,015$).

Sự phân bố của MRSA theo giới tính và nhóm tuổi

Bảng 2. Sự phân bố của MRSA theo giới tính và nhóm tuổi

Nội dung	Tổng mẫu	MRSA n (%)	MSSA n (%)	p
Giới	123	81 (65,9)	42 (34,1)	0,023
Nam	58	32 (55,2)	26 (44,8)	
Nữ	65	49 (75,4)	16 (24,6)	
Nhóm tuổi	123	81 (65,9)	42 (34,1)	0,065
≤ 10 tuổi	25	13 (52,0)	12 (48,0)	
11 - 30 tuổi	26	22 (84,6)	04 (15,4)	
31 - 50 tuổi	35	24 (68,6)	11 (31,4)	
≥ 51 tuổi	37	22 (59,5)	15 (40,5)	

Tỷ lệ MRSA ở nữ là 75,4% cao hơn nam là 55,2% ($p=0,023$). Ở nhóm tuổi, tỷ lệ MRSA ở nhóm tuổi 11 – 30 tuổi (84,6%) cao hơn so với các nhóm tuổi khác ($p=0,065$).

Sự phân bố của MRSA theo khoa lâm sàng

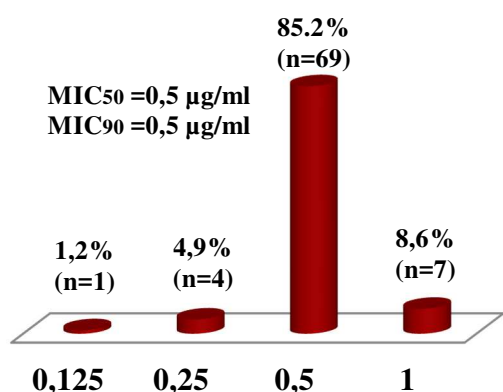
Tỷ lệ nhiễm MRSA cao nhất ở khoa Hồi sức tích cực chống độc (86,7%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p=0,005$).

MIC, MIC50 và MIC90 của vancomycin đối với các chủng MRSA

Ở nồng độ MIC = 0,5 µg/ml số chủng bị ức chế là 69 chủng, chiếm tỷ lệ cao nhất là 85,2%. Số chủng MRSA có MIC = 1µg/ml là 7 chủng (8,6%), và các chủng này được phân lập từ chân ống hút đờm ở BN thở máy. MIC50 là 0,5 µg/ml và MIC90 là 0,5 µg/ml.

Bảng 3. Sự phân bố của MRSA theo khoa lâm sàng

Khoa điều trị	Tổng mẫu	MRSA n (%)	MSSA n (%)	p
Hồi sức tích cực chống độc	15	13 (86,7)	02 (13,3)	0,005
Nội Tổng hợp	17	07 (41,2)	10 (58,8)	
Nhi	21	10 (47,6)	11 (52,4)	
Khối Ngoại	50	38 (76,0)	12 (24,0)	
Sản	16	12 (75,0)	04 (25,0)	
Liên Chuyên Khoa	04	1 (25,0)	3 (75,0)	
Tổng cộng	123	81 (65,9)	42 (34,1)	



Biểu đồ 1. Phân bố MIC của vancomycin đối với các chủng MRSA

BÀN LUẬN

Từ khi xuất hiện MRSA vào năm 1961, đã có sự gia tăng về tỷ lệ MRSA trên toàn thế giới. Tỷ lệ MRSA trong nghiên cứu này là 65,9%, tương đồng với kết quả được báo cáo bởi Khanal (2010), tỷ lệ MRSA là 68% (n=600),¹¹ và tại bệnh viện Huashan, Thượng Hải, Trung Quốc (2011) là 68,1% (n=410).¹³ Tại Việt Nam, tỷ lệ MRSA của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Trần Đình Bình và cộng sự (2014) với tỷ lệ MRSA là 61,4% (n=267).³ Trong khi đó, tỷ lệ MRSA của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của tác giả Nguyễn Hữu An (2013) là 39,2% (n=143).¹ Sự khác biệt về tỷ lệ MRSA giữa các nghiên cứu khác nhau có thể là do sự khác nhau về vị trí và thời gian nghiên cứu. Tỷ lệ hiện nhiễm MRSA có thể khác nhau giữa bệnh viện này với bệnh viện khác, phụ thuộc vào bệnh nhân, điều kiện vệ sinh của bệnh viện và nhân viên y tế.

MRSA gây viêm phổi bệnh viện và viêm phổi liên quan thở máy chiếm tỷ lệ 50-60%.^{2,4} Qua nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy tỷ lệ MRSA phân lập được ở bệnh phẩm đàm và chân ống hút đàm ở BN thở máy (89,5%), cao hơn so với các loại

bệnh phẩm khác như máu (41,7%), mũi (65,2%), Nước tiểu (33,3%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p=0,015) (Bảng 1).

