

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Rahman S, M Das J.** (2023), "Anatomy, Head and Neck: Cervical Spine". [Updated 2023 Aug 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557516/>
2. **Kauther MD, Piotrowski M, Hussmann B, Lendemann S, Wedemeyer C.** (2012), "Cervical range of motion and strength in 4,293 young male adults with chronic neck pain". *Eur Spine J*;21(8):1522-1527.3.
3. **Hartley R, Zisserman A.** Multiple view geometry in computer vision: Cambridge university press; 2003.
4. **Khánh PN, Thanh ĐQ, Khánh NH, et al.** Khảo sát biên độ vận động cổ bằng phương pháp quang trắc và phương pháp Zero trên người khỏe mạnh. 2023; 9(3):173-178.
5. **Võ Trọng Tuấn, Nguyễn Thị Anh Đào.** Xoa bóp bấm huyệt. NXB Y học TP Hồ Chí Minh; 2022.
6. **Johnson JM, Rowell LB, Brengelmann GL.** Modification of the skin blood flow-body temperature relationship by upright exercise. *J Appl Physiol.* 1974;37(6):880-886. doi:10.1152/jappl.1974.37.6.880.
7. **Lascurain-Aguirrebeña I, Newham D, Critchley DJ.** Mechanism of action of spinal mobilizations. *SPINE.* 2016;41(2):159-172..
8. **Feldman F, Nickoloff EL.** Normal thermographic standards for the cervical spine and upper extremities. *Skeletal Radiol* 1984; 12(4): 235-249.

## STAPHYLOCOCCUS AUREUS KHÔNG GÂY TAN MÁU PHÂN LẬP TỪ BỆNH PHẨM NUÔI CẤY TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM

Nguyễn Ngọc Trường<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

*Staphylococcus aureus* là cầu khuẩn Gram dương, có khả năng gây bệnh tại nhiều vị trí khác nhau trên cơ thể như gây nhiễm khuẩn huyết, nhiễm khuẩn da – mô mềm, viêm nội tâm mạc, viêm khớp, viêm màng não,... Khi nuôi cấy trên môi trường thạch máu, *Staphylococcus aureus* thường gây tan máu beta (tan máu hoàn toàn). Đây là một trong những đặc điểm đặc trưng đầu tiên được sử dụng để xác định *Staphylococcus aureus* trong phòng xét nghiệm. Các chủng không gây tan máu thường được coi là *Staphylococcus coagulase âm tính* (CNS) ít khi gây bệnh. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng không phải tất cả các chủng *Staphylococcus aureus* đều có khả năng gây tan máu beta. Một số ít các chủng *Staphylococcus aureus* có thể không gây tan máu. Do đó, khi nuôi cấy các bệnh phẩm trong phòng xét nghiệm, cần tiến hành các bước định danh tiếp theo khi nghi ngờ *Staphylococcus* là tác nhân gây bệnh, để không bỏ sót chẩn đoán đối với các trường hợp *Staphylococcus aureus* không gây tan máu.

**Từ khóa:** *Staphylococcus aureus* gây tan máu beta, *Staphylococcus aureus* không gây tan máu

### SUMMARY

#### DETERMINE NON-HAEMOLYSIS STAPHYLOCOCCUS AUREUS FROM SPECIMENS CULTURED IN LABORATORY

*Staphylococcus aureus* is Gram-positive coccus, capable of causing infection in many organs in the body such as sepsis, skin and soft tissue infection,

endocarditis, arthritis, meningitis, etc. When cultured on Blood agar medium, *Staphylococcus aureus* often causes beta hemolysis (complete hemolysis). This is one of the first characteristic features used to identify *Staphylococcus aureus* in the laboratory. Non-hemolytic strains are generally considered coagulase - negative *Staphylococcus* (CNS) and rarely cause infection. However, not all strains of *Staphylococcus aureus* are capable of causing beta hemolysis. A small number of them don't cause hemolysis. Therefore, when culturing specimens in the laboratory, it is necessary to carry out the next identification steps when suspecting *Staphylococcus* to be pathogen, so as not to misdiagnosis in cases of non - hemolytic *Staphylococcus aureus*.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus* causes beta hemolysis, non - hemolytic *Staphylococcus aureus*

