

# NGHIÊN CỨU CHẨN ĐOÁN NHANH STAPHYLOCOCCUS AUREUS GÂY NHIỄM KHUẨN BỆNH VIỆN VÀ TÍNH ĐỀ KHÁNG METHICILLIN CỦA CHÚNG BẰNG KỸ THUẬT PCR ĐA MÔİ

Trần Đình Bình<sup>1</sup>, Trần Thanh Loan<sup>1</sup>, Huỳnh Thị Hải Đường<sup>1</sup>  
Nguyễn Thị Kim Chi<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Nam Liên<sup>2</sup>

## TÓM TẮT

Nghiên cứu trong phòng thí nghiệm bằng các phương pháp xét nghiệm vi sinh truyền thống và sử dụng kỹ thuật PCR trên 80 chủng Staphylococci gây nhiễm khuẩn bệnh viện trong đó có 45 chủng *S.aureus* và 35 chủng Staphylococci có coagulase âm tính, chúng tôi đã xây dựng được quy trình PCR đa môİ (triplex PCR) để xác định gen mã hóa độc lực Coagulase, *femA* và gen *mecA*. Quy trình có thể thực hiện được ở các bệnh viện tuyến tỉnh để chẩn đoán sớm, chính xác các nhiễm trùng do *Staphylococcus aureus* và tính kháng thuốc của chúng để điều trị hiệu quả.

## SUMMARY

### RESEARCH STAPHYLOCOCCUS AUREUS CAUSING NOSOCOMIAL INFECTION AND THEIR METHICILLIN - RESISTANCE BY MULTI PRIMERS PCR TECHNIQUE

Tran Dinh Binh<sup>1</sup>, Tran Thanh Loan<sup>1</sup>, Huynh Thi Hai Duong<sup>1</sup>  
Nguyen Thi Kim Chi<sup>2</sup>, Nguyen Thi Nam Lien<sup>2</sup>

Study in the laboratory by traditional microbiological experiments and the by PCR technique on 80 strains of Staphylococci strains that caused hospital infection including 45 *S. aureus* strains and 35 strains of coagulase-negative Staphylococci, we have built a procedure of multi primers PCR (triplex PCR) to identify virulence genes coding for coagulase, *femA* and *mecA* gene. The procedure can be done at the provincial hospitals to diagnose early and accurately for *Staphylococcus aureus* infections and their antibiotal resistance to have an effective treatment.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

*Staphylococcus aureus* là một tác nhân gây bệnh quan trọng, đặc biệt trong nhiễm khuẩn bệnh viện. *Staphylococcus aureus* có thể gây nên nhiều bệnh lý khác nhau như nhiễm khuẩn da, nhiễm khuẩn đường tiết niệu, nhiễm khuẩn vết thương,

vết bông, viêm nội tâm mạc, nhiễm khuẩn huyết và viêm tủy xương...[1], [3], [4], [9]. Các nhiễm khuẩn do *Staphylococcus aureus* thường điều trị khó khăn do vi khuẩn kháng thuốc, rất nhiều chủng *Staphylococcus aureus* kháng thuốc, đa kháng thuốc được phân lập từ bệnh nhân nhiễm

<sup>1</sup>Bộ môn Vi sinh, Trường Đại học Y Dược Huế

<sup>2</sup>Khoa Vi sinh, Bệnh viện Trung ương Huế

- Ngày nhận bài (received): 12/6/2015; Ngày phản biện (revised): 31/7/2015;

- Ngày đăng bài (Accepted): 12/8/2015

- Người phản biện: Phạm Như Hiệp

- Người phản hồi (Corresponding author): Trần Đình Bình

- Email: trandinhbinhvn@yahoo.com.

khuẩn bệnh viện. Các vi khuẩn kháng Methicillin thường kháng với nhiều thuốc khác, nên nó được xem như là “siêu vi khuẩn” [1], [3], [11]. Việc phát hiện sớm và chính xác các *Staphylococcus aureus* gây bệnh và kháng Methicillin có thể được xem như phát hiện một thông số chỉ điểm được vi khuẩn *Staphylococcus aureus* kháng đa kháng sinh và là một yếu tố quan trọng để đảm bảo cho việc điều trị sớm và hiệu quả cho bệnh nhân [1], [3]. Theo nhiều nghiên cứu, để chẩn đoán vi sinh vật *Staphylococcus aureus* dựa vào các đặc điểm sinh vật học và các yếu tố tạo nên độc lực mạnh của *Staphylococcus aureus* như các yếu tố xâm nhiễm, sinh độc tố, sinh các men phân hủy protein, chất diệt bạch cầu... trong đó, gen mã hóa *femA*, Coagulase là các chỉ thị thường dùng để phát hiện các *Staphylococcus aureus* có độc lực trong phòng thí nghiệm.