Theo số liệu đã thu thập, nhận thấy tỷ lệ nhiễm MRSA ở nữ là 75,4% cao hơn nam là 55,2%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p=0,023) (Bảng 2). Kết quả nghiên cứu này tương tự với tác giả David M.Z và cộng sự (2011), tỷ lệ nhiễm MRSA ở nam giới là 49,2% thấp hơn ở nữ là 50,8%.⁸ Ở mỗi nhóm tuổi, tỷ lệ nhiễm MRSA là thuộc nhóm từ 11 – 30 tuổi (84,6%) cao hơn so với các nhóm tuổi khác, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p=0,065) (Bảng 2). Theo nghiên cứu của tác giả Trần Đình Bình và cộng sự (2014) tỷ lệ phân lập các chủng MRSA cao nhất ở trẻ em dưới 10 tuổi (chiếm tỷ lệ 31,1%), tiếp đến là nhóm 20 đến 30 tuổi (17,7%) và nhóm 60 tuổi trở lên (15,2%).³

Nhiễm trùng do MRSA đã tạo ra mối quan tâm đáng kể cho các BN ở đơn vị chăm sóc đặc biệt. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ phân lập MRSA trên BN ở khoa Hồi sức tích cực - Chống độc (86,7%) cao hơn đáng kể so với các khoa khác, và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p =0,005) (Bảng 3). Theo một nghiên cứu tại Ardabil ở Iran, của tác giả Dibah S (2014), MRSA chiếm tỷ lệ cao nhất ở Đơn vị chăm sóc đặc biệt (68,4%).⁹

Vancomycin được xem là tiêu chuẩn vàng điều trị MRSA trước đây, và mặc dù tỷ lệ nhạy cảm của MRSA với vancomycin là rất cao, tuy nhiên điều đáng lo ngại là nguy cơ thất bại của vancomycin trong điều trị MRSA trên những chủng có MIC với vancomycin cao. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sàng lọc được 81 chủng MRSA, và đo MIC của vancomycin trên các chủng MRSA đã phân lập được. Kết quả phân bố MIC như sau: ở nồng độ MIC =0,125 µg/ml số chủng bị ức chế là 01 chủng, chiếm tỷ lệ 1,2%, ở nồng độ MIC =0,25 µg/ml số chủng bị ức chế là 04 chủng, chiếm tỷ lệ 4,9%, ở nồng độ MIC =0,5 µg/ml số chủng bị ức chế là 69 chủng, chiếm tỷ lệ 85,2% và ở nồng độ MIC =1 µg/ml, số chủng bị ức chế là 07 chủng, chiếm tỷ lệ 8,6%. Giới hạn MIC (0,125 – 1 µg/ml). MIC₅₀ và MIC₉₀ là 0,5 µg/ml (Biểu đồ 1). Với kết quả thu được, chúng tôi thấy rằng kết quả của chúng tôi tương tự với Kshetry A.O và cộng sự (2016), MIC của vancomycin đối với các chủng MRSA dao động từ 0.125 µg/ml đến 1µg/ml và ở nồng độ MIC =0,125 µg/ml số chủng bị ức chế là 4 chủng (8,5%), ở nồng độ MIC =0,25 µg/ml số chủng bị ức chế là 06 chủng (12,8%), MIC =0,5 µg/ml, số

chúng bị ức chế là 28 chủng (59,6%) và ở nồng độ MIC =1µg/ml số chủng bị ức chế là 09 chủng (19,1%).¹² Ngược lại, trong một nghiên cứu khác từ Nepal; Pahadi P.C và cộng sự (2014), báo cáo bốn chủng MRSA là VISA, với MIC của vancomycin cho tất cả các MRSA, từ 0,5µg/ml đến 4µg/ml.¹⁶

Hiện nay, điều đáng lo ngại là nguy cơ thất bại của vancomycin trong điều trị MRSA trên những vi khuẩn có MIC với vancomycin cao. Cụ thể theo Hidayat (2006), khả năng điều trị MRSA thành công là 85% (MIC ≤ 1 µg/ml) và 62% (MIC =2 µg/ml).¹⁰ Tương tự, theo Moise (2007), khả năng thành công của VAN trên MRSA là 77% (MIC =0,5 µg/ml), 71% (MIC =1 µg/ml) và 21% (MIC =2 µg/ml).¹⁵

Tại Việt Nam, nghiên cứu của tác giả Trần Thị Thuý Tường (2014) thì điểm cắt MIC vancomycin liên quan đến thất bại điều trị là ≥ 1 mg/L.⁵ Trong nghiên cứu của chúng tôi, MRSA có MIC của vancomycin là 1 µg/ml (8,6%) và những chủng này phân lập được từ chân ống hút đàm ở BN thở máy. Từ đó nhận thấy nguy cơ điều trị thất bại trên lâm sàng ở những BN nhiễm MRSA có MIC =1 µg/ml, mặc dù tỷ lệ này trong nghiên cứu này thấp.