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

*Staphylococcus aureus*, được Sir Alexander Ogston phát hiện lần đầu tiên vào năm 1880, từ lâu đã được coi là mối đe dọa nghiêm trọng đối với sức khỏe con người, có khả năng gây nhiều bệnh nhiễm trùng trên cả người và động vật. *Staphylococcus aureus* là vi khuẩn hội sinh nhưng cũng được coi là một trong những mầm bệnh phổ biến nhất ở người, gặp trong cả nhiễm trùng tại bệnh viện và nhiễm trùng mắc phải tại cộng đồng. *Staphylococcus aureus* có nhiều yếu tố độc lực khác nhau và từ đó gây nhiễm trùng ở nhiều vị trí với nhiều mức độ khác nhau: từ nhiễm trùng nhẹ, tại chỗ trên da đến các nhiễm trùng đe dọa tính mạng như viêm tủy xương, viêm nội tâm mạc, viêm mô tế bào, áp xe não, viêm màng não, nhiễm khuẩn huyết và viêm phổi [1].

Khác với *Staphylococcus aureus*, các *Staphylococcus* khác hay *Staphylococcus*

<sup>1</sup>Công ty TNHH Thiết bị Minh Tâm

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Ngọc Trường

Email: [ngoctruong3i@gmail.com](mailto:ngoctruong3i@gmail.com)

Ngày nhận bài: 20.5.2024

Ngày phản biện khoa học: 5.7.2024

Ngày duyệt bài: 9.8.2024

coagulase âm tính (CoNS) lại ít khi gây bệnh hơn. Chính vì vai trò gây bệnh quan trọng của *Staphylococcus aureus* nên phòng xét nghiệm luôn cần chẩn đoán phân biệt được *Staphylococcus aureus* với các *Staphylococcus* khác. Hầu hết các *Staphylococcus aureus* đều gây tan máu beta trên môi trường thạch máu, là một trong các đặc điểm đặc trưng để nhận diện và xác định *Staphylococcus aureus* [2]. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, vẫn có những trường hợp *Staphylococcus aureus* không gây tan máu [3], [4]. Do vậy, phòng xét nghiệm cần lưu ý để không bỏ sót chẩn đoán trong những trường hợp này.

## II. CÁC LOẠI TÍNH CHẤT TAN MÁU TRÊN MÔI TRƯỜNG THẠCH MÁU

Thạch máu là môi trường giàu chất dinh dưỡng, thường được bổ sung 5% máu đông vật như máu cừu, máu thỏ, máu ngựa,... Thạch máu thường được sử dụng để nuôi cấy các vi khuẩn khó mọc và giúp phân biệt vi khuẩn dựa trên tính chất tan máu. Có 3 loại tính chất tan máu do vi khuẩn gây ra trên môi trường thạch máu (quan sát dưới ánh sáng xuyên) [5]:

– Tan máu beta ( $\beta$  – tan máu hoàn toàn): được định nghĩa là sự ly giải hoàn toàn tế bào hồng cầu. Đặc điểm nhận diện là một vùng trong suốt trên môi trường thạch máu bao quanh hoặc bên dưới khuẩn lạc vi khuẩn. Tính chất tan máu beta là do vi khuẩn tiết ra các độc tố có khả năng phá hủy hồng cầu một cách hoàn toàn. Các vi khuẩn thường có tính chất tan máu beta là: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*,...

– Tan máu alpha ( $\alpha$  – tan máu không hoàn toàn): là hiện tượng khử hemoglobin của hồng cầu thành methemoglobin. Đặc điểm nhận diện là sự biến đổi màu sắc môi trường thạch máu bao quanh hay bên dưới khuẩn lạc vi khuẩn thành màu xanh hoặc màu nâu. Khi quan sát dưới kính hiển vi các tế bào hồng cầu bị tan máu alpha, thấy rằng màng tế bào còn nguyên vẹn, vì vậy trên thực tế, đây không phải là sự ly giải thực sự. Tính chất tan máu alpha là do vi khuẩn tiết ra  $H_2O_2$  có khả năng khử hemoglobin của hồng cầu thành methemoglobin. Các vi khuẩn thường có tính chất tan máu alpha là: *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans*,...

– Tan máu gamma ( $\gamma$  – không tan máu): tan máu gamma còn được gọi là không tan máu vì không xảy ra hiện tượng ly giải hồng cầu. Kết quả là không quan sát thấy sự thay đổi màu sắc hay không có vùng tan máu bên dưới hoặc xung

quanh khuẩn lạc vi khuẩn. Các vi khuẩn thường có tính chất này là: *Staphylococcus coagulase âm tính* (CoNS), *Neisseria meningitidis*, *Enterococcus faecalis*,...