Tại Việt Nam, các nghiên cứu liên quan đến chẩn đoán, phát hiện độc lực của các *Staphylococcus aureus* và tính kháng Methicillin bằng các phương pháp truyền thống, tuy nhiên các nghiên cứu về kỹ thuật sinh học phân tử để phát hiện gen mã hóa *femA*, yếu tố độc lực của các *Staphylococcus aureus* như Coagulase hoặc gen *mecA* để kháng Methicillin của các *Staphylococcus aureus* chưa có nhiều, đặc biệt chưa có nghiên cứu kỹ thuật PCR đa môi để vừa chẩn đoán vi khuẩn, xác định yếu tố độc lực và tính kháng thuốc [5], [9], [11].

Đề tài: “Nghiên cứu chẩn đoán *Staphylococcus aureus* gây nhiễm khuẩn bệnh viện và tính đề kháng Methicillin của chúng bằng kỹ thuật PCR đa môi” nhằm mục tiêu xây dựng quy trình chẩn đoán nhanh *Staphylococcus aureus* gây nhiễm khuẩn bệnh viện, xác định yếu tố độc lực Coagulase và tính đề kháng kháng sinh Methicillin của chúng bằng kỹ thuật PCR và so sánh với các phương pháp chẩn đoán *Staphylococcus aureus* phòng thí nghiệm truyền thống, phát hiện Coagulase và tính đề kháng kháng sinh Methicillin của chúng.

## II. ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu:

- 80 chủng vi khuẩn của các *Staphylococcus* gồm 45 chủng *S.aureus* và 35 chủng *Staphylococci* coagulase âm tính gây nhiễm khuẩn bệnh viện được phân lập tại khoa Vi sinh, Bệnh viện Trung ương Huế và Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế bằng phương pháp nuôi cấy thường quy.

- Các chủng vi khuẩn làm chứng gồm chủng *S. aureus* có Coagulase (+), *mecA* (+), *femA* (+), và chủng vi khuẩn *Streptococcus pyogenes* (chứng âm Coagulase (-), *mecA* (-), *femA* (-).

### 2.2. Vật liệu nghiên cứu:

#### 2.2.1. Hóa chất, sinh phẩm:

- Các loại môi trường nuôi cấy và thực hiện kháng sinh đồ: Môi trường nuôi cấy: thạch máu, thạch thường, Chapman, BHI, Mueller Hinton Agar...

- Các loại vật liệu khác: Thuốc nhuộm Gram, Huyết tương thô, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, Nước muối sinh lý vô khuẩn, các loại đĩa kháng sinh và Cefoxitin.

- Các loại hóa chất để thực hiện PCR: Agarose, dung dịch điện di, Ethidium Bromide, thang DNA chuẩn.

#### 2.2.2. Thiết bị, dụng cụ:

- Các loại thiết bị: Tủ ấm 35°C và 37°C, máy lắc rung (Vortex), tủ lạnh, các loại máy ly tâm, tủ an toàn sinh học, máy luân nhiệt, buồng điện di, bàn đọc kết quả điện di...

- Các loại dụng cụ: Đèn cồn, kẹp đĩa kháng sinh, thước đo đường kính vòng ức chế, khay cấy, tấm bông vô khuẩn, các loại vật liệu để thực hiện PCR...

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu:

#### 2.3.1. Kỹ thuật nuôi cấy và định danh *Staphylococci*:

Các bệnh phẩm được cấy trên các môi trường đặc, lỏng tùy theo yêu cầu kỹ thuật của từng loại mẫu nghiệm. Khi có khuẩn lạc nghi ngờ (màu vàng trên Chapman, tan máu  $\beta$  trên thạch máu...), làm phiến phết nhuộm Gram kiểm tra hình thái. Tiến hành phân lập và định danh theo quy trình truyền

## Bệnh viện Trung ương Huế

thống chẩn đoán các *Staphylococci* là: Cầu khuẩn Gram dương đứng đám, catalase dương tính, xác định *Staphylococcus aureus* khi có các tiêu chuẩn sau: sắc tố vàng, lên men đường mannit, có coagulase dương tính. Các *Staphylococci* coagulase âm tính khi có hay không lên men đường mannit, coagulase âm [11].

