

CĂN NGUYÊN VI SINH VẬT GÂY VIÊM MÀNG NÃO Ở BỆNH NHÂN VÀO ĐIỀU TRỊ TẠI VIỆN CÁC BỆNH TRUYỀN NHIỄM

ĐÀO TUYẾT TRINH, NGUYỄN VĂN KÍNH
Viện Các bệnh truyền nhiễm và nhiệt đới Quốc gia
NGUYỄN VŨ TRUNG, Bộ môn Vi sinh, ĐHY Hà Nội.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm màng não do nhiều nguyên nhân gây ra. Có thể chia làm hai loại viêm màng não dựa vào căn nguyên gây bệnh: Viêm màng não nhiễm trùng và viêm màng não không nhiễm trùng. Trong viêm màng não nhiễm trùng, các căn nguyên hay gặp là vi khuẩn, vi rút và ký sinh trùng (bao gồm cả đơn bào, nấm, rickettsia...). Viêm màng não không do căn nguyên vi sinh vật có thể xảy ra sau một nhiễm trùng như sau khi bị sởi, rubella, đại..., hoặc do dùng thuốc NSAID, Trimethoprim-sulfamethoxazole, amoxicillin, immunoglobulin đường tĩnh mạch... Các bệnh hệ thống cũng có thể gây viêm màng não như rối loạn collagen ở mạch, kawasaki, sacoidosis... Một số thể bệnh do loạn sản tế bào như leukemia... Một số trường hợp khác như nhiễm trùng đường tiết niệu, migrain... cũng có thể là nguyên nhân gây viêm màng não vô khuẩn.

Viêm màng não do vi khuẩn là một bệnh nhiễm trùng nguy hiểm. Hàng năm, có khoảng 171.000 người bị viêm màng não trên toàn thế giới. *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* và *Haemophilus influenzae* type b là các căn nguyên hay gặp nhất. Chúng chiếm tới 90% các trường hợp viêm màng não do vi khuẩn nói chung, đặc biệt ở trẻ em. Tuy nhiên, trong nhiều trường hợp, người ta không tìm thấy căn nguyên vi khuẩn trong dịch não tuỷ của bệnh nhân bị viêm màng não. Trong những trường hợp như vậy, người ta gọi là viêm màng não “vô khuẩn”.

Ngoài vi khuẩn, vi rút cũng là một căn nguyên gây viêm màng não quan trọng. Một nghiên cứu ở Anh và xứ Wales cho thấy, enterovirus là căn nguyên hàng đầu trong số các vi rút có thể gây viêm màng não kể từ khi vacxin phòng sởi, quai bị và rubella được đưa vào sử dụng đại trà năm 1988. Viêm màng não do enterovirus thường xảy ra vào các tháng mùa hè và mùa thu. Ngoài enterovirus, herpes vi rút cũng là một căn nguyên gây viêm màng não hay gặp.

Trong nhiều trường hợp viêm màng não, người ta thấy nổi lên các căn nguyên ký sinh trùng như *Cryptococcus neoformans*, *Toxoplasma*, một số loại giun và sán. Các căn nguyên này hay gặp ở những bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch như HIV/AIDS, hay bệnh nhân dùng thuốc ức chế miễn dịch, bệnh nhân ghép tạng...

Việc tìm hiểu các căn nguyên gây viêm màng não có vai trò quan trọng, đặc biệt, mối liên quan giữa căn nguyên gây viêm màng não và một số yếu tố dịch tễ

học, tình hình kháng kháng sinh của các vi khuẩn gây bệnh. Viện Các bệnh Truyền nhiễm và Nhiệt đới Quốc gia là viện đầu ngành về các bệnh nhiễm trùng nên tập trung phân lớn các bệnh nhân bị viêm màng não khu vực phía Bắc.

Mục tiêu của nghiên cứu là:

- Tìm hiểu sự phân bố các căn nguyên gây viêm màng não.

- Tình hình kháng kháng sinh của các vi khuẩn phân lập được từ dịch não tuỷ của bệnh nhân đến khám và điều trị tại Viện từ tháng 1 đến tháng 7 năm 2007.

ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng

1.1. Bệnh phẩm

276 mẫu dịch não tuỷ của 264 bệnh nhân vào điều trị tại các khoa phòng ở Viện các bệnh truyền nhiễm và Nhiệt đới Quốc gia từ tháng 1/2007 đến tháng 7/2007 có biểu hiện lâm sàng của viêm màng não.

1.2. Vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng

Gồm các loài vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng gây viêm màng não đã phân lập được trong dịch não tuỷ của bệnh nhân.

2. Vật liệu nghiên cứu

2.1. Môi trường nuôi cấy và phân lập xác định vi khuẩn, nấm: Thạch máu, thạch Chocolate, thạch Sabouraud.

2.2. Môi trường định danh vi khuẩn, nấm

- Bộ sinh vật hoá học API Strep gồm 24 tính chất sinh vật hoá học có thể xác định được các loài liên cầu

- Bộ API 20 C AUX gồm 20 tính chất sinh vật hoá học có thể xác định được các loài nấm.