**Hình 1. Các loại tính chất tan máu trên môi trường thạch máu**

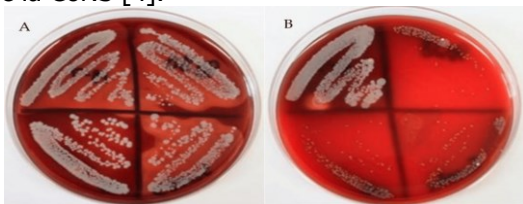
## III. TÍNH CHẤT TAN MÁU CỦA STAPHYLOCOCCUS AUREUS TRÊN MÔI TRƯỜNG THẠCH MÁU

Thạch máu là môi trường rất tốt và thích hợp để phân lập *Staphylococcus* spp.. Các loài *Staphylococcus* spp. có thể gây tan máu beta, alpha hoặc gamma (không tan máu), trong đó *Staphylococcus aureus* thường gây tan máu beta, *Staphylococcus coagulase âm tính* (CoNS) thường không gây tan máu.

*Staphylococcus aureus* tiết ra 4 loại độc tố gây tan máu bao gồm: độc tố alpha, beta, delta và gamma. Sự kết hợp biểu hiện của các loại độc tố, đặc biệt là độc tố alpha giúp *Staphylococcus aureus* ly giải được tế bào hồng cầu một cách hoàn toàn, tuy nhiên, một số ít các chủng *Staphylococcus aureus* với biểu hiện của độc tố alpha yếu, biểu hiện của độc tố beta mạnh khiến *Staphylococcus aureus* chỉ có thể gây tan máu được một phần hay không gây tan máu. Điều này dẫn đến phòng xét nghiệm có thể quan sát được một số tính chất tan máu khác nhau của *Staphylococcus aureus* khi nuôi cấy trên môi trường thạch máu [6], [7].

Một nghiên cứu của tác giả William R. Schwan và cộng sự (2003) trên 1520 chủng *Staphylococcus aureus* cho thấy, 5,13% số chủng không gây tan máu khi nuôi cấy trên môi trường thạch máu [3]. Một nghiên cứu khác của nhóm tác giả Valerie E. Ryman, Felicia M. Kautz và Steve C. Nickerson (2021) quan sát trong vòng 10 năm trên 222 chủng *Staphylococcus aureus* gây bệnh viêm vú ở bò cái Holstein, cũng cho thấy có khoảng 5,0% số chủng *Staphylococcus aureus* không gây tan máu. Việc xác định *S. aureus* dựa trên quan sát hình thái khuẩn lạc, màu sắc, tính chất tan máu trên môi trường thạch máu sau nuôi cấy 48 giờ. Tất cả các chủng phân lập được được thử nghiệm tiếp trên môi trường thạch muối

mannitol và thử nghiệm coagulase. Nếu dương tính ở cả hai thử nghiệm này thì được xác định là *Staphylococcus aureus*. Một số chủng được thử nghiệm bằng API® Staph để xác định chính xác hơn nếu có nghi ngờ. Nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng, trong số các chủng *Staphylococcus* spp. không gây tan máu, nghi ngờ là CoNS thì có tới gần 64% số chủng thực tế được xác định là *Staphylococcus aureus*, chỉ có hơn 26% chính xác là CoNS [4].



**Hình 2. A) *S. aureus* tan máu beta; B) *S. aureus* không gây tan máu (có tạp nhiễm một số chủng *Bacillus* spp.) [4]**

#### IV. ĐỊNH DANH STAPHYLOCOCCUS AUREUS TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM

Bệnh phẩm được nuôi cấy trên các môi trường nuôi cấy, bao gồm thạch máu, ủ ấm ở 35 – 37 °C, sau 18 – 24 giờ, bắt đầu quan sát hình thái khuẩn lạc. Khuẩn lạc *Staphylococcus aureus* thường có màu vàng, dạng S, tan máu beta [2]. Tuy nhiên, vì có những trường hợp *Staphylococcus aureus* không gây tan máu nên, cần chú ý định danh tất cả các trường hợp được xác định là *Staphylococcus* spp. mà nghi ngờ có khả năng là căn nguyên gây bệnh như vi khuẩn mọc thưa hay mọc với số lượng trội hơn vì hệ bình thường,...tùy thuộc vào từng loại bệnh phẩm [3], [4]. Kinh nghiệm của người thực hiện xét nghiệm đóng vai trò quan trọng trong việc xác định trường hợp nào là cần thiết phải tiến hành các bước định danh tiếp theo.