**2.3.2. Kỹ thuật phát hiện vi khuẩn *Staphylococci* kháng Methicillin trung gian *mecA* bằng kỹ thuật sử dụng đĩa Cefoxitin (Theo CLSI 2011):** Với khoanh giấy Cefoxitin 30µg trên môi trường Mueller Hinton Agar, trong Điều kiện nuôi

cấy: 33–35 °C/16 – 18 giờ. Đọc kết quả: ≤ 21 mm = *mecA* dương tính; ≥ 22 mm = *mecA* âm tính [2], [3].

### 2.3.3. Sử dụng kỹ thuật PCR tìm gen mã hóa *S.aureus* (*femA*), *Coagulase* và gen *mecA*

#### - Tách chiết DNA từ khuẩn lạc *Staphylococci*:

Tách chiết DNA bằng phương pháp nhiệt. DNA của vi khuẩn sẽ được chuẩn bị bằng cách lấy 1 khuẩn lạc cho vào ống Eppendorf có chứa 250 µl nước cất. Huyền dịch vi khuẩn này sẽ được chung cách thủy ở nhiệt độ 99°C trong 10 phút. Sau đó quay ly tâm 10.000 vòng/phút trong 10 phút. Bỏ phần cặn lắng, lấy phần dịch nổi để sử dụng cho phản ứng PCR [1], [11].

- **Cặp mồi (Primers):** Các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu

| TT | Primers  | Sản phẩm | Chức năng       | Tham khảo từ             |
|----|--|----------|-----------------|--------------------------|
| 1  | Coagulase 5'-ATAGAGATGCTGGTACAGG-3'<br>5'-GCTTCCGATTGTTCGATGC-3'     | 603-872  | Coagulase       | Hookey et al. (1998) [5] |
| 2  | <i>mecA</i> 5'-CCTAGTAAATGCTCCGGAA-3'<br>5'-CTAGTCCATTCGGTCCA-3'     | 314      | MRSA            | Nizami Duran (2012) [9]  |
| 3  | <i>femA</i> 5'-AAAAAAGCACATAACAAGCG-3'<br>5'-GATAAAGAAGAAACCAGCAG-3' | 132      | <i>S.aureus</i> | Nizami Duran (2012) [9]  |

#### \* Thực hiện phản ứng PCR

Một phản ứng PCR V=25µl gồm: 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM mỗi loại dNTP, 0,625 unit *Taq* DNA polymerase, 0,5µM mỗi mồi, *Taq* buffer, nước cất 2 lần.

|         |      |         |           |
|---------|------|---------|-----------|
| Bước 1: | 95°C | 5 phút  | 1 chu kỳ  |
| Bước 2: | 95°C | 30 giây |           |
|         | 51°C | 30 giây | 40 chu kỳ |
|         | 72°C | 30 giây |           |
| Bước 3: | 72°C | 6 phút  | 1 chu kỳ  |

Điện di để phát hiện sản phẩm PCR: sản phẩm tạo thành được điện di ở điện thế 80V, trên thạch agarose 1% nhuộm với chất màu huỳnh quang tự nhiên và đọc kết quả ở buồng đọc huỳnh quang. Sự hiện diện của sản phẩm sẽ được so sánh với thang mẫu DNA ladder 100bp.

Các bước tiến hành: Đối với mỗi mẫu, thực hiện như sau: 20µl mix PCR pha ở trên + 5µl dịch DNA tách chiết, cho vào Eppendorf 0,2ml. Đặt chương trình cho máy luân nhiệt hoạt động:

**2.3.4. Xử lý số liệu:** Xử lý các số liệu thu thập được bằng phương pháp thống kê y học. Độ nhạy và độ đặc hiệu của các thử nghiệm tính theo công thức của bảng 2x2 là: Độ nhạy = a/a+c; Độ đặc hiệu = d/b+d [12].