- Khoanh giấy Optochin.

2.4. Môi trường và hoá chất xác định tính nhạy cảm với kháng sinh của vi khuẩn.

- Thạch Mueller- Hinton máu, các khoanh giấy kháng sinh (Bio-rad, Pháp)

- Thước đo vòng ức chế, pipet Paster, tủ ấm, máy lắc tốc độ cao

- Nước muối vô trùng

- Độ đục chuẩn Mc-Farland 0,5; 1

- Các chủng chuẩn quốc tế để kiểm tra chất lượng v.v...

2.3. Phương pháp và kỹ thuật nuôi cấy, phân lập vi khuẩn, nấm

2.3.1. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp hồi cứu

- Phương pháp điều tra mô tả
- 2.3.2. Kỹ thuật cấy và phân lập vi khuẩn, nấm.
- Nhận định màu sắc, độ trong, đục của dịch não tuỷ
- Chắt vô trùng vào ống ly tâm
- Ly tâm 3000 vòng/phút trong 10 phút
- Chắt vô trùng lấy cặn, nhuộm 3 lam và 1 lam trực tiếp: Nhuộm Gram, nhuộm Ziehl – Nellsen, nhuộm mực tàu và nhuộm Giem sa.
- Cấy: lấy 1 ống đầy lên đĩa thạch máu và đĩa socola

- Đĩa thạch máu để ủ ấm 37°C qua đêm
 - Đĩa socola để ủ ấm CO₂ 37° qua đêm
 Phân lập: Sau khi đĩa thạch để ở ủ ấm qua đêm. Dựa vào hình dạng khuẩn lạc, hình thể, tính chất bắt màu Gram mà tiếp tục sử dụng các test đặc hiệu cho phù hợp từng loài vi khuẩn.

* *Streptococcus*: ngưng kết với kháng huyết thanh Liên cầu để xác định liên cầu nhóm A, B, C, D, F và G. Trong trường hợp không ngưng kết thì phải sử dụng bộ sinh vật hoá học API Strep.

* Nấm: - Nhuộm Gram: Bào tử nấm.
 - Mọc trên môi trường Candida: Khuẩn lạc màu xanh, tiếp tục sử dụng bộ sinh vật hoá học API AUX.

* *Mycobacterium*
 - Phương pháp nhuộm soi trực tiếp (nhuộm Ziehl – Nellsen).

- Kỹ thuật nuôi cấy MGIT: (theo quy trình của hãng Becton Dickinson, Pháp).

- Quy trình định danh *M. tuberculosis* bằng thử nghiệm Niacin (theo quy trình của hãng sản xuất Nam khoa)

3.3. Kỹ thuật ELISA để phát hiện ký sinh trùng

- Phương pháp nhuộm Giem sa
- Kỹ thuật ELISA

3.4. Kỹ thuật xác định mức độ kháng thuốc của vi khuẩn.

Phương pháp khoan giấy kháng sinh khuếch tán trong thạch (kỹ thuật Kirby – Bauer)

4. Xử lý số liệu:

- Các số liệu được xử lý theo toán thống kê, so sánh và phân tích kết quả.
- Đánh giá kết quả kháng sinh đồ theo đường kính vùng ức chế.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả dương tính

1.1. Tỷ lệ dịch não tuỷ dương tính

Bảng 1: Tỷ lệ dương tính với mẫu dịch não tuỷ

| Số mẫu dịch não tuỷ | Xét nghiệm (+) | Tỷ lệ % (+) |
|---------------------|----------------|-------------|
| 276 | 62 | 22,5 |

Từ tháng 1 năm 2007 đến tháng 7 năm 2007 có 276 mẫu dịch não tuỷ của 264 bệnh nhân được chỉ định chọc dịch não tuỷ với tỷ lệ dương tính là 22,5%.

1.2. Tỷ lệ các loài vi sinh vật tìm được trong dịch não tuỷ

Bảng 2: Các loài vi sinh vật tìm được trong dịch não tuỷ

| STT | Loài vi sinh vật | Tổng | Tỷ lệ % |
|-----|-----------------------------------|------|---------|
| 1 | <i>Streptococcus suis</i> | 16 | 25,8 |
| 2 | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 13 | 21,0 |
| 3 | <i>Toxoplasma gondii</i> | 11 | 17,7 |
| 4 | <i>Cryptococcus neoformans</i> | 9 | 14,5 |
| 5 | <i>Cysticeosis</i> | 5 | 8,1 |
| 6 | <i>Angiotrongylus cantonensis</i> | 4 | 6,5 |
| 7 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 3 | 4,9 |
| 8 | <i>Streptococcus spp.</i> | 1 | 1,6 |

Bảng 2 cho thấy căn nguyên vi sinh vật gây viêm màng não chiếm tỷ lệ cao nhất là *S. suis* (25,8%), sau đó *M. tuberculosis* (21,3%), *T. gondii* (17,7%), *C. neoformans* (14,5%).