Hạn chế của nghiên cứu này là chỉ mô tả các đặc điểm và xác định nồng độ MIC, chưa đánh giá được tương quan giữa MIC cao và kết quả điều trị vancomycin trên lâm sàng.

KẾT LUẬN

Tỷ lệ MRSA/*S. aureus* tại BV tỉnh Ninh Thuận giai đoạn 01/2017 đến 09/2017 là 65,9% (n=123). Tỷ lệ MRSA ở Nữ là 75,4% cao hơn nam là 55,2%, (p=0,023). Ở nhóm tuổi, tỷ lệ nhiễm MRSA là ở nhóm 11 – 30 tuổi (84,6%) cao hơn so với các nhóm tuổi khác (p=0,065). Tỷ lệ MRSA cao nhất ở khoa Hồi sức tích cực chống độc (86,7%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p=0,005). Tỷ lệ MRSA phân lập được ở bệnh phẩm đàm và chân ống hút đàm ở BN thở máy (89,5%), cao hơn so với các loại bệnh phẩm khác, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ở nồng độ MIC =1 µg/ml số chủng bị ức chế là 07 chủng, chiếm tỷ lệ 8,6%. MIC₅₀ là 0,5 µg/ml và MIC₉₀ là 0,5 µg/ml.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu An và CS (2013). Tỷ lệ đề kháng kháng sinh của *S. aureus* tại viện Pasteur TP.Hồ Chí Minh, *Tạp chí Y học dự phòng*, 13(10).146.
2. Nguyễn Thanh Bảo và CS (2012). Chọn lựa kháng sinh ban đầu trong điều trị nhiễm khuẩn bệnh viện tại một số bệnh viện TP HCM, *Y học TP.HCM-HNKHKT-ĐHYD TP HCM lần thứ 29*.206-214.
3. Trần Đình Bình và CS (2014). Nghiên cứu phân bố và tính kháng thuốc của vi khuẩn tụ cầu phân lập tại bệnh viện Trung Ương Huế năm 2012, *Tạp chí Y học thực hành* số 911-2014.
4. Lê Bảo Huy và Lê Đức Thắng (2012). Đặc điểm vi khuẩn gây bệnh và tình hình kháng kháng sinh ở bệnh nhân lớn tuổi viêm phổi liên quan thở máy tại khoa hồi sức cấp cứu, *Y học TP HCM – HNKHKT –ĐHYD TP HCM lần thứ 29*.78-86.
5. Trần Thị Thuý Tường và CS (2014). Khảo sát mối tương quan giữa nồng độ ức chế tối thiểu của vancomycin và hiệu quả điều trị lâm sàng đối với nhiễm trùng do *Staphylococcus aureus* đề kháng methicillin tại BV Chợ Rẫy. Đề tài nghiên cứu khoa học.
6. Phạm Hùng Vân và Phạm Thái Bình (2013). Kháng sinh-đề kháng kháng sinh: Kỹ thuật kháng sinh đồ-các vấn đề cơ bản thường gặp, Nhà xuất bản y học.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2016). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement, M 100-S22. Vol. 36.
8. David M.Z et al (2011). Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* as a predominantly healthcare-associated pathogen: a possible reversal of roles?, *PLoS One*, 6(4).e18217.
9. Dibah S et al (2014). Prevalence and antimicrobial resistance pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from clinical specimens in Ardabil, Iran, *Iranian journal of microbiology*, 6(3).163.
10. Hidayat L.K et al (2006). High-dose vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: efficacy and toxicity, *Archives of internal medicine*, 166(19).2138-2144.
11. Khanal L.K and Jha B.K (2010). Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among skin infection cases at a hospital in Chitwan, Nepal, *Nepal Med Coll J*, 12(4).224-228.
12. Kshetry A.O et al (2016). Minimum inhibitory concentration of vancomycin to methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from different clinical samples at a tertiary care hospital in Nepal, *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 5(1).27.
13. Li T et al (2013). Current status of *Staphylococcus aureus* infection in a central teaching hospital in Shanghai, China, *BMC microbiology*, 13(1).153.
14. Moise-Broder P.A et al (2004). Pharmacodynamics of vancomycin and other antimicrobials in patients with *Staphylococcus aureus* lower respiratory tract infections, *Clinical pharmacokinetics*, 43(13).925-942.
15. Moise P.A et al (2007). Vancomycin in vitro bactericidal activity and its relationship to efficacy in clearance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(7).2582-2586.
16. Pahadi P.C et al (2014). Growing resistance to vancomycin among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from different clinical samples, *J Nepal Med Assoc*, 52(196).977-81.