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Tính chất sinh vật học của các *Staphylococci* phân lập được

Bảng 3.1. Tính chất sinh vật học của các *Staphylococci*

| Tính chất<br>Vi khuẩn                     | Cầu khuẩn<br>Gram (+) |       | Catalase (+) |       | Mannit (+) |       | Coagulase<br>(+) |       | Tan máu<br>(+) |      | Sắc tố vàng |       |
|---|-----------------------|-------|--------------|-------|------------|-------|------------------|-------|----------------|------|-------------|-------|
|   | n                     | %     | n            | %     | n          | %     | n                | %     | n              | %    | n           | %     |
| <i>S. aureus</i>                          | 45                    | 100,0 | 45           | 100,0 | 45         | 100,0 | 45               | 100,0 | 39             | 86,7 | 45          | 100,0 |
| <i>Staphylococci</i><br>coagulase âm tính | 35                    | 100,0 | 35           | 100,0 | 14         | 40,0  | 0                | 0     | 28             | 80,0 | 29          | 82,9  |

Các *Staphylococci* được định danh và xác định độc lực bằng phương pháp truyền thống dựa vào tiêu bản nhuộm Gram, tính chất Catalase dương tính, làm đông huyết tương, lên men đường Mannit, tính chất tan máu và khuẩn lạc có sắc tố màu vàng. Các chủng *S.aureus* 100,0% có

coagulase dương tính, 82,9% có sắc tố vàng, 80,0% có khả năng tan máu beta và 40,0% lên men đường Mannit.

**3.2. Đặc điểm kiểu hình và kiểu gen về độc lực và kháng Methicillin của hai nhóm *Staphylococcus aureus* khảo sát**

Bảng 3.2. Tính kháng thuốc Methicillin của các *Staphylococcus aureus* khảo sát

| Các chủng vi khuẩn | Số chủng thử | Tính kháng Methicillin qua <i>MecA</i> bằng test Cefoxitin |              |           |              |
|--------------------|--------------|--|--------------|-----------|--------------|
|                    |              | Kháng  |              | Nhạy      |              |
|                    |              | n  | %            | n         | %            |
| <i>S.aureus</i>    | 45           | 20   | 44,45        | 25        | 55,55        |
| Sta coa (-)        | 35           | 15   | 42,85        | 20        | 57,15        |
| <b>Tổng cộng</b>   | <b>80</b>    | <b>35</b>  | <b>43,75</b> | <b>45</b> | <b>56,25</b> |

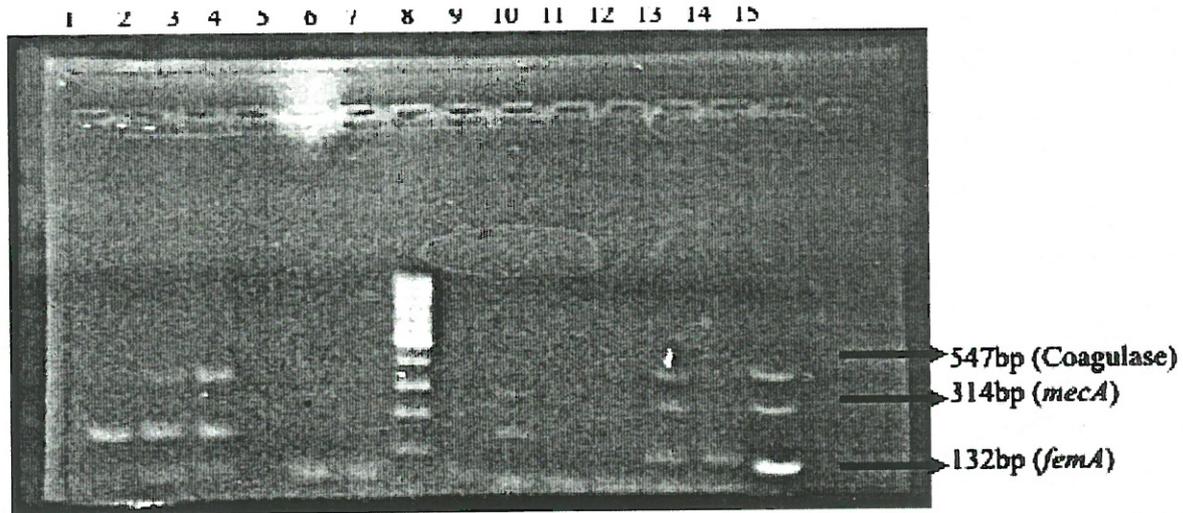
Các chủng *S.aureus* kháng Cefoxitin 44,45%, các chủng *Staphylococci* coagulase âm tính kháng Cefoxitin lại 42,85%. Tỷ lệ đề kháng Methicillin chung là 43,75%.