Hiện nay có rất nhiều phương pháp được sử dụng để định danh *Staphylococcus aureus*, từ các phương pháp thủ công tới các phương pháp tự động. Việc lựa chọn phương pháp nào tùy thuộc vào điều kiện trang thiết bị, hóa chất, nhân lực,...của từng phòng xét nghiệm.

##### 4.1. Phương pháp thủ công

– Nhuộm Gram: hình ảnh cầu khuẩn Gram dương, xếp thành từng đám [8], [9].

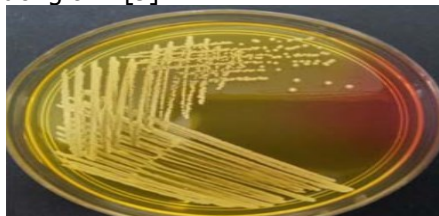
– Thử nghiệm Catalase: dương tính, giúp xác định vi khuẩn là *Staphylococcus* spp. [8].

– Thử nghiệm chẩn đoán xác định *Staphylococcus aureus*: một số thử nghiệm thường được áp dụng trong phòng xét nghiệm:

+ Coagulase (đông huyết tương): thường được các phòng xét nghiệm áp dụng để chẩn

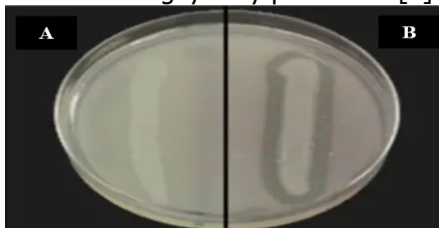
đoán xác định *Staphylococcus aureus*, sử dụng huyết tương thô để phát hiện enzyme coagulase do *Staphylococcus aureus* tiết ra, tạo thành cục máu đông trên phiến kính hay trong ống nghiệm (ủ 37°C trong 4 giờ và để ở điều kiện thường tới 24 giờ). Tuy nhiên, cần lưu ý rằng khoảng 10 – 15% số chủng *Staphylococcus* spp. khác như *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus lugunensis*, *Staphylococcus schleiferi*,...cũng có khả năng dương tính với phản ứng này [8], [9].

+ Thử nghiệm thạch muối Manitol: *Staphylococcus aureus* có khả năng phát triển trong môi trường muối 7,5% và có khả năng lên men đường manitol. Sản phẩm sau khi lên men đường sẽ làm đổi màu chất chỉ thị phenol đỏ thành màu vàng. Sự phát triển của khuẩn lạc màu vàng trên môi trường thạch muối Mannitol (Oxoid, Cambridge, UK) được bao quanh bởi các vùng màu vàng sau khi ủ ở 37°C/ 24 giờ là kết quả dương tính [9].



**Hình 3. Khuẩn lạc *Staphylococcus aureus* trên môi trường thạch muối Manitol [9]**

+ Thử nghiệm DNase: phát hiện sự sản xuất enzyme deoxyribonuclease của *Staphylococcus aureus*. Mẫu thử được ria trên môi trường thạch chứa DNA và ủ trong 24 giờ. Axit clohydric được thêm vào đĩa thạch để kết tủa DNA màu trắng đục không bị thủy phân. Thử nghiệm dương tính khi xuất hiện một vùng trong suốt xung quanh khuẩn lạc vi khuẩn, cho thấy vi khuẩn sản xuất deoxyribonuclease gây thủy phân DNA [8].



**Hình 4. Thử nghiệm DNase: A) Âm tính, B) Dương tính [8]**

Không có thử nghiệm kiểu hình đơn lẻ nào (bao gồm cả thử nghiệm coagulase) có thể đảm bảo kết quả tin cậy trong việc xác định *Staphylococcus aureus*. Do vậy, việc áp dụng nhiều thử nghiệm khác nhau giúp nâng cao độ tin cậy đối với chẩn đoán xác định *Staphylococcus aureus* [9].

**4.2. Phương pháp tự động.** Bên cạnh các phương pháp thủ công, hiện nay cũng có rất nhiều phương pháp tự động giúp chẩn đoán chính xác *Staphylococcus aureus*:

– Sinh học phân tử: phát hiện được cả vi khuẩn và gen kháng kháng sinh.

– Hệ thống Vitek2/ Phoenix: phát hiện các tính chất sinh vật hóa học của vi khuẩn để từ đó định danh.

– MALDI – TOF: kỹ thuật định danh mới, hiện đại, cho kết quả nhanh chóng và chính xác, nguyên lý dựa trên phát hiện và phân tích khối phổ protein của vi khuẩn [10].

