

CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH GIÁ MỨC ĐỘ NHẠY CẢM CỦA VI KHUẨN ĐỐI VỚI KHÁNG SINH

Đặng Thị Xuân Thiệp, Võ Thị Trà An
Khoa Chăn nuôi Thú y, Đại học Nông Lâm TP.HCM

Một trong những nhiệm vụ quan trọng của phòng thí nghiệm vi sinh lâm sàng là thực hiện kiểm tra mức độ nhạy cảm của các chủng vi khuẩn với kháng sinh. Mục tiêu của thử nghiệm nhằm đưa ra liệu pháp điều trị bệnh bằng kháng sinh cho từng trường hợp nhiễm trùng cụ thể. Hiện nay, bên cạnh các phương pháp truyền thống như khuếch tán trên thạch hay xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), việc định danh và xác định tính nhạy cảm của vi khuẩn cũng có thể được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán sử dụng que thử kháng sinh E-test hay các hệ thống thương mại Vitek® (bioMérieux), BD Phoenix™, Sensititre™ và Micro-Scan Walk Away® (Thermo Fisher),... Tất cả các phương pháp đều cung cấp các đánh giá định tính/định lượng bao gồm nhạy cảm, trung bình hoặc đề kháng với kháng sinh. Kết quả đánh giá các phương pháp trên được tham chiếu theo tiêu chuẩn của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và phòng thí nghiệm (CLSI, Mỹ), Ủy ban châu Âu về thử nghiệm độ nhạy cảm kháng khuẩn (EUCAST, Anh), Hiệp hội hóa trị liệu kháng khuẩn (BSAC) và Tổ chức tiêu chuẩn hóa quốc tế (ISO, Geneva, Thụy Sĩ). Trong đó, CLSI nổi tiếng với việc phát triển các tiêu chuẩn kiểm tra trong phòng thí nghiệm. Tùy theo từng điều kiện cụ thể về thời gian, nhân lực, chi phí đầu tư trang thiết bị,... của từng phòng thí nghiệm mà sẽ có sự lựa chọn phương pháp cụ thể. Bài viết này tổng hợp các nguyên tắc thực hiện; so sánh ưu, nhược điểm; kết quả một số nghiên cứu có liên quan đến phương pháp định danh/đánh giá mức độ nhạy cảm của các chủng vi khuẩn với kháng sinh.

1. Phương pháp khuếch tán trên thạch (Disk diffusion)

Phương pháp này được công bố bởi Kirby và Bauer vào năm 1960 và được Tổ chức sức khỏe thế giới phát triển thành một quy chuẩn chung trong đánh giá nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên thạch. Hiện tại, CLSI chịu trách nhiệm cập nhật và sửa đổi quy trình ban đầu của Kirby và Bauer đảm bảo thống nhất toàn cầu. Mục đích của xét nghiệm khuếch tán trên thạch nhằm xác định độ nhạy hoặc đề kháng của vi khuẩn gây bệnh đối với các kháng sinh khác nhau. Vi khuẩn được phát triển trên môi trường thạch Mueller-Hinton (MH) với sự hiện diện của các đĩa giấy tẩm kháng sinh khác nhau. Sự hiện diện hay vắng mặt của các khuẩn lạc xung quanh các đĩa giấy kháng sinh (vòng kháng khuẩn) là kết quả để đánh giá khả năng tác động của kháng sinh đối với vi khuẩn (hình 1). Độ dày tiêu chuẩn của thạch MH là khoảng 4mm. Huyền dịch vi khuẩn trải trên mặt thạch được pha loãng bằng NaCl 0,9% có nồng độ bằng với độ đục chuẩn Mc Farland 0,5 (2×10^8 CFU/ml). Nồng độ này có thể xác định bằng ống Mc Farland 0,5 hoặc bằng máy đo độ đục vi khuẩn. Các đĩa giấy có kích thước 6mm được tẩm kháng sinh ở một nồng độ nhất định được đặt trên môi trường. Không đặt quá 5 đĩa kháng sinh đối với đĩa thạch có đường kính 100mm và không quá 12 đĩa kháng sinh đối với đĩa thạch có đường kính 150mm. Các đĩa được ủ ở điều kiện nhiệt độ, thời gian thích hợp ngay sau khi đặt các đĩa kháng sinh không quá 15 phút. Sau khi ủ ở nhiệt độ và thời gian thích hợp cho từng vi khuẩn, bước tiếp theo là xác định kích thước vòng vô khuẩn xung quanh đĩa kháng sinh và so sánh với bảng tiêu chuẩn được đề nghị bởi CLSI để kết luận mức độ nhạy cảm của vi khuẩn với kháng sinh (CLSI, 2015).