2. Kết quả về tính nhạy cảm với kháng sinh của vi khuẩn gây viêm màng não phân lập được.

Bảng 5: Mức độ nhạy cảm của chủng *S. suis* với các kháng sinh

| Kháng sinh | Số chủng | R(%) | I(%) | S(%) |
|---------------|----------|------|------|-------|
| Penicillin | 15 | 20 | 6,7 | 73,3 |
| Ampicillin | 16 | 0 | 0 | 100,0 |
| Vancomycin | 14 | 7,1 | 7,1 | 85,8 |
| Cephalotin | 13 | 0 | 15,4 | 84,6 |
| Ceftriaxone | 16 | 25 | 12,5 | 62,5 |
| Cefepime | 16 | 12,5 | 50,0 | 37,5 |
| Etapenem | 16 | 0,0 | 0,0 | 100,0 |
| Clindamycin | 16 | 43,7 | 25,0 | 31,3 |
| Erythromycin | 16 | 25,0 | 37,5 | 37,5 |
| Azithromycin | 14 | 21,4 | 57,2 | 21,4 |
| Ofloxacin | 13 | 0,0 | 23,1 | 76,9 |
| Ciprofloxacin | 14 | 0,0 | 28,6 | 71,4 |
| Levofloxacin | 16 | 0,0 | 56,3 | 43,8 |

Nhận xét: qua bảng 5 cho thấy chủng *S. suis* gây viêm màng não nhạy cảm tốt với các kháng sinh theo thứ tự là: ampicillin, etapenem (100,0%), vancomycin (85,8%), cephalothin (84,6%)...

KẾT LUẬN

- Tỷ lệ viêm màng não là 22,5% trong mẫu dịch não tuỷ của bệnh nhân có chỉ định chọc dịch não tuỷ.
- Căn nguyên vi sinh vật gây viêm màng não chiếm tỷ lệ cao nhất là *S. suis* (25,8%), sau đó *M. tuberculosis* (21,0%).
- Tỷ lệ viêm màng não ở nam là 79,0% chiếm cao hơn so với nữ là 21,0%.
- Lứa tuổi hay mắc viêm màng não cao nhất là 26->60 là 79,0%, thấp nhất lứa tuổi > 60 là 4,9%.
- *S. suis* gây viêm màng não nhạy cảm tốt với các kháng sinh là ampicillin và etapenem (100%).

SUMMARY

Two hundred and Seventy Six cerebrospinal fluid samples of 264 patients with meningitis from January to July 2007 were cultured and isolated on blood agar and chocolate agar as regular standard of procedures. The results are collected as following: the positive cultures are 22.5% with the pathogenous agents are *Streptococcus suis* (25.8%), *Mycobacterium tuberculosis* (21.0%). The percentage of male is 79.0%, higher than female with p < 0.005. The common aquired ages are from 26 to 60 with

79.0%. The rate of antibiotic sensitivity of *Streptococcus suis* to ampicillin is 100%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu Chí và cộng sự. Viêm màng não do *Cryptococcus neoformans* trên bệnh nhân AIDS tại Trung Tâm Bệnh Nhiệt Đới. Tóm tắt các báo cáo khoa học của sinh hoạt khoa học nhiễm HIV/AIDS lần thứ nhất 1998:33.

2. Nguyễn Hữu Cô và cộng sự. Tình hình bệnh lao trên những người nhiễm HIV/AIDS ở Việt Nam. Tóm tắt các đề tài nghiên cứu khoa học về HIV/AIDS tại hội nghị khoa học toàn quốc về HIV/AIDS lần thứ hai tháng 12-1999:336-347.

3. Lê Mạnh Hùng và cộng sự. Bệnh lý não do *Toxoplasma* trên bệnh nhân AIDS. Nhân 7 trường hợp điều trị tại Trung Tâm Bệnh Nhiệt Đới. Tóm tắt các báo cáo khoa học của sinh hoạt khoa học nhiễm HIV/AIDS lần thứ nhất 1998:39

4. Arends, J. P.& Zanen, H. C. (1998). Meningitis caused by *Streptococcus suis* in humans. *Reviews of Infectious Diseases* 10, 131-7.

5. Luft BJ, et al. Toxoplasmic encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrom. *N Engl J Med* 1993; 329; 995-1000.

6. Marie J, Morvan H, Berthelot-Herault F, et al. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from swine in France and from humans in different countries between 1996 and 2000. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50:201-209.

7. Michell TG and Perfect JR. Cryptococcosis in the Era of AIDS -100 Years after the Discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8:515-548.

8. Sepkowitz KA, Raffalli J, Riley L, Kiehn TE, and Amstrong D. *Tuberculosis in the AIDS Era*. *Cli Mirobiol Rev* 1995; 8:180-189.