Bảng 3.3. Kiểu gen mã hóa vi khuẩn, độc lực và kháng Methicillin của các chủng *Staphylococci* khảo sát

| Các chủng vi khuẩn | Số chủng thử | <i>femA</i> |           | <i>mecA</i> |           | Coagulase |           |
|--------------------|--------------|-------------|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|
|                    |              | (+)         | (-)       | (+)         | (-)       | (+)       | (-)       |
| <i>S.aureus</i>    | 45           | 45          | 0         | 20          | 25        | 45        | 0         |
| Sta coa (-)        | 35           | 3           | 32        | 15          | 20        | 3         | 32        |
| <b>Tổng cộng</b>   | <b>80</b>    | <b>48</b>   | <b>32</b> | <b>35</b>   | <b>45</b> | <b>48</b> | <b>32</b> |

100,0% chủng có *S.aureus* có Coagulase dương tính với thử nghiệm Coagulase trên phiến kính đều có gen mã hóa Coagulase và gen *femA* các *Staphylococci* Coagulase âm tính (thử nghiệm Coagulase trên phiến kính và trong ống nghiệm)

có 8,57% (3 chủng) có gen mã hóa Coagulase và 3 chủng này cũng có gen mã hóa *femA*. Các chủng *Staphylococci* kháng Methicillin đều có gen *mecA*, các chủng nhạy cảm không có gen này.



Lane 7: DNA ladder.

Lane 14 chủng *S.aureus* kháng Methicillin (chúng dương có Coagulase (+), *mecA* (+), *femA* (+).

Lane 15: chủng vi khuẩn *Streptococcus pyogenes* (chúng âm có Coagulase (-), *mecA* (-), *femA* (-).

Lanes 2, 3, 9, 12: chủng vi khuẩn có Coagulase (+), *mecA* (+), *femA* (+).

Lanes 2, 3, 5, 6, 9, 12, 13: chủng vi khuẩn có *femA* (+).

Lanes 1, 4, 8, 10, 11,: chủng vi khuẩn có *femA* (-).

Lanes 1: chủng vi khuẩn có *mecA* (+), *femA* (-).

Bảng 3.4. Đánh giá giá trị của các kỹ thuật xác định Coagulase của các chủng *S.aureus*

| Test Coagulase                     | Kết quả PCR | Có gen mã hóa Coagulase | Không có gen mã hóa Coagulase | Tổng cộng |
|------------------------------------|-------------|-------------------------|-------------------------------|-----------|
| <i>S.aureus</i> Coagulase (+)      |             | 45                      | 0                             | 45        |
| <i>Staphylococci</i> Coagulase (-) |             | 3                       | 32                            | 35        |
| Tổng cộng                          |             | 48                      | 32                            | 80        |

Độ nhạy của kỹ thuật truyền thống xác định Coagulase của *Staphylococcus aureus* là  $(45/48=93,75\%$ , kỹ thuật truyền thống cũng đã bỏ sót 3 chủng *Staphylococci* có gen mã hóa Coagulase. Độ đặc hiệu của kỹ thuật truyền thống xác định Coagulase của các chủng *Staphylococcus aureus* là

100,0%. Các chủng có gen mã hóa Coagulase đều có gen mã hóa *femA*, kết quả này cho thấy xác định sự có mặt của gen *femA* cũng có ý nghĩa như xác định tính chất Coagulase dương tính hay gen mã hóa Coagulase.

Bảng 3.5. So sánh các kỹ thuật xác định tính kháng Methicillin của *S.aureus*

| Kỹ thuật                 | Chủng kháng Methicillin | Độ nhạy (%) | Độ đặc hiệu (%) |
|--------------------------|-------------------------|-------------|-----------------|
| Đĩa Cefoxitin 30 $\mu$ g | 48                      | 100,0       | 100,0           |
| <i>mecA</i> qua PCR      | 48                      | 100,0       | 100,0           |

Độ nhạy của kỹ thuật dùng đĩa Cefoxitin phát hiện tính kháng Methicillin ở *Staphylococci* là 100,0%, độ đặc hiệu là 100,0%.

#### IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu 80 chủng của các *Staphylococci* được định danh và xác định độc lực bằng phương

pháp truyền thống dựa vào tiêu bản nhuộm Gram, tính chất Catalase dương tính, làm đông huyết tương, lên men đường Mannit, tính chất tan máu

## Nghiên cứu chẩn đoán nhanh *Staphylococcus aureus* gây nhiễm khuẩn bệnh viện...

và khuẩn lạc có sắc tố màu vàng. Dựa vào các tính chất này, chúng ta đã có thể định danh khá chính xác *S.aureus* và các *Staphylococci* coagulase âm tính. Thời gian để định danh hết 40-48 giờ.

Sử dụng kỹ thuật PCR đa môi để xác định gen mã hóa Coagulase, gen *femA* và gen *mecA* để kháng Methicillin của các chủng vi khuẩn của hai nhóm *Staphylococci*, đồng thời cũng sử dụng kỹ thuật đĩa kháng sinh Cefoxitin để xác định tính kháng Methicillin của *Staphylococci* qua trung gian *mecA*, kết quả có 48 chủng vi khuẩn của các *Staphylococci* có gen mã hóa Coagulase, và đặc biệt là các chủng này đều có sự hiện diện của gen *femA*. Đáng chú ý là 100,0% chủng *S.aureus* có Coagulase dương tính với thử nghiệm Coagulase trên phiến kính đều có gen mã hóa Coagulase và gen *femA*, tuy nhiên với các chủng *Staphylococci* Coagulase âm tính (cả với thử nghiệm Coagulase trên phiến kính và trong ống nghiệm) lại có đến 8,57% (3 chủng) có gen mã hóa Coagulase. Như vậy, độ nhạy của kỹ thuật truyền thống xác định Coagulase của *Staphylococcus aureus* là  $(45/48=93,75\%$ , kỹ thuật truyền thống cũng đã bỏ sót 3 chủng *Staphylococcus aureus* có gen mã hóa Coagulase. Độ đặc hiệu của kỹ thuật truyền thống xác định Coagulase của các chủng *Staphylococcus aureus* là 100,0%. Các chủng có gen mã hóa Coagulase đều có gen mã hóa *femA*, kết quả này cho thấy xác định sự có mặt của gen *femA* cũng có ý nghĩa như xác định tính chất Coagulase dương tính hay gen mã hóa Coagulase.

Kết quả PCR xác định gen *mecA*, chúng tôi nhận thấy 44,44% các chủng *S.aureus* có gen *mecA* và 42,86% các *Staphylococci coagulase âm tính* có gen *mecA*. So sánh với kỹ thuật dùng đĩa Cefoxitin phát hiện tính kháng Methicillin qua trung gian *mecA* ở các *Staphylococci* thì hoàn toàn tương đồng. Tỷ lệ kháng thuốc chung của *Staphylococci* là 43,75%. Các tác giả trong và ngoài nước đã ứng dụng các kỹ thuật này cùng với PCR để so sánh các kỹ thuật trong xác định tính kháng Methicillin của các *Staphylococci* [4], [7], [8], [9], [10].

Chúng tôi đã xây dựng được quy trình PCR đa môi để xác định gen mã hóa Coagulase, *femA*

và *mecA* để chẩn đoán nhanh các *Staphylococcus aureus*, nhất là các chủng gây nhiễm khuẩn bệnh viện. Quy trình tương đối đơn giản, dễ thực hiện ở tất cả các phòng thí nghiệm hay phòng xét nghiệm có phương tiện cho PCR, kết quả nhanh chóng và chính xác, rất hữu ích cho lâm sàng để kịp thời điều trị các nhiễm trùng do *Staphylococcus aureus*. Nhiều tác giả đã nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật PCR đa môi để xác định nhanh độc lực và tính kháng thuốc Methicillin của các *Staphylococcus aureus* [1], [9], [10], [11]. Quy trình của chúng tôi cho kết quả tốt.

Nếu so sánh với quy trình chẩn đoán *Staphylococcus aureus* và xác định tính kháng Methicillin theo phương pháp truyền thống, chúng tôi nhận thấy:

- Phương pháp truyền thống: cho kết quả sớm nhất là 40-48 giờ kể từ khi lấy mẫu nghiệm (nhuộm, nuôi cấy, xác định coagulase, kỹ thuật đĩa kháng sinh).