## V. KẾT LUẬN

*Staphylococcus aureus* là một căn nguyên gây bệnh quan trọng, cần chẩn đoán phân biệt với các *Staphylococcus* spp. khác ít khi gây bệnh. Tính chất gây tan máu beta trên môi trường thạch máu nuôi cấy là một trong những tính chất đặc trưng đầu tiên khi quan sát khuẩn lạc vi khuẩn để định hướng là *Staphylococcus aureus*. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng, có khoảng 5% các trường hợp *Staphylococcus aureus* không gây tan máu trên môi trường thạch máu. Do đó, phòng xét nghiệm cần tiến hành các bước định danh tiếp theo khi nghi ngờ để không bỏ sót chẩn đoán.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **David, M.Z. and Daum et al.** (2010). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emergent Epidemic. *Clinical Microbiology Reviews*, 23, 616 – 687.

2. **Lê Huy Chính** (2012). Vi sinh vật Y học, NXB Y học, 133 – 141.
3. **William R. Schwan, Michael H. Lanthorne, Heather D. Ritchie et al.** (2003). Loss of hemolysin expression in *Staphylococcus aureus* agr mutants correlates with selective survival during mixed infections in murine abscesses and wounds. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 38 (1), 23 – 28.
4. **Valerie E. Ryman, Felicia M. Kautz, and Steve C. Nickerson** (2021). Case Study: Misdiagnosis of Nonhemolytic *Staphylococcus aureus* isolates from cases of Bovine Mastitis as Coagulase-Negative Staphylococci. *Animals* 2021, 11(2), 252.
5. **Rebecca Buxton** (2005). Blood Agar Plates and Hemolysis Protocols. American society for Microbiology, 30 September 2005.
6. **Haifang Zhang, Yi Zheng, Huasheng Gao et al** (2016). Identification and Characterization of *Staphylococcus aureus* strains with an Incomplete Hemolytic Phenotype. *Front Cell Infect Microbiol*, 2016; 6: 146.
7. **Li – Juan Wang, Xin Yang, Su – Yun Qian** (2020). Identification of hemolytic activity and hemolytic genes of Methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Chinese children. *Chin Med J (Engl)*. 2020 Jan 5; 133(1): 88 – 90.
8. **Stephen H. Gillespie, Peter M. Hawkey** (2005). Principle and practice of clinical Bacteriology. John Wiley & Sons Ltd, 2<sup>nd</sup> edition, 84 – 85.
9. **David P Kateete, Cyrus N Kimani, Fred A Katabaz et al.** (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, vol 9, Article number: 23 (2010), 153.
10. **Connie R. Mahon, Donald C. Lehman, George Manuselis** (2015). Text book of Diagnostic Microbiology. ELSEVIA, 5<sup>th</sup> edition, 323 – 324.

## MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG CỦA BỆNH NHÂN HỘI CHỨNG BUỒNG TRỨNG ĐA NANG ĐIỀU TRỊ TẠI BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÁI BÌNH

Bùi Minh Tiến<sup>1</sup>, Nguyễn Quý Thọ<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Hội chứng buồng trứng đa nang (HCBTĐN) là rối loạn nội tiết được chẩn đoán phổ biến nhất ở phụ nữ và là nguyên nhân chính gây vô sinh do không rụng trứng. Chẩn đoán sớm hội chứng HCBTĐN

rất quan trọng để giảm nguy cơ biến chứng lâu dài tiềm ẩn đối với phụ nữ, do đó chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục đích: “Mô tả một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân hội chứng buồng trứng đa nang tại bệnh viện Đại học Y Thái Bình năm 2021”. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang có phân tích 34 bệnh nhân HCBTĐN được chẩn đoán theo tiêu chuẩn ESRHE/ASRM Rotterdam năm 2003 được tiến hành từ 1/1/2021 đến 30/6/2021. **Kết quả:** Nhóm tuổi 25-29 chiếm tỷ lệ cao nhất với 58,8%, Số vô sinh nguyên phát nhiều gấp gần 2 lần số vô sinh thứ phát (23 so với 11), HCBTĐN có thứ tự tỷ lệ kiểu hình là D-A-C-B. Nồng độ LH trung bình là  $10,27 \pm 4,29$ . **Kết luận:**

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Dược Thái Bình

<sup>2</sup>Bệnh viện Phụ Sản Thái Bình

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Minh Tiến

Email: tienbm@tbc.edu.vn

Ngày nhận bài: 21.5.2024

Ngày phản biện khoa học: 4.7.2024

Ngày duyệt bài: 7.8.2024