- Kỹ thuật PCR: cho kết quả sớm nhất là 20-24 giờ (nhuộm, nuôi cấy, PCR).

Với kỹ thuật 3 cặp môi (triplex PCR) xác định gen mã hóa Coagulase, *femA* và *mecA* của chúng tôi, kết quả hoàn toàn đáng tin cậy, kỹ thuật thực hiện không quá phức tạp, các phòng thí nghiệm ở các bệnh viện tuyến tỉnh đều có thể tiến hành được nhằm chẩn đoán sớm, chính xác các nhiễm *Staphylococcus aureus* và tính kháng thuốc của chúng để có hướng điều trị kịp thời.

### V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 80 chủng *Staphylococci* trong đó có 45 chủng *S.aureus* và 35 chủng *Staphylococci có coagulase âm tính* bằng các phương pháp xét nghiệm vi sinh truyền thống và sử dụng kỹ thuật PCR, chúng tôi đã xây dựng được quy trình PCR 3 cặp môi (triplex PCR) để xác định gen mã hóa độc lực Coagulase, *femA* và gen *mecA*. Quy trình có thể thực hiện được ở các bệnh viện tuyến tỉnh để chẩn đoán sớm, chính xác các nhiễm trùng do *Staphylococcus aureus* và tính kháng thuốc của chúng để điều trị hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anand KB. , P. Agrawal, S. Kumar, K. Kapila (2009), “Comparison of Cefoxitin diffusion disc test, Oxacillin screen agar, and PCR for *mecA* gene for detection of MRSA”, *Indian Journal of Medical Microbiology*, Vol. 27, No.1, pp 27-9.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI ) (2011), *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement, M 100-S21. (ISSN 1-56238-742-1)*.
3. Floriana Campanile, Dafne Bongiorno, Sonia Borbone and Stefania Stefani (2009), “Hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (HA-MRSA) in Italy”, *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 8, pp 22.
4. Trần Thu Hoa, Đỗ Thị Lan Hương, Nguyễn Thị Ngọc Loan, Hoàng Hiếu Ngọc, Phạm Hùng Vân (2009), “Nghiên cứu chế tạo bộ thử nghiệm multiplex PCR phát hiện *Staphylococcus aureus* đề kháng Methicillin”, *Y học TP Hồ Chí Minh*, Tập 13, Phụ bản số 2, tr. 176-180.
5. Hookey J.V, Richardson J.F and Cookson B.D (1998), “Molecular typing of *Staphylococcus aureus* Based on PCR Restriction Fragment Length Polymorphis and DNA Sequence Analysis of the Coagulase gene”. *J. of Clin. Microbiol*, Vol 36 (4), pp 1083-1089.
6. Luteijn J. M., G. A. A. Hubben, P. Pechlivanoglou, M. J. Bonten and M. J. Postma (2010), “Diagnostic accuracy of culture-based and PCR-based detection tests for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis”, *Journal Compilation European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, CMI, Vol.17, pp 146–154.
7. Maes N, Magdalena J, Rottiers S et al (2002), “Evaluation of a Triplex PCR Assay to Discriminate *Staphylococcus aureus* from Coagulase-Negative *Staphylococcus aureus* and Determine Methicillin resistance from Blood cultures”, *J of Clin Microbiol*, Vol 40(4), pp 1514-1517.
8. Motlagh Mohammad Reza Safari, Maesumeh Anvari (2010), “Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by multiplex PCR”, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 9 (45), pp 7629-7631.
9. Nizami D, Burcin O, Gulay G.D et al. (2012), Antibiotic resistance genes & susceptibility patterns in *Staphylococcus aureus*, *Indian J Med Res*, 135, pp 389-396
10. Stephen T Odonkora, Kennedy K Addob (2011), “Evaluation of Three Methods For Detection of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)”, *International Journal of Biological & Medical Research*, Vol. 2(4), pp 1031 – 1034.
11. Phạm Hùng Vân, Phạm Thái Bình (2005), “Tình hình đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Staphylococcus aureus* - Kết quả nghiên cứu đa trung tâm thực hiện trên 235 chủng vi khuẩn”, *Y học thực hành* ISSN 0866-7241, số 513, tr. 244-248.
12. Phạm Hùng Vân (2006), *Kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng*, Nhà xuất bản Y Học.